

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**

Da sowohl im Menschen wie auch in älteren Hunden Krebs eine führende Todesursache darstellt, und die Tumorbiologie und Wachstumssignale des Hunde- und menschlichen Brustkrebs bemerkenswert ähnlich sind, sollten beide Patientengruppen von neuen Entwicklungen profitieren. Ein vielversprechendes Ziel für die Diagnose und Therapie von Krebs mittels Immunglobulinen stellt in Mensch und Hund der "Epidermal Growth Factor Receptor" (EGFR) dar, da gezeigt werden konnte, dass er bei beiden in Tumoren vermehrt vorkommt. Um die anti-EGFR Immundiagnose und -therapie zu optimieren, entwickelte unsere Gruppe ein auf Hund getrimmtes Immunglobulin gegen EGFR, genannt "can225IgG", das dem im Menschen klinisch angewandten anti-EGFR Antikörper Cetuximab nachgebaut ist. Damit könnte man Immundiagnose und -therapien in die Krebstherapie für Tiere einführen, aber in der Folge auch neue, innovative Anwendungen in klinischen Studien an Hundepatienten mit großer Aussagekraft für den menschlichen Patienten testen. Für das hier beschriebene Pilotexperiment zur Radio-Tumordiagnose mit can225IgG wurde das Immunglobulin zuerst chemisch vorbereitet, um es dann mit einem Radioisotop (<sup>99m</sup>Techneium) radioaktiv zu markieren. Damit wurde can225 Immunglobulin in einen Spurensucher umgewandelt, der Krebszellen in einem lebenden Organismus in der bildgebenden Diagnostik auffinden und anzeigen kann.

Es ist von äußerster Wichtigkeit die Treffsicherheit von can225IgG in einem Mausmodell zu zeigen, bevor Hunde- und Menschen-Patienten damit behandelt werden. In immun-inkompetenten Mäusen sollen humane und dann auch Hunde-Tumorzellen transplantiert werden, die durch die fehlende Abstoßung zu wachsen beginnen. Durch Verabreichung des radioaktiv markierten can225 Immunglobulins an die Mäuse erwarten wir, über Bildgebung mittels SPECT/CT, wie später in den Patienten, die Tumoren lokalisieren zu können.

*zu erwartender Nutzen:* Die Studien tragen zur Entwicklung eines diagnostischen, bildgebenden Suchwerkzeuges für Krebs in der Veterinärmedizin bei und werden wesentliche Erkenntnisse zur Verbesserung der Bildgebung von Tumoren in der Humanmedizin begründen.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Die Konzentration des radioaktiven Diagnostikums ist so gering, dass keine pharmakologischen oder toxikologischen Wirkungen in den Tieren zu erwarten sind.

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

Es werden gesamt 72 immun-inkompetente Mäuse unter Beachtung der Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung) verwendet.

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

Die beantragten Tierversuche sind unerlässlich vor einer erstmaligen Applikation im Hundepatient bzw. später im Menschen. 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 konnte die Variabilität vermindert werden, weshalb geringere Fallzahlen verwendet werden können. 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**

Fasten oder Kalorienreduktion wird als therapeutische Zusatzmaßnahme in diversen Pathologien untersucht und eingesetzt. Als Beispiele können Epilepsie, Arthritis und Krebs angeführt werden. Die Mechanismen hinter der positiven Wirkung sind weitgehend unbekannt. In einer vom Projektleiter geführten Studie wurde kürzlich gezeigt, dass spezielle, im Zusammenhang mit Fasten bisher unbeschriebene, Signalwege durch das Fasten in mehreren Mausgeweben aktiviert werden. Um die Mechanismen zur Regulation dieser Signalwege zu untersuchen, wird eine umfassende Studie durchgeführt um die Expression spezifischer Proteine im Fasten zu untersuchen. Mit den Ergebnissen dieser Studien sollten bislang unbekannte Mechanismen aufgeschlüsselt werden, deren Verständnis den Einsatz von therapeutischem Fasten besser auf individuelle Patienten abstimmen lässt.

*zu erwartender Nutzen:* Durch das Wissen über die genauen Mechanismen könnte der Einsatz von therapeutischem Fasten besser auf individuelle Patienten abgestimmt werden.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Da das Fasten von Mäusen sehr gut vertragen wird, sind außer Hungergefühl keine Schäden zu erwarten.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

21 männliche Mäuse

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

*Vermeidung:* Um die komplexen, physiologischen Zusammenhänge während des Fastens (z.B. Interorgankommunikation) zu berücksichtigen, müssen die Untersuchungen *in vivo* erfolgen. Genauere mechanistische Details, werden im Folgenden in Zellkulturmodellsystemen untersucht.

*Verminderung:* Bei der Wahl der Gruppengröße, wurde großer Wert darauf gelegt, die Versuche mit jener minimalen Anzahl an Mäusen durchzuführen, die statistisch notwendig ist, um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten. Zusätzlich kann durch die Verwendung sämtlicher Gewebe, sowie die Durchführung mehrerer verschiedener Analysemethoden die Tierzahl gering gehalten werden.

*Verfeinerung:* Bei der Durchführung unserer Versuche sowie der Haltung der Mäuse gehen wir nach international üblichen Standards vor. Die Tiere werden in Gruppen gehalten und um das Wohlbefinden zu steigern wird den Tieren Enrichment in Form von Nistmaterial und Häuschen zur Verfügung gestellt. Durch Handling von ausgebildeten Tierpflegern, die die Tiere versorgen, werden die Mäuse an den Umgang mit Menschen gewöhnt, und zusätzlicher Stress kann dadurch vermieden werden. Zusätzlich werden die Mäuse routinemäßig von Tierärzten auf ihren Gesundheitszustand kontrolliert. Sollte ein Tier zu irgendeinem Zeitpunkt Symptome von Stress und/oder Schmerzen zeigen, entscheidet der Tierarzt über die weitere Vorgehensweise.

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

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

Intramuskulären Triglyceride (IMTGs) durch überschüssige Zufuhr von freien Fettsäuren können im Muskel zu Defekten in der Insulin-Signalkaskade führen, was eine muskuläre Insulinresistenz verursachen kann. Die Ursachen für diese Muskelinsulinresistenz sind nicht gut verstanden. Die Assoziation von erhöhten IMTG und Insulinresistenz konnte bei fettleibigen Menschen sowie bei Typ 2 Diabetikern gezeigt werden. Diese beiden Gruppen leiden unter verminderter Insulinsensitivität. Trotz der starken Beziehung zwischen IMTG und Insulinresistenz, verschwindet diese Assoziation, wenn gut trainierte Ausdauersportler in diese Betrachtung miteingeschlossen werden, da diese Gruppe sehr Insulin sensitiv ist. Dieses Stoffwechsel-Rätsel wird als "Athleten Paradoxon" bezeichnet. Mit diesem Projekt sollen die Mechanismen des "Athleten Paradoxon" aufgeklärt werden. Dies soll dazu beitragen, ein besseres Verständnis für die positiven Auswirkungen der Bewegung sowie die molekularen Mechanismen, welche für die periphere Skelettmuskel Insulinresistenz verantwortlich sind, zu entwickeln.

*zu erwartender Nutzen:* Sowohl Athleten als auch fettleibige Personen weisen hohe IMTG-Werte auf. Während Fettleibige erwartungsgemäß insulin-resistent sind, sind Athleten trotz dieser Fette im Muskel sehr insulinsensitiv. Die Mechanismen, welche in den Fettleibigen und Typ 2 Diabetiker zu verminderter und in den Athleten zu erhöhter Insulinsensitivität führen, sind jedoch noch sehr unzureichend aufgeklärt. Wir erwarten uns von diesem Projekt ein besseres Verständnis über die zugrundeliegenden Mechanismen der muskulären Insulinresistenz, wodurch dieses Projekt zur Entwicklung von möglichen pharmakologischen oder sportbezogenen Interventionen beitragen kann. Dieses Wissen ist für weiterführende Studien sehr wertvoll und kann hoffentlich bald den betroffenen Patienten, welche an verschiedenen Stoffwechselerkrankungen (Fettleibigkeit, Typ 2 Diabetes) leiden, zugutekommen.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* In dieser Studie hat die Maus stets völlige Kontrolle über gelaufene Zeit und Geschwindigkeit (voluntary running). Es ist bekannt, dass Mäuse in der Nacht bis zu 10 km laufen. Interessanterweise nutzen Mäuse Laufräder ohne Belohnung auch dann häufig, wenn man diese in der freien Natur zur Verfügung stellt. Die Benutzung des Laufrads ist also ein Wahlverhalten und daher ist kein Schaden durch diese Benutzung für das Tier zu erwarten. Der einzige Schaden für das Tier besteht in der fachgerechten Tötung am Ende des Experiments durch zervikale Dislokation bzw. die Fütterung eines fettreichen Futters.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

120 Mäuse in einem Zeitraum von 3 Jahren

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

*Verminderung:* Die Tierzahl wurde auf das statistisch notwendige Mindestmaß reduziert. Tiere, bei denen sich zeigt, dass sie ungern laufen, werden in den Kontrollgruppen ohne Laufrad verwendet.

*Verfeinerung:* Dieses Experiment kann dazu beitragen, die möglichen Empfehlungen zur Benutzung von Laufrädern für Mäuse zu verfeinern.

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“ gemäß § 3 Abs 1 TVG 2012 zuzuordnen.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

Die zu untersuchenden Tiere sind 63 Sprague Dawley Ratten.

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

Die Versuchsbedingungen werden so gewählt, dass mittels potenter Narkose und Analgesie, die tägliche tierärztliche Inspektion aller operierten Tiere und die tägliche tierpflegerische Betreuung und Konditionierung aller Tiere Schmerzen, Leiden und Ängste der Tiere möglichst minimiert werden.

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

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

Das Projekt untersucht die Evolution multimodaler Signale basierend auf Verhaltensexperimenten, unter Beeinflussung von Gehirnschaltkreisen und Muskelphysiologie, bei den visuell signalisierenden Winkerfröschen. Zusätzlich zur bekannten akustischen Kommunikation bei Fröschen signalisieren Winkerfrösche ebenso mit Hilfe von visuellen Signalen. Das auffällige Beinwinken, bei dem für kurze Zeit eine hell gefärbte Schwimnhaut dem Rivalen präsentiert wird, gilt als innerartliches Signal. Diese spezielle Anpassung an lautstarke, schnellfließende Bergbäche konnte bereits für mehrere Arten aus verschiedenen Familien dokumentiert werden. Das visuelle Anzeigeverhalten benötigt vermutlich präzise Koordination von verschiedenen neuronalen Schaltkreisen und Muskelgruppen. Da das visuelle Signal speziell in Männchen-Männchen Kämpfen eingesetzt wird, geht unsere Hypothese davon aus, dass Hormone die Komplexität der Signale modulieren. Es sollen physiologische Manipulationen durchgeführt werden, die die Hormonaufnahme im Gehirn und Muskelgewebe untersuchen. Zwanzig Individuen einer Winkerfroschart, geteilt in zwei Behandlungsgruppen zu je zwei Individuen, erhalten mittels intraperitoneal Injektion Testosteron und eine Kontrollsubstanz. Im Anschluss wird das Verhalten der Tiere aufgezeichnet.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

20 Winkerfrösche

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

Die zu testenden Individuen werden in Terrarien mit Wasser und ausreichenden Angebot an Sitz- und Schlafplätzen gehalten. Abgesehen von der Injektion erfolgt keine weitere Störung durch den Experimentator. Die Tiere werden täglich gefüttert und die Behandlungssubstanzen sind ungiftig und behindern weder die Gesundheit noch die weitere Entwicklung der Tiere.

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 der beantragten Versuche ist es, die Grundlage für neue therapeutische Strategien zur Behandlung von neurodegenerativen Erkrankungen nach Hirn-Traumata zu schaffen. Diese Erkrankungen sind ein massives gesundheitspolitisches Problem mit oft lebenslangen Folgen für die Betroffenen. Wir wollen das Potential einer neuen Gentherapie nach Hirntraumata testen und deren klinische Verwertbarkeit beurteilen. Die Belastung der Tiere besteht zum einen durch die EEG Ableitungen zum anderen durch die operativen Eingriffe sowie durch traumatische neuronale Schäden, die jedoch durch die Behandlung deutlich abgeschwächt werden. Im Allgemeinen zeigen die Tiere weitgehend normales Verhalten und normale Gewichtsentwicklung.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

Es werden 133 Mäuse in insgesamt 3 Jahren untersucht.

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

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

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

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

Abbaubare Biomaterialien sind von großem Interesse für den Gewebeersatz. In diesem Projekt sollen neue Kunststoffe hinsichtlich ihrer biologischen Verträglichkeit gemäß ISO 10993 untersucht werden. Die Besiedelung der Materialien mit Abwehrzellen des Körpers und die Freisetzung von Entzündungsmediatoren wird untersucht und mit einem derzeitigen Standardkunststoffmaterial für Geweberekonstruktionen verglichen

*zu erwartender Nutzen:* Die Entwicklung von abbaubaren, biokompatiblen Kunststoffen hätte für Patienten viele Vorteile gegenüber permanenten Implantaten. Durch die vollständige Entfernung des Biomaterials bleiben keine Kunststoffreste im Körper zurück, die Entzündungsreaktionen hervorrufen können. Das neu gebildete Ersatzkonstrukt wäre voll funktionsfähig und könnte sich bei Bedarf an geänderte physiologische Bedingungen des Empfängers (z.B. Wachstum bei jugendlichen Patienten) anpassen.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Die Tiere werden durch die Biokompatibilitätstestung gering, maximal kurzfristig mittelgradig, belastet.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

148 Ratten

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

*Vermeidung:* Die Prüfung der Materialien erfolgt zuerst *in-vitro* in der Zellkultur. Anschließend müssen die Materialien aber in einem lebenden Organismus geprüft werden.

*Verminderung:* Es werden nur die minimalen Tierzahlen verwendet, die zu einem statistisch aussagekräftigen Ergebnis führen.

*Verfeinerung:* Alle Versuche erfolgen unter standardisierten Testbedingungen.

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

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

Chronisch-Entzündliche Darmerkrankungen (CED) sind häufige autoimmun-entzündliche Erkrankungen des Darmes die aber auch unter Umständen den gesamten Gastrointestinal Trakt befallen können. In Europa sind 2,5-3 Millionen Patienten davon betroffen und die Inzidenz ist in den letzten 50 Jahren rasant angestiegen. Chronisch-entzündliche autoimmune Darmkrankheiten können nur am Gesamtorganismus untersucht werden. Die anti-entzündliche Wirkung speziell präparierter Leukozyten konnte bereits am autoimmunen Myokarditismodell nachgewiesen werden und soll nun am Mausmodell der CED untersucht werden.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

410 Mäuse unterschiedlichen Genotyps

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

Das Projekt verwendet ein sehr gut etabliertes und international akzeptiertes Mausmodell und berücksichtigt alle Anforderungen zur Vermeidung, Verminderung und Verbesserung der Untersuchungen. Für den Erhalt aussagekräftiger Resultate ist die Versuchsgröße basierend auf einer Fallzahlberechnung so gering wie möglich kalkuliert. Durch Standardisierung aller Haltungs- und Versuchsbedingungen sowie genauer Versuchsplanung wird eine geringe Streuung der Versuchsergebnisse ermöglicht und somit die Tierzahl auf das notwendige Minimum reduziert.



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

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

Forschungsprojekt zum Gamswild vorgeschlagen, welches der Grundlagenforschung zur Entwicklung, zum Raumverhalten und zur Bestandesdynamik von Gamswildpopulationen im Hochgebirge dienen soll. Ziel des Projektes ist es, im Zeitraum zwischen 2013 und 2016 die Gamsbestände so genau wie möglich zu erfassen und wenn möglich den Altersklassenaufbau zumindest nach Altersgruppen zu differenzieren. Gleichzeitig werden die Daten genutzt, um die Zuwachsraten und Entwicklung der Population in der Vergangenheit auszuwerten. Um das Raumverhalten und die Lebensraumnutzung einzelner Tiere sowie die Stabilität der Rudel erkennen zu können, sollen fünf Gämsen mit einem GPS bzw. GSM Sender bzw. weitere Tiere mit Ohrmarken versehen werden. Die erhobenen Daten werden mit anderen Studien zum Raumverhalten von Gamswild sowohl bejagter als auch unbejagter Populationen verglichen. Der Zuwachs und das Geschlechterverhältnis der Kitze soll mit jenen der einjährigen Tiere sowie den Witterungsdaten verglichen werden. Weiters wird, soweit Daten vorliegen versucht, mögliche Zusammenhänge zwischen Gewichtsentwicklung, Kondition und Wilddichte zu erkennen. Die gewonnenen Ergebnisse sollen zum besseren Verständnis der Einflüsse, welche auf Hochgebirgspopulationen wirken, beitragen. Die Nutzungsraten sowie vorgegebenen Altersklassen in der Jagd werden auf diese Weise überprüft und mögliche Erkenntnisse können zur Verbesserung des Wohlergehens der Einzelindividuen und somit der Population beitragen. Gleichzeitig werden Organe entnommenen Gämsen untersucht und Rückschlüsse auf den Gesundheitsstatus der Population gezogen.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

Bei den Versuchstieren handelt es sich um freilebende Gämsen. Für die Untersuchung des Raumverhaltens sollen fünf Gämsen bis Ende des Jahres 2015 mit einer Lebendfalle aus Holz gefangen und besendert werden. Es wird davon ausgegangen, dass jährlich 2 bis 3 Tiere (über den Projektzeitraum somit 8 bis 12 Tiere) zusätzlich mit Ohrmarken markiert werden können.

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

Sind die Fallen fängisch gestellt, werden sie täglich mindestens einmal überprüft. Durch die Bauart der Falle kann im Falle eines gefangenen Tieres darauf verzichtet werden, dass die Tiere immobilisiert werden müssen. Bei abgedeckten Lichtern (Augen) verhalten sich die Tiere ruhig und können dadurch relativ unproblematisch besendert oder markiert werden. Dabei sind sie zwar kurzzeitig einer Stresssituation, allerdings nicht der Belastung von Immobilisationsmitteln ausgesetzt. Diese stellen immer eine Belastung für den Wildkörper dar, was mit gewissen Risiken verbunden ist. Für das Ergreifen der Tiere in der Falle und das Anlegen des Senders sind nur wenige Minuten notwendig, wie andere Projekte gezeigt haben. Zusätzlich sollen Tiere mit Ohrmarken markiert werden, um sie im Gelände individuell erkennen zu können. Dies geschieht ebenfalls über dieselben beiden Lebendfallen, nimmt allerdings noch weniger Zeit in Anspruch. Zur rascheren Erkennbarkeit im Gelände werden diese Tiere vermutlich auch mit Hornbändern (handelsübliche Isolier- oder Tape-Bänder) versehen. Bei allen Tieren, welche in der Lebendfalle gefangen werden, wird Alter, Gewicht und Geschlecht bestimmt. Blutproben sollen keine entnommen werden.

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

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

**Ziel:** Untersuchung der Schutzfunktion von Impfstoffen gegen *Avibacterium paragallinarum* und *Gallibacterium anatis*.

**zu erwartender Nutzen:** Im vorliegenden Versuch werden Kenntnisse über die Schutzwirkung von kommerziellen Impfstoffen gegenüber *Av. paragallinarum* und *G. anatis* ermittelt. Der infektiöse Hühnerschnupfen ist eine bedeutende Erkrankung, die in letzten Jahren in alternativen Haltungssystemen wieder vermehrt auftritt. Gleichzeitig ist nicht auszuschließen, dass Ko-Infektionen unterschiedlicher Erreger das Krankheitsbild wesentlich beeinflussen. Die Entwicklung einer Bekämpfungsstrategie hat somit erhebliche Auswirkungen, um eine effiziente Prophylaxe zu etablieren.

**zu erwartender Schaden für die Tiere:** Bei nicht geschützten Tieren kann es zu einer Verschlechterung des Allgemeinbefindens der Tiere sowie zu Atemwegserkrankung kommen. Der Belastungsgrad ist als "mittel" anzusetzen.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

105 spezifiziert pathogenfreie (SPF) Hühner

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

**Vermeidung:** Ein Tierversuch ist in diesem Fall unerlässlich, da die Auswirkung und die Effektivität einer spezifischen körpereigenen Immunität zu untersuchen gilt und daher durch Alternativmethoden nicht ersetzt werden kann.

**Verminderung:** Es wird jene minimale Anzahl von Tieren verwendet, die zugleich die statistische Berechenbarkeit der Ergebnisse sicherstellt.

**Verfeinerung:** Die Tiere werden ihrer Art entsprechend untergebracht und angemessen ernährt. Regelmäßige Beobachtungen, klinische Untersuchungen, Überprüfen des Gesundheitsstatus der Tiere sowie die Festsetzung von Abbruchkriterien sollen protrahiertes Tierleid verhindern bzw. verringern.

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

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

**Ziel:** Zucht und Haltung genetisch veränderter Labormäuse

**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 sich dadurch auszeichnen, dass sie eine spontan entstandene oder gentechnisch induzierte Mutation in ihrem Erbgut tragen. Die genetisch veränderten Tiere dienen als Modelle in verschiedenen Bereichen der biomedizinischen Forschung.

**zu erwartender Schaden für die Tiere:** Genetisch veränderte Mäuse, bei denen mit einer möglichen schweren 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. Die beobachteten phänotypischen Veränderungen vor und nach den ergriffenen Maßnahmen werden dokumentiert.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

2.600 Labormäuse (*Mus musculus*) auf einen Zeitraum von 5 Jahren.

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

**Vermeidung:** Nicht möglich.

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

**Verfeinerung:** Altersabhängige phänotypische Veränderungen werden bei der Zucht und Haltung der Tiere berücksichtigt, indem bestimmte Altersgrenzen nicht überschritten werden. Methoden zur individuellen Kennzeichnung werden dem Zweck entsprechend und möglichst wenig belastend durchgeführt.

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

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

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

Die Produktion von Antikörpern ist für die Abwehr verschiedenster Krankheitserreger sowie für durch Impfungen induzierte schützende Immunantworten nötig. Damit B Zellen Antikörper bilden können, muss vorher im Lymphknoten eine sogenannte Keimzentrumsreaktion stattfinden. Vor kurzem konnte gezeigt werden, dass bestimmte Typen von dendritischen Zellen bei diesem Prozess eine Rolle spielen. Dafür wurden Mäuse verwendet, in denen diese Zelltypen gezielt für einen gewissen Zeitraum depletiert werden können. Zusätzlich stehen uns Mäuse zur Verfügung, bei denen alle B Zellen, die eine Keimzentrumsreaktion durchlaufen haben, mit einem Farbstoff markiert und so einfach nachzuweisen sind. In dem vorgelegten Projekt wollen wir diese beiden Mausstämme so untereinander verpaaren, dass es mit den Nachkommen möglich ist, die Auswirkung des Fehlens eines oder mehrerer Subtypen von dendritischen Zellen auf die Keimzentrumsreaktion im Detail zu studieren.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

Dazu müssen Versuche durchgeführt werden, die (basierend auf statistischer Auswertung publizierter Daten) eine Gesamtzahl von 100 Mäusen erfordern.

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

Sowohl für die Immunisierung mit dem Modellantigen Ovalbumin als auch für die Depletion unterschiedlicher Typen dendritischer Zellen werden möglichst geringe Dosen an Antigen bzw. Diphtherie Toxin durch intraperitoneale Injektion verabreicht. Um die Keimzentrums-B Zellen farblich zu markieren, wird den Mäusen oral eine einmalige Gabe von Tamoxifen verabreicht. Alle angewandten Methoden fallen in die geringste Schweregradkategorie. Die in dem vorgelegten Projekt neu generierten Mausstämme sind nicht nur für mechanistische Studien von Bedeutung, sondern auch von großem Wert für die Entwicklung neuer Impfstoffe.

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

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

Die Fabry Erkrankung, die nach neuen Studien mit einer Inzidenz von 1:4000 Geburten in Österreich vorkommt, ist eine lebensverkürzende, metabolische Erkrankung, die verursacht wird durch einen genetischen Defekt der lysosomalen  $\alpha$ -Galactosidase A. Bereits in frühen Erkrankungsstadien treten brennende Schmerzen auf, deren Ursache bisher nicht aufgeklärt ist. Die Pathophysiologie der Schmerzen beim *M. Fabry* ist größtenteils unbekannt, und die Erfolge bei der Behandlung von Fabry-Schmerzen durch Enzymersatz sind unzufriedenstellend. Wir erwarten, im Rahmen des vorliegenden Projekt neue Erkenntnisse zu gewinnen und zu verstehen, wie Fabry assoziierte Lipide zum Fabry-Schmerz beitragen.

*zu erwartender Nutzen:* Das Ziel ist aus den hier gewonnenen Erkenntnissen geeignete Behandlungsstrategien für Fabry-Patienten zu entwickeln, um dessen Schmerzen besser behandeln zu können.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Die erwartende Schaden für die lebende, wildtype Mäuse und Mäuse mit einem genetischen Defekt der  $\alpha$ -Galactosidase A wird als gering bis mittelschwer eingeschätzt

**2. Art und Anzahl der Tiere**

300 Mäuse mit einem genetischen Defekt der  $\alpha$ -Galactosidase A und 150 Wild type Mäuse.

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

*Vermeidung:* Wenn immer möglich werden Erkenntnisse aus Gewebeuntersuchungen und Primärkulturen vorgezogen.

*Verminderung:* Durch eine exakte Versuchsplanung, geschultes Personal, Einbeziehung der neuesten Literatur und die Anwendung statistischer Verfahren wird die Zahl der Versuchstiere minimiert.

*Verfeinerung:* Durch optimale Haltebedingungen (unter 52 Wochen) wird sichergestellt, dass die Mäuse mit einem genetischen Defekt der  $\alpha$ -Galactosidase A keine klinischen Symptome entwickeln. Bestens geschultes Personal sorgt während der Versuche für minimale Stress-, Schmerz- und Angstzustände bei den Tieren.

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*

Trotz 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 bzw. 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 von vielen Pharmaunternehmen.

Transgene alpha-synuclein-A53T Mäuse wurden bereits im Zuge einer Studie im Verhalten charakterisiert. Um diese Tiere weiters auf ihre pathologischen Eigenschaften zu charakterisieren, soll hier die Neurogeneserate der Tiere im Hippokampus, Subventrikuläre Zone und Olfaktorischen Bulbus untersucht werden. Im Anschluss soll diese Methode auch Anwendung finden um zu testen ob neue Testsubstanzen Einfluss auf die Neurogeneserate nehmen können (nicht Teil dieses Antrags).

Für diese Studie sollen a-Syn A53T transgene Mäuse beiden Geschlechts und drei verschiedener Altersgruppen entweder einmalig oder wiederholt für 5 Tage mit BrdU behandelt werden. Die einmalig behandelten Tiere werden nach 24 Stunden, die wiederholt behandelten Tiere nach 30 Tagen euthanasiert. Da BrdU sich in proliferierende Zellen einbaut und die Blut-Hirn-Schranke überwinden kann, kann auf diesem Weg die Neurogenese im erwachsenen Gehirn nachgewiesen werden. Durch die Verwendung verschiedener Altersgruppen kann der Verlauf der Proliferationsrate über das Alter der Tiere beobachtet werden. Durch die Untersuchung der Tiere 24 Stunden bzw. 30 Tage nach der BrdU Injektion kann einerseits die akute Zahl an Proliferationen und andererseits der Verbleib der Zellen, quantitativ wie qualitativ, analysiert werden.

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

Für diese Studie werden insgesamt 48 transgene alpha Synuclein A53T Mäuse und 48 nicht transgene Geschwistertiere beantragt.

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

Zur Testung neuer Substanzen gegen die Parkinson'sche Krankheit ist es unabdingbar Tiermodelle zu entwickeln und ihren Phänotyp detailliert zu analysieren um diesen dann für die Austestung neuer Medikamente zu verwenden. Die Tierzahlen wurden so gering wie möglich aber so hoch wie nötig gewählt um signifikante Unterschiede erkennen zu können. Ausschließlich gesunde Tiere werden in die Studie eingeschlossen. Tiere gleichen Geschlechts werden solange es das Territorialverhalten der Tiere zulässt in Gruppen gehalten.

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

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

Das Projektziel ist die *in vivo* Untersuchung eines oralen Applikationssystems (Quick-release Kapseln). Die neu entwickelte Darreichungsform würde die Chancen auf die Erhöhung der Bioverfügbarkeit des Wirkstoffes verbessern. Dadurch kann eine Behandlung der Patienten besser und schonender werden. Diese Kapseln könnten Menschen helfen, die schmerzhaft, unangenehme Medikamenten verabreich und durch Injektion zu vermeiden. Dieses vielsprechende System würde psychische Belastungen und das Leid von Patienten, die an Angst vor der Injektion leiden, beseitigen. Besonders für Kinder kann das neue Applikationssystem die Behandlungsqualität von Kindern wesentlich verbessern. Die Tiere werden für die orale Gabe der Kapseln sediert, sodass sie keine Leiden oder Schmerzen haben.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

Für den Versuch werden 5 Kaninchen verwendet.

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

Die Entwicklung neuer oraler Applikationsformen ist wichtig für die Behandlung von Menschen mit Medikamenten, die eine niedrige Bioverfügbarkeit haben. Bis jetzt wurden zwar einige *in vitro* Experimente mit optimierten Quick-release Kapseln durchgeführt. Jedoch entsprechen diese *in vitro* Versuche nicht der realen Situation. Daher müssen die Kapseln verbessert werden. Die bisherige Kapselgröße wurde deutlich verkleinert und es wurden andere Materialien verwendet. Dadurch kann der Wirkstoff rascher aus den Kapseln freigesetzt werden seine Heilwirkung entfalten. Um eine sichere Darreichungsform für den Menschen zu entwickeln, lassen sich die Versuche mit den Tieren nicht vermeiden, weil man nur so die Bedingungen im Darm von Menschen am besten imitieren kann. Das Experiment wird mit einer minimalen Anzahl an Tieren durchgeführt. Der Versuchsablauf wird so organisiert, dass das Leid der eingesetzten Versuchstiere auf ein Minimum reduziert wird. Die Tiere sind während der MRI-oder SPECT Untersuchung fachgerecht sediert.

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 sich dadurch auszeichnen, dass sie eine spontan entstandene oder gentechnisch induzierte Mutation in ihrem Erbgut tragen. Die genetisch veränderten Tiere dienen als Modelle in verschiedenen Bereichen der biomedizinischen Forschung.

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

**2. Art und Anzahl der Tiere**

56.600 Labormäuse (*Mus musculus*) auf einen Zeitraum von 5 Jahren.

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

**Vermeidung:** Nicht möglich.

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

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



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

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

Das Projekt dient dem wissenschaftlichen Erkenntnisgewinn in der biomedizinischen Grundlagenforschung. Ziel ist es Gene und Mechanismen zu identifizieren, die für die neuronale Migration verantwortlich sind. Neuronale Migration, also die zielgerichtete Wanderung von Nervenzellen, ist ein Phänomen, das der Organisation des Säugetier-Gehirns zugrunde liegt. Neben gravierenden, aber seltenen Ausprägungen werden auch häufig vorkommende Störungen wie Epilepsie, Legasthenie und Schizophrenie mit beeinträchtigter Nervenzell-Wanderung in Verbindung gebracht. Ein Verständnis der zugrunde liegenden Mechanismen und der beteiligten Gene ist daher entscheidend, wenn man verbreitete psychiatrische Störungen ursächlich verstehen und behandeln will. Im Rahmen des Projekts, welches dem Schweregrad mittel zuzuordnen ist, werden Verhaltens-Testungen an genetisch veränderten Mäusen durchgeführt.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

Insgesamt werden während der fünfjährigen Laufzeit 2000 Mäuse benötigt.

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

Der Einsatz von qualifizierten und umfassend ausgebildeten Tierpflegern sowie die Fachkompetenz der beteiligten WissenschaftlerInnen garantieren dafür, dass die Zahl der benötigten Tiere und die unangenehmen Empfindungen, denen sie ausgesetzt sind, so gering wie möglich gehalten werden.

Eine rückblickende Bewertung ist jährlich (2016 bis 2020) vorgesehen.

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

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

**Ziel:** Zucht und Haltung genetisch veränderter Labormäuse

**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 sich dadurch auszeichnen, dass sie eine spontan entstandene oder gentechnisch induzierte Mutation in ihrem Erbgut tragen. Die genetisch veränderten Tiere dienen als Modelle in verschiedenen Bereichen der biomedizinischen Forschung,

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

**2. Art und Anzahl der Tiere**

56750 Labormäuse (*Mus musculus*) auf einen Zeitraum von 5 Jahren.

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

**Vermeidung:** Nicht möglich.

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

**Verfeinerung:** Altersabhängige phänotypische Veränderungen werden bei der Zucht und Haltung der Tiere berücksichtigt, indem bestimmte Altersgrenzen nicht überschritten werden. Methoden zur individuellen Kennzeichnung werden dem Zweck entsprechend und möglichst wenig belastend durchgeführt.

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

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

Tumorzellen kommunizieren über Zytokinmoleküle mit Zellen der Tumorumgebung, den Stromalen Zellen. In den Tumorzellen und den Stromalen Zellen werden über diese Kommunikation krebsfördernde Transkriptionsfaktoren wie STAT3 angeschaltet. Deshalb sind die Tumor-Stromazell-Interaktionen auch spezielle Ansatzpunkte von Krebstherapien. Die Erforschung der Interaktionen ist Ziel unseres Labors, wir verwenden dazu *in vitro* Zellkultursysteme sowie *in vivo* Ansätze mit entsprechenden Modell-Organismen. Die Verwendung von Modell-Organismen, wie genetisch veränderten Mäusen, ist manchmal unumgänglich um die komplexen Tumor-Stroma Interaktionen zu studieren. Mit Hilfe dieser Experimente können wir Rückschlüsse über die Bedeutung der untersuchten Gene (STAT1, STAT3, MUCDHL) in bestimmten Zelltypen des Tumorstromas ziehen. Das Verständnis der Genfunktionen bei den Wechselwirkungen zwischen Tumorzellen und Stromalen Immunzellen soll dabei neue Erkenntnisse über die Entstehung von Tumoren und neue Ansätze zur Therapie liefern.

*zu erwartender Nutzen:* Die Zucht entsprechender genetisch veränderter Tiere ermöglicht das Studium dieser Wechselwirkungen zur Tumorentwicklung.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Der für die Tiere zu erwartende Schaden liegt in einem möglich veränderten Phänotyp durch die genetische Veränderung.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

4000 Mäuse unterschiedlichen Genotyps für 5 Jahre

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

Zur Vermeidung von Tierversuchen werden vorab Experimente in Zellkultursystemen durchgeführt. Es wird außerdem vor jedem Tierversuch überprüft und in der wissenschaftlichen Literatur recherchiert, ob adäquate genetisch veränderte Mauszüchten bereits existieren.

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

(2) Die Untersuchung dieser genetisch veränderten Tiere erfolgt täglich, um mögliche Belastungen auf ein Minimum zu senken.

(3) Es werden klare Abbruchkriterien definiert, um unnötige Schmerzen und ein Leiden der Tiere 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**

**Projektziel:** Unter DNA-Sequenzierung versteht man die Bestimmung der Nukleotid-Abfolge der genetischen Erbinformation. Die Techniken der gesamtgenomischen Analysen revolutionierten die diagnostischen Möglichkeiten im tierzüchterischen und veterinärmedizinischen Bereich. Im Rahmen dieses Projektes wird das gesamte Genom von elf Pferden der Rasse Noriker und Haflinger sequenziert.

**zu erwartender Nutzen:** Die Sequenzdaten sollen zur Aufklärung der genetischen Komponente einer degenerativen Muskelerkrankung (PSSM) in der Zucht österreichischer Noriker und Haflinger beitragen. Weiters wird mit der Genomsequenzierung von 11 Tieren ein Grundstein zur Erfassung der genetischen Basis von zwei wichtigen österreichischen Pferderassen Österreichs gelegt.

**zu erwartender Schaden für die Tiere:** Für die Genomsequenzierung muss den Tieren aus der Drosselvene 9ml Vollblut entnommen werden. Die Blutentnahme stellt einen veterinärmedizinischen Routineeingriff dar und erfolgt mittels Kanüleneinstich durch einer/m fachkundige/n TierärztIn. Die Belastung des Tieres durch Fixation und Kanüleneinstich ist als geringgradig einzustufen.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

Es werden elf Pferde (*E. caballus*) beprobt.

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

**Vermeidung:** Für die Genomsequenzierung ist gute Ausgangsmaterial essentiell. DNA aus nichtinvasiv gewonnenen Proben (wie Haarwurzeln oder Schleimhautabstrichen) entspricht meist weder in Quantität noch in Qualität den erforderlichen Kriterien. Die beim Rind oftmals als Probenquelle verwendeten Spermaportionen sind für Noriker und Haflinger nicht vorhanden.

**Verminderung:** Die Auswahl der beprobten Tiere erfolgt unter Zuhilfenahme von Stammbaumanalysen und Gentests. Durch präzises Festlegen der beprobten Tiere und die Einbeziehung von Mutter-Vater-Kind- Trios wird die Anzahl der benötigten Tiere verringert.

**Verfeinerung:** Die Blutabnahme findet im regulären Umfeld der Tiere statt. Es ist keine Verbringung der Pferde notwendig.

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

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

Lungenkrebs hat weltweit die höchste Sterblichkeit aller Krebserkrankungen. „Non small cell lung cancer“ (NSCLC) ist die häufigste Form des Lungenkrebses und für ungefähr 80-85% aller bekannten Fälle verantwortlich. Zum Zeitpunkt der Diagnose ist die Krankheit häufig in einem fortgeschrittenen Stadium und in den meisten Fällen sind auch Metastasen vorhanden. Eine mögliche Form der Behandlung stellt die zielgerichtete molekulare Therapie mit Tyrosinkinaseinhibitoren (TKI) dar. Erlotinib ist ein solcher TKI, der einen Rezeptor an der Zelloberfläche hemmt, der eine wichtige Rolle in der Zellteilung spielt. Hirnmetastasen kommen bei dieser Krankheit sehr häufig vor und sind eine der Hauptursachen für die Sterblichkeit von NSCLC Patienten. In so einem Fall sind die Behandlungsmöglichkeiten (Chemotherapie, Radiotherapie und Operation) sehr begrenzt und die Überlebensrate bleibt schlecht. Einige klinische Studien haben gezeigt, dass Hirnmetastasen des NSCLC auf eine Behandlung mit Erlotinib nicht ansprechen. Eine mögliche Ursache für diese Therapieresistenz ist eine unzureichende Erlotinib-Konzentration im Gehirn. Dies kann durch Adenosine triphosphate (ATP)-binding cassette (ABC) Transporter, welche auch in Endothelzellen der Blut-Hirn Schranke exprimiert sind, verursacht werden. Diese befördern bestimmte Substanzen aktiv aus dem Gehirn zurück ins Blut. Von Elacridar wiederum ist bekannt, dass es die Funktion dieser Transporter hemmt, was den ausreichend langen Verbleib von Erlotinib im Gehirn ermöglichen könnte. Darum wird in dieser Studie versucht mit Hilfe der Positron-Emissions-Tomographie (PET) und des Radiotracers [<sup>11</sup>C]Erlotinib die Frage zu beantworten, ob die Konzentration von Erlotinib im Gehirn durch die Gabe von Elacridar soweit gesteigert werden kann, um von therapeutischem Nutzen zu sein.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

8 Mäuse.

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

**Vermeidung:** Es gibt zurzeit keine Möglichkeit die Bluthirnschranke als ganze anatomische und physiologische Entität, in vitro, als Computermodell oder durch sonstige denkbare Modelle darzustellen.

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

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

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

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

Alkoholkonsum hat bekanntlich einen Einfluss auf den Knochenmetabolismus und die Knochenstruktur. Welche Auswirkung hingegen ein episodisch hochgradiger Alkoholkonsum auf den Knochenapparat hat, ist dennoch weitgehend unbekannt.

Ziel des Versuches ist es daher, den Einfluss episodisch hochgradigen Alkoholkonsums auf den Knochenstoffwechsel und die Knochenstruktur zu erforschen. Hierfür bekommen die Tiere in regelmäßigen Abständen eine schmackhafte alkoholische Lösung in der nötigen Konzentration angeboten, die sie bereitwillig aufnehmen. Am Ende des 2 Monate dauernden Versuches werden die Knochenfeinstruktur der Tiere, die Knochenmetaboliten jedoch über den gesamten Verlauf analysiert.

*zu erwartender Nutzen:* primär soll das Verständnis des Einflusses übermäßigen Alkoholkonsums auf den Knochenstoffwechsel von Jugendlichen erweitert werden, was wiederum Konsequenzen für die Entwicklung verbesserter Therapien für die betroffenen Personen hat.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* im Zuge des Versuches wird den Tieren auch Blut abgenommen. Dies stellt einen verhältnismäßig geringen Eingriff dar, da die Tiere durch die dazu notwendige, kurzfristige Fixierung mehr gestresst sind, als durch die Blutabnahme per se. Möglicherweise können die Tiere auch die unangenehmen Folgen eines Hang-overs im Sinne von Kopfschmerzen zu spüren bekommen.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

Schweine (*Sus scrofa*), 10 Tiere

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

*Vermeidung:* da es sich um komplexe Vorgänge in einem biologischen System handelt, sind derzeit keine *in vitro* Systeme als Alternative für die vorliegende Fragestellung geeignet.

*Verminderung:* dieses Experiment ist als pilot study konzipiert. Deswegen werden nur 5 Tiere in die experimentelle Gruppe aufgenommen und mit 5 Tieren in einer Kontrollgruppe verglichen.

*Verfeinerung:* in vergleichbaren Versuchen an Ratten wurde die alkoholische Lösung intraperitoneal appliziert. In diesem Versuch wird die alkoholische Lösung per os auf Grundlage von Apfelsaft dargeboten, der den Schweinen sehr schmeckt. Außerdem wird den Tieren im Zuge des zwei Monate dauernden Versuches nur neun Mal Blut entnommen, was einer maximal möglichen Reduktion der Venenpunktionsfrequenz entspricht.

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

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

Ziel dieses Projekts ist es, den Prozess der Gefäßneubildung in Brusttumoren mit neuartigen Biomarkern in der Bildgebung darzustellen. Für die Früherkennung und Charakterisierung der Tumore werden optische Bildgebung, Ultraschall, Magnetresonanztomografie und Positronen-Emissions-Tomografie sowohl kombiniert als auch verglichen. Zusätzlich werden die Brusttumormodelle auf das Therapieansprechen eines Medikamentes, das die Gefäßneubildung hemmt, mit neuartigen Biomarkern in der Bildgebung untersucht. Die gewonnenen Erkenntnisse dieses Projekts sollen den Einsatz von neuen Biomarkern in der Bildgebung für die Diagnose von Brusttumoren im Menschen sowie für die Therapie-Überwachung ermöglichen.

*zu erwartender Nutzen:* neue Erkenntnisse über die Gefäßneubildung in Brusttumoren mittels Darstellung durch neue Biomarker in der Bildgebung, sowie Erkenntnisse über das Therapieansprechen eines Medikamentes, das die Gefäßneubildung hemmt.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* durch die Bildgebungsuntersuchungen ist kein direkter Schaden für die Tiere zu erwarten. Als Belastung werden die Ausbildung von Tumoren nach Injektion von Tumorzellen und die Narkose während der Untersuchungen angesehen.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

84 Mäuse unterschiedlichen Genotyps aus genehmigten Zuchtbetrieben.

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

*Vermeidung:* Die Darstellung des Gefäßneubildungs-Prozess mit neuartigen Biomarkern in der Bildgebung erfordert eine Abklärung im *in vivo* Modell.

*Verminderung:* Die Erfassung der zeitlichen Stadien des Verlaufs mit verschiedenen Bildgebungsmethoden an ein und demselben Tier ermöglicht eine deutlich verminderte Gesamtzahl an Versuchstieren. Die Haltung der Tiere sowie das methodische Vorgehen finden unter standardisierten und kontrollierten Bedingungen statt.

*Verfeinerung:* Die Anzahl der verwendeten Narkosen pro Versuchstier sowie die Dauer der einzelnen Narkose werden so gering wie möglich gehalten, um eine möglichst geringe Belastung der Versuchstiere zu garantieren.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 30. September 2018 vorgesehen.

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

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

Das Ziel dieses Tierversuchs ist die Entwicklung einer neuen Methode zur Untersuchung der Proteinbindung pharmakologischer Wirkstoffe an ihrem Wirkort. Die Proteinbindung einer Substanz bestimmt darüber, wie sie im menschlichen Körper wirkt und verarbeitet wird. Die getestete Methode soll die Herstellung pharmakologischer Wirkstoffe verbessern, da der Wirkstoff frühzeitig auf das Zielgewebe angepasst und auf seine Wirkung überprüft werden kann.

*zu erwartender Nutzen:* Derzeit wird die Proteinbindung neu entwickelter Wirkstoffe im Blut charakterisiert. Dies ist allerdings selten der Wirkort. Durch diesen Tierversuch wird es in Zukunft möglich sein, die Proteinbindung, und damit die Eigenschaften der neuen Wirkstoffe direkt an ihrem Wirkort im Gewebe zu untersuchen.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Die Eingriffe erfolgen unter Anästhesie durch erfahrenes Personal und sind von sehr geringer Invasivität. Beim Menschen werden die Eingriffe ohne Anästhesie durchgeführt und somit ist in diesen Tierversuch der relevanteste Eingriff die Anästhesie. Die Nachsorge nach dem Eingriff und das Töten der Tiere werden von geschultem Personal durchgeführt. Versuche und Tötungen finden nicht in der Gegenwart anderer wacher Tiere statt.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

50 Schweine

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

*Vermeidung:* Das Versuchsziel kann nicht mit anderen Methoden als mit einem Tierversuch erreicht werden weil die Proteinbindung von physiologischen Parametern des lebenden Organismus abhängig ist.

*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. Durch eine parallele Anwendung der Methoden werden statistisch aussagekräftige Ergebnisse erzielt.

*Verfeinerung:* 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, Stroh, etc. zur Verfügung gestellt. Weiters werden die Tiere durch vermehrten Kontakt an die Tierpflegerinnen gewöhnt, um den Stress der Tiere weiter zu reduzieren.



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

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

Ziel der geplanten Untersuchungen ist es, anhand von Mäusen zu bestätigen, dass die Aktivierung von Wachstumsfaktor-Signalwegen in Abwesenheit von dem Membranrezeptor NgR1 (Nogo-Rezeptor Typ 1) eine erhöhte morphologische Plastizität und verbesserte axonale Regeneration bei Erkrankungen des Nervensystems erlauben. Unsere Untersuchungen zielen nicht nur auf reinen Erkenntnisgewinn, sondern können in der Zukunft zu einer Therapie von Hirnverletzungen beim Menschen beitragen. Die beantragten Versuche sind zur Überprüfung der in unseren Zellkulturen gewonnenen Erkenntnisse unabdingbar und bilden eine wissenschaftliche Grundlage für die Behandlung von Hirnerkrankungen, die mit neuronaler Degeneration einhergehen. Die operativen Eingriffe erfolgen – wie auch beim Menschen – in Narkose und eine adäquate Schmerzbehandlung ist sichergestellt. Die durch die operativen Eingriffe resultierenden Belastungen sind gering bis mittel. Bei keinem der Verhaltens-Tests werden den Tieren Schmerzen zugefügt.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

480 Mäuse im Zeitraum von 3 Jahren (NgR1 knockout nur in Mäusen verfügbar).

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

Sämtliche Versuchsansätze sind unter strikter Einhaltung der 3R-Regel aufgestellt worden. Wir sind uns der Problematik durchaus bewusst, dass Mäuse eine dem Menschen ähnliche Empfindungsfähigkeit besitzen. Daher werden in unserem Versuchsvorhaben keine die Tiere unnötig belastenden Versuche durchgeführt. Der operative Eingriff selbst geschieht in tiefer Narkose, ein peri- und postoperatives Analgesie-Management wird durchgeführt, und die Tiere werden nach Ablauf der Beobachtungsdauer schmerzfrei getötet. Alle Experimente werden nach den internationalen Richtlinien der IASP (International Association for the Study of Pain) durchgeführt. Die Empfehlungen von EMPRESS (European Mouse Phenotyping Resource of Standardised Screens; <http://empress.har.mrc.ac.uk>) sind für uns ebenfalls massgeblich.

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 gemäß § 5 des TVG 2012 die translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten oder anderen Anomalien oder deren Folgen bei Menschen, Tieren oder Pflanzen. Der Versuch bedingt keine Operationen. Die Belastung der in der dreijährigen Versuchsdauer eingesetzten 440 Mäuse wird als gering eingestuft.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

440 Mäuse

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

Zur Minderung der psychischen Belastung werden die Tiere sozial und in angereicherter Umgebung gehalten. Dem 3R-Konzept wird durch die Verwendung verschiedener *in vitro* Versuchen im Vorfeld und geeigneter statistischer Methoden zur Reduktion der benötigten Tiere Rechnung getragen.

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

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

**Ziel:** Zucht und Haltung genetisch veränderter Labormäuse

**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 sich dadurch auszeichnen, dass sie eine spontan entstandene oder gentechnisch induzierte Mutation in ihrem Erbgut tragen. Die genetisch veränderten Tiere dienen als Modelle in verschiedenen Bereichen der biomedizinischen Forschung.

**zu erwartender Schaden für die Tiere:** Genetisch veränderte Mäuse, bei denen mit einer möglichen schweren 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. Die beobachteten phänotypischen Veränderungen vor und nach den ergriffenen Maßnahmen werden dokumentiert.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

6.000 Labormäuse (*Mus musculus*) auf einen Zeitraum von 5 Jahren.

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

**Vermeidung:** Nicht möglich.

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

**Verfeinerung:** Altersabhängige phänotypische Veränderungen werden bei der Zucht und Haltung der Tiere berücksichtigt, indem bestimmte Altersgrenzen nicht überschritten werden. Methoden zur individuellen Kennzeichnung werden dem Zweck entsprechend und möglichst wenig belastend durchgeführt.

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

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

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

Lipocaline spielen eine große Rolle bei der Immunmodulation, beim Eisentransport und zellulärem Überleben und sind daher bedeutend für den Ischämie/Reperfusionsschaden sowie akute Abstoßung bei der Organtransplantation. Ihr molekularer Wirkungsmechanismus im Hinblick auf mögliche Effekte auf intrazelluläre Signalwege im Rahmen dieser Prozesse ist nach wie vor unbekannt. Nachdem wir in Vorarbeiten bereits einen chemotaktischen Effekt von Lipocalin-2 auf infiltrierende neutrophile Granulozyten in einem Mäuseherztransplantationsmodell zeigen konnten, wollen wir nun die Rolle dieses Proteins während der akuten Abstoßung in einem experimentellen Nierentransplantationsmodell untersuchen. Zur weiteren Erforschung der hochkomplexen Mechanismen, die bei der Abstoßung und Transplantatverlust auftreten, stehen keine in vitro Versuchsmöglichkeiten zur Verfügung, so dass schließlich valide in vivo Abstoßungsmodelle hierfür benötigt werden.

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

Bei insgesamt 293 Mäusen (C57BL/6 wildtype, n=116; C57BL/6 Lcn-2 <sup>-/-</sup>, n=51; BALB/c, n=126) soll in einem Zeitraum von 2 Jahren der Einfluss einer exogenen Gabe von rekombinantem Lipocalin-2 auf die Organabstoßung nach Nierentransplantation analysiert werden. Diese Studien sollen die Basis für eine mögliche therapeutische Anwendung von Lipocalin-2 oder dessen Inhibitor zur Eindämmung des Ischämie/Reperfusionsschadens und zur Früherkennung einer akuten Abstoßung bilden und dadurch für menschliche Transplantationspatienten eine bessere Behandlungsmethode und eine lange Überlebenszeit des transplantierten Organs ermöglichen.

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

Die Belastung der einzelnen Versuchstiere ist als „mittel“ einzustufen. Die Projektleitung bestätigt, dass zur Erfüllung der „3R“ die Gruppengröße mit n=12 Transplantationen für eine statistische Aussagekraft ad minimum gehalten wurde. Zusätzliche Versuche, die mit einer Vergrößerung der Gesamtzahl der Versuchstiere einhergehen würden, wurden vermieden. Eine suffiziente Schmerztherapie während der Versuchsanordnung, ein in unserer Institution etabliertes OP Verfahren sowie ein unverzügliches Euthanasieren der Versuchstiere nach Organentnahme tragen zur Verfeinerung des Tierversuchs bei.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Forschung im Hinblick auf die Erhaltung der Arten

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

Ziel dieses Projekts ist die Überprüfung und Bewertung der Funktionalität/Passierbarkeit des integrierten Fischeaufstiegs für auf- und abwandernde Fische im Rahmen eines Freilandexperiments. Dabei soll auch eine Untersuchung zum Fischverhalten an dieser neuartigen Fischwanderhilfe mittels Radiotelemetrie durchgeführt werden, um detaillierten Einblick in die Wanderbewegungen der Fischfauna zu erhalten. Im Unterschied zu allen anderen Methoden können durch die Verwendung von Telemetrie detaillierte Verhaltensmuster – z.B. die Annäherung von Individuen an ein Kraftwerk oder Such- bzw. Vermeidungsverhalten – analysiert und sowohl kleinräumige Bewegungen, wie das Verhalten an einem Migrationshindernis, als auch großräumigere Bewegungsmuster über längere Zeiträume beobachtet und aufgezeichnet werden. Da das geplante Experiment mit freilebenden Wildfischen durchgeführt werden soll, entfällt eine spezielle Unterbringung/Hälterung bzw. Pflege während der Versuchsdurchführung. Die Tiere werden lediglich während der Versuchsvorbereitungen bzw. nach der Applikation des Senders in einem geeigneten Netzgehege zur Kontrolle zwischengehäлтert und anschließend in die freie Wildbahn entlassen. Der Schweregrad des Tierversuchs ist als „mittel“ zu bezeichnen.

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

Im Detail sollen zwei Fischarten der Familie Cyprinidae getestet werden, deren Wanderverhalten sich stark unterscheidet. Zum einen ist die Besenderung von 25 Aitel (Fischart mit ausgeprägter Rückwanderungsmotivation „Homing“), zum anderen die von 25 Nasen (sensitive Fischart hinsichtlich Auffindbarkeit und Passierbarkeit) geplant. Für die Besenderung beider Arten sind Tiere ab dem dritten Lebensjahr (2+ Individuen) geeignet.

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

Auf Grund langjähriger Erfahrungswerte aus zahlreichen telemetrischen Untersuchungen ist eine Anzahl von 25 Tieren je Art ausreichend, um gesicherte Aussagen hinsichtlich der Grundgesamtheit treffen zu können.

Eine Minderung von Schmerzen, die während der Applikation des Senders in die Bauchhöhle auftreten (nach dem derzeitigen Wissenstand ist das Schmerzempfinden von Fischen nicht restlos geklärt) wird durch die Verwendung eines geeigneten Anästhetikums (Nelkenöl) angestrebt. Sollten zu einem Zeitpunkt unvorhergesehene schwerwiegende Belastungen, wie starke Schmerzen, Leiden, Schäden oder schwere Ängste festgestellt werden bzw. sich Tiere in einem schlechten Gesundheitszustand befinden, werden pharmakologische Methoden als Abbruchkriterium eingesetzt. Dabei wird dem Tier nach dessen vollständiger Betäubung eine Injektionslösung intraperitoneal verabreicht.

Eine Ersatzmethode zur Überprüfung und Bewertung der Funktionalität/Passierbarkeit der Pilotanlage mit integriertem Fischeaufstieg ohne Tierversuch ist aus unserer Sicht nicht möglich.

Als Hauptzweck dieser Untersuchung ist neben der Forschung zur Arterhaltung der Umweltschutz anzugeben.

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

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

Der systemische Lupus erythematodes (SLE) zählt zu den klassischen Autoimmunerkrankungen, an deren Entwicklung zahlreiche Komponenten des Immunsystems beteiligt sind. Schwere Verlaufsformen des SLE können unbehandelt zum Tod führen, die Prognosen haben sich jedoch durch den Einsatz von Immunsuppressiva verbessert. Wir konnten in früheren (in vitro) Untersuchungen zeigen, dass durch bestimmte Rezeptoren auf Immunzellen die Entzündung bei Lupus derart beeinflusst wird, dass eine Abschwächung des Organschadens angenommen werden kann. Um die genauen, pathogenetischen Mechanismen dieses Rezeptors und die potentielle Verwendung für diagnostische und/oder therapeutische Zwecke zu erkunden, soll nun dessen Rolle bei Lupus genauer untersucht werden. Die hierbei angewendeten Methoden inkludieren die einmalige intraperitoneale Injektion von Pristan gefolgt von einer zweiwöchigen Gabe von Schmerzmitteln (Piritramid) über das Trinkwasser um allfällige, durch Entzündung auftretende Schmerzen zu verhindern. Im Rahmen eines Knochenmarktransplantationsexperiments wird eine kleine Gruppe an Mäusen einmalig bestrahlt, und anschließend mittels intravenöser Injektion mit Knochenmarkzellen behandelt. Einzelne Mäuse erhalten im Rahmen der Experimente intraperitoneale Injektionen (mit z.B. Antikörpern). Die Belastung der Tiere im Rahmen dieser Studie ist mittelgradig.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

728 Mäuse unterschiedlichen Genotyps

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

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

**Verminderung:** Zur Verminderung der Tierzahl wird bei sämtlichen Versuchen auf streng standardisierte Versuchsbedingungen Wert gelegt, die Anzahl der Tiere beruht auf statistischen Berechnungen. Zur Reduktion potentieller Streuungen werden nur Tiere aus derselben Tierzuchteinrichtung verwendet.

**Verfeinerung:** Um eine Verringerung der Stressbelastung und Reduktion potentieller Schmerzen durch den Entzündungsprozess zu erreichen, erfolgt nach der i.p. Applikation von Pristan eine Zwöchige Analgesie mit Dipidolor p.o. (über das Trinkwasser) in Standarddosierung. Während des gesamten Versuchs erfolgt eine tägliche Überprüfung auf Anzeichen einer Belastung der Versuchstiere. Bei Auftreten von Belastungen wurden klare Abbruchkriterien erstellt.

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 Untersuchung ist es verschiedene Methoden der Fixierung bei Alpakas hinsichtlich der Stresseinwirkung auf die Tiere zu vergleichen und Empfehlungen abzuleiten. Um die Belastung von Tieren bei der Einwirkung von Stressoren zu beurteilen, ist eine Kombination aus Verhaltens- und physiologischen Indikatoren erforderlich. Als nichtinvasive physiologische Indikatoren sind insbesondere Konzentrationen von Kortisol im Speichel bzw. Kortisolmetaboliten im Kot und Herzfrequenz etabliert, weiterhin kommen Herzfrequenzvariabilität, Körpertemperatur und Atemfrequenz und Augentemperatur in Frage. Beim Verhalten sind Verhaltensweisen des Abwehr-, Unruhe- und Komfortverhaltens direkt sowie Effekte auf Fress-, Ruhe- und Sozialverhalten nach der Einwirkung eines Stressors geeignet.

*zu erwartender Schaden:* Die Fixierung der Tiere im Rahmen der jährlich durchgeführten Schur gehört zu den Routinemaßnahmen in der Alpakahaltung. Sie wird von geschultem Personal, aber auch von Tierbesitzern regelmäßig durchgeführt. Das Risiko einer Verletzung des Tieres wird demnach als gering eingeschätzt, sodass keine dauerhaften Schäden an den Tieren zu erwarten sind.

*zu erwartender Nutzen:* Es soll die subjektiv empfundene Stressintensität, welche während der einzelnen Fixierungsmethoden entsteht, anhand objektiver Messverfahren gewertet werden. Dadurch kann die für das Tier am angenehmsten empfundene Fixierungsmethode der Schur etabliert und langfristig empfohlen werden, was für beide Seiten als großer Nutzen angesehen wird.

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

15 erwachsene Alpakas

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

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

*Verminderung:* Es wird nur jene Anzahl an Tieren verwendet, die erforderlich ist, um ein aussagekräftiges Ergebnis zu erhalten.

*Verfeinerung:* Da im Rahmen dieses Projektes lediglich eine geringgradige Belastung zu erwarten ist und die Fragestellung der Untersuchung darin besteht, in der Praxis verwendete Vorrichtungen zur Fixierung für Alpakas zu untersuchen, können die Untersuchungsmethoden nicht weiter verbessert werden; durch den Einsatz von geschultem Personal wird sichergestellt, dass die Belastung auf das unvermeidbare Minimum reduziert wird.

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

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

Im Rahmen von Tumorerkrankungen kommt es unter anderem zu Veränderungen der Stoffwechselforgänge. Es gibt Hinweise, dass unsere untersuchten Proteine, die im Metabolismus von Zellen involviert sind, als Anti-Onkogene wirken. Wir wollen herausfinden, inwiefern die untersuchten Proteine den Metabolismus von Krebszellen beeinflussen. Ein weiteres Ziel dieses Projekts ist es, die Funktion dieser Proteine durch zeitlich gezielte Abschaltung oder Überexpression aufzuklären. Außerdem gibt es eine Vermutung, dass die Abschaltung dieser bestimmten Proteine, die Immunantwort des Wirts auf den Tumor beeinflussen. Aus diesem Grund sollen immunologische Parameter analysiert werden.

*zu erwartender Nutzen:* Wir erwarten einen Erkenntnisgewinn über die Auswirkung des Fehlens oder der Überexpression eines bestimmten Proteins auf das Wachstum von Tumorzellen. Wir wollen die Funktion bestimmter Proteine in Tumorzellen aufklären und eventuell neue Ziele für die Krebstherapie identifizieren.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Den Tieren werden Zellen injiziert, welche zur Bildung von soliden Tumoren führen. Sollte es zu einer deutlichen Beeinträchtigung der Mobilität oder des Allgemeinzustandes des jeweiligen Tieres kommen, stellt dies ein Abbruchkriterium für den Versuch dar.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

Es werden insgesamt 920 Mäuse für 3 Jahre benötigt.

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

*Vermeidung:* Bei den geplanten Experimenten wird die Auswirkung des Fehlens oder das vermehrte Vorhandensein eines Proteins im Organismus untersucht. Aus diesem Grund ist es nicht möglich, Erkenntnisse durch alternative Methoden wie Zellkultur zu gewinnen. In diesen, für den medizinischen Fortschritt wichtigen Untersuchungen, wird jedoch immer auf eine möglichst geringe Belastung der Versuchstiere geachtet.

*Verminderung:* Es 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.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 30. September 2018 vorgesehen.



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

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

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

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

*zu erwartender Schaden:* 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*

390 Mäuse unterschiedlichen Genotyps.

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

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

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

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

Schmerz ist ein hochkomplexes multidimensionales Phänomen, das nicht nur eine sensorisch-diskriminative, sondern auch motorische, emotionale und kognitive Komponenten beinhaltet. Chronische Schmerzpatienten zeigen sehr häufig psychopathologische Merkmale wie Depressionen, Ängste, Schlaflosigkeit oder sozialen Rückzug. Diese Psychopathologien sind eine Hauptursache für das Leiden dieser Patienten und entsprechende Therapien sind noch immer sehr unbefriedigend. Eine Ursache ist, dass noch weitgehend unklar ist, für welche Schmerzkomponenten die unterschiedlichen Nervenbahnen, die vom Rückenmark in die bei der Schmerzwahrnehmung beteiligten Hirnzentren projizieren, verantwortlich sind. Ziel dieser Studie ist es deshalb, neue experimentelle Techniken zu etablieren, die es erlauben, definierte aufsteigende spinale Bahnen gezielt und selektiv im intakten Tier zu manipulieren. Dazu sollen mittels viraler Vektoren Gene zur opto- bzw. pharmakogenetischen Manipulation in spinale Projektionsneurone und in deren bevorzugte Zielregionen im Gehirn eingeschleust werden. Die Studie soll uns in die Lage versetzen, die Beteiligung definierter aufsteigender Projektionen an 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 chirurgischer Narkose und begleitender Analgesie unterzogen.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

In Abhängigkeit vom jeweiligen Ergebnis der stufenweise aufgebauten einzelnen Experimente werden mindestens 112 und maximal 336 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. Allerdings werden die eigentlichen Experimente dann ausschließlich *in vitro* im Schnittpräparat durchgeführt, wodurch das Leiden der Tiere auf ein Minimum beschränkt wird.

*Verminderung:* Die Anzahl der Tiere wurde auf das statistisch absolut erforderliche Mindestmaß reduziert. Die Experimente sind aufeinander aufgebaut. Sollte ein vorhergehendes Experiment nicht erfolgreich sein, wird das Projekt abgebrochen.

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

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

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

Für den Versuch werden ältere Ratten benötigt, an welchen die Auswirkungen chronischer elektrischer Stimulation des n. laryngeus recurrens auf die Kehlkopfmuskulatur exploriert werden sollen. Die Auswirkungen chronisch-elektrischer Stimulation können weder *in-vitro*, noch in humanen Versuchen untersucht werden. Die Studie baut auf einer Pilotstudie jüngerer Tiere auf und soll zum einen Aufschluss über die physiologischen Alterungsvorgänge liefern und zum anderen die Auswirkungen eines völlig neuen Therapieansatzes explorieren.

**zu erwartender Schaden für das Tier:** Vorausgehende Versuche zeigten keine Beeinträchtigung der Tiere in puncto Vitalität. Die während der Lebenszeit der Tiere geplanten Untersuchungen erfolgen mit etablierten Methoden (Operationen unter Narkose), die das Tierleid auf ein absolutes Minimum begrenzen.

**zu erwartender Nutzen:** Die Versuche stellen die einzigartige Gelegenheit dar, einen lebenden Organismus hinsichtlich chronisch-elektrischer Stimulation der Larynxmuskulatur zu untersuchen. Dies ist wissenschaftlich von größter Bedeutung und war bis dato aufgrund technischer Limitationen auch noch nicht durchführbar. Diese Experimente stellen einen großen Wissenszuwachs in Aussicht, der in weiterer Folge zur Entwicklung weiterer therapeutischer Ansätze genutzt werden kann.

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

Es sollen für die Versuche 30 Ratten herangezogen werden.

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

**Vermeidung:** Der Ansatz einer *in-vivo* Untersuchung ist die einzige Möglichkeit dynamische Veränderungen der Larynxmuskulatur zu explorieren und zu evaluieren.

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

**Verfeinerung:** Nach ihrer Anlieferung bekommen die Tiere zwei Wochen Zeit, um sich, unter tierärztlicher Aufsicht, an die neue Umgebung zu gewöhnen, und um sich von etwaigen transportbedingten Stresszuständen zu erholen. Über den gesamten Versuchszeitraum findet ein täglicher Umgang mit den Tieren durch geprüfte Tierpfleger und die Experimentatoren statt, sodass sich die Tiere an diese Personen gewöhnen, und zusätzlicher Stress bei Messungen vermieden wird. Zusätzlich werden die Tiere in regelmäßigen Abständen tierärztlich untersucht.

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

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

In der heutigen Zeit stellt die Alzheimer'sche Erkrankung (AD) die häufigste altersbedingte Demenz in den Industrieländern dar. Bei dieser Form der Neurodegeneration kommt es zu einem erheblichen Verlust an Hirngewebe und zu Veränderungen im Großhirn, die zu Gedächtnis- und Orientierungsverlust führen. Im Frühstadium ist die Erkrankung nicht erkennbar, so dass auch keine effektiven Möglichkeiten der Diagnose oder Therapie zur Verfügung stehen.

Zu den klassischen histomorphologischen Merkmalen der Alzheimer'schen Erkrankung zählen extrazelluläre Aggregate, so genannte senile Plaques und Alzheimer-Fibrillen, die sich in der Großhirnrinde und im Hippokampus anhäufen. Während die Plaques zu einem Großteil aus Beta-Amyloid-Protein aufgebaut sind, bestehen neurofibrilläre Bündel hauptsächlich aus dem Protein Tau. In Alzheimer Patienten ist das Tau Protein häufig an unterschiedlichen Phosphorylierungsstellen hyperphosphoryliert, was die Aggregation des Proteins fördert und auch verstärkt zu kognitiven Defiziten führen kann. Die Entwicklung neuer Substanzen zur Behandlung von Alzheimer fokussiert sich daher in den letzten Jahren verstärkt auf die Intervention der Hyperphosphorylierung des Tau Proteins und anderer Proteine. Das Hypothermiemodell in der Tau transgenen Maus und Ratte soll näher charakterisiert bzw. etabliert werden.

Tau transgene Mäuse und Ratten sowie entsprechende nicht transgene Mäuse und Ratten sollen mit Pentobarbital behandelt werden um Hypothermie zu induzieren. Durch die Hypothermie soll bei den Tieren Hyperphosphorylierung des Proteins Tau induziert werden. Ein Teil der Tiere wird zusätzlich mit Lithiumchlorid behandelt um die Tau Hyperphosphorylierung zu verhindern. Nach der Induktion der Hypothermie werden die Tiere zu verschiedenen Zeitpunkten euthanasiert um den zeitlichen Verlauf der Hyperphosphorylierung untersuchen zu können.

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

Für diese Studie werden 190 nicht transgene und 190 transgene Alzheimer Mäuse und 70 nicht transgene und 70 transgene Alzheimer Ratten beantragt.

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

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

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

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

Unsere Arbeitsgruppe befasst sich mit der biologischen Rolle eines Proteins, das eine wichtige Rolle in der Homöostase von Fettzellen spielt. Um dies weiter zu erforschen, möchten wir spezielle Mäuse verwenden, bei denen spezifische Gene in Fettzellen verändert sind. Unsere Versuchsdaten sollen wichtige Informationen über die Funktion von Zellbestandteilen im Fettmetabolismus liefern. Viele Ergebnisse unserer Grundlagenforschung werden an Zellkulturen gewonnen. Blut wird für Cholesterinbestimmung gesammelt. Low-fat-Futter wird verabreicht für Untersuchung des Stoffwechsels der Mäuse. Bei einer Gruppe von 8 Mäusen werden mit Hilfe von kleinen Sensoren unter verringerter Umgebungstemperatur EKG Bestimmung durchgeführt. Diese Experimente sind erforderlich, da die komplexen Zusammenhänge des Körpermetabolismus und des Krankheitsgeschehens nur am intakten, lebenden Organismus untersucht werden können.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

Für dieses Projekt werden 630 Mäuse, davon 200 für Experimente, für einen Zeitraum von 3 Jahren beantragt.

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

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

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

**"Refine"-Verbesserung:** Die Tiere werden in Gruppen zu je 4-5 Tieren gehalten. In jedem Käfig befindet sich ein Häuschen & Nestmaterial als Rückzugs- und Beschäftigungsmöglichkeit.

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**

Das Forschungsprojekt soll die Frage beantworten, wie Emotionen im Gehirn reguliert werden und welche neuronalen Schaltkreise daran beteiligt sind. Im Modellsystem Maus sollen die spezifischen Nervenzell-Populationen untersucht werden, die Emotionen verarbeiten. Mit diesem Wissen sollen die Mechanismen greifbar werden, die zu Angstzuständen und Suchtkrankheiten führen und auf lange Sicht gezieltere pharmakologische Therapieansätze ermöglichen.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

Über die gesamte Projektdauer von fünf Jahren werden 3.432 wildtyp Mäuse und 1.368 transgene Mäuse benötigt. Davon werden bei etwa 174 Tieren zusätzliche emotionale Aktivitätsmuster aufgenommen.

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

Das Projekt ist dem Schweregrad „mittel“ zugeordnet, wobei es aber so angelegt ist, dass die mit den Eingriffen und Versuchen verbundenen Schmerzen und Unannehmlichkeiten für die Tiere auf ein Mindestmaß reduziert sind. Um ferner zu gewährleisten, dass die Versuche so schonend und effizient wie möglich durchgeführt werden, wird die angewandte Methodik täglich mit dem in Publikationsdatenbanken verfügbaren Wissenstand abgeglichen. Gegebenenfalls wird die Methodik angepasst.

Eine rückblickende Bewertung ist am Ende des Projektes (2016) vorgesehen.

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

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

**Ziel:** Zucht und Haltung genetisch veränderter Labormäuse

**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 sich dadurch auszeichnen, dass sie eine spontan entstandene oder gentechnisch induzierte Mutation in ihrem Erbgut tragen. Die genetisch veränderten Tiere dienen als Modelle in verschiedenen Bereichen der biomedizinischen Forschung.

**zu erwartender Schaden für die Tiere:** Genetisch veränderte Mäuse, bei denen mit einer möglichen schweren 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. Die beobachteten phänotypischen Veränderungen vor und nach den ergriffenen Maßnahmen werden dokumentiert.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

6.000 Labormäuse (*Mus musculus*) auf einen Zeitraum von 5 Jahren.

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

**Vermeidung:** Nicht möglich.

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

**Verfeinerung:** Altersabhängige phänotypische Veränderungen werden bei der Zucht und Haltung der Tiere berücksichtigt, indem bestimmte Altersgrenzen nicht überschritten werden. Methoden zur individuellen Kennzeichnung werden dem Zweck entsprechend und möglichst wenig belastend durchgeführt.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. August 2020 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 Bakterium *Staphylococcus (S.) aureus* ist ein Teil der normalen Bakterienflora des Menschen und besiedelt vor allem die Haut und die oberen Atemwege von 10-30% aller Menschen. Es kann aber auch schwere Infektionen verursachen, die zu Hautabszessen, Wundinfektionen und lebensbedrohenden Zuständen, wie etwa Osteomyelitis, Endokarditis, nekrotisierender Pneumonie, Sepsis und Toxic Shock Syndrome (TSS) führen können. Das TSS schädigt mehrere Organe schwer und verursacht unter anderem hohes Fieber und Hypotension.

Durch die stark zunehmende Antibiotika-Resistenz von *S. aureus* stellen dessen Infektionen ein immer bedrohlicher werdendes Gesundheitsproblem dar. Besonders in Kliniken (z.B. auf Intensivstationen) kommt es nach Operationen und/oder durch eine geschwächte Immunabwehr zu Staphylokokken Infektionen mit schwerwiegenden Folgen.

Die wirksame Impfung mit modifizierten Toxinen würde einen enormen Fortschritt für die Volksgesundheit bedeuten. Im Rahmen der Entwicklung von Staphylokokkenimpfstoffen müssen die für die Pathogenese verantwortlichen Virulenzfaktoren einzeln geprüft werden. In diesem Projekt soll nun die Akuttoxizität, die wiederholte Toxizität und die Langzeittoxizität eines Toxins untersucht werden.

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

94 Kaninchen

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

Die Untersuchungen der neu entwickelten Derivate finden zuerst in-vitro statt. Anschließend ist es aber notwendig die Toxizität und die Wirksamkeit der Substanzen in-vivo zu testen. Dafür werden die minimal erforderlichen Tierzahlen verwendet, die für ein aussagekräftiges Ergebnis notwendig sind. Die Studie erfolgt unter standardisierten, kontrollierten Bedingungen. Ein Ersatz der Versuche durch in-vitro Methoden ist nicht möglich.



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

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

Durch das chaotische und exponentielle Wachstum von Krebszellen, bilden sich innerhalb eines Tumors Bereiche, die nur sehr schlecht mit Sauerstoff versorgt werden. Nach dem heutigen Kenntnisstand der Wissenschaft liegt ein Grund, warum viele Antikrebsmittel nicht helfen, darin begründet. In dieser Studie soll diese Theorie untersucht werden. Man bedient sich hier Mäusen als Modellorganismus, denen Tumorzellen implantiert werden. Der Nachweis solcher hypoxischer Bereiche wird hier mittels neuester bildgebender Methoden untersucht. Unsere Methode benötigt bestimmte Substanzen, sogenannte Tracer, die es ermöglichen, diese Areale bildlich und quantitativ darzustellen. Es gibt zu diesem Zwecke eine geringe Anzahl von Tracern, die aber einige medizinische Nachteile aufweisen. Unser neuer Tracer soll durch diesen Tierversuch charakterisiert werden und mit einem der bekanntesten anderen Tracer verglichen werden. So hoffen wir einen neuen und wichtigen Weg für die Diagnose und Therapie im Sinne einer personalisierten Medizin beitragen zu können.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

30 Nacktmäuse.

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

**Vermeidung:** Es gibt zurzeit keine Möglichkeit hypoxische Bereiche in einem Tumor, als ganze anatomische und physiologische Entität, in vitro, als Computermodell und durch sonstige denkbare Modelle darzustellen.

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

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

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

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

Die Anämie der chronischen Erkrankung (ACD), an der viele Krebs-, Rheuma- und Arthritispatienten leiden, ist nach der Eisenmangelanämie die zweithäufigste Blutarmutsform. Bei Patienten, die sich in stationärer Behandlung befinden ist sie sogar die häufigste und führt bei den betroffenen Patienten zu einer deutlichen Verschlechterung der Lebensqualität. Häufig wurden Patienten, die an einer Anämie der chronischen Erkrankung litten mit Erythropoietin (EPO) behandelt. Nur zeigt sich leider in letzter Zeit, dass Erythropoietin vor allem in Tumorpatienten auch deutliche, ungewünschte Nebenwirkungen haben kann. Da in den letzten Jahren durch intensive Forschung ein großer Wissenszuwachs über die zu Grunde liegenden Mechanismen möglich war, wurden neue Therapiekonzepte entwickelt. Diese basieren hauptsächlich darauf, dass man versucht negative Effekte des aktivierten Immunsystems auf die Blutbildung zu reduzieren bzw. vermehrt Eisen, das für die Bildung des roten Blutfarbstoffes unbedingt nötig ist, vermehrt aus den körpereigenen Fresszellen zu mobilisieren. Leider zeigte sich in den letzten Jahren in verschiedenen Laboren, dass viele Mechanismen des Eisenstoffwechsels in Zellkulturexperimenten die Vorgänge im menschlichen Körper nicht widerspiegeln. Unser Interesse fokussiert sich auf ein Modell der Anämie der chronischen Erkrankung. Die bisherigen Daten zu diesem Tiermodell zeigen eindeutig, dass es eine große Ähnlichkeit mit der beim Menschen auftretenden ACD aufweist und somit Daten aus dem geplanten Projekt gut auf den Menschen übertragbar sind. In Zellkulturversuchen konnten wir die potentielle Wirksamkeit zeigen, die möglichen Aussagen sind aber, aufgrund der oben beschriebenen Gründe, wie schon für die anderen Stoffe, leider limitiert. Trotzdem helfen die Zellkulturexperimente, die nötigen Tierzahlen zu reduzieren da die Dosisfindungsexperimente reduziert werden können.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

Insgesamt sind 230 Ratten in diesem über 2 Jahre laufenden Projekt vorgesehen.

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

Auch wird die geplante genaue Datenaufzeichnung zu einer deutlichen Verbesserung der Planbarkeit bei ev. weiterer Projekte führen, was dazu beitragen wird, die verwendeten Tierzahlen weiter zu reduzieren. Die Ratten werden fachgerecht gehalten und von ausgebildeten Tierpflegerinnen betreut und täglich beurteilt. Ebenso kümmern sich Tierärztinnen um das Wohl der Tiere. Im Rahmen des Projektes erhalten arthritische Ratten jeden Tag das neue Therapeutikum verabreicht.

Am Ende des Versuchs werden die Ratten tief narkotisiert und erwachen nicht mehr aus ihrer Narkose. Zusammenfassend soll dieses Projekt helfen die Therapie von Patienten die an einer chronischen Blutarmut im Rahmen von Krebserkrankungen und Rheuma leiden zu verbessern und damit ihre Lebensqualität zu steigern.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. Dezember 2017 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*

*Ziele:* Zu den wichtigsten Problemen in Milchviehbetrieben zählen Schwer- und Totgeburten der Kälber. Neben direkten ökonomischen Verlusten entstehen zusätzliche indirekte Verluste durch erhöhte Arbeits-, Tierarzt- und Behandlungskosten. Im gesellschaftlichen Diskurs über den Umgang mit Nutztieren stehen zudem auch Gesichtspunkte des Tierwohls und der Tierethik zunehmend im Fokus. Über die detaillierte Analyse der Bewegungsmuster soll die Erstellung von Algorithmen ermöglicht werden, die eine Früherkennung der einsetzenden Geburt und von Geburtsstörungen zulassen. In einem zweiten Studienteil, der in der Slowakei durchgeführt und von der dortigen Behörde zu genehmigen ist, erfolgt die Evaluierung der ermittelten Algorithmen an einer größeren Tierzahl.

*zu erwartender Nutzen:* Die Nutzung des Monitoring Systems zur Geburtsüberwachung soll eine Entscheidungshilfe für den Landwirt darstellen, um Geburtsstörungen rechtzeitig zu erkennen und im Bedarfsfall einzugreifen. Somit soll der insgesamt der Anteil an Problemgeburten, während der Geburt verstorbenen Kälbern und Komplikationen auf Seiten der Muttertiere gesenkt werden.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Bei den angewandten Untersuchungen und Monitoring Maßnahmen handelt es sich um nicht invasive oder nur gering invasive Manipulationen, bei denen nicht mit nachfolgenden Schmerzen oder Leiden zu rechnen ist. Die Belastung der Tiere ist als "gering belastet" einzustufen.

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

Für den ersten Studienteil in Österreich werden die Geburten von 50 Rindern überwacht.

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

*Vermeidung:* Im Versuch sollen die komplexen Bewegungen und Verhaltensweisen von Rindern unter der Geburt erfasst werden. Derartige Prozesse sind mit alternativen Systemen oder anderen Tierarten nicht nachzustellen und nur an lebenden Tieren zu untersuchen.

*Verminderung:* Durch die Versuchsdurchführung auf einem Forschungsgut wird eine optimale Tierhaltung und Betreuung durch Fachpersonal gewährleistet. Da der zweite Studienteil auf nur einem einzigen Betrieb durchgeführt wird (Betrieb im Ausland), soll somit eine größtmöglichen Standardisierung der Tierhaltung und Versuchsbedingungen erreicht werden. Dies minimiert die Streuung und reduziert somit die erforderliche Tierzahl.

*Verfeinerung:* Alle invasiven Eingriffe werden von Veterinärmedizinern durchgeführt. Die Tiere werden kontinuierlich auf Zeichen von Schmerz, Stress und einer Verschlechterung des Allgemeinzustandes hin untersucht und falls erforderlich erfolgt eine sofortige Einleitung von Gegenmaßnahmen. Die mit der Verhaltensbeobachtung und Probenentnahme einhergehenden Belastungen sind für die Tiere minimal. Die technische, nicht-invasive Überwachung der Geburt dient zur Verfeinerung der Tierbeobachtung durch den Tierbesitzer.

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 Inzidenz des chronischen Nierenversagens steigt weltweit. Für Patienten die eine Nierenersatztherapie zum Überleben benötigen stehen verschiedene Therapieformen zur Verfügung. Die Möglichkeit der Therapie besteht durch die Dialyse, die je nach Art in allen Altersgruppen angewandt werden kann, und auch große Bedeutung in der Therapie von Kleinkindern und Säuglingen hat. Diese Therapieform führt jedoch durch die spezielle Zusammensetzung der eingesetzten Lösungen auch zu Veränderungen der Zellen. In Versuchen mit Zellkulturen (*in-vitro*) wurden bestimmte Substanzen als wirksam identifiziert -diese konnten das Überleben der Zellen signifikant verbessern.

*zu erwartender Nutzen:* Durch die Zugabe von bestimmten Substanzen zu Dialyseflüssigkeiten kann diesen schädlichen Effekten entgegengewirkt und damit die Therapie langfristig verbessert werden.  
*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Um die biologische Relevanz und Wirksamkeit dieser Substanzen zu prüfen sind aufgrund der Komplexität der Pathophysiologie Studien am Tier nötig, um diese Substanzen zum Einsatz in der Therapie dialysepflichtiger Patienten zu entwickeln. Dazu wird Mäusen ein spezieller Dialysekatheter operativ implantiert, durch den definierte Dialyseflüssigkeiten zyklisch verabreicht werden. Hier wird auf eine möglichst kurze Belastung durch gut geplante und organisierte, kurze Versuchsabläufe geachtet. Der Schaden für die Tiere bleibt somit gering im Vergleich zum Erkenntnisgewinn für die Therapie dialysepflichtiger Patienten.

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

Insgesamt sind 638 Versuchstiere (Inzuchtstammtiere und Tiere einer spezifischen Knockout Linie: Homozygote Tiere und Wildtyp-Wurfgeschwister) sowie 650 Tiere zur Genotypisierung beantragt.

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

Im Vorfeld zu diesen geplanten Versuchen am Tier wurden *in-vitro* Versuche mit immortalisierten und primären humanen Mesothelzellen durchgeführt die darauf hinweisen dass die geplanten Versuche, weitere wichtige medizinische Kenntnisse und im besten Falle neue therapeutische Angriffspunkte für die Verbesserung der Nierenersatztherapie liefern. Der Schritt ins Mausmodell ermöglicht die Relevanz und Gültigkeit der bis dato im *in-vitro* Model gewonnenen Daten zu verifizieren und zu erweitern. Die Zahl der verwendeten Mäuse beläuft sich auf die statistisch notwendige Menge pro Versuch und es werden keine Versuche unnötig ausgeführt. Des Weiteren wird eine möglichst niedrige Anzahl der eingesetzten Tiere durch eine Standardisierung gewährleistet, bei der die experimentelle Variabilität so gering wie möglich gehalten wird. Zusätzlich wird für eine möglichst angenehme und stressfreie Umgebung der Tiere gesorgt. Während des Behandlungszeitraums stehen die Tiere unter Beobachtung und Abbruchkriterien sind vordefiniert.

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

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

Zweck der beantragten Versuche ist es, die Grundlage für neue therapeutische Strategien zur Behandlung von neurodegenerativen Erkrankungen nach Hirn-Traumata zu schaffen. Diese Erkrankungen sind ein massives gesundheitspolitisches Problem mit oft lebenslangen Folgen für die Betroffenen. Wir wollen das Potential einer neuen Gentherapie nach Hirntraumata testen und deren klinische Verwertbarkeit beurteilen. Die Belastung der Tiere besteht zum einen durch die EEG Ableitungen, zum anderen durch die operativen Eingriffe sowie durch traumatische neuronale Schäden, die jedoch durch die Behandlung deutlich abgeschwächt werden. Im Allgemeinen zeigen die Tiere weitgehend normales Verhalten und normale Gewichtsentwicklung.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

Es werden 21 Mäuse in insgesamt 2 Jahren untersucht.

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

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

Ziel des Projektes ist gemäß § 5 des TVG 2012 die Entwicklung und Herstellung sowie Qualitäts-, Wirksamkeits- und Unbedenklichkeitsprüfung von Arzneimitteln, Lebensmitteln, Futtermitteln und anderen Stoffen oder Produkten zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten oder anderen Anomalien oder deren Folgen bei Menschen, Tieren oder Pflanzen.

Die Versuche wurden gemäß internationaler Guidelines zur Stabilitätstestung neuer biotechnologischer Substanzen ausgearbeitet. Die Versuche bedingen keine Operationen. Die Belastung der 1008 eingesetzten Mäuse wird als gering eingestuft.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

1008 Mäuse

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

Zur Minderung der psychischen Belastung werden die Tiere sozial und in angereicherter Umgebung gehalten. Dem 3R-Konzept wird durch die Verwendung geeigneter statistischer Methoden zur Reduktion der benötigten Tiere Rechnung getragen.

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

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

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

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

*zu erwartender Schaden für das Tier:* ist bei den Versuchen mit gering eingestuft, außer bei Implantieren der Telemetriesonden ist kurzzeitig eine mittlere Belastung zu erwarten, die jedoch durch Schmerzmittel und Antibiotikagaben auf ein Minimum reduziert werden.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

692 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 geringstmöglicher Belastung und kleinstmöglicher Anzahl an Versuchstieren durchgeführt werden. Außerdem wird großer Wert drauf 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.

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**

Krankheiten, die von darmpathogenen Erregern wie zum Beispiel *Yersinia rockeri*, dem Erreger der Rotmaulseuche ausgelöst werden, sind derzeit die größte Bedrohung in der Aquakulturindustrie. Bisher haben die Fischerzeuger dieser Bedrohung durch die Anwendung von Chemotherapeutika, insbesondere durch die Verwendung von antibiotischen Futterzusatzstoffen, entgegengewirkt. Jedoch ist diese Art der Therapie aus verschiedenen technischen und umweltrelevanten Gründen nicht länger vertretbar. Daher wurde eine Anzahl von anderen Präparaten entwickelt. Dabei wurden Hefeextrakte gefunden, welche durch eine Vielzahl von Wirkmechanismen die Resistenz des Fisches verbessern. Ebenso können sie die Wahrscheinlichkeit eines Krankheitsausbruchs durch Immunmodulation reduzieren.

Im vorliegenden Projekt wollen wir die Vorteile von Ergänzungsfuttermittel mit einer kommerziell erhältlichen autolysierenden Hefe verwenden um die Resistenz der Regenbogenforelle (*Oncorhynchus mykiss*) während der Infektionen durch den Erreger *Y. ruckeri* zu untersuchen. Der erwartete Nutzen dieses Projekts ist es, die Effizienz dieses Ergänzungsfuttermittels zu bestätigen. Es soll für die Fischerzeuger eine zusätzliche Option werden, um das Auftreten von Krankheitsausbrüchen und ihre Abhängigkeit von Antibiotikatherapien zu reduzieren. Der zu erwartende Schaden entsteht durch die Infektion der Versuchsfische mit dem pathogenen Erreger und kann bis zu schwer belastend sein.

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

Art der verwendeten Tiere: Regenbogenforelle (*Oncorhynchus mykiss*)

Anzahl der verwendeten Tiere: 310.

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

**Vermeidung:** Das Ziel dieser Studie ist es, die komplexe Interaktion zwischen dem Pathogen und den Immunparametern und der Gesundheit der Fische zu studieren. Da dies nicht *in vitro* simuliert werden kann, ist eine Substitution nicht möglich und ein solcher Tierversuch unentbehrlich.

**Verminderung:** Die Studie ist auf Grundlage unserer Erfahrungen mit anderen Futterzusätzen konzipiert. Es wird ein zweistufiges experimentelles Design verwendet um die Anzahl der infizierten Fische möglichst gering zu halten.

**Verfeinerung:** Die Fische werden im Durchflusssystem gehalten, um Stress zu vermeiden. Die Fische werden ad libitum gefüttert und mindestens zweimal täglich kontrolliert. Sollten klinische Erscheinungen (Hämorrhagien im Maulbereich oder an der Basis der Flossen) 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. November 2015 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:** In der vorgestellten Arbeit sollen die Zusammenhänge zwischen einem Endoparasitenbefall in ausgewählten Schafbeständen und die Auswirkungen dessen auf den Blutverlust durch Erhebung des Hämatokrits hergestellt werden. Neben diversen Magen-Darm-Strongyliden, welche in der Regel durch eine parasitologische Kotuntersuchung zufriedenstellend eruiert werden können, führen Infektionen mit *Fasciola hepatica* ebenfalls zu Blutverlusten. Neben einer parasitologischen Kotuntersuchung auf ausgeschiedene *Fasciola hepatica* Eier wird vor allem eine akuten *Fasciola hepatica* Infektionen abzuklären eine Untersuchung mittels eines in der Routinediagnostik verwendeten Antikörper Elisa erfolgen. Die gewonnenen Daten sollen auch Informationen zur Verbreitung von *Fasciola hepatica* in den genannten Betrieben bzw. der untersuchten Region bringen.

**zu erwartender Nutzen:** Einerseits werden Ergebnisse gewonnen, welche Zusammenhänge zwischen Blutverlust und Infektionen mit verschiedenen Endoparasiten Spezies aufzeigen. Des Weiteren können die Ergebnisse im Rahmen der tierärztlichen Bestandbetreuung dazu genutzt werden eine medizinische Intervention zur Verbesserung und/oder Erhaltung der Tiergesundheit durchzuführen. Zusätzlich werden Daten in Hinblick auf die Verbreitung von *Fasciola hepatica* sowohl auf Einzeltierbasis als auch auf Bestandsebene in der untersuchten Region gewonnen.

**zu erwartender Schaden für die Tiere:** Es wird an zwei Zeitpunkten (im Frühjahr und im Herbst) eine Blutentnahme aus der Vena Jugularis durchgeführt. Hierbei handelt es sich um einen Routineeingriff und dadurch sind möglicher Stress und Schmerzen für das Tier auf ein Minimum limitiert.

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

480 Schafe

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

**Vermeidung:** Diese Studie muss an lebenden Schafen erfolgen und kann nicht durch in vitro Modelle ersetzt werden, da für den Nachweis von Antikörpern und die Erstellung eines Hämatokritwertes Blut benötigt wird.

**Verminderung:** Die Zahl der Tiere orientiert sich an den für die im Rahmen der Untersuchung auf Endoparasiten in einem Bestand zu beprobenden Tiere.

**Verfeinerung:** Bei der Blutentnahme handelt es sich um einen Routineeingriff mit minimalem Schmerz verbunden und wird bei Wiederkäuern in der Regel mit leichter Fixierung toleriert. Die entnommene Blutmenge ist niedrig gehalten (18ml) und stellt für das Tier keine Belastung dar. Durch das verwendete Vakuumsystem, können unterschiedlich beschichtete Blutröhrchen einfach getauscht werden und somit ist nur eine einmalige Venenpunktion notwendig. Die Blutabnahme geschieht durch eine qualifizierte Person (Tierarzt) und keinerlei Komplikationen sind zu erwarten. Dieser Routineeingriff ist und wird durch eine qualifizierte Person (Tierarzt) durchgeführt.

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

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

Ziel dieser Studie ist es die Wirksamkeit eines neuen potentiellen Antidepressivums in einem Rattenmodell zu untersuchen. Dafür werden Wistar Kyoto Ratten einmalig mit einer von mehreren Konzentrationen der Testsubstanz behandelt und im Anschluss im Forced Swim Test auf ihr depressives Verhalten untersucht. Es wird erwartet, dass die Substanz eine antidepressive Wirkung hat und die behandelten Tiere daher im Forced Swim Test weniger depressives Verhalten zeigen als unbehandelte Tiere.

Die Depression ist eine psychische Störung mit Zuständen psychischer Niedergeschlagenheit als Leitsymptom. In der Psychiatrie wird die Depression den affektiven Störungen zugeordnet. Die Depression ist charakterisiert durch Stimmungseinengung (Verlust der Fähigkeit zu Freude oder Trauer; Verlust der affektiven Resonanz, d. h. die Stimmung des Patienten ist durch Zuspruch nicht aufzuhellen) oder bei einer schweren Depression dem Gefühl der Gefühllosigkeit bzw. dem Gefühl anhaltender innerer Leere. Schwer Betroffene empfinden oft eine völlige Sinnlosigkeit ihres Lebens. Häufig führt dieser Zustand zu latenter oder akuter Suizidalität. Die Depression ist die am häufigsten auftretende psychische Störung. Das deutsche Bundesgesundheitsministerium schätzt, dass in Deutschland vier Millionen Menschen von einer Depression betroffen sind und dass gut zehn Millionen Menschen bis zum 65. Lebensjahr eine Depression erlitten haben. Die Ursachen depressiver Störungen sind komplex und nur teilweise verstanden. Es wird von einem Zusammenwirken mehrerer Ursachen ausgegangen. Es werden sowohl biologische Faktoren wie Prädispositionen, Persönlichkeit und Persönlichkeitsentwicklung in der Adoleszenz und somit individuelle kognitive Verarbeitungsmuster als auch aktuelle, belastende Ereignisse als Auslöser angesehen. Depressionen können mit Psychotherapie, physikalische Maßnahmen oder einer medikamentösen Behandlung mit Antidepressiva behandelt werden. Häufig wird auch eine Kombination aus medikamentöser und psychotherapeutischer Behandlung angewandt. Antidepressiva wirken hauptsächlich auf das serotonerge oder noradrenerge Transmittersystem im Gehirn und sind oft mit starken Nebenwirkungen verbunden die sich bis hin zu erhöhter Suizidalität äußern können. Eine Alternative für diese Psychopharmaka stellt z.B. Lithium dar, jedoch führt eine Langzeittherapie häufig zu Nierenschäden. Zusätzlich konnten mehrere Studien verschiedenen anti-inflammatorischen Substanzen eine gute Wirkung gegen Depressionen nachweisen. Daher soll in dieser Studie ein neues Präparat auf seine Wirksamkeit gegen Depressionen getestet werden von dem bereits eine gute anti-inflammatorische Wirkung bekannt ist.

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

Für dieses Projekt werden 84 männliche wildtyp Wistar Kyoto Ratten beantragt.

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

Um die Wirkung neuer Arzneimittel 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**

Ziel des Projektes ist die Etablierung eines neuen Impfstoffes zur Vorbeugung von FYV Gelbfieber. Der Gelbfiebervirus ist ein RNA-Virus, das zur Gattung Flavivirus gehört. Die Vektorenübertragung erfolgt durch den Stich einer infizierten Mücke, vor allem Aedes oder Haemagogus spp. Nichtmenschliche und menschliche Primaten sind die wichtigsten Reservoirs des Virus. Die Übertragung erfolgt über Moskitos von Affe zu Mensch und Mensch zu Mensch. Die für die Dauer von fünf Jahren vorgesehenen Immunogenitäts- und Wirksamkeitsstudien der Impfstoffkandidaten sind mit einer dem Schweregrad „schwer“ zuzuordnenden Belastung der 12.300 Mäuse (teilweise transgen) verbunden.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

12.300 Mäuse

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

Es werden gut etablierte und international akzeptierte Mausmodelle unter Berücksichtigung aller Anforderungen zur Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung bei den geplanten Versuchen durchgeführt. Für die Erhaltung von aussagekräftigen Resultaten ist die Versuchstierzahl basierend auf langjährige Erfahrung und einer statistischen Auswertbarkeit und Vergleichbarkeit so gering wie möglich kalkuliert.

Eine rückblickende Bewertung ist nach Abschluss des Projektes (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 maligne Melanom, ein hochgradig bösartiger Tumor, der früh zur Metastasierung neigt, weist eine extrem hohe Sterblichkeitsrate auf. Obwohl rezente Fortschritte in der Therapie erzielt wurden, bleibt die fünfjährige Überlebenswahrscheinlichkeit mit etwa 5% alarmierend niedrig. In Zellkulturstudien haben wir metabolische Veränderungen charakterisiert, die bösartige Zellen von gutartigen unterscheiden. Darauf aufbauend haben wir Substanzen identifiziert, die *in-vitro* die Migration hemmen. Diese Substanzen sollen nun im Tierversuch getestet werden. In Mausmodellen, die die Entstehung des humanen Melanoms widerspiegeln, werden wir verschiedene erfolgsversprechende Substanzen applizieren, um ihre anti-tumorigene Wirkung zu überprüfen.

*zu erwartender Nutzen:* Die Ergebnisse unseres Projektes sollen Ansatzpunkte für die klinische Therapie von Melanompatienten liefern.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Mit der Induktion des Tumorwachstums und den Applikationen der Testsubstanzen ist ein schwerer Belastungsgrad zu erwarten.

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

Mit diesem Antrag wird um Bewilligung von maximal 490 Mäusen unterschiedlichen Genotyps für die Dauer von fünf Jahren ab Bewilligungsbeginn ersucht.

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

*Vermeidung:* Die Möglichkeit zur Vermeidung der beantragten Tierversuche wurde geprüft und ist nicht gegeben. Die Daten können weder aus schon verfügbaren Studien abgeleitet werden, noch durch Ersatzmethoden *in-vitro* gewonnen werden. Zudem ist eine Testung am Menschen aus ethischen Gründen nicht zu rechtfertigen.

*Verminderung:* Die Anzahl der benötigten Versuchstiere wurde durch statistische Fallzahlberechnung bestimmt und ist so niedrig wie nötig und trotzdem aussagekräftig gehalten. Die Hypothesen werden modular in mehreren Versuchszielen abgearbeitet, wobei aufeinander aufbauende Versuchsziele definiert wurden. Werden Versuchsziele nicht erreicht, werden aufbauende Versuche eingespart, was zu einer Reduktion der Tieranzahl führt. Die Versuche wurden zudem standardisiert, sodass eine möglichst niedrige Streuung der Experimente erwartet wird, was die Tieranzahl gering hält.

*Verfeinerung:* Um die beantragten Versuche optimal durchzuführen, kooperiert der Antragsteller mit Experten, die praktische Erfahrung mit den verwendeten Methoden nachweisen können. Die Substanzen, die appliziert werden sollen, wurden in Vorversuchen in Zellkultur umfassend getestet, sodass nur vielversprechende und wirksame Substanzen im Tierversuch getestet werden. Die Verwendung von etablierten Tiermodellen garantiert das erfolgreiche Testen der gestellten Hypothesen unter minimalem Belastungsgrad der Tiere. Die Haltung der Tiere erfolgt über die Standards hinaus in einem "enriched environment".

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

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

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

In den vergangenen Jahren konnte ein Zusammenhang zwischen emotionalen Lernvorgängen und der Entstehung neuer Nervenzellen im Gehirn von Erwachsenen hergestellt werden. "Neu geborene" Neurone werden kontinuierlich auch im Gehirn bereits erwachsener Säugetiere, insbesondere in solchen Regionen, die eng mit Lernen und Gedächtnis assoziiert sind gebildet. Die dabei beteiligten Faktoren sind nur zum Teil bekannt. Es konnte in Zellkultur gezeigt werden, dass die Stimulierung entsprechender Rezeptoren zu einer Steigerung der Proliferation von neuronalen Vorläuferzellen führt. Die Bedeutung von diesen Rezeptoren und die Verschaltungen der entsprechenden Nervenzellen wurde in diesem Zusammenhang jedoch noch nicht untersucht. Es ist deshalb von besonders wichtig, dass die einzelnen Bestandteile dieser "neurogenen Nischen" des Erwachsenengehirns möglichst intakt gehalten werden.

*zu erwartender Nutzen:* Die Untersuchungen werden wertvolle Erkenntnisse liefern, die in weiterer Folge zur Entwicklung neuartiger, angstlösender Therapien beziehungsweise antidepressiv wirkender Medikamente verwendet werden können. Zusätzlich bietet eine Steigerung der Nervenzellbildung die Möglichkeit neurodegenerativen Erkrankungen, die vor allem in vorgeschrittenem Alter auftreten entgegenzuwirken.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Die Belastungen betreffen hier vor allem den Zeitraum der Wundheilung (2-3 Tage). Es wird hier jedoch besonderen Wert auf die Desinfektion, Wundversorgung und schmerzstillende Zusatzmedikation geachtet.

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

Im Focus der geplanten Experimente steht die Bildung neuer Nervenzellen im Erwachsenengehirn und deren Einfluss auf emotionale Lernvorgänge. Deshalb können die abschließenden Versuche nicht an Zellkulturen durchgeführt werden. Vorexperimente wurden jedoch an Zellkulturen durchgeführt. Pro Versuchsreihe wird eine Gruppengröße von bis zu 15 Tieren angestrebt. Da hierbei nicht nur die Anzahl der neu gebildeten Nervenzellen untersucht wird sondern auch Veränderungen im Verhalten der Tiere beobachtet werden sollen, ist diese Anzahl für die nachfolgende statistische Auswertung nötig. Die Versuche sollen in einem Zeitraum von 3 Jahren durchgeführt werden. Es wird eine Maximalzahl von 317 Mäusen veranschlagt.

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

*Vermeidung:* Es wurden bereits Versuche in Zellkulturen durchgeführt, die zu einem positiven Ergebnis geführt haben. Die Bildung von neuen Nervenzellen und deren Funktion bei Lernvorgängen kann jedoch nicht in Zellkultur untersucht werden.

*Verminderung:* Die Versuche sind jedoch so konzipiert, dass sie aufeinander aufbauen und deshalb die Anzahl der beantragten Tiere deutlich unterschritten werden wird.

*Verfeinerung:* Es wird auf eine optimal Versorgung und Erholung der Tiere, insbesondere während und nach den Operationen geachtet (Wundheilung, Anästhesie, Schmerzstillung, Flüssigkeitsversorgung, Temperaturkontrolle).

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

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

Trotz großer Fortschritte bei der frühzeitigen Diagnose und der Therapie (Entwicklung neuer Medikamente) sind Pilzinfektionen noch immer eine große Gefahr, vor allem für Personen mit geschwächtem Immunsystem (Krebspatienten, Organtransplantationen, Verbrennungsoffer, HIV-Infektion...). Daher ist es wichtig, genauere Kenntnisse über die Vorgänge bei diesen Erkrankungen zu gewinnen.

Heutzutage können viele Versuche "in vitro", das heißt "im Reagenzglas" durchgeführt werden, auch Zellkulturen leisten einen wichtigen Beitrag. Manche Fragestellungen zum Krankheitsgeschehen können jedoch nach wie vor nur im Tierversuch untersucht werden. Im vorliegenden Projekt geht es um die Klärung der Mechanismen, wie Candida-Pilze eine Sepsis ("Blutvergiftung") verursachen und dabei den Abwehrsystemen im Blut entkommen können.

*zu erwartender Nutzen:* Die Klärung dieser Fragen ist von großer Bedeutung, um neue Methoden entwickeln zu können, mit denen in Zukunft die Therapie verbessert und erweitert werden kann. Wir erhoffen, damit zu einer Senkung der hohen Sterblichkeit bei Candida-Sepsis beizutragen.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Ein Teil der Versuchstiere wird an einer Candida-Infektion erkranken.

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

144 Mäuse

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

*Vermeidung:* Viele Experimente für die vorliegende Studie wurden und werden in vitro, d.h. "im Reagenzglas", durchgeführt (Anzucht der Pilze im Labor, zahlreiche Tests mit Plasma oder Blut von freiwilligen Spendern). Eine völlige Vermeidung von Tierversuchen ist jedoch nicht möglich. Die im Labor gefundenen Daten und Ergebnisse müssen im lebenden Wirt überprüft werden. Dafür sind reine in vitro- und Zellkulturmethoden bisher nicht ausreichend.

*Verminderung:* Durch eine Fallzahl-Kalkulation verwenden wir gerade so viele Tiere wie unbedingt nötig sind, um statistisch aussagekräftige Ergebnisse gewinnen zu können. Durch die Zusammenarbeit mit einer weiteren Arbeitsgruppe kann die Zahl der Versuchstiere reduziert werden, da ein gemeinsames Projekt durchgeführt wird, aus dem beide Gruppen wichtige Daten gewinnen wollen (Vermeidung der doppelten Durchführung von Tierversuchen). Außerdem beschränken wir die Versuche zunächst auf eine Candida-Art. Erst nach der Auswertung dieses Versuchs wird entschieden, ob die Ergebnisse so erfolgversprechend sind, dass eine Ausweitung auf andere Arten gerechtfertigt erscheint.

*Verfeinerung:* Die Tiere erhalten in jeden Käfig Nistmaterial und ein Häuschen als Rückzugsmöglichkeit. Sie werden zunächst eine Woche lang an ihre neue Umgebung gewöhnt und dabei jeden Tag einmal aus dem Käfig genommen, auf der Hand (mit Handschuhen) gehalten, gestreichelt und "angesprochen", um sie an die den Versuch durchführenden Menschen zu gewöhnen (Konditionierung).

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

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

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

Die Aufnahme von Fettsäuren im Dünndarm und ihre weitere Verteilung im Körper (als Bausteine für Biosynthesen bzw. zur Energiegewinnung) stellen fundamentale metabolische Prozesse dar. Wie Fettsäuren in speziellen Zellen des Dünndarms (Enterozyten) in ihre Transportform, die Triacylglyceride, umgewandelt, mittels spezieller Phospholipide (Phosphatidylcholin) verpackt, mit Proteinen versehen, und in der Folge in Form von Chylomikronen sekretiert werden, ist auf zellbiologischer Ebene nur schlecht untersucht. Hauptgrund dafür ist ein Mangel an geeigneten kultivierbaren Enterozyten-Zelllinien, insbesondere der Maus. Resultate aus Enterozyten-Linien anderer Spezies sind daher nicht direkt mit Resultaten aus Versuchen in der lebenden Maus vergleichbar. In diesem Projekt soll untersucht werden, welche biologische Funktion der PEMT-Prozess (Synthese einer bestimmten Subspezies von Phospholipiden) hat. Das entsprechende PEMT Knock-out-Mausmodell steht uns zur Verfügung. Da das Enzym nicht im Dünndarm sekretiert wird, dort aber im PEMT-ko Modell intestinale Steatose nach Fütterung mit fettreicher Nahrung auftritt, können spezifische Aspekte dieser Reaktionen nur *in vivo* (im Mausmodell) untersucht werden.

*zu erwartender Nutzen:* Die Zucht von PEMT-knock-out Mäusen und deren Verwendung im Tierversuch ist für dieses Projekt von entscheidender Bedeutung, insbesondere im Hinblick auf die Aufklärung bestimmter Krankheiten, z.B. auch möglicher Therapieansätze.

*zu erwartender Schaden:* Der zu erwartende Schaden für die Tiere ist bei den Versuchen mit gering eingestuft, außer bei Implantieren der osmotischen Minipumpe ist kurzzeitig eine mittlere Belastung zu erwarten.

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

526 Mäuse

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

*Vermeidung:* Da das entsprechende Enzym nicht im Dünndarm sekretiert wird, dort aber im PEMT-ko Modell intestinale Steatose nach Fütterung mit fettreicher Nahrung auftritt, können spezifische Aspekte dieser Reaktionen nur *in vivo* (im Mausmodell) untersucht werden.

*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, etc. zu minimieren.

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*

Es sollen pflanzliche Diätergänzungspräparate auf einen möglichen gesundheitsfördernden oder leistungssteigernden Effekt an Laborratten getestet werden. Zunächst enthalten alle Mittel eine Anzahl essentieller Aminosäuren und Fettsäuren, sowie Vitamine, Mineralstoffe und Spurenelemente aus natürlichen Quellen. Die Auswahl und Menge dieser Stoffe erfolgt auf Basis der orthomolekularen Medizin. Des Weiteren enthalten sie eine Reihe von pflanzlichen Stoffen, teils als getrocknete Rohsubstanz (zB als Blatt, Wurzel, Kraut), teils als Extrakt (zB als ätherisches Öl; alles Apothekenware). Die Auswahl und Menge dieser Stoffe erfolgt auf Basis der traditionell chinesischen Medizin.

*zu erwartender Nutzen:* Die Mittel sollen zur Unterstützung eines Heilungsprozesses eingesetzt werden und sie sollen der Gesunderhaltung von Tieren dienen wenn diese bestimmten Belastungen ausgesetzt sind (zB Zucht, Laktation). Das Körpergewicht der Tiere wird wöchentlich kontrolliert und der Futter- und Wasserverbrauch wird notiert. Bei der Überprüfung der Zuchtleistung wird die Anzahl der Jungen gezählt und beim Absetzen der Jungtiere deren Gewicht bestimmt. Es erfolgt kein chirurgischer Eingriff. Die Tiere werden spätestens am 90. Tag nach der ersten Darreichung in tiefer Vollnarkose entblutet. Das Blut und die Organe der Tiere werden in der Folge im Labor untersucht.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* keiner. Die Vitalität der Tiere sollte durch die Gabe verbessert werden können.

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

134 erwachsene Ratten beiderlei Geschlechts der ingezüchteten Wildtypelinie HL/LE.

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

*Vermeidung:* Eine Fallzahlplanung ermittelt die nötige Tieranzahl

*Verminderung:* Die wöchentlichen Gewichtskontrollen werden durch die Tierpflegerin des Tierraums durchgeführt, die auch die Linie züchtet. Die Tiere sind den Kontakt zu ihrer Tierpflegerin gewöhnt.

*Verfeinerung:* Es ist mit einer Verbesserung der Lebensqualität der Tiere durch die Gabe des Pflanzenpräparats zu rechnen.



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

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

Die Entzündung ist ein grundlegender Prozess bei dem körpereigenes Gewebe auf Schädigung reagiert. Im Normalfall führt diese Reaktion zur Reparatur der Struktur und Funktion des Gewebes und ist dadurch ein Schlüsselprozess für die Aufrechterhaltung der Homöostase. Oxidationsprodukte spielen eine wichtige Rolle bei der Entzündung und deren Resolution. In dieser Studie möchten wir die Rolle von oxidations-spezifischen Epitopen und Komponenten des Immunsystems, welche diese erkennen, beim Entzündungsverlauf untersuchen. Hierbei sollen verschiedene Gruppen von genetisch modifizierten Mäusen untersucht werden.

*zu erwartender Nutzen:* Die Ergebnisse des Projektes sollen bessere Einblicke in den Entzündungsverlauf liefern, welche in weiterer Folge zu neuen therapeutischen Ansätzen in vielen verschiedenen Erkrankungsprozessen, wie zum Beispiel Atherosklerose, führen.

*zu erwartender Schaden:* Bei den geplanten weiterführenden Versuchen handelt es sich um Tierversuche ohne operative Eingriffe, es werden unterschiedliche Entzündungsauslöser durch Injektion an Tiere transgener Mauslinien verabreicht. Die genetisch modifizierten Mäuse werden dann hinsichtlich des Ausmaßes der Entzündung unter Ausschaltung bestimmter Faktoren untersucht werden.

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

1785 Mäuse unterschiedlichen Genotyps

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

Da die Aussagen von Zellkulturexperimenten begrenzt sind und nicht im Zusammenhang mit der Funktion eines Gens im ganzen Organismus stehen bzw. die *in vivo* Situation darstellen, ist eine Vermeidung des beantragten Tierversuches nicht möglich. Die Fragestellung (Funktion des Fehlens eines Gens und Auswirkungen auf den Entzündungsprozess) 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 (Le. "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 schwer zuzuordnen.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

Die zu untersuchenden Tiere im dreijährigen Projekt sind 664 Sprague Dawley Ratten.

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

Die Versuchsbedingungen werden so gewählt, dass mittels potenter Narkose und Analgesie, die tägliche tierärztliche Inspektion aller operierten Tiere und die tägliche tierpflegerische Betreuung und Konditionierung aller Tiere Schmerzen, Leiden und Ängste der Tiere möglichst verhindert werden.

Eine rückblickende Bewertung ist jährlich (2016, 2017, 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*

Präklinische Schmerzmodelle wurden in Nagetieren entwickelt, um das Bild klinisch relevanter Schmerzen des Menschen (neuropathische Schmerzen, Entzündungsschmerzen und Migräne-Kopfschmerzen) möglichst genau abzubilden. Diese Schmerzmodelle wurden über viele Jahre immer weiter verfeinert, um die Belastung der Versuchstiere substantiell zu reduzieren. Eine große Herausforderung ist aber weiterhin die quantitative Messung und Beurteilung der in den Versuchstieren induzierten Schmerzen. Die aktuell verwendeten Tests messen zuverlässig die Schmerzschwellen mechanischer und thermischer Reize und stellen für die Tiere eine geringe Belastung dar. Die Erfassung von spontanem Schmerzverhalten ist aber weiterhin sehr schwierig. Das stellt auch ein großes Problem für die präklinische Entwicklung neuer effektiver Behandlungsverfahren dar, da chronische Schmerzpatienten sehr häufig die spontan auftretenden Schmerzen als ihre größte Belastung angeben. Kürzlich wurde ein Verfahren publiziert, das die Erfassung von Spontanschmerzen grundsätzlich erlauben soll. Die Verwendung dieses Tests könnte möglicherweise sensitiver als die etablierten Schwellentests Veränderungen in den Schmerzmodellen detektieren. Das würde erlauben, diese Modelle weiter zu verfeinern, und damit die Belastung der Versuchstiere noch niedriger zu halten und noch zuverlässiger wirksame Therapieverfahren zu erkennen.

*zu erwartender Nutzen:* Die erfolgreiche Etablierung dieses Tests in der Schmerzforschung würde eine objektive und überaus sensitive Möglichkeit bieten, spontanes Schmerzverhalten in Ratten und Mäusen zu untersuchen. Dies würde die Verfeinerung von präklinischen Schmerzmodellen weiter vorantreiben, und die Belastung der Versuchstiere in Zukunft noch weiter reduzieren.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Die Tiere werden etablierten Schmerzmodellen unterzogen, die über viele Jahre ständig verfeinert wurden, um die Belastung der Versuchstiere möglichst gering zu halten.

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

In Abhängigkeit vom jeweiligen Ergebnis der stufenweise aufgebauten einzelnen Experimente werden mindestens 88/maximal 205 Mäuse und mindestens 18/maximal 27 Ratten verwendet.

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

*Vermeidung:* Art und Stärke der Schmerzempfindung können nur durch das Verhalten der Tiere beurteilt werden. Entsprechende Studien müssen deshalb am intakten Tier durchgeführt werden. Die hier verwendeten Schmerzmodelle wurden aber auf die relevantesten in den jeweiligen pathologischen Subkategorien beschränkt.

*Verminderung:* Die Anzahl der Tiere wurde auf das statistisch absolut erforderliche Mindestmaß reduziert. Die Experimente sind aufeinander aufgebaut. Sollte ein vorhergehendes Experiment nicht erfolgreich sein, wird das Projekt abgebrochen.

*Verfeinerung:* Um den Stress zu minimieren, werden die Tiere der Testumgebung so kurz wie möglich ausgesetzt. Die Tiere werden ständig beobachtet, um mögliches Leiden rechtzeitig zu erkennen, zu beenden oder zu reduzieren. Das Ziel der Studie ist die Verfeinerung weltweit häufig verwendeter Tiermodelle.

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

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

Die dilatative Kardiomyopathie (DCM) ist eine Herzerkrankung mit schlechter Prognose, und die führende Indikation für Herztransplantationen. Die Erkrankung ist auch eine wichtige Ursache für Herzrhythmusstörungen und plötzlichen Herztod. Die derzeit einzige kurative Behandlungsform für DCM-Patienten ist eine Herztransplantation. Die Medikamente zur Behandlung, auf der anderen Seite, führen nur zur Besserung der Symptome und/oder verlangsamen in geringem Maße das Fortschreiten der Erkrankung. Folglich wird es die Herausforderung der Zukunft sein, neue und bessere therapeutische Ansatzpunkte für Medikamente zu identifizieren und zu validieren. Die erfolgreiche Erforschung solcher Ansatzpunkte erfordert ein detaillierteres Verständnis der DCM-Pathophysiologie.

Neue Untersuchungen deuten darauf hin, dass eine abnormale Expression und/oder Funktion spannungsabhängiger Ionenkanäle in Herzmuskelzellen von DCM-Herzen Faktoren sind, die zur Pathophysiologie der Erkrankung beitragen. Ionenkanalabnormalitäten werden sogar als neue Ursachen oder zugrunde liegende Mechanismen für DCM-Entwicklung betrachtet. Folglich erscheinen Ionenkanalmodulatoren als vielversprechende Kandidaten zur Entwicklung von neuen pharmakologischen Behandlungsstrategien zur Verhinderung von DCM-Entstehung und Progression. Im Rahmen der geplanten Studien sollen Herzmuskelzellen aus dem Herzen von DCM-Mausmodellen isoliert werden, mit dem Zweck diese systematisch auf Ionenkanalabnormalitäten zu untersuchen. Danach sollen potentiell heilsame Effekte von Ionenkanalmodulatoren an "kranken" Herzmuskelzellen getestet werden. Mit den geplanten Studien erwarten wir Ionenkanalabnormalitäten als neue DCM-Erkrankungsmechanismen aufzudecken, und als solche potenzielle therapeutische Targets zur Verhinderung der Erkrankung, und für ein verbessertes Management von Herzrhythmusstörungen in Patienten.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

Es werden 2.260 Mäuse benötigt (für 5 Jahre).

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

*Replacement (Vermeidung):* Alle Untersuchungen finden an isolierten Herzmuskelzellen statt. Es werden also keine klassischen Tierversuche, sondern nur Organentnahmen durchgeführt! Die Studien können nur mittels Verwendung von Mausmodellen für DCM durchgeführt werden. Es gibt dazu keine Alternative.

*Reduction (Verminderung):* Die Anzahl der Zuchttiere wird genau auf die erforderliche Anzahl der benötigten Zellpräparationen abgestimmt. "Wild type litter-mates" werden als Kontrolltiere eingesetzt, um die Streuung bei den Versuchen zu verringern.

*Refinement (Verfeinerung):* Die Elterntiere werden unter standardisierten Bedingungen spezifisch pathogenfrei unter Verwendung einzelbelüfteter Käfige gehalten. Zellisolierungen bei Verwendung der Mauslinie mit stärkerem Krankheitsphänotyp sollen an möglichst jungen Tieren (3-4 Wochen) durchgeführt werden.

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

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

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

Ziel dieser Studie ist es in-vivo weiterführende Untersuchungen zum Effekt von Infektionen während der embryonalen Entwicklung auf das emotionale Verhalten im späteren Leben zu etablieren. Präklinische Bildgebungsverfahren als nicht-invasive Methoden zur Darstellung der Veränderungen im Gehirn von Maus und Ratte erscheinen sehr vielversprechend, um in der Zukunft die Art und Anzahl der invasiven Eingriffe, sowie die Zahl der benötigten Versuchstiere, reduzieren zu können.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

Das Projekt umfasst die Untersuchung von 30 Ratten und 12 Mäuse (6 davon gentechnisch verändert).

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

**Vermeidung:** Es wird in diesem Projekt versucht, das Tierleid für diesen Wissenschaftsbereich zu vermindern. Leider ist es aber trotzdem notwendig, die Etablierung der neuen und schonenderen Methode mit wenigen Versuchstieren durchzuführen. Wir hoffen aber damit für die Zukunft eine deutliche Reduzierung der Tierzahl für solche wissenschaftlichen Fragestellungen erreichen zu können.

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

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

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

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

Das "Porzine Reproductive und Respiratorische Syndrom Virus (PRRSV) kommt weltweit vor und verursacht eine virale Lungenerkrankungen von Ferkeln und Fruchtbarkeitsstörungen von Zuchtsauen. Es sind bereits Impfstoffe zur Bekämpfung von PRRSV auf dem Markt. In vielen Fällen sind diese Impfstoffe jedoch nur begrenzt wirksam. Ziel dieser Studie ist es, die Effizienz handelsüblicher PRRSV Impfstoffe zu verbessern. Durch den zeitgleichen Einsatz von zwei verschiedenen Impfstoffen, kann eine optimale Aktivierung des Immunsystems erreicht werden und somit die Wirksamkeit der Impfstoffe gesteigert werden.

*zu erwartender Nutzen:* Erhöhte Wirksamkeit von handelsüblichen PRRSV Impfstoffen erspart den Tieren erhebliches Leid, das durch die Erkrankung verursacht wird. Des Weiteren ist ein zielgerichteter Einsatz von Impfstoffen in der Nutztierhaltung eine wesentliche Maßnahme zur Reduktion des Antibiotikaeinsatzes.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Bei dem beantragten Projekt handelt es sich um einen Impfstoffversuch. Durch die Immunisierung ist von keinerlei Nebenwirkungen auszugehen. Die notwendigen Blutentnahmen verursachen eine geringe, kurzfristige Belastung für die Tiere.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

24 Schweine (Hausschwein; *Sus Scrofa domestica*)

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

*Vermeidung:* Zur Vermeidung von Tierversuchen sind dem beantragten Projekt bereits umfassende *in-vitro* Experimente vorangegangen. Basierend auf den Ergebnissen dieser Versuche, ist von einer immunstimulatorischen Wirkung bei gleichzeitiger Verabreichung zweier Impfstoffe auszugehen. Es ist bis dato nicht möglich die komplexen Vorgänge einer Immunantwort nach Impfung außerhalb des Gesamtorganismus nachzustellen. Daher stehen zur Beantwortung der Fragestellung keine adäquaten Ersatzmethoden zu Verfügung und der Tierversuch ist unumgänglich.

*Verminderung:* Es wird das statistisch vertretbare Minimum an Tieren eingesetzt. Moderne, technisch aufwendige Analyseverfahren ermöglichen es, klare Aussagen über das Immunsystem zu treffen und gleichzeitig die Tierzahl auf ein Minimum zu beschränken. Blutproben werden nur zu absolut notwendigen Zeitpunkten entnommen. Bei allen Entnahmen wird genügend Blut gewonnen, so dass überzählige Zellen konserviert werden können und für spätere Analysen zur Verfügung stehen. Somit wird eine Wiederholung des Tierexperiments vermieden.

*Verfeinerung:* Die physiologischen Bedürfnisse des Schweins werden während des gesamten Versuchs berücksichtigt. Die Tiere werden in Gruppen und in ausreichend großen Stallungen gehalten. Ein ständiger Zugang zu Futter und Wasser ist gewährleistet. Die Temperatur ist dem Bedürfnis der Schweine angepasst. Ausreichend Beschäftigungsmaterial wird zur Verfügung gestellt. Die Tiere werden täglich durch geschultes, sachkundiges Personal untersucht. Bei Auftreten von Schmerzen, ob in unmittelbarem Zusammenhang mit dem Versuch oder nicht, werden die Tiere mit handelsüblichen, für Schweine zugelassenen Schmerzmittel behandelt. Sollten unerwartet schwerwiegende Symptome auftreten, wird der Versuch abgebrochen.

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

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

Pathogene Bakterien, die gegen Antibiotika resistent sind, stellen ein ernstzunehmendes weltweites Gesundheitsrisiko dar. Jedes Jahr sterben tausende Menschen an Infektionen mit solchen Antibiotika-resistenten Bakterien. Momentan gibt es keine wirksame Impfung gegen diese Bakterien. Ziel dieses Projekts ist die Untersuchung der Funktion und Wirksamkeit von bisher nicht berücksichtigten Komponenten der natürlichen Immunabwehr in der Resistenz gegen schwere Haut- und Atemwegsinfektionen durch Antibiotika-resistente Bakterien.

*zu erwartender Nutzen:* Die Erkenntnisse dieser Studie sollen das Verständnis der körpereigenen Abwehrmechanismen gegen Infektionen mit pathogenen Bakterien erhöhen und letzten Endes eine Grundlage für neue Strategien zur Vorbeugung oder Behandlung von Infektionen mit Antibiotikaresistenten Bakterien darstellen.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Infektionen mit der Möglichkeit des Auftretens von Krankheitszeichen.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

1.328 Mäuse unterschiedlichen Genotyps.

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

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

*Verminderung:* Zur Verminderung der Tierzahl wird bei sämtlichen Versuchen auf streng standardisierte Versuchsbedingungen Wert gelegt, die Anzahl der Tiere beruht auf statistischen Berechnungen. Zur Reduktion potentieller Streuungen werden nur Tiere aus derselben Tierzuchteinrichtung verwendet.

*Verfeinerung:* Die Infektionsstudien werden derart verfeinert und durchgeführt, dass Leiden durch folgende Maßnahmen vermindert wird:

1. Werden sämtliche Eingriffe unter Narkose durchgeführt;
2. Werden die Infektionen derart geplant, dass Krankheitssymptome so weit als möglich vermieden werden;
3. Wird zur Verminderung der Tierzahl bei sämtlichen Versuchen auf streng standardisierte Versuchsbedingungen Wert gelegt;
4. Werden Überlebensexperimente nur durchgeführt, wenn die Ergebnisse aus den vorherigen Versuchen, welche ohne maßgebliche Schmerzen oder Leiden durchgeführt werden können, mit einer an Sicherheit grenzenden Wahrscheinlichkeit zu einem Überlebensunterschied führen. Wenn dies nicht gegeben ist, werden keine Überlebensversuche durchgeführt.

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

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

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

In der heutigen Zeit kommt es zu einer steigenden Anzahl an Menschen mit Übergewicht und den assoziierten Folgeerkrankungen, wie Diabetes mellitus, Herzinfarkt und Bluthochdruck. Obwohl es vielfältige Therapieansätze zu deren Behandlung gibt, führen diese Erkrankungen jährlich zu einer steigenden Anzahl von Todesfällen und anderen Komplikationen. Aus diesem Grund sind in diesem Bereich weitere Forschungsbemühungen essentiell. Im Rahmen eines anderen Forschungsprojektes, mit den in diesem Projekt verwendeten Mäusen, haben wir festgestellt, dass diese eine größere Gewichtszunahme im Vergleich zu den Kontrollmäusen aufweisen. Diese Mäuse haben eine Defizienz für ein Signaltransduktionsmolekül in Makrophagen, eine Zellart des Immunsystems. Von Makrophagen ist bekannt, dass sie eine bedeutende Rolle im Fettgewebe spielen und die Ausprägung einer Adipositas beeinflussen können. Aus diesem Grund und in Zusammenhang mit unserer Beobachtung möchten wir in diesem Projekt untersuchen, welche Auswirkungen die Defizienz des Signaltransduktionsmoleküls in Makrophagen auf die Entwicklung einer Adipositas und den Fettstoffwechsel hat. Diese Art der Fragestellung kann leider nicht ausreichend gut in einem Zellkultursystem untersucht werden, denn in einem solchen System kann die Interaktion der Makrophagen mit dem Fettgewebe und anderen beteiligten Zellen nicht ausreichend simuliert werden. Ferner können etwaige systemische Auswirkungen (Glukosehaushalt, Leberstoffwechsel, Entzündungszustand) leider nicht in einem Zellkultursystem untersucht werden. Die Belastungen in diesem Experiment sind für die Versuchstiere gering, da lediglich die Auswirkungen unterschiedlichen Futterzusammensetzungen (normal hoch kalorische Futter, normaler/hoher Fettgehalt) untersucht werden. Nach gewissen Zeiträumen (3 bzw. 12 Wochen) werden die Signaltransduktionsmolekül defizienten und Kontrollmäuse auf Grundparameter des Fettstoffwechsels und des Immunsystems untersucht.

***zu erwartender Nutzen:*** Wir erwarten uns von den geplanten Experimenten einen besseren Einblick in das Zusammenspiel von den Entzündungszellen (Makrophagen) und dem Fettgewebe, speziell die Bedeutung eines spezifischen Signaltransduktionsmoleküls, von welchem die verwendeten Tiere eine Defizienz aufweisen. Dieses Molekül ist aktuell therapeutisch beeinflussbar, sodass diese Fragestellung eine hohe Relevanz für die medizinische Forschung im Bereich der Adipositas und deren Folgeerkrankungen hat (Diabetes mellitus, Koronare Herzkrankheit, arterielle Hypertonie ...)

***zu erwartender Schaden für die Tiere:*** Dieser ist als gering anzusehen, da der Eingriff in einer unterschiedlichen Komposition des Tierfutters besteht.

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

Es werden insgesamt 480 Mäuse für 3 Jahre benötigt. Davon werden 240 mit unterschiedlichen Diäten behandelt.

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

Zur Erfüllung der 3R (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung) wird die Zahl der Tiere auf das Mindestmaß reduziert, bei dem noch signifikante Effekte zu erwarten sind, damit keine sinnlosen Versuche durchgeführt werden. Während des gesamten Projektes kommt es zu einer detaillierten Aufzeichnung, damit die Durchführung nachfolgender Projekte erleichtert wird und um eine maximale Informationsmenge aus den Versuchen zu erhalten.



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

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

Die Gedächtnisbildung im Gehirn wird oft durch emotionale Aspekte stark erleichtert. Reize, die Schmerzen oder Angst verursachen, bilden ein robustes und beständiges emotionales Gedächtnis in der Amygdala, einem Gefühlszentrum in sowohl tierischen als auch menschlichen Gehirnen. Doch auch die Leitungsbahn zwischen Habenula und Nucleus interpeduncularis hat hinsichtlich Motivation, Belohnung und Angst jüngst vermehrt Beachtung gefunden. Jedoch sind die neuronalen Zellen, ihre Projektionen und die Mechanismen, die bei diesen Gedächtnisbildungen eine Rolle spielen, noch weitgehend unbekannt. Es ist besonders wichtig zu verstehen, wie das emotionale Gedächtnis im Gehirn gebildet wird, um eine effektive Behandlung für Patienten mit neurologischen Erkrankungen wie z. B. neuropathischen Schmerzen oder posttraumatischen Störungen zu ermöglichen.

Das Hauptziel dieses Projektes ist die Identifizierung neuronaler Leitungsbahnen, die eine wichtige Rolle bei der Bildung des emotionalen Gedächtnisses spielen, und die Untersuchung der synaptischen Mechanismen, die die nachhaltigen Veränderungen bei der Neurotransmission in diesen Leitungsbahnen unterstützen. Wir verwenden die Ligation der Lumbalnerven, die im Tiermodell bei Ratten neuropathische Schmerzen hervorruft. Die besonders empfindlichen und quantitativen Methoden des neuronalen Tracing, der Morphometrie der Synapsen, der Quantifizierung von Rezeptoren- und Rezeptionskanälen, der elektrophysiologischen Aufzeichnung und Optogenetik werden mit Verhaltensstudien über Furcht, Angst, Depression und Motivation kombiniert. Besonderes Augenmerk liegt auf den Mechanismen des Langzeitgedächtnisses und der optogenetischen Manipulation des emotionalen Verhaltens *in vivo*.

#### *zu erwartender Nutzen:*

- mehr Informationen darüber zu sammeln, wie das emotionale Gedächtnis im Gehirn gebildet wird, um eine effektive Behandlung für Patienten mit neurologischen Erkrankungen wie z. B. neuropathischen Schmerzen oder posttraumatischen Störungen zu ermöglichen
- die Identifizierung neuronaler Leitungsbahnen, die eine wichtige Rolle bei der Bildung des emotionalen Gedächtnisses spielen, und die Untersuchung der synaptischen Mechanismen, die die nachhaltigen Veränderungen bei der Neurotransmission in diesen Leitungsbahnen unterstützen
- mehr Erkenntnisse über die Mechanismen des Langzeitgedächtnisses zu erlangen

#### *zu erwartender Schaden:*

- Ein Eingriff wird zu starken Schmerzen führen, die aber nicht länger als einen Tag anhalten werden.

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

Wir planen, für dieses Projekt mit 550 Ratten über einen Zeitraum von fünf Jahren zu arbeiten.

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

Das Forschungsdesign ermöglicht eine Beschränkung der Anzahl der verwendeten Tiere auf das notwendige Minimum. Wir verwenden eine minimale Anzahl von Tieren zur Gewinnung statistisch relevanter Versuchsergebnisse mit Hilfe von äußerst empfindlichen quantitativen Messungen mittels weniger Variablen als bei herkömmlichen Studien. Zunächst verwenden wir drei Tiere und testen, ob damit bereits ausreichend Daten für die Ermittlung von statistisch signifikanten Unterschieden gesammelt werden konnten. Wenn dem so ist, können wir die Messungen mit einer minimalen Anzahl von Tieren durchführen. Wenn nicht, werden wir die Anzahl auf sechs erhöhen, um zu ermitteln, ob zwischen den Versuchsgruppen ein signifikanter Unterschied feststellbar ist oder nicht. Verhaltensexperimente erfordern in der Regel eine größere Anzahl von Tieren. Da die Experimente mit kleinen Gruppen von Tieren (weniger als 20) durchgeführt werden, können die Daten aus den ersten Versuchsreihen verwendet werden, um zu testen, ob zuverlässige und statistisch signifikante Daten bereits vorhanden sind, bevor weitere Tiere verwendet werden. Darüber hinaus arbeiten wir

gemäß dem neuesten Stand der technischen Entwicklung, sowohl hinsichtlich der Operationstechniken als auch der Methoden für Verhaltensforschung. Zum Beispiel kann eine optogenetische Stimulation des L5-Nervs anstatt einer invasiven chirurgischen Ligation zur Erzeugung des neuropathischen Schmerzmodells angewandt werden. Dadurch stellen wir sicher, dass möglichst wenige Tiere eingesetzt werden und die Häufigkeit und das Ausmaß von unnötigen Schmerzen während der Durchführung der Versuche weiter reduziert werden. Durch regelmäßige Gespräche mit unserem Tierarzt werden wir unsere Protokolle weiterentwickeln.

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

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

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

Die 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 ca. 146 Millionen Menschen weltweit an Typ 2 Diabetes mit stark steigender Tendenz. Hypertriglyzeridämie, charakterisiert durch die Akkumulierung triglyzeridreicher Lipoproteine, spielt eine wichtige Rolle in der Entstehung von Dyslipidämien und ist ein bekannter Risikofaktor für Atherosklerose. Enterozyten des Dünndarms transportieren mit der Nahrung aufgenommene Lipide in den Organismus und sind in hohem Maße an der Bildung triglyzeridreicher Lipoproteine beteiligt. Mit Hilfe des immer detaillierteren Verständnisses der biochemischen Vorgänge in und zwischen Zellen und anhand von histologischen Befunden wird versucht die Ursachen und den biochemischen Ablauf zu klären. In diesem Projekt untersuchen wir die 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 bzw. die in vivo Situation darstellen, sind transgene und knock-out Mausmodelle von entscheidender Bedeutung in der Aufklärung bestimmter Krankheiten und möglicher Therapieansätze.

*zu erwartender 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*

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

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

**Projektziele:** Ziel dieser Studie ist der Vergleich der Sensitivität und Spezifität von Schnittbilduntersuchungen der Bulla tympanica im Vergleich mit der videootoskopischen Untersuchung und den Untersuchungen des Bullaaspirates in Bezug auf die Diagnose einer Otitis media. Die Daten dieser Studie sollen zeigen, wie viele Hunde mit chronischer Otitis externa auch eine Otitis media haben und welche Art der Diagnostik die sensitivere/spezifischere Methode ist.

**zu erwartender Nutzen:** Otitis media beim Hund ist eine häufige Komplikation einer chronischen Otitis externa durch die Ausbreitung der Infektion über ein rupturiertes Trommelfell. Die Entzündung des Mittelohres ist eine der wichtigsten Ursachen für rekurrende Otitis externa und kann auch zu neurologischen Symptomen und einer Otitis interna führen, wenn diese nicht diagnostiziert und behandelt wird. Die Diagnose einer Otitis media kann eine Herausforderung sein, da das Trommelfell in der Otoskopie oft intakt aussieht. Mehrere diagnostische Möglichkeiten stehen zur Verfügung, wobei sich besonders die Schnittbilduntersuchung der Bulla tympanica mittels CT oder MR in den letzten Jahren als sehr sensitive Methode herausgestellt hat. Als sensitivste Methode der Diagnose einer Otitis media gilt in der Literatur jedoch die Kombination aus zytologischer und mikrobieller Untersuchung des Aspirates aus der Bulla tympanica, was auch in Hinblick auf die adäquate antimikrobielle Therapie von Nutzen ist. Routinemäßig wird bei Hunden mit chronischer Otitis externa eine Kombination von Schnittbilduntersuchung, Videootoskopie und Untersuchung des Bullaaspirates zur Diagnose/zum Ausschluss einer Otitis media empfohlen, allerdings existieren in der Literatur keine Daten, welche die Sensitivität/Spezifität dieser Methoden im Vergleich zeigen.

**zu erwartender Schaden:** Da sowohl die Schnittbilduntersuchungen als auch die Videootoskopie unter Allgemeinanästhesie durchgeführt werden, gilt für die verwendeten Tiere ein Narkoserisiko, jedoch werden ausschließlich Hunde in die Studie aufgenommen, welche weder klinisch noch labordiagnostisch einen Hinweis auf ein erhöhtes Narkoserisiko zeigen. Durch die angewandte Diagnostik mittels CT/MR werden die Tiere einer Strahlenbelastung ausgesetzt. Nach einer Myringotomie können (meist vorübergehend) neurologische Symptome im Sinne eines Vestibulärsyndroms oder Taubheit auftreten.

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

40 Hunde aus Privathaltung, welche als Patienten vorgestellt werden und die Kriterien für eine chronische Otitis externa erfüllen.

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

**Vermeidung:** nur Hunde, welche die Einschlusskriterien einer chronischen Otitis externa erfüllen und kein erhöhtes Narkoserisiko durch andere Erkrankungen aufweisen, werden in die Studie aufgenommen. Es werden nur Verfahren zur Diagnose einer Otitis media angewandt, welche der optimalen und derzeit empfohlenen Routinediagnostik entsprechen.

**Verminderung:** Tiere, welche an einer chronischen Otitis externa leiden, welche konservativ nicht erfolgreich behandelt werden konnten, haben durch die in der Studie angewandten Diagnostik und anschließenden Therapie bessere Aussichten gesund zu werden.

**Verfeinerung:** alle angewandten Methoden sind minimal invasiv und jedes Tier erhält bei Bedarf ein individuell angepasstes Analgesie-Regime.

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

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

Neben Herz-Kreislauf-Erkrankungen und Krebs zählen vor allem neurodegenerative Erkrankungen wie die Alzheimer'sche Erkrankung zu den schwerwiegendsten und vor allem kostenintensivsten Krankheiten des 20. und 21. Jahrhunderts. Je älter Menschen werden, umso häufiger erkranken sie an der Alzheimer'schen Erkrankung - einer fortschreitenden, degenerativen und unheilbaren Gehirnstörung. Betroffen sind etwa 3 % der Bevölkerung von 65-74 Jahren, 20 % der von 75-84 Jahren und 50 % der über 85-jährigen. Ungefähr 15 Prozent der österreichischen Bevölkerung sind 65 Jahre und älter. Heutigen Schätzungen zufolge leiden in Österreich ca. 100 000 bis 200 000 Menschen an einer Form von Demenz, wobei die am häufigsten vorkommenden Formen die Multi-Infarkt-Demenz und - mit einem 50 Prozent Anteil - die Alzheimer-Krankheit sind. 5xFAD transgene Mäuse spiegeln auf Grund von 5 Mutationen in 3 Alzheimer-relevanten humanen Transgenen laut Literatur sehr gut das pathologische Bild der Alzheimer-Krankheit wider. Daher wird diese Mauslinie zur Austestung der neuen Substanz verwendet. Mit diesen Projekten wird es möglich sein die Wirksamkeit zweier neuer Testsubstanzen gegen die Alzheimer'sche Krankheit zu testen.

In dieser Studie werden transgene und nicht transgene 12 Wochen alte männliche 5xFAD Mäuse für 16 Wochen über das Futter mit verschiedenen Konzentrationen zweier neuer Substanzen gegen die Alzheimer'sche Krankheit behandelt. Am Ende der Behandlungsphase werden die Tiere auf ihre Leistungen im Open Field Test, Morris Water Maze und Contextual Fear Conditioning Test untersucht. Danach werden die Tiere euthanasiert und das Gehirngewebe histologisch und biochemisch auf pathologische Merkmale untersucht. Durch diese Studie soll die Wirkung der neuen Testsubstanzen auf Kognition und pathologische Merkmale wie APP Plaques, Neuroinflammation und phosphoryliertes Tau untersucht werden.

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

Für diese Studie werden insgesamt 105 transgene 5xFAD Mäuse und 45 nicht transgene Geschwistertiere beantragt.

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

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

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

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

Die Fütterung kraftfutterreicher Rationen an Hochleistungsmilchkühe ist notwendig um diese Tiere leistungsgerecht zu ernähren. Allerdings resultiert diese Fütterung häufig in einer subakuten Ansäuerung des Pansens (subakute Pansenazidose genannt). Neuen Ergebnissen zufolge steigt die Bildung und Freisetzung des freien Lipopolysaccharids (LPS) im Pansen während einer subakuten Pansenazidose beim Rind rasant an. Außerdem wurde in den letzten Jahren oft beschrieben, dass eine kurzzeitige Pansenazidose von einer systemisch geringgradigen Entzündungserscheinung begleitet wird, was wiederum mit Stoffwechselstörungen in Verbindung gebracht wird. Wir vermuten, dass dieses im Pansen freigesetzte LPS während einer langen subakuten Pansenazidose auf Dauer eine Immuntoleranz bei der Kuh auslösen kann, was ebenfalls der Grund für eine Immunschwäche und auch Auslöser von Störungen diverser Stoffwechselformparameter sein kann. Diese Hypothese wird in diesem Projekt bei Milchkühen untersucht.

*zu erwartender Nutzen:* Erkenntnisgewinn über die Rolle der Fütterung und die damit verbundenen Gesundheitsstörungen bei Milchkühen. Dadurch können gezielte Präventionsmaßnahmen erarbeitet werden, die die angeborene Immunität und Gesundheit der Milchkuh verbessern.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Den Kühen werden regelmäßig diverse Proben (Blutproben, Speichelproben, Abstriche im Zitzenkanal, Kotproben) entnommen. Außerdem wird an den Kühen eine einmalige intramammäre LPS Inokulation durchgeführt. Die Probenahmen finden nach einer kurzen fachgerechten Fixierung in einem Behandlungsraum statt um Verletzungen zu vermeiden. Ansonsten werden die Kühe wie unter normalen Haltungsbedingungen gefüttert und in Gruppe gehalten. Daher gehen wir von einer mittelgradigen Belastung der Tiere in diesem Versuch aus.

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

18 Milchkühe in der Hochlaktation.

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

*Vermeidung:* Die zu untersuchenden Parameter benötigen die Verwendung eines lebenden Gesamtorganismus, da ein enges Zusammenspiel der einzelnen Komponenten des Stoffwechsels bzw. des Pansenstoffwechsels und der angeborenen Immunität vorliegt, welches detailliert untersucht werden soll. Der Ersatz durch eine versuchstierfreie Methode hat in diesem Fall keine Anwendung, denn die zu untersuchenden Parameter können nicht in alternativen Ansätzen (Zellkultur oder künstlichen Systemen) untersucht werden.

*Verminderung:* Durch die Reduktion der Tierzahl auf ein Minimum von 18 Tieren und durch das Versuchsdesign in dem Fütterungsversuch findet dieser Punkt volle Anwendung. Die Kühe erhalten in diesem Versuch Futterkomponenten die von Milchkühen sehr gut vertragen werden und der üblichen Praxis entsprechen. Die Probenahme ist auf ein Minimum reduziert worden.

*Verfeinerung:* Die Unterbringung der Tiere entspricht den bzw. übertrifft die eingeforderten Standards. Der Versuch wird in einem generalsanierten und modernen Laufstall und mit neuester Stalltechnik durchgeführt. Das Pflegepersonal ist qualifiziert und die Betreuung und Überwachung der Tiere durch ausgebildete Tierärztinnen/Tierärzte gewährleistet. Tierärztinnen/Tierärzte übernehmen ebenfalls die Probenahme am Tier. Die Haltung der Tiere in einer Gruppe in einem für die Gruppengröße angemessenen Stall mit ausreichender Belüftung, Beleuchtung und Abschirmung von äußeren Lärmeinflüssen trägt zum allgemeinen Wohlbefinden der Tiere während der Versuchsdauer bei. Regelmäßige Fütterung und ständige Verfügbarkeit von sauberem Trinkwasser gewährleisten die Einhaltung der physiologischen Bedürfnisse der Versuchstiere.

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

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

Zelluläre Signalwege integrieren Information aus der Umwelt und bewirken Änderungen im Zustand von Zellen. Das Ziel des vorliegenden Tierversuchsantrags ist die Aufklärung der Funktion von Signalwegen in hämatopoetischen (blutbildenden) Zellen. Als Modellorganismus dient die Maus, in der die Funktion von spezifischen Signalmolekülen in Signalwegen durch genetische Veränderungen analysiert werden kann. Überdies werden Transplantationsexperimente durchgeführt und Tumore genetisch bzw. chemisch induziert um die Funktionen von Signalmolekülen und deren Interaktionspartnern aufzuklären. Im Detail werden die Interaktion zwischen hämatopoetischen Zellen und Tumorzellen, die Wechselwirkungen zwischen hämatopoetischen Stammzellen und deren Umgebung und die Abhängigkeiten unterschiedlicher hämatopoetischer Zellen voneinander untersucht. Die Ergebnisse dieses Versuchs sind relevant für die Erforschung der Selbsterneuerung, der Reifung und der Immunfunktion von Blutzellen in Zusammenhang mit Leukämie.

*zu erwartender Nutzen:* Wir erwarten neue Erkenntnisse zu Funktionen von spezifischen Signalmoleküle in hämatopoetischen Zellen, die Stammzellfunktionen, Reifung von Immunzellen und Leukämie beeinflussen.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Knochenmarkzellen oder Immunzellen von genetisch modifizierten Tieren werden in Empfängertiere (Rezipienten) transplantiert bzw. transferiert. Bei einigen Tieren werden genetisch oder chemisch Tumore induziert. Die Behandlungen sind als gering bis schwergradig belastend einzustufen.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

3218 Mäuse (*Mus musculus*) innerhalb von 3 Jahren

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

*Vermeidung:* Da das Immunsystem nur im Gesamtkontext des lebenden Organismus funktioniert und *in vitro* Methoden die komplexen Wechselwirkungen und immunologische Vorgänge im Gesamtorganismus nicht rekapitulieren können, sind Belastungen der Versuchstieren unvermeidbar.

*Verminderung:* Durch die Ergebnisse von Vorversuchen kann die benötigte Versuchstierzahl genau abgeschätzt werden. Ein sequenzieller Versuchsaufbau erlaubt die Entscheidung, ob ein darauf folgender Teilversuch sinnvoll ist und durchgeführt wird oder nicht. Weiters werden die Versuche aufeinander abgestimmt, so dass die Anzahl an Kontrollgruppen reduziert werden kann.

*Verfeinerung:* Die Tiere werden unter standardisierten Bedingungen mit freier Bewegungsmöglichkeit, Futter und Wasser *ad libitum*, gehalten und von geschultem 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, Krankheitszeichen und jegliche Verschlechterungen des Allgemeinzustandes kontrolliert um Belastungen zu verringern oder das Experiment, wenn nötig, abzubrechen.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 28. Februar 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*

Eine posttraumatische Belastungsstörung (PTBS) ist als klinisches Symptom beschrieben, welches sich nach dem Erleben eines traumatischen Ereignisses entwickeln kann. Schlafstörungen, herangezogen als prognostische Signifikanz werden allgemein als Kardinalsymptom einer PTBS angesehen. Doch gestörter Schlaf ist möglicherweise mehr als nur ein sekundäres Symptom, da fragmentierter Schlaf als pathophysiologischer Risikofaktor einer sich chronisch entwickelnden PTBS vermutet wird.

*zu erwartender Nutzen:* Von unseren Experimenten erhoffen wir uns neue Erkenntnisse über die Ausbildung und Manifestierung des emotionalen Gedächtnisses und den Einfluss von abiotischen Faktoren auf die Ausbildung dieser Gedächtnisform. Darüber hinaus erwarten wir Antworten über die distinkte Rolle spezifischer Schlafstadien bei der Bildung emotionaler Gedächtnisinhalte. Diese Erkenntnisse könnten zum einen einer zufriedenstellenden Vorhersagewahrscheinlichkeit zur möglichen Entstehung von PTBS nach dem Erleben eines traumatischen Ereignisses dienen. Andererseits aber auch Wege eröffnen, die Manifestierung traumatischer Ereignisse im Gedächtnis zu unterbinden bzw. zu lindern.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Kumulativ wird die Belastung der Tiere während der Experimente als gering bis mittel eingestuft. Die operativen Eingriffe zur Etablierung von chronischen EEG-Ableitungen finden unter tiermedizinischen Standards inkl. 14tägiger, postoperativer Analgesie statt. Während allen Experimenten (experimentelle Phase: 2-3 Wochen) befinden sich die Versuchstiere in ihren angestammten Heimkäfigen, sind dabei völlig ungestört und haben uneingeschränkten Zugang zu Futter und Wasser. Nach Beendigung der Experimente werden die Tiere unter Vollnarkose euthanasiert.

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

Im Rahmen unserer für drei Jahre angesetzten Experimente und aufgrund der Europäischen Richtlinien zur Verwendung einer Minimalzahl an Tieren zum Erhalt statistisch signifikanter Aussagen sind für das vorliegende Projekt maximal 490 Mäuse inklusive aller Kontrollgruppen beantragt.

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

Labormäuse sind ein internationale anerkannter Standardorganismus zur Erforschung komplexer psychiatrischer Erkrankungen und Schlafstörungen des Menschen. Von Vorteil sind hierbei die ausgeprägten neurochemischen, morphologischen und anatomischen Homologien zwischen Maus und Mensch. Leider ist es bei der Untersuchung hochorganisierter Verhaltensmuster während der Entwicklung von Angsterkrankungen und Schlafstörungen *nicht zu vermeiden (3R)*, die Experimente auf Ebene der Säugetiere anzusiedeln. Die angegebene Anzahl an Labormäusen genügt hierbei hinreichend der Mindestanforderung zum Erhalt biologisch relevanter Aussagen und kann daher nicht weiter *vermindert (3R)* werden. Es wird während aller Experimente großer Wert darauf gelegt, dass die Versuchstiere keinen unnötigen Stress erfahren. Im Besonderen werden unsere Versuchstiere nie isoliert gehalten und täglich sorgfältig betreut bzw. überwacht. Unser technischer/experimenteller Ansatz ist in allen Bereichen des Projekts „state of the art“ und in besonders sensiblen Belangen wie Tierhaltung und Stereotaxie über den gängigen Laboralltag hinaus entwickelt, so dass wir aufgrund dieser *Verfeinerungen (3R)* bereits während der Konzipierung der beantragten Studie massiv auf eine Verringerung/Verbesserung der Tierzahlen einwirken konnten.



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

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

In den letzten Jahren ist der Bedarf an Implantaten für Osteosynthesen in der Kindertraumatologie deutlich angestiegen. Kinder erhalten bereits heute deutliche Vorteile durch minimal invasive Zugangswege, verminderte Schädigung des umgebenden Weichteilmantels, früher Mobilisierung und verkürzten Krankenhausaufenthalt. Diese Entwicklung endet in der Maxime mit minimalstem Aufwand den größtmöglichen Erfolg zu gewähren. Bezogen auf die Kinder bedeutet dies; möglichst wenige Operationen respektive Anästhesien, eine möglichst geringe Störung der immer stattfindenden Heilung und eine höchstmögliche Reduzierung von Komplikationen. Dies alles führt letztendlich auch zu einem ökonomischen Benefit -kurzer stationärer Aufenthalt bzw. eine schnelle Wiedereingliederung in die alltägliche Betreuungslage, um den Arbeitsausfall für betreuende Mütter und Väter zu reduzieren.

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

*zu erwartender Nutzen:* In den letzten Jahren haben sich Magnesium-basierte Legierungen als vielversprechendstes Material mit biodegradierenden Eigenschaften zur intramedullären Stabilisierung herausgestellt. Eine weitere naheliegende Möglichkeit ist die Schraubenosteosynthese mit bioresorbierbarem Magnesium. Es ist gelungen erfolgreich eine Mg-Legierung herzustellen, welche die notwendigen mechanischen Eigenschaften und die erforderliche Korrosionsresistenz erbringt, dabei aber komplett auf die Beimischung von seltenen Erden verzichten kann -ein Durchbruch in der Materialentwicklung der letzten Jahre.

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

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

80 Bergschafe

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

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

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

*Verfeinerung:* Nach Eintreffen der Tiere bekommen diese eine Eingewöhnungszeit von mindestens einer Woche, um sich an die neue Umgebung zu gewöhnen. bevor der Versuch startet. In dieser Zeit haben die Schafe freien Zugang zu Stall und Weide. Zur Vermeidung von zusätzlichem Stress wurden Blutabnahmen zu den Zeitpunkten der CT Untersuchungen festgelegt, da sich die Tiere hierfür bereits in Narkose befinden. Die Tiere werden außerdem beginnend von Ihrem Eintreffen bis zum Ende der Studie von erfahrenen Tierpflegern betreut und regelmäßig von Tierärzten auf ihren Gesundheitszustand überprüft.

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**

Bis zu 90% aller Leukämien im Kindesalter sind durch konventionelle Therapien in Verbindung mit hämatopoetischer Stammzelltransplantation (HSZT) behandelbar. Immunreaktion des Spenderimmunsystems gegen Patientengewebe und Infektionen nach HSZT stellen dabei die häufigste Todesursache dar. Tumorzellen in Krebspatienten werden durch Bestrahlung und herkömmliche Chemotherapie als erste kurative Maßnahme entfernt, was auch die Zerstörung des Immunsystems bewirkt. Durch Transplantation von Knochenmark geeigneter Spender kann das Immunsystem wieder aufgebaut werden, was eine Vielzahl an positiven aber auch negativen Nebenwirkungen zur Folge hat. In erster Linie sind HSZT Patienten in der frühen Phase der Wiederherstellung des Immunsystems anfällig für virale und Pilz-Infektionen. Durch zusätzliche Infusion von Spender T-Zellen können diese Infektionen unterdrückt werden, wodurch aber auch verstärkte, in vielen Fällen letale Immunreaktionen gegen Gewebe des Empfänger-Patienten, bekannt als "Graft versus Host Disease" (GvHD), auftreten können. Verstärkte GvHD wirkt sich wiederum positiv auf die Abwehr verbleibender Tumorzellen im Organismus, bekannt als "Graft versus Leukemia" (GvL), aus. Dieser Umstand verdeutlicht die Wichtigkeit optimales Spendermaterial zu gewinnen, um einerseits die Abwehr von pathogenen Keimen und GvL zu bewirken, andererseits GvHD zu verhindern. Immunmodulation von Spender T Zellen in der Zellkultur (ex vivo) erlaubt die Gewinnung sogenannter tolerisierter T Zellen, welche nach Infusion die Zerstörung des Empfänger Gewebes und Infektionen verhindern, gleichzeitig Tumorabwehr ermöglichen sollen.

*zu erwartender Nutzen:* In diesem Projekt sollen verschiedene Ansätze der ex vivo Immunmodulation getestet werden. Die Wirksamkeit ex vivo manipulierter T Zellen soll nach Verabreichung in einem Maus GvHD Modell untersucht werden. Die gewonnenen Resultate sollen dazu beitragen HSZT in Tumorpatienten als wirksames und sicheres Therapieverfahren anbieten zu können.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Empfängermäuse erkranken gegebenenfalls an einer GvHD, die mit Gewichtsverlust und charakterisierten Symptomen (eingeschränkte Fell- und Haut-Beschaffenheit, Haltung und Aktivität) einhergeht.

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

Um das Projektziel zu erreichen wird eine Anzahl von 555 Mäusen veranschlagt.

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

*Vermeidung:* Für die gegebene Fragestellung existieren keine alternativen experimentellen Ansätze, da nur im Gesamtorganismus die komplexen Gewebs- und Organ-Barrieren vorkommen. Komplexe zelluläre immunologische Netzwerke, welche GvHD verursachen, sind nur unter physiologischen Bedingungen im lebenden Organismus beschreibbar.

*Verminderung:* Durch den bereits beschriebenen Krankheitsverlauf der GvHD und unter Verwendung diverser Analysemethoden können wir an Hand von Beobachtungen an der lebenden Maus exakte Versuchsverläufe und Endpunkte bestimmen, was die Notwendigkeit von Versuchswiederholungen minimiert und somit die Mauszahlen reduziert. Überflüssige Mauszahlen durch zu große Behandlungsgruppen wurden durch Erfahrungswerte und daraus resultierender statistischer Berechnung der Versuchstierzahl vermieden.

*Verfeinerung:* Die Versuchstiere werden täglich genauestens nach auftretenden GvHD Symptomen untersucht, wobei stringente Abbruchkriterien gelten. Gegebenenfalls werden Schmerzmittel verabreicht.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 28. Februar 2019 vorgesehen.

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

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

Die in dem vorliegenden Antrag auf Genehmigung von Tierversuchen aufgeführten tierexperimentellen Methoden dienen der Genotypisierung und Etablierung von fluoreszenzmarkierten transgenen Tieren. Durch die Verwendung von Fluoreszenzproteinen zur Markierung von transgenen Mäusen ist die Unterscheidung zwischen wildtyp und transgenem Tier schon beim Neugeborenen möglich. Wir haben diese Technik weiterentwickelt und es ist nun möglich, durch Quantifizierung der Fluoreszenzintensität, nicht nur wildtyp von transgenen Tieren zu unterscheiden, sondern auch mischerbige von reinerbigen transgenen Tieren. Die Anwendung dieser Technik erfordert allerdings eine kurze Immobilisierung der Tiere mittels Inhalationsnarkose. Zusätzlich kann diese Methode auch zur Erstellung von neuen transgenen Mauslinien verwendet werden. Die herkömmliche Etablierung und Charakterisierung von transgenen Linien ist aufwendig und die Anzahl der gezüchteten Tiere ist erheblich und die Methoden zur Erkennung von transgenen Tieren arbeitsintensiv. Wird ein Fluoreszenzprotein mit dem zu untersuchenden Gen gekoppelt, steht die Fluoreszenzintensität im Verhältnis mit dem gekoppelten Gen und erleichtert somit durch direkte Messung der Fluoreszenzintensität Rückschlüsse auf die Proteinexpression. Die Tiere können mit dieser Methode schnell und schonend unterschieden werden.

*zu erwartender Schaden:* Durch die Verwendung von in vivo Imagern und deren Bauweise, ist es notwendig, die Mäuse für die Dauer der Messung von etwa 20 Sekunden durch eine Inhalationsnarkose zu immobilisieren. Da keine schmerzhaften Eingriffe und nur eine kurze Inhalationsnarkose durchgeführt werden, kann der Belastungsgrad als gering eingestuft werden. Alle Tätigkeiten werden von sachkundigem Personal durchgeführt um weitere Belastungen durch unsachgemäßes Handling zu vermeiden.

*zu erwartender Nutzen:* Durch die Verwendung von Fluoreszenzproteinen bei der Herstellung und Genotypisierung von transgenen Tieren wird die Anzahl der gezüchteten Tiere erheblich reduziert. Durch die Fluoreszenzmessung der Nachkommen (F1 Tiere) unter Narkose kann die Expression sofort festgestellt, mit den Geschwistern verglichen, bewertet und die entsprechenden Tiere zur Zucht selektioniert werden. Damit werden nur Protein-exprimierende Tiere weitergezüchtet und eine erhebliche Reduktion der Tierzahl erreicht. Die nicht invasive Technik trägt zur Vermeidung von Stress und Schmerzen bei. Den Tieren können wiederholte und oft schmerzhafte Gewebeprobenentnahmen erspart werden, ebenso die Tötung zum Zwecke der Organentnahme zur Etablierung der transgenen Linie.

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

Es werden 800 transgene Labormäuse pro Jahr für 5 Jahre (Gesamtzahl 4000 Mäuse) im Alter von 6-7 Wochen eingesetzt, bei etablierten Linien bereits Labormäuse im Alter von 3 Wochen. Die Tierzahl ist abhängig von der Anzahl der durch transgene Methoden erhaltenen "Founder" Tiere und auch der Anzahl der Integrationsstellen, welche bei der Fluoreszenzanalyse in der F1 oder auch erst in der F2 Generation festgestellt werden. Deshalb kann eine konkrete Anzahl der Tiere nur mit großer Unsicherheit genannt werden. Es ist durchaus möglich, dass die Zahl der tatsächlich verbrauchten Tiere unter diesen Zahlen liegen kann.

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

Durch die Verwendung von fluoreszenzmarkierten Tieren und die dadurch mögliche Bestimmung des Genotyps ist eine Gewebebiopsie nicht notwendig. So können den Tieren schmerzhafte und eventuell sogar mehrfache Gewebeentnahmen erspart werden und Schmerzen und Stress vermieden werden. Das Ziel dieser Methodik ist ebenso die Reduktion der Tierzahlen bei der Erstellung als auch bei der Züchtung von transgenen Tieren. Durch "Sichtbarmachen" des Genotyps mittels Fluoreszenzmarkierung, können gezielt Tiere zur Weiterzucht ausgewählt werden. Dadurch werden große Tierzahlen vermieden und Verpaarungen auf ein Minimum reduziert.

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

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

Die Fettsucht mit ihren Folgen wie Diabetes mellitus Typ II, kardio-vaskulären, neurologischen und muskulo-skeletalen Erkrankungen ist ein zunehmendes Problem der Wohlstandsgesellschaft der Gegenwart. Bei Versagen konservativer Verfahren wie Bewegungstherapie und Diät kann bei Patientinnen und Patienten mit extremer Fettsucht eine chirurgische Behandlung wie Magenband, Schlauchmagenoperation oder Magenbypass erforderlich werden. Betrachtet man die Schlauchmagenoperation als eines der gängigsten Verfahren, so wird ihr Effekt auf die Verkleinerung des Restmagens sowie auf einen Abfall des Stoffwechselformones Ghrelin (durch Wegfall von ghrelinproduzierenden Zellen) zurückgeführt. Neben seinem Effekt als Hungerhormon im Stoffwechsel erfüllt Ghrelin auch Aufgaben in der Entzündungskaskade. Bisher bleibt unklar, ob es durch den Abfall des Ghrelinspiegels nach der Schlauchmagenoperation zu negativen Effekten im Entzündungssystem kommt und ob diese Effekte durch enterale oder parenterale Verabreichung von Ghrelin reversibel sind. Zudem sind durch die Veränderung des Magenmilieus und des Fettstoffwechsels denkbare Änderungen in der bakteriellen Besiedlung des Darmes bisher nicht untersucht worden. Ziel dieses Projektes ist es erste Überblicke über die Machbarkeit und die Effekte der Schlauchmagenoperation im Nagermodell zu erlangen. Mit diesen Erkenntnissen soll die Forschung auf diesem Sektor in Richtung von Infekt-/Sepsismodellen nach Schlauchmagenoperationen weitergeführt werden.

*zu erwartender Schaden:* Mittels hochkalorischer Diät wird der Zustand einer Adipositas erreicht. Daraus ergeben sich wie beim Menschen möglicherweise Ko-Morbiditäten wie Diabetes Mellitus. Wegen der kurzen Lebensdauer der Mäuse mit Adipositas sind diese Nebeneffekte jedoch von vernachlässigbarer Dauer. Bei der Operation und in den ersten post-operativen Tagen entstehen Schmerzen wobei (wie beim Menschen) auf ausreichende Narkose bei der Operation und ausreichende Analgesie in den ersten post-operativen Tagen geachtet wird. Durch die Schlauchmagenoperation sind keine mechanischen Behinderungen des Nahrungstransits zu erwarten. Sollten einzelne Mäuse Zeichen eines Darmverschlusses aufweisen werden sie frühzeitig euthanasiert.

*zu erwartender Nutzen:* Das Versuchstier selbst hat von den Eingriffen keinen Vorteil. Für die Anwendung dieser Methode beim Menschen sind die Erkenntnisse aus diesem Tierversuch von großer Bedeutung. Erstmals werden nicht nur einzelne sondern ein Großteil der bekannten Stoffwechselformone und auch die Entzündungsmarker analysiert. Sollte es wirklich zu einer Abschwächung der Immunantwort durch die Schlauchmagenoperation kommen so müsste diese Methode im klinischen Alltag unter Umständen verlassen werden.

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

Für diese Untersuchung werden 45 Versuchstiere (Mäuse) benötigt.

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

*Vermeidung:* Die Untersuchung der Dauereffekte der Schlauchmagenoperation auf Gewichtsentwicklung, Stoffwechselformone und die bakterielle Besiedelung des Magen- Darm-Traktes ist an ein Modell mit lebenden Tieren gebunden. Eine Durchführung von Tierversuchen in diesem Falle unumgänglich.

*Verfeinerung:* Die Mäuse werden in Gruppenhaltung gehalten und um den Zuchterfolg zu erhöhen Nestbaumaterial und/oder Häuschen als Enrichement zur Verfügung gestellt. Die Tierhaltung wird in regelmäßigen Abständen vom zuständigen Veterinär kontrolliert. Die Tiere werden einem regelmäßigen Handling unterzogen um sich an etwaige Manipulationen zu gewöhnen und zusätzlichen Stress zu vermeiden.

*Verminderung:* Es werden so wenig wie möglich aber so viele Tiere wie nötig, um für die Statistik signifikante Ergebnisse zu erhalten eingeschlossen. Durch eine weitere Verwendung von Serum und Gewebe für zusätzliche biochemische Messungen wird die Anzahl der Tiere möglichst gering gehalten.

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

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

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“ gemäß § 3 Abs 1 TVG 2012 zuzuordnen.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

Die zu untersuchenden Tiere sind 171 NMRI (haarlose Mäuse) bzw. CD-1 Mäuse.

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

Die Versuchsbedingungen werden so gewählt, dass mittels potenter Narkose und Analgesie, die tägliche tierärztliche Inspektion aller operierten Tiere und die tägliche tierpflegerische Betreuung und Konditionierung aller Tiere Schmerzen, Leiden und Ängste der Tiere möglichst minimiert werden

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

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

Die meisten altersassoziierten Erkrankungen (kardiovaskuläre Krankheiten, Neurodegeneration, Krebs) sind entweder neurologischer und/oder metabolischer Natur, wobei deren Ursachen zu einem großen Teil unverstanden sind. Die nicht invasive Bildgebungsmethode der Magnetresonanztomographie (MRT) soll hier zum Einsatz kommen um einen molekularen *in vivo* Einblick in die Pathogenese dieser Erkrankungen zu erhalten.

Zu diesem Zwecke wird ein hochauflösender Magnetresonanztomograph von 7 Tesla Hauptfeldstärke eingesetzt, welcher speziell für die Diagnostik an kleinen Nagetieren (Maus, Ratte) entwickelt wurde. Bedingt durch die Erstinstallation des MR Tomographens ist es notwendig bei dessen Inbetriebnahme bildgebende und spektroskopische MR Methoden an die Erfordernisse der vorhandenen *in vivo* Modellorganismen anzupassen. Zu diesem Zwecke sollen MRT Untersuchungen unter Gasnarkose an gesunden Wildtyp-Mäusen durchgeführt werden.

*zu erwartender Schaden für das Tier:* Die Narkose mittels Isofluran ist mit einer Dauer von 60 Minuten beschränkt. Während der MR Untersuchung sind die Tiere durch eine Heizung im Tierbett vor Unterkühlung geschützt. Das zu untersuchende Tier befindet sich unter andauernder Überwachung der Vitalparameter (Atmung, EKG, Temperatur). Während der Untersuchung werden die Augen der Tiere unter Zuhilfenahme eines Augengel vor Austrocknung geschützt. Beeinflussungen und Schäden durch die nicht invasive Bildgebungsmethode der MRT sind nicht zu erwarten.

*zu erwartender Nutzen:* Es sollen MR Untersuchungsprotokolle angepasst werden welche metabolische Veränderungen im Modellorganismus Maus beschreiben und so essentielle Informationen über altersassoziierte Erkrankungen *in vivo* liefern. Da es in Zukunft durch die Anwendung der präklinischen MRT möglich sein wird pathologische Veränderungen in unterschiedlichen Organen über einen gewissen Zeitraum in ein und demselben Tier beobachten zu können steigt die statistische Signifikanz der durchgeführten Tierstudien und somit sinkt die benötigte Anzahl von Versuchstieren.

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

Insgesamt wird die Studie maximal 200 Wildtyp-Mäuse umfassen.

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

*Vermeidung:* Bewegungen durch Atmung, Herzschlag, Magen-Darm Aktivität sowie Blutfluss sind entscheidende Störquellen in der *in vivo* MR Diagnostik. Das Anpassen der MR Protokolle auf diese Störquellen erfolgt über Synchronisation der Bildakquise nach Herzschlag und Atmungszyklen, sowie durch Verfahren der Messwiederholungen (Mittelung). Das Anpassen von MR Methoden wie sie in der humanen MR Diagnostik in Verwendung sind auf die veränderten Begebenheiten in Labornagern sind in Hinblick auf die oben genannten Störquellen nicht trivial und bedürfen eine Anpassung der Protokollparameter *in vivo*. Um diese Anpassungen nicht an Tiermodellen die nachgewiesen belastet sind durchführen zu müssen ist es im Sinne der Vermeidung des Leidens der Versuchstiere diese präliminären Anpassungen an gesunden Wildtyp-Mäusen durchzuführen.

*Verminderung:* Die Anzahl der Tiere wurde bereits im Vorhinein streng limitiert. Eine weitere Reduktion der Tierzahlen wird erreicht, in dem von den maximal veranschlagten Tierzahlen nur so viele Tiere tatsächlich für eine MR Untersuchung verwendet werden, wie nötig sind, um die benötigten MR Messmethoden einzurichten.

*Verfeinerung:* Weiters werden bereits vom Hersteller vorkonfigurierte MR Methoden verwendet, die es erlauben möglichst rasch die gewünschte Qualität der Messdaten zu erreichen. Dies reduziert dramatisch die Gesamtdauer der Anästhesie der Tiere während der MR Untersuchung. Darüber hinaus werden alle Versuche ausschließlich von sachkundigem und bestens geschultem Personal durchgeführt.

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.

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

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).

### **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 2017 vorgesehen.

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

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

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

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

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

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

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

996 Mäuse für den Zeitraum von drei Jahren

### **3. Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung**

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

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

**Verfeinerung:** Alle Experimente erfolgen an einem seit vielen Jahren etablierten und akzeptierten Tiermodell. Die Tiere werden artgerecht in Gruppen gehalten und von sachkundigem Personal betreut. Die Versuche werden von sachkundigen Personen durchgeführt und zum frühestmöglichen Zeitpunkt beendet. Auch wird immer darauf geachtet, das Leiden der Tiere so gering wie möglich zu halten. Die Tiere werden nach Ablauf des Beobachtungszeitraums durch terminales Einatmen von CO<sub>2</sub> getötet.



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

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

Tumorzellen kommunizieren über Zytokinmoleküle mit Zellen der Tumorumgebung, den Stromal-Zellen. In den Tumorzellen und den Stromal-Zellen werden, über diese Kommunikation krebsfördernde Transkriptionsfaktoren wie STAT3 angeschaltet. Deshalb sind die Tumor-Stroma Interaktionen auch Ansatzpunkte von Krebstherapien. Die Erforschung der Interaktionen ist Ziel unseres Labors, dazu werden in vitro Zellkultursysteme sowie in vivo Ansätze mit entsprechenden Modell-Organismen verwendet. Die Verwendung von genveränderten Mäusen ist manchmal unumgänglich, um die komplexen Tumor-Stroma Interaktionen studieren zu können. Mit Hilfe dieser Experimente werden Rückschlüsse über die Bedeutung der untersuchten Gene (STAT1, STAT3, MUCDHL) in bestimmten Zelltypen des Tumorstromas ermöglicht.

*zu erwartender Nutzen:* Das Verständnis der Genfunktionen bei den Wechselwirkungen zwischen Tumorzellen und Stromal-Immunzellen soll neue Erkenntnisse über die Entstehung von Tumoren und neue Ansätze zur Therapie liefern.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* In den Tieren werden Tumore initiiert und untersucht, wobei streng geachtet wird, dass eine maximal bis zu mittelgradig gehende Belastung nicht überschritten wird.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

1350 Mäuse unterschiedlichen Genotyps für 5 Jahre

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

Zur Vermeidung von Tierversuchen werden vorab Experimente in Zellkultursystemen durchgeführt. Es wird außerdem vor jedem Tierversuch überlegt und in der wissenschaftlichen Literatur recherchiert ob adäquate Ergebnisse auch in vitro erhalten werden können. In diesem Fall wird vom in vivo Experiment Abstand genommen. Falls in vivo Versuche notwendig sind werden sie nur unter folgenden Voraussetzungen durchgeführt.

- Alle Tiere werden unter standardisierten Bedingungen (geregelter Lichtzyklus, Luftfeuchtigkeit, Temperatur) mit Nistmaterial gehalten.
- Die Untersuchungen dieser Tiere erfolgt unter standardisierten Bedingungen, um die Streuung der Ergebnisse so gering wie möglich zu halten und somit die Tierzahlen auf ein Minimum zu senken.
- Die Tiere werden während der Haltung und während eines Versuches regelmäßig beobachtet und für jeden experimentellen Ansatz werden auch klare Abbruchkriterien definiert, um unnötige Schmerzen und ein Leiden der Tiere zu vermeiden. Die Tiere werden schmerzlos eingeschläfert.

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

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

Die Alzheimer Erkrankung ist durch Ablagerung von beta-Amyloid (A $\beta$ ) Plaques im Gehirn gekennzeichnet. Es wird vermutet, dass eine reduzierte Elimination von A $\beta$  aus dem Gehirn zur Ablagerung dieser Plaques beiträgt. Es wurde gezeigt, dass Adenosine triphosphate-binding cassette (ABC) Transporter, welche in Endothelzellen der Blut-Hirn Schranke exprimiert sind, A $\beta$  vom Gehirn ins Blut transportieren können. Eine Reihe von Studien lässt vermuten, dass die Aktivität des ABC Transporters P-glykoprotein (ABCB1) an der Blut-Hirn Schranke von Alzheimer Patienten herabgesetzt ist. In diesem Versuch wird versucht, die Aktivität von ABCC1 im Verlauf der Alzheimer Erkrankung zu bestimmen. Im Idealfall soll eine inverse Beziehung zwischen A $\beta$  und ABCC1 nachgewiesen werden. Unsere Studie wird in 4 Stufen durchgeführt: (1) Etablierung des Messprotokolls und Validierung des Tracers, (2) Messungen an Tieren die an Alzheimer erkrankt sind und Vergleich zu gesunden Tieren, (3) Untersuchung des Effektes eines chemischen Verstärkers des ABCC1 Transporters und (4) Messungen an Tieren, die an Alzheimer erkrankt sind, und Vergleich zu gesunden Tieren über einen langen Zeitraum hinweg. Verwendet werden Methoden des Molecular Imaging, das heißt Magnet Resonanz Tomographie und Positronen Emissions Tomographie. Ergänzt wird die Studie durch Daten die durch Labormethoden gewonnen werden, die kein Tierleid erzeugen.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

216 Mäuse, zum Großteil gentechnisch verändert.

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

**Vermeidung:** Es gibt zurzeit keine Möglichkeit die Bluthirnschranke als ganze anatomische und physiologische Entität, in vitro, als Computermodell oder durch sonstige denkbare Modelle darzustellen.

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

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

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

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

Das Melanin-konzentrierende Hormon (MCH) bildet eine zentrale Rolle im Energiestoffwechsel des menschlichen Körpers. Die biologische Wirkung von MCH wird über 2 Rezeptor-Subtypen gesteuert. Die Beteiligung und der Ausbildungsgrad des Melanin-konzentrierenden Hormon Rezeptors 1 (MCHR1) wird mit unterschiedlichen Erkrankungen in Verbindung gebracht, welche mit einer Fehlregulierung des Energiestoffwechsels einhergehen. Hierzu zählen unter anderem Fettleibigkeit, Diabetes und Insulin-Resistenz. Aus diesen Gründen stellt dieser Rezeptor eine vielversprechende Zielstruktur für die Diagnose und Therapie von MCHR1 assoziierten Erkrankungen dar. In diesem Zusammenhang wurden chemische Leitstrukturen entwickelt, welche eine hohe Bindungsstärke am menschlichen MCHR1 besitzen. SNAP-7941 und FE@SNAP stellen hierbei potentielle Kandidaten dar, um radioaktiv markiert als Tracer für die Positronen-EmissionsTomographie (PET) eingesetzt zu werden. PET ist ein sehr sensitives, bildgebendes Verfahren zur Visualisierung von Stoffwechselfvorgängen und wird daher zur Diagnose von Erkrankungen, welche mit einer Fehlregulierung des Stoffwechsels in Verbindung gebracht werden, eingesetzt. In dem vorliegenden Projekt ist geplant die Bioverteilung, von radioaktiv markierten SNAP-7941, sowie FE@SNAP, mittels hochauflösender  $\mu$ PET/CT/MR-Bildgebung in einem Tiermodell zu bestimmen.

*zu erwartender Nutzen:* Durch die Bildgebung mithilfe von radioaktiv markierten Substanzen, sollen Erkenntnisse über die Verteilung und Häufigkeit von Rezeptoren, Stoffwechselfvorgängen und Hormonen bei zerebralen und peripheren Erkrankungen gewonnen werden, die mit einer Fehlregulation des Energiestoffwechsels in Verbindung gebracht werden. Diese Informationen können Rückschlüsse über die Entstehung und mögliche Therapieansätze von Erkrankungen wie der Fettleibigkeit, Diabetes und Insulinresistenz liefern und das Wissen über die Beteiligung von braunem Fettgewebe im Energiestoffwechsel verbessern.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Die Konzentration des Radiopharmakons (trägerfreie Zubereitung) ist so gering, dass keine pharmakologischen oder toxikologischen Wirkungen zu erwarten sind (nanomolare Stoffmenge). Die Versuchstiere werden unter Narkose dem jeweiligen bildgebenden Verfahren unterzogen und unter Beibehaltung der Narkose schmerzfrei getötet. Eine Wiederherstellung der Lebensfunktionen ist nicht gegeben.

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

Für die geplanten Tierstudien werden zwei unterschiedliche Rattenmodelle in folgender Anzahl verwendet: Crl:ZUC-Lep<sup>fla</sup> n=40 und ZDF- Lep<sup>fla</sup> /Crl n=40

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

*Vermeidung:* Zur Vermeidung wurden vorab intensiv moderne und dem aktuellen Kenntnisstand der Wissenschaft entsprechende *in-vitro* Versuche durchgeführt. Die nun vorgestellten *in-vivo* Versuche sind vor einer erstmaligen Applikation im Menschen unerlässlich. Die Verteilung und Wechselwirkungen dieser radioaktiv markierten Substanzen hängt von vielen Prozessen ab und müssen mit einem lebenden Gesamtorganismus charakterisiert werden. Derartige Prozesse sind mit alternativen *in-vitro* oder *ex-vivo* Systemen nicht nachzustellen.

*Verminderung:* Zur Verminderung jeglichen Leidens von der Geburt bis zum Tod werden, wie in der Versuchsplanung beschrieben, die modernsten experimentellen Methoden eingesetzt. Durch die Standardisierung sämtlicher Einflussgrößen wie Hygiene, Versuchstierhaltung und aller Versuchsbedingungen wird die Variabilität vermindert, weshalb geringere Tierzahlen benötigt werden.

*Verfeinerung:* Zur Verfeinerung der Versuche werden angemessene Methoden zur Anästhesie, Analgesie und Schmerzlinderung angewandt. Des Weiteren wird streng darauf geachtet, dass Tiere, die nicht vollkommen gesund sind, von jeglichen Experimenten ausgeschlossen werden. Jedes Tier wird vor den Experimenten genau auf Hinweise etwaiger gesundheitlicher Probleme untersucht (Körpergewicht, Porphyrieflecken im Augen-, Mund- und Nasenbereich, Zeichen von Diarrhoe, etc). Nur augenscheinlich vollkommen gesunde Nager werden dann für die Experimente herangezogen.

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

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

Ziel dieses Projektes ist die Etablierung von humanen Tumoren in immundefizienten Mäusen. Das Anwachsen von menschlichem Krebsgewebe in diesem Modellorganismus soll Einblicke in Mechanismen der Metastasierung und Letalität von Krebserkrankungen ermöglichen und Faktoren identifizieren, welche hierfür von Bedeutung sind. Zudem soll wertvolles Untersuchungsmaterial auf diese Weise erhalten und vermehrt werden. Die grundlagenwissenschaftlichen Ergebnisse, welche auf diese Weise gewonnen werden, könnten in Zukunft zur Entwicklung neuer Therapien gegen Krebs beitragen. Ein Schwerpunkt wird hierbei vor allem auf jene Krebsarten gelegt, welche aufgrund von Inzidenz und Prognose für eine besonders hohe Morbidität und Letalität in der Bevölkerung verantwortlich sind (Brust-, Lungen-, Darm-, Eierstock-, Prostatakrebs).

Der für die Versuchstiere zu erwartende Schaden wird durch spezielle Tierhaltungsmaßnahmen, medikamentöse Behandlungen und Festlegung von Abbruchkriterien des Tierversuchs weitgehendst minimiert. Todesfälle und Leid der Versuchstiere sind möglich, sollen aber durch rechtzeitige Beendigung des Versuchs vermieden werden. Bei den verwendeten Versuchstieren handelt es sich um Tiere eines höchst immundefizienten Mausmodells, welche an unserer Institution nach Ankauf von Zuchtpaaren gezüchtet werden.

*zu erwartender Nutzen:* Unsere Untersuchungen können durch ein besseres Verständnis zirkulierender Tumorzellen den Weg für neue Therapien metastasierter Tumore ebnen.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Der zu erwartende Schaden umfasst den Tod der Versuchstiere.

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

Die finale Anzahl der Tiere bemisst sich nach der Effizienz des Anwachsens des Fremdgewebes und kann durch Änderungen der Rahmenbedingungen während der Tierversuchsreihe optimiert werden. Es sollen jedoch nicht mehr als 1065 Mäuse verwendet werden. Diese Zahl ergibt sich, da wir ein dauerhaftes Anwachsen von zwanzig Prozent der Proben erwarten, mit fünf Prozent Ausfall der Tiere rechnen müssen und eine Endzahl von zwanzig Tumoren pro Entität erreichen möchten. Bei Erfolg unseres Projektes könnte eine Verlängerung des Tierversuchs die Anzahl der Tiere noch erhöhen, da eine Weiterpassagierung angestrebt wird.

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

#### *Vermeidung:*

Die Untersuchung komplexer pathophysiologischer Vorgänge bei Krebserkrankungen ist nur durch die Verwendung von Modellorganismen möglich. Ein komplettes Ersetzen durch in-vitro-Verfahren ist nicht denkbar, jedoch sollen Tierversuche, falls möglich, vermieden werden. Diesem Grundsatz wird dieses Projekt insofern gerecht, als dass durch die Etablierung von passagierbaren Tumorlinien wiederholte Tierversuche mit unklarem Ausgang oder anderen transgenen Tumormodellen unterlassen werden können.

#### *Verminderung:*

Männliche und weibliche Versuchstiere sollen zu gleichen Teilen für organspezifisch typisch weibliche und männliche Malignome verwendet werden. Dieses Vorgehen – ermöglicht durch enge Kooperation von Forschungsteams für die jeweiligen Tumore – verringert die Gesamtzahl der Versuchstiere, da kein Verlust von beispielsweise Weibchen beim alleinigen Studium von männlichen Tumoren und vice versa erfolgt.

#### *Verfeinerung:*

Im Zuge dieses Tierversuches werden mehrere Proben humanen Krebsgewebes an verschiedenen Stellen eines Versuchstieres eingebracht. Auf diese Art und Weise kann eine weitere Verringerung der Tierzahl erreicht werden. Optimierungen der Arbeitsprotokolle sollen während des Projektes zudem die Anwachsrate (Engl. „Engraftment“) des Fremdgewebes im Mausorganismus erhöhen.

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

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

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

Das Ziel des Projektes ist es, eine nicht invasive Methode zur Messung von Stress bei frei lebenden Siebenschläfern zu etablieren. Durch die Analyse von Kot besteht die Möglichkeit Stresshormon-Abbauprodukte nicht-invasiv zu messen. Da es sich im Kot aber eben um Abbauprodukte von Stresshormonen handelt, muss zur Eichung dieser Methode zunächst für jede Tierart die Abbauraten der Stresshormone bestimmt werden. Dazu wird den Tieren einmalig ACTH (Adrenocorticotropes Hormon) injiziert, ein Hormon, das bei Stress auch natürlich ausgeschüttet wird. Durch diese künstlich gesetzte „Stressreaktion“ sind der Zeitpunkt und das Ausmaß der Stressausschüttung genau bekannt, alternativ werden die Tiere von uns wie bei unseren Feldversuchen üblich gewogen, vermessen und Schleimhautproben aus dem Mund entnommen. Anschließend wird von den Tieren alle 4 h der Kot gesammelt und analysiert. Die Tiere werden über 14 Tage in großen Käfigen, ausgestattet mit Ästen und Nistkasten, einzeln gehalten. Durch den geplanten Versuch können wir genau analysieren wie schnell die Stresshormone abgebaut werden und in welchen Konzentrationen sie im Kot aufscheinen. Sind diese physiologischen Parameter für den Siebenschläfer einmalig bestimmt, können zukünftig alle gesammelten Kotproben analysiert und die Stressbelastung nicht-invasiv bestimmt werden.

Uns interessiert derzeit speziell die Stressbelastung durch Fressfeinde (typische Räuber sind z.B. Eulen und Käuze) bei frei lebenden Siebenschläfern zu untersuchen. Um unsere Kotproben sinnvoll interpretieren zu können, brauchen wir jedoch die zuverlässigen Vergleichswerte des hier beantragten Tierversuchs.

**zu erwartender Nutzen:** Wir erwarten aus unserer Studie wichtige Erkenntnisse zur natürlichen Stressbelastung von frei lebenden Siebenschläfern. Der geplante Tierversuch ist für Etablierung und Auswertung dieser Daten unverzichtbar. Durch eine Etablierung dieser Methode können auch in Zukunft Einflüsse verschiedener Umweltfaktoren auf die Stressbelastung der Tiere in unserem Untersuchungsgebiet nicht-invasiv untersucht werden. Dazu wären dann keine weiteren Tierversuche mehr nötig.

**zu erwartender Schaden für die Tiere:** Die Tiere werden aus dem Freiland entnommen und für vierzehn Tage in Käfigen gehalten. Sie bekommen einmalig ACTH intramuskulär injiziert oder werden von uns wie im Freiland beprobt (siehe oben; mittlere Belastung). Dabei werden Abstriche der Wangen genommen, die uns die Möglichkeit geben, nichtinvasiv DNA zu sammeln. Der Kot wird gesammelt, ohne, dass die Tiere angefasst werden müssen. Das injizierte Hormon wird natürlich abgebaut, Langzeiteffekte oder Störungen sind nicht zu erwarten. Nach dem Versuch werden die Tiere wieder in das Freiland entlassen.

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

Wir planen insgesamt 14 adulte Siebenschläfer (7 Männchen und 7 Weibchen) zu beproben.

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

**Vermeidung:** Jede Tierart hat ihre Eigenheiten wenn es um den Hormonhaushalt geht und deshalb müssen bei Stresshormonanalysen immer für jede Art eigene Eichung vorgenommen werden. Aus diesem Grund gibt es für dieses Experiment keine andere Möglichkeit, als die Eichung mit Siebenschläfern aus unserer Freilandpopulation durchzuführen.

**Verminderung:** Statistische Analysen haben gezeigt, dass eine Anzahl von 14 Tieren ausreicht, um relevante Ergebnisse zu erzielen.

**Verfeinerung:** Durch die Kombination aus einer sehr geringen Aufenthaltszeit im Käfig und Methoden, die nur ein geringes Eingreifen erfordern, konnten wir unser Experiment so gering invasiv wie möglich gestalten.

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 heutigen Zeit stellt die Alzheimer'sche Erkrankung (AD) die häufigste altersbedingte Demenz in den Industrieländern dar. Bei dieser Form der Neurodegeneration kommt es zu einem erheblichen Verlust an Hirngewebe und zu Veränderungen im Großhirn, die zu Gedächtnis- und Orientierungsverlust führen. Im Frühstadium ist die Erkrankung nicht erkennbar, so dass auch keine effektiven Möglichkeiten der Diagnose oder Therapie zur Verfügung stehen.

Zu den klassischen histomorphologischen Merkmalen der Alzheimer'schen Erkrankung zählen extrazelluläre Aggregate, so genannte senile Plaques und Alzheimer-Fibrillen, die sich in der Großhirnrinde und im Hippokampus anhäufen. Während die neurofibrillären Bündel hauptsächlich aus dem Protein TAU bestehen, sind die Plaques zu einem Großteil aus Beta-Amyloid-Protein aufgebaut. Die Plaques enthalten degenerierte Axone und Dendriten und sind außerdem umgeben von aktivierter Mikroglia und von Astrozyten, was auf einen entzündlichen Prozess während der Neurodegeneration hinweist. Die extrazellulären Amyloidablagerungen in Form diffuser oder distinkter seniler Plaques und die intrazellulären neurofibrillären Tangles (NFT) bei der Alzheimer'schen Erkrankung, sowie die anormale Aggregation des synaptischen Proteins  $\alpha$ -Synuclein bei der Alzheimer'schen und auch bei der Parkinson'schen Krankheit, dürften eine zentrale Rolle in der Entstehung von Synapsenverlust und anschließendem neuronalem Zelltod spielen. Zusätzlich kommt es in Demenzkranken zu einer Abnahme des Botenstoffs Acetylcholin, was zu einer allgemeinen Leistungsabnahme des Gehirns führt. Die Wirksamkeit des Ginkgo Extrakts soll der eines Acetylcholinesterase-Hemmers entsprechen. Durch die Hemmung dieses Enzyms wird der Abbau von Acetylcholin gehemmt und dem Gehirn steht allgemein mehr Acetylcholin zur Verfügung. Dadurch erhöht sich die Leistungsfähigkeit des Gehirns.

In diesem Projekt sollen in einem ersten Projekt C57Bl6 Mäuse mit einer von drei Konzentrationen der Testsubstanz behandelt werden und die analgetische Wirkung der Substanz in der Contextual Fear Conditioning Box durch die Gabe verschieden starker elektrischer Stöße getestet werden. Im zweiten Projekt sollen C57Bl/6 Mäuse ebenfalls mit einer von drei Konzentrationen der Testsubstanz behandelt werden und im Anschluss mit der im ersten Projekt ermittelten Stoßstärke auf ihre kognitiven Fähigkeiten untersucht werden und somit die Wirksamkeit der Substanz als Medikament gegen die Alzheimer'sche Krankheit ermittelt werden.

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

Für diese Studie werden insgesamt 112 C57Bl6 Mäuse beantragt.

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

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

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): 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 meisten altersassoziierten Erkrankungen (kardiovaskuläre Krankheiten, Neurodegeneration, Krebs) sind entweder neurologischer und/oder metabolischer Natur, wobei deren Ursachen zu einem großen Teil unverstanden sind. Die seit Jahrzehnten gesammelten Forschungsergebnisse zeigen, dass der Alterungsprozess und damit verbundene altersassoziierten Erkrankungen durch Ernährung beeinflusst werden können.

Die Nahrung reich an sekundären Pflanzenstoffen scheint eine große Rolle für die Gesundheit der Menschen zu spielen. Diese werden oft in sowohl traditioneller als auch moderner Medizin in Form von Pflanzenextrakten verabreicht. Um die Wirksamkeit spezifischer Pflanzenextrakte an Menschen testen zu können, werden Verträglichkeitstests in Säugetieren benötigt.

Dieses Projekt hat das Ziel, die Verträglichkeit spezifischer Pflanzenextrakten bei oraler Einnahme an Nagetieren zu testen, um dadurch die weiterfolgende Studie an Menschen durchführen zu können. Die Rohstoffe für diese Tests wurden so ausgewählt, dass sie natürlicher Bestandteil tierischer und menschlicher Ernährung sind. Die verwendeten Methoden wurden an die Normen und Richtlinien der Lebensmittelherstellung angepasst.

Die Effekte der Pflanzenextrakte werden auf morphologischer und histologischer Ebene, sowie am Verhalten und der Körperzusammensetzung der Versuchstiere untersucht, um die erwartete Unbedenklichkeit einer Verabreichung der Pflanzenextrakte zu überprüfen.

*zu erwartender Schaden für das Tier:* Beeinflussungen und Schaden durch die getestete Versuchsernährung sind aufgrund von preliminären Ergebnissen in niederen Modell-Organismen sehr unwahrscheinlich und werden nicht erwartet. Die Versuchstiere werden zur Gewebsentnahme und weiterer Post-Mortem-Analyse unter kurzer aber tiefer Gasnarkose getötet.

*zu erwartender Nutzen:* Dieses Projekt soll ermöglichen, dass die Effekte spezifischer Pflanzenextrakten am Menschen auf ihre mögliche positive Wirksamkeit getestet werden können. Diese sollten in der Vorbeugung und als Unterstützung zu existierenden Behandlungsmethoden bei altersassoziierten Erkrankungen dienen. Somit sollten neue Alternativen in der klinischen Ernährung geschaffen werden.

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

Insgesamt wird die Studie maximal 180 Wildtyp-Mäuse umfassen.

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

*Vermeidung:* Die bisherigen Tests an niederen Organismen zeigten keine Nebeneffekte der hier getesteten Pflanzenextrakte. Die Effekte dieser Extrakte führten in vorangehenden Studien zu einem besseren "Gesundheitszustand" von Zellen in Kultur sowie im Fliegen-Modell. Dadurch wurden die Versuche an Tieren so lange wie möglich vermieden. Für die vorstehenden Untersuchungen am Menschen sind allerdings Verträglichkeitstests an Nagetieren notwendig.

*Verminderung:* Die Anzahl der Tiere wurde bereits im Vorhinein streng limitiert. Die Anzahl der behandelten Tiere wird durch eine kleinere Kontrollgruppe mit normaler Ernährung vermindert. Dieser Schritt sowie viele andere Überlegungen zu diesem Versuch werden unter anderem in den OECD Richtlinien vorgeschlagen und hier befolgt.

*Verfeinerung:* Weiters wird ein geprüftes Tierhaltungsfutter als Basisernährung verwendet. Die Pflanzenextrakte werden ausschließlich als Erweiterung zur normalen Tiernahrung verwendet und durchlaufen einen mikrobiologischen Test vor der Futterherstellung. Sollten sich wider Erwarten Auffälligkeiten im Verhalten oder der Körperzusammensetzung der Tiere ergeben, die auf eine nachteilige Wirkung der Extrakte hinweisen könnten, wird der Versuch sofort abgebrochen und die Tiere erlöst.

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

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

Mykotoxine, sekundäre Metabolite von Schimmelpilzen, können bei Mensch und Tier toxische Effekte hervorrufen. Zearalenon (ZEN), eines der bedeutendsten Mykotoxine, kann in Schweinen sowohl Reproduktions-, als auch Fertilitätsstörungen verursachen. ZEN ist nämlich imstande eine östrogene Wirkung zu entfalten, welche sich klinisch als Hyperöstrogenismus äußert. ZEN konkurriert dabei mit dem natürlich produzierten Hormon 17- $\beta$ -Östradiol um die Bindungsstellen (Östradiol – Rezeptoren) in verschiedenen Organen im Körper von sowohl männlichen als auch weiblichen Tieren. Jüngste Untersuchungen zeigten, dass bereits 36% des weltweiten Futters und Mischfutters mit ZEN kontaminiert sind, in Asien bereits bis zu 60%. Das Toxin ist hitzestabil und kann folglich nicht während des Futterherstellungs- oder bearbeitungsprozesses eliminiert werden. Aus diesem Grund ist es notwendig die Wirkungsweise des ZEN im Tier zu blockieren und die Belastung dadurch für das Tier zu reduzieren. Ziel dieses Projektes ist es potentielle Biomarker für die Effekte von ZEN (hauptsächlich östrogene Effekte) zu finden. Im Gegensatz zu anderen Mykotoxinen gibt es bis dato keine zuverlässigen und exakten Biomarker für ZEN. Es werden sowohl invasive als auch nichtinvasive Methoden getestet, sowie auch drei verschiedene ansteigende Konzentrationen von ZEN im Futter. Dies erlaubt dann eine Schlussfolgerung auf die Sensitivität und die Dosis-Wirkungs-Effekt der Biomarker. Ein weiteres Ziel ist es, die östrogenen Effekte von HZEN und DHZEN mit denen von ZEN zu vergleichen. HZEN und DHZEN entstehen durch Umformung von ZEN durch enzymatische Behandlung und konnten im Rahmen der Fütterung von Futtermittelzusatzstoffen zur ZEN Entgiftung im Tier gebildet werden. Den Tieren wird während der 28 tägigen Projektphase wöchentlich Blut abgenommen, sowie Urin und Kot auf Metaboliten untersucht. Am Ende des Projektes werden die Ferkel euthanasiert und die Reproduktionsorgane für weitere auch histologische Untersuchungen entnommen.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

Es werden sechs weibliche Absetzferkel pro Gruppe (insgesamt sechs Gruppen somit insgesamt 36 Tiere) für den Versuch verwendet.

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

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

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

**Refinement:** Es wird während des Projektes großer Wert darauf gelegt, dass Stress und Schmerz der Ferkel so gering wie möglich gehalten werden. Alle Ferkel werden in Buchten mit 6 Ferkel pro Bucht gehalten. Alle Ferkel werden mit ständigem Zugang zu Futter und Wasser gehalten und täglich von geschultem Personen sorgfältig betreut und tierärztlich überwacht. Sollten die Tiere Anzeichen von Schmerzen zeigen oder in irgendeiner Weise beeinträchtigt sein, werden sie vom Versuch ausgeschlossen und tierärztlich betreut.



Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): 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 Produktion tierischer Lebensmittel verschlingt große Mengen an Getreide. Auf nationaler wie auch auf internationaler Ebene stellt Körnermais die klassische Energiekomponente im Futter für Mastschweine dar. Die heimische Produktion von Körnermais ist jedoch zunehmend mit Problemen behaftet (Maiswurzelbohrer, Maiszünsler, Fruchtfolge, Neonikotinoidverbot), welche zu einem Rückgang der Produktion dieser Feldfrucht führen könnte. Aus Sicht der Tierernährung und Futtermittelkunde ist es daher notwendig Alternativen zum Mais in der Fruchtfolge zu etablieren. In den letzten Jahren wurden in diesem Zusammenhang erste erfolgreiche Versuche mit dem Anbau von Körnerhirse durchgeführt. Aus Kostengründen und arbeitswirtschaftlichen Überlegungen ist beim Mais die Konservierung als Ganzkornsilage in Österreich sehr stark verbreitet und die Betriebe wollen natürlich ihre vorhandene Technik auch im Zusammenhang mit der Hirse einsetzen. In der Literatur finden sich aber keine Angaben über die Verdaulichkeit von Hirseganzkornsilagen. Daher soll dieser Versuch Informationen über die Verdaulichkeit von Rohprotein, Rohfett, Rohfaser, Ca und Phosphor unter Berücksichtigung des Trockenmassegehaltes bei der Ernte bringen, um so die Nährstoffverfügbarkeit der Körnerhirse präziser einschätzen zu können. Aufbauend auf den Ergebnissen dieser Studie sollen in der Praxis somit präzisere und somit nachhaltigere Futterrationen formuliert werden können. Der Versuchsaufbau entspricht den Richtlinien der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie (GfE, 1994) im lateinischen Quadrat. Als Versuchstiere werden neun männlich, kastrierte Mastschweine eingesetzt, welche mit einem Gewicht von ca. 35 kg möglichst gleichmäßig nach Lebendmasse und Herkunft auf die zur Verfügung stehenden Verdauungskäfige aufgeteilt werden. Zur Akklimatisierung erhalten die Tiere herkömmliches Mastfutter für die ersten zehn Tage in den Verdauungskäfigen. Die eigentliche Versuchsperiode beginnt mit einer 7-tägigen Vorphase und einer anschließenden 5-tägigen Sammelphase (Hauptphase). In drei Durchgängen wird jede Futtermittelversuchsmischung an allen neun Tieren verfüttert. Die drei Hirsevarianten H1, H2, H3 werden mit einer entsprechenden Aminosäuren-, Vitamin- und Mineralstoffmischung vermischt um die Nährstoffempfehlungen für Mastschweine abzudecken. Der Gehalt an verdaulichem Phosphor wird entsprechend der Empfehlungen der GfE 1994 eingestellt.

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

9 männlich, kastrierte Mastschweine, Dreirassenkreuzung [(Duroc x Landrasse) x Pietrain]

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

Die Forschungsfrage kann nicht über Ersatzmethoden beantwortet werden, da Ausscheidungsprodukte eines intakten und gesunden Organismus untersucht werden müssen. Eine quantitative tierindividuelle Sammlung der Exkremente ist unumgänglich um die Bilanzen der einzelnen Nährstoffe berechnen zu können. Die gewonnen Proben und die damit Nasschemischen Analysen sollen auch dazu dienen, eine NIR-Kalibration aufzubauen, mit welcher zukünftig die Nährstoffgehalte und Verdaulichkeiten *in-vitro* bestimmt werden können. Eine Anzahl von insgesamt 9 Tieren im lateinischen Quadrat, stellt die geringste Anzahl von Stichproben dar, die eine aussagekräftige statistische Auswertung zulassen. Da während des Versuches nur Einzelfuttermittel bzw. zugelassene Futtermittelzusatzstoffe (Aminosäuren, Vitamin- und Spurenelementprämixe) an die Tiere verfüttert werden, erfolgt nach Versuchsende und damit einhergehender tierärztlicher Kontrolle eine Eingliederung der Tiere in einen herkömmlichen Schweinebestand. Eine Tötung im Rahmen des Tierversuches findet somit nicht statt.

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

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

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

**Projektziel:** Die Weiterentwicklung eines Tiermodells zur Krebsforschung im Gehirn. Das Ziel ist es die Implantation eines Tumors in einem Xenograft Tiermodell so zu verbessern, dass ein Zugang direkt in das Innere des Tumors entsteht. Diese Verbesserung erlaubt direkte Einbringung von Substanzen in das Tumorgewebe und eine kontinuierliche Entnahme von Gewebsflüssigkeit aus dem Tumor. Dies ermöglicht große Fortschritte in der Tumor- und Biomarkerforschung und eine Senkung der notwendigen Versuchstierzahlen.

**zu erwartender Nutzen:** Ziel der beantragten Studie ist es diese Alternativmethodik für die Tumorforschung zu etablieren. Vorteil gegenüber etablierten Methoden ist die höhere Qualität der Messungen und eine wesentlich niedrigere Anzahl von benötigten Versuchstieren.

**zu erwartender Schaden für die Tiere:** Die Eingriffe erfolgen unter Anästhesie durch erfahrenes Personal. Nach den Eingriffen werden die Tiere einer Schmerztherapie unterzogen und das Wohlbefinden der Tiere wird engmaschig überwacht. Die Nachsorge nach dem Eingriff und das Töten der Tiere werden von geschultem Personal durchgeführt. Versuche und Tötungen finden nicht in der Gegenwart anderer wacher Tiere statt.

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

50 Ratten

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

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

**Vermeidung:** Das Versuchsziel kann nicht mit anderen Methoden als mit einem Tierversuch erreicht werden weil die zu untersuchenden Parameter "Wachstum eines Glioblastoms im Gehirn" nur *in vivo* getestet werden können, weil:

- eine Zellkultur die Komplexität der Umgebungsparameter im Gehirn nicht ausreichend beschreibt.
- *in vitro* Experimente nicht die Interaktion mit lebendem Gewebe nachstellen können.
- nur *in vivo* der Metabolismus der getesteten Substanzen im Tier beobachtet werden kann.

**Verminderung:** 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. Ein Erfolg dieser Versuchsreihe führt zu einem weiterentwickelten Xenograft Tiermodell welches eine Senkung der Tiere pro Experiment ermöglicht.

**Verfeinerung:** Das Handling der Tiere wird ausschließlich von geschultem Personal durchgeführt um den Stress, dem die Tiere ausgesetzt sind, gering zu halten. Die Tiere werden während des gesamten Versuchszeitraums engmaschig überwacht und routinemäßig von Tierärzten auf ihren Gesundheitszustand kontrolliert. Die Tiere haben nachdem sie geliefert werden eine Eingewöhnungszeit von einer Woche, bevor mit dem Versuch begonnen wird. Als Enrichment wird Nestbaumaterial angeboten. Der Erfolg dieser Versuchsreihe führt zu einem weiterentwickelten Xenograft Tiermodell welches eine höhere Anzahl und Qualität von Readout-Parametern liefert, dies wird insbesondere in der Biomarkerforschung zu einer verfeinerten Untersuchung der Tiermodelle führen.

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

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

Der chronische Transplantatschaden, der sich als Vaskulopathie und interstitielle Fibrose manifestiert, stellt bis heute einen starken limitierenden Faktor für das Langzeitüberleben nach Herztransplantation (HTX) dar. Innerhalb der ersten 5 Jahre nach HTX haben bereits 30% der Patienten eine Vaskulopathie entwickelt, im Zeitraum von 1-3 Jahren nach HTX stellt sie die führende Todesursache dar. Häufig wird eine Re-Transplantation als einzige therapeutische Möglichkeit notwendig. Die Transplantatprotektion während Entnahme, Transport zum Empfänger und Implantation kann sowohl die Frühfunktion als auch die Entwicklung chronischer Transplantatschäden maßgeblich beeinflussen. Wir wollen eine neue Strategie zur Transplantatprotektion im Vergleich zum Standard-Verfahren hinsichtlich dieser Langzeit-Veränderungen mithilfe eines Mausmodells der Herztransplantation untersuchen. Nach erfolgter Transplantation soll die Evaluation der Transplantatfunktion mithilfe eines Palpations-Scores und Magnetresonanztomographie, sowie nach späterer Herzentnahme die histologische sowie molekularbiologische Untersuchung der Transplantate auf Zeichen des chronischen Transplantatschadens (Fibrose und Vaskulopathie) erfolgen. In einer weiteren Versuchsreihe sollen unterschiedliche Strategien der Organprotektion hinsichtlich der Frühfunktion nach prologierter Ischämie untersucht werden.

*zu erwartender Nutzen:* Wir erhoffen uns durch dieses Projekt einen Erkenntnisgewinn hinsichtlich des Einflusses der Transplantataufbewahrung auf die Frühfunktion einerseits, andererseits auf die längerfristige Schädigung des Transplantats mit dem Ziel Verfahren zur Transplantatprotektion zu optimieren und das klinische Outcome nach Herztransplantation zu verbessern. Des Weiteren können durch Optimierung der Transplantatprotektion möglicherweise längere Ischämiephasen ermöglicht und somit der Spenderpool vergrößert werden.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* In der ersten Versuchsreihe sollen zur Beurteilung der Transplantat-Frühfunktion Mäuseherzen entnommen und an eine Apparatur zur Untersuchung der isolierten Herzen *in-vitro* angeschlossen werden. Während der Organentnahme befinden sich die Tiere in tiefer Narkose und spüren keinerlei Schmerzen. Es kommt zu keiner Wiederherstellung der Lebensfunktion. In der zweiten Versuchsreihe werden Spendertieren Herzen entnommen, um diese in die Bauchhöhle von Empfängermäusen zu transplantieren, mit dem Ziel der Beurteilung von Langzeitparametern nach Herztransplantation. Auch hierbei wird die Organentnahme in tiefer Narkose durchgeführt, um die Schmerzfreiheit des Tieres zu gewährleisten. Es kommt auch hier zu keiner Wiederherstellung der Lebensfunktion. Der operative Eingriff zur eigentlichen Herztransplantation (Empfängeroperation) erfolgt in Vollnarkose und postoperativer standardisierter Analgesie. Da die Transplantation zwischen Individuen eines Inzuchtstammes erfolgt, kommt es nach Transplantation zu keiner Abstoßungsreaktion, sodass keinerlei Beeinträchtigung oder Leiden der Tiere durch das Transplantat zu erwarten ist.

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

Mäuse: 725

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

*Vermeidung:* Zur Untersuchung längerfristiger Veränderungen nach Herztransplantation wird auf ein vielfach verwendetes und allgemein etabliertes Mausmodell der heterotopen Herztransplantation zurückgegriffen. Für die gegebene Fragestellung existieren keine adäquaten *in-vitro*-Modelle.

*Verminderung:* Das Versuchsssetup sowie das Protokoll zu geplanten Untersuchungen am isolierten Herz sind jahrelang etabliert und erlauben eine standardisierte Untersuchung der Fragestellung. Das Modell der Herztransplantation der Maus ist ein international vielfach verwendetes Modell für komplexe Fragestellungen hinsichtlich sich langsam entwickelnder Prozesse nach Herztransplantation. Für den Erhalt aussagekräftiger Resultate ist die Versuchsgröße basierend auf einer Fallzahlberechnung so gering wie möglich kalkuliert. Durch Standardisierung aller Haltungs- und

Versuchsbedingungen und genaue Versuchsplanung soll eine möglichst geringe Streuung der Versuchsergebnisse erzielt werden.

*Verfeinerung:* Während der Organentnahme für die Versuche am isolierten Herzen sowie während der Entnahme der Spenderherzen zur anschließenden Transplantation befinden sich die Tiere in tiefer Narkose und verspüren keinerlei Schmerzen. Im Falle des operativen Eingriffes des Empfängertiers wird durch adäquate und nach standardisiertem Protokoll durchgeführte Narkose sichergestellt, dass die Tiere keinerlei Schmerzen empfinden. Um die Schmerzfreiheit auch nach dem Eingriff zu gewährleisten, wird nach standardisiertem, allgemein etabliertem und anerkanntem Schema zur postoperativen Schmerzbekämpfung verfahren sowie die Tiere engmaschig überwacht.

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

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

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

*zu erwartender Schaden:* Das TSS schädigt mehrere Organe schwer und verursacht unter anderem hohes Fieber und Hypotension.

Durch die stark zunehmende Antibiotika-Resistenz von *S. aureus* stellen dessen Infektionen ein immer bedrohlicher werdendes Gesundheitsproblem dar. Besonders in Kliniken (z.B. auf Intensivstationen) kommt es nach Operationen und/oder durch eine geschwächte Immunabwehr zu Staphylokokken Infektionen mit schwerwiegenden Folgen.

*zu erwartender Nutzen:* Die wirksame Impfung mit modifizierten Toxinen würde einen enormen Fortschritt für die Volksgesundheit bedeuten. Im Rahmen der Entwicklung von Staphylokokkenimpfstoffen müssen die für die Pathogenese verantwortlichen Virulenzfaktoren einzeln geprüft werden. In diesem Projekt soll nun die Protektivität eines Kandidatimpfstoffes untersucht werden.

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

20 Kaninchen

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

*Vermeidung:* Die Untersuchungen der neu entwickelten Derivate finden zuerst in-vitro statt. Ein Ersatz der Versuche durch in-vitro Methoden ist nicht möglich.

*Verminderung:* Anschließend ist es aber notwendig die Toxizität und die Wirksamkeit der Substanzen in-vivo zu testen. Auf Grund regulatorischer Vorschriften, muss erwiesen werden, dass die Impfungen mit dem gut verträglichen nicht-toxischem Impfstoff von den schweren Folgen der toxischen Erkrankung schützen können. Dafür werden die minimal erforderlichen Tierzahlen verwendet, die für ein aussagekräftiges Ergebnis notwendig sind. Diese Kaninchen beweisen auch, dass dieser sicherer, unschädlicher Impfstoff gegen die toxische Erkrankung, die auch beim Menschen auftritt, schützt.

*Verfeinerung:* Die Studie erfolgt unter standardisierten, kontrollierten Bedingungen. Die Tiere werden laufend beobachtet und die im Ansuchen genau vorgegebene Medikation zur Verminderung der toxischen Wirkung verabreicht.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. Dezember 2017 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*

Der Schimmelpilzgift Deoxynivalenol (DON) ist Teil der unerwünschten Substanzen in der Tierernährung. DON kann in Getreide betonten Futtermitteln und Nahrungsmitteln angereichert werden. Bei der Konsumation derartig kontaminierter Produkte ist mit schwerwiegenden Folgen für Tier und Mensch zu rechnen. Hinzu kommt ein Zusammenspiel mit vielen anderen Erregern im Darm und deren unerwünschte Stoffwechselmetabolite wie z. B. Lipopolysaccharide (LPS) als entzündungsfördernde Substanzen von unerwünschten Darmbakterien stammend, die eine wichtige gravierende Immunsuppression beim Tier und Mensch verursachen können. In Modellstudien beim Geflügel werden LPS-Applikationen routinemäßig zur Simulation leichter Entzündungsgeschehen im Darm durch Gram-negative Bakterien eingesetzt. In diesem Projekt soll ein kommerziell erhältlicher Futterzusatzstoff als DON-Gegenmittel auf Organ verbessernde, sowie spezifische immun- und antitoxische Wirkungen beim Masthuhn hin geprüft werden. Außerdem soll in einem Masthuhn-Modell das Zusammenspiel von einer DON-Aufnahme und einer kurzfristigen LPS-Belastung auf das Immunsystem näher untersucht werden. Durch drei- und fünfwöchige Fütterungsstudien unter den EU Richtwerten von DON im Geflügelfutter soll der zeitliche Verlauf der Veränderungen in den molekularen Mechanismen in Blutproben und Organen studiert und vermessen werden.

*zu erwartender Nutzen:* Der zu erwartende Nutzen sind Erkenntnisgewinne über die Rolle der Futterzusätze auf die Immunstabilität beim Geflügel. Dadurch können gezielte Präventionsmaßnahmen erarbeitet werden, die die Gesundheit des Geflügels nachhaltig verbessern. Weiteres könnten anhand dieser Modell-Studie nützliche Informationen hinsichtlich einer verbesserten Risikobewertung in der Humanernährung gewonnen werden.

*zu erwartender Schaden für das Tier:* Die zu erwartenden Schäden für die Tiere sind als gering einzustufen: Die Kücken werden unter artgerechten und den TV-Gesetz 2012 entsprechenden Haltungsbedingungen (Lichtprogramm, Temperatur-, Raumluftkontrolle, sowie Besatzdichte) in Kleingruppen von maximal 10 Tieren in Flat-Decks gehalten werden. Die Kücken werden unter freier Aufnahme und Zugang (ad libitum) gefüttert und getränkt. An den Tagen vor der Schlachtung werden die Tiere mit LPS bzw. Placebo mittels Kropfsonden infundiert und anschließend fachgerecht euthanasiert werden. Um Verletzungen der Tiere zu vermeiden, werden sie kurzfristig von Betreuungspersonal fixiert. Nach der Schlachtung werden den Tieren verschiedene Proben (Blutproben, Organen, Kotproben) für die Analysen im Labor entnommen. Aufgrund der Haltung in Flat-decks sowie kurze Fixierung und Infundierungsmaßnahmen kommt den Tieren eine mittelgradige Belastung zu.

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

320 männliche Mastkücken der Rasse Ross 308.

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

*Vermeidung:* In dem Versuch werden in der Praxis übliche Mastkücken eingesetzt. Durch die Verwendung von marktüblichen Kücken mit bereits vorhandenen Erfahrungen aus früheren Fütterungsstudien vermeiden wir Stress während der Aufzucht und Haltung. Statistische Methoden erfordern eine Mindestzahl von zehn Tieren. Die artgerechte Haltung und Fütterung in Gruppen sind schmerzfrei und ohne Zwangsmaßnahmen an den Tieren durchführbar.

*Verminderung:* Durch die Reduktion der Tierzahl auf ein Minimum von 10 Tieren pro Gruppenvariante und durch das Versuchsdesign in den Fütterungsversuchen findet dieser Punkt volle Anwendung. Die Kücken erhalten in diesem Versuch Futterkomponenten die vom Geflügel weitgehend gut vertragen werden und der üblichen Praxis entsprechen.

**Verfeinerung:** Der Versuch wird in einem generalsanierten und modernen Tierstall und mit neuester Stalltechnik durchgeführt. Das Pflegepersonal ist qualifiziert und die Betreuung und Überwachung der Tiere durch ausgebildete Tierärztinnen/Tierärzte gewährleistet. Tierärztinnen/Tierärzte übernehmen ebenfalls die Eingriffe der oralen LPS/Placebo-Verabreichung Tags vor und bei der Schlachtung, sowie die begleitenden Blutprobenahmen am Tier.

Die Haltung der Tiere in Kleingruppen in einem für die Gruppengröße angemessenen Stall mit ausreichender Belüftung, Beleuchtung und Abschirmung von äußeren Lärmeinflüssen trägt zum allgemeinen Wohlbefinden der Tiere während der Versuchsdauer bei. Regelmäßige Fütterung, ständige Verfügbarkeit von sauberem Trinkwasser, und die fachgerechte Betreuung und Entmistung gewährleisten die Einhaltung der physiologischen und hygienischen 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**

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“ gemäß § 3 Abs 1 TVG 2012 zuzuordnen.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

Die zu untersuchenden Tiere sind 157 Sprague Dawley Ratten.

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

Die Versuchsbedingungen werden so gewählt, dass mittels potenter Narkose und Analgesie, die tägliche tierärztliche Inspektion aller operierten Tiere und die tägliche tierpflegerische Betreuung und Konditionierung aller Tiere Schmerzen, Leiden und Ängste der Tiere möglichst minimiert 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*

Infektionen mit porzinen Influenza A Virusstämmen (FLUAVsw) stellen ein weltweites Problem dar und sind auch in Schweinemast- und Zuchtbetrieben in Europa weit verbreitet. Ebenso stellen Influenzainfektionen beim Schwein durch potentielle Übertragung auf den Menschen eine Zoonose-Gefahr dar. Die Entwicklung neuer Immunisierungsstrategien soll die Kontrolle und Prävention von Influenzainfektionen laufend verbessern. Ziel dieses Projektes ist der Test von neuen Vakzin-Kandidaten gegen FLUAVsw mittels Vektorvakzinen im Schwein. Zusätzlich soll die protektive Wirkung der Vakzine mit nachfolgender Belastungsinfektion untersucht werden. Dazu soll die Antigen-spezifische Antwort des humoralen, sowie des zellulären Immunsystems untersucht werden, mit besonderem Augenmerk auf die Ausbildung eines stabilen immunologischen Gedächtnisses. Zusätzlich zu den systemischen Parametern im Blut, soll die Immunantwort in der Lunge, einem Hauptzentrum des Infektionsgeschehens, untersucht werden.

*zu erwartender Nutzen:* Die gewonnenen Erkenntnisse werden über die Wirkungsweise und die Protektivität der neuen Vakzin-Kandidaten Aufschluss geben und darüber hinaus durch Erhebung der Daten über das zelluläre Immunsystem einen wesentlichen Beitrag zur Entwicklung neuer Impfstrategien mit Vektorvakzinen beim Schwein leisten.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Durch die Immunisierung selbst werden keine Nebenwirkungen und Belastungen für das Tier erwartet. Um den Impferfolg zu bestätigen, ist allerdings eine nachfolgende Infektion der Tiere unerlässlich. Es ist daher mit einem mittleren Schweregrad der Belastung zu rechnen. Es werden jedoch zahlreiche Maßnahmen ergriffen, um die Belastung der infizierten Tiere so gering wie möglich zu halten

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

Für dieses Projekt werden insgesamt 30 Schweine in fünf Versuchsgruppen mit je sechs Tieren eingeteilt. Diese Gruppen umfassen zwei zu testende Vakzin-Kandidaten, sowie eine Gruppe die eine kombinatorische Gabe der zwei Impf-Kandidaten erhält. Ebenso werden entsprechende Kontrollgruppen mitgeführt, die mit einem Kontroll-Vektor ohne Impfantigen oder nur mit einer physiologischen Pufferlösung immunisiert werden. Die Einbeziehung der unterschiedlichen Gruppen ist notwendig, um klare Aussagen über eine Vakzin-spezifische Stimulation des Immunsystems, die im besten Fall mit einem Impferfolg korreliert, gewährleisten zu können.

### *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 der Forschung nur eine Untersuchung am lebenden Gesamtorganismus möglich und kann nicht durch versuchstierfreie Methoden ersetzt werden. Deshalb kann dieser Versuch nicht durch geeignete Ersatzmethoden wie Zellkultur oder künstliche Systeme im Labor ersetzt werden.

*Verminderung:* Es werden zahlreiche Maßnahmen ergriffen, um die Anzahl der Tiere sowie die Belastung der Tiere so gering wie möglich zu halten. Nur eindeutig benötigte Versuchsgruppen werden in diesem Versuch eingeplant. Durch gut etablierte Methoden für die nachfolgenden Analysen und geeignete statistische Auswertungen ist es möglich, die Tierzahl auf ein Minimum von 6 Tieren pro Gruppe zu reduzieren. Die Infektion der Tiere erfolgt mit einem Influenzasubtyp der gut vom Immunsystem des Schweins kontrolliert werden kann, so dass nur mit kurzfristigen klinischen Symptomen wie erhöhter Körpertemperatur und verringerter Fresslust zu rechnen ist. Geeignete Abbruchkriterien wurden definiert, die ein unnötiges Leiden der Tiere bei etwaigen auftretenden Komplikationen oder Erkrankungen während des Tierversuchs vermeiden sollen. Des Weiteren wird durch die geringe Dauer des Versuches nach Infektion die Belastung der Tiere auf ein mögliches Minimum reduziert.

**Verfeinerung:** Um den Tieren unnötiges Leid zu ersparen und den physiologischen Bedürfnissen der Tiere nachzukommen, werden mehrere Maßnahmen ergriffen, die zum allgemeinen Wohlbefinden der Tiere beitragen sollen. Die Unterbringung der Tiere entspricht den allgemeinen Haltungsbedingungen. Eine regelmäßige Kontrolle der Tiere durch ausgebildetes Pflegepersonal sowie Tierärztinnen/Tierärzte gewährleistet eine nahezu lückenlose Überwachung des Gesundheitszustandes der Tiere. Die Haltung der Tiere in Gruppen schafft zusätzlich eine Umgebung, die den physiologischen Bedürfnissen der Tiere entspricht. Durchgehender Zugang zu Futter und sauberem Trinkwasser wird gewährleistet. Ebenfalls ist für adäquates Beschäftigungsmaterial gesorgt.

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

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

Mit dem vorgestellten Projekt sollen die Funktionen zweier Moleküle mit ähnlicher Funktion in einem Modell der sogenannten Glomerulonephritis (GN) genauer untersucht werden und Mäuse für diesen Zweck gezüchtet werden. In einem von uns seit langem verwendeten Mausmodell, welches der menschlichen Erkrankung sehr ähnlich ist, werden einerseits die Rollen der kostimulatorischen Moleküle CD30 und OX40, sowie andererseits ihre Wirkung in Zusammenschau untersucht. In der Immunologie bezeichnet der Begriff Kostimulation einen Prozess, der essentiell für eine effektive Immunantwort ist, und zusätzlich zur Signalweiterleitung durch den antigenspezifischen Rezeptor stattfindet. CD30 und OX40 sind zwei Rezeptoren, die auf T Zellen zu finden sind und unter anderem für das Überleben von sogenannten Th1 Zellen sorgen. Da Th1 Zellen im Krankheitsprozess der Glomerulonephritis eine wichtige Rolle spielen, CD30 und OX40 in weitere Prozesse involviert sind, und derzeit noch keine Daten über die Rolle von CD30 und OX40 in der Glomerulonephritis vorliegen, soll hier die Rolle von CD30 und OX40 in dieser Erkrankung untersucht werden. Dies geschieht einerseits mithilfe von Ligandenantikörpern und andererseits kommen genetisch veränderte Mäuse zum Einsatz (im weiteren Doppelknock-out (DKO) genannt), in welchen die Ausprägung der Glomerulonephritis studiert und so herausgefunden werden soll, welche Bedeutung der entsprechende Rezeptor in dieser Erkrankung spielt, um so die Grundlage für eventuelle neue Therapien zu schaffen. Den Mäusen wird nach erfolgter Immunisierung ein vom Kaninchen gewonnenes Antiserum injiziert, was zur Ausbildung der Glomerulonephritis führt. Wildtyp Mäuse werden mit Antikörpern oder entsprechender Kontrollsubstanz behandelt und nach 1,2,4 und 8 Wochen getötet um die Erkrankung zu evaluieren. Weiters werden im Rahmen der Experimente mit genetisch veränderten Tieren DKO und Wildtyp Kontrollen 1,2,4 und 8 Wochen nach der Induktion der Erkrankung getötet und die Ausprägung der GN und die Verteilung diverser Immunzellen in Nieren, Milz und Lymphknoten und somit die Ursache etwaiger Unterschiede analysiert.

*zu erwartender Nutzen:* Derzeitige Therapiekonzepte der Glomerulonephritis umfassen Medikamente, welche die Lebensqualität negativ beeinflussen und die Erkrankung nicht kausal behandeln. Die Forschung an neuen, effizienteren Therapien sowie an immunologischen und physiologischen Vorgängen der Erkrankung beinhaltet das Potential, neue Therapiekonzepte zu schaffen und damit eine Besserung von Lebensqualität und -dauer zu bewirken.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Die Mäuse können durch die Immunisierung eine leichte Schwellung, sowie Rötung im Beinbereich aufweisen. Sollten zu einem Zeitpunkt Zeichen von Schmerzen auftreten, entscheidet der Tierarzt über die weitere Vorgehensweise.

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

Im Rahmen dieses Projektes werden insgesamt 864 Wildtyp Mäuse für die Interventionsversuche verwendet, wobei jeweils die Hälfte den Interventionsgruppen, und die andere Hälfte den Kontrollgruppen zufällt.

Weiters züchten wir einen genetisch veränderten Mausstamm, wobei 288 in unseren Versuchen verwendet werden.

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

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

*Verminderung:* Bei unseren Versuchen wird die Anzahl an verwendeten Mäusen durch sorgfältige Planung der Versuche möglichst gering gehalten; dies beinhaltet im Rahmen der Zucht auch die Verwendung von Littermates als Wildtypkontrollen und die Genotypisierung jeder Maus. Wir wissen jedoch, dass der zeitliche Ablauf der Glomerulonephritis durch das Auftreten verschiedener Mechanismen in verschiedenen Geweben zu verschiedenen Zeitpunkten geprägt ist. wodurch die

Untersuchung der unterschiedlichen Zeitpunkte bedingt wird. Zur Erlangung von statistischer und biologischer Signifikanz benötigen wir zudem eine unabhängige Bestätigung von einmal beobachteten Unterschieden.

*Verfeinerung:* Bei der Durchführung unserer Versuche sowie der Zucht und Haltung der Mäuse gehen wir nach international üblichen Standards vor. Die Tiere werden in Gruppen gehalten und um das Wohlbefinden zu steigern und den Zuchterfolg zu erhöhen wird den Tieren Enrichment in Form von Nistmaterial und Häuschen zur Verfügung gestellt. Durch Handling von ausgebildeten Tierpflegern, die die Tiere versorgen, werden die Mäuse an den Umgang mit Menschen gewöhnt, und zusätzlicher Stress bei den Versuchen kann dadurch vermieden werden. Zusätzlich werden die Mäuse routinemäßig von Tierärzten auf ihren Gesundheitszustand kontrolliert. Sollte ein Tier zu irgendeinem Zeitpunkt Symptome von Stress und/oder Schmerzen zeigen, entscheidet der Tierarzt über die weitere Vorgehensweise.

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

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

Die Gedächtnisbildung im Gehirn wird oft durch emotionale Aspekte stark erleichtert. Reize, die Schmerzen oder Angst verursachen, bilden ein robustes und beständiges emotionales Gedächtnis in der Amygdala, einem Gefühlszentrum in sowohl tierischen als auch menschlichen Gehirnen. Doch auch die Leitungsbahn zwischen Habenula und Nucleus interpeduncularis hat hinsichtlich Motivation, Belohnung und Angst jüngst vermehrt Beachtung gefunden. Jedoch sind die neuronalen Zellen, ihre Projektionen und die Mechanismen, die bei diesen Gedächtnisbildungen eine Rolle spielen, noch weitgehend unbekannt. Es ist besonders wichtig zu verstehen, wie das emotionale Gedächtnis im Gehirn gebildet wird, um eine effektive Behandlung für Patienten mit neurologischen Erkrankungen wie z. B. neuropathischen Schmerzen oder posttraumatischen Störungen zu ermöglichen.

Das Hauptziel dieses Projektes ist die Identifizierung neuronaler Leitungsbahnen, die eine wichtige Rolle bei der Bildung des emotionalen Gedächtnisses spielen, und die Untersuchung der synaptischen Mechanismen, die die nachhaltigen Veränderungen bei der Neurotransmission in diesen Leitungsbahnen unterstützen. Die besonders empfindlichen und quantitativen Methoden des neuronalen Tracing, der Morphometrie der Synapsen, der Quantifizierung von Rezeptoren- und Rezeptionskanälen, der elektrophysiologischen Aufzeichnung und Optogenetik werden mit Verhaltensstudien über Furcht, Angst, Depression und Motivation kombiniert. Besonderes Augenmerk liegt auf den Mechanismen des Langzeitgedächtnisses und der optogenetischen Manipulation des emotionalen Verhaltens *in vivo*.

#### *zu erwartender Nutzen:*

- mehr Informationen darüber zu sammeln, wie das emotionale Gedächtnis im Gehirn gebildet wird, um eine effektive Behandlung für Patienten mit neurologischen Erkrankungen wie z. B. neuropathischen Schmerzen oder posttraumatischen Störungen zu ermöglichen –
- die Identifizierung neuronaler Leitungsbahnen, die eine wichtige Rolle bei der Bildung des emotionalen Gedächtnisses spielen, und die Untersuchung der synaptischen Mechanismen, die die nachhaltigen Veränderungen bei der Neurotransmission in diesen Leitungsbahnen unterstützen
- mehr Erkenntnisse über die Mechanismen des Langzeitgedächtnisses zu erlangen

#### *zu erwartender Schaden:*

- Wir planen Standardoperationen in tiefer Narkose kombiniert mit effektiver Schmerzbehandlung, von denen wir erwarten, dass sie mittelgradig Schmerzen verursachen.

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

Wir planen, für dieses Projekt mit 27.120 Mäusen und 550 Ratten über einen Zeitraum von fünf Jahren zu arbeiten. Die hohe Anzahl der Tiere liegt in der Tatsache begründet, dass wir mehrere gentechnisch modifizierte Linien mit definierten Genotypen vergleichen wollen. Alle Nachkommen dieser verschiedenen Linien müssen hinsichtlich ihres Genotyps und damit weiteren Verwendbarkeit für das geplante Projektvorhaben identifiziert werden. Dies geschieht mit etablierten Standardlabormethoden wobei den Tieren minimale Gewebestücke aus der Schwanzhaut entnommen werden.

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

Das Forschungsdesign ermöglicht eine Beschränkung der Anzahl der verwendeten Tiere auf das notwendige Minimum. So oft wie möglich untersuchen wir gleichzeitig verschiedene Hirnregionen zur Erforschung der beteiligten neuronalen Leitungsbahnen und Schlüsselmoleküle. Zur weiteren Minimierung der Verwendung von Tieren benutzen wir verschiedene Markierungstechniken in den gleichen Tieren für verschiedene Zwecke. Wir verwenden eine minimale Anzahl von Tieren zur Gewinnung statistisch relevanter Versuchsergebnisse mit Hilfe von äußerst empfindlichen quantitativen Messungen mittels weniger Variablen als bei herkömmlichen Studien. Zunächst verwenden wir drei Tiere und testen, ob damit bereits ausreichend Daten für die Ermittlung von

statistisch signifikanten Unterschieden gesammelt werden konnten. Wenn dem so ist, können wir die Messungen mit einer minimalen Anzahl von Tieren durchführen. Wenn nicht, werden wir die Anzahl auf sechs erhöhen, um zu ermitteln, ob zwischen den Versuchsgruppen ein signifikanter Unterschied feststellbar ist oder nicht. Verhaltensexperimente erfordern in der Regel eine größere Anzahl von Tieren. Da die Experimente mit kleinen Gruppen von Tieren (weniger als 20) durchgeführt werden, können die Daten aus den ersten Versuchsreihen verwendet werden, um zu testen, ob zuverlässige und statistisch signifikante Daten bereits vorhanden sind, bevor weitere Tiere verwendet werden. Darüber hinaus arbeiten wir gemäß dem neuesten Stand der technischen Entwicklung, sowohl hinsichtlich der Operationstechniken als auch der Methoden für Verhaltensforschung. Zum Beispiel kann eine optogenetische Stimulation des LS-Nervs anstatt einer invasiven chirurgischen Ligation zur Erzeugung des neuropathischen Schmerzmodells angewandt werden. Dadurch stellen wir sicher, dass möglichst wenige Tiere eingesetzt werden und die Häufigkeit und das Ausmaß von unnötigen Schmerzen während der Durchführung der Versuche weiter reduziert werden. Durch regelmäßige Gespräche mit unserem Tierarzt werden wir unsere Protokolle weiterentwickeln.

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

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

Mit dem vorgestellten Projekt sollen Regulationsmechanismen in einem Modell der sogenannten Glomerulonephritis (GN) genauer untersucht werden und Mäuse für diesen Zweck gezüchtet werden. In einem von uns seit langem verwendeten Mausmodell, welches der menschlichen Erkrankung sehr ähnlich ist, wird zum einen die Rolle des Interleukin-1 Familienmitgliedes Il-33 und dessen Rezeptors ST2, und zum anderen die Rolle des Interleukin-1 Familienmitgliedes Il-36(a,β,γ) und dessen Rezeptors Il1r12 studiert. Interleukine der Interleukin-1 Familie wurden bereits mit verschiedenen Prozessen in Verbindung gebracht, die in unterschiedlichen Erkrankungen lindernd oder aggravierend wirken können. Zwei neu entdeckte Interleukine dieser Familie sind Interleukin-33 und Interleukin-36(a,β,γ). Da bis jetzt keine Daten zur Funktion dieser zwei Interleukine und ihrer Rezeptoren in der experimentellen Glomerulonephritis vorliegen, soll die Rolle von Interleukin-33 und Interleukin-36(a,β,γ) in diesem Modell erforscht werden. Dies geschieht einerseits mithilfe von Rezeptorantikörpern und rekombinantem Interleukin, welche die Wirkung der Interleukine in der Glomerulonephritis hemmen oder imitieren sollen. Andererseits kommen genetisch veränderte Mäuse zum Einsatz (im weiteren knock-out (KO) genannt), in welchen die Ausprägung der Glomerulonephritis studiert und so herausgefunden werden soll, welche Bedeutung das entsprechende Molekül in dieser Erkrankung spielt, um so die Grundlage für eventuelle neue Therapien zu schaffen. Den Mäusen wird nach erfolgter Immunisierung ein vom Kaninchen gewonnenes Antiserum injiziert, was zur Ausbildung der Glomerulonephritis führt. Wildtyp Mäuse werden mit Antikörpern, Interleukin oder entsprechender Kontrollsubstanz behandelt und nach 1,2,4 und 8 Wochen getötet um die Erkrankung zu evaluieren. Weiters werden im Rahmen der Experimente mit genetisch Veränderten Tieren KO und Wildtyp Kontrollen 1,2,4 und 8 Wochen nach der Induktion der Erkrankung getötet und die Ausprägung der GN und die Verteilung diverser Immunzellen in Nieren, Milz und Lymphknoten und somit die Ursache etwaiger Unterschiede analysiert.

*zu erwartender Nutzen:* Derzeitige Therapiekonzepte der Glomerulonephritis umfassen Medikamente, welche die Lebensqualität negativ beeinflussen und die Erkrankung nicht kausal behandeln. Die Forschung an neuen, effizienteren Therapien sowie an immunologischen und physiologischen Vorgängen der Erkrankung beinhaltet das Potential, neue Therapiekonzepte zu schaffen und damit eine Besserung von Lebensqualität und -dauer zu bewirken.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Die Mäuse können durch die Immunisierung eine leichte Schwellung, sowie Rötung im Beinbereich aufweisen. Sollten zu einem Zeitpunkt Zeichen von Schmerzen auftreten, entscheidet der Tierarzt über die weitere Vorgehensweise.

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

Im Rahmen dieses Projektes werden insgesamt 864 Wildtyp Mäuse für die Interventionsversuche verwendet, wobei jeweils die Hälfte der Interventionsgruppe, und die andere Hälfte der Kontrollgruppe zufallen.

Weiters züchten wir einen genetisch veränderte Mausstamm, wobei 288 in unseren Versuchen verwendet werden.

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

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

*Verminderung:* Bei unseren Versuchen wird die Anzahl an verwendeten Mäusen durch sorgfältige Planung der Versuche möglichst gering gehalten; dies beinhaltet im Rahmen der Zucht auch die Verwendung von Littermates als Wildtypkontrollen und die Genotypisierung jeder Maus. Wir wissen jedoch, dass der zeitliche Ablauf der Glomerulonephritis durch das Auftreten verschiedener

Mechanismen in verschiedenen Geweben zu verschiedenen Zeitpunkten geprägt ist, wodurch die Untersuchung der unterschiedlichen Zeitpunkte bedingt wird. Zur Erlangung von statistischer und biologischer Signifikanz benötigen wir zudem eine unabhängige Bestätigung von einmal beobachteten Unterschieden.

*Verfeinerung:* Bei der Durchführung unserer Versuche sowie der Zucht und Haltung der Mäuse gehen wir nach international üblichen Standards vor. Die Tiere werden in Gruppen gehalten und um das Wohlbefinden zu steigern und den Zuchterfolg zu erhöhen wird den Tieren Enrichment in Form von Nistmaterial und Häuschen zur Verfügung gestellt. Durch Handling von ausgebildeten Tierpflegern, die die Tiere versorgen, werden die Mäuse an den Umgang mit Menschen gewöhnt, und zusätzlicher Stress bei den Versuchen kann dadurch vermieden werden. Zusätzlich werden die Mäuse routinemäßig von Tierärzten auf ihren Gesundheitszustand kontrolliert. Sollte ein Tier zu irgendeinem Zeitpunkt Symptome von Stress und/oder Schmerzen zeigen, entscheidet der Tierarzt über die weitere Vorgehensweise



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**

Therapeutische Hypothermie bei plötzlichem Herzstillstand (also Kühlen des Patienten während und nach Kreislaufstillstand, nach Wiederbelebung) gilt als hoffnungsvoller Therapieansatz zur Minderung neurologischer Schäden und somit besserem Langzeitüberleben. Auch besteht Hoffnung Menschen helfen zu können, die nach Kreislaufstillstand bisher nicht mehr reanimierbar galten, da sie die Erstversorgung und der Beginn der Wiederbelebungsmaßnahmen zu spät erreicht haben.

*zu erwartender Nutzen:* in diesem Projekt werden spezielle Katheter entwickelt, mit denen Patienten im verlängerten Kreislaufstillstand gezielt gekühlt werden können, um v.a. Hirn und Herz sowie das übrige Nervengewebe zu schützen und eine verspätete Reanimation überhaupt erst möglich zu machen. Weiters werden Oberflächenkühlmethoden entwickelt die den Körper nach Wiederbelebung auf milde Hypothermie sicher und gezielt abkühlen können.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* die verwendeten Versuchstiere sind während des gesamten Versuchs in Vollnarkose ohne Wiedererlangen der Lebensfunktionen.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

15 Schweine

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

*Vermeidung:* die neu entwickelten speziellen Katheter und Kühlgeräte wurden vor der ersten Anwendung an Tieren gründlich in Modellen getestet.

*Verminderung:* aufgrund des Entwicklungsstadiums der beiden Methoden wurde die Tierzahl auf das notwendige Minimum gesenkt.

*Verfeinerung:* Verwendung eines etablierten Modells unter Vollnarkose und Analgesie ohne Wiedererwachen -somit schmerzfrei

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

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

Durch diese Studie soll eine neue Methode zur Injektion von Viren in Mäuse und letztendlich ein neues Amyotrophe Lateralsklerose (ALS) Mausmodell etabliert werden. Es soll die richtige Injektionsstelle für die Etablierung des induzierten ALS Modells ermittelt werden. Gleichzeitig soll untersucht werden welcher Virus-Serotyp der Beste für die Verwendung in der Maus ist. In einem ersten Projekt sollen daher GFP exprimierende Viruspartikel mit verschiedenem Serotyp in den dorsalen Funikulus oder Cortex injiziert werden. Erst nach erfolgreicher Analyse des besten Injektionsgebiets und auch Serotyps sollen TDP-43 exprimierende Viruspartikel mit dem im ersten Projekt ermittelten Serotyps in das entsprechende Gehirngebiet von Mäusen injiziert werden.

Amyotrophe Lateralsklerose (ALS) ist eine degenerative Erkrankung des motorischen Nervensystems. Diese Krankheit tritt weltweit auf und von 100.000 Menschen erkranken jährlich ca. 1-3 neu an ALS, dabei sind Männer häufiger betroffen als Frauen (1,5 : 1). Untersuchungen der letzten 10 Jahre zeigen, dass in den meisten sporadischen ALS Fällen eine Mutation im Gen TDP-43 auftritt. Die TDP-43 induzierte Pathologie kann im ganzen Gehirn beobachtet werden. Hauptsächlich jedoch im Motorkortex und Rückenmark, sowie sekundär in den Basalganglien und Thalamus. Durch die Mutation wird das Protein unlöslich wodurch es zu Einlagerungen von TDP-43 im Zytoplasma kommt und gleichzeitig einem Fehlen des Proteins im Nukleus. Desweiteren kommt es auf molekularer Ebene zu Hyperphosphorylierung, Ubiquitinierung und Spaltung des Proteins in mehrere Fragmente. Diese Veränderungen führen zu einer verstärkten Sterblichkeit der betroffenen Zellen. Außerdem wird Astrogliose und 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 die Methodik für ein induziertes Mausmodell der ALS etabliert werden, das eine langsamer fortschreitende Pathologie aufweist als bereits etablierte transgene Tiermodelle. Nachdem die Methodik erfolgreich etabliert wurde, sollen in einem Folgeprojekt mehr Tiere entsprechend behandelt und auf ihre Pathologie untersucht werden. Dieses Folgeprojekt würde in einem weiteren Tierversuchsantrag beantragt werden, da durch die vorliegende Studie erst alle Parameter festgelegt werden sollen.

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

Es werden 32 nicht transgene Mäuse verwendet, die durch die Heterozygotzucht von transgenen Tieren für andere Projekte geboren wurden, jedoch nicht für diese benötigt werden. Es sollen Tiere beider Geschlechter im Alter von 1 Monat verwendet werden.

Weiters werden insgesamt 33 männliche C57BL/6 Mäuse verwendet. Die Tiere werden von einem Züchter bestellt und im Alter von 1 Monat verwendet.

Insgesamt werden für dieses Projekt 65 Wildtyp Mäuse beantragt.

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

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

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

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

Bcl-6 reguliert die Expression von Genen und wurde ursprünglich in Non-Hodgkin Lymphomen charakterisiert, da Bcl-6 dort häufig mutiert ist. 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 Auswirkungen auf die Neubildung von Blutgefäßen studiert werden. Die hier eingesetzte Substanz wurde für die klinische Anwendung bei Non-Hodgkin Lymphomen entwickelt. Es wäre von Bedeutung die Auswirkungen der Bcl-6 -Blockade auf das Blutgefäßsystem zu studieren und mögliche 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**

Es werden Tiere der Spezies *Mus musculus* beantragt: Wildtyp-Mäuse des Typs C57B16.

Anzahl der benötigten Versuchstiere: 39 Mäuse.

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

*Vermeidung:* Ergebnisse vorangegangener Studien ergaben die Notwendigkeit, die Bcl-6 Funktion mittels Tiermodell zu beweisen, da die physiologische Funktion nur in einem natürlichen Umfeld überprüft werden kann

*Verminderung:* Die Gruppengrößen wurden so gewählt, dass möglichst wenige Tiere eingesetzt werden müssen, um noch eine aussagekräftige statistische Auswertung zu ermöglichen. Durch Standardisierung der Tierhaltungsbedingungen und der Methodik wird die Streuung der Ergebnisse und somit die benötigte Anzahl der Tiere weiter reduziert.

*Verfeinerung:* Die Anzahl der benötigten Tiere wurde 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): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

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

Die in unserem Projekt verwendeten Inhibitoren der DPP4 (Dipeptidyl-Peptidase 4), ursprünglich zu Behandlung von Diabetes mellitus Typ 2 entwickelte Medikamente, haben eine nachgewiesene positive Wirkung auf die Funktion und Heilung von Gefäßen und am Herzen. Dieser positive Effekt wird dadurch hervorgerufen, dass die DPP4-Inhibitoren u.a. die Einwanderung von Vorläuferstammzellen (zirkulierende Progenitorzellen, ciPC) in die geschädigten Areale fördern. Durch die Steigende Anzahl an Patienten mit den sogenannten koronaren Herzerkrankungen (Erkrankung der Herzkrangefäße, welche den Herzmuskel mit Blut versorgen) gewinnen die kardiologischen Eingriffe mittels Herzkatheter und die Implantation von Stents immer mehr an Bedeutung. Da der koronaren Herzerkrankung eine Atherosklerose der Herzkranzgefäße zu Grunde liegt, möchten wir untersuchen, ob wie in zahlreichen Vorversuchen gezeigt Gliptine auch eine positive Wirkung auf die Gefäßheilung nach Stentimplantation im erkrankten Blutgefäß haben. Hierfür möchten wir Kaninchen biologisch abbaubare Stents in ein Gefäß im Oberschenkel implantieren um den Heilungsverlauf beurteilen zu können. Wir werden Kaninchen mit „gesunden“ und atherosklerotischen Gefäßen behandeln, um einerseits den direkten Einfluss der Gliptine auf die Heilung der Gefäße zu beurteilen und andererseits den Gliptin-Effekt auf den Verlauf der Gefäßverkalkung zu untersuchen. Hierfür sollen insbesondere die Gefäßfunktion mittels Ultraschall beurteilt werden und anschließend feingewebliche Untersuchungen der mit Stent versehenen Gefäße durchgeführt werden.

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

Geplant ist eine Gesamtanzahl von **110 + 2 Kaninchen** über einen Zeitraum von 5 Jahren.

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

Ersatz der Tiere durch nicht-Tiermodelle, Verminderung der Tierzahlen, Verbesserung der Haltings- und Versuchsbedingungen) sind uns bei unseren Projekten stets ein großes Anliegen. Daher achten wir zu jeder Zeit unseres Projekts darauf, dass die Haltingsbedingungen den Ansprüchen der Tiere gerecht werden und immer ausreichendes Enrichment zur Beschäftigung und Wohlbefinden der Tiere vorhanden ist. Um jederzeit eine gute (tierärztliche) Überwachung des Tierwohls zu gewährleisten verwenden wir speziell von uns für das Projekt entworfene Protokolle und ein von uns für unsere Projekte entworfenes Belastungs-Scoring-Sheet. Diese stehen allen ProjektmitarbeiterInnen zur Einsicht zur Verfügung, was jedem/jeder MitarbeiterIN ermöglicht, sich angemessen um die Tiere zu kümmern, damit die Tiere zu jeder Zeit während des Versuchs wohlfühlen und ein tiergerechtes Leben gesichert ist. Bei erfolgreichem Versuchsverlauf erwarten wir durch diese Versuchsserie die Etablierung eines neuartigen Therapieansatzes, der die Verträglichkeit und Einheilung von bioresorbierbaren endovaskulären Stents im atherosklerotischen Blutgefäß deutlich verbessern kann.

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

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

Versuchstiere mit gezielten genetischen Veränderungen stellen wertvolle Instrumente für die biomedizinische Forschung dar. Allerdings können manche genetische Veränderungen bereits ohne experimentelle Eingriffe Gesundheit und Wohlbefinden der Versuchstiere beeinträchtigen. Solange für einen konkreten Stamm diese Möglichkeit nicht durch systematische Untersuchungen ausgeschlossen werden kann, ist ihre Zucht und Haltung genehmigungspflichtig. Im gegenständlichen Projekt wird daher die Genehmigung für die Erhaltungszucht von 46 genetisch veränderten Mausstämmen beantragt, die auf verschiedenen Gebieten der immunologischen Forschung Verwendung finden. Ziele des vorliegenden Projektes sind (i) die Erhaltung der Mausstämmen über die Projektdauer von 5 Jahren sowie (ii) die systematische Untersuchung der einzelnen Stämme auf mögliche Beeinträchtigungen in ihrem allgemeinen Erscheinungsbild, Gesundheitszustand und Verhalten. Die dazu erforderlichen Untersuchungen sind ausschließlich nicht-invasive Beobachtungen an Tieren in verschiedenen Lebensabschnitten und stellen daher keinerlei Belastung für die Tiere dar. Der zu erwartende Nutzen besteht in einer von kompetentem Fachpersonal systematisch erhobenen und dokumentierten Erhebung der möglichen Beeinträchtigungen dieser Tiere durch ihre spezifischen genetischen Veränderungen.

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

Für diese Untersuchungen und die Erhaltung von 46 Mausstämmen über einen Zeitraum von 5 Jahren wird eine Anzahl von **insgesamt 17.761 Mäusen (Erhöhung um 3.361 Mäuse)** beantragt. Von diesen Stämmen sind 13 (5.400 Tiere) aufgrund ihrer genetischen Eigenschaften als möglicherweise mit Schweregrad "gering belastet" einzustufen. Die übrigen 30 Stämme (12.361 Tiere) sind genetisch vermutlich unbelastet.

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

Die Nutzer der Einrichtung werden durch das lokale Tierschutzgremium dahingehend beraten, keine Stämme zu erhalten, die in absehbarer Zeit nicht für wissenschaftliche Projekte benötigt werden. Nicht vermeidbare Erhaltungszuchten sollen auf das nötige Minimum an Individuen beiderlei Geschlechts beschränkt werden, und Nachfolgenerationen sollen in möglichst großen Zeitabständen gezüchtet werden, ohne jedoch den Verlust eines Stammes durch Überalterung zu riskieren. Für die Erhebung der durch die genetischen Veränderungen verursachten Belastungen müssen keine zusätzlichen Tiere gezüchtet und gehalten werden. Der Großteil der hier beantragten Tiere wird in anderen wissenschaftlichen Projekten weiterverwendet werden.

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

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

In spezialisierten Zentren gibt es heutzutage fast kein Organ, welches nicht laparoskopisch operiert wird. Somit erweitern die chirurgischen Abteilungen in Österreich zunehmend ihr Laparoskopie-Operationsprogramm. Die minimal-invasiven Operationstechniken bedeuten jedoch für den Chirurgen eine durchaus anspruchsvolle Umstellung seiner bisherigen Arbeitsweise. Operationsmannschaften bestehend aus Oberärzten, in Ausbildung stehenden Assistenzärzten und Operationsschwestern von österreichischen Krankenhausabteilungen unterschiedlichster Fachrichtungen (Allgemeinchirurgie, Gynäkologie, Urologie) werden an einem narkotisierten Tier die Möglichkeit geboten, laparoskopische (=minimal invasive Technik, "Knopflochchirurgie") Techniken zu üben, verschiedene Operationsmanipulationen zu standardisieren und auch den Umgang mit neuen, jedoch bereits zugelassenen Geräten zu trainieren. Indem das ganze Team, das später gemeinsam im Operationssaal steht, geschult wird, ist ein zügiges Arbeiten während einer Operation möglich, was auch unnötig lange Narkosezeiten für den Patienten verkürzt. Diese laparoskopischen Erfahrungen haben einen nachhaltigen Nutzen für Patienten, da die minimal-invasive Chirurgie einen immer wichtigeren Stellenwert einnimmt, und die Patienten vermehrt wünschen in dieser Technik operiert zu werden um bei rascher Rekonvaleszenz mit weniger Schmerzen und postoperativen Komplikationen frühzeitig aus dem Krankenhaus entlassen werden zu können und auch wieder rascher in den Arbeitsprozess eingegliedert werden können. Nicht zuletzt werden damit auch verbesserte kosmetische Ergebnisse erzielt, womit die Zufriedenheit der Patienten steigt. Weiters werden durch die laparoskopischen Operationen große Hautschnitte vermieden, die gehäuft zu postoperativen Bruchbildungen führen und damit eine weitere Operation nach sich ziehen. **Zusätzlich zu den laparoskopischen Interventionen ist es geplant einen intramuskulären Sauerstoffsensor zu applizieren um dessen Verhalten in vitalem Gewebe weiter zu evaluieren. Zu erwartender Nutzen:** Sensoren dieser Art können bei entsprechender Weiterentwicklung und Marktreife das Überleben bzw. die Sauerstoffkonzentration von transplantierten Gewebelappen nach entsprechenden Operationen am Menschen überwachen.

**zu erwartender Schaden:** Der zu erwartende Schaden am Tier ist durch diese Intervention sehr gering einzuschätzen. Es wird eine Kanüle einmalig beim Start des Experiments gesetzt und anschließend werden über die gesamte Dauer des Versuches Daten gesammelt. Alle zu übenden chirurgischen Eingriffe bzw. das Setzen der intramuskulären Sensorkanülen werden am vollnarkotisierten Tier unter durchgehender veterinärmedizinischer Aufsicht und Betreuung ausgeführt.

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

65 Hausschweine f. 5 Jahre

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

**Vermeidung:** In Anbetracht der höheren Komplikationsraten bei Übernahme neuer Techniken einerseits und technikimmanent höheren Fehlerquellen der Laparoskopie andererseits ist der Besuch mehrerer Operationskurse unumgänglich, bevor man selbständig mit Sicherheit und Selbstvertrauen an Patienten laparoskopisch operieren kann ohne die Patienten zu gefährden. Einfachere Handhabungen werden zunächst an Hand eines Trainers geübt, aber schließlich kann der komplexe Umgang mit laparoskopischen Geräten an unterschiedlichem Gewebe inklusive Blutstillungsmethoden nur an vitalem durchblutetem Gewebe im Tierversuch geübt werden. **Verminderung:** Um dabei die Anzahl der Versuchstiere so gering wie möglich zu halten, werden die verschiedenen Techniken an mehreren Organen hintereinander durchgeführt für einen maximalen Trainingseffekt. Des Weiteren soll durch die Anwendung der Sensoren im Rahmen dieser Experimente die Verwendung von zusätzlichen Tieren verhindert werden, da diese ohne die

laparoskopischen Eingriffe zu beeinflussen, angewendet werden können und somit eine entsprechende Datenakquise möglich ist.

*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.

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*

Der Schimmelpilzgift Deoxynivalenol (DON) ist Teil der unerwünschten Substanzen in der Tierernährung. DON kann in Getreide betonten Futtermitteln und Nahrungsmitteln angereichert werden. Bei der Konsumation derartig kontaminierter Produkte ist mit schwerwiegenden Folgen für Tier und Mensch zu rechnen. Hinzu kommt ein Zusammenspiel mit vielen anderen Erregern im Darm und deren unerwünschte Stoffwechselmetabolite wie z. B. Lipopolysaccharide (LPS) als entzündungsfördernde Substanzen von unerwünschten Darmbakterien stammend, die eine wichtige gravierende Immunsuppression beim Tier und Mensch verursachen können. In Modellstudien beim Geflügel werden LPS-Applikationen routinemäßig zur Simulation leichter Entzündungsgeschehen im Darm durch Gram-negative Bakterien eingesetzt. In diesem Projekt soll ein kommerziell erhältlicher Futterzusatzstoff als DON-Gegenmittel auf Organ verbessernde, sowie spezifische immun- und antitoxische Wirkungen beim Masthuhn hin geprüft werden. Außerdem soll in einem Masthuhn-Modell das Zusammenspiel von einer DON-Aufnahme und einer kurzfristigen LPS-Belastung auf das Immunsystem näher untersucht werden. Durch drei- und fünfwöchige Fütterungsstudien unter den EU Richtwerten von DON im Geflügelfutter soll der zeitliche Verlauf der Veränderungen in den molekularen Mechanismen in Blutproben und Organen studiert und vermessen werden.

Der *zu erwartende Nutzen* sind Erkenntnisgewinne über die Rolle der Futterzusätze auf die Immunstabilität beim Geflügel. Dadurch können gezielte Präventionsmaßnahmen erarbeitet werden, die die Gesundheit des Geflügels nachhaltig verbessern. Weiteres könnten anhand dieser Modell-Studie nützliche Informationen hinsichtlich einer verbesserten Risikobewertung in der Humanernährung gewonnen werden.

Die *zu erwartenden Schäden für die Tiere* sind als gering einzustufen: Die Kücken werden unter artgerechten und den TV-Gesetz 2012 entsprechenden Haltungsbedingungen (Lichtprogramm, Temperatur-, Raumluftkontrolle, sowie Besatzdichte) in Kleingruppen von maximal 10 Tieren in Flat-Decks gehalten werden. Die Kücken werden unter freier Aufnahme und Zugang (*ad libitum*) gefüttert und getränkt. An den Tagen vor der Schlachtung werden die Tiere mit LPS bzw. Placebo mittels Kropfsonden infundiert und anschließend fachgerecht euthanasiert. Um Verletzungen der Tiere zu vermeiden, werden sie kurzfristig von Betreuungspersonal fixiert. Nach der Schlachtung werden den Tieren verschiedene Proben (Blutproben, Organen, Kotproben) für die Analysen im Labor entnommen. Aufgrund der Haltung in Flat-decks sowie kurze Fixierung und Infundierungsmaßnahmen kommt den Tieren eine mittelgradige Belastung zu.

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

Die Anzahl der Tiere wurde von **320 auf 410 männliche Mastkücken** der Rasse Ross 308 erhöht.

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

*Vermeidung:* In dem Versuch werden in der Praxis übliche Mastkücken eingesetzt. Durch die Verwendung von marktüblichen Kücken mit bereits vorhandenen Erfahrungen aus früheren Fütterungsstudien vermeiden wir Stress während der Aufzucht und Haltung. Statistische Methoden erfordern eine Mindestzahl von zehn Tieren. Die artgerechte Haltung und Fütterung in Gruppen sind schmerzfrei und ohne Zwangsmaßnahmen an den Tieren durchführbar.

*Verminderung:* Durch die Reduktion der Tierzahl auf ein Minimum von 10 Tieren pro Gruppenvariante und durch das Versuchsdesign in den Fütterungsversuchen findet dieser Punkt volle Anwendung. Die Kücken erhalten in diesem Versuch Futterkomponenten die vom Geflügel weitgehend gut vertragen werden und der üblichen Praxis entsprechen.



**Verfeinerung:** Der Versuch wird in einem generalisanierten und modernen Tierstall und mit neuester Stalltechnik durchgeführt. Das Pflegepersonal ist qualifiziert und die Betreuung und Überwachung der Tiere durch ausgebildete Tierärztinnen/Tierärzte gewährleistet. Tierärztinnen/Tierärzte übernehmen ebenfalls die Eingriffe der oralen LPS/ Placebo-Verabreichung Tags vor und bei der Schlachtung, sowie die begleitenden Blutprobenahmen am Tier.

Die Haltung der Tiere in Kleingruppen in einem für die Gruppengröße angemessenen Stall mit ausreichender Belüftung, Beleuchtung und Abschirmung von äußeren Lärmeinflüssen trägt zum allgemeinen Wohlbefinden der Tiere während der Versuchsdauer bei. Regelmäßige Fütterung, ständige Verfügbarkeit von sauberem Trinkwasser, und die fachgerechte Betreuung und Entmistung gewährleisten die Einhaltung der physiologischen und hygienischen 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*

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

*zu erwartender Schaden für das Tier:* Im Rahmen des Projektes werden invasive Eingriffe in Narkose durchgeführt, die für die Tiere belastend sind, wobei Schmerzfreiheit zuverlässig hergestellt werden kann. In der Pilotstudie heilten die Extraktionswunden komplikationslos aus. Das Schaf war in seiner Nahrungsaufnahme nicht beeinträchtigt. In der Sekundäroperation konnten die dentalen Implantate inseriert werden. Die Wundheilung war ebenfalls problemlos.

*zu erwartender Nutzen:* Implantatversorgungen bieten gegenüber konventionellen prothetischen Versorgungen häufig eine deutlich bessere Lebensqualität. Konventionellen Versorgungen mit an Zähnen verankerten Teilprothesen führen häufig zum vorzeitigen Verlust der Ankerzähne. Schleimhautgetragene Totalprothesen haben vielfach Druckgeschwüre und häufig auch Fehlernährung durch mangelnde Kauleistung zur Folge. Mit der steigenden Zahl verwendeter Implantate nimmt auch die Anzahl behandlungsbedürftiger Krankheiten die bei Implantatträgern auftreten können. Es ist deshalb von hoher Priorität, verlässliche Techniken zu entwickeln um die Anzahl von Misserfolgen einer Implantattherapie beim Menschen möglichst weitgehend zu reduzieren.

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

**9 Schafe**

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

*Vermeidung:* Eine Vermeidung des beantragten Tierversuches ist nicht möglich, da der Knochenstoffwechsel ein systemischer Prozess ist und nicht z.B. in Zellkulturen nachgestellt werden kann. Da zur Beurteilung periimplantärer Regeneration eine Implantatinsertion in den Unterkiefer erfolgen soll, ist ein Großtiermodell erforderlich. Für die Spezies Schaf spricht die dem Menschen relativ ähnliche Knochenanatomie im Bereich des Unterkiefers.

*Verminderung:* Durch die exakt definierte Fragestellung wird angestrebt, den größtmöglichen Wissenszuwachs aus einer geringstmöglichen Anzahl an Versuchstieren zu gewinnen. Sollten sich statistisch eindeutige Ergebnisse bereits mit weniger als den geplanten Tierzahlen ergeben, wird die Anzahl der für das Versuchsprotokoll eingesetzten Tiere entsprechend reduziert werden. Da bisher keine Augmentationsversuche am Unterkiefer des Schafs beschrieben wurden, handelt es sich bei dem vorgesehenen Projekt gleichfalls um eine Studie zur Etablierung des entsprechenden Modells, weshalb zunächst an einer Pilotgruppe von 2 Tieren gearbeitet wird. Alle Verfahren sind theoretisch, sowie am Kadaver und analog am Menschen etabliert und werden ebenso bei Patienten eingesetzt

(Zahnextraktionen, Implantatinsertionen und Augmentationen mit autologem Knochen und/oder Knochenersatzmaterial in unterschiedlichen Techniken).

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

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

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

**Projektziel:** Das Ziel ist es aussagekräftige Ergebnisse über den Wirkungsort -und Mechanismus des in dieser Studie verwendeten Medikaments in Bezug auf den Stoffwechsel & Hormonhaushalt zu bekommen.

**zu erwartender Nutzen:** Ziel der beantragten Studie ist die Aufklärung der Wirkung von einem Medikament gegen Diabetes und Fettleibigkeit an zwei verschiedenen Applikationsorten. Bei der gegenwärtig praktizierten Verabreichungsform tritt sehr häufig Übelkeit auf. Neue Dosierungsschemata und Applikationsformen können die Nebenwirkungen vermindern und erhöhen damit die Anwenderakzeptanz.

**zu erwartender Schaden für die Tiere:** Die Implantation der Verabreichungspumpen erfolgt unter Anästhesie durch erfahrenes Personal. Die metabolischen und physiologischen Parameter der Tiere werden extensiv, nicht invasiv und automatisiert überwacht. Das Töten der Tiere wird ausschließlich von geschultem Personal durchgeführt. Versuche und Tötungen werden nicht in Gegenwart anderer wacher Tiere durchgeführt.

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

**130 männliche Sprague Dawley Ratten**

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

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

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

- weil die zu untersuchenden Parameter (Stoffwechsel, Kalorimetrie, Fress –und Trinkverhalten, Körpergewichtsänderungen) nur in vivo getestet werden können.
- in vitro Experimente nicht die Interaktion mit lebendem Gewebe nachstellen können.
- nur in vivo der Zusammenhang vom zentralen Nervensystem und der Peripherie des Körpers erforscht werden kann.
- nur im Tierversuch ein Experiment im Gehirn mit einem Wirkstoff in der vorliegenden Entwicklungsstufe ethisch zu rechtfertigen ist.

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

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

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

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

Auswirkungen extrakorporaler Stoßwellen auf gesundes und geschädigtes Skelettmuskelgewebe  
Die hochenergetische Stoßwellentherapie wurde im Jahr 1980 erstmals erfolgreich in der Urologie zur Zertrümmerung von Nierensteinen eingesetzt. In den darauffolgenden Jahren führten viele Studien und klinische Ansätze zu einer weiten Verbreitung der sogenannten niederenergetischen extrakorporalen Stoßwellentherapie (ESWT), unter anderem im Bereich der Orthopädie, Kardiologie, Urologie und Wundheilung. Trotz des breiten therapeutischen Einsatzgebietes extrakorporaler Stoßwellen (ESW) sind die ablaufenden Prozesse und Effekte auf zellulärer und molekularer Ebene nicht geklärt. Basierend auf Ergebnissen verschiedener Tierstudien scheinen ESW die Expression von bestimmten Signal- und Wachstumsfaktoren in mehreren Geweben, darunter Knochen, Knorpel und Herzmuskulatur, zu stimulieren. Dies kann zur Neubildung von Gefäßen im Gewebe führen, wodurch die Blutversorgung erheblich gesteigert wird. Zudem wird die Aktivierung und nachfolgende Differenzierung von Vorläufer- und Stammzellen angeregt. Außerdem zeigt die ESWT entzündungshemmende Wirkungen. Eine Reihe von Geweben und Organen wurde bereits mit ESW behandelt, wohingegen äußerst wenig Information zur Therapie von skelettmuskulären Dysfunktionen oder Schädigungen vorliegt. Skelettmuskelgewebe besitzt hochregenerative Eigenschaften und damit könnte die Beschallung von Muskelschädigungen mit ESW von großer Bedeutung sein. Nach einer Verletzung werden Stammzellen (Satellitenzellen) aktiviert und geschädigtes Muskelgewebe kann repariert und erneuert werden. Signalfaktoren, welche bei der Muskelregeneration eine Rolle spielen, werden bei Behandlung mit ESW in (geschädigtem) Knorpel und Knochengewebe verstärkt exprimiert. In dieser Studie soll nun zum einen untersucht werden, welche Auswirkungen die ESWT auf gesundes Skelettmuskelgewebe hat, zum anderen, welchen Einfluss ESW auf die Regeneration geschädigter Skelettmuskulatur haben.

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

Da komplexe, dynamische Vorgänge in Folge der ESWT zu erwarten sind, dessen authentische Repräsentation nur am gesamten Organismus durchführbar ist, wurden für das Projekt **136 Sprague Dawley Ratten** beantragt.

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

Die geringstmögliche Anzahl an benötigten Tieren, um ein aussagekräftiges Ergebnis zu erhalten, wurde durch statistische Verfahren berechnet. Um die Anzahl der Versuchstiere weiter zu vermindern, werden Teilversuche der Studie so geplant und nacheinander durchgeführt, dass gegebenenfalls auf einige der Versuchstiere verzichtet werden kann, sollten sich entsprechende Ergebnisse zeigen. Die Beschallungen werden am Oberschenkel durchgeführt. Durch mehrere Humanstudien belegt, verursacht die niederenergetische Therapie keine Schmerzen, sodass diese am Patienten ohne Narkose und/oder lokale Betäubung durchgeführt werden kann. Da jedoch das Festhalten und Fixieren der Tiere über die Dauer der Therapie einen höheren Stressfaktor darstellt, als die nicht invasive Betäubung durch ein Inhalationsanästhetikum, werden die Tiere narkotisiert. Um den Einfluss von ESW auf die Regeneration von Skelettmuskelgewebe beobachten zu können, wird unter Narkose mittels Cardiotoxin eine Schädigung im Oberschenkelmuskel der Ratten herbeigeführt. In der Regel ist der Oberschenkelmuskel nach zwei bis drei Wochen wieder vollständig regeneriert. Sollte erkennbares Leid, Schmerzen oder Verhaltensänderungen, die auf Leiden der Tiere hindeuten, auftreten, wird sofort reagiert und das Tier nach Absprache mit dem Veterinärmediziner vorzeitig unter Narkose euthanasiert. Wir erwarten, mit dieser Studie die Hintergründe und die genaue Wirkungsweise einer bereits angewandten Therapiemethode besser verstehen zu können, sodass die Therapie an die jeweilige Indikation anpasst und optimiert werden kann.

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

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

Das Tierversuchsprojekt beinhaltet drei eigenständige Projektziele über *in vitro* Experimente an isolierten Lungenzellen. Diese Zellen werden aus Rattenlungen gemäß Standardprotokollen isoliert. Zelllinien oder entsprechende Ersatzmodelle für primarkultivierte Zellen sind nicht vorhanden, und frisch entnommene Lungen zurzeit die einzige Möglichkeit, solche Primärkulturen anzulegen und zu analysieren. Es handelt sich somit um Akutversuche mit dem Zweck einer Organentnahme am narkotisierten Tier.

1) Die Entwicklung und die Evaluierung eines neuartigen, optisch-mikroskopischen *in vitro* Verfahrens zur Analyse der Feinstruktur und der Struktur/Funktionsbeziehungen von zellulär gespeichertem pulmonalem Surfactant und seinen biophysikalischen Eigenschaften, und zur Beurteilung von Störungen im Surfactantsystem durch beispielsweise Medikamente, Chemikalien und physikalische Einwirkungen.

*zu erwartender Nutzen:* Enorme Vereinfachung bisheriger und aufwändiger Messtechniken und damit gegebenenfalls neue Möglichkeiten in der experimentellen Diagnostik und der pharmakologischen Forschung sowie generell neue Erkenntnisse über Anreicherung und Ausscheidung diverser Chemikalien durch das Lungenepithel.

*zu erwartender Schaden:* Keiner zu erwarten.

2) Weitere Charakterisierung von intrazellulären Signalprozessen in epithelialen alveolären Typ 11 Zellen.

*zu erwartender Nutzen:* Zunächst rein zellbiologische Basisforschung mit jedoch zu erwartenden, neuen Erkenntnissen über die bis dato unbekannte Wirkung von Expektorantien und Mukolytika in der distalen Lunge.

*zu erwartender Schaden:* Keiner zu erwarten.

3) Entwicklung eines "lung-on-a-chip" *in vitro* Modells zur experimentellen Simulation einer Lungenalveole samt zugehöriger Blut-Luft-Schranke.

*zu erwartender Nutzen:* Die Entwicklung von organtypischen Zell- und Gewebemodellen gehört zu den state-of-the-art Ansätzen in der physiologischen und pharmakologischen Forschung und ist eine direkte und notwendige Weiterentwicklung der klassischen Zellkultur.

Verbesserte *in vitro* Modelle sind immer und in jeder Hinsicht von unschätzbarem Wert in Forschung und Entwicklung, und ein eventueller Schaden ist auch in diesem Projektziel nicht zu erwarten.

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

Für dieses Tierversuchsprojekt (3 Jahre Laufzeit) werden **210 Sprague-Dawley Ratten** beantragt.

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

Die im Tierversuchsprojekt formulierten Projektziele 1-3 zielen letztlich alle auf eine Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung von Tierversuchen (3R) ab.

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

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

Versuchstiere mit gezielten genetischen Veränderungen stellen wertvolle Modelle für die biomedizinische Forschung dar. Allerdings können manche genetische Veränderungen bereits ohne experimentelle Eingriffe Gesundheit und Wohlbefinden der Versuchstiere beeinträchtigen. Im gegenständlichen Projekt wird daher die Genehmigung für die Erhaltungszucht von **23 genetisch veränderten Mausstämmen** beantragt, die auf verschiedenen Gebieten der immunologischen Forschung Verwendung finden. Ziele des vorliegenden Projektes sind (i) die Erhaltung der Mausstämme über die Projektdauer von 5 Jahren sowie (ii) die systematische Untersuchung von Stämmen, für die noch keine gesicherten Daten vorliegen, auf mögliche Beeinträchtigungen in ihrem allgemeinen Erscheinungsbild, Gesundheitszustand und Verhalten. Die dazu erforderlichen Untersuchungen sind ausschließlich nicht-invasive Beobachtungen an Tieren in verschiedenen Lebensabschnitten und stellen keine zusätzliche Belastung dar. Der zu erwartende Nutzen besteht in einer von kompetentem Fachpersonal systematisch erhobenen und dokumentierten Untersuchung der möglichen Beeinträchtigungen dieser Tiere durch ihre spezifischen genetischen Veränderungen. Für diese Untersuchungen und die Erhaltung von **23 Mausstämmen** über einen Zeitraum von 5 Jahren wird insgesamt eine Anzahl von **8900 Mäusen** beantragt. Von diesen sind 2550 voraussichtlich nur durch die Gewebebiopsien für die Bestimmung der Genotypen belastet. Die restlichen Mäuse werden außerdem wegen des erhöhten Infektionsrisikos, das durch die genetischen Veränderungen verursacht werden kann als potentiell belastet eingestuft.

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

Für diese Untersuchungen und die Erhaltung von **23 Mausstämmen** über einen Zeitraum von 5 Jahren wird insgesamt eine Anzahl von **8900 Mäusen** beantragt.

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

Die Nutzer der Einrichtung werden durch das Tierschutzgremium der lokalen Einrichtung dahingehend beraten, keine Stämme zu erhalten, die in absehbarer Zeit nicht für wissenschaftliche Projekte benötigt werden. Nicht vermeidbare Erhaltungszuchten sollen auf das nötige Minimum an Individuen beiderlei Geschlechts beschränkt werden, und Nachfolgenerationen sollen in möglichst großen Zeitabständen gezüchtet werden, ohne jedoch den Verlust eines Stammes durch Überalterung zu riskieren. Für die Erhebung der durch die genetischen Veränderungen verursachten Belastungen müssen keine zusätzlichen Tiere gezüchtet und gehalten werden. Die hier beantragten Tiere werden soweit möglich in anderen wissenschaftlichen Projekten weiterverwendet werden.

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

### *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. Art und Anzahl der Tiere*

**Mäuse, insgesamt: 975**

### *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. 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 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*

Lipocaline spielen eine große Rolle bei der Immunmodulation, beim Eisentransport und zellulärem Überleben und sind daher bedeutend für den Ischämie/Reperfusionsschaden sowie akute Abstoßung bei der Organtransplantation. Ihr molekularer Wirkungsmechanismus im Hinblick auf mögliche Effekte auf intrazelluläre Signalwege im Rahmen dieser Prozesse ist nach wie vor unbekannt. Nachdem wir in Vorarbeiten bereits einen chemotaktischen Effekt von Lipocalin-2 auf infiltrierende neutrophile Granulozyten in einem Mäuseherztransplantationsmodell zeigen konnten, wollen wir nun die Rolle dieses Proteins während der akuten Abstoßung in einem experimentellen Nierentransplantationsmodell untersuchen. Zur weiteren Erforschung der hochkomplexen Mechanismen, die bei der Abstoßung und Transplantatverlust auftreten, stehen keine in vitro Versuchsmöglichkeiten zur Verfügung, so dass schließlich valide in vivo Abstoßungsmodelle hierfür benötigt werden. Bei insgesamt 293 Mäusen (C57BL/6 wildtype, n=116; C57BL/6 Lcn-2 <sup>-/-</sup>, n=51; BALB/c, n=126) soll in einem Zeitraum von 2 Jahren der Einfluss einer exogenen Gabe von rekombinantem Lipocalin-2 auf die Organabstoßung nach Nierentransplantation analysiert werden. Diese Studien sollen die Basis für eine mögliche therapeutische Anwendung von Lipocalin-2 oder dessen Inhibitor zur Eindämmung des Ischämie/Reperfusionsschadens und zur Früherkennung einer akuten Abstoßung bilden und dadurch für menschliche Transplantationspatienten eine bessere Behandlungsmethode und eine lange Überlebenszeit des transplantierten Organs ermöglichen. Die Belastung der einzelnen Versuchstiere ist als „mittel“ einzustufen.

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

Insgesamt **293 Mäuse**.

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

Die Projektleitung bestätigt, dass zur Erfüllung der „3R“ die Gruppengröße mit n=12 Transplantationen für eine statistische Aussagekraft ad minimum gehalten wurde. Zusätzliche Versuche, die mit einer Vergrößerung der Gesamtzahl der Versuchstiere einhergehen würden, wurden vermieden. Eine suffiziente Schmerztherapie während der Versuchsanordnung, ein in unserer Institution etabliertes OP Verfahren sowie ein unverzügliches Euthanasieren der Versuchstiere nach Organentnahme tragen zur Verfeinerung des Tierversuchs bei.

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

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

In dem vorgelegten Projekt wird die Erhöhung der Tierzahl eines genehmigten Antrages für die Erhaltungszucht von 10 gentechnisch veränderten Stämmen, einem Balb/c Wildtyp und einem Wildtyp-Allotyp (CD45.1), die der Erforschung des Immunsystems dienen, beantragt. Dabei gilt es, die Erhaltung der Mausstämmen über eine Projektdauer von 5 Jahren zu gewährleisten. Zusätzlich werden die gentechnisch veränderten Mausstämmen hinsichtlich ihres allgemeinen Erscheinungsbildes, Gesundheitszustandes und Verhalten untersucht, wobei es sich hier um nichtinvasive Beobachtungen handelt und daher keinerlei Belastungen für die Mäuse entstehen.

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

Für den Zeitraum von 5 Jahren wurde für diese Untersuchungen und die Erhaltung von 11 Mausstämmen eine Gesamtanzahl von 1.184 Mäusen genehmigt. Diese Zahl soll nun auf **2.184 erhöht** werden. Diese Zahl an Mäusen ist durch die Schwanzspitzenbiopsie belastet.

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

Diese Tierversuche sind nicht vermeidbar, noch kann die Anzahl der Tiere weiter reduziert werden. Stämme, die in absehbarer Zeit nicht für einen wissenschaftlichen Versuch verwendet werden, werden auf ein Minimum an Individuen beiderlei Geschlechts beschränkt, ohne den Verlust eines Stammes durch Überalterung zu riskieren.

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*

Für die im Tierversuchsgesetz 2012 (§ 19, Abs. 2) geforderte „Ausbildung, Sachkunde und laufende Schulung“ aller Personen, die Tierversuche durchführen, werden entsprechende Kurse durchgeführt. Auch Tierpflegerinnen müssen sich aus- und weiterbilden und benötigen somit auch entsprechende Fachkurse zum Erwerb einer solchen Sachkunde. Tierpflegerinnen mit hoher fachlicher Qualifikation stellen wichtige Mitarbeiterinnen bei Forschungsprojekten dar und tragen durch ihre Sachkunde zu den 3R's bei. Zum Erlernen und Üben von grundlegenden Handlingmethoden an Versuchstieren sind Aus- und Weiterbildungskurse erforderlich, in deren Verlauf neben theoretischen Kenntnissen auch praktischer Fertigkeiten angeeignet werden. Im Rahmen dieser Kurse erlernen die Teilnehmerinnen unter fachlicher Aufsicht und Überwachung in Kleingruppen von maximal 6-8 Personen den schonenden und verantwortungsvollen Umgang mit Versuchstieren.

*zu erwartender Nutzen:* Als Nutzen ist die Steigerung der Sachkunde und Kompetenz der Personen die Tierversuche durchführen und des Tierpflegepersonals anzuführen. Daraus resultieren ein schonender und verantwortungsvoller Umgang mit Versuchstieren im Rahmen von Projekten und ein wichtiger Beitrag zu einem praktizierten Tierschutz.

*zu erwartender Schaden:* Der Schaden für die Tiere in den Aus- und Weiterbildungskursen sind geringe Schmerzen (nur in Ausnahmefällen mittlere Schmerzen) durch die subkutanen, intramuskulären, intraperitonealen und intravenösen Injektionen (sterile 0,9% NaCl-Lösung oder Anästhetika) und oralen Applikationen und durch die Blutabnahmen. Die Tötung der Tiere erfolgt ausschließlich durch genehmigte Tötungsmethoden durch sachkundiges Personal gemäß § 7 Tierversuchsgesetz 2012.

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

Für einen Zeitraum von 5 Jahren werden maximal **1.700 Mäuse, 550 Ratten und 20 Kaninchen** beantragt, wobei diese Zahlen erfahrungsgemäß nicht erreicht werden.

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

*Verfeinerung:* es werden die grundlegenden Handlingmethoden geschult und geübt, und es werden an den Tieren keine aufwändigen und schwer belastenden Eingriffe durchgeführt.

*Verminderung:* die Anzahl der Tiere und der Grad der Belastungen werden so gering wie möglich gehalten. Die Kursleiterin/der Kursleiter achtet besonders darauf, dass die geringstmögliche Anzahl an Tieren zum Einsatz kommt.

*Verbesserung:* Durch entsprechende Anleitung und Aufsicht von erfahrenen Personen wird die Lernkurve stetig verbessert und führt schließlich zum Lernziel, nämlich der Beherrschung der geübten Handlingmethoden.

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 beantragten Tierversuche dienen der biologischen Beurteilung von Medizinprodukten. Sie werden nach den Normen der "International Standardisation Organisation (ISO)" insbesondere der ISO-Norm 10993-10:2010 und ISO 10993-6:2009 unter "Good Laboratory Practice (GLP) Bedingungen durchgeführt. Im Sinne des Tierschutzes wird auch entsprechend der ISO-Norm 109932:2006 gearbeitet.

**zu erwartender Schaden für die Tiere:** Die kleinen Implantate werden in die Muskulatur eingesetzt. Diese kleinen operativen Eingriffe erfolgen bei den Ratten in entsprechender tiefer Narkose. Nach 12 Wochen werden die Tiere schmerzlos getötet, die Proben sowie das umgebende Gewebe werden fachgerecht nachuntersucht. Die Belastung der Tiere ist nach der Operation als geringgradig einzustufen.

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

Zur Überprüfung der Probenmuster auf mögliche lokale Effekte nach Implantation nach ISO 10993 Teil 6 (ISO 10993-6) werden **zusätzlich maximal 30 Ratten** beantragt, um eine normgerechte Durchführung der Biokompatibilitätsprüfungen zu gewährleisten.

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

**Vermeidung:** Eine Vermeidung ist nicht möglich, da die Überprüfung von Medizinprodukten hinsichtlich einer möglichen schädlichen Wirkung nach dem Medizinproduktgesetz vor Marktfreigabe im Tierversuch erfolgen muss.

**Verminderung:** Eine Verminderung der Tierzahl erfolgt insofern, als im Prüfverfahren ein stufenweises Vorgehen vorgeschrieben ist:

- chemische Charakterisierung des Prüfmaterials nach ISO 10993-9/-13/-14/-15/-18
- Literaturstudie über Bewertung der chem. und physik. Eigenschaften und des Irritations- und Sensibilisierungspotentials aller Bestandteile
- In-vitro Prüfungen hinsichtlich der Toxizität der Prüfsubstanzen werden -entsprechend der ISO-Norm 10993-5 -vor der Prüfung im Tiermodell durchgeführt.
- In-vivo-Tierversuche
- Klinische Studien

**Verfeinerung:** Eine Verfeinerung wird durch das klinische Monitoring durch erfahrenes und zertifiziertes Personal mit definierten Abbruchkriterien erreicht. Die Haltung der für diese Prüfungen verwendeten Tiere erfolgt unter standardisierten Bedingungen.

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

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

Ziel einer Studie war die Verbesserung einer neuartigen intravasalen, chronischen Blutzuckermesstechnik. Mit diesen neuen Messsonden, welche innerhalb eines Blutgefäßes platziert werden, ist es möglich, auf der Intensivstation den Blutzuckerspiegel bei Patienten kontinuierlich zu messen und aufzuzeichnen. So kann auf Änderungen des Blutzuckerspiegels bei Intensivpatienten sofort reagiert werden, was für die Patienten einen entscheidenden Behandlungsvorteil bringt. Bei klinischen Tests der Messsonden an Patienten auf Intensivstationen, welche keine begleitende Infektion hatten, erbrachte die neue Messsonde eine exzellente Datenqualität. Bei Patienten auf Intensivstation, welche gleichzeitig eine Infektion hatten, waren die Messdaten jedoch von schlechter Qualität. Es wurde vermutet, dass bestimmte Proteine, welche im Rahmen eines Entzündungsgeschehens bei Infektionen gebildet werden, sich an der Membran der Messsonde anlegen und die Zuckeranteile der Entzündungsproteine die Messergebnisse verfälschen. Um dies zu verhindern wurden neue Sensormodelle mit veränderten Membran- und Messbestandteilen entwickelt. Die bisher an 9 Schweinen erfolgte Testung mit unterschiedlichen Sensoren, deren Membranen auf eine Weise modifiziert wurden, konnten mit Erfolg abgeschlossen werden. Die Störung der Messungen durch Entzündungsprodukte konnte vermindert werden. Während der Versuche hat sich herausgestellt, dass auch Sensoren, die aus dem Blutgefäß durch Umlagerung der Tiere versehentlich disloziert wurden und im Bindegewebe lagen, weiterhin gute Ergebnisse lieferten. Das eröffnet die Möglichkeiten ohne Gefäßzugang abseits des rund um die Uhr monitierten Intensivpatienten auch bei ansonsten gesunden Diabetespatienten die nötige genaue Überwachung des Blutzuckerspiegels im Tagesverlauf. In 6 weiteren Schweinen sollen nun jeweils 4 subkutane und 2 intravasale Sensoren unterschiedlicher Bauart zu Messungen der Änderungen des Blutzuckerspiegels vergleichend untersucht werden. An vollnarkotisierten Tieren werden Schwankungen der Blutzuckerwerte durch Glukose-Challenge oder Insulingabe über 48 Stunden getestet und mit labormäßig erhobenen Werten verglichen.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

**15 Schweine**

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

Die Studien am Tier werden unter standardisierten Bedingungen und Methoden durchgeführt, um die Streuung der Messergebnisse gering zu halten und somit die notwendige Anzahl der Tiere zu minimieren. Die Tiere werden über 48 Stunden in Vollnarkose gehalten und anschließend durch eine Überdosis ohne Erwachen eingeschläfert.

