

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

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

Ziel des Projektes ist es, eine orale Formulierung für das bisher vor allem parenteral oder subkutan verabreichbare Heparin zu entwickeln und in vivo zu evaluieren. Enoxaparin ist ein niedermolekulares Heparin, welches zur Behandlung sowie zur Prophylaxe von Thrombosen (Blutgerinnsel) eingesetzt wird. Die Nebenwirkungen der Standardtherapie mittels dem parenteralen oder subkutanen Applikationsweg, wie zum Beispiel allergische Reaktionen und Schmerzen wirken sich negativ auf die Compliance des Patienten aus und limitieren den Erfolg der Therapie. Zudem treten wiederkehrend Einblutungen in die Haut auf. Die innovative orale Formulierung sichert den Therapieerfolg durch eine geförderte Compliance und schließt die Nebenwirkungen nahezu aus. Die neu entwickelte orale Emulsion soll darüber hinaus eine klinisch-signifikante Bioverfügbarkeit aufgrund einer besseren Absorption zeigen.

zu erwartender Nutzen: Mit dieser Studie sollen detaillierte Erkenntnisse über die orale Bioverfügbarkeit von Heparin als Emulsion gewonnen werden, mit gleichzeitig Reduktion der Nebenwirkungen.

zu erwartender Schaden: Die Versuchsdurchführung ist so geplant, dass die Tiere minimalstem Stress ausgeliefert sind. Der Versuch besteht aus oraler und intravenöser Verabreichung von Heparin. Es erfolgen keine operativen Eingriffe, sondern lediglich Blutabnahmen, um die jeweilige Plasmakonzentration an Heparin bestimmen zu können. Durch diese Vorgehensweise sind keine gravierenden Schäden für die Tiere zu erwarten.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für den Versuch werden 42 männliche Ratten benötigt

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

Es stehen bis dato keine adäquaten tierversuchsfreien Ersatzmethoden zur Verfügung um die komplexen Einflüsse auf pharmakokinetische Eigenschaften unterschiedlicher Formulierungen von Arzneistoffen zu untersuchen. Daher ist für eine verlässliche Beantwortung der Fragestellung, ob und in welchem Ausmaß die entwickelten Systeme die orale Bioverfügbarkeit von Heparin verbessern können,

nicht durch tierversuchsfreie Methoden möglich. Das Experiment wird mit einer minimalen Anzahl an Tieren durchgeführt, die zur statistischen Auswertung benötigt wird. Um den Stress für die Tiere so gering wie möglich zu halten, werden nur die relevantesten Zeitpunkte und die geringste mögliche Anzahl an Blutentnahmen gewählt. Zahlreiche In vitro Studien sind im Vorfeld durchgeführt worden, um die Experimente mit Tieren auf ein Mindestmaß begrenzen zu können. Es konnte beispielsweise gezeigt werden, dass die Formulierung stabil und toxikologisch unbedenklich ist.

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

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

Angina pectoris stellt eine, durch reduzierten Blutfluss bedingte Erkrankung der Herzkranzgefäße dar. Die zugrundeliegende Ursache kann meist in einer atherosklerotischen Veränderung der Gefäßwand gefunden werden. Therapeutisch werden mehrere Medikamente zur Verminderung der Schmerzen bei Angina pectoris angewendet. Trotz der breiten Anwendung der Präparate gibt es bis dato keine Daten bezüglich ihrer Wirkung auf die zugrundeliegenden atherosklerotischen Prozesse. Ziel dieser Studie ist es diese Wirkungen abzuklären, besonders potentielle anti-entzündliche und antiatherosklerotische Eigenschaften der Medikamente sollen untersucht werden.

zu erwartender Nutzen: Die Untersuchung am Tiermodell soll Aufschluss über die Wirkung antianginöser Medikamente in Bezug auf Inflammation, Gerinnung und das Fortschreiten atherosklerotischer Plaques geben. Gewonnene Erkenntnisse könnten zukünftig in der Therapie der Angina pectoris Anwendung finden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Der für die Tiere zu erwartende Schaden liegt bei oraler Aufnahme von für den Menschen zugelassenen Arzneimitteln.

2. Art und Anzahl der Tiere

80 Mäuse

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 modernsten experimentellen Methoden eingesetzt. Es sind keinerlei Blutabnahmen oder sonstig invasive Eingriffe geplant. Durch standardisierte Tierhaltung und Versuchsbedingungen soll die biologische Streuung der Ergebnisse minimiert werden.

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

Verfeinerung: Speziell geschultes Personal wird eingesetzt um eine minimale Belastung der Tiere zu erreichen.

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

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

zu erwartender Nutzen: Genetisch veränderte Labortiere werden als wichtige Modelle in vielen Bereichen der biomedizinischen Forschung benötigt. Im Rahmen des Projektes sollen Labormäuse gezüchtet werden, die eine gentechnisch induzierte Mutation in ihrem Erbgut tragen wodurch sie ein Enzym (Diaminooxidase; DAO) nicht mehr bilden können. Die genetisch veränderten Tiere dienen als Modelle in verschiedenen Bereichen der biomedizinischen Forschung. DAO ist ein Enzym welches in allen Wirbeltieren zu finden ist und Polyamine, vor allem Histamin und Putreszin abbaut. Während der Schwangerschaft wird DAO in der Plazenta vermehrt gebildet. Erhöhtes Histamin kann negative Auswirkungen auf die Schwangerschaft haben, bis hin zum Abort. Die Balance zwischen DAO und Histamin kann entscheidend für den positiven Verlauf der Schwangerschaft sein. Im Rahmen dieses Projektes soll der Verlauf der Schwangerschaft in dem DAO defizienten Mausmodell eruiert werden. Die aus dem Projekt gewonnenen Erkenntnisse können einen wertvollen Beitrag zum Verständnis der Rolle dieses Enzyms in der Schwangerschaft liefern.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Zucht und Haltung genetisch veränderter Labormäuse, explorative Studie des Schwangerschaftsverlaufes bei der genetisch veränderten Maus im Rahmen der Zucht. Genetisch veränderte Mäuse, bei denen mit einer möglichen Belastung zu rechnen ist, werden engmaschig kontrolliert. Werden im Verlauf dieser Kontrollen negative Einflüsse der genetischen Veränderung auf die Gesundheit der Tiere erkennbar, so werden Maßnahmen ergriffen, um diese Effekte zu reduzieren oder es kommen humane Endpoints zur Anwendung.

2. Art und Anzahl der Tiere

1440 Labormäuse (*Mus musculus*) in einem einen Zeitraum von 5 Jahren.

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

Vermeidung: DAO wird von allen Säugetieren exprimiert. Sie spielt eine wichtige Rolle in der Schwangerschaft womit die genauen Zusammenhänge nur im Tiermodell untersucht werden können, da keine Alternativmethoden für die Säugetier-Schwangerschaft existieren.

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

Verfeinerung: Standardisierte Haltungsbedingungen und Versuchsbedingungen werden angewandt. Ebenso werden Versuchsmethoden und Eingriffe an neueste wissenschaftliche Erkenntnisse angepasst und nach standardisierten Vorschriften (SOPs) abgearbeitet. Methoden zur individuellen Kennzeichnung werden dem Zweck entsprechend und möglichst wenig belastend 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

Der Antrag dieses Tierversuchsprojektes wird vor dem klinisch wichtigen Hintergrund gestellt, dass die Anzahl von ein- und beidseitigen Stimmlippenlähmungen mit Stimmproblemen und Atemnot unterschiedlichen Ausmaßes zunimmt. Auf der Suche nach Behandlungsmethoden, die weder einen Luftröhrenschnitt mit lebenslang notwendiger Kanüle oder eine operative Kehlkopferweiterung mit bleibender Heiserkeit bedeuten, stellt die Implantation eines sogenannten Kehlkopfschrittmachers eine vielversprechende Alternative dar. Dieser stimuliert den gelähmten, aber elektrisch erregbaren Stimmlippenöffner.

zu erwartender Nutzen: Ziel dieser Studie ist das Erlernen der optimalen Operationszugänge und der Operationsschritte für die beidseitige Implantation eines Kehlkopfschrittmacher-Systems für die späteren Prüffärzte. Diese Ausbildungsstudie ist als Vorprojekt für spätere Studien am Menschen geplant. Vor den operativen Eingriffen sind zusätzlich radiologische Schluckuntersuchungen an den sedierten Tieren geplant. Dabei soll die Lagebeurteilung der später zu implantierenden Elektroden durch die Prüffärzte trainiert werden.

zu erwartender Schaden: Die Schluckuntersuchungen werden zum Schutz der Untersucher in leichter Sedierung erfolgen und sind nicht mit Schmerzen für die Tiere verbunden. Die Operationen selbst werden in Vollnarkose durchgeführt.

2. Art und Anzahl der Tiere

Die Studie soll an bis zu 10 Schweinen durchgeführt werden.

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

Vermeidung: Die Tierstudien im Rahmen dieses Studienantrages sind für spätere Zulassungen des Kehlkopfschrittmachers für die Anwendung am Menschen unverzichtbar. Eine Vermeidung dieses Tierversuches scheint nicht möglich, da das Erlernen der optimalen Operationszugänge und der Operationsschritte für die beidseitige Implantation eines Kehlkopfschrittmacher-Systems unverzichtbar ist. Bis zum humanen in-vivo-Einsatz sollen die bestgeeignetsten Operationszugänge und Operationsschritte getestet werden.

Verminderung: Von den Antragstellern wird eine minimale Anzahl von Versuchstieren angestrebt. Darüber hinaus wird die Studie vorzeitig beendet, wenn bereits nach einigen Testläufen valide Messergebnisse und sichere Operationsverfahrensweise gewährleistet werden konnten.

Verfeinerung: Die Tiere werden unter kontrollierten, standardisierten Bedingungen in Gruppen auf Stroheinstreu gehalten. Die operativen Eingriffe werden von erfahrenen Chirurgen durchgeführt. Während einer OP wird ein striktes und standardisiertes Narkose und Schmerzbehandlungsregime eingehalten. Am Ende der Operation werden die noch in Vollnarkose befindlichen Tiere getötet.



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

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

Licht ist ein bedeutender Umweltfaktor für Tiere und Menschen. Meistens denkt man bei Licht an den Sehsinn und die Photorezeptoren des Auges. Licht hat aber neben dem Sehsinn noch viele weitere, nicht-visuelle Effekte, die wir teilweise auch erst in ihren Anfängen verstehen. Alle Wirbeltiere, inklusive des Menschen besitzen Lichtrezeptoren außerhalb des Auges. Wie wirkt sich Licht auf diese Rezeptoren, und damit auf die Physiologie und das Verhalten des Menschen aus? Zebra- und Medakafische sind geeignete Organismen, diese Fragestellung zu untersuchen, da sie einerseits Wirbeltiere sind und damit bezüglich Gehirnaufbau, Art der lichtwahrnehmenden Moleküle und Verhalten dem Menschen ähnlicher sind als Nicht-Wirbeltiere.

zu erwartender Nutzen: Bisher ist die Funktion der Lichtrezeptoren außerhalb des Auges in Wirbeltieren noch nicht verstanden. Wir erwarten, dass wir durch unsere Arbeiten neue zelluläre und molekulare Mechanismen entschlüsseln, über die Licht auf den Organismus einwirken kann. Daraus ergeben sich direkte Implikationen auf Umweltschutz und menschliche Gesundheit: Nur wenn wir überhaupt erstmal verstehen, auf welche Prozesse und wie Licht bestimmter Intensitäten und Wellenlängen wirkt, dann können wir auch verstehen, wie künstliches (vom Menschen generiertes Licht) auf die Umwelt und auf uns selbst wirkt. Dieses künstliche Licht hat typischerweise eine andere Wellenlängenzusammensetzung und Intensität als normales Sonnen- oder Mondlicht. Außerdem wird mehr und mehr künstliches Licht zu Zeiten und an Orten angestellt, an denen es eigentlich dunkel sein sollte. Was bedeutet das für uns und die Umwelt? Erste Studien haben schon gezeigt, dass das für Umwelt und Mensch recht schädliche Effekte haben kann. Unsere Arbeiten werden dazu beitragen können, auch besser zu verstehen, wie man schädliche Arten des Lichtes zur falschen Zeit besser vermeiden kann und damit zum Schutz von Mensch und Umwelt beitragen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Der Schaden für die Tiere während der Verhaltensexperimente ist gering, da sie Lichtintensitäten und Spektren ausgesetzt werden, die Teil der natürlichen Umwelt von Fischen sind. Bei einigen Fischen wird unter Narkose ein kleines Stück der Schwanzflosse entfernt. Da es

nur ein sehr kleines Gewebestück ist und auch wieder nachwächst, behindert es den Fisch nicht.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

maximal 2700 Zebrafische

maximal 1620 Medakafische

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

**Vermeidung:** Die genannten Experimente sind essentiell, um die Funktionen der Lichtrezeptoren im physiologischen Kontext zu verstehen, was notwendig ist, um insbesondere auch die Auswirkungen von künstlichem Licht auf menschliche Physiologie, Psychologie und die Umwelt zu verstehen.

**Verminderung:** Vorab wurden intensiv moderne und dem aktuellen Kenntnisstand der Wissenschaft entsprechende in vitro Versuche durchgeführt. Durch Standardisierung sämtlicher Einflussgrößen wie Hygiene, Versuchstierhaltung und aller Versuchsbedingungen wird die Variabilität vermindert, weshalb geringere Fallzahlen verwendet werden können.

**Verfeinerung:** Zur Verfeinerung der Versuche werden angemessene Methoden zur Anästhesie, und Schmerzlinderung angewandt. Weiters wird streng darauf geachtet, Tiere, die nicht vollkommen gesund sind, von jeglichen Experimenten auszuschließen.

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

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

Das Ziel des Projektes ist, den im Verlauf einer Autoimmunerkrankung auftretenden Wechsel in der Erkennung eines krankheitsspezifischen Antigens zu einem unspezifischen, durch Gewebeschädigung freigesetzten, Antigen zu untersuchen. Wird im Zuge einer Autoimmunerkrankung so viel Gewebe zerstört, dass körpereigene Fresszellen beschädigte Zellen nicht mehr beseitigen können, sterben diese beschädigten Zellen und setzen ihre Antigene frei. Bei Patienten mit gewebe-spezifischen Autoimmunerkrankungen können daher zusätzliche Antigene in der Gehirn- und Rückenmarksflüssigkeit nachgewiesen werden. Diese neu zur Verfügung stehenden Antigene können über die Gehirn- und Rückenmarksflüssigkeit Lymphknoten erreichen und dort eine sekundäre Immunantwort auslösen. So kommt es zu einer Erweiterung der krankheitsspezifischen Immunantwort auf primär unbeteiligte Proteine. Um die Auswirkungen des Wechsels in der Erkennung eines krankheitsspezifischen Antigens auf ein weiteres Antigen zu beobachten, werden zuerst in Kultur antigenspezifische T-Zell Linien herangezogen. Dabei wird ein für eine humane Autoimmunerkrankung spezifisches Antigen gewählt, sowie auch ein Antigen, das in den betroffenen Patienten durch Gewebeschaden in der Gehirn- und Rückenmarksflüssigkeit nachzuweisen ist. Diese T-Zellen werden dann in Sequenz mit oder ohne pathogene Antikörper ausgetestet zu erwartender Nutzen: Die Experimente bieten die Möglichkeit, die Auswirkungen der sekundären Beteiligung eigentlich krankheitsunspezifischer Antigene auf Autoimmunerkrankungen zu untersuchen. So können etwa Autoimmunerkrankungen simuliert werden, die nach dem ersten Schub therapieresistente pathogene Antikörper vorweisen. Durch die Auswahl eines für eine humane Autoimmunerkrankung spezifischen Antigens, als auch eines Antigens, das in den betroffenen Patienten durch Gewebeschaden in der Gehirn- und Rückenmarksflüssigkeit nachweisbar ist, wird eine höchstmögliche Vergleichbarkeit zur humanen Pathologie gewährleistet.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Sämtliche Eingriffe erfolgen unter Anästhesie. Am Ende der Experimente werden die Tiere schmerzfrei durch CO<sub>2</sub> Inhalation getötet.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

186 Ratten

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

**Vermeidung:** Um unnötige Tierversuche zu vermeiden, werden nur jene T-Zell-Linien für den Transfer verwendet, die sich bei in vitro Austestungen bewährt haben und antigenspezifisch sind.

**Verminderung:** Die Zahl der benötigten Tiere wurde durch statistische Fallzahlberechnung ermittelt. Darüber hinaus werden die Tiere unter standardisierten Bedingungen gezüchtet und gehalten, wodurch die Variabilität innerhalb als auch zwischen Experimenten eingeschränkt wird.

**Verfeinerung:** Zur Verminderung der Krankheitssymptome und zur Verfeinerung der Experimente werden Vorexperimente durchgeführt, um die Zahl der eingesetzten T-Zellen in den eigentlichen Experimenten so wählen zu können, dass ein möglichst geringer Schweregrad klinischer Symptome zu erwarten ist.

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

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

Die Prävalenz neurodegenerativer Erkrankungen, insbesondere Alzheimer (AD), steigt mit zunehmendem Alter und ist durch unterschiedliche Proteinablagerungen im Gehirn der betroffenen Patienten gekennzeichnet. Bekannte Substanzen, welche zelleigene Abbaumechanismen aktivieren stellen daher vielversprechende Therapeutika gegen diese Krankheiten dar. Ziel dieses Projekts ist die Untersuchung von lebensverlängernden natürlich vorkommender Polyamine auf Entstehung, Entwicklung und Verlauf der Alzheimer Erkrankung in einem transgenen Mausmodell. Verschiedene Verhaltens- und Lerntests werden die positiven Auswirkungen der Polyaminfütterung auf neurologische Funktionen von transgenen Tieren analysieren. Parallele magnetresonanztomografische Aufnahmen mit einem leistungsstarken Small Animal MRI ermöglichen außerdem die zeitliche und räumliche Analyse struktureller Veränderungen in gesunden und an Alzheimer erkrankten Tieren. Dies wird neuartige Einblicke in die Entstehung und Entwicklung der Alzheimer Erkrankung erlauben und unser Verständnis für die humane Situation 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 verminderte Gedächtnisleistungen, die Lebenserwartung sowie lokomotorische Fähigkeiten sind allerdings nicht eingeschränkt. Zudem wird kein Auftreten von Angst- oder Schmerzzuständen in der ersten Lebenshälfte erwartet. Für die Gewebsentnahme und andere post-mortem-Analysen werden die Tiere zuvor in tiefer Gasnarkose euthanasiert.

zu erwartender Nutzen: Dieses Projekt ermöglicht die Identifizierung neuroprotektiver natürlicher Substanzen, die zur Therapie der Alzheimer Erkrankung eingesetzt werden können. Außerdem werden neue Einblicke über pathologische Veränderungen im Gehirn gewonnen und eventuell schon frühe Marker dieser neurodegenerativen Störung gefunden werden. Die so gewonnen 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

318 Mäuse

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

**Vermeidung:** 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. Für die Versuche werden nur weibliche transgene Tiere verwendet, da der pathologische Phänotyp hier reproduzierbarer und robuster ist. Die geplante Vorgehensweise der MR-Experimente die Untersuchung derselben Tiere an mehreren 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 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 lediglich einer einzigen vorab überprüften Polyamin-Konzentration, sowie die Beobachtung der Tiere an nur zwei durch Literaturrecherche bestimmten Zeitpunkten reduziert die benötigte Mausanzahl auf ein Minimum. Bei der Auswahl der Experimente wird außerdem besonderen Wert auf die Auswahl stressreduzierter Verhaltensassays und somit das Stressniveau der Tiere reduziert. Darüber hinaus stellen die geplanten Verhaltensexperimente an 12 Monate alten Tieren auch gleichzeitig den Endpunkt des Tierversuchs dar, wodurch unnötiges Tierleid am Ende der natürlichen Lebensspanne von circa 24 Monaten verhindert wird.

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

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

Bluthochdruck ist ein wesentlicher Risikofaktor für kardiovaskuläre Folgeerkrankungen wie Schlaganfall, Koronare Herzerkrankungen, Herzinfarkt, oder Nierenerkrankungen. Die Regulation des Blutdrucks erfolgt durch Kontraktion der Arteriolen aber auch durch die Retentionsfähigkeit der Nieren. Zelluläre Kontraktion wird durch die chemische Modifikation von (MLC) Proteinen hervorgerufen, welche mit dem Zytoskelett der Zelle verbunden sind. Das Protein Filamin A (FLNA) interagiert mit beiden genannten Gruppen von Proteinen und hat daher das Potential die zelluläre Kontraktion zu regulieren. Im Rahmen der Bildung des FLNA Proteins wird die entsprechende Ribonukleinsäure (RNA) an einer definierten Stelle "editiert" und dadurch zwei unterschiedliche Proteinvarianten gebildet, je nachdem ob Editierung stattfand. Aortenringe, in welchen Filamin A-mRNA nicht editiert werden kann, zeigen eine abnormale erhöhte Zellkontraktion. Es ist daher naheliegend anzunehmen, dass der Grad des Editings der Filamin A mRNA einen direkten Einfluss auf die Kontraktion der Aorten aufweist und somit den Blutdruck reguliert. Ziel dieser Studie ist die Untersuchung des Einflusses von Flna RNA Editing auf die Blutdruckkontrolle. Im Rahmen dieses Tierversuchs werden Mäuse gezüchtet, welche jeweils ausschließlich die editierte beziehungsweise die nicht editierte Variante des FLNA Proteins bilden. Bei diesen Mäusen soll der arterielle Blutdruck mittels Telemetrie via Funkübertragung über mehrere Tage unter normalen Bedingungen gemessen werden. Die Tiere werden keiner weiteren schmerzhaften Behandlung unterzogen und nach Ende der Analysen schmerzfrei euthanasiert.

zu erwartender Nutzen: Ziel dieser Studie ist es erstmalig herauszufinden ob editierte und nicht editierte FLNA Proteinvarianten die Regulation des Blutdrucks unterschiedlich beeinflussen. In solch einem Fall könnte ein Fehlen von FLNA Editing als Risikofaktor für Herz-Kreislauf Erkrankungen dienen und eine (im Moment noch theoretische) Förderung von FLNA Editing als zukünftige Therapieform in der Behandlung von arteriellem Bluthochdruck dienen.

zu erwartender Schaden: Mäuse, welche nur die nicht editierbare Variante von FLNA bilden, zeigen keine erkennbaren phänotypischen Unterschiede zu Wildtyp Mäusen. Diesen Tieren wird unter Vollnarkose und anschließender Schmerzbe-

handlung ein Telemetriesender implantiert. Dieser Eingriff stellt eine mittlere Belastung für die Tiere dar. Die Messung des Blutdrucks erfolgt ohne die Tiere zu manipulieren oder Stress auszusetzen. Die Mäuse werden nach der Operation täglich auf ihren Gesundheitszustand untersucht und bei Auftreten von Leid jeglicher Art euthanasiert. Für diese Tests werden jeweils maximal 12 Wildtyp und 12 nicht editierte FLNA Mäuse benötigt, um mit statistischer Aussagekraft festzustellen ob Editierung von FLNA einen Einfluss auf die Blutdruckkontrolle hat. Es wird jeweils ein Paar bestehend aus einer Wildtyp Maus und einer nicht editierten Maus operiert und paarweise vermessen. Sollten signifikante Unterschiede sichtbar sein, werden die Experimente vorzeitig abgebrochen.

## 2. Art und Anzahl der Tiere:

Gesamt werden maximal 24 Mäuse im Rahmen dieses Tierversuchs benötigt.

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

**Vermeidung:** Auswirkungen der Editierung des FLNA Proteins auf die Zellkontraktion konnte bereits *in vitro* an isolierten Aortenringen nachgewiesen werden. Ob diese Beobachtungen aber tatsächlich eine Erhöhung des Blutdrucks und damit ein wesentliches Risiko für kardiovaskuläre Folgeerkrankungen bedingen können, ist leider nicht mit Hilfe von zellbasierten Untersuchungen zu klären. Nach Ausschöpfung aller *in vitro* Methoden sind zur weiteren Abklärung der Fragestellung Untersuchungen an einem Gesamtorganismus erforderlich. Dazu werden die Versuchstiere unter sterilen und pathogenfreien Bedingungen in Kleingruppen gehalten, um einem Auftreten haltungsbedingter Belastungen entgegen zu wirken.

**Verminderung:** Das Projekt verwendet ein etabliertes und international akzeptiertes Mausmodell. Zur Züchtung werden Mäuse herangezogen welche in der Lage sind eine gewisse Menge an editiertem FLNA Protein zu bilden. Die Nachkommen dieser Mäuse bilden jeweils die editierbare beziehungsweise die nicht editierte Variante von FLNA. Somit werden beide experimentelle Gruppen im Rahmen der Züchtung gebildet. Durch Standardisierung aller Haltungs- und Versuchsbedingungen und eine genaue Versuchsplanung wird eine geringe Streuung der Versuchsergebnisse ermöglicht und somit die Tierzahlen auf das notwendige Minimum reduziert. Es wurde eine Fallzahlberechnung durchgeführt, um mit geringen Tierzahlen aussagekräftige Resultate zu erhalten. Werden im Verlauf des Experiments keine signifikanten Blutdruckunterschiede zwischen beiden Gruppen detektiert, so wird der Versuch abgebrochen, um unnötiges Tierleid zu verhindern.



Obwohl diese Methode einen operativen Eingriff bedingt, ermöglicht sie präzisere Messungen als nichtinvasive Messmethoden, bei welchen die Versuchstiere bei vollem Bewusstsein fixiert werden. Durch geringere Abweichungen sind in der Gesamtheit weniger Individuen zur Datenerhebung nötig.

Verfeinerung: Nach dem operativen Eingriff erfolgt eine 24 stündige Überwachung der Tiere. Nach Rekonvaleszenz vom operativen Eingriff erfolgen die Blutdruckmessungen kontinuierlich und stressfrei während der Ruhephasen. Die Versuchstiere können sich frei bewegen und werden dadurch keinen weiteren Manipulationen ausgesetzt. Tägliche tierärztliche Kontrollen stellen sicher, dass die Tiere keinem unnötigen Leid ausgesetzt werden. Alle Untersuchungen der Tiere werden von geschultem Personal unter konstanten Bedingungen durchgeführt, um einen Gewöhnungseffekt zu erzielen und die Tiere nicht unnötig zu belasten. Bei Auftreten von Beeinträchtigungen werden die Tiere unter Narkose schmerzfrei euthanasiert.

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

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

Die Gedächtnisbildung beruht auf der Plastizität der synaptischen Verbindungen zwischen den Neuronen im Gehirn. Unterschiedliche Gedächtnissysteme, zum Beispiel jene für verbale oder räumliche Informationen, werden überwiegend in der linken respektive rechten Gehirnhälfte verarbeitet. Ziel des vorliegenden Projekts ist die Analyse der Lokalisation und Funktion von Neurotransmitter-Rezeptoren und Ionenkanälen, den Schlüsselmolekülen in der Mediation synaptischer Plastizität, in bestimmten Gehirnregionen, dem Cerebellum, der Amygdala und dem Hippokampus sowie die Untersuchung der Entwicklung der Links-Rechts-Asymmetrie der Synapsen im Gehirn und deren Rolle bei der Lateralisation der Gehirnfunktion.

zu erwartender Nutzen: Das Verständnis über die Ausbildung des Gedächtnisses im Gehirn ist von entscheidender Bedeutung für die effektive Behandlung von Patientinnen mit neurologischen Erkrankungen, wie Demenz und mentaler Retardierung/Entwicklungsstörung. Die im Zuge des Projekts durchzuführenden Versuche an Nagetieren dienen der Identifizierung der neuronalen Pfade, die bei der Bildung unterschiedlicher Gedächtnissysteme eine zentrale Rolle spielen, und der Untersuchung der synaptischen Mechanismen, die zu dauerhaften Veränderungen der Neurotransmission in diesen Nervenbahnen führen. Des Weiteren werden die Unterschiede in der synaptischen Struktur und der Distribution der Schlüsselmoleküle zwischen der linken und rechten Hemisphäre der Nagetiere analysiert.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Mäuse und Ratten werden als Tiermodelle für die Gedächtnisbildung und Links-Rechts-Asymmetrie unter Einbindung von Verhaltensparadigmen und neurochirurgischen Eingriffen am Gehirn herangezogen, einschließlich der Injektion von Markierungssubstanzen, chemischen Fixierungsverfahren und Proteinprobenvorbereitungen, die potentielle Belastungen und Dezimierungen unter der Versuchspopulation hervorrufen können. Wir verwenden hauptsächlich kurz dauernde, sehr gut etablierte Operationsmethoden, des Weiteren Organentnahmen um histologische Schnitte anzufertigen. Eine der angewandten Methoden ist außerdem der Blutentzug in tiefer Narkose, die Tiere wachen nicht mehr auf, das Blut wird dabei durch ein Fixationsmittel ersetzt. Ein

Schwerpunkt der Methodik sind außerdem noch einige gute etablierte Verhaltensanalysen die nicht invasiv sind und daher keinerlei Schmerzen für die Tiere verursachen.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Ratten: 310

Mäuse: 10275

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

**Vermeidung:** Wann immer dies möglich ist, werden Tierversuche durch In-silico-Modellierungen oder die Informationsgewinnung aus öffentlich zugänglichen Daten ersetzt. In vielen Fällen handelt es sich jedoch um Experimente, die spezifisch für bestimmte Gedächtnisparadigmen sind und auf hochsensiblen quantitativen Erhebungen beruhen, die sich weder ersetzen noch auf andere Weise generieren lassen.

**Verminderung:** Die Versuchskonzeption ist so ausgerichtet, dass die Anzahl der beteiligten Tiere auf ein Minimum beschränkt werden kann. Für die Untersuchung der neuronalen Pfade und der in den Prozessen involvierten Schlüsselmoleküle werden die unterschiedlichen Gehirnregionen daher möglichst simultan untersucht. Um die Zahl der erforderlichen Versuchstiere weiter zu reduzieren, können bei ein und demselben Tier verschiedene Markierungstechniken für verschiedene Zwecke angewandt werden. Für den Erhalt statistisch valider Versuchsergebnisse wird, durch die Verwendung hochsensibler quantitativer Messungen mit weniger Variablen als bei konventionellen Studien, das Minimum an Tieren eingesetzt. Zunächst wird das Datenmaterial von drei Tieren ausgewertet und geprüft, ob die gewonnenen Informationen für die Bestimmung statistisch signifikanter Unterschiede ausreichend sind. Im positiven Fall kann die Erhebung mit der Mindestanzahl an Tieren beendet werden. Im negativen Fall wird die Anzahl der Tiere zur Feststellung statistisch relevanter Differenzen zwischen den Versuchsgruppen auf sechs erhöht. Für Verhaltensexperimente wird üblicherweise eine größere Zahl an Tieren benötigt. Da die Versuche hier mit kleinen Tiergruppen durchgeführt werden, können die Daten aus der ersten Testreihe herangezogen werden, um vor der Einbeziehung weiterer Versuchstiere bereits etwaig vorhandene zuverlässige und statistisch aussagekräftige Daten zu identifizieren. Darüber hinaus wird in diesem Projekt auf modernste technische Erkenntnisse zurückgegriffen, sowohl in Bezug auf chirurgische Verfahren als auch auf verhaltensgestützte

Methoden. Somit kann gewährleistet werden, dass die Zahl der Versuchstiere so gering wie möglich gehalten und das Auftreten und Ausmaß unnötiger Belastungen während der Versuchsabläufe für die Tiere weiter reduziert wird.

Verfeinerung: Regelmäßige Rücksprachen mit dem veterinärmedizinischen Personal sollen zur weitergehenden Verbesserung des Versuchsprotokolls beitragen. Es werden alle erforderlichen Maßnahmen gesetzt, um die chirurgischen und verhaltensorientierten Paradigmen zu vereinfachen und so die Versuchstierbeanspruchung zu minimieren. Zudem soll die Dauer der chirurgischen Eingriffe am lebenden Objekt durch verbesserte und optimierte Fähigkeiten der Durchführenden und den ausschließlichen Einsatz von hierfür speziell geschultem Fachpersonal verringert werden

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

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

Ziel dieses Projektes ist es, die Rolle von IRF4 in der Pathogenese von CLL weiter zu untersuchen. CLL ist die häufigste Leukämieform im Erwachsenenalter in der westlichen Welt und gekennzeichnet durch einen extrem heterogenen und komplexen Krankheitsverlauf, der vor allem durch eine starke Abhängigkeit vom Mikromilieu gekennzeichnet ist. CLL Zellen, die der B-Zelllinie entstammen, interagieren mit verschiedensten Teilen dieses Mikromilieus, etwa mit T-Zellen, Stromazellen, Monozyten und Makrophagen, wobei sie in der Lage sind die „Arbeitsweise“ dieser Zelltypen ihren eigenen Bedürfnissen anzupassen und somit in eine tumorunterstützende Umgebung zu verwandeln die letztlich auch für die Entwicklung von Therapieresistenzen in vielen (wenn nicht sogar allen Patienten) verantwortlich ist. Wie genau CLL Zellen dies erreichen ist noch weitgehend unklar. Bekannt ist hingegen, dass IRF4, ein Transkriptionsfaktor der in der Reifung von B-Zellen, aber auch T-Zellen und myeloiden Zellen, sowie deren Apoptose- und Proliferationsverhalten eine wichtige Rolle spielt, entscheidend in den Verlauf der CLL eingreift. So konnte gezeigt werden, dass IRF4-Defizienz in Tc1 transgenen Mäusen, welche eine der humanen CLL sehr ähnliche Erkrankung entwickeln, zu einer sehr viel progressiveren Erkrankung führt und dass das Fehlen von IRF4 in der B-Zelllinie auch Auswirkung auf den Phänotyp von den, nicht von der Deletion betroffenen, T-Zellen und myeloischen Zellen hat. Um das Bild zu vervollständigen und aufzuklären welche Rolle IRF4 in der Pathogenese von CLL hat, beantragen wir hiermit die Genehmigung Tc1-transgene Mäuse mit IRF4 Überexpression in B-Zellen zu züchten und wissenschaftlich zu untersuchen.

zu erwartender Nutzen: Ein besseres Verständnis der Pathogenese von CLL und wie es dem Tumor gelingt das Mikromilieu nach den eigenen Bedürfnissen zu modellieren ist von großer Bedeutung für das Verständnis von sinnvollen Therapie-Kombinationen und die korrekte Voraussage über die Wahrscheinlichkeit und Auswirkung von Therapieresistenzen. Da ein komplexes System, das aus multip-len Parametern besteht, bestenfalls ansatzweise in vitro nachgestellt werden kann, ist die Verwendung von Mausmodellen nach wie vor notwendig und ohne vergleichbare Alternative.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Von den 563 beantragten Tieren werden 240 Tieren für die Zucht und Haltung der ursprünglichen Genotypen beantragt. Die restlichen 323 werden für die Zucht von IRF4 transgenen Tc1 benötigt. Tc1 ist ein Onkogen, das zur Ausbildung von chronisch lymphatischer Leukämie führt, wodurch diese Linie mit einem mittleren Schweregrad zu beurteilen ist. Durch Einkreuzung des Tc1 Transgens entwickelt ein Teil der Tiere eine CLL Erkrankung die ab einem Alter von 8 bis 12 Monaten beziehungsweise 3 bis 6 Monaten im Transplantmodell auftritt. Die Tiere werden nach Ausbrechen der Krankheit entsprechend der Abbruchkriterien getötet.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

563 Mäuse

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

**Vermeidung:** Allgemein sollte in der Forschung, wenn möglich, auf die Verwendung von Tierversuchen verzichtet werden und alternative Methoden gewählt werden. Die Grundlage zur Entwicklung von neuen Therapieansätzen ist jedoch die Gewinnung von Informationen zur Krankheitsentstehung und zum Krankheitsverlauf, die im Falle der CLL stark vom Einfluss des Mikromilieus abhängig sind. Darüber hinaus handelt es sich bei in vitro Ansätzen um Momentaufnahmen eines eher späten Krankheitszeitpunkts, der nicht die Tumorentstehung und den Krankheitsverlauf wiedergeben kann. Aus diesen Gründen kann bei der Erforschung der CLL auf das in vivo System derzeit nicht verzichtet werden.

**Verminderung:** Experimente sollten so ausgelegt werden, dass ein Maximum an Erkenntnissen aus der geringstmöglichen Anzahl von Tieren erlangt werden. Wir sind bemüht, die Anzahl der benötigten Mäuse mittels folgenden Maßnahmen so gering wie möglich zu halten:

- sorgsame Definierung unserer Ziele und Recherche der Literatur,
- effizienter Entwurf des Experiments, um die definierten Ziele klar erreichen zu können und eine Wiederholung der Experimente auf Grund von unklaren Resultaten zu vermeiden und
- Verwendung der Zellen desselben Tieres für das in vitro Studium weiterer Aspekte. Die kalkulierte Anzahl an Mäusen basiert auf experimentellen Erfordernisse und statistischen Berechnungen.

Verfeinerung: Die Belastung für das Versuchstier soll über den gesamten Verlauf der Haltung und Beobachtung auf das geringste Maß vermindert werden. Wir gewährleisten diese Kriterien durch

- artgerechte und tierschutzkonforme Unterbringung der Tiere während der gesamten Dauer der Studie,
- tägliche Kontrolle des Gesundheitszustandes,
- die Sachkunde der beteiligten Personen und
- Abbruch des Versuches bei einer unerwartet höheren Belastung.

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

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

Infektionen durch Schimmelpilze aus der Gruppe der Mucorales verlaufen sehr aggressiv, führen durch therapeutisch-chirurgische Maßnahmen häufig zu dauerhaften Entstellungen der Patienten und sind mit einer hohen Todesrate verbunden (über 90%). Die weltweite Zunahme dieser Erkrankungen ist vor allem durch Resistenzen gegen viele Pilzmedikamente bedingt, die zur Vorbeugung bei Risikopatienten (Immunschwäche, unkontrollierte Diabetes-Erkrankung, Verwundungen) eingesetzt werden. In einigen Kliniken sind sie bereits die häufigste Ursache von Schimmelpilzinfekten. Viele Mechanismen des Krankheitsverlaufs und der Immunreaktion sind noch ungeklärt; hinzukommt, dass neben der Therapie auch eine zuverlässige und schnelle Diagnose schwierig ist, die wegen des raschen Krankheitsverlaufs wichtig wäre. Viele Versuche werden von uns bereits „in vitro“, also „im Reagenzglas“ durchgeführt; auch neue Zellkultur-Methoden werden eingesetzt. Manche Fragestellungen zum Krankheitsgeschehen können jedoch nach wie vor nur im Tierversuch untersucht werden. Dieses Projekt hat mehrere Zielsetzungen:

- Etablierung eines Maus-Modells zur inhalativen Infektion (durch Einatmen) durch zwei wichtige Krankheitserreger (*Lichtheimia corymbifera* und *Rhizopus arrhizus*), das dann in allen Folgeprojekten zum Einsatz kommt und verschiedene Immunschwäche-Situationen von Patienten berücksichtigt (Immunschwäche durch Corticoid-Therapie, Zytostatika, Diabetes).
- Etablierung eines Modells von Blutplättchen-Mangel.
- Gezielte Untersuchung der Bedeutung bestimmter Elemente der angeborenen Immunität für den Krankheitsverlauf der *Lichtheimia corymbifera*-Infektion.

zu erwartender Nutzen:

- Die Etablierung eines reproduzierbaren Modells der inhalativen Infektion mit den beiden genannten Krankheitserregern bei verschiedenen Immunschwäche-Situationen ist eine Grundvoraussetzung für die weiteren Forschungen zum Krankheitsverlauf und zur Immunreaktion. b) Auch ein zuverlässiges Modell von Blutplättchen-Mangel ist für zukünftige Studien un-



erlässlich. c) Die gezielte Ausschaltung einzelner Elemente der Immunabwehr liefert Daten für zukünftige gezielte Maßnahmen bei Infektionen durch Pilze aus der Gruppe der Mucorales.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Ein Teil der Versuchstiere wird an einer Infektion durch Mucorales-Pilze erkranken.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

194 Mäuse

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

Vermeidung: Generell wurden und werden zahlreiche Experimente zum oben genannten Forschungsbereich *in vitro*, (d. h. „im Reagenzglas“), durchgeführt. Die Pilze werden im Labor gezüchtet, eine große Zahl von Versuchen erfolgt mit Zellkultur-Modellen. Um die Wechselbeziehungen zwischen Wirt und Krankheitserreger in einem möglichst lebensnahen Modell der menschlichen Atemwege erforschen zu können, wird auch ein dreidimensionales Lungengewebe-Modell entwickelt, in dem menschliche Zellen aus der Nasenhöhle, der Luftröhre und der tieferen Atemwege verwendet werden. Die Gewinnung vieler wichtiger Daten und die Erstellung von Hypothesen kann durch diese Methoden erfolgen. Ein völliger Verzicht auf Tierversuche ist jedoch nicht möglich, da für manche Fragestellungen und zur Überprüfung von Hypothesen nach wie vor *in vivo* (d. h. „im lebenden Wirt“)-Modelle erforderlich sind, um Vorgänge im Patienten nachzuvollziehen und die im Labor gewonnenen Daten und Ergebnisse vor der Anwendung bei Patienten im lebenden Wirt zu überprüfen. Dafür sind reine *in vitro*- und Zellkulturmethoden nicht ausreichend.

Verminderung: In den Versuchsteilen 1 und 3 werden 6 Tiere pro Versuchsgruppe verwendet, was laut Fallzahl-Kalkulation das Minimum darstellt, um statistisch signifikante Resultate erzielen zu können. (Ausnahmen: Die nicht infizierten Kontrollgruppen umfassen jeweils 7 Tiere. Der Grund dafür ist, dass wir zur Minimierung der Versuchstierzahl die gewonnenen Daten aus diesen Kontrollgruppen auch in Folgeexperimenten verwenden möchten. Gruppen von 7 Tieren erhöhen hierbei die statistische Aussagekraft. In künftigen Versuchen können durch den Verzicht auf diese Kontrollgruppen viele Tiere eingespart werden, bereits neun in diesem Teilprojekt). Bei der Etablierung eines Modells von Blutplättchen-Mangel werden nur 3 Tiere pro Versuchsgruppe verwendet, was nach unserem Erachten

das Minimum an Versuchstieren ist, um die Eignung der jeweiligen Methode beurteilen zu können.

Verfeinerung: Da Mäuse soziale Tiere sind, werden sie immer in Gruppen gehalten. In jedem Käfig erhalten die Mäuse ein Häuschen als Rückzugsmöglichkeit und neben der Einstreu noch zusätzliches Nistmaterial, das sie nach unserer Erfahrung sehr gerne zum Nestbau annehmen; manche Gruppen bevorzugen ein selbst gebautes Nest außerhalb des Häuschens. Auch die Nagehölzchen in den Käfigen werden gerne angenommen. Die Tiere werden vor dem Versuch zunächst eine Woche lang an ihre neue Umgebung gewöhnt. Dabei werden sie auch 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). Trotz des dadurch nötigen höheren Zeitaufwands sind wir von dieser Methodik überzeugt, da sie sich sehr bewährt hat, um Angst/Stress bei der späteren Durchführung des Versuchs zu reduzieren; die Tiere zeigen einen deutlich reduzierten Fluchtreflex und sind deutlich handzahmer als nicht-konditionierte Tiere. Wenn die Tiere während der Versuche erste Krankheitssymptome zeigen, werden ihnen in Wasser aufgeweichte Pellets angeboten. Dies erleichtert ihnen gegenüber der Futterraufe und der Trinkflasche die Futter- und Wasseraufnahme. Auch diese Maßnahme hat sich bereits in früheren Versuchen bewährt und wird von den Mäusen angenommen. Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 29. Februar 2020 vorgesehen.

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

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

Das menschliche Immunsystem hat vier wichtige Aufgaben zu erfüllen: es schützt uns vor pathologischen Mikroorganismen, es erkennt und bekämpft Neoplasien, es räumt abgestorbene Zellen und Zelltrümmer ab und es schützt uns vor der Fusion mit anderen Individuen und trägt damit zur Erhaltung der persönlichen Integrität bei. Es gibt aber auch Situationen, in denen das Immunsystem mit an und für sich ungefährlichen Stoffen aus der Umwelt und unserer Nahrung reagiert. Solche Reaktionen nennt man Überempfindlichkeitsreaktionen, wenn dabei die Immunglobulinklasse E (IgE) involviert ist, sprechen wir von IgE-assoziierte Immunreaktionen oder kurz Allergien. Um die Ursachen für die Entstehung vor allem aber die Möglichkeiten der Beeinflussung von allergischen Reaktionen besser verstehen zu können ist es notwendig, neue Interventionsformen in bereits allergischen Individuen oder aber in solchen Individuen die mit hoher Wahrscheinlichkeit allergisch werden, zu testen und dadurch neue Therapieformen im lebenden Organismus zu entwickeln.

zu erwartender Schaden: Um die menschlichen Reaktionsweisen im Tier besser studieren zu können haben wir menschliche Rezeptoren, die Allergen-spezifisch sind, in die T Zellen und Antigenpräsentierenden Zellen der Mäuse eingebracht. Als neuartige prophylaktische und therapeutische Interventionsformen sollen nun sogenannte altered peptide ligands (APL) sowie neuartige Verpackungssysteme für Allergene welche auf Mikrovesikel beruhen, im Tierversuch getestet werden. Zu diesem Zwecke, werden Mäuse durch Vernebelung oder intranasale Applikation gegenüber Allergenen sensibilisiert und nachfolgend mit allergen-spezifischen Mikrovesikeln, welche intranasal, intravenös oder intraperitoneal verabreicht werden, behandelt. Alternativ dazu, wird auch untersucht werden, ob die Vorbehandlung mit allergen-spezifischen Mikrovesikeln zu einer Verringerung der nachfolgenden Sensibilisierung gegenüber Allergenen führt. Neben den beschriebenen Immunisierungen, werden die Versuchstiere auch vorab genotypisiert. Um die erhofften Änderungen betreffend der Allergen-Sensibilisierung objektiv messen zu können, wird den Tieren in regelmäßigen Abständen Blut abgenommen (Se-

rum-Gewinnung für Nachweis allergen-spezifischer Immunglobuline) und die Tiere werden atemphysiologischen Untersuchungen unterzogen.

zu erwartender Nutzen: Wenn wir die immunologischen Grundlagen, die bei neuartigen Interventionen ablaufen einmal besser verstehen, kann auch eine breit angelegte therapeutische Neuorientierung rasch vonstattengehen.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

3803 Mäuse unterschiedlichen Genotyps

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

Zur Vermeidung von Tierversuchen wurden viele der Vorversuche und werden auch viele der hier beschriebenen Versuche in vitro in Zellkultursystemen durchgeführt. Wesentliche Teile der Studie erfolgen in vitro, wofür jedoch lebendes Gewebe, Gewebsverbände und Körperflüssigkeiten (z. B. Serum) von Mäusen unterschiedlichen Genotypes benötigt wird. Die Ergebnisse dieser sogenannten "in vitro" Systeme bilden dann die Grundlagen für weitere experimentelle Fragestellungen. Diese müssen dann zum Teil auch in einem Tiermodell durchgeführt werden da einerseits der Immunantwort komplexe zelluläre Interaktionen zugrunde liegen, die nicht ausschließlich in Zellkulturmodellen untersucht werden können. Andererseits können organpathologische Vorgänge, wie sie zum Beispiel im Rahmen von Atemwegshyperreaktivität bei asthmaähnlichen Zuständen vorkommen, nur in einem lebenden Organismus untersucht werden. Die Experimente zur Untersuchung von Immunreaktionen in vivo sind so geplant, dass ein mögliches Leiden der Tiere und die Anzahl an benötigten Tieren durch mehrere Maßnahmen reduziert werden:

- Alle Tiere werden unter standardisierten Bedingungen (geregelter Lichtzyklus, Luftfeuchtigkeit, Temperatur) in einem sogenannten „enriched environment“ (Papierrollen im Käfig um den Mäusen einen Unterschlupf zu ermöglichen, etc.) gehalten.
- 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.

- Falls es notwendig ist, wird auch eine Narkose oder Analgesie durchgeführt.
- Die Tiere werden während der Haltung und während eines Versuches regelmäßig beobachtet und für jeden experimentellen Ansatz werden auch klare Abbruchkriterien definiert, um unnötige Belastungen und Schmerzen, d. h. ein Leiden der Tiere zu vermeiden.

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

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

Amyotrophe Lateralsklerose (ALS) ist eine degenerative Erkrankung des motorischen Nervensystems. Diese Krankheit tritt weltweit auf und von 100.000 Menschen erkranken jährlich circa 1 bis 3 neu an ALS, dabei sind Männer häufiger betroffen als Frauen (1,5:1). Untersuchungen der letzten 10 Jahre zeigen, dass in den meisten sporadischen ALS Fällen eine Mutation im Gen TDP-43 auftritt. Die TDP-43 induzierte Pathologie kann im ganzen Gehirn beobachtet werden. Hauptsächlich jedoch im Motorkortex und Rückenmark, sowie sekundär in den Basalganglien und Thalamus. Durch die Mutation wird das Protein unlöslich, wodurch es zu Einlagerungen von TDP-43 im Zytoplasma kommt. Des Weiteren kommt es auf molekularer Ebene zu Hyperphosphorylierung, Ubiquitinierung und Spaltung des Proteins in mehrere Fragmente. Diese Veränderungen führen zu einer verstärkten Sterblichkeit der betroffenen Zellen. Außerdem wird Astrogliose und Mikrogliose in den betroffenen Hirnarealen aktiviert, was auf eine entzündliche Reaktion hindeutet. In den letzten Jahren wurden große Fortschritte in der Erforschung von ALS, sowie ähnlichen Krankheiten, wie der frontotemporalen Lobärdegeneration (FTLD) gemacht, die ähnliche Symptome wie ALS aufweist. Mit der vorliegenden Studie soll ein induziertes Mausmodell der ALS Krankheit etabliert und charakterisiert werden, das eine langsamer fortschreitende Pathologie aufweist als bereits etablierte transgene Tiermodelle.

zu erwartender Nutzen: Durch diese Studie soll ein neues induzierbares ALS Mausmodell etabliert und charakterisiert werden, so dass es im Anschluss für die Austestung neuer Substanzen gegen die Krankheit eingesetzt werden kann.

zu erwartender Schaden: Diese Studie ist eine Folgestudie von den erfolgreich abgeschlossenen Pilotexperimenten. In dieser Hauptstudien sollen Mäuse im Alter von 12 Wochen mit den TDP-43 Viruspartikeln in den dorsalen Funikulus injiziert werden und nach 4 verschiedenen Zeitpunkten die motorischen Fähigkeiten der Tiere mittels verschiedener Verhaltenstests untersucht werden. Im Anschluss werden die Tiere euthanasiert und die Gehirne und das Rückenmark der Tiere entnommen und histologisch und biochemisch auf TDP-43 Expression als auch Amyotrophe Lateralsklerose (ALS) typische Pathologien untersucht.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden 200 männliche Mäuse beantragt.

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

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

**Verminderung:** In dieser Studie sollen pro Gruppe 20 Tiere verwendet werden. Da die Versuche in kleinen Kohorten durchgeführt werden, würden die Tests jeweils zeitnah ausgewertet und gegebenenfalls könnten die Gruppen verkleinert werden und erst gar nicht operiert werden.

**Verbesserung: 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 der Operation durch so genanntes „Handling“ mit den involvierten Personen vertraut gemacht, um unerwünschte Stressreaktionen 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 des Weiteren, dass zur Durchführung des Tierversuchs nur Tiere verwendet werden, deren Gesundheitszustand einwandfrei ist. Alle Tiere stehen unter ständiger tierärztlicher Kontrolle. Erkrankte, verletzte, sowie frisch angelieferte Tiere werden gegebenenfalls in einem separaten Quarantänerraum untergebracht und beobachtet. Leidet ein Tier an Symptomen wie Verletzungen, Umfangsvermehrung oder Anämie wird der Tierarzt so rasch wie möglich informiert und entscheidet über Behandlung oder Euthanasie.

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

Unser Wissen in Bezug auf die gemeinsame und gleichzeitige Unterbringung von Mäusen und Ratten im selben (Tier-)Raum beziehungsweise in angrenzenden Tierräumen ist noch sehr lückenhaft. Es ist zwar bekannt, dass die Ratte der natürlichen Fressfeind (predator) des Beutetiers Maus ist, inwieweit dies jedoch die jeweiligen Tiere belasten kann, ist noch nicht vollständig geklärt. In wissenschaftlichen Einrichtungen ist es zwar üblich, Mäuse und Ratten streng voneinander zu trennen, jedoch zieht einer der weltweit größten kommerziellen Züchter beide Tierarten in denselben Räumen auf. Daher möchten wir Daten erheben zur Frage, ob Mäuse durch die Anwesenheit von Ratten im selben Raum oder im angrenzenden Raum mehr gestresst sind als Mäuse, die nicht im selben Raum mit Ratten gehalten werden. Die bisher vorhandenen Forschungsdaten reichen nicht aus, um diese Frage seriös beantworten zu können. Im Besonderen gibt es keine Daten zur Haltung/Testung von Mäusen und Ratten in aneinandergrenzenden Räumen, die durch eine Tür verbunden sind. Wir beschäftigen uns schon länger mit der konditionierten Platzpräferenz/Aversion (conditioned place preference/aversion, CPP/CPA) für dyadische soziale Interaktion (DSI), also die Interaktion zweier Individuen. Bei diesen Untersuchungen werden Störungen der Befindlichkeit der Versuchstiere untersucht, wie beispielsweise der Einfluss der/s Experimentatorin, d h wie sie/er die Versuchstiere angreift, Effekt durch unterschiedliches Körpergewicht der gleichgeschlechtlichen (männlichen) Interaktionspartner etc. Wir möchten mit diesen Untersuchungen eine mögliche gegenseitige Beeinträchtigung der Mäuse und Ratten mittels CPP/CPA für DSI messen und die Ergebnisse dann in Zahlenwerten auszudrücken, um die entsprechende Datenlage zu verbessern. Bei den Versuchstieren sollen auch der Verlauf des Körpergewichts, die Zahl ihrer Kotpellets (Zeichen von Aufregung und Angst) und die Konzentration an Stresshormonen im Kot (als Maß für Dauerstress) gemessen werden, um festzustellen, welche dieser Messgrößen als Hinweis auf prosoziales Verhalten und auf die Belastung der Tiere verwendet werden kann.



zu erwartender Nutzen: wenn sich herausstellen sollte, dass die gleichzeitige Unterbringung von Mäusen und Ratten im selben Raum in Bezug auf deren belastungsempfindliche dyadische soziale Interaktion ohne Effekt ist, würde dies einen wesentlichen Erkenntnisgewinn für das Wohl der Versuchstiere bedeuten. Jedoch wäre auch der Nachweis einer Belastung von Nutzen, weil damit einer gemeinsamen Haltung von Mäusen und Ratten datenbasiert und zum Wohl der Versuchstiere entgegengetreten werden könnte.

zu erwartender Schaden für die Tiere: einmalige Belastung der Mäuse durch die gleichzeitige versuchsvorbereitende und versuchsbegleitende Unterbringung und Testung von Ratten; vielleicht auch (obwohl unwahrscheinlich) die einmalige Belastung der Ratten durch Mäuse. Die Testung der Tiere ist mit 21 Tagen begrenzt.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

80 Ratten und 144 Mäuse

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

Vermeidung unnötiger Tierversuche, wenn sich herausstellen sollte, dass die Daten durch die Anwesenheit der jeweils anderen Genus verfälscht werden.

Verminderung der Belastung der Versuchstiere: die Untersuchungen sind so vorgesehen, dass die Tiere durch entsprechende Versuchsvorbereitung und Versuchsbegleitung nur minimal belastet werden.

Verfeinerung: die Käfige, in denen die Tiere während der Testphase gehalten werden, sind mit Häuschen zum Verstecken und Nistmaterial zur Beschäftigung ausgestattet. Die Testgeräte werden regelmäßig gereinigt und desinfiziert, so dass Gerüche von vorher getesteten Tiere als Einflussfaktoren ausgeschaltet werden.

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 Bestimmung der Verdaulichkeit der Rohnährstoffe ist die Basis für die energetische Futtermittelbewertung beim Wiederkäuer, die Berechnung der N-Bilanz ermöglicht die Einschätzung der N-Retention im Tier. Verschiedene Forschungsanstalten überprüfen regelmäßig den deklarierten Energiegehalt von im Handel befindlichen Milchleistungsfutter und Mastfuttern für Rinder und Schafe ("energetische Futterwertprüfung"). Hierbei wird z. B. der Gehalt eines Milchleistungsfutters an Nettoenergie-Laktation (NEL) oder der Gehalt eines Mastfutters an umsetzbarer Energie (umsetzbare Energie, ME) auf der Grundlage der verdaulichen Rohnährstoffe berechnet. Aufgrund der Nährstoffveränderungen in den aktuellen Sorten von Getreide sowie Nebenprodukten, welche durch diverse Zuchtziele hervorgerufen werden, ist eine laufende Evaluierung der Rohnährstoffverdaulichkeit unumgänglich. Ziel dieses Fütterungsversuches ist es, die verdaulichen Rohnährstoffe von Milchleistungsfutter (Teilversuch 1) und Traubenkernmehl und Traubentrester (Teilversuch 2) zu quantifizieren und den Gehalt an umsetzbarer Energie und die N-Retention zu berechnen.

zu erwartender Schaden: Teilversuch 1: Bei Milchleistungsfutter (MLF) gilt es die deklarierten Energiegehalte zu überprüfen. Abweichend von der Richtlinie wird eine kürzere Kotsammelperiode und verschiedene Einsatzmenge des MLF auf Wiederholbarkeit geprüft. Somit wird ein verändertes Versuchsprotokoll getestet, welches zukünftig kürzere Aufenthalte der Tiere in Verdaulichkeitskäfige erlauben soll. Teilversuch 2: Es wird davon ausgegangen, dass ein steigender Einsatz von Nebenprodukten der Weinproduktion zu einem geringeren ME-Gehalt führen, da der Gehalt an Polyphenolen die Abbaubarkeit von Gerüstsubstanzen im Pansen einschränkt, weil die Aktivität der Pansenmikroben negativ beeinflusst wird und somit die Verdaulichkeit der Faserbestandteile und N-Retention sinkt.

zu erwartender Nutzen: Wir erhoffen uns durch diesen Versuch die Verbesserung des Wohlergehens der Tiere und Produktionsbedingungen zu erreichen, da Getreide und Nebenprodukte der Lebensmittelproduktion zukünftig präziser in der Wiederkäuerernährung eingesetzt werden können.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

12 männliche Schafe

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

Der Versuchsaufbau wurde so gewählt, dass er abweichend von den Leitlinien für die Bestimmung der Verdaulichkeit von Roh Nährstoffen an Wiederkäuern ausgeführt wird, um die Anzahl der Tage in den Verdauungskäfige zu reduzieren. Die Forschungsfrage kann nicht über Ersatzmethoden beantwortet werden, da Ausscheidungsprodukte eines intakten und gesunden Organismus untersucht werden müssen. Es werden keine dem Organismus belastende Stoffe verfüttert, wodurch es zu keiner zusätzlichen Form des Leidens der Tiere im Rahmen des Tierversuches kommt. Die Tiere haben während des gesamten Versuches freien Blickkontakt zu einander. Der Boden der Verdauungskäfige besteht in der Mitte aus perforiertem verzinktem Blech, wie in Verdauungskäfigen üblich, sodass der abgelassene Urin in darunter stehende Behälter aufgesammelt werden kann. In den Zeiten zwischen den Versuchsdurchgängen erfolgt die Haltung der Tiere gruppenweise im Tierraum auf Stroh als Einstreu. In den Sommermonaten werden die Tiere in den Zeiten zwischen den Versuchen auf einer naheliegenden Weide gehalten. In der Vorbereitungsphase werden die Tiere je nach Zuordnung an die Versuchsgruppe gefüttert. Somit wird eine Anpassung des gesamten Magendarmtraktes an das zu prüfende Futter gewährleistet.

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

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

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

zu erwartender Nutzen: Das Ziel unsere Studie ist zu verstehen, welche Rolle das Immunsystem beim Verlust des Augenlichtes spielt. Im Speziellen wollen wir untersuchen, wie ein bestimmter Zelltyp, nämlich die Mikroglia, weiß, wann sie bestimmte Nervenzellen während der Entwicklung des Nervensystems entfernen muss, während sie die ausgewachsenen Nervenzellen in Ruhe lässt. Dieses Wissen ist fundamental, weil der Verlust des Augenlichtes immer mit dem Entfernen von Nervenzellen durch Mikroglia einhergeht. In diesem Sinne könnten Mikroglia für den Ausbruch und/oder das schneller Fortschreiten einer krankheitsbedingten Erblindung verantwortlich sein. Dadurch, dass wir die Grundlagen der Mikroglia-Funktion und Interaktion mit bestimmten neuronal Zelltypen während der Nervensystementwicklung untersuchen, werden wir fundamentales Wissen darüber erhalten, wie und warum Mikroglia aggressiver gegenüber gesunden Nervenzellen reagieren und damit ein Krankheitsbild auslösen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Für das Erzielen unserer Ergebnisse können wir auf gut etablierte Standardmethoden zurückgreifen, die teilweise auch am Menschen angewandt werden. Für manche unserer Methoden sind kleine Operationen notwendig bei denen für die Tiere vor-, während und nach der Operation fachgerechte veterinärmedizinische Betreuung garantiert ist. Die Operationen werden mit dem aktuellsten Wissen hinsichtlich Narkose und begleitender Schmerztherapie durchgeführt. Wir arbeiten aber auch mit nichtinvasiven Verhaltenstests. Um den Einfluss von Licht auf die Funktion der, für das Sehvermögen wesentlichen Nervenzellen untersuchen und beurteilen zu können, werden die Tiere mit wechselnden Lichtverhältnissen konfrontiert.

2. Art und Anzahl der Tiere

39.374 für unser Projekt gezüchtete Mäuse (*Mus musculus*)

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

Vermeidung: Unser Projekt bietet uns leider keine Möglichkeit unsere Studien in vitro oder am Computer zu simulieren. Untersuchungen am lebenden Tier sind für unser Projekt entscheidend und können nicht durch andere Modelle ersetzt werden.

Verminderung: Um die Zahl an verwendeten Tieren so niedrig wie möglich zu halten bei gleichzeitigem Erhalt von signifikanten, statistischen Aussagen werden wir mit Pilotstudien arbeiten, die uns eine Aussage darüber geben, ob unser Ansatz korrekt ist und zu statistisch signifikanten Aussagen führen kann. Die Ergebnisse dieser Pilotstudien entscheiden ob und in welchem Ausmaß (mit wie vielen Tieren) wir unsere anschließenden Experimente durchführen. In unserem Fall ist von Vorteil, dass jedes Tier 2 Augen besitzt, die beide Ergebnisse liefern. Wir behandeln ein Auge und verwenden das 2. Auge als unbehandelte Kontrolle. Dadurch können wir die Zahl der verwendeten Versuchstiere reduzieren.

Verfeinerung: Wie bereits oben beschrieben, wissen wir, dass das Immunsystem eine zentrale Rolle im Rahmen einer möglichen Erblindung spielt. Wir zielen daher bei der Wahl unserer Methoden darauf ab, das Immunsystem nach Möglichkeit nicht zu aktivieren beziehungsweise in seiner Aktivität niedrig zu halten. Allein aus diesem Grund sind alle angewandten Methoden nur schwach oder gar nicht invasiv und auch in der Dauer zeitlich kurz gehalten. Unsere Pilotstudien, der ständige Austausch mit anderen Forschungsgruppen im Feld sowie intensive Beobachtungen unserer Tiere im Experiment werden uns helfen, die verwendeten experimentellen Protokolle ständig zu verbessern und dadurch eine mögliche Belastung der Tiere 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

Angst und Furcht sind physiologisch, emotionale Reaktionen auf bedrohliche Ereignisse, doch diese Emotionen können, entkoppelt von jeglicher Kontrolle überhand nehmen und dadurch direkt mit unserem täglichen Leben interferieren. Angststörungen sind mittlerweile die häufigste psychiatrische Erkrankung, betroffen sind im Durchschnitt jährlich ungefähr 14% der Bevölkerung. Zusätzlich zum persönlichen Leid verursachen Angststörungen eine immense ökonomische Last mit direkten und indirekten Kosten von geschätzten 74 Milliarden Euro pro Jahr in Europa. Expositions-basierende Verhaltenstherapien, welche exzessive Angst löschen sollen, stellen die bevorzugte Strategie zur Behandlung dar. Allerdings erfahren nur etwa 40% der Patienten eine partielle, langzeitliche Linderung der Symptome durch die vorhandenen Behandlungsweisen und bei einer Mehrheit der Patienten scheitert eine vollständige Genesung. In unserem innovativen Forschungsansatz schlagen wir nun vor, sogenannte Komorbiditäten als Ausgangspunkt neuer therapeutischer Möglichkeiten zu evaluieren, denn Angststörungen zeigen einen hohen Grad an Komorbidität mit Essstörungen wie z. B. Magersucht (Anorexia nervosa), Bulimie und „Binge Eating“- Störungen. Diese Zusammenhänge lassen eine gemeinschaftliche neuronale Basis zwischen Angsterkrankungen und Essstörungen vermuten.

zu erwartender Nutzen: Im vorliegenden Antrag wollen wir nun Rezeptor-Interaktionen mit distinkten Transmitter-System in einem translationalen Mausmodell zu refraktären Angststörungen im Detail untersuchen. Dadurch erhöhen wir sowohl die Abbildungs- als auch die Ursachvalidität zu klinischen Befunden von Angststörungen wie z. B. posttraumatischer Stressbelastung (PTSB) oder Panikstörungen, welche stark von einer Resistenz gegenüber Extinktions-basierender Verhaltenstherapien geprägt sind. Mit unserer Arbeit zur Identifizierung neurobiologischer Mechanismen einer beeinträchtigten Angstlöschung werden wir aber vor allem einen wichtigen ersten Schritt zur Etablierung neuartiger therapeutischer Ansätze leisten.

zu erwartender Schaden: Das angewandte Methodenspektrum wurde sorgfältig unter Berücksichtigung der 3R-Regel ausgewählt und beinhaltet einerseits histologische Verifizierungen, andererseits in vivo Mikrodialyse und elektrophysiologische Messungen distinkter neuronaler Zentren und EEG-Aufnahmen. Alle notwendigen operativen Eingriffe erfolgen unter Vollnarkose mit modernster Technik, gefolgt von postoperativer Analgesie nach veterinärmedizinischen Standards. Die Tiere können sich während der Experimente größtenteils frei und ungehindert in ihren Heimkäfigen bewegen. Dieses ungestörte Verhalten ist eine Voraussetzung für unsere Fragestellungen und trägt in erheblichem Maße zum Wohlbefinden der Tiere während der Experimente bei.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

insgesamt 585 Mäuse

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

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

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

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

Rückenmarksschädigungen haben nach wie vor dramatische Auswirkungen auf die Lebensqualität betroffener Patienten. Trotz des großen Fortschritts in der regenerativen Forschung gibt es nach wie vor keine therapeutischen Optionen für Betroffene. Stoßwellen sind Schalldruckwellen und werden seit den 70er-Jahren zur Zertrümmerung von Nierensteinen eingesetzt. Seit einigen Jahren hat sich die Stoßwelltherapie (SWT) mit niedriger Energieflussdichte als Standardtherapie oder alternative Behandlungsmethode für eine Vielzahl von orthopädischen Krankheiten und auch Erkrankungen des Weichteilgewebes etabliert. Am Herzen als auch in anderen Geweben konnte gezeigt werden, dass Stoßwelltherapie einen potenten regenerativen Effekt hat. Rückenmarksläsionen enden meist in einer Querschnittslähmung. Diese hat fatale Folgen für den Patienten und bedeutet eine massive Einschränkung der Lebensqualität. Diese Komplikation ist bis dato unbehandelbar. Aufgrund der bekannten Vordaten könnten die betroffenen Patienten von der Stoßwelltherapie profitieren. Obwohl der Versuch mit einer ähnlichen Belastung der Versuchstiere einhergeht, könnten die dadurch erworbenen Kenntnisse zu einer Therapie für derzeit unheilbar kranke Menschen führen.

zu erwartender Nutzen: In diesem Projekt soll untersucht werden, ob diese positiven Effekte auch bei Rückenmarksläsionen zur Geltung kommen und somit für betroffene Patienten eine Behandlungsalternative darstellen.

zu erwartender Schaden: Zu diesem Zweck werden bei Mäusen Rückenmarksverletzungen herbeigeführt und Stoßwelltherapie angewandt. Danach werden die Tiere untersucht, um festzustellen, ob sich eine neurologische Besserung einstellt. Dies wird mittels spezieller neurologischer Tests untersucht. Zusätzlich werden mittels Magnetresonanztomographie und Computertomographie strukturelle Veränderungen am Rückenmark untersucht. Zum Endzeitpunkt wird das behandelte Rückenmark molekularbiologischen Analysen zugeführt, mittels derer evaluiert werden soll, ob und wie die Stoßwelltherapie regenerative Signalwege aktiviert. Es wird versucht, die Tierzahl möglichst gering zu halten.

2. Art und Anzahl der Tiere

Insgesamt werden in einem Zeitraum von 3 Jahren bis zu 216 Mäuse verwendet.



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

**Vermeidung:** Für alle Detailfragestellungen, die in Zellkulturexperimenten und Gewebekulturen beantwortbar sind, werden Tierversuche unterlassen. Wir verwenden beispielsweise zur detaillierteren Erkundung des Neuronenwachstums einen speziellen in vitro Test.

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

**Verfeinerung:** Für sämtliche Messungen sind modernste Analyseverfahren beziehungsweise -geräte vorgesehen, sodass Effekte mit einer möglichst geringen Tierzahl detektiert werden können. Für die gesamte Dauer der Narkose werden die Tiere mittels einer Wärmeplatte gewärmt. Die Haltung der Tiere erfolgt in Gruppenhaltung mit environmental enrichment. Die Tiere werden täglich visitiert und regelmäßig klinisch untersucht.

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

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

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

Lungenkrebs, oder auch Bronchialkarzinom genannt, ist eine der häufigsten malignen Tumorerkrankungen. Ein Therapieerfolg ist erheblich von der Art des Karzinoms abhängig. Das nichtkleinzellige Bronchialkarzinom („Non Small Cell Lung Cancer“, NSCLC) ist die bösartigste Form (circa 80-85% aller Fälle) des Lungenkrebs und für die hohe Sterblichkeitsrate verantwortlich. Zum Zeitpunkt der Diagnose ist die Krankheit meist schon in einem fortgeschrittenen Stadium und in vielen Fällen sind bereits Metastasen vorhanden. Eine der wenigen noch möglichen Behandlungsmethoden stellt eine zielgerichtete molekulare Therapie mittels Tyrosinkinaseinhibitoren (TKI) dar. Diese Tyrosinkinaseinhibitoren binden an den Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR), der an der Oberfläche aller Körperzellen vorkommt und der eine wichtige Rolle in der Zellteilung spielt. Dadurch wird dieser Rezeptor in seiner Aktivität gehemmt und damit auch die rasante Zellteilung des Tumors. Erlotinib ist ein Tyrosinkinaseinhibitor der ersten Generation und wird seit 2005 in der Therapie von nichtkleinzellige Bronchialkarzinome eingesetzt. Vor allem Patienten, die eine Mutation im EGFR-Gen haben, die die Zellteilung forciert (circa 10-15% aller Fälle), sprechen auf diese Behandlung gut an. Leider tritt bei vielen Patienten, die so behandelt wurden und die anfangs gut auf die Therapie angesprochen haben, nach circa 6 bis 9 Monaten eine Resistenz gegenüber Erlotinib auf. Diese Resistenz kann unter anderem auf einer Mutation von EGFR oder aber auch auf einer Überexpression von ABCB1 und ABCG2 basieren. Letztere sind sogenannte Efflux-Transporter, die Erlotinib aus der Zelle transportieren, bevor es seine Wirkung entfalten kann. AZD9291 ist ein Tyrosinkinaseinhibitor der dritten Generation, welches speziell für Patienten entwickelt wurde, bei denen eine Erlotinib-Resistenz vorliegt. Um abzuklären, ob eine Erlotinib-Resistenz vorliegt, ist ein chirurgischer Eingriff nötig, bei dem eine Gewebeprobe des Tumors gewonnen wird. Leider ist eine solche Biopsie aus verschiedenen Gründen nicht immer möglich. Darüber hinaus ist, trotz aller Anstrengungen, die Erhebung des Resistenzstatus mit großen Unsicherheiten behaftet. In dieser Studie soll mittels Positron-Emissions-Tomographie (PET), einer nuklearmedizinischen Untersuchungsmethode, und in Kombination mit Magnet-Resonanz-Tomographie (MRT) untersucht werden ob es möglich ist Tyrosinkinaseinhibitor-

resistente von Tyrosinkinaseinhibitor-sensitiven Tumoren zu unterscheiden. Dazu werden einerseits Tyrosinkinaseinhibitoren der ersten (Erlotinib) und dritten (AZD9291) Generation radioaktiv mit  $^{11}\text{C}$  markiert und als PET-Tracer verwendet und andererseits werden Erlotinib-sensitive und Erlotinib-resistente Tumorzelllinien in immundefizienten Mäusen implantiert. Nach der Applikation der PET-Tracer kann man anhand des PET-Bilds erkennen, ob sich die jeweiligen PET-Tracer in den jeweiligen Tumoren anreichern oder nicht. Unsere Hypothese ist, dass wir auf Basis der Tumorspeicherung der radioaktiv markierten Tyrosinkinaseinhibitoren resistente von sensitiven Tumoren unterscheiden können, das heißt es wird erwartet dass sensitive Tumore den radioaktiv markierten Tyrosinkinaseinhibitor in höherem Ausmaß speichern als resistente Tumore. Wenn dieser diagnostische Ansatz funktioniert, könnte in Zukunft die Therapieplanung von Patienten mit nichtkleinzellige Bronchialkarzinom verbessert werden und auf einen chirurgischen Eingriff verzichtet werden.

zu erwartender Nutzen: Wenn dieser diagnostische Ansatz funktioniert, könnte in Zukunft die Therapieplanung von Patienten mit nichtkleinzellige Bronchialkarzinom verbessert werden und auf einen chirurgischen Eingriff verzichtet werden.

zu erwartender Schaden: Den Mäusen werden Tumorzellen implantiert, was zu Schmerzen führen kann. Die Untersuchungen selbst werden in Allgemeinanästhesie durchgeführt und sind somit weitestgehend schmerzfrei, aber die Tiere werden an 2 konsekutiven Tagen untersucht. Am 2. Tag werden die Mäuse noch in Allgemeinanästhesie euthanasiert.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

425 Mäuse.

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

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

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

Verfeinerung: Es sind sowohl für eine tiergerechte Haltung von Mäusen, als auch für die eigentliche Durchführung der Experimente sämtliche nötigen infrastrukturellen Güter vorhanden. Das betrifft insbesondere ausreichend geschultes Fach-

personal mit langjähriger Erfahrung, als auch alle Hilfsmittel, die zur Abwehr von psychischem (z. B. "enviromental enrichment") und physischem Leid (z. B. Schmerzmittel) der anverantworteten Versuchstiere dienen können. Für die Durchführung der Experimente selbst, ist langjährige Expertise vorhanden. Die Tiere selbst und das Tumorwachstum werden täglich kontrolliert, so dass hier sehr kurzfristig leidmindernd eingegriffen werden kann.

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

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

Die morphologischen Verhältnisse von Organen einer bestimmten Spezies sind extrem gut reproduzierbar. Wie dies letztlich umgesetzt wird, ist eine grundsätzliche Frage der Biologie. Um dies zu verstehen, untersuchen wir die grundlegenden Mechanismen, welche das Wachstum und die morphologischen Muster der Organentwicklung im Embryo steuern. Während der Embryonalentwicklung regeln Moleküle, sogenannte Morphogene, sowohl das Wachstum als auch die räumliche Anordnung der verschiedenen Zelltypen innerhalb der Organe. Die Morphogene werden von Zellen an speziellen Positionen abgesondert und dispergieren so im Gewebe, dass ihre Konzentration nahe der Produktionsquelle am höchsten ist.

zu erwartender Nutzen: Wir erwarten uns davon einen tiefen Einblick in die Beziehung zwischen der Konzentration der Morphogene und deren Auswirkungen auf das Wachstum und die Zelltyp-Muster der verschiedenen Geweberegionen. Zu diesem Zweck werden wir neue Experimente entwickeln, die eine präzise Manipulation und Messung der morphogenen Aktivität und Zellteilung ermöglichen. Darüber hinaus werden wir feststellen, wie sich das Wachstum selbst auf die morphogene Aktivität auswirken kann. In unseren Experimenten kombinieren wir mehrere Modellsysteme, und zwar Maus, Küken- und Zebrafisch-Rückenmark sowie embryonale Stammzellen. Diese Prinzipien lassen sich allerdings wahrscheinlich auf viele weitere Organe und in-vitro erzeugte Gewebe anwenden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Wir werden nur bestens bekannte und bewährte Verfahren und Techniken anwenden, wie beispielsweise: Züchtung von genetisch veränderten Mauslinien ohne pathologischen Phänotyp; Injektion von Substanzen, die das Zellwachstum sichtbar machen; Kaiserschnitt. Die Versuchstiere werden Verfahren ausgesetzt, die einen mittleren Schweregrad nicht überschreiten.

2. Art und Anzahl der Tiere

Ratte (*Rattus norvegicus*): 150

Maus (*Mus musculus*): 6514

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

**Vermeidung:** Im Rahmen der Möglichkeiten entwickeln und nutzen wir in-vitro Modelle (embryonale Stammzellen) für unsere Untersuchungen. Wir führen eine große Zahl der Untersuchungen z. B. an Hühnerembryonen und Zebrabärblingembryonen durch. Darüber hinaus nutzen wir die Küken- und Zebrabärbling-Modellsysteme für die Durchführung von Pilotstudien, bevor wir mit Experimenten an Mäusen beginnen.

**Verminderung:** Wir werden lebende Indikatoren nutzen, wodurch die Verwendung von Versuchstieren reduziert werden kann, da die temporäre Verhaltensweise durch direkte Beobachtung eines einzigen Tieres abgeleitet werden kann, anstatt viele verschiedene Tiere zu unterschiedlichen Zeitpunkten zu analysieren. Wann immer dies möglich ist, teilen wir transgene Linien und Gewebe von Tieren mit anderen Gruppen. Die Kryokonservierung von Keimzellen, Embryonen und Gewebe ist mittlerweile Routine und gewährleistet, dass nur eine minimale Anzahl an Tieren genutzt/gehalten wird. Darüber hinaus halten wir genetisch veränderte Mauslinien als Homozygoten. Da wir häufig heterozygote Embryonen für ein Transgen sammeln, verringert dies die Anzahl der notwendigen zeitlich abgestimmten Paarungen, um eine ausreichende Anzahl von Embryonen zu erhalten. Wir nutzen außerdem Fluoreszenz-Indikatoren (unter bestimmten Umständen), wodurch Biopsien vermieden werden können, vor allem für die Genotypisierung.

**Verfeinerung:** Soweit möglich, prüfen wir vorab Substanzen (einschließlich Moleküle zur Einleitung von Genexpression, Zelltod etc. sowie Mutagene) und Mikroorganismen/Erreger wie Viren in-vitro, um die ungefähren in-vivo benötigten Dosen zu ermitteln. Darüber hinaus sorgen wir dafür, dass unsere Tierversuche nach dem neuesten Stand wissenschaftlicher Erkenntnisse und mit aktuellen Techniken durchgeführt werden. Wir wählen nur gut etablierte Protokolle. Zu Ausbildungszwecken verwenden wir tote Tiere. Sofern dies praktisch durchführbar ist, bevorzugen wir induzierbare genetische Veränderungen, so dass die Tiere bis zur Expression des Kandidatengens oder bis eine Deletion herbeigeführt wird, keinen Phänotyp 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

In der Humanmedizin kann bei Herzklappenfehlern die betroffene Klappe unter Verwendung einer Herz-Lungen-Maschine ersetzt werden. In diesem Fall kann entweder eine mechanische oder einer biologische Prothese eingesetzt werden. Bei biologischen Prothesen stehen zwei Varianten zur Verfügung: die bislang eingesetzten, welche eingenäht werden oder sogenannte Sutureless-Bioprothesen, die nach dem Entfernen der erkrankten Herzklappe ohne Verwendung von Haltenähten „hineingesteckt“ werden. Die damit verbundene Zeitersparnis ist besonders bei Patienten mit zusätzlichen Organschäden oder bei Kombinationseingriffen ein Vorteil. Neben der konventionellen Methode können Herzklappen aber auch ohne Herz-Lungen-Maschine eingesetzt werden. Dazu wird eine biologische Herzklappe auf einem Katheter montiert und entweder über die Leistenarterie, die Herzspitze oder über einen kleinen Schnitt am oberen Brustbein eingebracht. Diese Methode, bekannt unter dem Namen „TAVI“-Prozedur steht zurzeit nur zur Behandlung einer der vier Herzklappen, der Aortenklappe, zur Verfügung, nicht jedoch für die am zweithäufigst erkrankte Mitralklappe. Es stellt sich die Frage, ob eine gerüstlose, metallfreie TAVI-Prothese auch als Sutureless-Prothese in Aortenposition eingesetzt werden kann. Im zweiten Projektantrag soll die Frage weiters beantwortet werden, ob diese Prothese als Sutureless-Mitralklappenprothese verwendet werden kann.

zu erwartende Nutzen: ist, dass bei sehr geringer Fallzahl geklärt wird, ob sich die TAVI-Prothese als Sutureless-Prothese in Aorten- und Mitralposition für den humanen Herzklappen-Ersatz eignet. Die gesamte Prozedur unterscheidet sich (exklusive Versuchsende) in keiner Weise von den Herzklappenoperation am Menschen. Die Versuchsteilnehmer besitzen jahrelange Erfahrung mit der Implantation von Herzklappen am Menschen und mit Versuchen an Tieren.

zu erwartende Schaden: Sämtliche schmerzhaften Eingriffe an den Versuchstieren inklusive ihrer Tötung erfolgen in adäquater Sedierung oder Narkose, die Tiere werden am Ende der Experimente bei fortlaufender Narkose getötet. Alle Ver-

fahren sind technisch in der Arbeitsgruppe etabliert. In bisherigen Versuchsreihen ergab sich kein Anhalt für Schmerzen, Leiden oder Angst der Tiere.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

10 Hausschweine

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

**Vermeidung:** Eine Vermeidung des hier beantragten Tierversuchs ist nicht möglich, da der Grad der Funktionalität der Herzklappen-Prothesen nur in vivo erprobt werden kann. Die Prüfung der Methode an vom Schlachthof entnommenen Herzen ist nicht möglich, da diese Herzen weder kontraktionsfähig gemacht werden können, noch kann darin ein physiologischer Druck aufgebaut werden. Ohne diese beiden Faktoren ist die Funktionalität der Methode nicht validierbar.

**Verminderung:** Um dabei die Anzahl der Versuchstiere so gering wie möglich zu halten, werden die Implantationen auf je vier Tiere reduziert. Die Implantation der Prothesen in ein nicht pumpendes Herz ist technisch nicht möglich, ebenso kann die Methode nicht mehrmals an einem Herz hintereinander durchgeführt werden, da die Beurteilung des Implantationserfolges erst nach der Aufnahme seiner regelrechten Pumparbeit beurteilt werden kann. Mehrmalige Implantationen gingen mit einem Pumpversagen einher.

**Verfeinerung:** Die Tiere werden nach Anlieferung zumindest für eine Woche unter tierärztlicher Aufsicht an die neue Umgebung gewöhnt, damit ein durch den Transport bedingter Stresszustand abklingen kann. Zudem findet in dieser Zeit ein werktäglicher Umgang mit den Tieren durch die Tierpfleger statt, so dass sich die Tiere an diese Personen gewöhnen und mit so geringem Stress wie möglich sediert werden können. Die Schweine werden in Gruppen gehalten, haben Rüsselkontakt, stehen auf Mikrostroh und haben Nagehölzer als Enrichment zur Verfügung. Unsere Veterinärmediziner halten sich durch professionelle Fort- und Weiterbildung permanent am Laufenden, um alle Möglichkeiten zur schonenden und würdigen Behandlung der Tiere auszuschöpfen und gewährleisten zu können.



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

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

Die europäische Richtlinie von September 2010 sowie das novellierte österreichische Tierversuchsgesetz, welches die europäische Richtlinie in nationales Recht überführt, fordern von Institutionen, die Tiere in Tierversuchen - für die Gewinnung von neuen wissenschaftlichen Erkenntnissen - verwenden, dass Personen, die diese Tierversuche durchführen entsprechend ausgebildet und geschult werden. Außerdem muss das entsprechende Wissen regelmäßig erneuert und erweitert werden. Folge dessen müssen entsprechende Schulungen regelmäßig durchgeführt und Auffrischungen angeboten werden. Wir beantragen mit dem beiliegenden Projekt die Genehmigung zur Durchführung eines Kurses, der zukünftigen Projektteilnehmern die Möglichkeit bietet, sich die wesentlichen theoretischen (gesetzliche und biologische) Grundlagen und praktischen Techniken, die für die Arbeit mit den beantragten Spezies notwendig sind, anzueignen. Der theoretische Wissensgewinn wird in schriftlichen Prüfungen abgefragt. Das praktische Training wird nur mit sehr erfahrenen Trainern durchgeführt.

zu erwartender Nutzen: Durch die Intensität des Kursprogrammes wird gewährleistet, dass die Teilnehmerinnen am Ende des Kurses die jeweilige Spezies sicher manipulieren und notwendige Eingriffe durchführen können. Es werden des Weiteren intensiv ethische Prinzipien diskutiert und die Inhalte und Notwendigkeit von den „3R“ in der Versuchstierkunde aufgearbeitet. Das soll den Teilnehmerinnen ein umfangreiches Wissen vermitteln um künftige Projekte, die unter Einbeziehung von Versuchstieren durchgeführt werden, sinnvoll zu planen unter Berücksichtigung der Bedürfnisse der jeweiligen Spezies und der Begrenzung der Anzahl auf das absolut benötigte Minimum (also z. B. Planung von Gruppengröße, Gesamtzahl an verwendeten Tieren bei gleichzeitig maximalem Erkenntnisgewinn). Des Weiteren sollen die TeilnehmerInnen ein Verständnis für die Notwendigkeit vermittelt werden, wo immer es möglich ist, Ersatzmethoden zu Tierversuchen zu finden und einzusetzen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Der Kurs wird ausschließlich von Trainern durchgeführt, die langjährige Erfahrung im Umgang mit Versuchstieren aufzu-

weisen haben. Nicht invasive Eingriffe während des Kurse wie das Beobachten der Tiere im Käfig, das Erlernen die Tiere ohne und mit Hilfsmitteln sicher zu manipulieren, sowie z. B. Ohrmarkierung werden ohne Narkose durchgeführt. Dieses Training dient aber vor allem dazu, den TeilnehmerInnen den sicheren Umgang mit den Tieren zu lehren und dient damit wohl vor allem dazu, den Stress für Tier und Mensch zu minimieren. Leicht invasive Eingriffe wie Blutentnahmen und verschiedene Injektionsmethoden aber auch eine geplante Operationstechnik werden ausschließlich mit einer fachgerechten und tiefen Narkose des Tieres durchgeführt. Auch diese Maßnahme dient dazu, die Stressbelastung für das Tier und damit Schaden am Tier zu minimieren. Der im Rahmen des Kurses maximal erreichte Schweregrad ist als "mittel" zu bezeichnen.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

525 Mäuse, 525 Ratten und 525 Fische

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

**Vermeidung:** Eine Vermeidung ist in unserem Antrag nicht möglich, da das Projekt dazu dient, den TeilnehmerInnen den richtigen Umgang mit verschiedenen Versuchstierspezies zu vermitteln. Wo wir es als sinnvoll beurteilt haben, trainiert aber nicht jeder Student an jeweils seinem "eigenen" Tier, sondern es werden Eingriffe für jeweils eine gesamte Gruppe an einem Tier demonstriert.

**Verminderung:** Die folgenden Maßnahmen helfen, die Tierzahlen auf ein absolut unerlässliches Maß zu beschränken:

- Es werden an jedem verwendeten Tier in Narkose mehrere z. B. Injektionsarten durchgeführt.
- Die Teilnehmerinnen üben nur an jene(n)r Spezies, mit denen sie an unserer Institution arbeiten werden und für die sie sich im Zuge der Registrierung für den Kurs auch angemeldet haben.

**Verfeinerung:**

- Generell werden alle invasiven Eingriffe am narkotisierten Tier durchgeführt
- Der einzige, operative Eingriff wird an toten Tieren vortrainiert.

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

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

Jede adaptive Immunantwort beginnt damit, dass eine Dendritische Zelle, die zuvor einen Erreger aufgenommen hat, Eiweißbestandteile des Erregers an eine T-Zelle präsentiert. Erkennt eine T-Zelle das präsentierte Eiweiß, teilt sie sich mehrmals und vererbt die Spezifität für das Pathogen an ihre Tochterzellen. So werden aus hunderten spezifischer T-Zellen viele Millionen, und diese können schließlich effektiv und spezifisch das Pathogen beseitigen. Die Interaktion zwischen Dendritischer Zelle und T-Zelle geschieht nicht am Ort der Infektion sondern im drainierenden Lymphknoten. Eine Hautinfektion der Hand z. B. beginnt im Lymphknoten der Achselhöhle. Die Dendritische Zelle nimmt das Pathogen in der Haut auf und wandert anschließend über die Lymphbahnen in den Lymphknoten, wo sie auf T-Zellen trifft die wiederum über das Blutsystem von Lymphknoten zu Lymphknoten wandern. Sobald eine Dendritische Zelle in den Lymphknoten einwandert, schwillt dieser massiv an, da erstens auch vermehrt T-Zellen aus dem Blut einwandern und zweitens spezifisch aktivierte T-Zellen sich massiv teilen.

zu erwartender Nutzen: Das beantragte Projekt beschäftigt sich mit zwei Fragen:

- Wie finden Dendritische Zellen ihren Weg in den drainierenden Lymphknoten?
- Wie ist es möglich, dass ein komplex strukturiertes Organ wie ein Lymphknoten um ein vielfaches anschwillt, ohne seine interne Organisation zu verlieren?

Um diese Fragen zu beantworten, sollen gezielt genetisch manipulierte Mauslinien eingesetzt werden, in welchen die Eiweiße (Chemokine), die den wandernden Dendritischen Zellen die Richtung zu den Lymphgefäßen weisen, nicht mehr korrekt lokalisiert werden können. Bei diesen Lokalisationsfaktoren handelt es sich um Zuckermoleküle, welche wiederum Chemokine an das Bindegewebe fixieren. Um zu verstehen, wie das Anschwellen des Lymphknotens reguliert wird, sollen Mauslinien untersucht werden, in welchen das Wachstum der Stützzellen, welche das Rückgrat des Lymphknotens bilden, raumzeitlich genauestens verfolgt werden kann.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die eingesetzten Tiere werden in Experimenten eingesetzt, deren maximaler Schweregrad als "mittel" einzustufen ist. Konkret handelt es sich um lokal induzierte Entzündungen, die mit Schwellung, Rötung und Funktionsbeeinträchtigung des betreffenden Organs einhergehen. Vergleichbar mit einem Bienen- oder Wespenstich beim Menschen. Alle Experimente enden terminal mit der fachgerechten und schonenden Tötung der Versuchstiere, da teilweise auch das Gewebe von den getöteten Tieren verwendet wird.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Insgesamt werden über einen Zeitraum von 5 Jahren 4615 Mäuse (ausschließlich) eingesetzt.

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

Vermeidung: Die Prozesse, die wir in diesem Projekt im Zusammenhang mit der adaptiven Immunantwort untersuchen wollen sind sehr komplex und können ohne den Einsatz von Labortieren keine fachgerechten Ergebnisse liefern.

Verminderung: Die folgenden Maßnahmen helfen, die Tierzahlen auf ein absolut unerlässliches Maß zu beschränken:

- Es werden von jedem Tier immer mehrere Organe untersucht.
- Die Organe werden chemisch fixiert und können so Monate aufbewahrt werden. Später notwendige Analyse können an den aufbewahrte Organen durchgeführt werden, ohne neuerlich Tiere einsetzen zu müssen.
- Pilotexperimente, gemeinsam mit unseren statistischen Methoden, helfen uns, die minimalen Tierzahlen zu ermitteln, die für die Erzielung von signifikanten Ergebnissen und Schlussfolgerungen notwendig sind.

Verfeinerung: Wir bewegen uns in einem sehr kompetitiven wissenschaftlichen Umfeld und vergleichen daher unsere Ergebnisse ständig mit den neuesten Erkenntnissen anderer wissenschaftlicher Institutionen. Wir sind bestrebt, unsere Prozesse mit neuen Techniken immer weiter zu verfeinern und den Stress für die Versuchstiere durch gezielte Maßnahmen zu verringern (z. B. laufende Optimierung der Käfigeinrichtung für die im Experiment befindlichen Tiere). Der regelmäßige Austausch mit anderen wissenschaftlichen Gruppen ermöglicht uns, die neuesten Erkenntnisse in unsere Studien einfließen zu lassen.

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

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

Paarungspräferenzen sind im Tierreich weit verbreitet. Neben direkten Vorteilen solcher Präferenzen können dadurch auch indirekte, genetische Vorteile für die Nachkommen entstehen. Einige experimentelle Laborstudien haben bereits Hinweise darauf geliefert, dass solche genetischen Vorteile tatsächlich existieren und es für Fortpflanzungsrate und/oder Fitness (d. h. Lebenszeitfortpflanzungserfolg) der Nachkommen eine Rolle spielt, ob Tiere sich mit ihrem bevorzugten (P) oder einem nicht bevorzugten (NP) Partner verpaaren können. Detaillierte Studien über zwei oder mehr Generationen hinweg existieren jedoch nicht. Hier soll am Organismus des Stichlings untersucht werden, ob Nachkommen aus bevorzugten versus nicht bevorzugten-Verpaarungen sich in ihrer genetischen Qualität, die sich unter anderem in der Immunantwort der Tiere niederschlagen sollte, unterscheiden. Zu diesem Zweck werden adulte Fische aus bevorzugten oder nicht bevorzugten-Familien, die bereits auf ihre Überlebensrate, ihre Kondition und ihre Reproduktionsleistung getestet wurden, zusätzlich einem natürlich auftretenden Krankheitserreger ausgesetzt, um zu untersuchen, ob sich bevorzugte und nicht bevorzugte-Familien in ihrer Resistenz unterscheiden.

zu erwartender Nutzen: Es ist zu erwarten, dass diese Studie wichtige, neue Erkenntnisse zur Bedeutung von Paarungspräferenzen liefert. Insbesondere soll sie die Frage beantworten, ob die Partnerwahl die Fähigkeit der Nachkommen Krankheiten zu widerstehen erhöht und somit genetische Vorteile bringt.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Um die Resistenz zu untersuchen, werden Fische einem natürlich auftretenden Krankheitserreger ausgesetzt. Die potentiellen Auswirkungen dieser Exponierung sind z. B. Veränderungen des Schwimmverhaltens, Lethargie, Verminderung der Nahrungsaufnahme und Blutungen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Dreistacheliger Stichling (*Gasterosteus aculeatus*): max. 320

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

Vermeidung: Um Erkenntnisse über unterschiedliche Ausprägungen des Immunsystems zwischen verschiedenen Gruppen von Nachkommen zu gewinnen, müssen lebende Tiere beobachtet werden.

Verminderung: Durch eine Optimierung der Versuchsplanung ausgehend von bestehendem Wissen über den angewendeten Krankheitserreger bei Fischen und unsere Vorversuche, wird im endgültigen Versuch nur jene Mindestanzahl an Tieren verwendet, durch die eine statistische Relevanz der Ergebnisse gesichert werden kann. Wenn der Vorversuch und die statistische Poweranalyse zeigt, dass die Mindestanzahl von Fischen ausreicht, dann wird keine zusätzliche Zahl an Tieren verwendet werden. Die Anzahl der zu verwendenden Tiere wird mit Hilfe von Vorstudien bestimmt und damit auf das absolute Minimum reduziert.

Verfeinerung: Ein exaktes Monitoring der Fische, die zur Erhöhung des Wohlbefindens während des Versuchs in den ihnen zeitlebens gewohnten Tanks verbleiben, wird sowohl auf Stressanzeichen als auch auf Krankheitssymptome hin mehrmals täglich durch fachkundige Personen stattfinden, um sicher zu stellen, dass jegliches unnötige Leid erkannt und daher vermieden beziehungsweise ein weiteres Fortschreiten durch vorzeitige humane Beendigung verhindert wird. Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. Jänner 2020 vorgesehen.

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

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

Ziel dieser Studie ist es, mittels modernster Sequenzierungsmethoden mit hochauflösenden Daten Informationen über Zugrouten einzelner Mönchsgrasmücken zu erhalten. Dadurch können Informationen über Routen beider Phänotypen dieser Vogelart (Südwest- versus Südostzieher), deren Orientierung und die zeitliche Koordinierung beider Strategien ermittelt werden. Damit wird es erstmals möglich sein, die molekularen Grundlagen dieser Verhaltensweisen zu bestimmen.

zu erwartender Schaden: Um die formulierten Hypothesen zu testen, werden Blutproben von Vögeln genommen und Geolokatoren (wie ein Mini-Rucksack) am Körper fixiert. Die Vögel werden im Freiland mit Netzen gefangen, beringt, vermessen und für die Blutentnahmen fixiert, was zu einer Stressreaktion führt. Durch die Blutabnahme selbst kann es in Ausnahmefällen zu kleinen Hämatomen kommen, die jedoch nach zwei bis drei Tagen wieder völlig absorbiert werden. Die Geolokatoren werden über ein Jahr von den Vögeln getragen. Im Rahmen früherer Studien wurden keine negativen Effekte einer solchen Anwendung festgestellt, wenn das Gewicht des Gerätes weniger als 5 % des Körpergewichts beträgt.

zu erwartender Nutzen: Die gewählten technologischen Ansätze sowohl auf Ebene der Phänotypcharakterisierung als auch auf Genotypisierungsebene sind hoch innovativ und wurden an Mönchsgrasmücken noch niemals angewandt. Durch diese Studie wird das Wissen über das Zugverhalten der Mönchsgrasmücke und ihrer Hybride erweitert; dies hat das Potenzial, zu einem vertieften Verständnis des Vogelzugs auf verschiedenen Ebenen (Evolution, Verhalten, Genomik) beizutragen.

2. Art und Anzahl der Tiere

550 Mönchsgrasmücken (*Sylvia atricapilla*)

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

Vermeidung: Dieses Projekt kann nur mit freilebenden Vögeln durchgeführt werden, da die Tiere und ihr Zugverhalten in der natürlichen Umgebung untersucht werden sollen.

Verminderung: Für das beantragte Projekt wurde anhand der Anwendung statistischer Poweranalysen die Anzahl von 100 wiedergefangenen Tieren als unbedingt erforderlich bestimmt, um signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen in Bezug auf die zu untersuchenden Parameter detektieren zu können. Aufgrund der antizipierten Wiederfangrate von 20% planen wir daher, im gesamten Versuchszeitraum insgesamt 550 Individuen mit Geolokatoren auszustatten.

Verfeinerung: Die Dauer der Manipulationen (Fang und Behandlung der Vögel) wird durch große Erfahrung und Routine der involvierten Feldarbeiter so kurz wie möglich gehalten (unter 15 Minuten), um die Stressreaktion zu minimieren. Im Rahmen früherer Studien wurden keine anhaltenden Schäden durch Fangstress nachgewiesen. Für die Genotypisierung werden 3% der gesamten Blutmenge eines Vogels benötigt, was deutlich unter dem empfohlenen Grenzwert von 10% liegt. Das Gewicht der angebrachten Geolokatoren bleibt mit 4% des Körpergewichts ebenfalls unterhalb des einschlägigen Richtwertes von 5%.



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

Onkolytische Viren stellen eine neue Möglichkeit für die Behandlung von Tumoren dar. Hierbei kann sich ein onkolytisches Virus nur in Tumorzellen vermehren, wodurch diese spezifisch abgetötet werden. Gesunde Zellen werden verschont. Dieses neue Therapiekonzept wurde bereits in Zellkulturexperimenten erprobt, wobei die Tumorzellen in vitro sehr effizient abgetötet werden. Die immunologischen Aspekte der onkolytischen Virustherapie sind noch nicht vollständig verstanden. Diese sollen im Rahmen dieses Projektes aufgeklärt werden. Außerdem soll die onkolytische Virotherapie mit einer Immuntherapie kombiniert werden.

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

zu erwartender Schaden: Subkutane Implantation von Tumorzellen wird unter Narkose durchgeführt. Nach Etablierung subkutanen nicht metastasierenden Tumors werden die Therapieansätze 3- bis 5-mal in wöchentlichen Abstand injiziert und das Tumorwachstum wird dokumentiert. Bei einer Tumorgröße von maximal 0.8 cm<sup>3</sup> wird das Experiment beendet und die Tiere betäubt und euthanisiert. Im Zuge des Versuches wird den Tieren auch Blut abgenommen. Für manche Experimente werden Immunzellen aus immunisierten Tieren isoliert und in Empfängertiere (Rezipienten) intravenös transferiert.

2. Art und Anzahl der Tiere

In den Experimenten werden insgesamt maximal 2250 Mäuse in einem Zeitraum von 5 Jahren verwendet.

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

Bei der Planung der Experimente wurden immer die „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung) berücksichtigt.

Vermeidung: Die Wirkung unsere Therapieansätze ist ein komplexer Prozess, für den verschiedene Arten an Immunzellen sowie die Architektur der lymphatischen Gewebe und des Tumors wichtig sind. Dies kann nicht vollständig in Zellkulturen nachgestellt werden. Allerdings werden wir parallel zu den Tierexperimenten auch Zellkulturexperimente durchführen, um einzelne Aspekte zu untersuchen und so die Mausezahlen so gering wie möglich zu halten.

Verminderung: Die Tierhaltung sowie das methodische Vorgehen erfolgen standardisiert, um eine minimale Streuung der Ergebnisse zu erzielen. Die Tieranzahl im Experiment wird so gering wie möglich gehalten, doch so dass statistisch signifikante Ergebnisse erzielt ist.

Verfeinerung: Alle Versuche werden von geschultem, fachspezifischem Personal durchgeführt. Durch Interaktion mit anderen Wissenschaftlern auf dem Gebiet wurden die Protokolle verfeinert, um die Belastung für die Tiere zu minimieren. Die Tiere werden in Gruppen gehalten, um ihr Wohlbefinden zu verbessern.

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

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

Fusarium Mykotoxine, sekundäre Metaboliten von zahlreichen Gattungen der Fusarium Schimmelpilze, treten weltweit in Getreide und Tierfutter natürlich auf. Sie können bei Mensch und Tier toxische Effekte hervorrufen und sind von beträchtlichem Interesse in Bezug auf Gesundheit und Produktivität vieler Schweine- und Geflügelproduzenten. Von allen Fusariumtoxinen ist Deoxynivalenol (DON) das am meisten untersuchte und es führt bei Nutztieren zu reduzierter Futteraufnahme und Wachstumsverlusten, gastrointestinalen Störungen, neuroendokrinen und hepatologischen Veränderungen sowie Beeinträchtigung des Immunsystems. Der zelluläre Effekt von DON wird auf dessen Fähigkeit die Proteinsynthese zu hemmen zurückgeführt. Die Sensitivität gegenüber DON ist bei diversen Spezies unterschiedlich, wobei Schweine besonders sensitiv gegenüber DON sind. Die Gründe für diese Empfindlichkeit der Schweine sind nicht vollständig klar, wobei sicherlich der große Getreideanteil in Schweinerationen diese Spezies höheren DON Konzentrationen und anderen Mykotoxinen aussetzt. Jüngste Untersuchungen zeigten, dass bereits mehr als 55% des weltweiten Futters und Mischfutters mit DON kontaminiert sind. Die große Niederschlagsmenge letzten Sommers (2014) schuf eine hervorragende Umgebung für Fusarium Mykotoxine, was dazu führte, dass 92% aller europäischen Getreideproben positiv auf DON getestet wurden, teilweise wurde sehr hohe Kontaminationen beobachtet. Das Toxin ist hitzestabil und kann folglich nicht während des Futterherstellungs- oder bearbeitungsprozesses eliminiert werden. Aus diesem Grund ist es notwendig die Wirkungsweise des DON im Tier zu blockieren und die Belastung dadurch für das Tier zu reduzieren. Das Ziel dieses kurzen Projektes ist es, die Fähigkeit eines neuen Enzymes, welches DON im Verdauungstrakt zerlegt und somit die Toxizität dieses Toxins im Tier vermindert, zu bewerten. Zusätzlich sind noch Blut-, Kot- und Urinproben notwendig, da mindestens 60% der DON-Menge absorbiert werden.

zu erwartender Nutzen: Eine Reduzierung der Belastung der Tiere durch eine Blockierung der Wirkungsweise des Mykotoxins Deoxynivalenol.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Um eine genaue Trennung der Kot- und Urinmenge zu gewährleisten, werden die Tiere während der Versuchsdauer (3

Tage) einzeln in Stoffwechselkäfigen gehalten, wobei sich die Tiere aber ständig sehen, hören und riechen können. Außerdem wird den Tieren an drei definierten Zeitpunkten Blut abgenommen. Es wird keine wesentliche Beeinträchtigung auf das Wohlergehen beziehungsweise den Allgemeinzustand der Tiere erwartet.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

12 männliche Absetzferkel

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

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

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

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

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

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

zu erwartender Nutzen: Das Vorhandensein von spezifischen Rezeptoren an der Oberfläche von Tumorzellen ermöglicht es diese Tumore mit Molekülen, die spezifischen an den Rezeptor binden, bildgebend darzustellen und auch zielgenau zu therapieren. Die Molekülmarkierung mit Fluoreszenz oder Radioaktivität erlaubt die Verfolgung des markierten Moleküls im Körper. Häufig zeigen diese Moleküle jedoch auch eine unerwünschte hohe Anreicherung in anderen Organen, wie beispielsweise der Leber und den Nieren. Im Rahmen dieses Tierversuches werden Moleküle mit verbesserten Eigenschaften entwickelt, mit dem Ziel die Tumoraufnahme zu verbessern und die Aufnahme in anderen Organen zu verringern.

zu erwartender Schaden: Die geplanten Versuche sehen die intravenöse Applikation einer geringfügigen, nichttoxischen Menge selektierter markierter Moleküle in die Schwanzvene von Mäusen vor, um anschließend den Stoffwechsel und die Organverteilung zu untersuchen. Des Weiteren werden bei Mäusen subkutan Tumore induziert, um auch die Tumoraufnahme zu verschiedenen Zeitpunkten nach Injektion zu evaluieren. Die Unbedenklichkeit der intravenösen Gabe wird in Ratten untersucht. Dazu werden die Moleküle intravenös verabreicht, zu verschiedenen Zeitpunkten nach Injektion Blutabnahmen vorgenommen und die Tiere nach tierschutzkonformen Methoden getötet, um die Organe histologisch zu untersuchen. Die im Rahmen des Projektes entwickelten Moleküle werden einer umfangreichen Charakterisierung in vitro und in vivo unterzogen, um ein neues Molekül für die zukünftige klinische Anwendung in der Tumordiagnostik und Tumorthherapie auszuwählen. Durch die intravenöse Applikation in die Schwanzvene entsteht für das Tier eine leichte, kurzfristige Belastung. Versuche mit subkutan induzierten Tumoren werden abgeschlossen bevor der Tumor zu einer funktionellen Störung beim Tier führt.

2. Art und Anzahl der Tiere

212 Mäuse und 66 Ratten

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

Die Zahl der Tiere ist auch von den im Laufe des Projektes generierten Ergebnissen abhängig und kann deutlich darunter liegen. Durch die umfassende Charakterisierung der Moleküle in vitro kann die Zahl der notwendigen Tierversuche erheblich reduziert werden. Diese inkludiert die chemische und biologische Charakterisierung in vitro, sowie die Evaluierung der Rezeptor-Bindung und Zell-Internalisierung an verschiedenen Zelllinien. Nur Moleküle mit guten chemischen und biologischen Eigenschaften und hoher Rezeptorspezifischer Zellaufnahme werden in weiterführenden Tierversuchen untersucht. Für diese Moleküle wird vorerst die normale Organverteilung evaluiert. Nur selektierte Moleküle, die eine vielversprechende Organverteilung zeigen, werden auch in Nacktmäusen mit subkutan induzierten Tumoren untersucht. Im Projekt wird ein etabliertes Xenograft-Mausmodell verwendet. In Kooperation mit zwei europäischen Zentren werden auch bildgebende Verfahren angewandt und die Organverteilung und Tumoraufnahme über mehrere Tage verfolgt.

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

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

Unterschiedliche Allergene wurden als Lipocaline identifiziert. Lipocaline sind Proteine, die eine Vielzahl an Molekülen binden können und an vielen biologischen Prozessen beteiligt sind. In unseren vorangegangenen in vitro-Versuchen zeigte sich, dass ihr allergenes Potential von ihrer Beladung abhängt. Die Lipocalin-ähnlichen Moleküle Bet v 1a (Hauptallergen der Birkenpollen) sowie Bos d 5 (Beta-Lactoglobulin BLG, Hauptallergen der Milch) stimulierten isolierte humane PBMC nur dann zur Th2-Zytokinproduktion (Allergie-Milieu), wenn sie nicht mit Siderophor-gebundenem Eisen (z. B. mit Dihydroxybenzoesäure DHBA oder Catecholen) beladen waren. Im vorliegenden Tierversuch soll nun gezeigt werden, dass dies auch in vivo relevant ist. Die Hypothese lautet daher, dass nur apo-Proteine (nicht Eisen-beladen) eine allergische Immunantwort im Tier hervorrufen können. Es werden zwei unterschiedliche Allergene, welche als Lipocaline fungieren (Bet v 1 der Birke, Bas d 5 aus Milch), zwei unterschiedliche Siderophore (DHBA, Retinolsäure) sowie unterschiedliche Applikationsrouten eingesetzt. Zusätzlich wird überprüft, ob eine Optimierung der Immuntherapie, welche mit Eisen-bindendem Aluminiumhydroxid durchgeführt wird, erreicht werden kann, indem Allergene/Extrakte vor Applikation beladen werden, um eine weitere Stimulation einer Th2-Antwort zu vermeiden.

zu erwartender Nutzen: Erfassung eines weiteren Risikofaktors für Allergieentstehung, sowie mögliche Etablierung verbesserter Behandlungsstrategien, relevant für allergische Human- und Veterinär-Patienten.

zu erwartender Schaden für die Tiere: geringe Schmerzen durch Blutabnahme; geringe Belastung durch Intranasale/subkutane/intraperitoneale Verabreichungen; kurzzeitig mittelgradige Belastung der positiven Gruppen (allergische Tiere) nach intraperitonealer Allergen-Challenge zur Messung der Rektaltemperatur per Hand-Thermometer sowie der unspezifischen Lungen-Hyperreaktivität per Gesamtkörper-Plethysmographie nach Methacholin-Stimulation.

2. Art und Anzahl der Tiere

719 Mäuse

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

**Vermeidung:** Für die gegenwärtige Fragestellung der Entwicklung einer allergischen Immunantwort kann leider nicht völlig auf den Einsatz des gesamten Organismus der Tiere verzichtet werden, es wird aber selbstverständlich nur die minimalst notwendige Anzahl der Tiere für statistisch signifikante Aussagen gewählt. Alle möglichen in vitro Untersuchungen für die gegenwärtigen Fragestellungen wurden bereits ausgeschöpft.

**Verminderung:** Selbstverständlich wird nur die minimalst notwendige Anzahl der Tiere für statistisch signifikante Aussagen gewählt. Es liegen standardisierte Haltings- und Versuchsbedingungen vor, und es wird nur ein Tier-Genotyp eingesetzt, um eine möglichst geringe Streuung der Ergebnisse zu erzielen. Zusätzlich wird innerhalb des Versuches nur die minimalste Anzahl an invasiven Read-Out-Parametern (Blutabnahmen reduziert auf Präimmenserum, 1x zwischen Immunisierungen, am Ende der Immunisierungsreihe; nur inhalative Provokation am Ende des Tierversuchs; kein Hauttest, seltener Blutabnahmen mit minimalstem Volumen zirkulierendem Körpervolumen der Maus in langem Zeitabstand) eingesetzt. Weiters werden aus den ersten Gruppen bei erfolgreicher Immunisierung die Therapiegruppen weitergeführt (sequentieller Einsatz der Tiere). Damit kann eine weitere wichtige Fragestellung innerhalb einer Tiergruppe geklärt werden.

**Verfeinerung:** Es werden etablierte Immunisierungs- und Auswerte-Modelle eingesetzt. Die Mäuse werden in angereicherter Käfig-Umgebung gehalten. Im Rahmen dieses Tierversuches ist es auch nicht notwendig, die Tiere zu isolieren (soziale Partner jederzeit anwesend). Selbstverständlich wird bei der Handhabung auf fachgerechten Umgang mit den Tieren geachtet.



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

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

Unser Verständnis der Pathophysiologie schwerer, therapieresistenter Depressionen ist immer noch begrenzt. Während bisher der Fokus neuer Therapieansätzen auf Funktionsstörungen im Nervensystem lag, gibt es neue Hinweise, dass zahlreiche Gehirnfunktionen, von denen viele bei Depressionen gestört sind, durch Mikroglia, das myeloische System und das Mikrobiom beeinflusst werden.

Ziel dieses Projektes ist es festzustellen, ob Störungen in der Funktion von myeloischen beziehungsweise Mikrogliazellen in einem frühen Stadium der Entwicklung eine Rolle bei der Ausprägung von erhöhter Ängstlichkeit/Depression für das spätere Leben spielen. In einem spezifischen, validierten, klinisch relevanten Mausmodell, das unter anderem menschliche Therapieresistenz abbildet, wollen wir untersuchen, ob angeborene Ängstlichkeit/komorbide Depression in einem frühen Lebensstadium mit aberanter Aktivierung des myeloischen Systems, dem neuroinflammatorischen Systems und/oder dem Mikrobiom einhergeht, welches das pathologische Verhaltensmuster im späteren Leben vermittelt oder mit verursacht. Es wird zudem untersucht, ob therapeutisch erfolgreiche Interventionen kausal mit Änderungen in den betroffenen Systemen zusammenhängen.

zu erwartender Nutzen: Die gewonnenen Erkenntnisse sollen helfen, neuartige Möglichkeiten für therapeutische und präventive Strategien zu entwickeln. Zudem könnten die Charakterisierung des peripheren myeloischen Systems und des Mikrobioms bei der Entwicklung von Biomarkern verwendet werden, um den Behandlungserfolg vorherzusagen oder zu unterstützen.

zu erwartender Schaden Die in der Studie verwendeten Tiere sind nach erhöhter und normaler angeborener Angst gezüchtet. Sie werden unter Standardbedingungen oder in einer positiven, reizreichen Umgebung gehalten. Nachdem ihnen Substanzen systemisch oder intrazerebral appliziert werden, werden sie verschiedenen Verhaltenstests unterzogen. Gegebenenfalls sind intracraniale Operationen unter Narkose mit prophylaktischer Analgesie notwendig. Da insgesamt die Tiere keine Verletzungen oder langfristige Beeinträchtigungen des Wohlerge-

hens oder des Allgemeinzustandes davon tragen, wird der Schweregrad des Tierversuchs als „mittel“ eingestuft.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

944 Mäuse

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

**Vermeidung:** Es stehen bis dato keine adäquaten tierversuchsfreien Ersatzmethoden zur Verfügung, um die Einflüsse von Mikroglia, myeloischen System und/oder Mikrobiom auf komplexe, emotionale Verhaltensmuster zu untersuchen.

**Verminderung:** Entsprechend der Europäischen Richtlinie wird immer die Minimalanzahl an Tieren zur Erfassung signifikanter Erkenntnisse erfasst. Es wird allzeit darauf geachtet, dass durch Verwendung modernster Techniken und Geräte immer die geringste Anzahl an Tieren in einem kollektiven Ansatz zur Bestimmung gleich mehrerer verhaltensrelevanter, biochemischer und funktioneller Parameter eingesetzt werden, um zusätzliche Versuche zu vermeiden und das vorhandene biologische Material optimal zu nutzen.

**Verfeinerung:** Es wird auf eine möglichst geringe Belastung der Versuchstiere vor, während und nach den Versuchen geachtet. Die Tiere sind in einem modernen Tierhaus in sozialen Gruppen unter medizinischer Aufsicht eines Veterinärs untergebracht. Sie werden regelmäßig sowohl von den wissenschaftlichen MitarbeiterInnen als auch von ausgebildeten TierpflegerInnen auf ihr Wohlbefinden überwacht. Bei Anzeichen von Schmerz werden analgetisch wirkende Medikamente verabreicht beziehungsweise im Fall unnötigen Leids werden die Tiere sofort durch Anwendung einer zugelassenen Methode getötet. Die Tiere werden über mehrere Tage an die ExperimentatorInnen und die Versuchsbedingungen gewöhnt, um unspezifische Stressreaktionen zu reduzieren.

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

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

Neben Herzkreislauf-Erkrankungen und Krebs zählen vor allem neurodegenerative Erkrankungen wie die Alzheimer'sche Erkrankung zu den schwerwiegendsten und vor allem kostenintensivsten Krankheiten des 20. und 21. Jahrhunderts. Je älter Menschen werden, umso häufiger erkranken sie an der Alzheimer'schen Erkrankung - einer fortschreitenden, degenerativen und unheilbaren Gehirnstörung. Betroffen sind etwa 3% der Bevölkerung von 65 bis 74 Jahren, 20% der von 75 bis 84 Jahren und 50% der über 85-jährigen. Ungefähr 15 Prozent der österreichischen Bevölkerung sind 65 Jahre und älter. Heutigen Schätzungen zufolge leiden in Österreich circa 100 000 bis 200 000 Menschen an einer Form von Demenz, wobei die am häufigsten vorkommenden Formen die Multi-Infarkt-Demenz und - mit einem 50 Prozent Anteil - die Alzheimer Krankheit sind. Die APPsi transgenen Ratten spiegeln auf Grund von 2 Mutationen im APP Gen laut Literatur sehr gut das pathologische Bild der Alzheimerschen Erkrankung wider. Daher soll diese Rattenlinie charakterisiert werden, um sie im Anschluss für die Substanzaustestung verwenden zu können.

zu erwartender Nutzen: Das Ziel dieser Studie ist erfolgreiche Charakterisierung der transgenen Rattenlinie, so dass sie im Anschluss für die Austestung neuer Substanzen eingesetzt werden kann.

zu erwartender Schaden: In diesem Projekt sollen homozygote APPsi Ratten im Alter von 3, 6, 9 und 12 Monaten im Vergleich zu nicht-transgenen Geschwister-tieren auf Verhaltensdefizite untersucht werden. Es werden Tiere beider Geschlechts verwendet. Zusätzlich werden heterozygote APPsi Ratten im Alter von 12 Monaten getestet. Alle Tiere werden im Morris Water Maze, Passive Avoidance Test, Open Field und RoatRod Test getestet. Im Anschluss an die Tests werden die Tiere euthanasiert und die Gewebe histologische und biochemisch auf Alzheimer-typische Pathologien wie Abeta1-40, 42, Plaques und Neuroinflammation untersucht.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden 270 Ratten verwendet.

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

**Vermeidung:** 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.

**Verminderung:** In dieser Studie sollen pro Gruppe 15 Tiere verwendet werden. Diese Gruppengrößen sind für diese Studie laut Power Analyse erforderlich da Verhaltenstests durchgeführt werden, bei denen die Variabilität meist hoch ausfällt.

**Verbesserung: 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 Verhaltensversuche durch so genanntes „Handling“ mit den involvierten Personen beziehungsweise mit den jeweiligen Versuchsaparaten vertraut gemacht, um unerwünschte, stressbedingte, falschpositive beziehungsweise 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 des Weiteren, dass zur Durchführung des Tierversuchs nur Tiere verwendet werden, deren Gesundheitszustand einwandfrei ist. Alle Tiere stehen unter ständiger tierärztlicher Kontrolle. Erkrankte beziehungsweise verletzte Tiere werden in einem Patientenblatt vermerkt und täglich auf ihren Gesundheitszustand kontrolliert. Leidet ein Tier an Symptomen wie Verletzungen, Umfangsvermehrung oder Anämie wird der Tierarzt so rasch wie möglich informiert und entscheidet über Behandlung oder Euthanasie.

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

Akne vulgaris ist eine sehr häufige Hauterkrankung, die bei einem Drittel der Betroffenen in einer schweren Form von Akne resultiert. Diese Patienten haben nicht nur große entzündliche Läsionen und bleibende Narben, sondern erfahren auch soziale Ablehnung und vielfältige Formen der Diskriminierung. Derzeitige Behandlungsstrategien sind unzureichend und mit schweren Nebenwirkungen verbunden. Eine grundlegende Erforschung der Ursachen und Therapie von Akne wird jedoch durch das Fehlen geeigneter präklinischer Krankheitsmodelle behindert. Basierend auf einer kürzlich veröffentlichten tierexperimentellen Studie sowie ausführlicher Literaturrecherchen soll Mäusen mit oder ohne genetische Modifikation Bakterien, die im Menschen Akne auslösen können, in verschiedener Form verabreicht werden, um ein robustes Mausmodell für diese Erkrankung zu etablieren. Zusätzlich wurden in in vitro Versuchen Kandidatenproteine identifiziert, die für die Entwicklung eines Vakzins gegen Akne eingesetzt werden könnten. Da durch in vitro Versuche die komplexen biologischen Gegebenheiten in einem vielzelligen Organismus nicht verlässlich wiedergespiegelt werden können, muss das Potenzial dieser Kandidatenantigene in dem beantragten Mausmodell verifiziert werden.

zu erwartender Nutzen: Mit diesem Modell soll die Entstehung von Akne und die Bedeutung entzündlicher Prozesse in der Pathogenese von Akne studiert sowie potentielle Kandidaten für die Entwicklung eines Impfstoffes austestet werden. Wir erwarten durch diese Versuche bedeutende Erkenntnisse betreffend der Entstehung von Akne zu erzielen, die die Entwicklung eines Vakzins gegen Akne ermöglichen sollen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Um ein Modell zur Entstehung von Akne in Mäusen zu etablieren, ist die Infektion von Mäusen mit dem Erreger von Akne notwendig. Weiters werden Immunisierungen sowie Blutabnahmen durchgeführt. Um die entzündlichen Prozesse genau untersuchen zu können, werden die Versuchstiere zu festgesetzten Zeitpunkten euthanisiert.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

1920 Mäusen

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

Eine kürzlich veröffentlichte tierexperimentelle Studie sowie in vitro Arbeiten mit P. acnes-Proteinen lieferten wichtige Vorkenntnisse, um unsere Versuche möglichst zielgerichtet planen zu können, und unser Versuchsdesign zielt darauf ab, die Gesamtzahl der Versuchsmäuse so gering wie möglich zu halten. Wir werden nur gut geschultes Personal einsetzen, um die Belastung der Tiere so gering wie möglich zu halten, aber auch um höchstmögliche Standardisierung der Versuche zu erzielen, um damit die Streuung der Ergebnisse zu verringern. Die Versuchsmäuse werden artgerecht gehalten, der Krankheitsverlauf genau beobachtet und der Versuch gegebenenfalls vorzeitig beendet, falls die definierten Abbruchkriterien eintreffen.

**Vermeidung:** Ziel der Studie ist es, mögliche neue Therapien für Akne zu entwickeln und zu testen. Hierfür existieren keine alternativen, experimentellen Ansätze, da nur im Gesamtorganismus die komplexen molekularbiologischen und immunologischen Vorgänge, die zur Entstehung dieser Erkrankungen führen, und zur Vermeidung oder Heilung dieser Erkrankungen beitragen, untersucht werden können.

**Verminderung:** Durch die gleichzeitige Untersuchung von mehreren experimentellen Gruppen im Vergleich zu einer Kontrollgruppe wird die geplante Anzahl der Versuchstiere reduziert.

**Verfeinerung:** Durch zweistufige Verfahren bei den Experimenten (Pilotexperiment gefolgt von größerem Ansatz) kann mittels geringen Tierzahlen (Pilotexperiment) ein Trend über die Ausprägung des Phänotyps ersichtlich werden. Falls sich aus diesem Vorversuch bereits signifikante Unterschiede ergeben, muss die errechnete Tieranzahl nicht zwingend ausgefüllt 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

Studien haben gezeigt, dass die Verwendung von kontinuierlich messenden Glukose Sensoren (CGM) die Zuckereinstellung von Patienten mit Typ 1 Diabetes deutlich verbessern kann. Die verbesserte Therapie hilft den HbA1c Wert signifikant zu senken und dabei zusätzlich die für die Patienten gefährlichen Hypoglykämien zu reduzieren. Ziel dieses Projektes ist es einen neuartigen kontinuierlich messenden Glukose Sensor zu evaluieren.

zu erwartender Nutzen: Der neuartige Sensor ist durch seine spezielle Technologie unabhängig vom Gewebssauerstoff, daher wird eine erhöhte Messgenauigkeit vom System erwartet. Durch die verbesserte Einstellung der Patienten könnten somit die Spätfolgen von Diabetes verzögert beziehungsweise reduziert werden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Subkutan messende Glukose Sensoren stellen eine minimal invasive Methode zur Blutzuckerbestimmung bei Diabetes Patienten dar und sind in täglicher Verwendung. Es wird für die Tiere kein Schmerz durch die Verwendung der Glukose Sensoren erwartet, da das gesamte Experiment am voll narkotisierten Tier durchgeführt wird. Nach Beendigung der Experimente werden die Tiere sakrifiziert.

2. Art und Anzahl der Tiere

20 Hausschweine

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

Vermeidung: Die Vermeidung des beantragten Tierversuchs ist nicht möglich, da die Fragestellungen nur in vivo zu beantworten sind. Das Versuchsziel kann nicht mit anderen Methoden als mit einem Tierversuch erreicht werden, weil:

- Die Reaktion des Gewebes auf den eingesetzten Sensor nur im lebenden Gewebe getestet werden kann.
- In vitro Versuche die in vivo Situation nicht nachstellen können, und
- Die unmittelbare Wirkung der Immunreaktion des Gewebes auf den Sensor nicht in vitro getestet werden kann.

- Untersuchungen im Menschen nur mit toxikologisch getesteten Systemen durchgeführt werden dürfen, und dadurch die Entwicklung eines solchen Systems praktisch undurchführbar wird.

Verminderung: Die Versuche erfolgen mit kleinstmöglichen Gruppengrößen. Dabei wurde sorgfältig abgewogen, zwischen einer möglichst kleinen gesamten Versuchstieranzahl und der statistischen Signifikanz, die eine eindeutige Aussage zulässt. Da an jedem Tier parallel mehrere Sensoren simultan untersucht werden, kann die Versuchstieranzahl zusätzlich gering gehalten werden.

Verfeinerung: Neben der standardmäßigen fachkundigen Betreuung durch geschultes Tierpflegepersonal wird Bereicherung ("enrichment") in Form von Bällen, Gummiringen, Stroh, Nestbaumaterial, etc. zur Verfügung gestellt. Weiters 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

Das Projektziel ist es zu untersuchen ob bereits wenige Minuten dauernde Schmerzreize zu weit reichenden Veränderungen entlang der aktivierten Neurosensysteme führen können, die Veränderungen in der Sensitivität der Schmerzbahn erwarten lassen. Es sollen Aufregulationen von pro-inflammatorischen Neurotrophinen und Cytokinen entlang der Schmerzbahn nach akuter nozizeptiver Stimulation in der Ratte nachgewiesen werden. Wahrscheinlich spielen dabei auch Gliazellen eine Rolle, die diese pro-inflammatorischen Faktoren sezernieren können. Eine derartige Aufregulation von pro-inflammatorischen Neurotrophinen und Cytokinen entlang der Schmerzbahn würde auch unsere Sicht in Bezug auf die Schmerztherapie ändern, nämlich dass weniger Gewicht auf Antagonisten von kleinmolekularen Schmerz-Neurotransmittern, sondern mehr Gewicht auf die intrazellulären Signalmoleküle und auf die Verhinderung der Mikroglia-Zellaktivierung gelegt wird. Im vorliegenden Projekt sollen die Neurotrophine nerve growth factor-NGF, brain-derived neurotrophicfactor-BDNF, sowie die pro-inflammatorischen Cytokine Interleukin 1- $\beta$ , Interleukin-6 und Interleukin-18 analysiert werden. Die Analyse erfolgt entlang des ersten nozizeptiven Neurons (N. ischiadicus, Hinterwurzelganglion), und am zweiten Neuron im Hinterhorn des Rückenmarks. Das Opioid Morphin soll als bewährter pharmakologischer Modulator der Schmerztransmission zum Einsatz kommen, Minocyclin als Hemmer der Mikroglia-Zellaktivierung. In unseren Versuchen soll die Hitzestimulation und die kombinierte Allyl-Isothiocyanat (Senföl) plus Hitzestimulation verwendet werden. Diese Stimuli haben sich bewährt, da sie pathophysiologisch relevant sind und in unterschiedlicher Stärke selektiv die nozizeptiven Neurone aktivieren.

zu erwartender Nutzen: Trotz unseres vielschichtigen Verständnisses der Schmerzbahn und des Einsatzes von Analgetika bleibt die effiziente Schmerztherapie bei vielen Schmerzformen noch unbefriedigend. Wir erwarten dass dieses Projekt neue Impulse für die Suche nach Analgetika bringt, die die intrazellulären Signalmoleküle modulieren und die Mikroglia-Zellaktivierung verhindern.

zu erwartender Schaden: Schmerzforschung kann nur am Gesamtorganismus zweckmäßig sein, und weitere Kenntnisse über Protein-Sensibilisierungsfaktoren entlang der Neurone der Schmerzbahn können den zielgerichteten Einsatz von

Analgetika fördern. Schmerzforschung in der Ratte in Bezug auf Proteinmodifikationen kann unter Allgemeinnarkosebedingungen durchgeführt werden. Die Tiere erleiden folgenden Schaden: Allgemeinnarkose und Einschlafen durch eine Überdosis Narkosemittel.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden 52 Ratten für diese Versuche benötigt.

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

Die Zahl der benötigten Versuchstiere wurde so gering als möglich gehalten. Die Prüfung, welche Veränderungen auf Proteinebene entlang der Schmerzbahn ein definierter Hitzereiz oder ein kombinierter Senföl und Hitzereiz aktiviert, und wie Analgetika das modulieren, kann nur im lebendigen Organismus überprüft werden. In diesen für den medizinischen Fortschritt sehr wichtigen Untersuchungen wird jedoch immer auf eine möglichst Belastung der Versuchstiere geachtet. Außerdem wird großer Wert darauf gelegt, die Projektversuche nur mit jener minimalen Anzahl an Ratten durchzuführen, die statistisch notwendig ist, um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten. Die Tiere werden unter Standardbedingungen in Gruppen gehalten und von ausgebildetem Personal gepflegt. Um das Wohlbefinden zu steigern wird den Tieren Umgebungs-Enrichment zur Verfügung gestellt. Die Tiere werden von Beginn der Unterbringung an den Umgang mit Menschen gewöhnt (handling), um den Stress bei der Versuchsvorbereitung 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

zu erwartender 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“ zuzuordnen. Ziel des Projektes ist es, ein neues biologisches Gleitgewebe zur Vermeidung von Adhäsionen an der Achillessehne von Ratten auszutesten.

zu erwartender Schaden: Der zu erwartende Schaden sind vorübergehend mittelgradige Schmerzen (durch Analgesie reduzierter Schmerz), dann der sofortige Tod. Die Versuchsbedingungen werden so gewählt, dass mittels potenter Narkose, Analgesie und Flüssigkeitsversorgung, durch die tägliche tierärztliche Inspektion aller operierten Tiere und die tägliche tierpflegerische Betreuung inklusive Konditionierung aller Tiere Schmerzen, Leiden und Ängste der Ratten möglichst verhindert werden.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden maximal 92 Ratten im Versuchszeitraum von drei Jahren untersucht.

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

Die Erfüllung der „3R“ ist im Sinne der Vermeidung: nicht möglich

Verminderung: durch die Verwendung der geringstmöglichen Anzahl von Tieren

Verfeinerung: Die Tiere werden nach dem Eingriff in ihren gewohnten Gruppen gehalten, um psychischen Stress zu vermeiden und engmaschig klinisch untersucht, um entsprechend reagieren zu können (Potente Analgesie, Abbruch) gegeben.

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

Aortenklappen Implantation mittels Katheter (TAVI) ist eine minimalinvasive und zunehmend eingesetzte und vielversprechende Technik in der Behandlung der schweren Aortenklappenverkalkung. Durch diese interventionelle, kathetergestützte Technik kann man dieses lebensbedrohende Erkrankungsbild auch bei Patienten behandeln, bei denen eine konventionelle Operationstechnik mit eröffnetem Brustkorb und Verwendung der Herz-Lungenmaschine mit einem hohen Operationsrisiko und hoher Sterblichkeit einhergehen würde. Es besteht zunehmende Klarheit, dass TAVI bezüglich des Herzklappenersatzes keinen Behandlungsnachteil bei Hochrisikopatienten mit sich bringt. In der derzeitigen prozeduralen Durchführung ist jedoch der Einsatz Jod-haltiger Röntgenkontrastmittel zur Bestimmung anatomischer Strukturen notwendig. Gerade dies kann aber bei älteren und gebrechlichen Patienten auch zu einer Beeinträchtigung der Nierenfunktion bis hin zu einer Dialyse führen. Des Weiteren ist die Röntgen-Durchleuchtung derzeit der bildgebende Standard, was nicht nur hohe Strahlendosen für den einzelnen Patienten, die einzelne Patientin zur Folge hat, sondern auch zu einer hohen Strahlenbelastung bei dem durchführenden Fachpersonal führt. In diesem Projekt wird die Möglichkeit untersucht, durch die Verwendung eines im Blutgefäß gelegenen Ultraschall-Kopfes auf die Verwendung des nierenschädlichen Röntgenkontrastmittels zu verzichten und die Strahlen-Dosis für die Patienten sowie für das an dem Eingriff beteiligte Personal zu verringern. Dabei wird die notwendige Vermessung der erkrankten Herzklappe sowie ihrer umliegenden anatomischen Strukturen durch den Einsatz des Ultraschalles durchgeführt.

zu erwartender Nutzen: Ziel unserer Studie ist es zu zeigen, dass diese neue Methode mit gleicher Sicherheit und gleichen Ergebnissen durchgeführt werden kann. Sollte sich diese neue Methode bewähren zeigt sich der Nutzen in einer Reduktion der Nierenschädigung während des interventionellen kathetergestützten Aortenklappenersatzes sowie in einer Reduktion der Strahlendosis und erhöhter Arbeitsplatzsicherheit für das beteiligte Personal.

zu erwartender Schaden: Der Aufbau des Versuches ist so gestaltet, dass er in Vollnarkose und Schmerzfreiheit beim Tier durchgeführt wird und die notwendige Einschläferung des Tieres bereits während der noch bestehenden Vollnarkose geschieht.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Für die Durchführung des Versuches werden sechs Hausschweine verwendet.

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

Die Anzahl ist so gering wie möglich gehalten, um noch die notwendigen Erkenntnisse aus den Versuchen zu beziehen. Auf die Reduktion von Stress und Leid wird in allen Belangen, wie z. B. in der Haltung der Tiere in sozialen Gruppen, sicherer überwachter Transport und Durchführung des gesamten Versuches in Vollnarkose und Schmerzfreiheit. Die Eingriffe werden nach humanmedizinischen Standards durchgeführt. Des Weiteren hat jede an dem Versuch beteiligte Fachperson eine langjährige Erfahrung im Umgang mit Labortieren und es ist für uns selbstverständlich, mit größter Sorgfalt und Respekt dem Tier gegenüber, zu arbeiten. Es werden so viele Daten wie möglich aus jedem einzelnen Versuch gewonnen. Die Anzahl der verwendeten Tiere wird so gering wie möglich gehalten und durch die gute präoperative Vorbereitung und die Durchführung des gesamten Versuches in Vollnarkose und Schmerzfreiheit wird das Leid des Tieres auf ein Minimum begrenzt. Der Erfolg des Versuches kann uns neue Behandlungsstrategien ermöglichen, die das Risiko für den Patienten und für das behandelnde Personal reduzieren.

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 die Pharmakokinetik sechs neuer Antikörper-Wirkstoff-Konjugate in Wildtyp-Ratten untersucht werden. Unabhängig von der zu untersuchenden Krankheit, dienen Pharmakokinetikstudien der Ermittlung der Resorptions-, Distributions-, Metabolisierungs- und Exkretionsraten eines neuen Medikaments. Es wird also untersucht wie schnell ein Medikament vom Organismus aufgenommen wird, was von der Behandlungsrouten abhängig ist. Weiters wird die Verteilung der Substanz in den verschiedenen Geweben untersucht und letztendlich die Abbauraten, also die Zeit bis die Substanz zu 50% oder komplett aus dem Organismus entfernt ist. Letztlich kann auch untersucht werden auf welchem Wege und wie schnell eine Substanz den Organismus verlässt wenn sie nicht abgebaut wird. Antikörper-Wirkstoff-Konjugate werden in der Biochemie zur Immunmarkierung von Biomolekülen oder in der Therapie von Krebs als Chemoimmunkonjugate eingesetzt. Die Kopplung eines Moleküls an die Antikörper erfolgt im Zuge einer Molekülmarkierung. Mit Hilfe des Antikörpers wird eine selektive Bindung an eine bestimmte Zielstruktur einer Zelle oder eines Moleküls erreicht. Dies kann beispielsweise eine Tumorzelle sein, die auf ihrer Oberfläche ein bestimmtes Antigen präsentiert. Das konjugierte funktionale Molekül kann – im Fall einer therapeutischen Anwendung – beispielsweise ein Toxin sein, das an seinem Bestimmungsort eine zytotoxische Wirkung entfalten kann. Durch die selektive Anbindung an die Zielstruktur, wird der Wirkstoff nur am gewünschten Ort freigesetzt. Gesunde Zellen werden dabei weitgehend verschont. In der vorliegenden Studie sollen die Metabolismusrate von Antikörper-Wirkstoff-Konjugaten gegen CD30 positiven Lymphomen untersucht werden. Der Antikörper bindet dabei spezifisch an das CD30 Antigen und setzt den Wirkstoff Monomethylauristatin E an der Tumorzelle frei, so dass dieses gezielt an der Tumorzelle aktiviert wird und seine zytotoxische Wirkung entfalten kann. Da in dieser Studie die Substanz i.v. gegeben wird, kann die Resorption nicht untersucht werden. Außerdem wird die Verteilung der Substanz im Körper nicht untersucht, da der Antikörper nur an CD30 positive humane Zellen binden sollte, von denen die

Ratten keine haben. Es wird somit ausschließlich die Metabolismusrate der Substanzen untersucht, was zur Bestimmung der zu gebenden Konzentration und Behandlungsrate in zukünftigen Effizienzuntersuchungen unerlässlich ist.

zu erwartender Schaden: Dafür werden Wistar-Ratten intravenös mit den Antikörperkonjugaten behandelt. Den Tieren wird zu 6 verschiedenen Zeitpunkten Blut entnommen und am letzten Tag euthanasiert und final Blut und Gewebe entnommen. Das Blut wird auf Konzentrationen des Antikörper-Wirkstoff-Konjugats untersucht.

zu erwartender Nutzen: Durch diese Studie wird es möglich sein die Stabilität und somit die Metabolisierungsrate der neuen Antikörper-Wirkstoff-Konjugate zu ermitteln. Mittels dieser in vivo Untersuchungen kann die benötigte Substanzkonzentration und Behandlungsfrequenz ermittelt werden.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie werden insgesamt 120 Ratten beantragt.

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

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

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

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

zu erwartender Nutzen: Trotz exzellenter Ergebnisse im Kurzzeit-Organüberleben nach Organtransplantation, gibt es kaum Verbesserung im Bereich des Langzeit-Überlebens. Die zwei Hauptgründe dafür sind unerwünschte Nebenwirkungen der immunsuppressiven Medikamente sowie die chronische Abstoßung, welche immer noch schwer zu behandeln ist. Daher rückt die Weiterentwicklung und Adaptierung der immunsuppressiven Therapie, sowie die Aufschlüsselung der immunmodulatorischen Mechanismen auf zellulärer Ebene ins Licht der Forschung. Kostimulationsblockade als neue Form der selektiven Immunsuppression stellt ein attraktives Mittel zur Therapie der Organabstoßung dar. Ziel des Projekts ist es, die chronische Immunsuppression durch Kostimulationsblockade besser zu verstehen und möglicherweise optimieren zu können. Im speziellen soll die Interaktion zwischen regulatorischen T-Zellen sowie chronischer B7-Blockade hinsichtlich Transplantatfunktion und humorale Immunantwort, genauer untersucht werden. Langfristig sollen die Ergebnisse aus diesem Projekt als Grundlage für klinische Studien dienen, welche das Ziel haben die Organfunktion sowie auch das Transplantatüberleben positiv zu beeinflussen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Es werden folgende Techniken bei den Tieren durchgeführt: Blutabnahme, intraperitoneale Verabreichung von Antikörpern, Operationen unter Narkose. Je nach Gruppenzugehörigkeit kann die Belastung für die Mäuse als gering bis mittel eingestuft werden.

2. Art und Anzahl der Tiere

1434 Mäuse unterschiedlichen Genotyps

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

Vermeidung: Nach Ausschöpfung aller in vitro Methoden sind zur weiteren Abklärung der Fragestellung Untersuchungen an einem Gesamtorganismus erforderlich. Die Anzahl der benötigten Tierversuche wurde durch vorgeschaltete Untersuchungen in vitro (Zellkulturen, isoliertem Gewebe etc.) reduziert.



Verminderung: Durch Standardisierung aller Haltungs- und Versuchsbedingungen und genaue Versuchsplanung wird eine geringe Streuung der Versuchsergebnisse ermöglicht und somit die Tierzahlen auf das notwendige Minimum reduziert. Bezugnehmend auf diese Voraussetzung wurde eine Fallzahlberechnung durchgeführt, um mit geringen Tierzahlen aussagekräftige Resultate zu erhalten.

Verfeinerung: Das Projekt verwendet ein etabliertes und international akzeptiertes Mausmodell und berücksichtigt alle Anforderungen zur Vermeidung, Verminderung und Verbesserung der Untersuchungen.

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

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

In der Literatur gibt es widersprüchliche Angaben darüber, wie sich die Stabilität von Proteinen auf ihre Immunogenität (die Fähigkeit, Immunreaktionen im Organismus auszulösen) beziehungsweise ihre Allergenizität (das Potenzial, allergische Reaktionen hervorzurufen) auswirkt. In einem geplanten Projekt untersuchen wir diese Fragestellung an Hand einiger klinisch relevanter Allergene und einiger Modellantigene. Die Moleküle werden durch Einfügen von Punktmutationen stabilisiert beziehungsweise destabilisiert. Um eine aufwändige Charakterisierung vieler unterschiedlicher Proteine zu vermeiden, wird zunächst *in silico* berechnet, wie sich einzelne Mutationen auf die Strukturstabilität der untersuchten Proteine auswirken. Einige wenige ausgewählte Varianten werden anschließend in Bakterien rekombinant hergestellt und mittels chemisch-physikalischer Methoden genauestens charakterisiert. Nach einer *in vitro* Evaluierung ist abschließend geplant, durch Immunisierung von Mäusen die Auswirkung von erhöhter oder verringerter Strukturstabilität auf die Immunogenität/Allergenizität *in vivo* zu testen. Insgesamt sollen 7 unterschiedliche Proteine/Allergene und deren mutierte Varianten untersucht werden.

zu erwartender Nutzen: Die Klärung des Zusammenhangs zwischen Faltungsstabilität und Immunogenität/Allergenizität von Proteinen würde einerseits die Entwicklung neuer Strategien zur Prävention, Diagnose und Therapie von allergischen Erkrankungen ermöglichen. Andererseits wäre es dann auch möglich, Proteine zur Anwendung als Therapeutika dahingehend zu modifizieren, dass ihre biologische Aktivität erhalten wird, aber eine unerwünschte Immunreaktion gegen das Therapeutikum selbst ausbleibt.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Immunisierungen erfolgen mittels intradermaler Injektion oder über mikroskopisch kleine Poren in der Haut, die zuvor durch einen Infrarot-Laser erzeugt wurden. Um den Immunstatus der Versuchstiere zu testen, werden kleine Mengen Blut abgenommen. Alle verwendeten Methoden fallen in die geringste Schweregradkategorie. Daher ist mit einer sehr geringen Belastung der Versuchstiere bei gleichzeitig hohem Wissenszuwachs zu rechnen.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Insgesamt wird eine Zahl von 420 Mäusen beantragt

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

**Vermeidung:** Um die Zahl der Versuchstiere möglichst gering zu halten, werden die in vivo Experimente nur mit Proteinvarianten durchgeführt, die zuvor in vitro die größten Abweichungen vom jeweiligen Wildtyp-Molekül in Bezug auf Antigen-Prozessierung und Präsentation gezeigt haben. Von diesen Varianten ist zu erwarten, dass sie auch in vivo eine deutlich gesteigerte/reduzierte Immunogenität aufweisen oder der Typus der induzierten Immunreaktion von der des Wildtyp-Proteins stark abweicht.

**Verminderung:** Die erforderliche Zahl und Gruppengröße der benötigten Versuchstiere, um statistisch signifikante Ergebnisse zu erzielen, wurde auf Basis bereits durchgeführter Studien mit vergleichbaren experimentellen Ansätzen unter Zuhilfenahme eines Statistikprogrammes zur Gruppenzahlberechnung ermittelt.

**Verfeinerung:** Die Mäuse werden über den gesamten Versuchsverlauf sorgfältig beobachtet (allgemeiner Eindruck, Gewicht, eventuelle Anzeichen von Schmerzen oder Leiden) und gegebenenfalls Gegenmaßnahmen eingeleitet. Wir sind sehr bemüht, Stress und Schmerzen zu vermeiden, aus diesem Grund erfolgen z. B. die Immunisierungen unter leichter Isofluran Narkose, da dies erfahrungsgemäß stressärmer für die Tiere ist, als eine Fixierung.

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

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

Ziel des Projektes ist es den Zusammenhang von Veränderungen im Eisenstoffwechsel mit der Pathogenese von zwei chronischen Lungenerkrankungen, der pulmonal arteriellen Hypertonie und der idiopathischen Lungenfibrose zu untersuchen. Bei beiden Erkrankungen konnten pathologische Veränderungen von Signalwegen identifiziert werden, welche Einfluss auf den Eisenstoffwechsel haben. Da eine strikte Regulierung des Eisenstoffwechsels eine entscheidende Rolle für das Immunsystem, den Sauerstofftransport und den Schutz von Gewebe vor möglichen toxischen Effekten von freiem Eisen hat, erhoffen wir uns durch das geplante Forschungsprojekt Einblicke in die Rolle des Eisenstoffwechsels für die Krankheitsentstehung und Verlauf der pulmonalen Hypertonie und der idiopathischen pulmonalen Fibrose zu erhalten.

zu erwartender Nutzen: Ein besseres Verständnis der Pathogenese der angeführten Erkrankungen ist entscheidend für die Entwicklung therapeutischer Konzepte. Konkret könnte das beschriebene Forschungsprojekt dazu beitragen mögliche neue therapeutische Angriffspunkte zu identifizieren und den Wirkmechanismus aktueller Therapiekonzepte besser zu verstehen um zukünftig Therapien gezielter einsetzen zu können.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Bei der pulmonalen arteriellen Hypertonie und der idiopathischen pulmonalen Fibrose handelt es sich um schwerwiegende Erkrankungen des Menschen. Entsprechend ist auch bei den Tieren mit einer entsprechend schweren Einschränkung zu rechnen. Diese bezieht sich primär auf eine eingeschränkte Leistungsfähigkeit und Atembeschwerden, während Schmerzen keine wesentliche Komponente der Belastung darstellen. Eine engmaschige Verlaufskontrolle der Tiere durch geschultes Personal gewährleistet dabei, dass durch rechtzeitigen Abbruch des Versuchs ein schwerwiegendes Leiden der Tiere verhindert wird.

2. Art und Anzahl der Tiere

insgesamt 435 Mäusen und 215 Ratten

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

**Vermeidung:** Eine Vermeidung von Tierversuchen ist für die vorliegende Fragestellung nicht möglich, da komplexe Regulationsmechanismen, wie sie bei der Entstehung der pulmonal arteriellen Hypertonie und der idiopathischen pulmonalen Fibrose vorliegen, im ex vivo Modell nicht untersucht werden können. Hinzu kommt, dass die Veränderung des Eisenstoffwechsels ebenso von einem Zusammenspiel intakter Organsystem abhängt und somit durch ex vivo Methoden nicht nachvollzogen werden kann. Zur Verminderung der Tierzahl wird für spezielle Fragestellungen auf Zellkulturversuche zurückgegriffen, sofern dies zulässig ist.

**Verminderung:** Eine Verminderung der Versuchstierzahl wird vorwiegend dadurch angestrebt, dass Versuche derart geplant werden, dass mehrere Fragestellungen mittels einer Versuchsanordnung beantwortet werden und somit die Anzahl der Kontrolltiere reduziert wird. Weiters wird darauf geachtet eine möglichst umfangreiche Gewebesammlung durchzuführen und Organe/Blut so aufzubereiten, dass damit möglichst zahlreiche Messmethoden durchführbar sind und auch zu einem späteren Zeitpunkt zusätzliche Untersuchungen durchgeführt werden können, ohne den Versuch wiederholen zu müssen. Weiters wird auch bei Versuchsabbruch eine Auswertung durchgeführt.

**Verfeinerung:** Die vorliegende Versuchsreihe ist sequentiell angesetzt, sodass anhand der gewonnenen Ergebnisse, Folgeversuche angepasst und gegebenenfalls auf unnötige Versuchsansätze verzichtet werden kann.

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

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

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

Das Projekt dient der Entwicklung eines neuartigen Humanimpfstoffes mit hohem klinischem Bedarf. Bei den beantragten Versuchen mit einer Laufzeit von drei Jahren handelt es sich um den Vergleich der Immunogenität (Menge der durch die Impfung hervorgerufenen Antikörper, also jener Moleküle, die bei einer Immunantwort der Erkennung und Markierung eines eingedrungenen oder im Körper fehlgebildeten Eiweißes dienen) und Stabilität (Gleichbleiben der chemischen und biologischen Eigenschaften über einen bestimmten Lagerzeitraum) von unterschiedlich formulierten Impfstoffen. Diese Experimente sind nötig, um Spezifikationen (Qualitätsstandards/Akzeptanzkriterien im Zulassungsverfahren) im Hinblick auf eine spätere Markteinführung des Produktes festlegen zu können.

zu erwartender Schaden: Die Mäuse bekommen Dosen des Impfstoffes appliziert. Dabei kann es erfahrungsgemäß zu leichten temporären Entzündungen an der Injektionsstelle kommen, die innerhalb kurzer Zeit wieder abklingen. In den seltenen Fällen, in denen es sich anders verhält, wird der Versuch abgebrochen. Weiters kann es durch Gabe von Impfstoffformulierungen mit unterschiedlichen pH-Werten zu Schmerzen und Schäden für die Tiere kommen. Um dies zu vermeiden, sollen die Versuche stufenweise durchgeführt werden. Bei den Immunisierungen wird mit pH-Werten von 7,0 und 7,5 begonnen. In diesem Bereich wurden bisher keine adversen Reaktionen beobachtet. Anschließend werden schrittweise die Impfstoffe appliziert, deren pH-Wert oberhalb beziehungsweise unterhalb des neutralen Bereiches liegt. Sollte es sich herausstellen, dass die Mäuse stark reagieren (z. B. über die bei einer normalen Injektion zu erwartenden Dauer anhaltend Anzeichen von Schmerzen zeigen) wird darauf sofort reagiert werden. Der Zustand der Versuchstiere, insbesondere auch im Hinblick auf die Injektionsstelle, wird engmaschig kontrolliert werden. Nach Rücksprache zwischen den Tierpflegern und der Projektleitung hat gegebenenfalls ein Abbruch der Experimente zu erfolgen. Die Versuche enthalten keine operativen Eingriffe und sind dem Schweregrad „mittel“ zugeordnet.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

1152 Mäuse

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

**Vermeidung:** Die Versuche wurden gemäß internationaler Guidelines zur Stabilitätstestung neuer biotechnologischer Substanzen ausgearbeitet. Es wurde eine möglichst geringe Zahl von Tieren gewählt, mit der die Erfüllung der durch die Guidelines vorgegebenen Ziele noch machbar ist.

**Verminderung:** Verwendung geeigneter statistischer Methoden zur Reduktion der benötigten Tiere. Einsatz zahlreicher in vitro Filter im Vorfeld, um die Zahl der notwendigen in vivo-Versuche gering zu halten.

**Verfeinerung:** Zur Minderung der psychischen Belastung werden die Tiere sozial und in angereicherter (Nestbaumaterial, Spielzeug) Umgebung gehalten. Die Tiere werden früh gekauft, um eine mehrwöchige Gewöhnung an Tierpfleger und Experimentatoren im Vorfeld zu ermöglichen, was wiederum den Stress für die Tiere während des Versuches deutlich senkt.

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

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

Die Blut-Hirn Schranke ist eine Barriere zwischen Blut und Gehirn die den unkontrollierten Übertritt von Blutbestandteilen oder im Blut gelösten Substanzen verhindert. Die Blut-Hirn Schranke erhält das chemische Gleichgewicht im Gehirn und schützt das Gehirn vor Fremdstoffen. Dieser Schutzmechanismus hat leider auch zur Folge, dass viele Arzneimittel die im Gehirn wirken sollten, ihren Wirkort im Gehirn nicht erreichen können. Eine zentrale Rolle bei dieser Schutzfunktion der Blut-Hirn-Schranke spielen die beiden Transport-Proteine ABCB1 und ABCG2, die Arzneistoffe vom Gehirn zurück ins Blut befördern können. Ziel dieses Projektes ist es zu untersuchen, ob ein neu entwickelter radioaktiv markierter Inhibitor von ABCG2 namens  $[^{11}\text{C}]\text{Ko143}$  dazu verwendet werden kann ABCG2 an der Blut-Hirn Schranke von Mäusen zu visualisieren. Für diese Untersuchungen wollen wir Positron-Emissions-Tomografie (PET) mit Magnet-Resonanz-Tomographie (MRT) Untersuchungen in der Maus kombinieren um Daten über die räumliche und quantitative Verteilung von ABCG2 zu erhalten. Mit Hilfe von gentechnisch veränderten Mäusen wollen wir die Selektivität von  $[^{11}\text{C}]\text{Ko143}$  für ABCG2 versus ABCB1 ermitteln. Anhand von Vorbehandlungen der zu untersuchenden Mäuse mit nicht-radioaktivem Ko143 oder mit einem zweiten ABCG2 Inhibitor namens Elacridar wollen wir die Spezifität der Bindung von  $[^{11}\text{C}]\text{Ko143}$  an ABCG2 nachweisen. Die aus diesem Projekt hervorgehenden Resultate werden dazu beitragen die Funktion von ABCG2 an der Blut-Hirn Schranke besser zu verstehen und mögliche Änderungen von ABCG2 in diversen neurologischen Erkrankungen untersuchen zu können.

zu erwartender Nutzen: Diese Versuche sollen das Verständnis verbessern, warum viele Therapeutika bei der Behandlung von vielen neurologischen Erkrankungen wirkungslos sind.

zu erwartender Schaden: Für einen Untersuchung mittels Positron-Emissions-Tomografie wird der jeweiligen Maus eine radioaktive Prüfsubstanz verabreicht. Diese Verabreichung erfolgt in Narkose und intravenös. Auch die vorangehende Magnet-Resonanz-Tomographie erfolgt in Allgemeinanästhesie. Am Ende der Untersuchungen werden die Tiere noch in Narkose euthanasiert. Somit sind diese Experimente weitestgehend schmerzfrei.



## 2. Art und Anzahl der Tiere

54 Mäuse.

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

**Vermeidung:** Es ist nicht möglich die Funktion der Blut-Hirn-Schranke anders als in einem Tierversuch zu untersuchen.

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

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

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

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

Eine Möglichkeit, Fieber bei Rindern nicht-steroidal zu behandeln, ist die Anwendung einer Lösung, die äußerlich (auf die Rückenlinie) aufgetragen und transkutan absorbiert wird. Da die meisten Rinder in Laufställen oder auf der Weide gehalten werden, besteht die Gefahr, dass das Präparat, welches den Wirkstoff Flunixin enthält, im Rahmen der Fellpflege von anderen Tieren oral aufgenommen wird. Dies birgt das Risiko, dass

- das behandelte Tier nicht die vorgesehenen Dosis erhält und
- ein nicht als behandelt bekanntes Tier das Medikament aufnimmt, ohne dass entsprechende Wartezeiten auf Milch und Fleisch eingehalten werden.

Ziel des Pilotprojektes ist es, festzustellen, ob der Wirkstoff in Blut oder Milch nachweisbar ist, wenn das Medikament oral verabreicht wird.

zu erwartender Nutzen: Wenn Flunixin nach oraler Gabe nicht in Blut oder Milch nachweisbar ist, müssen die behandelten Tiere nicht wie vom Hersteller angegeben während der gesamten Wartezeit von den unbehandelten Artgenossen separiert werden. Sie könnten somit im Herdenverband verbleiben, was einen bedeutenden Vorteil für das Sozialverhalten der Tiere darstellt.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Es ist davon auszugehen, dass die einmalige orale Verabreichung des Medikaments keine schweren Nebenwirkungen verursacht. Die Entnahme von Blutproben erfolgt über einen intravenösen Verweilkatheter, der unter Einsatz eines Lokalanästhetikums gesetzt wird. Die Milchprobenentnahme erfolgt im Rahmen der normalen Melkung.

2. Art und Anzahl der Tiere

6 Kühe

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

Vermeidung: Die gastrointestinale Absorption eines für die transkutane Applikation vorgesehenen Medikaments kann aufgrund der Komplexität der physiologischen Vorgänge nur am lebenden Tier untersucht werden.

Verminderung: Die orale Verabreichung der Flunixin-Lösung ist bisher nicht untersucht worden. Da es sich somit um ein Pilotprojekt handelt, kann keine Stichprobenplanung durchgeführt werden. Es ist jedoch davon auszugehen, dass die Daten von sechs Kühen ausreichen, um stichhaltige Aussagen zu treffen.

Verbesserung: Die Blutentnahmen und die Verabreichung des Medikaments werden fachgerecht und unter Anwendung der schonendsten Methoden durchgeführt. Die Tiere verbleiben in ihrer gewohnten Umgebung und werden im Hinblick auf Gesundheit und Wohlbefinden kontinuierlich überwacht.

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

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

Für medizinische Fragestellungen stehen Humanmedizinern und Forschern eine Reihe von bildgebenden Untersuchungen zur Verfügung. Dabei rückt der Fokus immer mehr weg von rein anatomischer Betrachtung von Bildern und der Beurteilung pathologischer Veränderungen, hin zu funktioneller Untersuchung dieser Veränderung, vor allem auch in Hinblick auf die anzuwendende Therapie. Speziell diese Fragestellung ist nur sehr schwer mit einer einzigen Methode abzuklären. Deshalb versucht man mittels sogenannter multimodaler Methoden, also einer Kombination von zwei verschiedenen Arten der bildgebenden Darstellung, diese Probleme anzugehen. Eine häufige Methode in der Onkologie, die auch schon in der klinischen Praxis angewendet wird, ist die Kombination eines [18F]FDG-PET-Scans (18F-Fluoro-2-Deoxy-Glukose) mit einem MRI-Scans mit dem Kontrastmittel Gd-DTPA (Gadopentat- Dimeglumin). Einerseits nutzt man hier mit dem PET-Scan den hohen Energiebedarf des Tumors aus und andererseits mit dem Kontrast-MRI-Scan die erhöhte Vaskularisierung des Tumors. Sowohl [18F]FDG, als auch Gd-DTPA, gelten als ungefährlich und sehr sicher in der Anwendung. Beide werden aber glomerulär über die Niere ausgeschieden. Zusätzlich ist die Gabe von Gd-DTPA bei Patienten mit schweren Nierenfunktionsstörungen kontraindiziert. Deshalb scheint es angebracht zu untersuchen, ob die konsekutive Gabe von FDG und Gd-DTPA Auswirkungen hat, die die Interpretation multimodaler bildgebender Diagnostik erschweren oder eventuell auch verunmöglichen. Unsere These ist, dass die konsekutive Gabe dieser Substanzen, die bildgebende Darstellung und Auswertung verändert und diese Interaktion bei zukünftigen Studien beachtet werden muss.

zu erwartender Nutzen: Evaluierung der wechselseitigen pharmakologischen Beeinflussung von [18F]FDG und Gd-DTPA und der damit verbundenen Implikationen für Diagnose und Therapie.

zu erwartender Schaden: Für einen Untersuchung mittels Positron-Emissions-Tomografie und MRI wird der jeweiligen Maus eine radioaktive Prüfsubstanz beziehungsweise ein Kontrastmittel verabreicht. Diese Verabreichung erfolgt in Narkose und intravenös. Am Ende der Untersuchungen werden die Tiere noch in Narkose euthanasiert. Somit sind diese Experimente weitestgehend schmerzfrei.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

32 Mäuse.

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

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

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

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

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

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

Infektionen mit porzinen Influenza A-Virusstämmen (FLUAVsw) stellen ein weltweites Problem dar und sind auch in Europa weit verbreitet. Durch potentielle Übertragbarkeit auf den Menschen stellen Influenzainfektionen beim Schwein auch eine Gefahr für die menschliche Gesundheit dar. Die Entwicklung neuer Immunisierungsstrategien soll die Kontrolle und Prävention von Influenzainfektionen laufend verbessern. Ziel dieses Projektes ist der Test eines neuen Impfstoffkandidaten gegen FLUAVsw, der bereits nach einmaliger Immunisierung wirksam soll und somit deutlich weniger Stress für die Tiere bedeutet. Weiters wird in diesem Versuch die Wirkung des Impfstoffkandidaten auf das angeborene Immunsystem des Schweines untersucht, was bei positiven Ergebnissen die Verwendung von Adjuvantien in Impfstoffen, die mit Nebenwirkungen in Verbindung gebracht werden, reduzieren würde.

zu erwartender Nutzen: Die gewonnenen Erkenntnisse werden über die Wirkungsweise, Protektivität und Effektivität des FLUAVsw-spezifischen Impfstoffkandidaten nach einmaliger Immunisierung Aufschluss geben. Darüber hinaus wird die Erhebung der Daten über das zelluläre Immunsystem ein wesentlicher Beitrag zur Entwicklung neuer Impfstrategien beim Schwein leisten. Eine zusätzliche Stimulation des angeborenen Immunsystems durch den Impfstoff ist von wesentlicher Bedeutung, da neue Möglichkeiten für eine Aktivierung des Immunsystems gegen Infektionskrankheiten geschaffen werden können.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Durch die Immunisierung selbst werden keine Belastungen für das Tier erwartet. Bei einer Infektion mit Influenzaviren ist mit kurzfristigen klinischen Symptomen, z. B. mit erhöhter Körpertemperatur und verringerter Fresslust, zu rechnen.

2. Art und Anzahl der Tiere

40 Schweine

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

Vermeidung: Um den Einfluss der Immunisierung auf das porcine Immunsystem detailliert und praxisrelevant untersuchen zu können, ist zum gegenwärtigen Zeitpunkt nur eine Untersuchung am lebenden Gesamtorganismus möglich. Daher kann dieser Versuch nicht durch tierversuchsfreie Verfahren ersetzt werden.

Verminderung: Die Anzahl der Schweine wird durch die statistische Planung und Auswertung so gering wie möglich gehalten. Es wird nur jene Anzahl an Tieren und Gruppen verwendet, die unbedingt erforderlich ist, um aussagekräftige Ergebnisse zu erzielen.

Verfeinerung: Die Haltung der Schweine in Gruppen entspricht den physiologischen Bedürfnissen der Tiere. Auch adäquates Beschäftigungsmaterial ist vorhanden. Ständiger Zugang zu Futter und sauberem Trinkwasser ist gewährleistet. Eine regelmäßige Kontrolle der Tiere durch ausgebildetes Pflegepersonal sowie Tierärztinnen/Tierärzte gewährleistet eine nahezu lückenlose Überwachung des Gesundheitszustandes der Tiere. Treten bei den infizierten Tieren klinische Symptome auf, so werden unverzüglich alle Maßnahmen ergriffen, um die Belastung der Tiere zu reduzieren. Die Festlegung geeigneter Abbruchkriterien stellt sicher, dass bei Auftreten allfälliger Komplikationen oder Erkrankungen unnötiges Leiden der Tiere verhindert wird. Schließlich trägt auch die kurze Beobachtungsdauer der infizierten Tiere dazu bei, dass die Belastung auf das erforderliche Minimum reduziert wird.

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

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

Ziel der Studie ist es, die Rolle eines Proteins anhand eines Mausmodells in der Entwicklung und Progression von Prostatakrebs zu untersuchen. Prostatakrebs ist weltweit gesehen die zweit häufigst diagnostizierte Krebsart bei Männern mit mehr als 1 Million neue Fälle pro Jahr. Zusätzlich ist das Prostatakarzinom der fünfthäufigste Grund für Krebs bedingte Todesfälle weltweit. Derzeitige Bemühungen das Risiko zu minimieren konzentrieren sich auf frühzeitige Erkennung durch routinemäßige Kontrollen und gegebenenfalls Intervention in möglichst frühem Stadium des Karzinoms. Nachteilig ist jedoch, dass die derzeitig verfügbaren Screening-Methoden nicht zwischen aggressiven Formen des Prostatakarzinoms, in denen eine Behandlung notwendig wäre, und sehr langsam fortschreitenden Erkrankungen, die auch unbehandelt keine größeren Probleme verursachen würden, unterscheiden können. Derzeitige Therapiemöglichkeiten, wie etwa die Prostatektomie, sind mit schwerwiegenden Nebenwirkungen verbunden, welche die Lebensqualität der Patienten massiv einschränkt. Es ist daher offensichtlich, dass Bedarf sowohl an verbesserten Diagnosemethoden, als auch Therapieansätzen besteht. Daher ist es Ziel dieser Studie, onkogene Mechanismen, die an der Progression des Prostatakarzinoms beteiligt sind, zu identifizieren.

zu erwartender Nutzen: Dieses Projekt könnte einerseits ermöglichen, dass Auffälligkeiten im Expressions- oder Mutationsmuster von Proteinen, die mit aggressiven Formen des Prostatakarzinoms korrelieren, erkannt werden und somit zu einer besseren Observierung des Krankheitsverlaufes beitragen können. Zum anderen können durch die Identifikation treibender Faktoren spezifischere Therapien entwickelt und die Lebensqualität betroffener Patienten verbessert werden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Das Prostatakarzinom bleibt bis in sehr späte Stadien indolent, daher wird der zu erwartende Schaden der Tiere als gering bis maximal mittelgradig eingestuft.

2. Art und Anzahl der Tiere

378 Mäuse



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

**Vermeidung:** Durch vorherige Durchführung von in vitro Versuchen, sowie Auswertung von bereits publizierten Daten zu Genexpression und vorhandenen Mutationen im Prostatakarzinom konnte bereits eine mögliche Beteiligung des zu untersuchenden Proteins festgestellt werden. Diese Analysemethoden sind nun an ihre Grenzen gestoßen. Um die bisher gewonnenen Daten in einem reaktionsfähigen Organismus zu bestätigen und deren systemische Bedeutung zu erfassen, ist die Verwendung der Mäuse notwendig.

**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 mit der jeweils erforderlichen experimentellen Arbeit haben.

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

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

Die feuchte altersbedingte Makuladegeneration (AMD) ist die häufigste Ursache für die Abnahme des Sehvermögens im Alter. Bei dieser Erkrankung kommt es zur Neubildung von Gefäßen, die aus der Aderhaut unter die Makula aussprossen. Der genaue Mechanismus für diese Gefäßaussprossung ist noch nicht zur Gänze geklärt, allerdings scheint sicher, dass eine vermehrte Produktion vom sogenannte "vascular Endothelial Growth Factor" (VEGF) eine ganz entscheidende Rolle spielt und daher stellt die Injektion von VEGF-Blockern in den Glaskörper die gängige Therapie bei dieser Erkrankung dar. Allerdings ist nicht klar, ob VEGF der einzige Mediator bei dieser Gefäßneubildung ist, oder ob es zusätzliche Stimuli gibt. Solche Stimuli könnten die Neuropeptide Substanz P (SP), Sekretoneurin (SN) oder Neuropeptid Y (NPY) sein, die ebenfalls ein ausgeprägtes Potential zur Gefäßneubildung aufweisen. Um dies zu bestätigen, werden Laserungen an sogenannten knock out Mäusen vorgenommen, also Mäusen, bei denen das Peptid oder der Rezeptor fehlt. Falls die Peptide beziehungsweise Rezeptoren tatsächlich zur Gefäßneubildung in diesem Tiermodell beitragen, dann muss die Größe der Gefäßneubildungen am Augenhintergrund bei diesen Mäusen verringert sein im Vergleich zu Kontrollen.

zu erwartender Nutzen: Der Nutzen vom Projekt besteht im Nachweis, dass die drei Mediatoren zur Gefäßneubildung aus der Aderhaut in einem gängigen Tiermodell beitragen.

zu erwartender Schaden: Der Schaden für die Tiere besteht darin, dass die Tiere tief narkotisiert werden und es wird zusätzlich ein Lokalanästhetikum in die Augen der Mäuse eingetropft und im Anschluss daran werden dann die Laserungen vorgenommen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für dieses Projekt werden insgesamt 40 Mäuse verwendet.

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

Die 3R werden erfüllt, nämlich Vermeidung (kann nicht vermieden werden, weil keine in vitro Methode möglich ist), Verminderung (es wird nur ein Mindestmaß

an Tieren verwendet) und Verfeinerung (ausreichend tiefe Narkose, Gabe von Agepha und Neosynephrin zur Pupillenerweiterung).

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

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

Bei einer zunehmend älter werdenden Bevölkerung nimmt die Bedeutung von altersassoziierten Demenzen immer mehr zu. Im Hinblick auf die Entwicklung von Therapien ist es deshalb unerlässlich, die zugrunde liegenden pathologischen Mechanismen zu verstehen. Schon vor 100 Jahren beschrieb Alois Alzheimer die zwei charakteristischen Proteinablagerungen der Alzheimerschen Erkrankung (AD), von denen wir heute wissen, dass es sich dabei zum einen um die so genannten Neurofibrillenbündel und zum anderen aus  $\beta$ -Amyloid bestehenden Plaques handelt. In dieser Studie soll eine alternative Behandlungsmethode untersucht werden. Dabei handelt es sich um Ampakinemodulatoren, die die typische APP und Tau Pathologie der AD nicht direkt beeinflussen können. Stattdessen sollen die Substanzen die allgemeine Aktivität der AMPA Rezeptoren steigern und somit zu einer Verbesserung der kognitiven Leistungen führen.

zu erwartender Nutzen: Ziel dieser Studie ist die erfolgreiche Austestung zweier neuer Testsubstanzen in Mäusen um deren Austestung in klinischen Studien näher zu kommen.

zu erwartender Schaden: In diesem Projekt soll die Effizienz zweier neuer Testsubstanzen in TAPP Mäusen untersucht werden. Dafür werden TAPP Mäuse oral mit den Testsubstanzen behandelt. Die Tiere werden nach 4-wöchiger Behandlung euthanasiert und CSF, Blut und Gehirn entnommen. Alle Gewebe werden eingefroren oder fixiert und auf krankheits-relevante Pathologien untersucht oder für weitere Untersuchungen zur Verfügung gestellt.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie werden insgesamt 160 Mäuse beantragt.

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

Vermeidung: Um Medikamente gegen Demenzerkrankungen zu testen, ist es erforderlich auf Tiermodelle zurück zu greifen. Ersatzmethoden wie z. B. Zellkulturen können zwar Ansätze liefern, für weitere Schritte müssen jedoch Tiermodelle zum Einsatz kommen um möglichst vergleichbare Resultate zum Menschen zu erzielen.

Verminderung: In dieser Studie sollen pro Gruppe 20 Tiere verwendet werden. Diese Gruppengröße ist notwendig, da mit den Geweben sehr viele unterschiedliche Untersuchungen durchgeführt werden sollen, wofür die Gewebe der Tiere teilweise unterschiedlich aufgearbeitet werden müssen. Um trotzdem eine gute Gruppengröße für jede Untersuchung zu erhalten, wurde die Gesamtgruppengröße entsprechend gewählt.

Verbesserung: 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 beziehungsweise mit den jeweiligen Versuchsapparaten vertraut gemacht, um unerwünschte, stressbedingte, falschpositive beziehungsweise falsch-negative 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 Vereinzelnung, wird vermieden. Die Tiere erhalten Nestlets als Nistmaterial.

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

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

Die mikrobielle Darmzusammensetzung der Masthühner trägt zur Verdauung bei und kann die Ernährung, das Wachstum, und den Gesundheitsstatus von Broilern beeinflussen. Die mikrobielle Gemeinschaft im Verdauungstrakt ist für die Geflügelproduktion von besonderem Interesse. Die Fortschritte in der DNA-Sequenzierungstechnologie und bioinformatische Analyse erlauben uns ein Verständnis der komplexen mikrobiellen Lebensgemeinschaften mit verschiedenen Lebensräumen zu gewinnen.

zu erwartender Nutzen: Die gewonnene Information über die mikrobielle Darmzusammensetzung der Masthühner unter Verwendung eines Futtermittelzusatzstoffes, welcher aus Säuren, Zimtaldehyde und einem Permeabilizing Complex besteht, im Vergleich zum Antibiotikum Colistin und zur negativen Kontrollgruppe wird wertvolles Wissen für die Produktion des Mastgeflügels liefern. Die daraus gewonnenen Resultate leisten einen Beitrag zur Verbesserung des Gesundheitsstatus beim Broiler.

zu erwartender Schaden für die Tiere: An Tag 7, Tag 17 und Tag 38 (Versuchsende) wird von jeweils 3 zufällig ausgewählten Tieren pro Bucht nach Euthanasierung mit CO<sub>2</sub> Verdauungsbrei entnommen.

2. Art und Anzahl der Tiere

600 Broiler (Ross 308)

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

Vermeidung: Die Durchführung dieses Projektes ist aufgrund der vorgesehenen mikrobiologischen Untersuchungen des Verdauungsbreies nicht in Form einer in vitro Studie möglich und es kann somit nicht auf eine Ersatz- beziehungsweise Ergänzungsstudie ausgewichen werden.

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

Verfeinerung: Es wird während des Projektes großer Wert darauf gelegt, dass Stress und Schmerzen der Broiler so gering als möglich gehalten werden. Alle Tiere werden in Buchten mit jeweils 20 Broiler gehalten. Die Tiere haben ständi-

gen Zugang zu Futter und Wasser und werden täglich von geschultem Personal sorgfältig betreut und tierärztlich überwacht. Sollten die Tiere Anzeichen von Schmerz zeigen oder in irgendeiner Weise beeinträchtigt sein, werden sie vom Versuch ausgeschlossen und tierärztlich betreut.

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

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

Diabetiker unter Insulinpumpentherapie können sich nur etwa zwei Tage zu hundert Prozent auf ihre Pumpe verlassen, bevor die Wirkung/Absorption des Insulins nachlässt oder komplett versagt. Der Versuch soll Aufschluss darüber geben, welche (Immun-)Reaktionen im subkutanen Fettgewebe für die beeinträchtigte Insulinabsorption verantwortlich sind und ob sich ein verbessertes Katheterdesign positiv auf die Immunreaktion auswirkt. Dieses Wissen soll in Zukunft zur Entwicklung von neuartigen Kathetern und/oder Beschichtungen beitragen. Da die Insulinwirkung in den ersten zwei Tagen unbeeinträchtigt scheint und erst am dritten Tag der kontinuierlichen Infusion eingeschränkt wird, ist es für die geplanten Versuche von immenser Bedeutung diese über mindestens drei Tage durchzuführen. Langfristiges Ziel ist eine Tragedauer von mindestens einer Woche.

zu erwartender Schaden: Den Tieren werden unter Narkose kommerziell erhältliche und von Diabetikern täglich verwendete Insulininfusionskatheter gesetzt.

zu erwartender Nutzen: Es kann eindeutig festgestellt werden, dass sich für die Patienten große Vorteile ergeben werden, da die Ergebnisse für die Entwicklung neuer Katheterbeschichtungen und -designs maßgeblich beitragen werden.

2. Art und Anzahl der Tiere

20 Hausschweine

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

Verminderung: Im Sinne der 3R zum Schutz der für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere, werden die Tiere für Untersuchungen mit mehreren Methoden und für unterschiedlichen Fragestellungen gleichzeitig verwendet. Dadurch kann der bestmögliche Nutzen aus den Tierversuchen erzielt und gleichzeitig die Anzahl der Versuchstiere gering gehalten werden. Die statistische Aussagekraft dieses Pilotversuches wird gewährleistet, indem an unterschiedlichen Stellen am Versuchstier jede Katheterart in mehrfacher Ausführung parallel eingesetzt wird. Dadurch wird die Anzahl der notwendigen Tiere möglichst gering gehalten. Durch



die aufwendigen Messungen wird angestrebt, den größtmöglichen Wissenszuwachs aus einer geringstmöglichen Anzahl an Versuchstieren zu gewinnen. Es wird die geringstmögliche Anzahl der Tiere verwendet, die für eine statistisch signifikante Aussagekraft der Ergebnisse notwendig ist.

Vermeidung: In vitro Laboruntersuchungen sind nicht zielführend, da in vitro die Immunreaktion auf einen Fremdkörper nicht wahrheitsgetreu nachgestellt werden kann. Darüber hinaus müssen die neuartigen Katheterdesigns und/oder Beschichtungen in einem Tierversuch getestet werden, bevor sie im Rahmen einer klinischen Studie im Menschen zum Einsatz kommen dürfen.

Verbesserung: Während der Eingewöhnungszeit der Tiere wird neben standardmäßiger fachkundiger Betreuung durch geschultes Tierpflegepersonal zusätzlich zum Wohl der Tiere eine Bereicherung (enrichment) in Form von Bällen, Gummiringen etc. zur Verfügung gestellt. Des Weiteren werden die Tiere durch vermehrten Kontakt an die Tierpfleger und Projektmitarbeiter gewöhnt.

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

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

Der Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) kann Transporterproteine (ABCB1 und ABCG2) in der Leber die für die Ausscheidung von Arzneistoffen verantwortlich sind regulieren. Eine Hemmung von EGFR kann die Aktivität von ABCB1 und ABCG2 in der Leber herabsetzen und damit die Ausscheidung von vielen verschiedenen Arzneistoffen verlangsamen und damit möglicherweise deren Wirksamkeit erhöhen. Ziel dieses Projektes ist es erstmals in einem Mausmodell in vivo den Zusammenhang zwischen EGFR und ABCB1/ABCG2 zu untersuchen. Hierfür soll das nicht-invasive bildgebende Verfahren der Positronen-Emissions-Tomographie (PET) unter Verwendung eines radioaktiv markierten Substrats von ABCB1 und ABCG2 ([<sup>11</sup>C]Erlotinib), das über diese beiden Transporter aus der Leber in die Galle ausgeschieden wird, eingesetzt werden. Es sollen Tiere die EGFR in der Leber normal exprimieren mit Tieren in denen EGFR in der Leber genetisch gelöscht wurde verglichen werden. Unsere Hypothese ist, dass die Ausscheidung von [<sup>11</sup>C]Erlotinib aus der Leber in Tieren ohne EGFR gegenüber Tieren mit EGFR verlangsamt ist, wodurch ein funktioneller Zusammenhang zwischen EGFR und ABCB1/ABCG2 belegt werden könnte. Die Ergebnisse dieses Tierversuchs sind ein erster wichtiger Schritt in der zukünftigen Anwendung von Arzneistoffen die über EGFR zur Hemmung von ABCB1 und ABCG2 führen und damit möglicherweise die Wirksamkeit von verschiedenen Medikamenten verbessern können.

zu erwartender Nutzen: Verbesserte Kenntnis über Transporterwege von Medikamenten und damit eine Verbesserung in der Anwendung von vielen Medikamenten.

zu erwartender Schaden: Für eine Untersuchung mittels Positron-Emissions-Tomografie wird der jeweiligen Maus eine radioaktive Prüfsubstanz verabreicht. Diese Verabreichung erfolgt in Narkose und intravenös. Am Ende der Untersuchungen werden die Tiere noch in Narkose euthanasiert. Somit sind diese Experimente weitestgehend schmerzfrei.

2. Art und Anzahl der Tiere

20 Mäuse.

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

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

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

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

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

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

Ziel dieses Projektes ist die Erforschung von Zellen die einen spezifischen metabotropen Rezeptor exprimieren in Bezug auf den neuronalen Zelltod, die Reparatur und die Regeneration im Glaukom. Es sollen Zusammenhänge wie Differenzierungsprozesse, Aktivierung und/oder Inhibition sowie die potentielle Rolle dieses Rezeptors unter glaukomatösen Bedingungen studiert werden. Darauf basierend sollen therapeutische Anwendungsmöglichkeiten spezifischer Inhibitoren entwickelt und untersucht werden. Im Detail wird der potentiell positive Effekt auf das Überleben der RGCs und die Beteiligung an der Regeneration/Remyelinisierung im Sehnerv untersucht. Sollte sich im Maus OHT-Modell durch die Gabe dieser Inhibitoren eine Verbesserung des Verlustes von RGCs und der axonalen Degeneration zeigen, stellt dieser Antagonist ein potentielles neues Medikament in der Behandlung des Glaukoms dar.

Für die Untersuchungen werden transgene Mäuse des C57BL/6 Stammes verwendet. Mit Hilfe dieser transgenen Tiere kann die Funktion, Migration, Apoptose sowie Differenzierung der Rezeptor positiven Zellen während des experimentellen Glaukoms durch eine induzierbare Cre Rekombinase zu definierten Zeitpunkten studiert werden. Die drei Fragestellungen des Projektes werden sequentiell bearbeitet.

2. Art und Anzahl der Tiere

Innerhalb von 2 Jahren sollen 80 transgene Mäuse untersucht werden.

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

Mit Hilfe dieses transgenen Mausmodells ist es möglich, Zellen die einen speziellen metabotropen Rezeptor exprimieren zu definierten Zeitpunkten im Verlauf des experimentellen Glaukoms zu markieren (eGFP Reporterprotein) und ihr Verhalten im Krankheitsverlauf zu untersuchen. Durch die Verwendung dieser transgenen Maus und einem etablierten Modell zur Induktion okulärer Hypertension werden Daten gewonnen, welche die Wirkungsweise und Beteiligung der Rezeptorpositiven Zellen im Verlauf der glaukomatösen Erkrankung erklären sollen. Darüber hinaus wird die Auswirkung der Inhibierung dieses Rezeptors auf die Verminderung des neuronalen Zelltodes und der Gewebsregeneration untersucht.

Die Untersuchung glaukomatöser humaner Augen ermöglicht zwar die Charakterisierung und Identifizierung dieser speziellen Zellen, allerdings nur als Endpunkt-Untersuchung nach dem Tod des Patienten. Damit kann der Wirkmechanismus dieser Zellen im Verlauf des Glaukoms nicht untersucht werden. Da Vorarbeiten über diesen spezifischen metabotropen Rezeptor eine wichtige Rolle in der Gewebsregeneration im zentralen Nervensystem zeigen, ist die Untersuchung dieser Zellen für neue Therapieansätze im Glaukom von hoher Bedeutung. Diese vielversprechende inhibitorischen Substanzen, die dem neuronalen Verlust in der Netzhaut entgegenwirken, können nicht am Menschen getestet werden, sondern müssen zuerst im Tiermodell validiert werden. Die im Projekt beschriebenen Untersuchungen werden sequentiell im gleichen Tier durchgeführt, wodurch die Anzahl der Versuchstiere gering gehalten werden kann.

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

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

Der Hedgehog (Hh)-Signalweg spielt eine wichtige Rolle in der embryonalen Entwicklung und in der Kontrolle der Zellproliferation. Deshalb führen Fehler in diesem Signalweg zur Entwicklung mehrerer aggressiver Krebsarten, z. B. des basalen Zellkarzinoms, einer der häufigsten Krebsarten. Trotz der enormen Bedeutung dieses Signalwegs für die Medizin, sind die molekularen Mechanismen, die zur Interpretation und Regulierung von Hh-Signalen beitragen nur unvollständig verstanden: in den letzten Jahren haben mehrere Studien Hinweise geliefert, dass eine Familie von Signalrezeptoren, die G-Protein-gekoppelten Rezeptoren, maßgeblich zur Kontrolle von Hedgehog-Signalen beiträgt.

zu erwartender Nutzen: Ein erweitertes Verständnis dieses Zusammenspiels könnte die Anzahl von möglichen therapeutischen Zielen vergrößern und neue Therapiemöglichkeiten für verschiedene Krebsformen ermöglichen.

zu erwartender Schaden: Für dieses Projekt sollen zum einen mutante Linien für Komponenten des Hedgehog-Proteinkinase A-Signalwegs generiert werden. Diese Tiere sollen im heterozygoten Zustand gehalten werden, der keine Beeinträchtigung nach sich ziehen sollte. Zum anderen werden transgene Linien erzeugt welche Fluoreszenz- oder Lumineszenzproteine exprimieren; diese sollten keine Beeinträchtigung der Tiere verursachen. Das Wohlergehen und die normale Entwicklung der Tiere wird durch geschultes Personal und die verantwortlichen Wissenschaftler laufend überprüft. Studien werden nur an Embryonen in frühen Entwicklungsstadien -bis zu drei Tagen nach der Befruchtung- durchgeführt.

Für die Generierung von Knockout- und Knockin-Linien werden jeweils maximal 200 erwachsene Fische insgesamt aufgezogen. Für die Etablierung von 7 verschiedenen Linien werden also insgesamt 1400 Tiere benötigt. Für die Etablierung der transgenen Linien werden jeweils maximal 80 erwachsene Fische herangezogen, insgesamt also 320 Tiere.

2. Art und Anzahl der Tiere

1720 Zebrafische

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

**Vermeidung:** Um das komplexe Zusammenspiel von verschiedenen Faktoren in verschiedenen Geweben zu untersuchen, ist die Verwendung von Tiermodellen unerlässlich. Der Zebrafisch erlaubt, die frühe Entwicklung zu untersuchen, ohne den Elterntieren Schaden zuzufügen.

**Verminderung:** Die Anzahl der verwendeten Fische ist so gering wie möglich gewählt und entspricht dem Mindestmaß, das für die Etablierung von transgenen beziehungsweise mutanten Linien sinnvoll ist.

**Verfeinerung:** Die Fische werden entsprechend internationaler Praxis zu je maximal 50 Individuen in artgerechten Aquariensystemen bei einer Temperatur von 28°C in einem konstanten Durchflusssystem gehalten. Die Fütterung erfolgt täglich mit geeigneter, an die Fische angepasster Nahrung. Auffälligkeiten in Verhalten und Morphologie der Fische werden laufend beobachtet und dokumentiert und soweit möglich werden geeignete Maßnahmen zur Abhilfe getroffen. Sollten klinische Erscheinungen auftreten, werden die Fische fachgerecht 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 zu erwartender Schaden und Nutzen

Nach wie vor ist Arteriosklerose und dessen Folgekrankheiten in den westlichen Industrienationen die häufigste Todesursache. Die Therapie mit Statinen, welche die körpereigene Produktion von Cholesterin in der Leber hemmen, gilt immer noch als Goldstandard bei erhöhtem Cholesterinspiegel und dient der Senkung des Arterioskleroserisikos. Trotzdem wird nicht bei allen Risikopatienten das gewünschte Maß der Cholesterinsenkung erreicht, weshalb die Suche nach neuen beziehungsweise zusätzlichen Behandlungsmöglichkeiten fortgesetzt wird. Es konnte gezeigt werden, dass Schilddrüsenhormone einen positiven Einfluss auf den Cholesterinspiegel haben. Jedoch können diese aufgrund ihrer schädlichen Nebenwirkungen am Herzen nicht zu therapeutischen Zwecken genutzt werden. In dieser Studie soll nun eine neu entdeckte Substanz, die dem körpereigenen Schilddrüsenhormon sehr ähnelt, jedoch keinen schädlichen Einfluss auf das Herz hat, auf seine Wirksamkeit hin untersucht werden. In ersten Studien an Mensch und Tier konnten bereits positive Wirkungen auf Cholesterinstoffwechsel festgestellt werden. Es soll nun geklärt werden, ob eine Kombinationstherapie von Statinen und der oben genannten Substanz zusätzlich einen positiven Effekt herbeiführt und die alleinigen Effekte einer Statintherapie übertreffen.

zu erwartender Schaden: Hierfür werden Mäuse mit einer cholesterinreichen Diät gefüttert und entweder gar nicht, nur mit Statinen beziehungsweise nur mit der Schilddrüsenhormon-ähnlichen Substanz, oder mit der Kombination aus beiden behandelt.

zu erwartender Nutzen: Am Ende soll die Wirksamkeit einer Kombinationstherapie auf den Cholesterinspiegel im Blut und Arteriosklerose festgestellt werden, in der Hoffnung einer neuen Behandlungsmöglichkeit auf der Spur zu sein.

2. Art und Anzahl der Tiere

265 Mäuse über einen Zeitraum von 3 Jahren.

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



Vermeidung: Da der Cholesterinstoffwechsel in den verschiedensten Kompartimenten des Körpers stattfindet, ist es schwierig auf Zellkultur zurück zu greifen. Die positiven Ergebnisse aus vorherigen Studien, sprechen für den Erfolg einer Kombinationstherapie und einen positiven Verlauf der Mausversuche.

Verminderung: Die Gruppengrößen werden unserer langjährigen Laborerfahrung und der entsprechenden Fragestellung angepasst und so klein als möglich gehalten, sodass jedoch noch eine statistische Relevanz besteht und das gewünschte Outcome der Experimente gesichert ist.

Verfeinerung: Nach der Applikation der Medikamente werden die Tiere in regelmäßigen Abständen beobachtet und hinsichtlich ihrer Körpertemperatur, ihrem Gewicht und Allgemeinzustand hin kontrolliert. Sollte ein Tier Auffälligkeiten zeigen, wird der Versuch für dieses Tier sofort beendet.

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. Sowohl diese Abwehrzellen als auch Pathogene benötigen Eisen für ihre Stoffwechselprozesse. Daher unterliegt Eisen im Körper strengen Regulationsmechanismen. T-Zellen sind essentiell für die Abwehr von Pathogenen und verschiedene T-Zell-Proteine sind Eisen-reguliert. In unserem Projekt soll untersucht werden wie Eisen die funktionelle Aktivität von T-Zellen durch Modulierung von Proteinen, die für Aktivierung und Deaktivierung der T-Zellen verantwortlich sind, beeinflusst, und dadurch die Immunantwort auf bakterielle Infektionen reguliert.

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 Erhöhung der Körpertemperatur, einer Reduktion der Nahrungs- und Wasseraufnahme und zu einer Verringerung des Allgemeinzustandes führen. Die Mäuse werden von geprüften Tierpflegern/Tierpflegerinnen und einem Tierarzt/einer Tierärztin fachgerecht betreut und versorgt.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für die Etablierung und Erhaltungszucht der Mausstämme sowie für die Experimente werden 545 Mäuse in einem Zeitraum von 5 Jahren benötigt.

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

Vermeidung: Die Belastung für die Tiere wird in diesem Projekt durch die Injektion von *Salmonella typhimurium* und einer damit verbundenen bakteriellen Infektion verursacht. Sobald eine starke Belastung der Tiere auftritt werden die Versuche unverzüglich beendet. Der Zustand der Tiere wird täglich von geschultem Personal kontrolliert.

Verminderung: Die Anzahl der Mäuse wird aufgrund bereits in unserem Labor durchgeführter Projekte so berechnet, dass mit möglichst wenigen Mäusen statistisch signifikante Aussagen getroffen werden können. Sorgfältige Datenauf-

zeichnungen und die Zusammenarbeit als Gruppe führen dazu dass die Versuche nicht unnötigerweise wiederholt werden müssen und möglichst viele relevante Daten aus einem Versuch gewonnen werden können.

Verfeinerung: Während des ganzen Projektes werden detaillierte Aufzeichnungen geführt, damit die Durchführung von nachfolgenden Projekten vereinfacht und verbessert werden kann und maximale Informationen aus den Versuchen erhalten werden können. Im Detail werden dabei dokumentiert: Körperoberflächentemperatur und Gewicht der Tiere, Nestbauverhalten um das Sozialverhalten einschätzen zu können, Fellpflege und Muskeltonus (gekrümmte Körperhaltung lässt auf Schmerzen schließen).

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 30. November 2021 vorgesehen.

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

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

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

zu erwartender Nutzen: Diese Experimente sollen es ermöglichen, die Rolle der humoralen Immunität bei der Entwicklung, Aktivierung und Antwort von Immunzellen weiter zu untersuchen. Zudem sollen die Ergebnisse des Projektes bessere Einblicke in die Entstehung der Ursachen für Herzinfarkt und Schlaganfall, welche zu neuen therapeutischen Ansätzen führen, liefern.

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

2. Art und Anzahl der Tiere

90 Mäuse.

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

Da die Aussagen von Zellkulturexperimenten begrenzt sind und nicht im Zusammenhang mit der Funktion eines Gens im ganzen Organismus stehen bezie-

hungsweise die in vivo Situation darstellen, ist eine Vermeidung des beantragten Tierversuches nicht möglich. Die Fragestellung (Funktion des Fehlens eines Gens und Auswirkungen auf die Bildung atherosklerotischer Plaques) ist nur in vivo zu beantworten. Bei der Erstellung des Versuchsplanes wurde darauf geachtet, dass die Versuche mit der geringstmöglichen Belastung und kleinstmöglichen (aber statistisch notwendigen) Anzahl an Versuchstieren durchgeführt werden. Um das Wohl der Tiere zu verbessern wird neben den Standardmaßnahmen eine angereicherte Haltungsumgebung ("enriched environment") helfen den Stress der Tiere weiter zu reduzieren. Die Tiere werden von Beginn der Unterbringung an den Umgang mit Menschen gewöhnt (handling), um den Stress bei den Kontrollen und Messungen, etc. zu minimieren.

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

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

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

zu erwartender Nutzen: Ziel des Projektes ist die Verbesserung der Patientensicherheit bei chirurgischen Eingriffen.

zu erwartender Schaden: Der zu erwartende Schaden ist für einen Teil der Tiere der sofortige Tod, für den anderen Teil der Tiere vorübergehende Schmerzen (durch Analgesie reduzierter Schmerz), dann der sofortige Tod. Die Versuchsbedingungen werden so gewählt, dass mittels potenter Narkose, Analgesie und Flüssigkeitsversorgung, durch die tägliche tierärztliche Inspektion aller operierten Tiere und die tägliche tierpflegerische Betreuung inklusive Konditionierung aller Tiere Schmerzen, Leiden und Ängste der Ratten möglichst verhindert werden.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden maximal 159 Kaninchen im Versuchszeitraum von drei Jahren untersucht.

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

Die Erfüllung der „3R“ ist im Sinne der Vermeidung: nicht möglich

Verminderung: durch die Verwendung der geringstmöglichen Anzahl von Tieren

Verfeinerung: durch potente, wirksame Analgesie dokumentiert.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 29. Februar 2020 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

Ziel dieser Studie ist es, die gestörte Versorgung des Körpers mit Sauerstoff bei Intensivpatienten durch eine präzise Bestimmung der Ursache schneller und gezielter behandeln zu können. Damit sollte sowohl Beatmungsdauer, wie die schädigende Wirkung der Beatmung auf die Lunge entscheidend vermindert werden. Einen entscheidender Faktor für die Aufnahme von Sauerstoff ins Blut stellt das Verhältnis von Lungenbeatmung zu Lungendurchblutung dar (Ventilations-/Perfusionsverhältnis). Bisher konnte in der Routine der Intensivbehandlung dieses Verhältnis nicht gemessen werden. Erstmals bietet eine neue nicht-invasive Messmethodik die Möglichkeit einer kontinuierlichen Beobachtung des Zustands der Lunge bei Beatmung. Die Präzision der Methodik ist bisher nicht untersucht und soll genau beurteilt werden. Es sollen die typischen Ursachen für Sauerstoffmangel in Schweinen simuliert werden: Verminderte Atmung bei normaler, verminderter und vermehrter Abatmung von Kohlendioxid sowie Ausfall einer einzelnen Lunge durch Kreislauf- oder Atmungsfaktoren. In der Studie sollen alle Veränderungen von Lungendurchblutung und -beatmung wieder rückgängig gemacht werden können.

zu erwartender Nutzen: Etablierung einer nicht invasiven Methode zur kontinuierlichen Bestimmung des Ventilations-Perfusions Verhältnisses.

zu erwartender Schaden: Vollnarkose, Intubation, Anlegen von Gefäßkathetern, Manipulation von pulmonaler Ventilation und Perfusion.

2. Art und Anzahl der Tiere

15 Edelschweine

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

Für die strukturierte Untersuchung, inwieweit spezifische Manipulationen des Ventilations-/Perfusionsverhältnisses Veränderungen der respiratorischen Enthalpie bewirken, sind Tiermodelle notwendig. Experimente an gesunden freiwilligen Probanden wären in Anbetracht der vorübergehende mangelnden Sauerstoffversorgung und schnell wechselnden Kreislaufbedingungen sowie potenziellen Kom-

plikationen (durch Intubation, lange Vollnarkose, Ein-Lungen-Beatmung, Ballon-Embolisation einer Pulmonalarterie, schwere Hyper- und Hypokapnie) nicht denkbar. Untersuchungen an Intensivpatienten mit Manipulation von Lungenkreislauf und Beatmung ohne therapeutischem Ziel sind nicht möglich.

Verminderung: Durch ein standardisiertes Versuchsprotokoll und standardisierte Haltungsbedingungen wird eine geringe Streuung der Versuchsergebnisse angestrebt.

Verbesserung: Die Vollnarkose, Intubation und Anlage aller Gefäßkatheter wird in Kooperation mit erfahrenen Tierärzten durchgeführt, um adäquate Bewusstseinsausschaltung und Analgesie und eine möglichst geringe Komplikationsrate zu gewährleisten. Die Praktikabilität des Versuchsaufbaus wird während der Durchführung stets reevaluiert.



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

Derzeit werden nahezu alle männlichen Ferkel chirurgisch ohne Betäubung kastriert. Ein optimales Betäubungsmittel für die Saugferkelkastration würde sich durch einen sehr schnellen Wirkungseintritt, eine wirksame Schmerzausschaltung während und nach der Operation und eine nur kurze Nachschlafphase auszeichnen. In der geplanten Studie sollen unterschiedliche anaesthetisch wirkende Arzneimittel, für die bei Schweinen in anderen Wirkstoffkombinationen oder für andere Altersgruppen oder Indikationen oder in der experimentellen Chirurgie bereits Erfahrungen bestehen für die Betäubung und Schmerzausschaltung bei der Kastration von Saugferkeln in der ersten Lebenswoche unter den angeführten Aspekten untersucht werden.

zu erwartender Nutzen: Zeigen Wirkstoffe oder Wirkstoffkombinationen eine ausreichende Schmerzausschaltung bei kurzer Nachschlafphase, so stehen damit Wirkstoffe zur Verfügung, mit denen in Zukunft die Kastration männlicher Ferkel unter Schmerzausschaltung durchgeführt werden könnte, sofern entsprechende Präparate für lebensmittelliefernde Tiere behördlich zugelassen werden. Diese Möglichkeit ist derzeit in der Schweineproduktion nicht gegeben.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Zu Beginn des Experimentes können bei Erarbeitung der geeigneten Dosierung der unterschiedlichen Wirkstoffe unerwünschte Wirkungen, wie Atmungs- und Kreislaufbeeinträchtigungen, auftreten.

2. Art und Anzahl der Tiere

50 Saugferkel

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

Vermeidung: Die Wirksamkeit von Betäubungsmethoden kann nur an lebenden Tieren untersucht werden. Es ist daher nicht möglich, eine Ersatzmethode anzuwenden.

Verminderung: In diesem Pilotversuch zur Wirksamkeit von Wirkstoffen wird keine Stichprobengröße ermittelt. Tritt bei einem Tier Leiden auf, wird das weitere

Vorgehen im Versuch angepasst, um Leiden bei weiteren Tieren zu verringern. Es wird davon ausgegangen, dass für die Bewertung bestimmter Wirkstoffe weniger Tiere als maximal eingeplant benötigt werden, da eine Aussage darüber ob die Anästhesie der herkömmlichen Anästhesie überlegen ist, bereits nach 2 bis 4 Tieren getroffen werden kann.

Verfeinerung: Um den Saugferkeln unnötige Schmerzen und Leiden zu ersparen und den physiologischen Bedürfnissen der Tiere zu entsprechen, werden alle erforderlichen Maßnahmen ergriffen, die zum allgemeinen Wohlbefinden der Tiere beitragen. Die Schweine werden bis zum Absetzen mit ihren Wurfgeschwistern gehalten. Das Futter ist bedarfsgerecht formuliert und die Schweine haben ständigen Zugang zu sauberem Trinkwasser und Futter. Der Gesundheitsstatus der Tiere wird täglich mehrere Male durch das pflegende Personal und regelmäßig tierärztlich kontrolliert.

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

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

Für medizinische Fragestellungen stehen Humanmediziner und Forschern eine Reihe von bildgebenden Untersuchungen zur Verfügung. Dabei rückt der Fokus immer mehr weg von rein anatomischer Betrachtung von Bildern und der Beurteilung pathologischer Veränderungen, hin zu funktioneller Untersuchung dieser Veränderung, vor allem auch in Hinblick auf die anzuwendende Therapie. Speziell diese Fragestellung ist nur sehr schwer mit einer einzigen Methode abzuklären. Deshalb versucht man mittels sogenannter multimodaler Methoden, also einer Kombination von zwei verschiedenen Arten der bildgebenden Darstellung, diese Probleme anzugehen. Eine häufige Methode in der Onkologie, die auch schon in der klinischen Praxis angewendet wird, ist die Kombination eines [18F]FDG-PET-Scans (18F-Fluoro-2-Deoxy-Glukose) mit einem MRI-Scans mit dem Kontrastmittel Gd-DTPA (Gadopentat-Dimeglumin). Einerseits nutzt man hier mit dem PET-Scan den hohen Energiebedarf des Tumors aus und andererseits mit dem Kontrast-MRI-Scan die erhöhte Vaskularisierung des Tumors. Seit kurzem ist bekannt, dass es neben einer insulinabhängigen Glukoseaufnahme in Zellen, auch einen anderen Weg gibt, der über das Enzym SNARK/NUAK gesteuert wird. Gleichzeitig ist auch bekannt, dass Meglumin, jene Substanz die das MRI-kontrastgebende Gadolinium im Komplex und damit auch im Blut hält, die Glucoseaufnahme fördern kann. Somit ist es möglich, dass bei gleichzeitiger Gabe von [18F]FDG und Gd-DTPA, die Aufnahme von Glucose signifikant geändert werden könnte und damit auch ein darauffolgender PET-Scan falsche Werte zeigt.

zu erwartender Nutzen: Evaluierung des diagnostischen Potentials von simultanen [18F]FDG-PET-Scans und dem Kontrastmittel Gd-DTPA.

zu erwartender Schaden: Für eine Untersuchung mittels Positron-Emissions-Tomografie und MRI wird der jeweiligen Maus eine radioaktive Prüfsubstanz beziehungsweise ein Kontrastmittel verabreicht. Diese Verabreichung erfolgt in Narkose und intravenös. Am Ende der Untersuchungen werden die Tiere noch in Narkose euthanasiert. Somit sind diese Experimente weitestgehend schmerzfrei.

2. Art und Anzahl der Tiere

12 Mäuse.

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

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

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

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

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

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

Im Rahmen der geplanten Studie sollen biologische Prozesse während der Krebsentstehung, insbesondere aberrante Signalsignaturen und epigenetische Mutationen, untersucht werden, die maßgeblich in der Tumorprogression involviert sind. Darauf aufbauend sollen neue und wirksame Signal-Interzeptoren maßgeschneidert auf die jeweilige Tumorsignatur ausgetestet werden. Diese Versuche zielen auf eine patientenorientierte Behandlung ab (sogenannte personalisierte Medizin).

zu erwartender Nutzen: Die Fragestellungen adressieren die komplexe Interaktion zwischen Immunzellen und Tumorzellen, Wechselwirkungen zwischen leukämischen Stammzellen und deren Umgebung, Abhängigkeiten unterschiedlicher hämatopoetischer Zellen untereinander und die Wirksamkeit definierter Signal-Interzeptoren.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die meisten der verwendeten genetisch modifizierten Tiere sind unter Standard-Haltungsbedingungen nicht belastet. Manche der verwendeten genetischen Modifikationen erhöhen die spontane Tumorbildung. Tumorzellen von genetisch modifizierten Tieren, humane Tumorzellen von Krebspatienten, leukämische Stammzellen oder epigenetische umprogrammierte Tumorzellen werden in Empfängertiere (Rezipienten) subkutan oder intravenös appliziert.

2. Art und Anzahl der Tiere

3964 Mäuse (*Mus musculus*)

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

Vermeidung: Das Ziel des Projekts ist die Untersuchung der Interaktion und der Wechselwirkung zwischen Tumorzellen und dem Immunsystem. In vitro Methoden können diese komplexen Wechselwirkungen nicht rekapitulieren. Diese Untersuchungen lassen sich ausschließlich im Tier durchführen, denn nur der intakte Organismus erlaubt es, die komplexen Wechselwirkungen des Tumors mit seiner Umgebung zu studieren.

Verminderung: Durch vorhandene Vorversuche kann die benötigte Versuchstierzahl genau abgeschätzt werden. Der sequenzielle Ablauf der Versuche gewähr-

leistet, dass nur jene Teilversuche durchgeführt werden, die aufgrund der Ergebnisse der vorangehenden Versuche zielführend und für die Beantwortung der Fragestellungen unerlässlich sind. Außerdem 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 sowie Zugang zu Futter und Wasser ad libitum gehalten und von erfahrenem Personal betreut. Die experimentellen Eingriffe sowie Behandlungen der Tiere erfolgen nach nationalen und international erprobten Protokollen. Die Tiere werden engmaschig auf Zeichen von Stress, Schmerzen, Krankheiten und jegliche Verschlechterungen des Allgemeinzustandes kontrolliert, um frühzeitig Abbruchkriterien anzuwenden.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 28. Februar 2022 vorgesehen.

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

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

Chronischer Schmerz betrifft zwischen 17-40% der Bevölkerung und stellt somit einen ernstzunehmenden Krankheitszustand dar. Es konnte zwar bereits gezeigt werden, dass das Gehirn die Fähigkeit besitzt, einkommende Schmerzsignale zu verändern. Welche Hirnregionen im Allgemeinen, und welche Nervenzellgruppen im Speziellen für diese Modulation verantwortlich sind, ist jedoch noch nicht gesichert. Die beantragten Experimente werden Fragen nach der regions- und zellspezifischen Modulation von Schmerzsignalen untersuchen und in Folge dazu beitragen, neue Behandlungsstrategien zu entwickeln.

zu erwartender Nutzen: Das Wissen darüber, wie einkommende Schmerzsignale das Gehirn modulieren wird helfen neue Behandlungsstrategien zu entwickelt.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Der höchste Schweregrad der beantragten Experimente und Verhaltenstests wird als "mittel" eingestuft und die Tiere postoperativ mit schmerzlindernden Methoden versorgt. Die stereotaktischen Operationen werden unter Vollnarkose, sämtliche Injektionen von Substanzen unter Isofluran-Anästhesie durchgeführt, um zusätzlichen Stress für die Versuchstiere zu vermeiden.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden 2.478 Mäuse über einen Zeitraum von 3 Jahren beantragt.

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

Vermeidung: Die Versuchstierzahlen wurden so gewählt, dass signifikante Ergebnisse zu erwarten sind, jedoch unnötige Tierversuche vermieden werden.

Verminderung: Um die Anzahl der Versuchstiere zu vermindern, wird ein Großteil der Experimente an Zellkulturen und ähnlichem durchgeführt werden.

Verfeinerung: Sämtliche Injektionen von Substanzen werden unter Isofluran-Anästhesie durchgeführt, um zusätzlichen Stress für die Versuchstiere zu vermeiden.

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

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

Eine Gefäßverkalkung tritt besonders häufig bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz auf und geht einher mit einer deutlich erhöhten kardiovaskulären Morbidität und Mortalität. Sie führt im fortgeschrittenen Stadium zu einer Verhärtung und reduzierten Windkesselfunktion der Gefäßwand, einer beschleunigten arteriellen Pulswelle und einer chronischen Belastung des linken Herzens. Die Mediaverkalkung ist ein aktiver Prozess, wo sich der Phänotyp der glatten Muskelzellen unter dem Einfluss von zahlreichen Mediatoren im Mikro-Milieu der Gefäßwand ändert. Diese komplexe Interaktion wird im Tiermodell untersucht, um potentielle therapeutische Ansatzpunkte für diese Erkrankung zu charakterisieren.

zu erwartender Nutzen: Die Experimentreihe zur Gefäßverkalkung in Mäusen soll helfen, die Pathogenese der arteriellen Mediaverkalkung besser zu verstehen und pharmakologische Interventionen zu testen, um letztlich die Entstehung und das Fortschreiten dieser Erkrankung aufzuhalten und damit deren kardiovaskulären Endpunkte zu reduzieren.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Versuchstiere erhalten eine phosphatreiche Diät. Es werden in leichter Narkose die Pumpfunktion des Herzens mittels Ultraschall und die Nierenfunktion mittels Blutabnahme bestimmt. Mittels einer Injektion werden entzündungshemmende Medikamente verabreicht. Während der gesamten Tierversuchsreihen werden die Versuchstiere engmaschig durch den Versuchsleiter und dessen Mitarbeiter überwacht. Sollte sich der Allgemeinzustand der Tiere rasch verschlechtern, wird die Versuchsreihe vorzeitig beendet.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für die Durchführung unserer Experimentreihen benötigen wir 330 Mäuse.

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

Vermeidung: Systemerkrankungen wie die arterielle Mediaverkalkung lassen sich nur beschränkt in vitro untersuchen, da das komplexe Zusammenspiel von Ernährung und Gefäßbiologie im Reagenzglas nicht nachgestellt werden kann. Die



in vivo Untersuchung ist damit der einzig möglich Zugang um diese Interaktion zu untersuchen.

Verminderung: Aufgrund unserer Vordaten werden so wenig wie möglich Versuchstiere veranschlagt, um eine statistisch signifikante Aussage treffen zu können. Zudem werden die in vivo Evaluierung der Herz- und Nierenfunktion an denselben Mäusen zeitversetzt erfolgen, so dass hier Tierzahlen eingespart werden.

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

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

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

Projektziel ist, dass muskuläre Pathologien, die mit mehreren Autoimmunerkrankungen in Zusammenhang gebracht worden sind auf ihre Ursache untersucht werden. Charakteristika der betroffenen Muskelgruppe liefern Hinweise darauf, dass diese Anfälligkeit unter anderem auf ständig ablaufenden Regenerationsprozessen basiert, die mit der einzigartigen Arbeitslast dieser Muskeln in Zusammenhang stehen. Muskuläre Regeneration induziert die Proliferation und Differenzierung von multipotenten Vorläuferzellen in aktivierte Myoblasten, die zu neuen Muskelfasern verschmelzen. Myoblasten fungieren hierbei auch als fakultativ Antigenpräsentierende Zellen und könnten so an der Entstehung muskulärer Pathologien in Autoimmunerkrankungen beteiligt sein. In einer Serie von Experimenten werden zuerst Regenerationsprozesse in einem Muskel des rechten Hinterbeines in Gang gesetzt. In jedem Tier wird das linke Hinterbein als interne Negativkontrolle benutzt. An vier verschiedenen Zeitpunkten nach Induktion der muskulären Regeneration werden dann durch T-Zell-Transfer mit oder ohne Krankheits-spezifischen Antikörpern Autoimmunerkrankungen hervorgerufen.

zu erwartender Nutzen: Die Experimente bieten die Möglichkeit, die Ursache spezifischer muskulärer Erkrankungen in mehreren Autoimmunerkrankungen durch ein Tiermodell besser zu verstehen und zu charakterisieren. Durch die Simulation der ständig ablaufenden Regenerationsprozesse in einem sonst unbetreffenen Muskel kann die Beteiligung dieser Regenerationsprozesse an der Entstehung muskulärer Pathologien in Autoimmunerkrankungen isoliert untersucht werden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Sämtliche Eingriffe erfolgen unter Anästhesie, anschließend werden die Tiere nach standardisierten Protokollen mit Schmerzmitteln behandelt. Am Ende der Experimente werden die Tiere schmerzfrei durch CO<sub>2</sub> Inhalation getötet.

2. Art und Anzahl der Tiere

200 Ratten

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

**Vermeidung:** Um unnötige Tierversuche zu vermeiden, werden nur jene T-Zell-Linien für den Transfer verwendet, die sich bei in vitro Austestungen bewährt haben.

**Verminderung:** Die Zahl der benötigten Tiere wurde durch statistische Fallzahlberechnung ermittelt. Darüber hinaus werden die Tiere unter standardisierten Bedingungen gezüchtet und gehalten, wodurch die Variabilität innerhalb als auch zwischen Experimenten eingeschränkt wird. Durch die Verwendung des unbehandelten Beines als interne Negativkontrolle wird zusätzlich noch die Zahl benötigter Kontrolltiere reduziert.

**Verfeinerung:** Für alle beschriebenen Vorhaben werden gut etablierte Protokolle benutzt. So kann auch ein möglichst geringer Schweregrad klinischer Symptome bei den Autoimmunerkrankungen erreicht 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 Neuroblastom ist eine kindliche Krebserkrankung, die zumeist im Säuglings- oder Kleinkindalter auftritt und je nach Stadium eine sehr schlechte Prognose hat. Bei Stadium IV der Erkrankung liegt das Überleben der kleinen Patienten trotz hoch dosierter Chemo- und Strahlentherapie bei nur etwa 60%. Zusätzlich steigt bei Kindern, die mit hohen Chemotherapie- oder Strahlendosen behandelt werden, die Gefahr, dass sie, auch wenn sie von der ursprünglichen Krebserkrankung geheilt werden, später an einer durch die erste Therapie hervorgerufenen, weiteren Krebserkrankungen erkranken und daran versterben. Deshalb ist es besonders bei kindlichen Krebserkrankungen äußerst wichtig, Behandlungsmöglichkeiten zu finden, mit denen die Dosis der Chemotherapie-Medikamente reduziert werden kann. In umfangreichen biochemischen Analysen und Zellkulturexperimenten konnten wir drei Wirkstoffe identifizieren, die in vitro die Funktion des Onkogens XIAP neutralisieren. Die so gewonnenen, sehr vielversprechenden Ergebnisse müssen nun im lebenden Tier untersucht werden, da die in vitro Möglichkeiten ausgeschöpft sind.

zu erwartender Schaden: Nur durch Versuche im Tier können wir die entsprechenden Erkenntnisse gewinnen, um diese vielversprechende Therapie weiter zu entwickeln. Die Tiere werden dabei nur moderat belastet, da das Tumorgewebe erst nach der schmerzlosen Tötung entnommen wird.

zu erwartender Nutzen: Wir erwarten uns durch diese tierexperimentelle Studie eine klare Aussage über die Wirksamkeit dieser neuen Kombinationstherapie und hoffen durch diese Experimente die Chancen der an Neuroblastom erkrankten Kinder zu verbessern und gleichzeitig durch Reduktion der Chemotherapeutikadosis therapiebedingte Nebenwirkungen zu reduzieren.

2. Art und Anzahl der Tiere

Maximal 40 Mäuse

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

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

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

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

Das operative Entfernen eines großen Teils der Leber ist die einzige therapeutische Option für viele Patienten mit Leberkrebs. Die Leber hat eine einzigartige Fähigkeit den Verlust von Gewebe durch Regeneration zu ersetzen. Doch unterhalb eines bestimmten Grenzwertes kann die nach der Operation übriggebliebene Leber nicht richtig regenerieren. Dies führt zu einem vorübergehenden und manchmal fatalen Leberversagen mit begleitender Hirnschädigung, Ansammlung von Bilirubin und erhöhter Blutungsneigung, auch bekannt als "Small-for-Size Syndrom" (SFSS). Im Rahmen dieses Projekts planen wir die biologische Rolle von Zellteilung-kontrollierenden Proteinen welche eine mögliche Rolle bei der Leberregeneration spielen zu untersuchen. Bei den geplanten Analysen sollen insgesamt 1440 zum Teil genetisch veränderte Mäuse verwendet werden, um den Einfluss veränderter Proteinniveaus auf die Funktionalität der Leber und deren Erholungspotential besser zu verstehen.

zu erwartender Nutzen: Mit diesen Versuchen können eine Reihe neuer Erkenntnisse, besonders was die Rolle dieser Gene bei Leberkrebs und Regeneration nach Operation angeht, gewonnen werden. Dieses Wissen soll verwendet werden die Behandlung chronischer Lebererkrankungen und Leberkrebs zu verbessern.

zu erwartender Schaden: Der Schaden für das Tier beinhaltet den chirurgischen Verlust eines Großteils der Leber in Vollnarkose (Inhalationsnarkose) mit nachfolgender Schmerzbehandlung (Injektion in die Bauchhöhle) bis zum Ende des Versuches nach maximal acht Tagen (erneute Injektion eines Betäubungsmittels in die Bauchhöhle).

2. Art und Anzahl der Tiere

1440 Mäuse

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

Vermeidung: Die Verwendung alternativer Methoden ist gegenwärtig nur beschränkt möglich. Leberregeneration stellt einen multifaktoriellen physiologischen Prozess dar, der in Zellkultur nur in äußerst limitiertem Maße abgebildet werden kann. Wo immer möglich, und informativ, wird auf Zellkulturanalyse zurückgegriffen.

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

Verbesserung: Die Tiere werden in Gruppen zu je 4 bis 5 Tieren gehalten (soziale Tiere) und haben in jedem Käfig ein Häuschen und Nistmaterial als Rückzugsmöglichkeit. Männchen werden nach Bedarf auch einzeln gehalten, um Verletzungen durch Revierkämpfe zu vermeiden. Die Kontrolle der Tiere erfolgt im Akutversuch täglich. Anästhesie und Analgesie werden routinemäßig bei operativen Eingriffen verwendet.

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

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

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

Während akute Abstoßungen heutzutage vermieden oder gut behandelt werden können, bleibt die chronische Abstoßung noch immer die häufigste Ursache für den späten Verlust des Transplantates. Die vorrangige Rolle einer chronischen Abstoßungsreaktion gegen "nicht-selbst" Proteine wurde in diesem Zusammenhang erkannt. Die große Relevanz des sogenannten MHC (major histocompatibility) locus ist bekannt. Diese Genregion zeigt eine hohe Variabilität in der Population und Bestimmung des Genotyps sowie Antikörper gegen spezielle Antigene gehören zur klinischen Routine im Bereich der Transplantationsmedizin. Unterschiede in diesen Genen erklären aber nicht alle Abstoßungsreaktionen. Ein Individuum trägt im Schnitt 10 „loss of function“ (LoF) Mutationen. Sollte in einen Empfänger mit homozygoter LoF Mutation ein Organ mit einem funktionierenden Allel transplantiert werden, so stellt dies ein plausibles Ziel für eine Alloimmunantwort dar.

zu erwartender Nutzen: In unserem Tierexperiment, bei dem eine Hauttransplantation mit einem Mismatch eines bekannten Gens zwischen Spender und Empfänger durchgeführt wird, testen wir die Möglichkeit der Unterdrückung der Alloimmunantwort mittels RNA Interferenz. Ein besseres Verständnis dieser Prozesse kann im Weiteren zu neuen therapeutischen Ansätzen im Bereich der Prävention und Behandlung der chronischen Nierenabstoßung führen.

zu erwartender Schaden: Den Mäusen mit genetischen Unterschieden wird ein kleines Hautstück transplantiert und mit neuen Therapieansätzen gegen die Abstoßungsreaktionen bis zu 14 Tagen beobachtet. Die Belastung der Tiere wird als gering bis mittelgradig eingestuft.

2. Art und Anzahl der Tiere

84 Mäuse

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

Zum Erreichen unseres Projektzieles sind Tierversuche unabdingbar. Es wird daher die Anzahl an Mäusen, die für konklusive Ergebnisse nötig sind (statistische Fallzahlberechnung), auf ein Optimum (Minimum) reduziert. Darüber hinaus erfolgte eine umfassende vorläufige in vitro Recherche um redundante Tierversu-



che zu vermeiden. Erfahrene und zertifizierte Mitarbeiter sind mit der Betreuung der Tiere und Durchführung der Experimente beauftragt. Die Tiere werden in adäquater Umgebung mit freier Bewegungsmöglichkeit, Futter und Wasser ad libitum gehalten. Die Belastung der Tiere wird dahingehend auf ein Minimum reduziert, da die Versuche unter Vollnarkose durchgeführt und postoperative Schmerzmittel verabreicht werden. Falls Technikverbesserungen und neue Erkenntnisse zur Verfügung stehen, werden wir diese in unserem Versuchsablauf einbinden.

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

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

Trotz guter Kenntnis der Symptomatik und Funktionsstörungen von Parkinson sind die Krankheitsmechanismen, die zum neuronalen Zelltod führen, noch weitgehend unverstanden. Daher ist es nicht möglich, den Ausbruch der Krankheit zu verhindern oder den Zelltod deutlich zu verlangsamen beziehungsweise zu stoppen. Die Behandlungen sind bisher rein symptomatisch. Die Suche nach neuen Arzneimitteln, die in der Bekämpfung der Parkinson Erkrankung Einsatz finden könnten, ist daher ein vorrangiges Ziel der heutigen Forschung. Neue Untersuchungen lassen vermuten, dass der Schweregrad der Parkinson Krankheit vom Ernährungsstil der Patienten abhängig sein kann. Dabei soll eine fettreiche Ernährung die Pathologien der Krankheit verschlimmern. Diese Hypothese soll daher in der hier vorliegenden Studie in einem transgenen Parkinson-Mausmodell untersucht werden.

zu erwartender Nutzen: Das Ziel dieser Studie ist es den Effekt von einer fettreichen Ernährung auf die Pathologie von transgenen Mäusen die das humane alpha-Synuclein mit der A53T Mutation exprimieren, zu untersuchen.

zu erwartender Schaden: Dafür werden A53T alpha-synuclein transgene und nicht-transgene Geschwistertiere mit einer fettreichen Diät oder Kontrollnahrung gefüttert. Vor und während der Nahrungsumstellung wird der Blutglukosespiegel der Tiere untersucht. Während der fettreichen Ernährung werden die Tiere in unterschiedlichen Verhaltenstests hauptsächlich auf ihre motorischen Fähigkeiten untersucht. Das Körpergewicht aller Tiere wird während der ganzen Studie beobachtet. Zu vier verschiedenen Zeitpunkten werden die Tiere euthanasiert und unterschiedliche Gewebe entnommen und auf typische Pathologien der Parkinson Krankheit untersucht.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie werden 224 männliche Mäuse beantragt

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

Vermeidung: 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.

Verminderung: In dieser Studie sollen pro Gruppe 14 Tiere verwendet werden. Diese Gruppengrößen sind für diese Studie erforderlich um statistisch signifikante Ergebnisse zu erzielen, da die Variabilität der Verhaltenstests sehr hoch ist. Reservetiere sind bei dieser Anzahl von Tieren inkludiert.

Verbesserung: 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 Verhaltensversuche durch so genanntes „Handling“ mit den involvierten Personen beziehungsweise mit den jeweiligen Versuchsapparaten vertraut gemacht, um unerwünschte, stressbedingte, falschpositive beziehungsweise 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 Vereinzelnung, wird vermieden. Gesundheitszustand: Generell gilt des Weiteren, dass zur Durchführung des Tierversuchs nur Tiere verwendet werden, deren Gesundheitszustand einwandfrei ist. Alle Tiere stehen unter ständiger tierärztlicher Kontrolle. Erkrankte sowie frisch angelieferte Tiere werden gegebenenfalls in einem separaten Quarantänerraum untergebracht und beobachtet. Leidet ein Tier an Symptomen wie Verletzungen, Umfangsvermehrung oder Anämie wird der Tierarzt so rasch wie möglich informiert und entscheidet über Behandlung oder Euthanasie. Schulungen: Es soll festgehalten werden, dass die Versuche von den Personen erst nach Abschluss eines ausführlichen Trainings in den unterschiedlichen Techniken, Verhaltenstests, Gesundheitskontrolle und so weiter 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 Beurteilung, Erkennung, Regulierung oder Veränderung physiologischer Zustände bei Menschen, Tieren oder Pflanzen

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

Die bedarfsgerechte Fütterung von Milchkühen mit kraftfutterreichen Rationen führt häufig zu Verdauungsstörungen. Dadurch werden im Pansen höhere Mengen an Toxinen gebildet, was entzündliche Prozesse und Stoffwechselkrankheiten verursachen kann. In diesem Projekt soll untersucht werden, inwieweit der Zusatz von Toxinbindern, das sind Mischungen aus Tonmineralien und pflanzlichen Komponenten, zum Futter das Inflammationsgeschehen unterbinden und die Stoffwechselgesundheit bei Milchkühen verbessern kann.

zu erwartender Nutzen: Es sollen Erkenntnisse über die Auswirkung der Toxinbinder auf die Stoffwechselgesundheit bei Milchkühen gewonnen werden. Dadurch können gezielte Präventionsmaßnahmen gegen Inflammation und Stoffwechselstörungen erarbeitet werden, die die Gesundheit und das Wohlbefinden der Tiere verbessern.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Jedem Tier wird über insgesamt 8 Tage ein Halfter aufgesetzt, um die Wiederkauaktivität und das Fressverhalten zu registrieren. Das natürliche Verhalten der Tiere wird dadurch nicht eingeschränkt. Die Kühe wurden bereits in einem früheren Versuch mit einem Pansenbolus zur kontinuierlichen Aufzeichnung des Pansen-pH-Wertes versehen. Die im Projekt verabreichten Futterkomponenten werden von den Milchkühen sehr gut vertragen. Den Kühen werden 4 Blutproben und 2 Kotproben entnommen.

2. Art und Anzahl der Tiere

16 weibliche Rinder

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

Vermeidung: Zur Untersuchung der relevanten Parameter (Inflammation, Stoffwechsel- und Pansengesundheit in der Laktation, Milchleistung und Milchezusammensetzung) ist nur an Milchkühen möglich, da ein enges Zusammenspiel der einzelnen Komponenten des Stoffwechselsystems vorliegt, welches detailliert untersucht werden soll. Der Ersatz durch eine versuchstierfreie Methode ist in diesem Fall nicht möglich.

Verminderung: Die Anzahl der Versuchstiere wird auf ein Minimum von 8 Tieren pro Versuchsgruppe begrenzt. Diese Anzahl ist notwendig, um eine statistisch abgesicherte Aussage zu treffen.

Verfeinerung: Betreuung und Überwachung der Tiere sowie die Probennahme erfolgen durch qualifiziertes Personal. Der Versuch wird in einem generalisier-ten und modernen Laufstall und mit neuester Stalltechnik durchgeführt. Regelmäßige Fütterung und ständige Verfügbarkeit von sauberem Trinkwasser gewährleisten die Befriedigung der physiologischen Bedürfnisse der Versuchstiere.

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 geplanten Studie sollen bei Stuten in der Frühträchtigkeit der Einfluss der Plasmagestagenkonzentration auf die Entwicklung der Frucht (Embryo), die Zusammensetzung der endometrialen Sekrete („Uterinmilch“) sowie die endometriale Genexpression untersucht werden. Zu diesem Zweck werden bei drei Gruppen von tragenden Stuten (mit hoher, niedriger und physiologischer Plasmagestagenkonzentration) Proben aus dem Uterussekret und aus dem oberflächlichen Uterusepithel entnommen. Die Gewebeproben werden mittels verschiedener molekularbiologischer Verfahren untersucht und die Zusammensetzung der Uterinmilch wird hinsichtlich bestimmter, für die Ernährung des Embryos wesentlicher Aminosäuren und Zucker analysiert. Außerdem wird die Entwicklung des Embryos selbst untersucht.

zu erwartender Nutzen: Frühträchtigkeitsverluste spielen bei Stuten eine große Rolle; als eine wesentliche Ursache wird eine unzureichende Plasmagestagenkonzentration diskutiert. Durch den Versuch werden Voraussetzungen für eine therapeutische Beeinflussung der Endometriumsfunktion durch Erhöhung der Plasmagestagenkonzentration bei tragenden Stuten geschaffen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Einzelne Blutprobenentnahmen erfolgen durch Punktion einer V. jugularis externa und stellen eine geringe Belastung der Tiere dar. Die transrektale Ultraschalluntersuchung, die Uterusbiopsie sowie die Entnahme von Cytobrush-Proben sind Routinemethoden der Tiermedizin, die in einem Untersuchungsstand ohne weitere Fixierung oder Sedierung der Tiere erfolgen und gut toleriert werden.

2. Art und Anzahl der Tiere

Pferde (n=15)

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

Vermeidung: Die Untersuchung der Funktion des Endometriums in der Trächtigkeit und der Entwicklung des Embryos ist nur an lebenden Tieren möglich.

Verminderung: Durch die Verwendung derselben Pferde für Kontrolle und die zwei verschiedenen Behandlungen kann eine interindividuelle Variabilität herausgerechnet werden und dadurch die Anzahl der Pferde reduziert werden. Außerdem werden nur Pferde einer Rasse verwendet (Haflinger), um eine Beeinflussung der Ergebnisse durch Unterschiede zwischen Rassen zu vermeiden.

Verfeinerung: Es kommen ausschließlich diagnostische Routineverfahren zur Anwendung, die bereits soweit optimiert sind, dass sie in der tierärztlichen Praxis ambulant erfolgen können.

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

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

Fibrotische Erkrankungen von inneren Organen sind häufige und schwere Komplikationen mit unterschiedlichen Ursachen. Zur besonders schweren Art dieser Krankheiten gehören idiopathische Formen, die keine bekannte Ursache haben. Für diese Patienten gibt es kaum Therapiemöglichkeiten. Häufig gehen diese Erkrankungen mit Entzündungsprozessen einher. Das Projektziel ist es, die Rolle von Entzündungsprozessen in der Entstehung dieser Krankheiten zu erforschen und die Möglichkeiten entzündungshemmender Therapien in der Behandlung dieser Krankheiten zu testen.

zu erwartender Nutzen: Diese Ergebnisse können auf die Krankheit beim Menschen übertragen werden und dienen der Entwicklung neuer entzündungshemmender Therapiemöglichkeiten für fibrotische Erkrankungen von inneren Organen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere entwickeln Symptome ähnlich der menschlichen Krankheit, zum Beispiel häufig andauernde Müdigkeit, geringe körperliche Belastbarkeit, sowie ein Anstieg der Atemfrequenz. Die Tiere erfahren möglicherweise mittelfristige leichte Schmerzen durch die fibrotische Veränderungen der Organe.

2. Art und Anzahl der Tiere

Mäuse, insgesamt: 1316

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

Vermeidung: Die geplanten Tierversuche basieren auf Erkenntnissen von früheren Studien sowie auf Ergebnissen von in vitro Vorversuchen. Komplexe pathophysiologische Zusammenhänge von unterschiedlichen Zelltypen und Organen, die Entzündungsprozessen zugrunde liegen sind allerdings in vitro nicht rekonstruierbar. Deswegen ist der Einsatz von Tiermodellen unvermeidlich.

Verminderung: Um Tierzahlen auf ein Minimum zu reduzieren, wurden Kontrollgruppen verkleinert und sowie der Versuchsaufbau in einer Weise geplant, dass für jedes einzelne Tier alle wichtigen Messungen und Analysen möglich sind. Zusätzliche Reduzierung der Tieranzahl wird durch eine optimierte Zuchtstrategie erreicht.



Verfeinerung: Die absolute Anzahl der Tiere wurde minimiert, indem mehrere unterschiedliche Messwerte (Parameter) pro Tier gemessen werden. Dies dient der Verfeinerung der Versuche und der Reduktion der Zahl der Tiere. Eingriffe welche das Wohlbefinden der Tiere beeinträchtigen würden werden unter Narkose vorgenommen. Alle Tiere werden unter optimalen, kontrollierten und schmerzfreien Bedingungen gehalten. Die Tiere werden von ausgebildeten Tierpflegern versorgt und in regelmäßigen Abständen tierärztlich überprüft. Um das Wohlbefinden der Tiere zu gewährleisten, werden ihnen Nestmaterial und Tunnels zur Verfügung gestellt.

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

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

Der Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) ist ein Transmembranrezeptor mit Tyrosinkinase-Aktivität, der beim Menschen in allen Zellarten vorkommt. Besonders wichtig ist EGFR in Epithel und Knochenzellen, wo er eine große Rolle in deren Entwicklung, Differenzierung und Regeneration spielt. Der EGFR ist in vielen Tumorarten mutiert oder überexprimiert, wie z. B. in verschiedenen Karzinomen, wie zum Beispiel Knochentumoren (Osteosarkome). Die sogenannten Tyrosinkinase-Inhibitoren (TKI) zielen darauf ab, diesen Rezeptor zu blockieren. TKIs wie Erlotinib werden erfolgreich in der Behandlung von Lungenkarzinomen eingesetzt. Jedoch konnten erste klinische Studien zur Behandlung von Osteosarkomen mittels Erlotinib keinen eindeutigen Nachweis zur Wirksamkeit des EGFR Inhibitors feststellen. Es liegt nahe, dass durch die spezifische Physiologie des Knochengewebes zu einer unzureichenden Aufnahme des Medikaments kommt. Ziel des vorliegenden Projektes ist es erstmals die Aufnahme von Erlotinib in Knochentumoren in vivo im Mausmodell zu ermitteln. Dazu werden transgene Mäuse welche Knochentumore entwickeln mit dem nicht-invasiven bildgebenden Verfahren der Positronen-Emissions-Tomographie (PET) untersucht unter Verwendung eines radioaktiv markierten EGFR Inhibitors ([<sup>11</sup>C]Erlotinib). Es soll die Aufnahme von [<sup>11</sup>C]Erlotinib in transgenen Mäusen, die Knochentumore entwickeln und EGFR in Knochenzellen normal exprimieren, untersucht werden. Als Vergleich und Negativkontrolle dienen andere, aber sehr ähnliche transgene Mäuse, die gentechnologisch so verändert wurden, dass sie kein EGFR exprimieren. Es wird die Aufnahme von [<sup>11</sup>C]Erlotinib an 4 Monate und 6 Monate alten Mäusen untersucht. So soll herausgefunden werden, ob das Alter des Tumors einen statistischen Einfluss hat. Die Ergebnisse dieses Tierversuchs sind demnach ein wichtiger Schritt in der zukünftigen Anwendung von TKIs in der Behandlung von Osteosarkomen. Die PET-Analyse ist essentiell für weitere Studien und kann wichtige Anhaltspunkte für humane Therapieansätze liefern.

zu erwartender Nutzen: Verbesserte Kenntnis über Transporterwege von Medikamenten und damit eine Verbesserung in der Anwendung von vielen Medikamenten.

zu erwartender Schaden: Für eine Untersuchung mittels Positron-Emissions-Tomografie wird der jeweiligen Maus eine radioaktive Prüfsubstanz verabreicht. Diese Verabreichung erfolgt in Narkose und intravenös. Am Ende der Untersuchungen werden die Tiere noch in Narkose euthanasiert. Somit sind diese Experimente weitestgehend schmerzfrei.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

40 Mäuse.

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

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

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

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

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

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

Ratten sind Träger und/oder als Reservoir-Wirte für eine Reihe von zoonotischen Erkrankungen (= Krankheiten die von Tieren auf den Menschen übergehen können und umgekehrt) und können daher Krankheiten (z. B. Weilsche Krankheit, Ratten-Typhus, Pest, Rattenbiss-fieber, Salmonellose und das Seoul-Hantavirus) auf den Menschen übertragen. Durch die Zunahme der Resistenzen der Ratten gegen die verwendeten Rattenköder (Blutgerinnungshemmer) sinkt die Effizienz der Bekämpfungsmaßnahmen. Um langfristig ein wirksames Ratten-Management zu betreiben, ist es erforderlich, das Wissen über die Ökologie der Ratten in städtischen Ballungsgebieten zu vertiefen.

zu erwartender Nutzen: Auf Grund der rasch fortschreitenden globalen Urbanisierung ist es wichtig, ein umfassendes Verständnis der durch Ratten übertragbaren Zoonosen in städtischen Gebieten zu entwickeln, um ein effektives Ratten-Management zu gewährleisten. Studien haben gezeigt dass die Rattendichte hauptsächlich durch verschiedene Umweltfaktoren bestimmt wird, allerdings wurden die speziellen Faktoren, welche die Rattendichte in Städten beeinflussen, bis dato nicht genau untersucht. Schließlich liefert diese Studie eine Abschätzung der Effizienz der in Wien verwendeten Rattenköder.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Der Fang der Ratten erfolgt mit Lebendfallen die standardmäßig im Rahmen von Studien an Nagetieren verwendet werden. Nach erfolgter Narkose und Blutabnahme werden die Tiere von sachkundigem Personal getötet.

2. Art und Anzahl der Tiere

400 Wanderratten

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

Vermeidung: Da im Rahmen der Studie Ökologie und Prävalenz von Zoonosen in Wildpopulationen von Wanderratten untersucht werden soll, ist es unmöglich, die Verwendung lebender Tiere durch alternative Methoden zu ersetzen.

Verminderung: Die Mindeststichprobengröße wurde aufgrund von Literaturangaben über das Vorkommen von Krankheitserregern in der Wanderratte durch eine

statistische Analyse berechnet. Es wurde jene Anzahl an Tieren gewählt, die erforderlich ist, um statistisch aussagekräftige Daten zu erhalten.

Verfeinerung: Die Tiere werden nachts und unter Berücksichtigung der Witterungsverhältnisse gefangen. Durch das regelmäßige Kontrollieren der Fallen können Stress und Verletzungen minimiert werden. Den gefangenen Ratten werden Nestbaumaterial, Futter und Wasser zur Verfügung gestellt. Durch die Verwendung eines geeigneten Anästhetikums werden Stress und Schmerzen während der Untersuchungsphase minimiert.

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

Da die Physiologie und Pathologie der Lungenfunktion von Eseln von jenen bei Pferden abweicht und lungenerkrankte Esel wenig ausgeprägte klinische Symptome zeigen, bedarf es einer besseren Methode zur Diagnose von Lungenerkrankungen für diese Spezies. Dazu bieten sich Lungenfunktions-Messgeräte, die bereits bei Pferden eingesetzt werden, an, allerdings sind die ermittelten Referenzwerte der Pferde für Esel nicht anwendbar. Das Ziel dieser Studie besteht daher in der Untersuchung der Lungenfunktion bei gesunden Eseln mittels nicht-invasiven Methoden (respiratorischer Ultraschallplethysmographie und forcierter Oszilometrie), um Referenzwerte gesunder Tiere zu erhalten.

zu erwartender Schaden: Die Esel werden mit einer Nasenmaske versehen und für die Messung des Atemwiderstandes maximal 5 Minuten fest gehalten. Weiters werden sie nicht länger als 2 Stunden in einem Stall oder auf einer kleinen Koppel gehalten, wo sie sich nicht zu weit von der Messanlage entfernen dürfen. Sie haben Sichtkontakt zu Artgenossen. Die Esel sind daran gewöhnt, von Menschen berührt und gestreichelt zu werden. Auch an das Anlegen von Gurten um den Brustkorb sind die Tiere gewöhnt, weil sie als Zugtiere ausgebildet sind.

zu erwartender Nutzen: Die Lungenfibrose stellt bei Eseln eine häufige Todesursache dar. Es ist daher von großer Bedeutung, diese Lungenerkrankung möglichst frühzeitig zu diagnostizieren. Die im Rahmen dieser Untersuchung ermittelten Referenzwerte für die Lungenfunktionen des gesunden Esels können künftig für die (Früh-)Diagnostik von Lungenerkrankungen herangezogen werden. Die Ergebnisse leisten damit einen wichtigen Beitrag für das Erkennen von Krankheiten bei dieser Spezies und tragen somit dazu bei, krankheitsbedingtem Tierleid entgegenzuwirken.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

30 Esel

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

Vermeidung: Da die Lungenfunktion am lebenden Tier gemessen werden muss, gibt es keine Alternative.

Verminderung: Der Einsatz von 30 Eseln ist mindestens erforderlich um brauchbare Daten erheben zu können.

Verfeinerung: Das Handling erfolgt fachgerecht und die Messungen werden auf die unbedingt erforderliche Zeitdauer beschränkt. Die Tiere verbleiben in ihrer vertrauten Umgebung um Stress durch Transport und Umstellung in anderen Ställen zu vermeiden.

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

zu erwartender Nutzen: Die Entscheidung für eine Entwicklung eines Wirkstoffes als Therapeutikum zur Behandlung von Erkrankungen des Menschen oder der Tiere hängt wesentlich von der Verträglichkeit beziehungsweise vom Verhältnis der minimal wirksamen Dosis zur maximal verträglichen Dosis im Tierversuch ab (therapeutische und toxikologische Breite). Für Substanzen, die präklinisch in vitro und in vivo in ihrer antibakteriellen Aktivität den Standards (Klinikpräparaten) überlegen sind, erhebt sich während einer weiteren Entwicklung die Frage nach möglichen Nebenwirkungen. Aus diesem Grunde ist es sinnvoll, neue Medikamente hinsichtlich ihrer Toxizität und Sicherheit nach einmaliger und mehrfacher Gabe (Kumulationseffekt) in Nagern (Mäuse, Ratten und Meerschweinchen) frühzeitig zu untersuchen. Um möglichst wirksamen und sichere Substanzen für die weitere Entwicklung auszuwählen, sollen alle Substanzen, die alle Wirksamkeitsvoraussetzungen für ein Entwicklungspräparat erfüllen (z. B. eine überlegene in vitro Wirksamkeit, metabolische Stabilität in Zellkulturen), frühen toxikologischen Untersuchungen unterzogen werden, bevor die obligatorischen 14-tägigen Toxizitätsprüfungen an zwei Tierspezies begonnen werden. Im Zuge einer erfolgreichen Medikamentenentwicklung ist es wichtig, potentielle gefährliche Nebenwirkungen zu erkennen und wenn möglich zu vermeiden.

zu erwartender Schaden: Neben akuten toxikologischen Tests stehen auch das Monitoring von Körperfunktionen, im Speziellen von Herzfunktionen im Mittelpunkt der Erforschung und Entwicklung neuer Medikamente. Ein wichtiger Endpunkt für das Monitoring ist die Untersuchung medikationsbedingter Verschiebungen im QT-Signal. Sie gilt als wichtiger Parameter für das Potential lebensbedrohlicher Arrhythmien. Aber auch medikationsbedingte Blutdruckschwankungen können im Tierversuch rechtzeitig erkannt werden. Durch die Auswertung von Telemetrie Daten können frühzeitig Substanzen gefiltert oder neue chemische Modifikationen geplant und umgesetzt werden. Das Projekt ist dem Schweregrad „mittel“ zugeordnet.



## 2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden im Versuchszeitraum von 5 Jahren maximal 1.500 Mäuse, 1.300 Ratten und 340 Meerschweinchen verwendet.

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

Die Versuche sind von den regulatorischen Behörden anerkannt und bilden eine wichtige Grundlage für die weitere präklinische sowie klinische Entwicklung neuer Medikamente. Neue Derivate werden vorab in anerkannten in vitro Versuchen getestet und die besten und sichersten Substanzen für die weitere Entwicklung ausgewählt. In vitro-Versuche wie z. B. der hERG Screening Test, welcher die Auswirkung von Medikamenten auf Ionenkanäle von Zellen untersucht, können den in vivo Versuch nicht ersetzen, da sie nur zum Teil mit den in vivo Auswirkungen übereinstimmen. Gemeinsam mit den hERG Ergebnissen, der Plasmaproteinbindungseigenschaften und der Pharmakokinetik im Tier ergänzt das Ergebnis des Monitoring der Herzfunktionen am lebenden Tier das Sicherheits- und toxikologische Profil neuer potentieller Medikamente in Bezug auf z. B. QZ-Verlängerung oder Blutdruckschwankungen.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 28. Februar 2022 vorgesehen.

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

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

In den letzten 30 Jahren des 20. Jahrhunderts haben sich Krebserkrankungen verdoppelt und bis zum Jahr 2030 wird mit einer Steigerung auf 26,4 Millionen Neudiagnosen und 17 Millionen Todesfälle aufgrund von Karzinomen gerechnet. Der Bedarf an Tumortherapien, ist daher nach wie vor sehr groß. Um die Zahl der Tierversuche möglichst gering zu halten und die in vitro Versuche zu forcieren, ist die Etablierung von Zelllinien unumgänglich. Damit Tumore aus humanen Patientenmaterial in ihrer ursprünglichsten Form erhalten bleiben, werden Primärkulturen angelegt und kontinuierlich Zelllinien daraus entwickelt. Die angelegten Linien müssen nach der Kultivierung charakterisiert und identifiziert werden. Ein wichtiges Merkmal einer Tumorzelllinie ist auch, ob die transformierte Linie in der Lage ist einen Tumor in-vivo zu bilden. Um die tumorbildende Fähigkeit einer Zelllinie testen zu können, werden immunsupprimierte Mausstämme verwendet. Damit wird die Möglichkeit gewährleistet neue Therapie- beziehungsweise Behandlungsmethoden zu entwickeln.

zu erwartender Nutzen: Entwicklung neuer Zelllinien um eine breitere Palette für in vitro Versuche anbieten zu können.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Tiere erleiden dieselben Schmerzen wie Menschen die unter Narkose eine Spritze bekommen. Wir gehen davon aus, dass das Wachsen des Tumors unter der Haut geringe bis keine Schmerzen hervorruft, daher wird besonders darauf geachtet, dass ab einer bestimmten Größe die Tiere erlöst werden.

2. Art und Anzahl der Tiere

900 Mäuse

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

Vermeidung: Alle Zelllinien die in vivo auf Tumorigenität getestet werden, werden in vitro zuvor getestet, so wird mit Hilfe eines Testsystems das Migrations- und Invasionsverhalten der Zelllinie überprüft. Keine Zelllinie wird ohne Vorversuch in das Tier appliziert.

Verminderung: Alle Daten hinsichtlich Zellzahl, Anwachsen der Tumore werden in Datenbanken erfasst und anderen ForscherInnen zur Verfügung gestellt. Alle Or-

gane der Tiere werden in Paraffin eingebettet und stehen als Kontrollorgane andern ForscherInnen zur Verfügung.

Verfeinerung: Die Mäuse werden in Gruppen gehalten und als Enrichment wird ihnen Nestbaumaterial und/oder Häuschen zur Verfügung gestellt. Die Tierhaltung wird in regelmäßigen Abständen vom zuständigen Veterinär kontrolliert. Die Tiere werden einem regelmäßigen Handling durch gut ausgebildete Tierpfleger unterzogen um sich an etwaige zukünftige Manipulationen zu gewöhnen und Stress zu reduzieren.

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

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

Chronische Schmerzen sind immer noch ein sehr großes Gesundheitsproblem, das laut Schätzungen alleine in Österreich etwa 1,5 Millionen Menschen betrifft. Die Schmerzverarbeitung auf der Ebene des Rückenmarks spielt bei der Chronifizierung von Schmerzen eine wichtige Rolle. Einige Mechanismen im Rückenmark sind aufgeklärt. Trotzdem ist die gezielte Behandlung chronischer Schmerzen immer noch äußerst herausfordernd. Deshalb sind weitere Untersuchungen dieser Chronifizierungsprozesse dringend notwendig. Eine wichtige Möglichkeit, in die Verarbeitung von Schmerzreizen einzugreifen, sind die vom Gehirn in das Rückenmark projizierenden Nervenbahnen. Ziel dieser Studie ist es, die mögliche Beeinflussung von Schmerzchronifizierungsprozessen im Rückenmark, durch vom Gehirn absteigende Nervenzellen, zu untersuchen. Dazu sollen mittels viraler Vektoren Gene zur Markierung und zur optogenetischen Manipulation in Projektionsneurone und in deren bevorzugte Zielregionen im Rückenmark eingeschleust werden. Anschließend werden Gehirn und Rückenmark der Tiere entnommen, und die eigentlichen Messungen werden dann am Schnittpräparat durchgeführt.

zu erwartender Nutzen: Dieses Projekt würde wichtige Erkenntnisse über die grundlegenden Mechanismen der Verarbeitung von Schmerzen durch vom Gehirn ins Rückenmark absteigende Bahnen bringen.

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

2. Art und Anzahl der Tiere

maximal 384 Ratten

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

Vermeidung: In diesem Projekt sollen Nervenzellen untersucht werden, die mit definierten Gehirnarealen in Verbindung stehen. Dazu werden Gene in Nervenzellen mittels viraler Vektoren eingeschleust. Da für eine robuste Expression dieser Gene einige Wochen notwendig sind, muss dies im intakten Tier durchgeführt werden. Allerdings werden die eigentlichen Experimente dann in vitro im Schnittpräparat oder in tiefer Narkose in vivo durchgeführt, wodurch das Leiden der Tiere auf ein Minimum beschränkt wird.

Verminderung: Die Anzahl der Tiere wurde auf das statistisch absolut erforderliche Mindestmaß reduziert. Die Experimente sind zum Teil aufeinander aufgebaut. Sollte ein vorhergehendes Experiment nicht erfolgreich sein, werden die jeweils folgenden Experimente nicht durchgeführt.

Verfeinerung: Die chirurgischen Eingriffe werden unter fachgerechter tiefer Narkose und begleitender Analgesie durchgeführt.

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

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

zu erwartender Nutzen: Das aktuelle Forschungsprojekt beschäftigt sich mit der Analyse eines neuen Mausmodells für eine progressiv verlaufende, tödliche Gehirnkrankheit des Menschen. Wir wollen dadurch den Krankheitsmechanismus erfahren, was im Menschen direkt nicht möglich ist. Die Erreichung dieses Ziels ist nur mit einem Versuch an speziellen Mäusen möglich. Durch diese neuen Erkenntnisse möchten wir künftig unsere Patientinnen noch besser behandeln können.

zu erwartender Schaden: Um die Mechanismen der Krankheit besser zu verstehen, wird menschliches Gehirngewebe in narkotisierte Mäuse injiziert. Laut Voruntersuchungen werden die Tiere keine schweren Beeinträchtigungen ertragen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Im aktuellen Projekt ist die Verwendung von bis zu 180 Mäusen über einen Zeitraum von vier Jahren geplant.

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

Alle Experimente sind nach dem 3R-Prinzip geplant und werden durch geschulte MitarbeiterInnen sorgfältig durchgeführt. Um Schmerzen und Leiden der Mäuse zu vermindern, werden die Tiere mit entsprechenden Schmerzmitteln behandelt. Während der gesamten Versuchsdauer wird darauf geachtet, dass Stress und Leiden der Mäuse so gering wie möglich gehalten werden. Alle Mäuse werden in Gruppen gehalten und täglich von geschulten Tierpflegerinnen betreut und von Tierärzten überwacht.

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

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

Schmerz ist eine multidimensionale Erfahrung, die auch motorische, emotionale und kognitive Komponenten beinhaltet. Chronische Schmerzpatienten zeigen sehr häufig Komorbiditäten wie Depressionen, Ängste oder Schlaflosigkeit. Diese Begleiterkrankungen sind eine Hauptursache für das Leiden dieser Patienten und entsprechende Therapien sind noch immer sehr unbefriedigend. Eine Ursache dafür ist, dass noch weitgehend unklar ist, für welche Schmerzkomponenten die unterschiedlichen Nervenbahnen, die vom Rückenmark in die bei der Schmerzwahrnehmung beteiligten unterschiedlichen Hirnzentren projizieren, verantwortlich sind. Ziel dieser Studie ist es deshalb, Techniken zu entwickeln, die es erlauben, definierte aufsteigende spinale Bahnen gezielt und selektiv im intakten Tier zu stimulieren oder zu hemmen. Dazu sollen mittels viraler Vektoren Gene zur optogenetischen Manipulation in spinale Projektionsneurone eingeschleust werden. Die Studie soll uns in die Lage versetzen, aufsteigende Projektionen in unterschiedliche Gehirnareale, die an der Schmerzverarbeitung beteiligt sind, selektiv zu manipulieren. Dies eröffnet die Möglichkeit, grundlegende Mechanismen der neuronalen Schmerzverarbeitung, einschließlich emotionaler und sensomotorischer Aspekte, gezielt zu untersuchen.

zu erwartender Nutzen: Dieses Projekt könnte die Entwicklung neuer therapeutischer Ansätze bei chronischen Schmerzpatienten entscheidend befördern.

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

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden 192 Ratten verwendet.

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

Vermeidung: In diesem Projekt sollen die vom Rückenmark zum Gehirn aufsteigenden Schmerzbahnen untersucht werden. Dazu werden Gene in Nervenzellen mittels viraler Vektoren eingeschleust. Da für eine robuste Expression dieser Gene einige Wochen notwendig sind, muss dies im intakten Tier durchgeführt werden. Die elektrophysiologischen Experimente werden dann in tiefer Narkose durchgeführt, wodurch das Leiden der Tiere auf ein Minimum beschränkt wird.

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

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



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

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

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

zu erwartender Nutzen: Dieser Versuch soll Aufschluss geben, welche Enzymformulierungen am effektivsten beziehungsweise welche Konzentrationen noch ausreichend sind, um eine Entgiftung des Mykotoxins im Verdauungstrakt von Broilern nach Zugabe zum Futter zu bewirken. Diese Fragestellung soll anhand von analysierten Fumonisin-Konzentrationen im Kot (FUMs = FUM und dessen Metabolite; in der Literatur anerkannte „Biomarker of Exposure“) im Kot beantwortet werden. Weiters sollen histologische Untersuchungen des Verdauungsapparates eventuelle Auswirkungen zeigen. Die daraus gewonnenen Resultate leisten einen Beitrag zur Verbesserung des Gesundheitsstatus beim Broiler.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Am Tag 35 werden zufällig 32 Broiler (aus jeder Bucht ein Tier) zur Probennahme ausgewählt. Diese Tiere werden mit CO<sub>2</sub> euthanasiert und anschließend die Gewebeproben entnommen. Bei der eingesetzten Fumonisin-Konzentration von 20mg/kg sind keine klinischen Krankheitsercheinungen zu erwarten.

2. Art und Anzahl der Tiere

640 Broiler (Ross 308)

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

Vermeidung: Die Durchführung dieses Projektes ist aufgrund der notwendigen Biomarker in Kot und der vorgesehenen histologischen Untersuchungen nicht in

Form einer in vitro Studie möglich und es kann somit nicht auf eine Ersatz- beziehungsweise Ergänzungsstudie ausgewichen werden.

Verminderung: Es wird die geringstmögliche Anzahl an Tieren 240 je Gruppe verwendet, um ein aussagekräftiges und statistisch auswertbares Ergebnis für die notwendigen Performanceparameter zu erhalten.

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

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

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

zu erwartender Nutzen: Diese Studie soll es ermöglichen, Aussagen über die Bioverträglichkeit sowie die sonstigen Materialeigenschaften der getesteten Implantate im Tiermodell zu treffen. Ziel ist die erfolgreiche Therapie und Regeneration größerer Knochendefekte, wie sie beispielsweise durch Trauma oder Tumorerkrankungen auftreten können. Die Ergebnisse dieser Studie sollen wichtige Informationen für die geplante Anwendung dieser Implantate als Medizinprodukt im Menschen liefern. Bisher verfügbare Implantate zeigen eine eingeschränkte Möglichkeit der Formgebung, teilweise schlechte biologische Verträglichkeit oder andere Nebenwirkungen. Der Nutzen der getesteten Implantate liegt in der freien Formgebung mittels 3D-Druckverfahren sowie in der guten biologischen Verträglichkeit der chemischen Grundbausteine der Implantate.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Bei den Tieren wird wie beim humanen Patienten ein Ersatz des Knochengewebes im Bereich des Unterkiefers durchgeführt und so ein Knochendefekt simuliert, der nicht selbständig regenerieren würde und somit einer möglichen klinischen Realsituation ähnelt. Der gesetzte Defekt ist jedoch Organerhaltend und beeinträchtigt die Kaufunktion der Tiere nicht relevant. Alle Eingriffe erfolgen in Allgemeinnarkose und entsprechender Schmerztherapie. Basierend auf den Erkenntnissen früherer Versuche mit ähnlichem Studienaufbau ist die Belastung der Tiere postoperativ kurzfristig als mittelgradig einzustufen. Die Belastungen postoperativ werden durch bedarfsangepasste Gaben von Analgetika kompensiert. Die Durchführung der Computertomographie erfolgt in Allgemeinanästhesie.

2. Art und Anzahl der Tiere

18 ausgewachsene weibliche Bergschafe

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

Vermeidung: Die Prüfung der Materialien muss vor Anwendung im Menschen im Tier getestet werden. Ein Ersatz durch in-vitro Methoden ist nicht möglich.

Verfeinerung: Alle in diesem Versuch angewandten Materialien (Polymerbestandteile) wurden aber bereits im Vorfeld in-vitro auf ihre Zytotoxizität getestet. Die geplante Operationsmethode und Nachbetreuung der Tiere ist gut etabliert.

Verminderung: Basierend auf bisherigen Ergebnissen, wird die geringstmögliche Zahl an Versuchstieren herangezogen, um dennoch signifikante statistische Aussagen zu treffen.

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“ zuzuordnen. Die im Zeitraum von drei Jahren zu untersuchenden Tiere sind 101 Nacktmäuse. Die Versuchsbedingungen werden so gewählt, dass mittels potenter Narkose und Analgesie, die tägliche tierärztliche Inspektion aller operierten Tiere und die tägliche tierpflegerische Betreuung und Konditionierung der Tiere Schmerzen, Leiden und Ängste möglichst verhindert werden.

zu erwartender Nutzen: Das Ziel beziehungsweise der Nutzen des geplanten Projektes ist die Charakterisierung verschiedener fortschrittlicher Biomaterialien und Therapiestrategien in einem Kleintiermodell, bei dem ein humanes Implantat mit den zu testenden Zellen in die Nacktmaus implantiert wird.

zu erwartender Schaden: Der zu erwartende Schaden für die Tiere sind vorübergehend mittelgradige Schmerzen (durch wirksame Analgesie reduzierter Schmerz), dann der sofortige Tod.

2. Art und Anzahl der Tiere

101 Nacktmäuse

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

Die Erfüllung der „3R“ ist im Sinne der Vermeidung: nicht möglich

der Verminderung: durch die Verwendung der geringstmöglichen Zahl von Tieren

der Verfeinerung: durch potente, wirksame Analgesie dokumentiert

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

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

In Österreich beträgt die Häufigkeit der Frühgeburtlichkeit 7,9%. Die Schädigung des Gehirns ist bei diesen Kindern eine häufige Komplikation, welche neurologische Entwicklungsstörungen sowie eine lebenslange Beeinträchtigung zu Folge haben kann. Eine Therapie der Hirnschädigung besteht derzeit nicht, sodass die Behandlung heute aus unterstützenden Maßnahmen besteht. Seit vielen Jahren arbeitet unsere Arbeitsgruppe an der Testung von potentiell hirnschützenden Substanzen, welche vor der klinischen Anwendung im Zellkultur- und Tierversuch getestet werden müssen. Die im vorliegenden Projekt zu untersuchende Substanz ist ein körpereigenes Eiweiß, und hat bei erwachsenen Tiermodellen bereits vielversprechende Ergebnisse erzielt. In diesem Projekt wollen wir die Wirkung beim frühkindlichen Hirnschaden evaluieren.

zu erwartender Nutzen: Durch die Durchführung des vorliegenden Projekts werden neue Erkenntnisse in der Therapie der Hirnschädigung des Frühgeborenen gewonnen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Im vorliegenden Projekt werden die Tiere einem operativen Eingriff unterzogen, welcher unter Narkose durchgeführt wird.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden maximal 76 Mäuse für dieses Projekt benötigt.

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

Vermeidung: Die zu untersuchende Substanz wurde bereits bei erwachsenen Tiermodellen erfolgreich getestet. Als nächsten Schritt wird nun untersucht, ob ein günstiger Effekt durch die Substanz auch bei neugeborenen Tieren beobachtet werden kann. Dies ist vor dem Einsatz der Substanz in der Klinik unerlässlich.

Verminderung: Die Analyse der Ergebnisse erfolgt schrittweise, damit die Anzahl der benötigten Tiere möglichst gering gehalten werden kann. Die Kalkulation der benötigten Tiere beruht auf einer gewissenhaften Fallzahlschätzung.

Verfeinerung: Während dem gesamten Projekt wird darauf geachtet, die Belastung für die Tiere so gering wie möglich zu halten. Bis zum Endpunkt der Studie werden die Tiere stets gemeinsam mit den Muttertieren gehalten. Für die Durchführung der Eingriffe werden sie jeweils nur wenige Minuten von den Käfigen

entfernt. Zudem erfolgen regelmäßige Kontrollen durch die MitarbeiterInnen bei diesem Projekt und durch geschultes Tierpflegepersonal.

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

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

Dieses Projekt soll aufzeigen, welchen Einfluss ein wichtiges Enzym über dessen physiologische Rolle bisher nichts bekannt ist, im Kontext eines intakten Organismus hat. Versuche in Zellkultur haben bereits aufgezeigt, dass eine Rolle im Glukosestoffwechsel sowie in der Immunantwort zu erwarten sind und diese beiden Bereiche sollen deshalb mit etablierten Methoden genau untersucht werden. Insbesondere von Interesse ist hier einerseits, dass neue Angriffspunkte in der Therapie von Zuckerkrankheit dringend gebraucht werden und andererseits entzündliche Erkrankungen noch immer nicht ausreichend erforscht sind und auch hier weitere zelluläre Spieler entdeckt werden müssen, um neue und effektive Therapiemöglichkeiten zu finden.

zu erwartender Nutzen der Tierversuche: Sollten sich Effekte, welche wir in Zellkultursystemen bereits beschrieben haben, auch auf das Tier umlegen lassen, ist zu erwarten, dass diese Untersuchungen neue zelluläre Angriffspunkte zur Bekämpfung und Therapie von Immunstörungen und Stoffwechselerkrankungen aufdecken.

zu erwartender Schaden für die Tiere: An den Tieren werden folgende Methoden angewendet werden: Blutabnahme für Insulin- und Glukosemessungen sowie Glukose- und Insulininjektionen nach Futterentzug für 4 beziehungsweise 6 Stunden, Infektion mit Salmonella Bakterien.

2. Art und Anzahl der Tiere

1704 Mäuse sowie zusätzlich 700 Mäuse für die Zucht

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

Vermeidung: Die Erforschung der physiologischen Rolle eines neuen Enzyms im gesamten Organismus macht es unausweichlich, dieses Projekt im Tierversuch zu untersuchen. Dem Tierversuch gleichwertige Methoden existieren in diesem Bereich nicht.

Verminderung: Die Zucht wird engmaschig überwacht, um möglichst wenig Tiere zu benötigen. Die Versuche sind statistisch so geplant, dass nur die kleinstmögliche Anzahl an Tieren beantragt wird, um noch auswertbare Ergebnisse ohne markanten Anstieg der Irrtumswahrscheinlichkeit zu erhalten.



Verfeinerung: Die geplanten Belastungen sind vorübergehend und gering. Mögliche Auswirkungen durch die genetische Manipulation werden durch engmaschige Kontrolle der Zucht beobachtet.

Eine rückblickende Bewertung ist bis 28. Februar 2022 vorgesehen.

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

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

In diesem Projekt soll die Bedeutung von Gerüchen, bei der Partnerwahl der Weibchen von Haussperlingen (*Passer domesticus*) untersucht werden. Zu diesem Zweck wird die Fähigkeit der Weibchen, verwandte und vertraute Männchen auf Grund von olfaktorischen Parametern zu unterscheiden, untersucht. Dazu werden weiblichen Haussperlingen Gerüche von Männchen angeboten, die sich im Hinblick auf die soziale Beziehung und die Verwandtschaft zu den Weibchen unterscheiden. Damit kann beurteilt werden, ob Weibchen zwischen Gerüchen von Brüdern und nicht verwandten Männchen sowie zwischen Gerüchen bekannter und unbekannter Männchen unterscheiden und welche Präferenzen sie haben. Die Gerüche der männlichen Tiere werden in Baumwollbeuteln gesammelt und den Weibchen in Baumwolltaschen in Kunststoffnistkästen angeboten. Außerdem wird die Geruchswahrnehmung für zwei verschiedene umweltrelevante Gerüche (Geruch von Mäuseurin und frischem Heu) getestet.

zu erwartender Nutzen: Diese Fragestellung wurde bei Singvögeln noch nie untersucht. Der Nutzen besteht darin, Informationen über die Bedeutung von Gerüchen bei der Partnerwahl von Singvögeln und über die Bedeutung von genetischer Verwandtschaft und sozialen Beziehungen zu gewinnen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Zum Zweck der Beobachtung werden die Tiere aus der Haltungsvoliere in eine Versuchsvoliere umgesetzt. Dies kann zu kurzzeitigem Stress bei den Vögeln führen.

2. Art und Anzahl der Tiere

44 Haussperlinge

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

Vermeidung: Da die Untersuchung in einer Verhaltensbeobachtung besteht, kann sie nur an lebenden Tieren der Zielspezies durchgeführt werden.

Verminderung: Durch Anwendung statistischer Methoden wird die Stichprobengröße auf jenes Minimum an Tieren reduziert, das erforderlich ist, um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten.

Verfeinerung: Bei den verwendeten Tieren handelt es sich um Vögel, die bereits vor dem Versuch in Volieren gehalten werden; sie sind daher an die Umgebung

in einer Voliere gewöhnt. Da die Beschaffenheit und Ausstattung der Versuchsvoliere im Wesentlichen der Haltungsvoliere entspricht, beschränkt sich die Belastung der Tiere auf das Umsetzen in die Versuchsvoliere. Nach Beendigung des Experiments werden die Vögel sofort wieder in ihre gewohnte Umwelt verbracht.

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

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

Asthma ist eine komplexe chronische Erkrankung, die bis zu 11% der Bevölkerung Westeuropas betrifft. Aktuelle pharmakologische Interventionen sind auf Beta-2-Agonisten und inhalative Kortikosteroide begrenzt. Durch ein besseres Verständnis der Entstehung dieser Krankheit könnten neue therapeutische Strategien entwickelt werden, welche auf die zugrunde liegenden Pathomechanismen zielen und über eine Linderung der Symptome hinausgeht.

zu erwartender Nutzen: Diese Ergebnisse können auf die Krankheiten bei Menschen übertragen werden und dienen der Entwicklung neuer Therapiemöglichkeiten für Asthma. Es ist zu erwarten, dass durch diese Erkenntnisse neu entwickelte Therapien auch weniger Nebenwirkungen haben werden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere entwickeln Symptome die der menschlichen Erkrankung ähnlich sind wie z. B. milde Lungenentzündung. Die Tiere konnten möglicherweise kurzzeitigen milden Schmerz (z. B. bei der Injektion der Anästhetika für die Vorbereitung der Narkose) erfahren.

2. Art und Anzahl der Tiere

Mäuse, insgesamt 752

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

Vermeidung: Die geplanten Tierversuche basieren auf Erkenntnissen von früheren Studien sowie auf Ergebnissen von in vitro Vorversuchen. Komplexe pathophysiologische Zusammenhänge von unterschiedlichen Zelltypen und Organen, die Entzündungsprozessen zugrunde liegen sind allerdings in vitro nicht rekonstruierbar. Deswegen ist der Einsatz von Tiermodellen unvermeidlich.

Verminderung: Um die Anzahl der verwendeten Tiere zu verringern wird die Zahl der Tiere in der Kontrollgruppe reduziert. Zusätzliche Reduzierung wird durch eine optimierte Zuchtstrategie erreicht. Die absolute Anzahl der Tiere wurde minimiert, indem mehrere unterschiedliche Messwerte (Parameter) pro Tier gemessen werden.

Verfeinerung: Alle Tiere werden unter optimalen, kontrollierten und schmerzfreien Bedingungen gehalten. Die Tiere werden von ausgebildeten Tierpflegern versorgt und in regelmäßigen Abständen tierärztlich überprüft. Um das Wohlbe-

finden der Tiere zu gewährleisten, werden ihnen Nestmaterial und Tunnels zur Verfügung gestellt.

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

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

Fibrotische Erkrankungen von inneren Organen sind häufige und schwere Komplikationen mit unterschiedlichen Ursachen. Zur besonders schweren Art von diesen Krankheiten gehört die idiopathische Form, die keine bekannte Ursache haben. Für diese Patienten gibt es kaum eine Therapiemöglichkeit. Das Projektziel ist es, die Mechanismen, die zu dieser Krankheit führen zu verstehen und diese neuen Erkenntnisse zur Entwicklung neuer Therapiemöglichkeiten für Patienten zu nutzen.

zu erwartender Nutzen: Diese Ergebnisse können auf die Krankheit beim Menschen übertragen werden und dienen der Entwicklung neuer Therapiemöglichkeiten für Fibrose von inneren Organen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere entwickeln die Symptome die der menschlichen Erkrankung ähnlich sind wie häufig andauernde Müdigkeit, geringe körperliche Belastbarkeit, sowie ein Anstieg der Atemfrequenz. Die Tiere erfahren möglicherweise mittelfristige leichte Schmerzen durch die fibrotische Veränderungen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Mäuse, insgesamt: 226

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

Vermeidung: Die geplanten Tierversuche basieren sich an Erkenntnissen von früheren Studien sowie aus in vitro Vorversuche. Komplexe pathophysiologische Zusammenhänge von unterschiedlichen Zelltypen und Organen, die der Fibrose zugrunde liegen, können nur im lebenden Organismus untersucht werden. Deswegen ist der Einsatz von Tiermodellen unvermeidlich.

Verminderung: Um Tierzahlen auf ein Minimum zu reduzieren, wurden Kontrollgruppen verkleinert und die Anzahl von an einem Tier durchgeführten Messungen erhöht. Zusätzliche Reduzierung der Tieranzahl wird durch eine optimierte Zuchtstrategie erreicht.

Verfeinerung: Die absolute Anzahl der Tiere wurde minimiert, indem mehrere unterschiedliche Messwerte (Parameter) pro Tier gemessen werden. Dies dient der Verfeinerung der Versuche und der Reduktion der Zahl der Tiere. Alle Tiere

werden unter optimalen, kontrollierten und schmerzfreien Bedingungen gehalten. Die Tiere werden von ausgebildeten Tierpflegern versorgt und in regelmäßigen Abständen tierärztlich überprüft. Um das Wohlbefinden der Tiere zu gewährleisten, werden ihnen Nestmaterial und Tunnels zur Verfügung gestellt.

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

1. Angaben über 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 beziehungsweise 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

900 Labormäuse

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

Vermeidung: Das Mausmodell wird erst nach Ausschöpfung aller möglichen in-vitro 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): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

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

Zweck des Tierversuches: Entwicklung eines neuartigen Humanimpfstoffes mit hohem klinischen Bedarf. Bei den beantragten Versuchen handelt es sich um sogenannte Stabilitätstestungen verschiedener Variationen des Impfstoffes.

zu erwartender Nutzen: Diese Versuche (unter anderen) sind vorgeschrieben und in internationalen Guidelines vorgegeben, um einen Impfstoff zur klinischen Prüfung am Menschen zuzulassen.

zu erwartender Schaden: Die Tiere bekommen Dosen des Impfstoffes appliziert. Dabei kann es erfahrungsgemäß zu leichten temporären Entzündungen an der Injektionsstelle kommen, die innerhalb kurzer Zeit wieder abklingen. In den seltenen Fällen, in denen es sich anders verhält, wird der Versuch abgebrochen. Die Versuche enthalten keine operativen Eingriffe. Der Versuch ist dem Schweregrad „gering“ zugeordnet.

2. Art und Anzahl der Tiere

5510 Mäuse in drei Jahren. Es werden keine transgenen Tiere benötigt.

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

Vermeidung: Die Versuche wurden gemäß internationaler Guidelines zur Stabilitätstestung neuer biotechnologischer Substanzen ausgearbeitet. Es wurde eine möglichst geringe Zahl von Tieren gewählt, mit der die Erfüllung der durch die Guidelines vorgegebenen Ziele noch machbar ist.

Verminderung: Verwendung geeigneter statistischer Methoden zur Reduktion der benötigten Tiere. Einsatz zahlreicher in vitro-Filter im Vorfeld, um die Zahl der notwendigen in vivo-Versuche gering zu halten.

Verfeinerung: Zur Minderung der psychischen Belastung werden die Tiere sozial und in angereicherter (Nestbaumaterial, Spielzeug) Umgebung gehalten. Die Tiere werden früh gekauft, um eine mehrwöchige Gewöhnung an den Tierpfleger und Experimentator im Vorfeld zu ermöglichen, was wiederum den Stress für die Tiere während des Versuches deutlich senkt.

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

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

Viele Wirkstoffe, insbesondere auch Medikamente zur Krebstherapie, scheitern in späten Phasen der Entwicklung. Ziel dieses Projekts ist die Etablierung von präklinischen Modellen, welche eine zuverlässigere Aussage hinsichtlich der Wirksamkeit von Krebsmedikamenten in der klinischen Testung zulassen.

zu erwartender Nutzen: Die Generierung von präklinischen Modellen, welche jene Patientengruppe repräsentieren, die vorrangig an frühen Phasen der klinischen Testung teilnehmen, soll eine gezieltere Austestung von neuen Medikamenten im Rahmen klinischer Studien ermöglichen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Gesamtbelastung der Tiere durch die Untersuchungen wird als „mittel“ eingestuft. Sobald eine Behandlung das Ausmaß eines Nadelstichs übersteigt, werden die Tiere vorübergehend betäubt. Im Rahmen dieser Studie erfolgt eine subkutane Tumorexpansion. Die Tiere werden durch die Operation und darauffolgende Tumorexpansion in Verhalten und Bewegungsfreiheit nur gering beeinträchtigt, wobei wir den operativen Eingriff selbst als mittlere Belastung bewerten. Sollten post-operative Schmerzen auftreten, werden die Mäuse mit Schmerzmittel therapiert.

2. Art und Anzahl der Tiere

Über eine Laufzeit von 3 Jahren werden insgesamt 388 Mäuse beantragt.

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

Vermeidung: Präklinische Tiermodelle können derzeit bei der Entwicklung von neuen Medikamenten nicht vollständig ersetzt werden. Umso wichtiger ist es aussagekräftige Modelle zu entwickeln und zu verwenden.

Verminderung: Wir planen die beidseitige Implantation und Expansion von Tumorgewebe um auf diese Weise die Anzahl der notwendigen Tiere zu reduzieren. Standardisierte Bedingungen bei der Haltung sollen eine hohe Reproduzierbarkeit gewährleisten.

Verfeinerung: Die Mäuse werden von geschulten, erfahrenen Personen betreut und unter standardisierten Bedingungen (SPF) gehalten. Sollte eine Medikation der Tiere notwendig sein, so erfolgt diese wenn möglich stressfrei über das

Trinkwasser. Es wird großen Wert auf die Minimierung von Schmerzen, Leiden und Ängste der Tiere gelegt.

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

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

Mindestens fünfzig Prozent aller Schwerhörigkeit beim Menschen in den westlichen Ländern ist jeweils monogenetisch bedingt. In den letzten Jahren sind mehr als 120 unterschiedliche Taubheitsgene beim Menschen identifiziert beziehungsweise kartiert worden. Sprouty 2 konnte kürzlich als Taubheitsgen bei der Maus identifiziert werden. Sprouty 2 steuert die Entwicklung unterschiedlicher Zelltypen im Innenohr. Ziel dieses Projektes ist es, die Rolle von Sprouty Proteinen zu untersuchen und neue Informationen über ihre Funktion in der Entwicklung des Innenohrs zu sammeln. Hierzu werden die Innenohrstrukturen von klinisch phänotypisierten Knockout-Mäusen für Sprouty 2 und 4 und Wildtyp-Mäusen untersucht. Letztlich wird eine mögliche Bedeutung von Sprouty-Genmutationen als Ursache von Schwerhörigkeit beim Menschen durch die Untersuchung von DNA-Proben von etwa 1000 Patienten mit unterschiedlichen Formen von Innenohrschwerhörigkeit abgeklärt werden. Im Rahmen dieses Projektes sollen mit verschiedenen Methoden wie der Ableitung auditorischer Hirnstammpotentiale, Immunhistochemie, Western-Blotting, PCR, rotierender Organkultur, organotypischer Kultur sowie Zellkulturen die Rolle von Sprouty Proteinen im Innenohr untersucht werden. Eine mögliche Bedeutung von Sprouty-Mutationen und ihr Anteil an menschlicher Schwerhörigkeit wird durch direkte Sequenzierung von anonymisierten Proben von Patienten mit bisher ätiologisch nicht zugeordneten Formen von Schwerhörigkeit untersucht werden.

zu erwartender Nutzen: Bedeutung der Sprouty Proteine und Nogo Rezeptoren im Innenohr und deren Bedeutung für die Aufklärung der Ursachen der Schwerhörigkeit im Innenohr.

zu erwartender Schaden für die Tiere: einige Tiere sind taub.

2. Art und Anzahl der Tiere

280 Mäuse für einen Zeitraum von 5 Jahren.

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

Vermeidung: Nicht möglich da für die komplexe Funktion des Hörens das Gesamttier erforderlich ist.

Verminderung: regelmäßige Kontrolle durch fachgerechte Personen.

Verfeinerung: Hörtest erfolgen schmerzfrei am narkotisierten Tier.

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

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

Das Ziel der Studie besteht darin, die antibakterielle Wirkung von Silber-Nanopartikeln gegen *A. salmonicida* in vivo zu untersuchen. Die Untersuchung basiert auf Ergebnissen, die durch in vitro-Studien zur Hemmung der *A. salmonicida* mittels Silber-Nanopartikeln auf Agar-Platten erzielt wurden.

zu erwartender Nutzen: Der Nachweis der Wirksamkeit der Bekämpfung des Erregers der Fisch-Furunkulose (*A. salmonicida*) in vivo ermöglicht es, bakterielle Infektionen bei Fischen alternativ und insbesondere auf ökologisch verträgliche Weise zu behandeln.

zu erwartender Schaden: Die Infektion kann bei den Fischen zu Lethargie, Hautläsionen, Hautgeschwüren und Ödemen führen.

2. Art und Anzahl der Tiere

310 Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*)

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

Vermeidung: Die Voruntersuchungen wurden, soweit dies möglich war, in vitro durchgeführt. Das Ziel dieser Studie ist es, die komplexe Interaktion zwischen dem Pathogen, Nanopartikeln und dem Immunsystem sowie die Auswirkungen der Behandlung auf den allgemeinen Gesundheitszustand der Fische zu untersuchen. Da dies nicht in vitro simuliert werden kann, ist die Verwendung lebender Tiere unerlässlich.

Verminderung: Die Erfahrungen mit anderen Pathogenen und ein genaues experimentelles Design gewährleisten, dass nur jene Anzahl an Tieren verwendet wird, die unbedingt erforderlich ist, um ein aussagekräftiges Ergebnis zu erzielen.

Verfeinerung: Die Fische werden im Durchflusssystem gehalten, um Stress zu minimieren. Sie werden ad libitum gefüttert und mindestens zweimal täglich kontrolliert. Sollten klinische Symptome, wie Furunkeln, Lethargie, Hautläsionen oder Ödeme, auftreten, werden die Fische fachgerecht euthanasiert. Um Stress für

die Fische möglichst gering zu halten, werden alle Interaktionen mit den Fischen auf ein Minimum reduziert.

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



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

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

Ziel der Studie ist, in einem Mausmodell die Rolle eines Proteins in der Entwicklung und Progression von Lungenkrebs zu untersuchen. Lungenkrebs ist weltweit die häufigste und tödlichste Krebsart, weniger als 20% aller Lungenkrebspatienten überleben mehr als 5 Jahre. Es ist daher klar, dass es wichtig ist, zusätzliche im Lungenkrebs involvierte Proteine zu untersuchen um verbesserte Therapiemöglichkeiten zu entwickeln. Das untersuchte Protein DACH1 ist ein Tumorsuppressoren und reguliert den Zellzyklus. Es scheint von besonderer Wichtigkeit zu sein, da Mutationen des Gens in breitangelegten Patientenuntersuchungen festgestellt wurden.

zu erwartender Nutzen: Dieses Projekt könnte aufzeigen welche Signalwege im Lungenkrebs abhängig von Verlust/Mutation von DACH1 aktiviert werden und damit therapeutische Ansätze ermöglichen.

zu erwartender Schaden: Tumorwachstum in der Lunge kann zu einer Beeinträchtigung der Atmung und damit der Lebensqualität führen, daher wird der erwartete Schaden als mittelgradig eingestuft.

2. Art und Anzahl der Tiere

674 Mäuse

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

Die zugrundeliegenden Hypothesen der vorliegenden Versuche wurden ausführlich in verschiedenen Studien gezeigt. Eine weitere Aufklärung erfordert die Überprüfung in einem in vivo Modell, vor allem für die Charakterisierung der zu erwartenden Tumorigenese durch funktionelle, histologische und molekularbiologische Untersuchungen besteht keine nichttierische Alternative.

Die Belastung der Versuchstiere wird durch folgende Maßnahmen auf ein Minimum reduziert: Mäuse werden getötet bei mehr als 10 % Gewichtsverlust, bei eingeschränkter Futter- beziehungsweise Wasseraufnahme, bei reduzierter Motilität, oder wenn durch neurologische Symptomatik der Tiere (z. B. Tremor) eine Fortsetzung des Versuchs nicht vertretbar erscheint. Das klinische Zustandsbild wird täglich genau beobachtet. Das Töten der Mäuse erfolgt durch zervikale

Dislokation. Die biologische Streuung wird durch standardisierte Haltung vermindert.

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

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

Um bei Geburtsstörungen ein schnelles Eingreifen zu gewährleisten, sollten Geburten beim Pferd stets überwacht werden. Diese Geburtsüberwachung kann die Stute jedoch auch beunruhigen. Übermäßige Sorge führt oft zu einer Störung der Geburt oder auch zu einem unnötigen und zu frühem Eingreifen in das Geburtsgeschehen. Bislang ist nicht bekannt, ob sich ein externer Stressor während der Geburt beim Pferd negativ auf den Geburtsablauf und die postpartale Phase auswirkt oder ob der physiologisch sehr rasche Geburtsverlauf dadurch nicht beeinflusst wird.

zu erwartender Nutzen: Durch die Quantifizierung der Effekte eines externen Stressors auf den Geburtsverlauf sowie der Stressreaktion bei Stute und Fohlen sollen ein vertieftes Verständnis der Effekte von Stress auf den Geburtsverlauf erreicht und ein besseres Geburtsmanagement sowie die Verringerung der Anzahl von Schweregeburten ermöglicht werden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Abgesehen von Blutprobenentnahmen mittels klinischer Routinemethoden werden die Tiere während der Geburt durch das Umstellen in einen anderen Stall einem geringgradigen Stressor ausgesetzt.

2. Art und Anzahl der Tiere

32 Pferde

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

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

Verminderung: Da nur Pferde verwendet werden, die in einem engen genetischen Verwandtschaftsverhältnis zueinander stehen, sind klar erkennbare Versuchseffekte zu erwarten. Es kommen erprobte laboranalytische Verfahren zur Anwendung, welche die zu erwartenden Veränderungen mit einer hohen Trennschärfe erfassen. Somit kann die Anzahl der Tiere auf die unbedingt erforderliche Mindestanzahl beschränkt werden.

Verfeinerung: An den Tieren werden nur jene Maßnahmen durchgeführt, die zur Beantwortung der Fragestellung unbedingt notwendig sind. Alle Geburten werden

von einem auf diesem Gebiet erfahrenen Tierarzt begleitet, sodass beim Auftreten von Geburtsproblemen sofort eingegriffen werden kann.

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

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

Adulte Neurogenese, die Entstehung neuer Nervenzellen im erwachsenen Gehirn, wird oft in Modellorganismen wie Mäusen studiert. Gentechnische Methoden wie z. B. das Cre-Lox System werden dafür in den Neurowissenschaften seit etwa zwei Jahrzehnten verwendet. Mit der CreERT-Lox Methode werden gezielte Gene mittels Tamoxifen-Applikation ein- und ausgeschaltet. Anhand dieses Modells konnte unser Labor zeigen, dass sich Tamoxifen nicht auf die Ausreifung von Stammzellen auswirkt. Mit diesem Antrag wird die mögliche Wirkung von Tamoxifen oder seiner Trägerlösung auf die Zellteilung in den neurogenen Nischen des Säugergehirns untersucht sowie mögliche Einflüsse auf kognitives Verhalten wie Lernen und Angst.

zu erwartender Nutzen: Der Ausschluss von Einflüssen durch Tamoxifen oder seine Trägerlösung auf Neurogenese und Verhalten wird für künftige Studien die Anzahl von Kontrollgruppen reduzieren.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Der Schweregrad der Belastung wird als gering eingestuft. Die intraperitoneale Injektion von 0,9% NaCl, Maisöl, Tamoxifen oder BrdU hat keine negative Auswirkung auf das Wohlbefinden der Mäuse. Die geplanten Verhaltensversuche (Morris Watermaze, Open Field und Elevated Plus Maze) stellen ebenfalls nur eine leichte, kurzfristige Belastung für die Tiere dar. Alle Versuche werden von geschultem Personal durchgeführt, was die Belastung der Tiere weiter senkt.

2. Art und Anzahl der Tiere

45 Mäuse

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

Vermeidung: Die gegebenen Fragestellungen decken sowohl Verhaltensversuche als auch histologische Analysen ab, welche nur in vivo untersucht werden können.

Verminderung: Wir haben die Gruppengröße auf Basis von biometrischen Rechnungen und Erfahrungswerten (inter-individuelle Abweichungen) definiert, um mit einer möglichst kleinen Anzahl von Tieren eine valide statistische Auswertung zu erhalten.

Verfeinerung: Die Eingriffe und Verhaltensversuche sind gut etabliert und werden nur von geschultem Personal durchgeführt.

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

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

Die Amyloidose umfasst eine breitgefächerte Gruppe von Erkrankungen, bei denen es zu intra- und extrazellulären Ablagerungen von unlöslichen Proteinen in unterschiedlichen Organen kommt. Zur Entstehung und Entwicklung der Erkrankung bei Feldhasen ist nur wenig bekannt. Da im Zuge von pathologischen Untersuchungen zweier Feldhasenpopulationen eine sehr unterschiedliche Häufigkeit des Vorkommens eines bestimmten Typs der Amyloidose (AA-Amyloidose) gefunden wurde und diese nicht erklärbar war, zielt diese Studie darauf ab, die Entwicklung und Entstehung der Amyloidose beim Feldhasen zu verstehen und dadurch einen tieferen Einblick in diese Form der Erkrankung zu bekommen. Auch werden im Zuge der Studie Blut-Referenzwerte für den Entzündungsparameter SAA, welcher in engem Zusammenhang mit Amyloidablagerungen steht, etabliert.

zu erwartender Nutzen: Erwartet werden wichtige Erkenntnisse zur Entstehung und Entwicklung der Amyloidose beim Feldhasen, welche auch in der Humanmedizin von Bedeutung sein können. Weiters werden Blut-Referenzwerten etabliert, welche die Möglichkeiten der klinischen Diagnostik bei Lagomorphen (Hasenartigen) verbessern können.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Den Tieren wird über das Trinkwasser ein sogenannter Amyloid-Verstärkungsfaktor und mittels subkutaner Injektion Silber-Nitrat verabreicht. Am Ende der Studie werden sie tierschutzkonform getötet (euthanasiert).

2. Art und Anzahl der Tiere

30 Feldhasen (*Lepus europaeus*)

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

Vermeidung: Entstehung und Entwicklung der Amyloidose kann nicht in vitro, sondern nur im lebenden Organismus der jeweiligen Spezies untersucht werden.

Verminderung: Die Anzahl der Tiere wurde auf jenes Minimum begrenzt, das gleichzeitig ein Ergebnis mit der größtmöglichen Aussagekraft erwarten lässt.

Verfeinerung: Zeigt ein Tier während des Versuchs Anzeichen eines beeinträchtigten Allgemeinbefindens oder einer Erkrankung, so wird es sofort aus dem Versuch genommen und tierschutzkonform 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 zu erwartender Schaden und Nutzen

Dieser Tierversuch dient als Vorstufe für die Entwicklung eines Impfstoffes für Klassische Schweinepest (KSP). Dabei sollen genetisch modifizierte Teile des KSP-Virus eingesetzt werden. Durch die Modifikation soll nach einer Immunisierung die daraus resultierende Antikörperantwort von der nach einer Infektion mit dem Wildtyp-KSP-Virus entstandene unterscheidbar sein. Dieses ist essentiell um bei Seuchenausbruch diagnostisch zwischen infizierten, das Virus ausscheidenden Tieren und geimpften Tieren differenzieren zu können. In diesem Versuch wird das Antikörperprofil, das nach Immunisierung mit den veränderten Virusproteinen entsteht, untersucht.

zu erwartender Nutzen: Durch die Entwicklung eines neuartigen Impfstoffes könnte im Fall eines Ausbruches von klassischer Schweinepest die Keulung tausender Tiere verhindert werden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Es ist nicht zu erwarten, dass die Tiere durch die Immunisierung leiden. Sämtliche weiteren Eingriffe, wie Kanüleneinstich zur Immunisierung und Blutentnahmen, entsprechen den in der tierärztlichen Praxis üblichen und ohne Betäubung durchgeführten Routinemaßnahmen.

2. Art und Anzahl der Tiere:

15 Schweine

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

Vermeidung: Da das Antikörperprofil nur im späteren Zielorganismus erstellt werden kann, ist ein Einsatz der Versuchstiere unumgänglich.

Verminderung: Das Projekt dient als Vorversuch, um das bestgeeignete Vakzin zu ermitteln. Die Anzahl von 5 Tieren in drei Gruppen ist notwendig, um ein hinreichend genaues Antikörperprofil zu erstellen. Überdies sollen Daten generiert werden, um einen nachfolgenden Versuch bestmöglich planen zu können.

Verfeinerung: Die Schweine werden in Gruppen auf Stroheinstreu gehalten. Zur optimalen Thermoregulation der noch jungen Tiere werden Wärmelampen einge-

setzt. Außerdem werden Beschäftigungsmöglichkeiten (z. B. Bälle) zur Verfügung gestellt.

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

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

Glukokortikoidhormone werden beim Menschen vielfach zur Behandlung von verschiedenen Autoimmunerkrankungen klinisch eingesetzt. Im Rahmen dieses Projekts planen wir die biologische Rolle von körpereigenen Glukokortikoidhormonen auf die Funktion des Immunsystems während einer induzierten Autoimmunerkrankung zu untersuchen. Bei den geplanten Analysen sollen insgesamt 252 genetisch modifizierte Mäuse verwendet werden, um den Einfluss einer herabgesetzten Glukokortikoid Antwort nach Darmreizung zu analysieren.

zu erwartender Nutzen: Mit diesen Versuchen können eine Reihe neuer Erkenntnisse in Hinblick auf die Rolle der körpereigenen Glukokortikoidhormonen bei einer Autoimmunerkrankung gewonnen werden. Dieses Wissen soll verwendet werden um die Behandlung akuter und chronische Autoimmunerkrankungen mittels Glukokortikoide zu verbessern (Erhöhung der Effizienz und/oder Reduktion der Nebenwirkungen).

zu erwartender Schaden: Somit sollten diese Untersuchungen den Schaden am Tier durch die induzierte Darmentzündung rechtfertigen.

2. Art und Anzahl der Tiere

252 Mäuse

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

Vermeidung: Die Verwendung alternativer Methoden ist gegenwärtig nur beschränkt möglich. Es gibt kein in vitro System um dieses Tiermodell zu ersetzen. Autoimmunerkrankungen stellen eine multifaktorielle Pathologie dar, die in Zellkultur nur in äußerst limitiertem Maße abgebildet werden kann. Wo immer möglich, und informativ, wird auf Zellkulturanalyse zurückgegriffen.

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

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

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

zu erwartender Nutzen: Das Projekt dient der Entwicklung eines neuartigen Humanimpfstoffes mit hohem klinischen Bedarf. Bei den beantragten Versuchen mit einer Laufzeit bis 31. Mai 2020 handelt es sich um sogenannte Stabilitätstestungen verschiedener Variationen des Impfstoffes. Diese Versuche sind vorgeschrieben und in internationalen Guidelines vorgegeben, um einen Impfstoff zur klinischen Prüfung am Menschen zuzulassen.

zu erwartender Schaden: Die Mäuse bekommen Dosen des Impfstoffes appliziert. Dabei kann es erfahrungsgemäß zu leichten temporären Entzündungen an der Injektionsstelle kommen, die innerhalb kurzer Zeit wieder abklingen. In den seltenen Fällen, in denen es sich anders verhält, wird der Versuch abgebrochen. Der Tierversuch ist dem Schweregrad „gering“ zugeordnet.

2. Art und Anzahl der Tiere

760 Mäuse

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

Vermeidung: Die Versuche wurden gemäß internationaler Guidelines zur Stabilitätstestung neuer biotechnologischer Substanzen ausgearbeitet. Es wurde eine möglichst geringe Zahl von Tieren gewählt, mit der die Erfüllung der durch die Guidelines vorgegebenen Ziele noch machbar ist.

Verminderung: Verwendung geeigneter statistischer Methoden zur Reduktion der benötigten Tiere. Einsatz zahlreicher in vitro-Filter im Vorfeld, um die Zahl der notwendigen in vivo-Versuche gering zu halten.

Verfeinerung: Zur Minderung der psychischen Belastung werden die Tiere sozial und in angereicherter (Nestbaumaterial, Spielzeug) Umgebung gehalten. Die Tiere werden früh gekauft, um eine mehrwöchige Gewöhnung an Tierpfleger und Experimentatoren im Vorfeld zu ermöglichen, was wiederum den Stress für die Tiere während des Versuches deutlich senkt.

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

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

In der geplanten Studie sollen bei Stuten mesenchymale Stammzellen aus endometrialen Biopaten geschlechtsgesunder Stuten und solchen, die an Endometrose leiden, gewonnen werden und nach Expansion wieder in den Uterus derselben Stute verbracht werden. Zu diesem Zweck werden endometriale Biopsien in der späten Lutealphase des ovariellen Zyklus entnommen und daraus endometriale mesenchymale Stammzellen nach bereits etablierten Verfahren gewonnen. Die Zellen werden in vitro kultiviert und nach Expansion mittels Besamungspipette in den Uterus der Stute verbracht.

zu erwartender Nutzen: Es werden die Voraussetzungen für eine therapeutische Verwendung endometrialer mesenchymaler Stammzellen bei Stuten mit degenerativen und entzündlichen Erkrankungen der Gebärmutter Schleimhaut geschaffen, indem die Migration der mesenchymalen Stammzellen nach Verbringung untersucht wird.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Einzelne Blutprobenentnahmen erfolgen durch Punktion einer V. jugularis externa und stellen eine geringe Belastung der Tiere dar. Die transrektale Ultraschalluntersuchung, die Uterusbiopsie sowie die Entnahme von Cytobrush-Proben sind Routinemethoden der Tiermedizin, die in einem Untersuchungsstand ohne weitere Fixierung oder Sedierung der Tiere erfolgen und gut toleriert werden.

2. Art und Anzahl der Tiere

Pferde (n=16)

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

Vermeidung: Die Gewinnung und das autologe Verbringen von mesenchymalen Stammzellen in den Uterus der Stute sowie die Untersuchung der Migration dieser Zellen in vivo ist nur an lebenden Tieren möglich.

Verminderung: Durch die Verwendung derselben Pferde für den Kontroll- und Behandlungszyklus kann eine interindividuelle Variabilität herausgerechnet werden und dadurch die Anzahl der Pferde reduziert werden.

Verfeinerung: Es kommen ausschließlich diagnostische Routineverfahren zur Anwendung, die bereits soweit optimiert sind, dass sie in der tierärztlichen Praxis ambulant erfolgen.

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

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

Herzinfarkt ist eine der häufigsten Todesursachen in Österreich. Trotz rascher Therapie bleibt die Mortalität nach Herzinfarkt hoch. Eine Ursache dafür ist der postischämische Reperfusionsschaden bei dem durch Einwandern von Leukozyten nach Wiedereröffnung eines verschlossenen Herzkranzgefäßes eine Entzündungsreaktion mit Gewebeschaden entsteht. Kardiale Myozyten enthalten eine große Anzahl von Mitochondrien und es konnte gezeigt werden, dass freie mitochondriale DNA Entzündung auslösen kann. Das Ziel dieser Studie ist zu erforschen ob freie mitochondriale DNA eine Ursache des postischämischen Reperfusionsschaden ist und ob eine Hemmung des Rezeptors oder ein Abbau der DNA zu einer Reduktion der postischämischen Entzündungsreaktion und zu einer Verkleinerung des Myokardinfarkts führt.

zu erwartender Nutzen: Die Untersuchungen am Tiermodell sollen den zugrundeliegenden Mechanismus dieses Effektes erklären und so die Anwendung am Menschen ermöglichen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Der für die Tiere zu erwartende Schaden liegt bei einer Operation unter Vollnarkose mit anschließender postoperativer Erholungsphase mit Schmerzbekämpfung.

2. Art und Anzahl der Tiere

128 Ratten, 56 Mäuse

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

Vermeidung: Zur Verminderung, Vermeidung und Linderung jeglichen Leidens werden modernsten experimentellen Methoden eingesetzt sowie alle Möglichkeiten der Anästhesie, Analgesie und Schmerzlinderung angewandt.

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

Verfeinerung: Durch standardisierte Tierhaltung und moderne Methoden mit bekannten Tiermodellen soll die biologische Streuung der Ergebnisse minimiert werden.

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

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

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

In dieser Studie soll untersucht werden, ob das soziale Umfeld einen Einfluss auf das explorative Verhalten von Haussperlingen hat. Männchen und Weibchen werden separat getestet, um Information darüber zu erlangen, ob die Geschlechter unter dem Aspekt des Explorationsverhaltens unterschiedlichem Selektionsdruck ausgesetzt sind. In diesem Projekt wird zudem eine neue Versuchsanordnung getestet; dabei wird das Raumangebot für die Tiere auf 183 m<sup>3</sup> vergrößert und die Beobachtungsdauer auf 120 min verlängert, um natürlichere Bedingungen zu simulieren.

zu erwartender Nutzen: Diese Fragestellung wurde bei Singvögeln noch nie untersucht. Der Nutzen besteht darin, Informationen über die Bedeutung geschlechtsspezifischer Unterschiede im Explorationsverhalten von Haussperlingen zu gewinnen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Zum Zweck der Beobachtung werden die Tiere aus der Haltungsvoliere in eine Versuchsvoliere umgesetzt. Dies kann zu kurzzeitigem Stress bei den Vögeln führen.

2. Art und Anzahl der Tiere

44 Haussperlinge

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

Vermeidung: Da die Untersuchung in einer Verhaltensbeobachtung besteht, kann sie nur an lebenden Tieren der Zielspezies durchgeführt werden.

Verminderung: Durch Anwendung statistischer Methoden wird die Stichprobengröße auf jenes Minimum an Tieren reduziert, das erforderlich ist, um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten.

Verfeinerung: Bei den verwendeten Tieren handelt es sich um Vögel, die bereits vor dem Versuch in Volieren gehalten werden und daher an die Umgebung in einer Voliere gewöhnt sind. Da die Beschaffenheit und Ausstattung der Versuchsvoliere im Wesentlichen der Haltungsvoliere entspricht und deren Größe die der Haltungsvolieren sogar übertrifft, beschränkt sich die Belastung der Tiere auf das Umsetzen in die Versuchsvoliere. Nach Beendigung des Experiments werden die Vögel sofort wieder in ihre gewohnte Umwelt verbracht.



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

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

In der Aquakultur werden vermehrt Futterzusatzstoffe eingesetzt, die unter anderem dazu dienen, das Immunsystem der Fische zu stimulieren und Krankheitsausbrüche zu reduzieren. Das Ziel des Projektes ist, diesen immunstimulierenden Effekt und seine Auswirkungen auf die Impfstrategie von Regenbogenforellen gegen *Yersinia ruckeri* zu untersuchen.

Der zu erwartende Nutzen dieses Projektes ist die Verbesserung des Impfverfahrens in der Aquakultur. Die Vakzination hat sich zu einem zentralen Bestandteil der Krankheitsprophylaxe entwickelt. Trotzdem kommen weiterhin Ausbrüche von infektiösen Krankheiten vor, weshalb es von großem Nutzen wäre, die Effektivität von Impfungen weiter zu verbessern.

Der zu erwartende Schaden für die Tiere besteht in dem Stress, dem die Fische während des Infektionsprozesses und durch die Entnahme von Blutproben ausgesetzt sind.

2. Art und Anzahl der Tiere

400 Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*)

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

Vermeidung: Da die komplexe Interaktion zwischen dem Pathogen und dem Immunsystem der Regenbogenforellen untersucht werden soll, ist die Verwendung lebender Tiere unerlässlich. Eine *in vitro*-Simulation ist nicht möglich.

Verminderung: Die Anzahl der Versuchsfische wird so gering gehalten, dass Ergebnisse noch aussagekräftig bleiben.

Verfeinerung: Um Stress zu vermeiden, werden die Fische im Durchflusssystem gehalten und jegliche Interaktionen auf ein Minimum reduziert. Um Leiden zu minimieren, werden die Fische genau überwacht. Sollten klinische Anzeichen für Schäden, eine Erkrankung oder beeinträchtigtes Wohlbefinden (z. B. Hämorrhagien, Lethargie, Hautläsionen, Ödeme) auftreten, werden die betroffenen Tiere unverzüglich fachgerecht euthanasiert.

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

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

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

Der Morbus Hunter (auch Mukopolysaccharidose Typ II genannt) ist eine X-chromosomal-rezessiv vererbte Stoffwechselerkrankung. Er gehört zu den Mukopolysaccharidosen (MPS), einer Gruppe von Erkrankungen, bei denen der lysosomale Abbau von Mukopolysacchariden gestört ist. Die Ursache des Morbus Hunter ist ein defektes Gen auf dem X-Chromosom das die Iduronat-2-Sulfatase kodiert. Durch die Mutation ist der Abbau von Dermatan- und Heparansulfat gestört. Die Erscheinung reicht von schweren Formen mit geistiger Retardierung (früher Typ A) zu sehr milden Ausprägungen mit geringer beziehungsweise ohne geistige Entwicklungsverzögerung (früher Typ B). Die Übergänge sind dabei fließend. Spezifisch für MPS Typ II sind Hauterscheinungen mit blassen, knötchenförmigen, meist in Gruppen zusammenstehenden Verdickungen. Weitere Symptome sind: Gesichtsveränderungen wie dichte Augenbrauen, flache, eingesunkene Nasenwurzel, fleischige, breite Lippen, vergrößerte Zunge, Prognathie; tiefe und heisere Stimme; Kardiale Beteiligung bis zu Herzinsuffizienz; Mittelohr- und Innenohr-Schwerhörigkeit; Gewebsschwund des Sehnervs; früh einsetzende, progrediente Gelenkkontrakturen; aufgetriebenes Abdomen; Wachstumsverzögerung; Skelettveränderungen; schwer betroffene Patienten können nach einer Phase von Aggressivität, Störungen der Grobmotorik mit Gangunsicherheit und häufigem Fallen, schließlich eine Tetraspastik mit Schluck- und Atemstörungen entwickeln. Durch die vorliegende Studie soll daher ein neues Medikament gegen die Krankheit im Tiermodell getestet werden. Nach erfolgreichem Abschluss der Studie soll die Substanz möglichst schnell in klinischen Studien und somit am Patienten auf ihre Wirksamkeit untersucht werden.

zu erwartender Schaden: Männliche Mukopolysaccharidose II (MPSII, Morbus Hunter) Mäuse und ihre wildtyp Geschwistertiere werden für 4 Wochen jeden zweiten Tag mit einer von 6 Testsubstanzen intravenös behandelt. 30 Minuten vor jeder Behandlung erhalten die Tiere eine subkutane Injektion von Chlorpheniramin. Eine Woche vor dem Start der Behandlung wird allen Tieren über die Vena Mandibularis Blut entnommen. 24 Stunden nach der letzten Behandlung

werden die Tiere euthanasiert und verschiedene Körperflüssigkeiten und Gewebe entnommen.

zu erwartender Nutzen: Durch diese Studie soll die Wirksamkeit der Testsubstanzen auf die pathologischen Eigenschaften des Morbus Hunter untersucht werden.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie werden insgesamt 135 Mäuse beantragt.

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

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

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

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

zu erwartender Nutzen: Wir wollen untersuchen, welchen Einfluss ein wichtiges Enzym über dessen physiologische Rolle bisher nichts bekannt ist, im Kontext eines intakten Organismus hat. Versuche in Zellkultur haben bereits aufgezeigt, dass eine Rolle im Glukosestoffwechsel sowie in der Immunantwort zu erwarten sind und diese beiden Bereiche sollen deshalb mit etablierten Methoden genau untersucht werden. Insbesondere von Interesse ist hier einerseits, dass neue Angriffspunkte in der Therapie von Zuckerkrankheit dringend gebraucht werden und andererseits entzündliche Erkrankungen noch immer nicht ausreichend erforscht sind und auch hier weitere zelluläre Spieler entdeckt werden müssen, um neue und effektive Therapiemöglichkeiten zu finden.

zu erwartender Schaden: Dieser Antrag dient als Zucht- und Haltungsantrag für alle Mäuse mit einer zu erwartenden Belastung von ohne Belastung bis geringe Belastung. Da die verwendeten Mauslinien im Vorfeld aber noch nicht beschrieben und damit auch „entlastet“ wurden, dient dieser Antrag auch dazu, den Phänotyp dieser Tiere genau zu erfassen.

2. Art und Anzahl der Tiere

12800 Mäuse

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

Vermeidung: Die Erforschung der physiologischen Rolle eines neuen Enzyms im gesamten Organismus macht es unausweichlich, dieses Projekt im Tierversuch zu untersuchen. Dem Tierversuch gleichwertige Methoden existieren in diesem Bereich nicht.

Verminderung: Die Zucht wird engmaschig überwacht, um möglichst wenig Tiere zu benötigen. Die Versuche sind statistisch so geplant, dass nur die kleinstmögliche Anzahl an Tieren beantragt wird, um noch auswertbare Ergebnisse ohne markanten Anstieg der Irrtumswahrscheinlichkeit zu erhalten.

Verfeinerung: Die geplanten Belastungen sind vorübergehend und gering. Mögliche Auswirkungen durch die genetische Manipulation werden durch engmaschige Kontrolle der Zucht beobachtet.

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

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

Die neuroprotektive Aktivität von Stammzellen aus der Nabelschnur und ihrer sezernierten Vesikel wird nach Querschnittsverletzung überprüft.

zu erwartender Nutzen: Ziel ist es die progressiven sekundären Schäden nach Querschnittsverletzung durch die Applikation der Stammzellen beziehungsweise Vesikel so gering wie möglich zu halten, um die motorischen und sensorischen Funktionen zu erhalten.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Nach Querschnittsverletzung auf thorakaler Höhe sind vorübergehend die Hirnpforten gelähmt und die Blasenfunktion unzureichend. Die manuelle Blasenentleerung und die Verabreichung von Schmerzmitteln sorgen für das Wohl der Tiere.

2. Art und Anzahl der Tiere

55 Ratten

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

Vermeidung: Die Pathophysiologie der Querschnittsverletzung involviert das Immunsystem und verschiedene Komponenten des motorischen und sensorischen Systems. Wirksamkeit von neuen Therapieeinsätzen muss in vivo validiert werden.

Verminderung: Das verwendete Querschnittsmodell ist standardisiert und weltweit anerkannt. Dies sichert eine hohe Vergleichbarkeit der Ergebnisse.

Verfeinerung: Die Verabreichung von Schmerzmittel und Antibiotika sowie die manuelle Blasenentleerung sorgen für das Wohl der Tiere. Eine tägliche engmaschige Kontrolle der Tiere stellt die beste Versorgung und schnelles Handeln bei Komplikationen sicher.

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

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

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

Ziel dieser Studie ist es, die Nicht-Unterlegenheit einer One-Shot Kombinationsimpfung aus PCV2/M. hyopneumoniae im Vergleich zu einer Two-Shot-M. hyopneumoniae-Vakzine und einer One-Shot-PCV2-Vakzine zu zeigen.

zu erwartender Nutzen: Bei Nachweis der Nicht-Unterlegenheit der Einmalimpfung ist es möglich, die Belastung von Ferkeln durch eine Verringerung der Impfhäufigkeit zu reduzieren, was sich positiv auf die Ferkelgesundheit auswirken kann.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Alle Schweine verbleiben in den Betrieben. Bei der Impfung handelt es sich um eine betriebliche Routinemaßnahme. Darüber hinaus werden den Tieren neben Blutproben auch Atemwegssekrete (Bronchoalveolärlavage) entnommen.

2. Art und Anzahl der Tiere

50 Schweine (Hausschwein; *Sus scrofa domestica*)

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

Vermeidung: Antikörper und Keimbelastung können nur im lebenden Organismus untersucht werden. Es ist unmöglich, die Wirksamkeit eines Impfstoffes in einer Tierpopulation mit in vitro Modellen zu untersuchen.

Verminderung: Die Anzahl an Blutproben zur Beurteilung der Viruslast und der Seroreaktion im Bestand wurde auf das Minimum reduziert, das erforderlich ist, um mit hoher Sicherheit Gruppenunterschiede in Bezug auf die M. hyopneumoniae-Antikörpertiter detektieren zu können.

Verfeinerung: Die Maßnahmen, die im Projekt durchgeführt werden, entsprechen den in der Praxis gängigen Methoden der Vakzination, der Blutentnahme sowie der Gewinnung von Atemwegssekreten zu Diagnostikzwecken. Um sicher zu stellen, dass die Belastung der Tiere auf ein Minimum reduziert wird, werden die Proben ausschließlich von entsprechend qualifizierten Personen entnommen.

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

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

Das Ziel des Projektes ist die Untersuchung der Auswirkung von mit Mykotoxinen behaftetem Futter auf die Gesundheit von Regenbogenforellen.

zu erwartende Nutzen: des Projekts ist der Erkenntnisgewinn hinsichtlich der Auswirkung einer niedrigen Dosis von Mykotoxinen auf den Gesundheitsstatus von Regenbogenforellen. Die zunehmende Verunreinigung von Fischfutter mit Mykotoxinen ist durch den Klimawandel bedingt, da durch die Zunahme der Durchschnittstemperaturen und der Niederschläge Mykotoxinbildende Pilze optimale Umweltbedingungen finden.

zu erwartende Schaden für die Tiere: resultiert aus der möglichen Auswirkung des Mykotoxins auf die Fische, die in Symptomen wie Lethargie, Hautläsionen, Ödeme sowie Veränderungen der Leberzellen bestehen können. Im Zuge des Projektes werden Blutproben von den Tieren entnommen.

2. Art und Anzahl der Tiere

200 Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*)

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

Vermeidung: Da die komplexe Interaktion zwischen dem Mykotoxin und dem Immunsystem der Regenbogenforellen untersucht werden soll, ist die Verwendung lebender Tiere unerlässlich. Eine in vitro-Simulierung ist nicht möglich.

Verminderung: Die Anzahl der Versuchsfische wird so gering gehalten, dass Ergebnisse noch aussagekräftig bleiben.

Verfeinerung: Um Stress zu vermeiden, werden die Fische im Durchflusssystem gehalten und jegliche Interaktionen auf ein Minimum reduziert. Um Leiden zu minimieren, werden die Fische genau überwacht. Sollten klinische Anzeichen für Schäden, eine Erkrankung oder beeinträchtigtes Wohlbefinden (z. B. Hämorrhagien, Lethargie, Hautläsionen, Ödeme) auftreten, werden die betroffenen Tiere unverzüglich fachgerecht euthanasiert.

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

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

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 Substitutions-therapien 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: Alle Untersuchungen werden in Vollnarkose durchgeführt. Die Tiere werden anschließend getötet.

2. Art und Anzahl der Tiere

150 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

Kleinsäuger haben einen bedeutenden Einfluss auf die verschiedenen trophischen Ebenen eines Waldökosystems. Die pflanzenfressenden Tiere können störend auf die Waldverjüngung einwirken, sind jedoch auch Teil der Nahrungspalette verschiedener Prädatoren.

zu erwartender Nutzen: Um das räumliche Explorationsverhalten sowie Überlebensraten und Populationsdynamik von Kleinsäugetieren zu erfassen müssen die Tiere individuell markiert werden. Die Wiederfangraten der markierten Tiere sind für die Berechnung der Kleinsäugerdichten essentiell. Der Fokus der Erhebungen liegt auf den verjüngungsdynamisch besonders relevanten Mäusen und Wühlmäusen. Naturschutzrelevante Arten wie Spitzmäuse oder Schläfer werden nicht individualmarkiert.

zu erwartender Schaden: Der Schweregrad der individuellen Markierung kann als gering eingestuft werden, da die Tiere für die Untersuchung betäubt werden und nur kurzzeitig Ängste und Schmerzen erleiden.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es wird erwartet, dass maximal 1523 Rötelmäuse (*Myodes glareolus*) und 752 Waldmäuse (*Apodemus* sp.) gefangen und individuell markiert werden.

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

Vermeidung: Eine Vermeidung des beantragten Tierversuchs ist nicht möglich, da die Fragestellung nur zu beantworten ist, wenn die Tiere individuell markiert werden.

Verminderung: Um Schmerzen und Ängste des einzelnen Tieres so gering wie möglich zu halten, werden die gefangenen Tiere für die Markierung betäubt.

Verfeinerung: Die gefangenen Tiere werden sofort nach der Untersuchung wieder frei gelassen. Der Einsatz neuester Fallentechnologien minimiert das Risiko andere Arten als die Tierarten zu fangen (z. B. Spitzmäuse).

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

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

Die Haltungsbedingungen von Geflügel beeinflussen wesentlich die Leistung und vor allem die Gesundheit der Tiere. Eine besonders wichtige Rolle spielt dabei die Fütterung, sowohl vorhandene Mykotoxinkontamination als auch die Futterformulierung können sich negativ auf das Wohlergehen von Broilern auswirken. Jüngste Untersuchungen zeigten, dass bereits mehr als 55% des weltweiten Futters und Mischfutters mit DON kontaminiert sind. Es gibt im Vergleich zum Schwein nur eine limitierte Anzahl an Studien, die sich mit dem Effekt von DON auf Geflügel beschäftigen. Diese Studien zeigten, dass Konzentration 1- 10 mg DON/kg noch keine klinischen Effekte hervorrufen konnten, aber bereits einen Einfluss auf die Darmmorphologie und Darmdurchgängigkeit hatte.

zu erwartender Nutzen: Das Ziel dieses Projektes ist es, den Einfluss einer kurzen Hitzestressperiode auf die Darmgesundheit, insbesondere auf die Darmbarriere, bei nicht optimalem Fütterungsmanagement (Futterformulierung, Mykotoxinkontamination) zu erforschen.

zu erwartender Schaden: An Tag 28 beziehungsweise Tag 29 (Versuchsende) wird von allen Tieren des Projektes nach Euthanasierung mit CO<sub>2</sub> Blut, Darmgewebe, Leber und Milz entnommen

2. Art und Anzahl der Tiere

96 Broiler (Ross 308)

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

Vermeidung: Die Durchführung dieses Projektes ist aufgrund der vorgesehenen Untersuchungen der Blut und Gewebeproben nicht in Form einer in vitro Studie möglich und es kann somit nicht auf eine Ersatz- beziehungsweise Ergänzungsstudie ausgewichen werden.

Verminderung: Es wird die geringstmögliche Anzahl an Tieren (8 je Gruppe) verwendet, um ein aussagekräftiges und statistisch auswertbares Ergebnis zu erhalten.

Verfeinerung: Es wird während des Projektes großer Wert darauf gelegt, dass Stress und Schmerzen der Broiler so gering als möglich gehalten werden. Alle Tiere werden in Käfigen mit jeweils 4 Broiler gehalten. Die Tiere haben ständigen

Zugang zu Futter und Wasser und werden täglich von geschultem Personal sorgfältig betreut und tierärztlich überwacht. Sollten die Tiere Anzeichen von Schmerz zeigen oder in irgendeiner Weise beeinträchtigt sein, werden sie vom Versuch ausgeschlossen und tierärztlich betreut.

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

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

Ziel: Das Ziel des vorliegenden Tierversuches ist es, definierte Kontrollseren gegen ausgewählte Erreger oder deren Bestandteile in Kaninchen zu generieren.

zu erwartender Nutzen: Die Seren sind kommerziell nicht erhältlich und für die Grundlagenforschung sowie die Entwicklung neuer Diagnostika unbedingt erforderlich.

zu erwartender Schaden: Die Immunisierung und Blutprobenentnahme kann zu einer mäßigen Belastung der Tiere führen. Der Versuch selbst lässt keine klinischen Symptome bei den Tieren erwarten.

2. Art und Anzahl der Tiere

12 Kaninchen

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

Vermeidung: Definierte und standardisierte Seren gegen bestimmte Antigene sind käuflich nicht zu erwerben und können daher nur generiert werden. Die Verwendung von lebenden Tieren ist in diesem Fall unerlässlich und kann nicht durch Alternativmethoden ersetzt werden.

Verminderung: Der Versuch wird mit jener Anzahl an Tieren durchgeführt, die unbedingt notwendig ist, um eine bestimmte Menge an Seren mit entsprechendem Antikörpertiter zu generieren, welche eine korrekte Spezifitätsprüfung der neu entwickelten serologischen Testsysteme erlaubt.

Verfeinerung: Das oberste Ziel ist es, Leiden der Tiere zu verhindern. Die Tiere werden ihrer Art entsprechend untergebracht und angemessen ernährt. Um den Gesundheitsstatus der Tiere zu überprüfen, werden sie regelmäßig von qualifiziertem Personal beobachtet und klinisch untersucht.

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 praktischen Übungen sollen Studierende unter Aufsicht von berufserfahrenen Personen praktische Tätigkeiten erlernen, die für den Berufsalltag erforderlich sind.

zu erwartender Nutzen: Ziel ist eine praxisorientierte und fundierte Ausbildung von Studierenden. Diese lernen Blutentnahme, Entnahme von bakteriologischen, virologischen und parasitologischen Proben sowie die pathoanatomische Beurteilung von Fischen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Blut- und Probenentnahmen erfolgen post mortem, sodass sie keine Belastung verursachen.

2. Art und Anzahl der Tiere

200 Karpfen

400 Regenbogenforellen

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

Vermeidung: Im Sinne einer bedarfs- und praxisorientierten Ausbildung ist das Arbeiten mit Tieren unerlässlich. Sektionen und Probenahmen sind unverzichtbare Voraussetzung für die Diagnostik in einem Tierbestand.

Verminderung: Es wird nur jene Anzahl an Tieren verwendet, die zur praxisorientierten Ausbildung der Studierenden unbedingt erforderlich ist.

Verfeinerung: Die Fische werden unter artgerechten Bedingungen gehalten und artgerecht gefüttert. Eine Kontrolle der Tiere erfolgt zweimal täglich. Bei Anzeichen von Erkrankungen werden sofort diagnostische und therapeutische Maßnahmen eingeleitet. Die Tötung erfolgt nach vorangehender Sedierung und Anästhesie.

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 Versuchsvorhabens ist es, die Anwendung des Cardiac Micro-Current-Systems (C-MIC System) zur Behandlung der chronischen Herzinsuffizienz (CHF, chronic heart failure) im Schafmodell medizintechnisch zu testen und Messungen durchzuführen, die für eine spätere erfolgreiche Anwendung des Systems am Menschen unerlässlich sind.

zu erwartender Nutzen: Ziel ist es zu evaluieren, wie die Elektroden zum optimalen Stromfluss ans/ins Herz an/eingebracht werden sollen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die operativen Eingriffe erfolgen in entsprechender, tiefer Narkose. Nach Durchführung der beschriebenen Untersuchungen werden die Tiere eingeschläfert.

2. Art und Anzahl der Tiere

**bis zu 12 Schafen (Erhöhung um 4 Schafe)**

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

Vermeidung: Zur Vermeidung von Tierversuchen wurde vorab mit Computer gestützten Modellen gearbeitet, weiterhin erfolgten in-vitro Vorversuche an Zellkulturen und mit Organen von geschlachteten Tieren.

Verminderung: Zur Verminderung von Tierversuchen wurden die Versuche so geplant, dass ein Optimum an Information aus jedem Versuch gewonnen werden kann.

Verfeinerung: Die Belastung der Versuchstiere während des operativen Eingriffes und während der durchzuführenden Untersuchungen entspricht den vergleichbaren Eingriffen am Menschen und erfolgt in entsprechender Narkose.

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

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

Das Ziel des Projektes besteht darin, die Auswirkung einer kalorienangereicherten Diät (High-Fat Diet) auf den Stoffwechsel und die Gesundheit von Wildtyp Mäusen und einer definierten Mausmutante, bei der ein bisher noch nicht gut beschriebenes metabolisches Enzym inaktiviert wurde, zu untersuchen.

Durch die Fütterung mit hochkalorischer Diät wird den Wildtyp Mäusen, und in einem bisher nicht bekannten Ausmaß auch den Mutanten-Mäusen, eine Stoffwechselbelastung zugefügt, allerdings wird der daraus entstehende Schaden für das Wohlbefinden der Tiere als gering eingeschätzt.

Der Nutzen des Experimentes besteht darin, dass bereits vorliegende Daten über die Funktion des metabolischen Enzyms, teils in Zellen und teils bereits in Tieren gewonnen, durch Anwendung des milden metabolischen Stresses, welcher durch Überfütterung zustande kommt, genauer bestimmt werden können und damit wahrscheinlich neue regulatorische Funktionen des Gens aufgedeckt werden können. Diese sind aufgrund der Art der Mutation und der vorgesehenen Behandlung geeignet die Rolle des Enzyms im humanen Stoffwechsel und damit allfällige medizinische Vorteile zu erzielen.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Experimente ist vorgesehen, **insgesamt 240 Mäuse** zu verwenden.

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

Durch entsprechende Maßnahmen wird sichergestellt, dass die Zahl der Versuchstiere minimal gehalten wird, indem alle notwendigen Schritte zur Vermeidung und Verminderung sowie Verfeinerung der geplanten Tierexperimente berücksichtigt werden.

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

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

Ziel der vorliegenden Studie ist es, die Pharmakokinetik (PK) einer rekombinanten humanen Diaminoxidase (DAO) und einiger Varianten zu bestimmen. Diese soll(en) als Therapeutikum für seltene Erkrankungen ("Orphan-diseases") des Menschen eingesetzt werden.

Die PK Parameter der Wildtyp DAO und von 3 DAO Varianten werden in drei Tierarten, Kaninchen, Ratten und Mäusen, nach intravenöser (iv) und subkutaner (sc) Verabreichung gemessen. Da Nebenwirkungen nach Applikation der Prüfsubstanzen bei allen genannten Tierarten nicht zu erwarten sind, ist der zu erwartende Schaden maximal mittel.

Die Untersuchung der Pharmakokinetik von DAO bei Tieren, zur Identifizierung einer geeigneten Variante mit bestmöglicher Halbwertszeit, ist notwendig für die präklinische Entwicklung der DAO, welche als Therapeutikum bei Waisenerkrankung eingesetzt werden soll.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden **weitere 36 Ratten** für dieses Projekt beantragt. Für dieses Projekt werden somit **insgesamt** 36 Kaninchen, **72 Ratten** und 120 Mäuse benötigt.

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

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



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

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

Das Projektziel des vorliegenden Tierversuchs ist die Erforschung, Entwicklung und Evaluierung von neuartigen Impfstoffkandidaten zur Behandlung von (nosokomialen) Infektionskrankheiten, in Patienten unterschiedlichen Alters, da weltweit auftretende, oft multi-resistente „Superkeime“ diesbezüglich ein schwerwiegendes Problem darstellen. Der Vergleich der humanen Krankheitsverläufe in jungen und älteren Patienten erlaubt den Schluss, dass gerade in älteren Menschen (zum Teil aufgrund deren immunkompromittierten Status) diese Infektionen in großem Ausmaß letal enden. Dies als auch die limitierten Behandlungsmöglichkeiten, bedeuten eine signifikante Belastung für das bestehende Gesundheitssystem.

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

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

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

In der beantragten Studienzeit von **insgesamt 3 Jahren werden maximal 2.920 Mäuse** eingesetzt. Alle Versuche werden in unterschiedlichen Stämmen, weiblicher oder männlicher wild-typ Mäuse, aus akkreditierten Zuchteinrichtungen

gen durchgeführt, deren Alter bei Versuchsbeginn mindestens dem 3., maximal dem 24. Lebensmonat entspricht.

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

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

Eine rückblickende Bewertung ist **nach Abschluss des Projektes (2017)** vorgesehen.

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

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

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

zu erwartender Schaden: Um die neuen Behandlungen bei Mäusen zu ermöglichen, werden Injektionen in den Bauch oder unter der Haut gegeben. Die Wirksamkeit der Therapie wird durch wiederholte Blutabnahmen überprüft.

2. Art und Anzahl der Tiere

Im aktuellen Projekt ist die **Erhöhung der Anzahl der Tiere um zusätzlich 75 Mäuse auf 135 Mäuse** über einen **Zeitraum von fünf Jahren** geplant.

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

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

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

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

Die moderne biomedizinische Forschung erfordert Versuchstiere mit gezielt induzierten, genetischen Veränderungen, da diese den Zwischenschritt zur Forschung am Menschen darstellen. Es besteht prinzipiell die Möglichkeit, dass bestimmte genetische Veränderungen selbst eine Beeinträchtigung von Gesundheit und Wohlbefinden des Versuchstieres darstellen können. Ziele des vorliegenden Projekts sind einerseits die Erhaltung der genetisch veränderten Mausstämme und andererseits die nicht-invasive Erfassung, Dokumentation und Bewertung möglicher Beeinträchtigungen.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

#### **2760 Mäuse (Erhöhung um 480 Mäuse)**

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

**Vermeidung:** Der hier vorliegende Antrag dient der Erhaltung von Mausstämmen beziehungsweise -linien für Projekte und zur Evaluierung der Belastungen der Tiere und kann folglich nicht durch eine Ersatzmethode ersetzt werden.

**Verminderung:** Wir versuchen die Anzahl der Mäuse durch folgendes Vorgehen so weit wie möglich zu reduzieren:

- die zur Erfassung der Beeinträchtigungen geforderte Anzahl an beobachteten Tieren kann durch eine minimale Erhaltungszucht erfüllt werden; es werden somit keine zusätzlichen Tiere gezüchtet.
- die möglichst genaue Planung von zukünftigen Projekten soll dahin führen nur wirklich benötigte Mausstämme zu züchten und zu erhalten; nicht benötigte Stämme können entsprechend kryokonserviert werden
- Die Zucht und Haltung der Tiere wird so geplant, dass in einem Versuchsablauf möglichst alle Parameter untersucht werden können.

**Verfeinerung:** In den geplanten Beobachtungen soll durch verstärkte Versorgung und Kontrolle der Tiere ein bestmögliches Wohlergehen gewährleistet werden.

Für die Erhebung der, durch die genetischen Veränderungen verursachten, Belastungen müssen keine zusätzlichen Tiere gezüchtet und gehalten werden.

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

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

Das Ziel dieses Projekts ist zu untersuchen, welche Rolle die Immunzellen der Haut bei der Auslösung eines Basalzellkarzinoms einnehmen. Das Basalzellkarzinom ist die meistvorkommende Tumorart der Haut mit steigender Inzidenz. Unbehandelt überwächst dieser Tumor benachbartes Gewebe bis hin zu fatalen Organschädigungen. Experimentelle Therapien lassen darauf schließen, dass die Immunzellen einen wichtigen Anteil bei der Genese dieser Tumorart ausmachen. Folglich wollen wir diese entscheidenden Zelltypen identifizieren und untersuchen ob diese für eine Immuntherapie gegen den Tumor nutzbar gemacht werden können. Mit dem erzielten Wissen wollen wir die Immunzellen der Haut gezielt dazu verwenden, um ein Entstehen beziehungsweise ein Wachstum eines Basalzellkarzinoms zu verhindern. Wir werden diesen Therapieansatz soweit verbessern, dass ein Einsatz an Krebspatienten vorstellbar wäre.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

96 Mäuse über **4 Jahre**

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

**Vermeidung:** Die immunologischen Funktionen, die im vorliegenden Antrag untersucht werden sollen, können nicht an isolierten Zellen oder Organen untersucht werden. Die untersuchten Funktionen hängen direkt von den Interaktionen von verschiedenen Zelltypen und Organen ab und können nicht mit in vitro Versuchen erfasst werden.

**Verminderung:** Wir werden die Anzahl der Mäuse durch folgendes Vorgehen auf ein Minimum reduzieren:

- Die Experimente sind so geplant, dass in einem Versuchsablauf mehrere Parameter untersucht werden können.
- Die möglichst genaue Definition der Versuchsabläufe reduziert die Zahl der Tiere um eine statistische Signifikanz zu erreichen. Die Definition der Versuchsabläufe konnte größtenteils durch in vitro Versuche erreicht werden

- Die Zucht der benötigten Tiere wird so angelegt, dass so wenig Tiere wie möglich geboren werden die man nicht für die Versuche benötigen würde.
- Verfeinerung: In den geplanten Versuchsabläufen soll durch verstärkte Versorgung und Kontrolle der Tiere ein bestmögliches Wohlergehen gewährleistet 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

Bcl-6 ist ein Protein, das die Funktion (Expression) anderer Gene steuert, die beispielsweise für die Zellteilung notwendig sind. Es wurde ursprünglich in Non-Hodgkin-Lymphomen charakterisiert, die häufig Erbgutveränderungen bei Bcl-6 aufweisen. In vorangegangenen Studien konnten wir feststellen, dass Bcl-6 auch in Gefäßzellen, den Endothelzellen, vorkommt und dort eine wichtige Rolle in der Neubildung von Gefäßen spielt. Um die Funktion von Bcl-6 in einem natürlichen Umfeld zu studieren, soll Bcl-6 durch die Gabe einer Substanz blockiert und die Auswirkung auf die Neubildung von Blutgefäßen studiert werden. Die hier eingesetzte Substanz wurde für die Therapie von Non-Hodgkin-Lymphomen entwickelt. Es wäre von Bedeutung, die Auswirkungen der Bcl-6-Blockade auf das Blutgefäßsystem zu studieren und mögliche Nebenwirkungen oder andere klinische Anwendungsbereiche aufzuzeigen.

zu erwartender Nutzen: Aufklärung der Auswirkungen einer Bcl-6-Blockade bei Non-Hodgkin-Lymphomen auf die Neubildung von Blutgefäßen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: 48 Stunden nach nicht belastender Injektion eines Bcl-6-Blockers werden die Tiere schmerzfrei eingeschläfert und Untersuchungen an Organen vorgenommen.

2. Art und Anzahl der Tiere

39 Mäuse sowie **weitere 18 Mäuse**.

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

Vermeidung: Die Ergebnisse vorangegangener Laborstudien ergaben die Notwendigkeit, die Bcl-6 Funktion mittels Tiermodell zu beweisen, da die physiologische Funktion nur in einem Gesamtorganismus überprüft werden kann.

Verminderung: Die Gruppengrößen wurden so gewählt, dass möglichst wenige Tiere eingesetzt werden müssen, um noch eine aussagekräftige statistische Auswertung zu ermöglichen.

Verfeinerung: Außerdem wurde die Anzahl der benötigten Tiere weiter reduziert, indem die eingesetzten Konzentrationen der Substanzen aus bereits veröffentlichten Studien abgeleitet wurden und keine zusätzliche Dosis ausgetestet werden muss.



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

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

Die Fokal segmentale Glomerulosklerose (FSGS) bezeichnet eine Gruppe von chronischen Erkrankungen der Niere, die unbehandelt in der Mehrzahl der Fälle zu komplettem Nierenversagen führt. Sox9 ist einer der am stärksten erhöhten Transkriptionsfaktoren in Patienten mit FSGS und in vitro wurde bereits gezeigt, dass die Überexpression des Transkriptionsfaktors Sox9 die kleine, regulatorische RNA miR-193a hochreguliert. Dementsprechend möchten wir in vivo die Hypothese überprüfen, ob eine Überexpression von Sox9 und daraus resultierende Hochregulation miR193a in der Niere zu einem FSGS-Phänotyp führt.

Das weitere Ziel ist, die durch Sox9-Überexpression in spezifischen Nierenzellen (Podozyten) via miR-193a Hochregulation ausgelöste FSGS-Symptomatik durch selektives Blockieren von miR-193a mittels tiny LNAs (locked nucleic acids) signifikant zu reduzieren, sowie den zugrunde liegenden Signaltransduktionsweg aufzuklären. Die Überprüfung einer FSGS in vivo erfolgt über die Albumin-Creatinin-Ratio. Dadurch kann Volumen unabhängig die Menge des Albumins im Harn und damit die Proteinurie als Leitsymptom der FSGS überprüft. Zusätzlich soll in einer weiteren Kreuzung überprüft werden ob, die Überexpression von beta-Catenin die Hochregulation von Sox9 anregen kann.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Insgesamt müssen **290 Mäuse** gezüchtet werden, um entsprechend des erforderlichen Genotyps 132 Mäuse für experimentelle Untersuchungen einsetzen zu können.

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

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

Zur weiteren Minimierung werden die Versuche unter standardisierten und reproduzierbaren Bedingungen durchgeführt.

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

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

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

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Für die Fragestellung sollen daher insgesamt 72 transgene Mäuse und 72 Wildtyp Mäuse verwendet werden. Für **zusätzlich 600 Mäuse wird eine Schwanzspitzenbiopsie zur Genotypisierung** beantragt.

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

Die Pathogenese der Osteoarthritis (OA) ist ein sehr komplexes Geschehen und lässt sich unter in vitro Bedingungen nicht darstellen. Der hier angewandte Versuchsaufbau gehört zu den fachlich anerkannten Methoden in der Erforschung der Osteoarthritis. Durch standardisierte Haltungs- und Versuchsbedingungen

sowie durch eine genaue Fallzahlbestimmung wird die Anzahl der benötigten Tiere so klein wie möglich gehalten. Auf entsprechende Anästhesie- und Analgesieverfahren wird strikt geachtet. Bei Anzeichen großer Leiden oder einer übermäßigen Belastung einzelner Tiere, werden diese vor Ablauf der Beobachtungszeit getötet.

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

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

Lungenfibrose ist eine seltene Krankheit, jedoch gibt es aktuell keine wirksame und nebenwirkungsfreie Behandlungsstrategie. Bei der Lungenfibrose versteift die Lunge und es wird mehr Kraft benötigt, um die Lungenflügel ausreichend zu belüften, damit ein Gasaustausch stattfinden kann. Dadurch nimmt der Sauerstoffanteil im Blut ab und das Atmen fällt den Patienten schwer. Das Projektziel ist es, die Mechanismen, die zu dieser Krankheit führen, zu verstehen und diese neuen Erkenntnisse zur Entwicklung neuer Therapiemöglichkeiten für Patienten zu nutzen.

zu erwartender Nutzen: Diese Ergebnisse können auf die Krankheit beim Menschen übertragen werden und dienen der Entwicklung neuer Therapiemöglichkeiten für Lungenfibrose.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere entwickeln die Symptome die der menschlichen Erkrankung ähnlich sind wie häufig andauernde Müdigkeit, geringe körperliche Belastbarkeit, sowie ein Anstieg der Atemfrequenz. Die Tiere erfahren möglicherweise mittelfristige leichte Schmerzen durch die Veränderungen in der Lunge.

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

**Mäuse, insgesamt: 1428 (Erhöhung um 327 Mäuse)**

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

Vermeidung: Zahlreiche in vitro Vorversuche zeigten eine mögliche relevante Rolle spezifischer, durch Wachstumsfaktoren-induzierter Moleküle bei kardiovaskulären Erkrankungen und lassen eine Rolle dieser Gene in Lungenfibrose vermuten. Komplexe pathophysiologische Zusammenhänge, die der Lungenfibrose zugrunde liegen, können nur im lebenden Organismus untersucht werden. Deshalb können wir zur Entwicklung neuer Therapeutika den Einsatz von Tiermodellen nicht vollständig verhindern.

Verminderung: Um Tierzahlen auf ein Minimum zu reduzieren, wurden Kontrollgruppen verkleinert und die Anzahl von an einem Tier durchgeführten Messungen

erhöht. Zusätzliche Reduzierung der Tieranzahl wird durch eine optimierte Zuchtstrategie erreicht.

Verfeinerung: Die absolute Anzahl der Tiere wurde minimiert, indem mehrere unterschiedliche Messwerte (Parameter) pro Tier gemessen werden. Dies dient der Verfeinerung der Versuche und der Reduktion der Zahl der Tiere. Alle Tiere werden unter optimalen, kontrollierten und schmerzfreien Bedingungen gehalten. Die Tiere werden von ausgebildeten Tierpflegern versorgt und in regelmäßigen Abständen tierärztlich überprüft. Um das Wohlbefinden der Tiere zu gewährleisten, werden ihnen Nestmaterial und Tunnels zur Verfügung gestellt.

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

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

Chronische Niereninsuffizienz (CKD = chronic kidney disease) trägt bekanntermaßen zur Entstehung von Herz-Kreislaufkrankungen bei und führt auf diese Weise zum frühzeitigen Tod vieler Nierenpatienten. Bei den typischen Auswirkungen einer Niereninsuffizienz auf das Herz handelt es sich meist um eine Linksherzhypertrophie, die letztendlich zum Tod durch Herzversagen führen kann. Die Faktoren, die bei der Entstehung dieser schweren Komplikation der chronischen Niereninsuffizienz eine Rolle spielen, sind leider noch weitgehend unklar. Da eine geglückte Nierentransplantation in der Regel zu einer Rückbildung der Veränderungen am Herzmuskel führt, sind es sehr wahrscheinlich bestimmte mit chronischer Niereninsuffizienz-assoziierte Faktoren in der Niere selbst, die zur Entstehung der Linksherzhypertrophie beitragen.

In diesem Zusammenhang ist in letzter Zeit auch der Faktor Fgf23 (fibroblast growth factor 23) in den Fokus des Interesses gerückt. Dieser Faktor bildet gemeinsam mit seinem Rezeptor und seinem Korezeptor klotho ein System, das bei der Regulation des Phosphathaushalts und der Vitamin-D-Synthese in der Niere eine zentrale Rolle spielt. Neuen Studien zufolge gibt es bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz möglicherweise einen Zusammenhang zwischen kompensatorisch erhöhtem Fgf23-Spiegel und einem erhöhten Risiko für Herz-Kreislaufkrankungen, was darauf hindeutet, dass Fgf23 eine bislang unbekannte, eigenständige Bedeutung für Blutdruck und Herzfunktion haben könnte. Wir haben in unserem Labor verschiedene Tiermodelle etabliert, die es uns erlauben, die Funktionen von Fgf23 an klinisch gesunden Tieren beziehungsweise die Folgen eines erhöhten Fgf23-Spiegels für verschiedene Organfunktionen in vivo zu untersuchen.

zu erwartender Schaden: Im Zuge der geplanten Studie muss auch bei einer Reihe von Tieren eine chronische Niereninsuffizienz induziert werden.

zu erwartender Nutzen: Demgegenüber steht der Gewinn von Informationen, die dazu beitragen können, die Entstehung schwerer kardiovaskulärer Nebenwirkungen bei Nierenpatienten besser zu verstehen und dadurch Möglichkeiten für Prävention oder Therapie entwickeln zu können.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

626 Mäuse

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

Aus der Beschreibung ergibt sich, dass der Versuch nur im lebenden Tier durchgeführt werden kann (In-vitro-Studien zu der Fragestellung wurden bereits durchgeführt). Die Studie wird durch beziehungsweise unter der Anleitung von Personen durchgeführt, die mit den Tiermodellen und den geplanten Techniken (inklusive Monitoring und Schmerzmanagement der Tiere) große Erfahrung haben, sodass der Ablauf des Versuchs und die Belastung für die Tiere gut einschätzbar und minimierbar sind. Die Gruppengrößen entsprechenden bei diesen Ansätzen in der Literatur üblichen und von uns in ähnlichen Experimenten verwendeten. Die Tierzahl ergibt sich in dieser Studie aus der Notwendigkeit, Methoden neu zu etablieren und hierbei auf vorherige Ergebnisse aufbauen zu müssen, sowie bei den Einzelexperimenten die in der Literatur übliche Zahl von 10 Tieren pro Gruppe einzuhalten. Das ist erforderlich, um die Fragestellung innerhalb eines Projektes vollständig abzudecken, sodass zusätzliche Versuche möglichst vermieden werden können.

Eine rückblickende Bewertung ist **bis spätestens 30. November 2018** vorgehen.



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

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

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

zu erwartender Nutzen: geplante Versuche sollen weitere Kenntnisse über die Entstehung und Entwicklung des Herzversagens liefern. Unser Versuchsprotokoll erlaubt uns die molekularen Mechanismen mit physiologischen Veränderungen zu verbinden. Im besten Fall werden unsere Ergebnisse zur Entwicklung neuen Therapieoptionen zur Behandlung des Herzversagens führen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Mäuse werden in einen Zustand versetzt, der die menschliche Krankheit simuliert. Dies ist mit gewissem Maße an Unannehmlichkeiten verbunden. Die Mäuse werden unter ständiger Beobachtung vom fachkundigen Personal bleiben, der geschult ist das Leiden der Mäuse zu erkennen. Beim Auftreten des Leidens der Tiere, werden die Versuche terminiert und die Mäuse euthanasiert.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

**643 Mäuse (216 bereits genehmigt).**

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

Vermeidung: Pathophysiologische Veränderungen im Laufe des Herzversagens beinhalten die Änderungen in Herzfunktion und Aktivierung der gegen regulierende Mechanismen, was mehrere Organe betrifft. Diese komplexen Interaktionen zwischen mehreren Organsystemen machen Tierversuche für unsere Untersuchungen unerlässlich.

Verminderung: Um die Anzahl der Tiere zu verringern, verwenden wir ein Versuchsprotokoll, in dem die Anzahl der Kontrollgruppentiere reduziert. Bei der Erstellung des Versuchsplanes wurde darauf geachtet, dass die Versuche mit der geringstmöglichen Belastung und kleinstmöglichen (aber statistisch notwendi-

gen) Anzahl an Versuchstieren durchgeführt werden. Darüber hinaus ist die Anzahl der Tiere pro Gruppe durch die Erhöhung der Anzahl der verschiedenen Parameter, die von einem einzelnen Tier gemessen werden, gesenkt.

Verfeinerung: Alle Tiere werden unter optimalen, kontrollierten und schmerzfreien Bedingungen gehalten. Die Tiere werden von ausgebildeten Tierpflegern versorgt und in regelmäßigen Abständen tierärztlich überprüft. Um das Wohlbefinden der Tiere zu gewährleisten, werden ihnen Nestmaterial und Tunnel zur Verfügung gestellt.

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

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

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

### 2. Art und Anzahl der Tiere

#### **Maximal 40 Mäuse (Erhöhung um 16 Mäuse)**

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

Das beantragte Tierexperiment baut auf umfangreichen Zellkulturexperimenten auf, mit denen die Möglichkeiten der in vitro Analyse ausgeschöpft wurden. Allerdings können in der Zellkultur nicht sämtliche Effekte einer Behandlung simu-

liert werden, die im Organismus eines Tieres auftreten, sodass dieses Tierexperiment zur in vivo Verifizierung dieses Therapieansatzes und einem signifikanten Informationsgewinn unerlässlich ist. Mit diesen Experimenten soll eine klare Aussage über die Aktivität der untersuchten Wirkstoffe für die Therapie von Neuroblastomtumoren getroffen werden, um damit die Therapieoptionen der erkrankten Kinder deutlich zu verbessern.

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

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

Histomonose ist eine parasitäre Erkrankung des Geflügels, ausgelöst durch den Einzeller *Histomonas meleagridis*. Seit dem 2003 in Kraft getretenen Verbot aller gegen Histomonose wirksamer Therapeutika und Prophylaktika kommt es in der Geflügelhaltung vermehrt zu Ausbrüchen mit hohen Morbiditäts- und Mortalitätsraten. Daher ist die Entwicklung eines Impfstoffes gegen Histomonose dringend notwendig. In vorhergehenden Tierversuchen konnte bereits demonstriert werden, dass die Impfung mit attenuierten Histomonaden gegen eine Infektion (Challenge) mit pathogenen Parasiten schützen kann. Allerdings ist noch wenig bekannt über den Erfolg einer adäquaten Infektionsweges.

zu erwartender Nutzen: Aufgrund des akuten Therapienotstandes führt der oft schwere Krankheitsverlauf im Fall eines Ausbruchs der Parasitose zu tierschutzrelevanten Problemen. Durch die Entwicklung eines unter Praxisbedingungen geeigneten Impfstoffes können schwere Schmerzen und Leiden bei den Tieren verhindert werden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: In den geplanten Versuchen kommen keine virulenten Stämme des Parasiten zum Einsatz; die Applikation des Vakzinstammes ruft bei den Tieren keine klinischen Symptome hervor.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für dieses Projekt ist die Verwendung von 100 Hühnern und **200 Puten** geplant.

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

Vermeidung: Die Entwicklung eines Impfstoffes gegen Histomonose kann nicht durch Alternativmethoden ersetzt werden, da die Wirkung am lebenden Organismus beobachtet werden muss. Allerdings wird für alle Aspekte der Impfstoffentwicklung, die mit Hilfe von in vitro-Systemen untersucht werden können, auf solche Methoden zurückgegriffen.

Verminderung: Die unerlässlichen in vivo-Versuche sind so geplant, dass nur jene Anzahl von Tieren verwendet wird, die für die statistische Berechenbarkeit der Ergebnisse unbedingt erforderlich ist.

Verfeinerung: Das oberste Ziel ist es, Leiden der Tiere zu verhindern. Das Alter der Tiere zum Zeitpunkt der Infektion ist so gewählt, dass keine beziehungsweise höchstens milde klinische Symptome bei den Tieren auftreten. Die Tiere werden ihrer Art entsprechend untergebracht und angemessen ernährt. Um den Gesundheitsstatus der Tiere zu überprüfen, werden sie regelmäßig von qualifiziertem Personal beobachtet und klinisch untersucht.

Eine rückblickende Bewertung ist **bis spätestens 30. November 2017** vorgesehen.

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

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

Die Gene zwischen Mensch und Maus sind meist sehr konserviert beziehungsweise "homolog" und haben die gleichen oder ähnlichen Funktionen in Mensch und Tier. Die Herstellung und Untersuchung transgener Mausmodelle (Mäuse mit Genmutationen) liefert einen wichtigen Beitrag zur Erforschung der molekularen und biochemischen Veränderungen, die ursächlich zur Entstehung vieler humaner Erkrankungen beitragen. Durch die Herstellung von Mäusen mit Verlust oder Überexpression von Genen ist es in der Vergangenheit gelungen Gene zu entschlüsseln, die eine wichtige Rolle im Fettstoffwechsel der Maus spielen. Unter anderem konnte gezeigt werden, dass der Verlust eines Fett-spaltenden Proteins bei Mäusen zu einer schweren und tödlichen Herzverfettung führt. Basierend auf diesen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass Mutationen in diesem Gen beim Menschen ebenfalls zu schweren metabolischen Erkrankungen führen, einschließlich einer tödlichen Herzdysfunktion (welche mitunter eine Herztransplantation der Patienten im Alter von 30 Jahren erfordert), schwerer Lebersteatose, Verlust einer intakten Hautbarriere und der durch Tumorerkrankungen verursachten Kachexie ("Auszehrung", rapider Verlust von Fett- und Muskelmasse). Gleichzeitig lieferte die Charakterisierung dieser Mäuse eine mögliche therapeutische Intervention. Tatsächlich konnte die Verabreichung eines sogenannten Agonisten, der den Fettstoffwechsel induziert, den Gesundheitszustand von Patienten verbessern. Der vorliegende Antrag umfasst die weiterführende Charakterisierung dieser wertvollen Mausmodelle im Energiestoffwechsel hinsichtlich der Entstehung von metabolischen Erkrankungen. Zudem sollen neue Mausmodelle mit Gewebs-spezifischem Verlust von Fettabbauenden Enzymen (Lipasen) oder deren Ko-faktoren (Proteine die die Aktivität der Lipasen zusätzlich stimulieren oder inhibieren) untersucht werden. Diese dadurch gewonnenen Erkenntnisse können die Basis für therapeutische Ansätze in der Behandlung metabolischer Erkrankungen wie der Adipositas, Diabetes, Lebersteatose und Herz- und Kreislaufkrankungen im Menschen liefern.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Die Tierzahlen des Antrags werden **um 2260 Mäuse auf insgesamt 9345 Mäuse** erhöht.

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

Die Anzahl der verwendeten Tiere ist abhängig vom zu erwartenden oder vorausgesagten Effekt, d. h. sind die zu erwartenden Veränderungen zwischen Mausmodell und Kontrollmaus eindeutig, werden sich die Experimente auf ein statistisches Minimum beschränken. Zusätzlich wird ständig an der Verbesserung der Versuchsabläufe gearbeitet. So setzen wir, soweit als möglich, nicht-invasive Methoden ein, um Leid und Stress der Tiere so gering als möglich zu halten.



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

Osteoporose ist ein großes Gesundheitsproblem der alternden Bevölkerung. Die Knochenmasse vermindert sich, da die Homöostase zwischen resorbierenden und Knochen-bildenden Zellen verloren geht. Frauen sowie Männer sind von Osteoporose betroffen. Hormonelle Veränderungen, entzündliche Erkrankungen sowie auch genetische Faktoren führen zu einem Verlust der Knochenhomöostase und zu einem gesteigerten Abbau des Knochens. Das lässt den Knochen an Festigkeit verlieren und führt oftmals zu schmerzhaften Frakturen des Oberschenkelhalses und der Wirbelkörper. Therapien zur Behandlung der Osteoporose führen bislang nur zu einer Reduktion der Frakturen, jedoch zu keiner Heilung der Erkrankung. Micro RNAs sind kurze (22 Nukleotide lange) nicht kodierende RNAs die eine wichtige Funktion in der Regulation der Genexpression haben. Micro RNAs sind in der Regulation Knochenbildender und Knochenabbauender Zellen involviert. Die miR146a ist ein Vertreter dieser nicht kodierenden RNAs und spielt eine wichtige regulatorische Rolle in der Expression von verschiedenen entzündungsfördernden Zytokinen (Botenstoffe des Immunsystems) die zur Erkrankung an Osteoporose beitragen. Die Ursache der veränderten Knochenhomöostase, insbesondere die Rolle an genetischen Faktoren die zur Osteoporose führen ist noch nicht vollständig geklärt, ihr Verständnis ist aber wichtig, um weitere therapeutische Ansatzpunkte für diese Krankheit zu finden.

2. Art und Anzahl der Tiere

Um substantielle Aussagen treffen zu können werden insgesamt 612 Mäuse benötigt. **Für 600 Mäuse wird eine Schwanzspitzenbiopsie zur Genotypisierung beantragt.**

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

Der Tierversuch dient zur Erforschung der Ursache der menschlichen Krankheit der Osteoporose, mit dem späteren Ziel, neue Behandlungsmethoden zu entwickeln. Andere Methoden (Gewebeschnitte von Osteoporose-Patienten oder Zell-

kulturen) können das vielschichtige Zusammenspiel von Zytokinen und die komplexe Wirkungsweise der miR-146a und ihrer regulatorischen Rolle in verschiedenen Prozessen der Zellregulation nicht abbilden. Die Fragestellung ist nur an einem intakten Organismus zu untersuchen. Eine Alternative zum Tierversuch besteht deshalb nicht. Der hier angewandte Versuchsaufbau gehört zu den fachlich anerkannten Methoden in der Erforschung. Durch standardisierte Haltungs- und Versuchsbedingungen sowie durch eine genaue Fallzahlbestimmung wird die Anzahl der benötigten Tiere so klein wie möglich gehalten. Auf entsprechende Anästhesie- und Analgesie-Verfahren wird strikt geachtet.

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

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

Jedes Jahr erleiden in Österreich nahezu ein Prozent aller Neugeborenen eine Hirnschädigung unterschiedlichen Schweregrads. Durch Fortschritte in der intensivmedizinischen Versorgung konnten die Überlebensraten der betroffenen Kinder in den letzten Jahrzehnten erheblich verbessert werden, das Risiko für Folgeschäden mit zum Teil lebenslangen Behinderungen ist jedoch nach wie vor hoch. Bislang existiert keine wirksame medikamentöse Behandlung, um diese Folgeschäden zu verhindern. Unsere Arbeitsgruppe beschäftigt sich mit der Entwicklung von Therapiestrategien zur Verhinderung beziehungsweise Verminderung der Hirnschädigung bei Neu- und Frühgeborenen, wobei besonderes Augenmerk auf eine rasche Anwendbarkeit in der Klinik gelegt wird. Bevor jedoch Studien an Neugeborenen durchgeführt werden können, ist eine eingehende Untersuchung von vielversprechenden Substanzen unerlässlich. Im vorliegenden Projekt soll untersucht werden, ob sich

- die Bildung eines speziellen körpereigenen Stoffes im sich entwickelnden Gehirn durch Sauerstoffmangel und Minderdurchblutung verändert und
- ob durch die zusätzliche Gabe dieses Stoffes das Ausmaß der Schädigung im unreifen Gehirn verringert werden kann.

zu erwartender Nutzen: Das vorliegende Projekt bringt einen Erkenntnisgewinn und stellt einen wesentlichen Schritt in Richtung der Entwicklung von wirksamen Therapiemöglichkeiten zur Verringerung von Hirnschädigungen bei Neugeborenen dar.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Es erfolgt ein operativer Eingriff unter Narkose mit zusätzlicher lokaler Betäubung.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Die maximal erforderliche Zahl beläuft sich auf 315 Mäuse in einem **Zeitraum von 2,5 Jahren.**

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

**Vermeidung:** Die im Rahmen des Projektes zum Einsatz kommende Substanz wurde in unserem Labor im Vorfeld bereits eingehend in der Zellkultur untersucht. Hierbei erbrachte sie äußerst vielversprechende Ergebnisse. Der Beweis eines günstigen Effektes nach Sauerstoffmangel und Minderdurchblutung am lebendigen Objekt ist jedoch noch ausständig und vor einem Einsatz in der Klinik unerlässlich.

**Verminderung:** Um die Anzahl so gering wie möglich zu halten, erfolgt ein schrittweises Vorgehen. Weiterführende Untersuchungen werden nur durchgeführt, wenn die Voruntersuchungen vielversprechende Ergebnisse erbringen.

**Verfeinerung:** Während der gesamten Projektdauer werden umfassende Maßnahmen ergriffen, um die Belastung für die Versuchstiere so gering wie möglich zu halten. Die Tiere werden unter artgerechten Bedingungen gemeinsam mit dem Muttertier gehalten. Es erfolgen regelmäßige Kontrollen durch eigens ausgebildete Tierpfleger. Die Dauer der Eingriffe wird so kurz wie möglich gehalten. Während sämtlicher Eingriffe erfolgt ein entsprechendes Wärmemanagement; alle Eingriffe werden nur nach vorhergehender lokaler Betäubung unter Narkose durchgeführt.

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

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

Unsere Forschungsgruppe befasst sich mit der Entstehung und Behandlung chronisch entzündlicher Gallenwegserkrankungen wie der primär sclerosierenden Cholangitis (PSC) für die es bisher noch keine effektive Therapie (außer Lebertransplantation) gibt. Ein charakteristisches Merkmal von Gallenwegserkrankungen wie der PSC ist die Anhäufung von Gallensäuren in der Leber und im Körper, welche Leberzellen zerstören und schwerwiegende Symptome wie den Juckreiz verursachen. Kürzlich wurde ein G-protein gekoppelter Rezeptor (GPCR) welcher durch Gallensäuren aktiviert wird und bei PatientInnen mit primär sclerosierenden Cholangitis Störungen aufweist. Da dieser GPCR auch eine wichtige hemmende Wirkung auf Entzündung und Bindegewebsbildung und der Leber hat, haben wir uns zum Ziel gesetzt seine Rolle in der Entwicklung von Gallengangsentzündungen im Mausmodell zu untersuchen.

zu erwartender Schaden: Zu diesem Zweck werden Mäuse in denen der Rezeptor entweder fehlt oder verstärkt vorhanden ist der Verlauf von entzündlichen Gallengangsschädigungen untersucht.

zu erwartender Nutzen: Dadurch soll gezeigt werden dass dieser Rezeptor der Entzündung und Bindegewebsbildung bei chronisch entzündlichen Gallenwegserkrankungen vorbeugt. Da seit kurzem auch Medikamente verfügbar sind, welche diesen Rezeptor stimulieren, entstehen durch diese Untersuchungen auch neue Perspektiven für die medikamentöse Behandlung chronisch entzündlicher Gallenwegserkrankungen wie der primär sclerosierenden Cholangitis.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

#### **Erhöhung der Anzahl der Tiere um zusätzlich 112 Mäuse auf 672 Mäuse**

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

Vermeidung: Um die Anzahl der Versuchstiere beziehungsweise der Tierexperimente so gering wie möglich zu halten, werden in vitro Versuche in kommerziell erhältlichen Zelllinien durchgeführt. In diesen Zelllinien wird durch sogenannte "knock down" Methoden die Expression des Schlüsselsgens verringert. Soweit möglich werden auch Ko-Kulturen der unterschiedlichen Zellarten verwendet, um

den direkten mechanistischen Zusammenhang zwischen diesen verschiedenen Zellentypen feststellen zu können. Diese in vitro Modelle erlauben die Beantwortung spezifischer mechanistischer Fragestellungen und tragen maßgeblich zur Einschränkung notwendiger Tierexperimente bei.

Verminderung: Zur deutlichen Herabsetzung der Streuung der Ergebnisse erfolgen die Tierhaltung und das methodische Vorgehen unter standardisierten Bedingungen. Ein weiterer Punkt für eine Verminderung der Versuchstiere ist die serielle Durchführung der geplanten Experimente. Pilotstudien mit der minimal möglichen Anzahl an Tieren werden durchgeführt. Kann mit diesen Experimenten unsere Hypothese nicht bestätigt werden, werden keine weiteren Versuche durchgeführt.

Verfeinerung: Alle angeführten experimentellen Techniken sind in unserem Labor optimiert und werden von erfahrenen Wissenschaftlern durchgeführt, damit das bestmögliche Wohlbefinden für die Versuchstiere gewährleistet werden kann. Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. Mai 2018 vorgesehen.

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

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

Ziel: Messungen der Milchproduktion, Milchqualität und Jungtierentwicklung in Goldhamstern denen dorsal das Fell durch Rasur zur Erleichterung der Wärmeabgabe entfernt wurde.

zu erwartender Schaden: Außer einer Injektion, einer 2-maligen Blutabnahme und der dorsalen Rasur der Fells, werden die Tiere keinen weiteren Schaden erleiden. Sie werden einer mäßigen und kurzen Belastung während dem Handling beziehungsweise der Manipulation zur Blutabnahme, zum Melken, zur Injektion und der Rasur des Fells ausgesetzt sein.

zu erwartender Nutzen: Die Ergebnisse sollen helfen, optimale Aufzuchtbedingungen für Kleinsäugetierweibchen zu etablieren und einen Beitrag zur Kenntnis der Reproduktionsphysiologie von Haustieren wie dem Goldhamster leisten.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

#### **33 weibliche Goldhamster (*Mesocricetus auratus*).**

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

Vermeidung: Da es in dieser Studie um Jungenaufzucht beziehungsweise Reproduktion geht, gibt es zum gegenwärtigen Zeitpunkt keinen alternativen Forschungsansatz.

Verminderung: Die Tierzahl konnte durch die Verminderung Kontrollgruppe auf 8 (nicht zu rasierende) Weibchen reduziert werden, da die entsprechenden Datensätze aus einer vorangegangenen Studie verwendet werden können.

Verfeinerung: Moderne Käfigsysteme, abwechslungsreiches Enrichmentmaterial sowie spezies-angepasste Futtermittel werden eingesetzt. Die Manipulationen an den Tieren werden fachgerecht und so schonend wie möglich durchgeführt sowie auf das absolut notwendige Minimum reduziert. Die Rasur des Rückens erfolgt erst am 4. Laktationstag, um den Weibchen während der sensiblen Phase nach der Geburt ausreichend Zeit für die Milchproduktion und Stabilität der Wurfgröße zu geben. Da die Weibchen bereits vor Beginn der Studie an die menschliche Hand gewöhnt werden, ist das Handling mit geringem Stress verbunden. Das Melken der etwa 3 bis 5 Tropfen Hamstermilch wird erst spät in der Laktation

angesetzt werden, zu einem Zeitpunkt an dem die Jungtiere bereits selbstständig fressen, gleichzeitig aber der Milchfluss der Mutter bereits gut funktioniert damit die geringe Milchmenge den Jungen nicht fehlt.



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

Chronische metabolische Lebererkrankungen (Fettleber, entzündliche Fettleber, Zirrhose, Leberkarzinom) stellen eine erhebliche Gesundheitsbelastung dar. Ein wesentlicher Faktor bei der Entstehung dieser Erkrankungen ist die Zusammensetzung der Darmflora die durch verschiedenste Parameter, so auch Ernährung oder Lebensstil beeinflusst wird. In diesem Projekt soll die positive Wirkung von bestimmten Mineralien auf diese Lebererkrankungen über die Beeinflussung der Darmflora untersucht werden. Dazu werden bereits bekannte Mausmodelle für Lebererkrankungen (insbesondere Fettleber, entzündliche Fettleber und Leberkarzinom) verwendet und die positive Wirkung dieser Mineralien, sowie der Einfluss auf die Darmflora untersucht. Herkömmliche Therapien (z. B. Fibrate, Statine) sind nur teilweise effektiv, und bergen das Risiko von teilweise schweren Nebenwirkungen. Durch das Verständnis der Wirkung dieser Mineralien wird es möglich sein, neue Behandlungs- und Präventionsmethoden rational zu entwickeln, die aufgrund der nachgewiesenen Unbedenklichkeit risikoarm einsetzbar sind. Darüber hinaus ergeben sich durch Erkenntnisse aus diesen Untersuchungen auch weitere Ansätze für die Prävention (z. B. durch begleitende Ernährungsumstellung, etc.)

zu erwartender Nutzen: Wir erwarten neue Erkenntnisse hinsichtlich des Einflusses der Darmflora auf metabolische Lebererkrankungen, die zu verbesserter Prävention, Therapie, beziehungsweise deren Unterstützung führen können.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere werden bei Versuchsende so rasch, stress- und schmerzlos wie möglich getötet. Darüber hinaus sind während des Versuchs nur geringe bis mittlere Beeinträchtigungen zu erwarten.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für den hier durchgeführten Tierversuch werden insgesamt **maximal 670 Mäuse** verwendet.

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

**Vermeidung:** Ersatzmethoden für diese Studien sind nicht verfügbar, da es sich um Experimente handelt, die die Lebensdauer von primären Leberzellen in Kultur, die durch simple Organentnahme gewonnen werden könnten, bei weitem übersteigen. Kultivierte immortalisierte Zellen können für diese Experimente nicht verwendet werden, da die phänotypischen Veränderungen der Steatohepatitis in keiner uns bekannten Leberzelllinie auftreten. Ebenso werden in solchen Linien viele charakteristische Gene nicht exprimiert, oder der Metabolismus der Zellen unterscheidet sich wesentlich von Hepatozyten in situ. Auch ist in reinen Zellkulturexperimenten der Kontext der Funktionsänderung im Gesamtorganismus nicht gegeben, was aufgrund der Fragestellung (Wechselwirkung der Darmflora mit Lebererkrankungen) nur in einem intakten Organismus möglich ist.

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

**Verfeinerung:** Für das Wohl der Tiere wird durch veterinärmedizinische Überwachung und erfahrenes Tierpflegepersonal Sorge getragen. Die Tiere werden in adäquater Umgebung in Gruppen gehalten, wobei durchgehender Zugang zu Trinkwasser und Futter gewährleistet ist.

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

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

In den letzten Jahrzehnten konnte sich die Transplantation als Standardtherapie zur Behandlung von endgültigem Organversagen in der Klinik durchsetzen. Dies kann Großteils auf die beträchtlichen Fortschritte im Kurzzeitüberleben des Transplantates zurückgeführt werden. Während akute Abstoßungen (= innerhalb der ersten Wochen) heutzutage vermieden oder gut behandelt werden können, bleibt die chronische Abstoßung noch immer die häufigste Ursache für den späten Verlust des Transplantates. Darüber hinaus birgt die kontinuierliche Suppression des Immunsystems ein erhöhtes Risiko für schwerwiegende Nebenwirkungen wie Tumore, Infekte und metabolische Störungen. Folglich wäre ein Zustand erstrebenswert, in welchem der Empfänger das fremde Organ akzeptiert ohne auf Immunsuppressiva angewiesen zu sein (= Transplantationstoleranz). Eine Möglichkeit diesen Zustand zu erreichen, ist dem Empfänger Knochenmark des Spenders zu transplantieren.

zu erwartender Nutzen: Sobald sich die Knochenmarkszellen des Spenders im Empfänger eingenistet haben, kann der Empfänger vom selben Spender ein Organ erhalten, ohne Immunsuppressiva zu benötigen. Der routinemäßige Einsatz dieses Ansatzes scheitert derzeit jedoch an der für die Patienten äußerst belastenden Vorbehandlung des Knochenmarkempfängs und dessen Nebenwirkungen (z. B. Bestrahlung). Deswegen forscht unsere Arbeitsgruppe an Patienten schonenden Vorbehandlungen für den Knochenmarksempfang, um dieses Protokoll in der Klinik zu etablieren.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Insgesamt kann die Belastung für diese Mäuse je nach Gruppenzugehörigkeit als gering bis mittel eingestuft werden. Während der chirurgischen Eingriffe werden die Mäuse narkotisiert und gegen postoperative Schmerzen analgesiert. Nach erfolgreicher Transplantation erhalten die Mäuse keine weiteren Behandlungen und werden für einen Zeitraum von bis zu 150 Tagen nachbeobachtet. Während der Beobachtungszeit wird den Mäusen alle 4 Wochen Blut abgenommen, um die Präsenz von Spenderzellen zu kon-

trollieren. Die Transplantate werden in regelmäßigen Abständen visuell kontrolliert. Am Ende der Nachbeobachtungszeit werden die Mäuse sanft getötet und wissenschaftlich relevante Organe werden für Nachuntersuchungen isoliert.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Mit Genehmigung der Ergänzung: **3105 Mäuse** unterschiedlichen Genotyps

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

**Vermeidung:** Nach Ausschöpfung aller in vitro Methoden sind zur weiteren Abklärung der Fragestellung Untersuchungen an einem Gesamtorganismus erforderlich. Die Anzahl der benötigten Tierversuche wurde durch vorgeschaltete Untersuchungen in vitro (Zellkulturen, isoliertem Gewebe etc.) reduziert.

**Verminderung:** Durch Standardisierung aller Haltungs- und Versuchsbedingungen und genaue Versuchsplanung wird eine geringe Streuung der Versuchsergebnisse ermöglicht und somit die Tierzahlen auf das notwendige Minimum reduziert. Bezugnehmend auf diese Voraussetzung wurde eine Fallzahlberechnung durchgeführt, um mit geringen Tierzahlen aussagekräftige Resultate zu erhalten.

**Verfeinerung:** Das Projekt verwendet ein etabliertes und international akzeptiertes Mausmodell und berücksichtigt alle Anforderungen zur Vermeidung, Verminderung und Verbesserung der Untersuchungen.

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

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

Die Zunahme an metabolischen und kardiovaskulären Erkrankungen während der letzten Jahrzehnte wird hauptsächlich durch erhöhte Nahrungsaufnahme von Fett hervorgerufen. Über 50% der Österreicher sind fettleibig, der Anteil an massiv Übergewichtigen liegt in Österreich bei 10-15% mit rapid steigender Tendenz. Die Fettleibigkeit (Adipositas) mit ihren Folgeerkrankungen wie z. B. Typ 2 Diabetes (nicht-insulinabhängiger Diabetes), Herz-Kreislaufkrankungen, Atherosklerose und Leberverfettung sind ein großes kostspieliges Gesundheitsproblem. Die drastische Zunahme der Adipositas geht Hand in Hand mit einer weltweiten Zunahme an Typ 2 Diabetes. Nach Schätzungen der WHO leiden circa 146 Millionen Menschen weltweit an Typ 2 Diabetes mit stark steigender Tendenz. Hypertriglyceridämie, charakterisiert durch die Akkumulierung triglyzeridreicher Lipoproteine, spielt eine wichtige Rolle in der Entstehung von Dyslipidämien und ist ein bekannter Risikofaktor für Atherosklerose. Enterozyten des Dünndarms transportieren mit der Nahrung aufgenommene Lipide in den Organismus und sind in hohem Maße an der Bildung triglyzeridreicher Lipoproteine beteiligt. Mit Hilfe des immer detaillierteren Verständnisses der biochemischen Vorgänge in und zwischen Zellen und anhand von histologischen Befunden wird versucht die Ursachen und den biochemischen Ablauf zu klären. In diesem Projekt untersuchen wir die Auswirkungen des Gendefekts eines wichtigen Enzyms (ATGL) und seines Coaktivators (CGI-58) im Dünndarm. Da die Aussagen von Zellkulturexperimenten begrenzt sind und nicht im Zusammenhang mit der Funktion eines Gens im ganzen Organismus stehen beziehungsweise die in vivo Situation darstellen, sind transgene und knock-out Mausmodelle von entscheidender Bedeutung in der Aufklärung bestimmter Krankheiten und möglicher Therapieansätze.

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

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

## 2. Art und Anzahl der Tiere

### **404 Mäuse (Erhöhung um 24 Mäuse)**

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

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

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

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

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

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

Die Häufigkeit von Herz-Kreislauf-Erkrankungen nimmt in den Industrieländern immer mehr zu und stellt die Gesundheitssysteme weltweit vor große Herausforderungen. Entstehung und Verlauf der Erkrankung sind hochkomplex und von vielen noch kaum bekannten Einflussgrößen abhängig. Erkrankungshäufigkeit und Sterblichkeit sind trotz guter medizinischer Versorgung konstant hoch. Es ist daher dringend erforderlich, die komplexen molekularen Mechanismen, die diesem Krankheitsbild zugrunde liegen, genauer zu untersuchen, um in Zukunft eine frühere Diagnose und wirksamere Behandlung zu ermöglichen. Kürzlich konnte gezeigt werden, dass eine Korrelation zwischen dem Hormon Fgf23 und wichtigen Parametern der Herzfunktion besteht und Fgf23 eine eigenständige Rolle bei der Entstehung und Pathogenese von Herz-Kreislauf-Erkrankungen spielen könnte. Daher soll im vorliegenden Projekt die Rolle von Fgf23 bei der Entstehung von Entzündungsprozessen im Herzgewebe untersucht werden. Ziel des vorliegenden Projektes ist es, genaueren Einblick in die molekularen Mechanismen zu gewinnen, über die Fgf23 möglicherweise pathologische Prozesse am Herzen beeinflusst.

zu erwartender Schaden für die Tiere: An einem Teil der Tiere muss durch einen operativen Eingriff eine Herzerkrankung induziert werden. Vorliegende Daten aus vergleichbaren Versuchsvorhaben zeigen, dass die Sterblichkeit bei Mäusen bei der geplanten Vorgehensweise gering ist.

zu erwartender Nutzen: Die Studie lässt neue Erkenntnisse über die Entstehungsmechanismen von Herz-Kreislauf-Erkrankungen erwarten, die in weiterer Folge dazu beitragen können, Prävention und Therapie zu verbessern.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Insgesamt sollen **maximal 1382 Mäuse in Versuch** genommen werden. Für die Bereitstellung dieser Tiere müssen aus zuchttechnischen Gründen **insgesamt bis zu 11554 Mäuse erzeugt** werden.

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

**Vermeidung:** Da sich die Fragestellung auf systemische regulatorische Mechanismen im lebenden Organismus bezieht, kann sie nur mit Hilfe eines Tiermodells untersucht werden. Ergänzend zu den Versuchen werden verschiedene in-vitro-Methoden (aus Probenmaterial von den Versuchstieren) angewandt.

**Verminderung:** Alle Eingriffe werden von sachkundigen und erfahrenen Personen durchgeführt, sodass OP-bedingte Verluste minimiert werden. Die Zucht der Tiere läuft parallel zu den Versuchen und orientiert sich am gerade bestehenden Bedarf, sodass die Zahl nicht benötigter Tiere niedrig gehalten werden kann. Für dieses Projekt wird die kleinste Anzahl an Tieren verwendet, die nötig ist, um statistisch relevante Ergebnisse zu erhalten.

**Verfeinerung:** Alle Tiere werden in Gruppen gehalten. Männchen, die operiert werden sollen, werden schon vorher mit einem alten weiblichen Tier („retired breeder“) zusammengesetzt, das für die gesamte Dauer des Versuchs bei seinem Partner bleibt. Als Enrichment werden Lagenzellstoff und Papprollen zur Verfügung gestellt. Anästhesie, Analgesie und OP-Technik wurden im Rahmen bereits durchgeführter vergleichbarer Versuche im Hinblick auf eine möglichst geringe Belastung der Tiere optimiert. Alle Tiere werden tierärztlich überwacht und engmaschig kontrolliert. Beim Auftreten klinischer Symptome werden die Tiere schmerzlos getötet.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 29. Februar 2020 vorgesehen.



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

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

Entzündungen gehören zu den häufigsten Erkrankungen des Magen-Darm-Trakts, der ständig einer Bedrohung durch pathogene Mikroorganismen und toxische Substanzen in der Nahrung ausgesetzt ist. Es ist schon seit längerem bekannt, dass bestimmte schmerzstillende Arzneimittel zu gastrointestinalen Schleimhautschäden führen und Entzündungsprozesse verstärken können. Eine Behandlung mit bestimmten körpereigenen Substanzen, die von den Schmerzmitteln unterdrückt werden, führt zu einer protektiven Wirkung an Magen- und Darmschleimhaut. Auch Synbiotika (Präbiotika und Probiotika) gelten als Mittel, die bei entzündlichen Magen-Darm Erkrankungen eine Linderung der Symptome erreichen können. In dieser Studie wird eine synthetische Substanz, die eine Abwandlung der körpereigenen Schutzfaktoren darstellt, hinsichtlich ihrer protektiven Wirkung auf eine chemisch induzierte Dickdarmentzündung der Maus untersucht, die als Modell der chronisch-entzündlichen Darmerkrankung des Menschen gilt.

zu erwartender Nutzen: Wir erwarten Verbesserungen in der Symptomatik von entzündlichen Magen-Darm Erkrankungen. Die geplanten Untersuchungen haben große translationale Bedeutung, weil sie zeigen werden, ob bestimmte neue Wirkstoffe einen therapeutischen Wert bei gastrointestinaler Entzündung haben. In der Untersuchung eines Synbiotikums ist es das Ziel, spezifische Biomarker zu finden, die den Effekt des Synbiotikums auf die Mikrobiom-Darm-Hirn Achse erklären, und zu erforschen, ob sich durch die Synbiotikum-Behandlung der chemisch induzierten Dickdarmentzündung der Maus auch positive Verhaltensänderungen ergeben.

zu erwartender Schaden: Zu erwarten sind geringe Schmerzen, die auch bei Menschen mit Kolitis erscheinen, wie z. B. Magenschmerzen, häufiger Stuhlgang und Durchfall. Durch die Schmerzen kann es bei Mäusen zu einem depressionsartigen Verhalten kommen.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

**459 Mäuse (Erhöhung um 224 Mäuse)**

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

**Vermeidung:** Bei der Thematik der beantragten Tierversuche geht es einerseits um neue Therapiemöglichkeiten für chronisch-entzündliche Darmerkrankungen und andererseits um die Erforschung des Zusammenhangs zwischen Magen-Darm-Trakt und Gehirn, sowie um die Frage, wie Signale aus dem entzündeten Darm auf das Gehirn einwirken und zu Störungen der Gehirnfunktion führen können. Die Wechselwirkung zwischen diesen komplexen Systemen kann nur im Tierversuch erforscht werden, weil ja geprüft werden muss, wie sich Änderungen in der Peripherie auf das vom Gehirn gesteuerte Verhalten auswirken.

**Verminderung:** Es wurde großer Wert darauf gelegt, die Projektversuche nur mit jener minimalen Anzahl an Mäusen durchzuführen, die statistisch notwendig ist, um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten. Außerdem werden in den Versuchen, wann immer möglich, mehrere Parameter (verhaltensmäßige, biochemische und funktionelle Parameter) bestimmt, um zusätzliche Versuche zu vermeiden und das vorhandene biologische Material optimal zu nutzen.

**Verfeinerung:** Die Tiere werden von erfahrenen Tierpflegern einem regelmäßigen Handling unterzogen, um sich an etwaige Manipulationen zu gewöhnen und zusätzlichen Stress zu vermeiden. Die Tiere werden unter Standardbedingungen in Gruppen gehalten und von ausgebildetem Personal gepflegt. Um das Wohlbefinden zu steigern und den Zuchterfolg zu erhöhen wird den Tieren Enrichment in Form von Nistmaterial und Häuschen zur Verfügung gestellt Die Tierhaltung wird in regelmäßigen Abständen vom zuständigen Veterinär kontrolliert.

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

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

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

zu erwartender Schaden für das Tier: Für die Untersuchungen werden Wildtyp- und knockout Mäuse verwendet. Diese Mäuse sind vollkommen vital und zeigen keine Beeinträchtigungen. Die Untersuchungen während der Lebenszeit der Mäuse werden an Hand langjähriger, etablierter und bekannter Methoden durchgeführt, in denen das Tierleid auf ein Minimum reduziert ist.

zu erwartender Nutzen: Die Interaktion von Entzündungsmediatoren und Rezeptoren und die Auswirkung auf diese Erkrankungen kann nur im lebenden Organismus untersucht werden. Dieses Zusammenspiel kann nicht in einem Einzelversuch nachgestellt werden. Die entzündlichen Darmerkrankungen und das Kolonkarzinom verlaufen bei den Mäusen völlig gleich wie beim Menschen und zeigen in den Modellen auch die gleiche Symptomatik. Dies ist von äußerst großer Wichtigkeit für die Übertragbarkeit von experimentellen Ergebnissen auf die Humanmedizin. Die Untersuchungen in transgenen Mäusen bringen einen beträchtlichen neuen Wissensgewinn, der in der Grundlagen- und angewandten Forschung und in der Medizin von äußerst großem Nutzen ist.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Insgesamt sollen **704 Mäuse (Erhöhung um 198 Mäuse)** verwendet werden. Es werden außerdem 530 transgene Mäuse gezüchtet, von denen aber nur ein geringer Anteil in die Versuche einfließen soll.

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

**Vermeidung:** Entzündliche Darmerkrankungen und das Kolonkarzinom sind komplexe Erkrankungen, an denen das Zusammenwirken von Immunzellen aus dem Knochenmark und lymphatischer Organe mit verschiedenen Zelltypen aus der Darmschleimhaut, wie Epithelzellen und Krebszellen eine wichtige Rolle spielen. Diese unterschiedlichen Zelltypen und Organsysteme interagieren untereinander nur in einem intakten Organismus. Fragestellungen zu den entzündlichen Darmerkrankungen und Entzündungsmechanismen, die das Kolonkarzinom induzieren und fördern, können daher nicht an einem isolierten Organsystem oder einer Zellkultur adressiert werden, sondern nur am Gesamtorganismus.

**Verminderung:** Ausgehend von Versuchen in Zellkulturen und Daten aus der Literatur wird versucht, die Anzahl der Mäuse in den Versuchsgruppen auf ein Minimum, welches noch eine statistische Signifikanz erlaubt zu halten. Dies geschieht durch genaue Planung des Versuchs. Durch eine statistische Analyse, basierend auf Vordaten oder Daten aus der Literatur, kann die Anzahl der Tiere in der Versuchsgruppen weitgehend gut geschätzt und die Gruppen klein gehalten werden. Die analytische Bestimmung von biologischem Material wird so gut wie möglich auf viele Parameter ausgedehnt. Damit wird das vorhandene biologische Material optimal ausgenutzt.

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

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): 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 beziehungsweise 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 essenziellen 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 beziehungsweise 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 gegebenenfalls 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

**Erhöhung der Anzahl um zusätzlich 30 Mäuse auf 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 Tier Zahl durchgeführt werden müssen. Der Vorgang der schmerzfreien in vivo Bildgebung verfeinert diese Versuche signifikant, da keine belastenden Eingriffe zur Informationsgenerierung nötig sind. Eine moderne, angepasste Anästhesie zur Immobilisierung und eine umsichtige Betreuung der Tiere durch Tierärzte tragen ebenfalls zur Verbesserung der Bedingungen für die Labormäuse bei. Jegliche Studien, für welche nicht zwingend Versuche an Lebewesen notwendig sind, werden stets durch Zellkulturen ersetzt, wie z. B. Studien zur zellulären Toxizität und jegliche Vorversuche um potentiell wirksame Verbindungen zu identifizieren. Selbstverständlich werden alle Tiere in sozialen Kleingruppen gehalten und artgerechtes Nistmaterial, Höhlen sowie Spielzeug wird als Käfigausgestaltung ebenfalls zur Verfügung gestellt. Eine rückblickende Bewertung ist jährlich, **das nächste Mal am 01. Juni 2017** vorgesehen.

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

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

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. Die Behandlung dieser Erkrankung ist leider, obwohl mittlerweile einige immunsuppressive beziehungsweise immunmodulatorische Medikamente zur Verfügung stehen, schwierig und oftmals nicht zufriedenstellend und teils mit erheblichen Nebenwirkungen behaftet. Daher ist es unbedingt erforderlich neue pharmakologische Angriffspunkte zu finden und die bestehenden zu verbessern. Eine der erst relativ kurz am Markt befindlichen Therapieoption zur Behandlung der schubförmigen Multiplen Sklerose ist das oral zu verabreichende Medikament Fingolimod. Fingolimod gehört zur Gruppe der Immunsuppressiva und senkt die Zahl der im Blut zirkulierenden Lymphozyten, die im Rahmen eines Multiple Sklerose-Schubes in das Zentralnervensystem einwandern und dort die Nervenbahnen der Patienten schädigen können. Verschiedene Vorarbeiten legten aber die Vermutung nahe, dass Fingolimod zusätzlich dazu auch einen rein im Gehirn selbst wirkenden, das Nervengewebe schützenden Wirkmechanismus hat, der unabhängig von der peripheren Immunsuppression ist. Bisher konnte diese Fragestellung nicht endgültig beantwortet werden.

zu erwartender Schaden: Ziel unseres Projektes ist es, mittels eines implantierten Katheters eine einzelne, entzündlich-demyelinisierende Läsion im Großhirn von Ratten selektiv zu erzeugen. Mittels dieses Katheters erfolgt auch die direkte Gabe von Fingolimod in die Läsion selbst unter Umgehung des Blutkreislaufes und damit des peripheren Immunsystems. Der Therapieeffekt wird durch wiederholte MRT-Untersuchungen, **Rotarodtests** und histologische Untersuchung des Gehirngewebes der Ratten untersucht.

zu erwartender Nutzen: Der Nachweis einer zentral-neuroprotektiven Wirkung von Fingolimod hätte wesentliche Auswirkungen zum einen auf die Anwendung dieser Therapie selbst als auch in Bezug auf die Entwicklung weiterer Therapieoptionen zur Behandlung der Multiplen Sklerose.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden **210 Ratten (Erhöhung um 100 Ratten)** für diese Versuche benötigt.

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

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



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

- Sind die beschriebenen Veränderungen der tageszeitliche Schwankung der clock genes in den Amygdala der Maus auch in einem auf sozialem Stress beruhenden Depressionsmodell (Chronic social defeat) nachweisbar?
- Lässt sich die auf den vorhergegangenen Daten basierende Hypothese der Interaktion zwischen dem zirkadianen Rhythmus und dem Emotionssystem für die Pathogenese der Depression auch im Umkehrschluss zeigen? Dafür sollen mögliche Veränderungen des zirkadianen Verhaltens in einem genetischen Mausmodell für Depression untersucht werden.
- Ist das Gen cry2 kausal mit Depression in Zusammenhang stehend? Dafür soll der Phänotyp von Mäusen, welche das Gen cry2 nicht besitzen, mittels spezifischer Verhaltenstests untersucht werden.
- **Ist das Gen flrt2 kausal mit Depression in Zusammenhang stehend? Dafür soll der Phänotyp von Mäusen, welche das Gen flrt2 reduziert exprimieren, mittels spezifischer Verhaltenstests untersucht werden. Ergebnisse dieser weiterführenden Studie können**

**neue Einblicke in die Pathophysiologie der Depression vermitteln und durch das Aufzeigen der involvierten Moleküle eventuell zusätzliche therapeutische Ziele für pharmakologische Substanzen zur Bekämpfung der Krankheit aufzeigen.**

2. Art und Anzahl der Tiere

### **366 Mäuse (Erhöhung um 56 Mäuse)**

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

Vermeidung: Wissenschaftliche Untersuchungen zu den neurobiologischen Grundlagen von psychischen Erkrankungen umfassen notwendigerweise die Beurteilung des zugehörigen Verhaltensphänotyps, welche, per definitionem, nur am lebenden Tiere erfolgen kann. Es 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 oben beschriebenen Tests zur Verhaltensuntersuchung stellen weithin etablierte Methoden dar, die in unserem Labor mit langer Erfahrung und ausgewiesener Expertise nach international anerkannten Protokollen durchgeführt werden.

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 Gefäßinnenwand (Endothel) spielt eine wichtige Rolle für die physiologische Regulation der Gefäßspannung, der Gefäßwandzusammensetzung und der Anlagerung von Entzündungszellen und Blutplättchen. Insbesondere nach dessen Schädigung wird die Bedeutung des Endothels ersichtlich, wenn es statt zu vollständiger Regeneration zur Bildung von sogenannter Neointima kommt (überschießende Ausbildung glatter Muskelzellen, Infiltration mit Entzündungszellen und Thrombozytenadhäsion). Zu einer Gefäßendothelschädigung kommt es unter anderem insbesondere bei medizinischen Interventionen (z. B. Stent-Implantation, Ballon-Dehnungen, Venentransplantation), durch Bluthochdruck, erhöhte Blutfettwerte und Diabetes mellitus, sowie der daraus folgenden Arteriosklerose. Durch die heute limitierten medikamentösen und interventionellen Therapiemethoden besteht auf diesem Gebiet ein großer Bedarf an innovativen Behandlungsmethoden. Die Regeneration am Gefäßendothel wird unter anderem über den sogenannten DPP4-Signalweg reguliert. In Vorarbeiten konnten wir zeigen, dass durch die Einwanderung von im Blut zirkulierenden Vorläuferstammzellen (zirkulierende Progenitorzellen) die Gefäßheilung unterstützt werden kann. Ein weiterer Signalweg der DPP4 ist der GLP1-Signalweg (Glucagon-like-Peptide 1). Mithilfe eines genetischen GLP1-Rezeptor-knock-outs (Fehlen des GLP1-Rezepters durch genetische Veränderung der Tiere) möchten wir die Endothelheilung durch zirkulierende Progenitorzellen detaillierter und isoliert untersuchen. Die DPP4 kann therapeutisch durch Gabe von Gliptinen gehemmt werden. Ursprünglich werden die Gliptine zur Therapie von Patienten mit Diabetes mellitus genutzt, um den Blutzuckerspiegel unter anderem durch verbesserte Insulinausschüttung zu senken. In vorherigen Arbeiten konnte gezeigt werden, dass durch Sitagliptin-Gabe die Gefäßheilung verbessert werden kann. In dem hier beantragten Tiermodell möchten wir nun die Gliptin-Wirkung auf die stammzellvermittelte Gefäßheilung isoliert betrachten. Bei der geplanten Operationsmethode-Technik, bei der die linke Halsschlagader unter Narkose freigelegt wird, damit ein

elektrisch induzierter Gefäßinnenwandschaden gesetzt werden kann. Der technische Vorteil bei dieser Methode, im Vergleich zu anderen Operationsmethoden (z. B. Ballondehnung oder Verletzung des Endothels mit einem Herzkatheter-Draht) ist, dass hier eine exakt definierte Verletzungslänge erzeugt werden kann, deren Heilung so später genau bestimmt werden kann. Des Weiteren muss bei dieser Methode zu keiner Zeit während der OP der Blutfluss in der Halsschlagader unterbrochen werden, womit das intraoperative Schlaganfallrisiko deutlich gesenkt wird. Dies führt zu einer wesentlich geringeren Anzahl an benötigten Mäusen für den Versuch.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

**von ursprünglich 605 mit einer Erhöhung um 240 Mäuse auf eine Gesamtanzahl von 845 Mäusen** für einen Zeitraum von 5 Jahren.

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

Da wir stets darauf bedacht sind, dem „3R“ Konzept gerecht zu werden achten wir darauf, dass sich die Tiere vor und während der Versuche unter tierschutzgerechten Haltungsbedingungen befinden. Um den Tieren möglichst angenehme Haltungsbedingungen zu ermöglichen, achten wir auf ausreichendes Enrichment zum Benagen und zur Beschäftigung der Tiere. Des Weiteren wird perioperativ durch adäquate Schmerztherapie eine Schmerzfreiheit der Tiere gewährleistet. Zudem werden mindestens zweimal täglich in Verbindung mit der Schmerzmittelgabe eingehende tierärztliche Untersuchungen vorgenommen. Hierbei wird das Befinden der Mäuse auch mit einem eigens für den Versuch konzipierten Scoring-Sheet bewertet. Dadurch wird eine übermäßige Belastung sehr frühzeitig erkannt und kompromittierte Tiere können so rechtzeitig aus dem Versuch genommen und schmerzlos getötet werden.

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

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

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

Lipasen sind Enzyme, die zum Abbau von Fetten in der Nahrung beitragen, so dass diese über den Dünndarm absorbiert werden können. Kürzlich wurde gezeigt, dass Mutationen in Lipase-Genen die Möglichkeit des Körpers Fett abzubauen verändern, wodurch die Anzahl der Fettdepots in der Leber erhöht wird. Bisher gab es nur wenige zufriedenstellende Studien, welche sich mit der Untersuchung der molekularen Mechanismen beschäftigen, bei welcher Schlüssel-Lipasen eine Rolle in der Entstehung von NAFLD spielen. Auf Grund unserer vorherigen Ergebnisse gehen wir davon aus, dass der Verlust der Lipase zu Störungen der Homöostase der Gallengänge führen und dadurch eine Anreicherung von Gallensäuren in der Leber (Cholestase) verursachen könnte. Zusätzlich könnte diese Lipase eine Rolle in der Entwicklung von Zirrhose und Leberkrebs spielen. Deswegen planen wir den Pnpla3-KO Mäusen 3,5-diethoxycarbonyl-1,4-dihydrocollidin (DDC) zu verabreichen, was ein Model für xenobiotisch-induzierte Cholangiopathie ist. Sollte sich unsere Hypothese bewahrheiten, haben Pnpla3-KO Mäuse erhöhte cholestatische Leberschäden, die zu Leberfibrose fortschreiten und die Mäuse anfälliger für Leberzirrhose und Leberkrebs machen. Die Ergebnisse könnten von großer Wichtigkeit sein. Sollte PNPLA3 ein bedeutender Faktor in cholestatischen Leberkrankheiten sein, könnte das zur Entwicklung von Medikamenten beitragen, die die Aktivität dieser Lipase beeinflussen. Dies könnte neue therapeutische Ansätze eröffnen um Patienten mit NAFLD zu behandeln und die Weiterentwicklung zu möglichen schwerwiegenden Leberkrankheiten zu vermeiden.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

### **Erhöhung um 56 Mäuse auf 1176 Mäuse**

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

**Vermeidung:** Zur Verringerung beziehungsweise Vermeidung der Tierexperimente werden in vitro Experimente durchgeführt. In diesen Zellkultur-Experimenten werden wir die Überexpression von normalen und mutierten Lipasen studieren. Aufgrund dessen ist die Verabreichung dieser Komponenten an Tiere nicht notwendig.

**Verminderung:** Um die minimal notwendige Anzahl an Tieren zu gewährleisten werden die Experimente sequentiell durchgeführt. Falls die erste Pilotstudie unsere Hypothese nicht belegt, werden keine weiteren Versuche durchgeführt.

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

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

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

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

Das Ziel unsers Projekts ist mehr Verständnis über die molekularen Mechanismen, die hinter ASS (Autismus-Spektrum-Störung) und Epilepsie stehen, in vivo zu gewinnen. Um diese Mechanismen zu identifizieren, beabsichtigen wir Mausmodelle für Epilepsie und Autismus zu erzeugen und zu untersuchen.

zu erwartender Nutzen: Beantwortung von essenziellen Fragen zu den grundlegenden krankmachend (pathologischen) Mechanismen dieser Erkrankung.

zu erwartender Schaden für die Tiere: es ist zu erwarten dass die neu generierten Mauslinien einen Phänotyp des zentralen Nervensystems aufweisen. D. h. wir erwarten das Auftreten von z. B. Bewegungsstörungen bei Jungtieren dieser neuen Linien. Das ist aber unverzichtbar, wenn wir unsere Annahmen real untersuchen und bestätigen wollen. Für die Generierung dieser neuen Linien ist es notwendig, weibliche Mäuse hormonell vorzubehandeln, anschließend zu verpaaren und etwa 2 Tage nach der Verpaarung diese "Spendermütter" human zu töten und Embryonen zu gewinnen, die mittels einer kleinen Operation in die Gebärmutter von sogenannten Ammenmüttern "transferiert" werden. Diese Technik wird seit Jahrzehnten bei der Maus angewandt und ist daher eine gut etablierte Standardtechnik. Die so transferierten Embryonen kommen nach der normalen Tragezeit von etwa 19 Tagen auf natürlichem Weg zur Welt und werden von der Ammenmutter aufgezogen. Die von uns für dieses Projekt beantragten Methoden sind sehr gut etabliert und wir erwarten als schwersten Schweregrad, dem die Tiere ausgesetzt sein können, einen mittleren Schweregrad.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Für die hier beantragte 2. Änderung zum ursprünglichen Projektantrag melden wir einen **zusätzlichen Bedarf von 2346 Mäusen** an. Gesamt melden wir daher für den ursprünglichen Antrag und die **Änderung einen Bedarf von 7064 Mäusen** an.

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

Vermeidung: Epilepsie und Autismus sind komplexe Störungen der Gehirnentwicklung. Während in vitro Techniken (z. B. Zellkulturen) verwendet werden, um

bestimmte Fragen zu beantworten, bedingt die Komplexität dieser Erkrankungen die Analyse der Gehirnentwicklung in vivo, und kann nicht in einfacheren Systemen als Tieren dupliziert oder modelliert werden. Die Planung des Projekts umfasst umfangreiche Recherchen zur Überprüfung der zugänglichen Ressourcen hinsichtlich der Verfügbarkeit bereits vorhandener Modelle in der Maus für anstehende wissenschaftliche Fragestellungen.

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

Verfeinerung: Genetische, biologische und verhaltensbiologische Charakteristika von Mäusen ähneln denen von Menschen stark, und viele Symptome menschlicher Krankheiten können in Mäusen nachgebildet werden. Außerdem wurden einige Aspekte der Gehirnentwicklung und Physiologie in Mäusen extensiv untersucht, was die Möglichkeit birgt, die Ergebnisse unserer Experimente besser zu interpretieren. Zusätzlich beabsichtigen wir eine unblutige Methode für den Embryotransfer einzuführen. Dies ermöglicht den Embryotransfer von Blastozysten direkt in den Uterus ohne chirurgische Eingriffe. Die Experimente werden ausschließlich von Mitarbeitern durchgeführt die umfangreiche Expertise auf dem Gebiet mitbringen.



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

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

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

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

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

## 2. Art und Anzahl der Tiere

### **3436 Mäuse**

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

Generell wird versucht, Tierversuche durch den Einsatz von Zellkulturmodellen zu reduzieren. So gehen jedem Tierversuch ausführliche Zellkultur- und biochemi- sche Experimente voraus. Der Tierversuch wird einerseits als „Proof-of-Principle“ Experiment gesehen um die Voraussagen aus den Zellkulturexperiment zu bestä- tigen beziehungsweise um zu überprüfen ob der Verlust der Genfunktion oder die gesteigerte Expression eines Genes durch andere Gene oder Stoffwechselwege kompensiert werden kann. Die in diesem Antrag beschriebenen Mausmodelle werden ausschließlich zur Erforschung komplexer metabolischer Erkrankungen wie Diabetes, Fettleibigkeit, Leberverfettung, Krebs und dergleichen verwendet. Da diese Erkrankungen nicht nur einen Zelltyp beziehungsweise ein Organ be- treffen, können gewisse Bereiche der Fragestellung nicht durch Zellkulturexperi- mente beantwortet werden. Durch die gewissenhafte Planung der Experimente wird versucht, mit so wenigen Tieren wie möglich auszukommen. Die Anzahl ist abhängig vom zu erwartenden oder vorausgesagten Effekt, d. h. sind die zu er- wartenden Veränderungen zwischen Mausmodell und Kontrollmaus eindeutig, werden sich die Experimente auf ein statistisches Minimum beschränken. Die Zahl der notwendigen Versuchstiere hängt daher stark vom Experiment und liegt im Normalfall zwischen 5 und 10 Tieren. Außerdem wird ständig an der Verbes- serung der Versuchsabläufe gearbeitet, sodass die Leiden der eingesetzten Ver- suchstiere reduziert und gezieltere Informationen aus den Experimenten gewon- nen werden. Ein wichtiger Punkt ist hier die Verwendung von neuen Verfahren, wie Stoffwechselkäfigen und NMR. Mithilfe dieser Technologien können wichtige Informationen über den Stoffwechsel der Tiere mit nicht-invasiven Techniken gewonnen werden. Generell wird versucht, Tierleid von der Geburt bis zum Tod zu vermeiden. Tiere, die bei der Geburt einen schweren Defekt aufweisen, wer- den unmittelbar nach der Geburt getötet. Ebenso werden kranke Tiere isoliert und mittels zervikaler Dislokation getötet. Unsere Mitarbeiter eignen sich durch

entsprechende Fortbildung und Einschulung die Fertigkeiten an, um die Versuche so schonend wie möglich für das Tier zu gestalten.

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

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

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

Eine neue genetische Variante eines bestimmten Virus-Serotyps, welcher bei Kindern Entzündungen des Gehirns auslösen kann, wurde aus dem Gehirn eines kranken Ferkels isoliert. Nach Sequenzanalyse des Virusgenoms stellte sich heraus, dass diese Virus-Reassortante Genomsegmente aus Schweine- und humanen Viren dieser Virusspezies vereint. Um die wissenschaftlich seriöse Aussage treffen zu können, dass dieses Virus bei Ferkeln tatsächlich für das klinische Bild einer Gehirnentzündung verantwortlich ist, müssen die sogenannten Henle-Koch-Postulate erfüllt werden. Hierzu müssen Ferkel mit dem Virus künstlich infiziert, vier Wochen klinisch beobachtet und regelmäßig beprobt sowie nach deren Tötung einer pathologischen und molekularbiologischen Untersuchung zugeführt werden. Treten bei den infizierten Ferkeln entsprechende klinische Symptome auf und gelingt es, das Virus erneut aus Organen der Tiere zu isolieren, kann sicher behauptet werden, dass es sich bei besagtem Virus um ein Pathogen handelt, das in Hinblick auf ein mögliches zoonotisches Potential im Auge behalten werden sollte.

zu erwartender Nutzen: Gelingt es bei künstlich, mit oben beschriebenen Virusisolat infizierten Ferkeln, Krankheitssymptome des Zentralnervensystems zu reproduzieren und das Virus anschließend erneut aus Organen der Ferkel zu isolieren, gilt die Verantwortlichkeit dieser neuen genetischen Virus-Variante für die entsprechende Erkrankung des Nervensystems als bewiesen. Fortan können diese Erkenntnisse die Basis für weiterführende Forschungen auf dem Gebiet der viral bedingten Erkrankungen des Zentralnervensystems bei Mensch und Tier darstellen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die infizierten Ferkel könnten an Symptomen wie Fieber, Schwäche, Fressunlust, Lähmungen leiden sowie an einer Enzephalitis schwer erkranken. Im Falle einer schweren Erkrankung mit hohem Fieber, Lähmungen und/oder Schmerzäußerungen wird der Versuch für das betroffene Tier abgebrochen und es wird tierschutzkonform getötet. Es werden regelmäßige klinische Untersuchungen sowie Blut und Nasentupferproben entnommen. Am Ende des Versuchszeitraumes werden die Tiere eingeschläfert und

weiteren Untersuchungen zugeführt. Es sollen 20 Ferkel im Alter von 4 Lebenswochen in diesem Infektionsversuch verwendet werden. Davon werden 10 Ferkel mit dem Virus infiziert (Infektionsgruppe) und weitere fünf Tiere in Kontakt mit den infizierten Tieren gehalten (Kontaktgruppe), um eine Virusübertragung auf natürlichem Wege nachweisen oder ausschließen zu können. Die verbleibenden fünf Ferkel werden isoliert von den anderen Tieren gehalten (Kontrollgruppe).

## 2. Art und Anzahl der Tiere

20 Ferkel

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

**Vermeidung:** Da es für eine seriöse, wissenschaftliche Veröffentlichung unerlässlich ist, beweisend sagen zu können, dass ein Virus mit oben beschriebenen, genetischen Eigenschaften das klinische Bild einer Gehirnentzündung bei Ferkeln auslösen kann, ist hier keine alternative Möglichkeit anstelle eines Tierversuches am Schwein zulässig.

**Verminderung:** Da über die Eigenschaften des fraglichen Virusisolates bislang keine Aussagen gemacht werden können, ist es kaum möglich eine geeignete Anzahl an Versuchstieren abzuschätzen. In 20 Schweinen sehen die beteiligten Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler die mindestens notwendige Anzahl, um aus dem Versuch einen Erkenntnisgewinn erzielen zu können. Von diesen 20 Tieren bekommen 10 Tiere das Virus injiziert, die Kontaktgruppe und die Kontrollgruppe sind mit je fünf Tieren auf ein notwendiges Minimum reduziert.

**Verfeinerung:** Die Ferkel werden unter den bestmöglichen Bedingungen gehalten. Gruppenhaltung, ad libitum Fütterung, ständiger Zugang zu sauberem Trinkwasser sowie die Verfügbarkeit von geeignetem Beschäftigungsmaterial werden gewährleistet. Des Weiteren werden die Tiere von sachkundigem Personal optimal betreut und in angemessenen Abständen kontrolliert. Tiere, die schwer erkranken und schwer leiden, sind unverzüglich tierschutzkonform zu töten.

Eine rückblickende Bewertung ist **bis spätestens 30. April 2018** vorgesehen.

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

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

Störungen der Nierenfunktion und Nierenversagen sind häufige und schwer wiegende Komplikationen bei Patienten mit cholestatischen Lebererkrankungen. Unser Studienziel ist daher die Pathogenese der cholämischen Nephropathie zu untersuchen um darauf aufbauend innovative Therapiekonzepte zu entwickeln. Um die Pathobiologie für diese spezifischen Tubulusepitheldefekte und die daraus entstehende tubulointerstitielle Nierenfibrose zu klären, planen wir detaillierte, longitudinale Studien in Gallengangs-ligierten Mäusen, einem speziellen Modell für cholestatische und fortgeschrittene Lebererkrankungen.

zu erwartender Nutzen: Systemische Komplikationen von Erkrankungen der Leber und der Gallenwege wie z. B. ein akutes Nierenversagen führen oftmals zu einer Verschlechterung des Zustandes der betroffenen Patientinnen und sind bislang sowohl in Bezug auf Diagnostik als auch in Bezug auf therapeutische Maßnahmen im klinischen Alltag unterrepräsentiert. Die Untersuchungen im Tiermodell werden neue Erkenntnisse in der Entstehung cholestatischer Lebererkrankungen und deren Komplikationen bringen, die direkte diagnostische und therapeutische Implikationen für die Betreuung von Patientinnen mit Leber- und Gallenwegserkrankungen nach sich ziehen sollen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: An den Versuchstieren werden zur Beurteilung des Einflusses von Gallensäuren auf die Niere folgende Experimente durchgeführt:

- Operationen am Bauch in Narkose und unter adäquater Schmerztherapie
- Tötung der Niere unter Narkose

Neben genetisch unveränderten sogenannten Wildtyp Mäusen kommen auch genetisch veränderte Mäuse zum Einsatz, die jedoch durch ihre Mutation alleine in ihrem Dasein nicht beeinträchtigt sind und eine normale Lebenserwartung aufweisen. Der höchste Schweregrad der Experimente ist den langjährigen Erfahrungen des Projektleiters zufolge als "mittel" einzustufen. Alle oben beschrieben

Versuche werden schon seit mehreren Jahren an der Tierversuchsanstalt durchgeführt und laufend optimiert um den Schaden gering zu halten.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Für dieses Projekt werden **insgesamt 908 Mäuse** verwendet (874 bereits genehmigte Tiere plus **zusätzlich 34 noch notwendige Tiere**)

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

**Vermeidung:** Bei den Experimenten handelt es sich um Untersuchungen von biologischen Regelmechanismen, die nur in vivo durchgeführt werden können, da sie die komplizierte Interaktion der erkrankten, cholestatischen Leber mit der Niere im Gesamtorganismus erfordert. Die in vivo Experimente werden, wenn immer möglich, durch in vitro Untersuchungen ergänzt werden.

**Verminderung:** Bei der Erstellung des Versuchsplanes wurde darauf geachtet, dass die Versuche mit der geringstmöglichen Belastung und kleinstmöglichen Anzahl an Versuchstieren in einem stufenweisen Prozess durchgeführt werden. In einem ersten Schritt sind die jeweiligen Experimente mit einer Tierzahl von 5 Tieren pro Gruppe geplant. Nach unseren Erfahrungen sollten diese Zahlen in einem ersten Schritt zu einer Abschätzung weiterer notwendiger Experimente ausreichend sein. Bei der Tötung der Tiere werden sämtliche Gewebe in standardisierter Weise nach Vorkühlung in Methylbutan in flüssigem Stickstoff und nach Formalinfixierung in Paraffin gelagert, um eventuell nötige Nachbestimmungen unter Minimierung des Tierbedarfs durchführen zu können. Durch die Wahl eines stufenweisen Versuchsplanes wie oben angeführt ist die Gefahr nicht gerechtfertigter doppelter Durchführung von Tierversuchen minimiert. Durch ein sehr präzises Dokumentationssystem der Tierversuche und gewonnenen Gewebe und Körperflüssigkeiten haben wir im Sinne dieser qualitätsfördernden Maßnahmen die Verwertungsmöglichkeiten der gewonnenen Materialien weiter steigern 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 wird den Tieren Enrichment in Form von Nistmaterial und Häuschen zur Verfügung gestellt. Nach operativen Eingriffen werden die Tiere einer Schmerztherapie zugeführt und engmaschig vom Projektpersonal und Tierarzt kontrolliert.

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

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

Mit dem Alter nehmen sowohl Schwere als auch Inzidenz von Infektionen bei älteren Menschen zu, einhergehend mit einer verminderten Wirksamkeit von Impfungen. Vor dem Hintergrund stetig steigender Lebenserwartung in Industrieländern gewinnt die Thematik des gesunden Alterns zunehmend an Bedeutung. Eine Strategie, um möglichst vielen Menschen zu helfen, gesund alt zu werden, ist die intensive Suche nach Möglichkeiten, Impfungen für ältere Menschen zu verbessern. Faktoren, die den Impferfolg beeinflussen, sind zum Beispiel das immunologische Gedächtnis, Veränderungen des B- und T-Zell-Kompartiments oder altersbedingte Veränderungen des Knochenmarks. Allerdings werden die Bedeutung und Auswirkungen dieser Faktoren bislang noch unzureichend verstanden. zu erwartender Nutzen: Wir wollen zwei weitere offenen Forschungsfragen angehen und untersuchen:

- Charakterisierung der Veränderung der zellulären Prozesse in Bund T Zellen vor und nach der zweiten Impfdosis unter Berücksichtigung des Alters und
- GMCSF als mögliches Adjuvanz um die Antikörperproduktion zu verbessern.

zu erwartender Schaden: Um diese Faktoren zu untersuchen, werden wir zu einem Mausmodell greifen und Tetanus-sowie Diphtherie-Toxoide (humanen Tetanus/Diphtherie Impfstoff) als Antigene verwenden. Durch das Verändern beziehungsweise Anpassen jedes einzelnen Faktors und das Simulieren menschlicher Impfstrategien werden wir in der Lage sein, einen Einblick in die wechselseitige Abhängigkeit dieser Faktoren zu gewinnen. Schließlich werden wir neue Möglichkeiten für die Verbesserung von Impfungen bei älteren Menschen aufzeigen.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Für die beiden neuen Experimente ist vorgesehen, zusätzlich zum Hauptantrag **36 weitere Mäuse** zu verwenden, so dass einschließlich Hauptantrag **insgesamt 240 Mäuse** benötigt werden.



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

Durch entsprechende Maßnahmen wird sichergestellt, dass die Zahl der Versuchstiere minimal gehalten wird, indem alle notwendigen Schritte zur Vermeidung und Verminderung sowie Verfeinerung der geplanten Tierexperimente berücksichtigt werden.

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

Zwei verschiedene Bodensysteme (Plastikroste mit Schlitzten oder Löchern) werden auf deren Einfluss auf die Gesundheit und das Wohlergehen der Tiere getestet. Die Tiere werden am Anfang der Studie klinisch auf ihren Gesundheitszustand überprüft, es werden Kotproben genommen und die Hälfte der Tiere wird für eine Videoaufzeichnung am Rücken mit Farbe markiert. Es werden mögliche Verletzungen und Verschmutzungen der Tiere aufgezeichnet und das Verhalten der Tiere wird ausgewertet.

zu erwartender Nutzen: Verbesserung der Bodengestaltung in der Kaninchenaufzucht

zu erwartender Schaden für die Tiere: In dieser Studie sollen die Haltungsbedingungen für die Tiere verbessert werden. Die Haltungssysteme, die für die Studie getestet werden, sind besser als das bisherige System, allerdings kann durch die Untersuchungen für die Studie (Videoaufnahmen, klinische Untersuchungen) eine geringe Belastung für die Tiere auftreten.

2. Art und Anzahl der Tiere

**Erhöhung der Tierzahl von 208 auf 304 Kaninchen**

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

Verminderung: Zur Erhebung der Stichprobengröße wurde eine Power-Analyse durchgeführt

Verfeinerung: Die Studie selbst dient dazu, die Haltung der Tiere zu verbessern.

Vermeidung: Studien zur Verbesserung der Tierhaltung lassen keine Alternative ohne Tiere zu.

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 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. 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 somit 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 Bildkontrast 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. 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 beantragten Experimente stellen eine geringe Belastung der Tiere dar. Da die Messung mit Licht durchgeführt wird, ist sie berührungslos, kontaktfrei, schnell und schmerzlos. Zur Immobilisierung der

Mäuse während der Messung reicht eine leichte Narkose. Der Schweregrad der phenotypischen Auswirkungen der untersuchten Mausmodelle ist je nach Genotyp gering bis mittel.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

**160 männliche und 160 weibliche Mäuse (Erhöhung um 200 Mäuse)** unterschiedlichen Genotyps .

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

**Vermeidung:** Im Gegensatz zur Standardmethode für die präklinische Untersuchung von altersbezogenen Erkrankungen- der histopahtologischen Untersuchung- aber auch im Gegensatz zu berührungsfreien bildgebenden Verfahren wie PET oder MRT ist die optische Bildgebung nicht-invasiv und benötigt keine Kontrastmittel. Für das berührungs- und schmerzfrei optische Verfahren ist eine kurzweilige, leichte Narkose der Versuchstiere zur Vermeidung von Bewegungsartefakten ausreichend. Dadurch ermöglichen optische Messungen 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 Läsionen ermöglicht. Tierhaltung und Methodik erfolgen standardisiert, um die Streuung der Ergebnisse zu minimieren. Die Tierzahlen wurden auf ein notwendiges Minimum reduziert.

**Verminderung:** Ein und dasselbe Tier kann wiederholt untersucht werden. Damit stellt die optische Bildgebung ein vielversprechendes Diagnosemittel im Sinne der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verbesserung der Verwendung von Tieren) dar. Zur weiteren Verminderung der Streuung durch genetische Unterschiede werden in den Versuchen nichttransgene Wurfgeschwister als Wildtypkontrollen verwendet.

**Verfeinerung:** Es wird auf eine möglichst geringe Belastung der Versuchstiere vor, während und nach den Versuchen geachtet. Die Tiere sind in einer modernen Tierhaltung in sozialen Gruppen unter veterinärmedizinischer Aufsicht untergebracht. Sie werden regelmäßig sowohl von ausgebildeten TierpflegerInnen als auch von wissenschaftlichen MitarbeiterInnen auf ihr Wohlbefinden überwacht.

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

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

Die Kurse dienen dem Ausbildungstraining von Chirurgen in minimal-invasiv chirurgischen Techniken. An narkotisierten Schweinen werden verschiedene Routineoperationen von jungen Chirurgen durchgeführt um entsprechende Fertigkeiten für die Eingriffe an humanen Patienten am Tiermodell zu erlernen. Es handelt sich um Akutversuche mit einer sehr geringen Belastung der Tiere. Der Nutzen für den Patienten ist groß da technische Operationskomplikationen durch die Ausbildung der Chirurgen am Tier reduziert werden und auch die Operationszeiten reduziert werden.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden für das chirurgische Training für 3 Jahre **222 Schweine (Erhöhung um 120 Schweine)** verwendet.

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

Die chirurgischen Techniken können teilweise an Ersatzmodellen zuvor trainiert werden (Replacement). Es ist aber anschließend notwendig die Operationen am lebenden Organismus durchzuführen. Es wird die minimale Anzahl an Tieren verwendet. Mehrere Chirurgen bilden ein Operationsteam und können die Eingriffe an einem Tier trainieren (Reduction). Die Versuche finden unter standardisierten Bedingungen statt (Refinement).