

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

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

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

Im ersten Teil dieses Projektes haben wir erfolgreich den Einfluss von ABCC1 auf die Lungenverteilung eines Radiotracers namens 6-Brom-7-[11C]methylpurin ([11C]BMP) in wild-typ und ABCC1 knockout Ratten untersucht. Es ist uns gelungen, eine Methode zur inhalativen Verabreichung des Radiotracers als Aerosol zu etablieren. Wir fanden große Unterschiede zwischen wild-typ und ABCC1 knockout Ratten in der Verweildauer des Radiotracers nach Inhalation in der Lunge, was erstmals eine Rolle von ABCC1 in der Lungenverteilung von inhalierten ABCC1 Substraten untermauerte. In vorliegendem Projekt soll ein weiteres Transport Protein, das in der Lunge stark exprimiert ist, untersucht werden, nämlich ABCB1. Es sollen zwei verschiedene Radiotracer getestet werden, die von ABCB1 transportiert werden, nämlich (R)-[11C]Verapamil und [11C]N-Desmethyl-loperamid. Beide Radiotracer sind spezifisch für ABCB1 und werden nicht von ABCC1 und ABCG2 als Substrate erkannt. Es sollen zwei verschiedene Radiotracer untersucht werden, da nicht gesichert ist, ob die Lungenverteilung von jedem ABCB1 Substrat in gleichem Ausmaß von ABCB1 beeinflusst wird. Um die Rolle von ABCB1 in der

Verteilung der beiden Radiotracer in der Lunge untersuchen zu können, sollen zwei Strategien angewendet werden. Als erstes sollen Ratten verwendet werden, die gentechnisch so verändert wurden, dass sie kein ABCB1 ausbilden. Zweitens soll in wild-typ Ratten ABCB1 mit einem Hemmstoff blockiert werden. Um maximale ABCB1 Hemmung in der Lunge zu erzielen, werden zwei Dosen verabreicht: die erste Dosis intravenös 15 Minuten vor Start des PET Scans und die zweite Dosis direkt zusammen mit dem Radiotracer per Inhalation.

Besonders für Patienten die an Bronchitis leiden, deshalb zähen Schleim ausbilden, an Husten und Atemnot leiden, könnte die pulmonale Applikation von Medikamenten kontraindiziert sein. Der behandelnde Arzt wird zumeist auf orale Medikamente zurückgreifen, die aber ihren Wirkungsort, die Lunge, erreichen müssen. Deshalb soll auch abgeschätzt werden, welchen Einfluss ABCB1 auf die Verteilung in der Lunge hat, wenn (R)-[11C]Verapamil oder [11C]N-Desmethyl-loperamid über den Blutkreislauf zugeführt wird. Dieser soll mittels intravenöser Applikation von (R)-[11C]Verapamil oder [11C]N-Desmethyl-loperamid und PET-Scans untersucht werden. Außerdem soll der Metabolismus dieser beiden Radiotracer untersucht werden. Hierzu werden keine PET-Scans durchgeführt, sondern nach 20 minütiger Verteilung der Radiotracer werden die Tiere getötet und Proben gewonnen.

Zu erwartender Nutzen: Der zu erwartende Nutzen ist, einen tieferen Einblick darauf zu haben, wie ABCB1 die Pharmakokinetik von Medikamenten die über den Atmungstrakt verabreicht werden beeinflusst und wie ABCB1 eine Verteilung in der Lunge über andere Verabreichungswege steuert. Diese Erkenntnisse könnten zukünftig für die Therapie von diversen Erkrankungen der Lunge großen Einfluss haben.

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

## 2. Art und Anzahl der Tiere

160 Ratten

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

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

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

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

Rückblickende Bewertung: Eine rückblickende Bewertung ist nicht vorgesehen.

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

Endotoxine spielen beim Entzündungsgeschehen eine große Rolle, und können nicht nur Krankheiten auslösen, sondern auch das Wohlbefinden und die Leistung der Tiere beeinträchtigen. Obwohl Endotoxine in einer gewissen Konzentration immer im Darm vorkommen, verhindert eine intakte Darmbarriere deren Eintritt in den Blutkreislauf. Sobald die Darmbarriere durch Stresssituationen (z.B. Absetzphase, Futterumstellung, Hitzestress) geschädigt ist, können Toxine wie Endotoxine in den Blutkreislauf gelangen und eine systemische Entzündungsreaktion auslösen.

Einige Studien haben bereits die Entzündungsantwort mittels Administration von Lipopolysaccharid (LPS; chemische Verbindungen aus fettähnlichen und Zucker-Bestandteilen, welche in der äußeren Membran von gramnegativer Bakterien vorkommen und als Antigene wirken) untersucht und konnten die negativen Effekte von LPS evaluieren. Es gibt jedoch wenige Studien, die sich mit der Darmdurchgängigkeit von Endotoxinen beschäftigen und untersuchen wie man der Durchgängigkeit und der systemischen Entzündungsreaktion entgegenwirken kann. In diesem Projekt wird ein zuvor getestetes Modell (orale Verabreichung von Öl und LPS) verwendet, um den Eintritt von Endotoxinen über die Darmbarriere in den Blutkreislauf nachzustellen.

Ziel des Versuches ist es zu evaluieren, ob die Fütterung einer neuen Testsubstanz über den Zeitraum von zwei Wochen den negativen Auswirkungen (z.B. erhöhte Endotoxinkonzentration im Blut, veränderte Leberparameter) einer einmaligen Gabe von Öl und LPS entgegenwirken kann. Des Weiteren wird die Wirkung bzw. Aktivität der Testsubstanz in den unterschiedlichen Darmabschnitten evaluiert.

zu erwartender Nutzen: Die Testsubstanz soll den negativen Auswirkungen (z.B. erhöhte Endotoxinkonzentration im Blut, veränderte Leberparameter) einer Darmdurchgängigkeit von Endotoxinen entgegenwirken und somit dazu beitragen, die Gesundheit, das Wohlbefinden und die Leistung der Tiere zu verbessern.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Basierend auf Literaturdaten und Erfahrungswerten sind bei der gewählten Exposition keine klinischen Symptome bei diesem Tierversuch zu erwarten.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

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

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

**Vermeidung:** Die Beantwortung der Fragestellung in diesem Projekt ist nur am intakten Organismus möglich, da sowohl Blut-, Kot-, Gewebe- und Darminhaltsproben analysiert werden sollen, um den Effekt und Wirkungsmechanismus der Testsubstanz zu untersuchen. Es kann daher nicht auf eine Ersatz- bzw. Ergänzungsstudie ausgewichen werden.

**Verminderung:** Es wird die geringstmögliche Anzahl an Tieren ( $n = 8$  in 3 Gruppen und  $n = 10$  in einer weiteren Gruppe) verwendet, um ein aussagekräftiges und statistisch auswertbares Ergebnis zu erzielen.

**Verfeinerung:** Die Tiere werden von Tag 0 bis Tag 20 in Buchten gehalten (2 Tiere/2,25 m<sup>2</sup> Bucht). Die Tiere werden an den Tagen 0, 5, 12 und 19 bzw. 20 gewogen. An den Tagen 5, 12 und 19 bzw. 20 werden zusätzlich Blut- und Kotproben gesammelt. Am Ende des Versuchs (Tag 19 und 20) werden alle 34 Tiere 4 Stunden nach Gabe der Testsubstanzen über das Futter für die Probennahmen stress- und schmerzlos euthanasiert. Die Tiere können sich in den Buchten frei bewegen und haben ständig freien Zugang zu Wasser. Das gruppenspezifische Futter (entsprechend altersbezogener Energie- und Nährstoffkonzentration) wird in zwei Mahlzeiten pro Tag frisch vorgelegt. Die Tiere werden von geschultem Personal sorgfältig betreut und tierärztlich überwacht. Sollten die Tiere Anzeichen von Schmerzen zeigen oder in irgendeiner Weise beeinträchtigt sein, werden sie vom Versuch ausgeschlossen und tierärztlich versorgt.

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

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

Ziel der Studie: In dieser Studie soll die Effizienz eines NLRP3-Inflammasom Inhibitors in einem induzierten Mausmodell für Neuroinflammation untersucht werden. Dabei werden die Tiere einmalig intraperitoneal mit der Testsubstanz oder Vehikel behandelt und erhalten eine Stunde später eine einmalige intrahippocampale Injektion von Lipopolysacchariden oder Vehikel. Anschließend werden die Tiere zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach der Behandlung zur Gewebeentnahme euthanasiert und ihr Gehirn auf Neuroinflammation untersucht. Es wird erwartet, dass die Entzündungsreaktion durch die Testsubstanz reduziert wird.

Schaden und Nutzenabklärung: Die Lieferung der Tiere kann geringen Stress, aber weder Schmerz noch Leid auslösen. Die intracerebrale Injektion wird unter Vollnarkose durchgeführt und kann postoperativ zu mittelgradigem Stress, geringen Schmerzen, aber zu keinem Leid führen. Nach der Operation müssen die Tiere einzeln gehalten werden. Das erzeugt bei den Tieren geringen Stress, aber keine Schmerzen oder Leid. Da die Tiere bereits nach spätestens 8 Stunden zur Gewebeentnahme euthanasiert werden, ist diese Zeitspanne des Weiteren nur sehr kurz. Durch die lokale Applikation von LPS und die kurze Zeitspanne bis zur Gewebeentnahme werden keine schweren Nebenwirkungen erwartet. Es wird ebenfalls nicht erwartet, dass die Testsubstanz zu Nebenwirkungen führt, diese können allerdings nie mit Sicherheit ausgeschlossen werden. Sowohl die subkutane Injektion des Analgetikums als auch die intraperitoneale Injektion der Testsubstanz und die intraperitoneale Applikation der finalen Narkose bedeuten für die Tiere kurzzeitig geringen Stress und Schmerz, aber kein Leid. Da die Entzündungskaskaden unterschiedlicher neurodegenerativen Erkrankungen wie z.B. Morbus Alzheimer und Adrenoleukodystrophie, die Aktivierung von NLRP3-Inflammasomen beinhalten, stellt die Testsubstanz eine potenzielle Therapiemöglichkeit der Neuroinflammation im Rahmen dieser Erkrankungen dar. Dieses Projekt ist somit ein wichtiger Schritt in der Entwicklung dieser potenziellen zukünftigen Behandlungsmöglichkeit.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie werden insgesamt 80 C57BL/6JRj Mäuse beider Geschlechter beantragt.

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

Replace: Um neue Medikamente gegen Neuroinflammation 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. Um auch in Zukunft qualitativ hochwertige Daten zu generieren und die Belastung für die Tiere so gering wie möglich zu halten, ist es notwendig die verwendeten Modelle immer weiter zu verbessern. Durch die Etablierung neuer induzierter Tiermodelle kann die Anzahl genetisch veränderter Tiere reduziert werden. Die Belastung der Tiere kann somit auf ein zeitliches Mindestmaß beschränkt werden.

Reduce: In dieser Studie sollen pro Gruppe 10 Tiere verwendet werden. Diese Gruppengröße ist notwendig um ausreichend Gewebe für die histologischen und biochemischen Analysen zur Verfügung zu haben. Nur so können wissenschaftlich signifikante Ergebnisse erzielt werden.

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

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

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

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

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

Ziel der Studie: Das Ziel dieser Studie ist es, ein induziertes Lipopolysaccharid/Adenosintriphosphat (LPS/ATP) Modell der akuten Peritonitis zu etablieren, um damit in einer Folgestudie unterschiedliche neue small molecule Inhibitoren der NLRP3-Inflammasome auf ihre Wirksamkeit als Antiphlogistika zu testen. Dazu werden die Tiere zuerst mit LPS und im Anschluss mit ATP intraperitoneal behandelt. Anschließend werden die Tiere zur Gewebeentnahme euthanasiert, um Zytokinkonzentrationen bestimmen zu können. In diesem Projekt soll das beste Behandlungsregime ermittelt werden, um eine optimale Zytokinantwort zu induzieren. Es wird erwartet, dass zumindest eines der Regime zu einer stabilen und gut vorhersehbaren Zytokinausschüttung führt, und somit ein replizierbares Modell gefunden werden kann.

Schaden und Nutzenabklärung: Die Lieferung der Tiere kann geringen Stress, aber weder Schmerz noch Leid auslösen. Die zweimalige intraperitoneale Injektion selbst erzeugt bei den Tieren kurzzeitig geringen Stress und Schmerz aber kein Leid. Da die Tiere bereits 2,5 Stunden nach der LPS Injektion euthanasiert werden, wird davon ausgegangen, dass es zu keiner schweren Belastung der Tiere kommt. Es wird erwartet, dass diese Behandlung höchstens mittelgradige Schmerzen und Stress auslöst, aber kein Leid. Nach der Applikation von ATP werden die Tiere nach einer Dauer von 30 Minuten euthanasiert. Daher wird auch hierbei von keiner schweren Belastung der Tiere ausgegangen. Es wird erwartet, dass die ATP Injektion nur in Kombination mit LPS höchstens zu mittelgradigen Schmerzen und Stress führt, jedoch zu keinem Leid. Bei den Tieren, denen bei beiden Injektionen nur Vehikel verabreicht wird, entfällt diese Belastung. Die Blutabnahme erzeugt bei den Tieren kurzzeitig geringen Stress und Schmerz, aber kein Leid. Während der CO<sub>2</sub>-Inhalations-Euthanasie erfahren die Tiere kurzzeitig geringen Stress, aber weder Schmerz noch Leid. Durch dieses Projekt soll ein Behandlungsregime gefunden werden, dass zu einer stabilen, gut vorhersehbaren und replizierbaren Zytokinausschüttung führt. Dadurch soll es möglich sein, dieses Modell in einer zukünftigen Studie zur Austestung neuer NLRP3-Inflammasom Inhibitoren verwenden zu können, um deren Wirksamkeit mit anderen Inhibitoren vergleichen zu können.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie werden insgesamt 81 männliche BALB/cOlaHsd Mäuse beantragt.

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

**Replace:** Um neue Medikamente gegen diverse entzündliche Erkrankungen 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. Um auch in Zukunft qualitativ hochwertige Daten zu generieren und die Belastung für die Tiere so gering wie möglich zu halten, ist es notwendig die verwendeten Modelle immer weiter zu verbessern. Durch die Etablierung neuer induzierter Tiermodelle kann die Anzahl genetisch veränderter Tiere reduziert werden. Die Belastung der Tiere kann somit auf ein zeitliches Mindestmaß beschränkt werden.

**Reduce:** In dieser Studie sollen pro Gruppe 9 Tiere verwendet werden. Diese Gruppengröße stellt die maximal verwendete Größe dar, da Ersatztiere mit einberechnet wurden, falls die Schwankungen zwischen den Tieren zu hoch wären um statistisch signifikante Unterschiede zu erhalten.

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

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

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

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

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

Ziel der Studie: In dieser Studie soll ein induziertes Mausmodell der Adrenoleukodystrophie (X-ALD) etabliert werden. Dabei erhalten die Tiere eine einmalige intracerebrale Injektion von 25-Hydroxycholesterol. Anschließend werden die Tiere auf potenzielle klinische Beeinträchtigungen untersucht, die auf die Injektion zurückzuführen sind. Zusätzlich wird das Gehirn der Tiere auf Neuroinflammation untersucht. Es wird erwartet, dass eine Entzündungsreaktion ausgelöst wird, die auf derselben Entzündungskaskade beruht wie bei X-ALD.

Schaden und Nutzenabklärung: Durch die Lieferung kommt es für die Tiere zu geringen Stress, aber weder zu Schmerz noch zu Leid. Die subkutane Injektion des Analgetikums und die intraperitonealen Injektionen der finalen Narkose erzeugen kurzzeitig geringen Stress und Schmerz, aber kein Leid. Die intracerebrale Injektion wird unter Vollnarkose durchgeführt und kann postoperativ zu mittelgradigem Stress, geringen Schmerzen, aber zu keinem Leid führen. Nach der Operation müssen die Tiere einzeln gehalten werden. Das erzeugt bei den Tieren geringen Stress, aber keine Schmerzen oder Leid. Da die Tiere bereits nach 3 Tagen zur Gewebeentnahme euthanasiert werden, ist diese Zeitspanne des Weiteren nur kurz.

Nebenwirkungen durch 25-Hydroxycholesterol können nie mit Sicherheit ausgeschlossen werden. Um die Belastung so gut wie möglich zu reduzieren, werden die Tiere allerdings engmaschig auf mögliche klinisch sichtbare Beeinträchtigungen untersucht. Bei den Tieren die nur Vehikel injiziert bekommen, entfällt diese Belastung. Durch die Etablierung dieses induzierten Tiermodells wird eine Möglichkeit geschaffen neue Therapien gegen die Adrenoleukodystrophie zu entwickeln. Dieses Projekt ist somit ein wichtiger Schritt um auch in Zukunft qualitativ hochwertige Forschung zu betreiben und die Anzahl von genetisch veränderten Tieren zu reduzieren.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie werden insgesamt 32 C57BL/6JRj Mäuse beiden Geschlechts beantragt.

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

Replace: Um neue Medikamente gegen die Adrenoleukodystrophie 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. Um auch in Zukunft qualitativ hochwertige

Daten zu generieren und die Belastung für die Tiere so gering wie möglich zu halten, ist es notwendig die verwendeten Modelle immer weiter zu verbessern. Durch die Etablierung neuer induzierter Tiermodelle kann die Anzahl genetisch veränderter Tiere reduziert werden. Die Belastung der Tiere kann somit auf ein zeitliches Mindestmaß beschränkt werden.

Reduce: In dieser Studie sollen pro Gruppe 16 Tiere verwendet werden. Diese Gruppengröße ist notwendig um das Tiermodell optimal zu etablieren. Nur so kann gewährleistet werden, dass die Belastung der Tiere in zukünftigen Versuchen so gut wie möglich reduziert wird.

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

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

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

Eine rückblickende Bewertung dieses Projektes ist bis längstens 30.06.2022 vorgesehen.

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

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

Mykotoxine sind sekundäre Stoffwechselprodukte von zahlreichen Gattungen der Fusarium Schimmelpilze, welche weltweit in Getreide und Tierfutter natürlich auftreten. Mykotoxine wirken bei Mensch und Tier toxisch. Die Effekte von Mykotoxinen auf die Gesundheit und Produktivität von Tieren sind vor allem für Schweine- und Geflügelproduzenten von beträchtlichem Interesse. Innerhalb der Fusarium Toxine sind Fumonisine (FUM) häufige Pilzkontaminationen von Mais und anderen Getreidearten, und deren häufigster Vertreter ist Fumonisin B1 (FB1). Untersuchungen zeigten, dass bereits zwischen 55 und 65 % des weltweiten Futters und Mischfutters mit FUM kontaminiert sind. Da chemische und physikalische Entgiftungsmethoden von Fumonisin im Futtermittel im Großmaßstab nach wie vor unzureichend sind, ist die biologische Entgiftung in Form von Enzymen eine vielversprechende Alternative.

zu erwartender Nutzen: Das Enzym soll im Zuge der Nahrungs- bzw. Wasseraufnahme zur Detoxifikation des Mykotoxins FUM führen und somit die Belastung der Tiere reduzieren. Diese Studie untersucht, ob die Verabreichung einer neuen Enzymformulierung über das Trinkwasser zu einer Entgiftung von Fumonisin im Verdauungstrakt von Schweinen führt.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Aufgrund des Studiendesigns und der Haltungsbedingungen sind keine Krankheitserscheinungen zu erwarten. Die Blutprobennahme an drei Zeitpunkten während des Projektes (zu Beginn, in der Mitte und am Ende des Versuchs) stellt jedoch eine kurzfristige, geringe Belastung der Tiere dar.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

24 Ö-HYB Absatzferkel (gemischtgeschlechtlich)

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

Vermeidung: Die Beantwortung der Fragestellung in diesem Projekt ist nur am intakten Organismus möglich. Da neben den Performanceparametern, sowohl Blutproben als auch Kotproben analysiert werden sollen, um die Wirkung des Enzyms im intakten Organismus zu untersuchen, ist dies nicht basierend auf einer in vitro Studie möglich. Es kann nicht auf eine Ersatz- bzw. Ergänzungsstudie ausgewichen werden.

Verminderung: Es wird die geringstmögliche Anzahl an Tieren ( $n = 8$  pro Gruppe) verwendet, um ein aussagekräftiges und statistisch auswertbares Ergebnis zu erhalten. Die tierindividuelle Beprobung erlaubt einen geringeren Einsatz von Tieren verglichen mit der Generierung von Proben aus einer Gruppe mit Wiederholungen.

Verfeinerung: Die Tiere werden während der Versuchsdauer (25 Tage) zu zweit in Stoffwechselläufigen gehalten. Die Tiere können sich in den Stoffwechselläufigen frei bewegen, haben freien Zugang zu Wasser und werden 2-mal täglich (morgens und abends) mit frischem, gruppenspezifischem Futter versorgt. Sie werden von geschulten Personen sorgfältig betreut und tierärztlich überwacht. Sollten die Tiere Anzeichen von Schmerzen zeigen oder in irgendeiner Weise beeinträchtigt sein, werden sie vom Versuch ausgeschlossen und tierärztlich versorgt. Während des Projektes wird großer Wert daraufgelegt, Stress und Schmerz der Ferkel so gering wie möglich zu halten.

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

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

Ziel der Studie: Für diese Studie wird 4L/PS-NA Tieren beiden Geschlechts sowie Geschwistertieren beiden Geschlechts mit einem Alter von ca. 4 Wochen einmalig das in einem viralen Vektor enthaltene GBA1 Gen oder Vehikel injiziert. Nach einer entsprechenden Inkubationszeit werden die Tiere auf motorische Defizite getestet. Zusätzlich werden am Ende der Studie unterschiedliche Gewebe sowohl biochemisch als auch histologisch auf die typischen Pathologien der Gaucher Krankheit analysiert.

Schaden und Nutzenabklärung: Homozygote 4L/PS-NA Mäuse weisen laut Literatur einen starken motorischen Phänotyp auf, der progressiv verläuft. Tiere werden im Schnitt 22 Wochen alt. Da der Phänotyp jedoch sehr robust ist und es nur zu wenigen Unterschieden im zeitlichen Verlauf der Progression kommt, ist der Verlauf der Krankheit bei den Tieren sehr gut vorhersehbar. Die Tiere weisen ab einem Alter von ca. 12 Wochen erste schwache motorische Defizite auf. Da die hier verwendeten Tiere mit einem Alter von 18 Wochen euthanasiert werden, entwickeln sie im Laufe der Studie voraussichtlich einen mittelgradigen bis schweren Phänotyp. Bei den Geschwistertieren der Kontrollgruppe entfällt diese Belastung. Die intracerebroventrikuläre Injektion kann zu mittelgradigen Stress und Schmerz führen, aber zu keinem Leid. Nach der Operation müssen die Tiere einzeln gehalten werden, was geringen Stress aber weder Schmerz noch Leid auslösen kann. Ein Auftreten von schweren Nebenwirkungen durch die Substanzen ist unwahrscheinlich. Nebenwirkungen können allerdings nie mit Sicherheit ausgeschlossen werden. Der Wire Suspension Test, Beam Walk Test und RotaRod Test erzeugen bei den Tieren keine Schmerzen oder Leid. Bei motorisch nicht-defizienten Tieren stellen diese Tests nur geringen Stress dar. Bei motorisch defizienten Mäusen kann der Stresspegel jedoch leicht steigen. Sowohl die präoperative subkutane Injektion zur Analgesie als auch die intraperitoneale Injektion zur finalen Narkose erzeugen kurzzeitig geringen Schmerz und Stress, aber kein Leid. Es wird erwartet, dass durch diese Therapie die Symptome und pathologischen Veränderungen vermindert oder sogar verhindert werden. Dieses Projekt stellt somit einen wichtigen Schritt zur Weiterentwicklung dieses Therapieansatzes dar, um schlussendlich Patienten der Gaucher Krankheit zugutekommen zu können.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie werden insgesamt 70 homozygote 4L/PS-NA Mäuse und 14 Geschwistertiere beantragt.

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

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

**Reduce:** In dieser Studie sollen 14 Tiere pro Gruppe verwendet werden. Diese Gruppengröße wurde mittels Power Analyse historischer Daten festgestellt.

**Refine: Stressminimierung:** An dieser Stelle soll ausdrücklich festgehalten werden, dass der Tierversuch unter Vermeidung aller mit dem Versuchszweck nicht notwendig verbundenen Belastungen durchgeführt wird. Die Tiere werden bereits vor Beginn der Studie durch so genanntes „Handling“ mit den involvierten Personen bzw. mit den jeweiligen Versuchsapparaten vertraut gemacht, um unerwünschte, stressbedingte, falschpositive bzw. falschnegative Ergebnisse zu vermeiden. Des Weiteren werden sie bereits eine Stunde vor der Operation und vor jedem Verhaltensversuch in die entsprechenden Räume gebracht um zusätzlichen Stress zu vermeiden.

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

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

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

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

Ziel: Das Ziel dieser Studie ist die Untersuchung der Verteilung transfizierter endothelialer Precursorzellen, welche nach der Injektion in ein Mausmodell der Alzheimer Krankheit Antikörper gegen A $\beta$ -Oligomere produzieren. Des Weiteren wird ihre Wirkung auf A $\beta$ -Level im Gehirn untersucht. Dazu wird ein Tiermodell der Alzheimer Krankheit einmalig mit den Zellen behandelt und anschließend unterschiedliche Gewebe sowohl biochemisch als auch histologisch analysiert. Es wird erwartet, dass die applizierten Zellen in die Gefäßwände neuronaler Blutgefäße integriert werden. Durch die von ihnen produzierten Antikörper wird weiterhin eine Reduktion von A $\beta$  erwartet. Da die Antikörper selektiv gegen A $\beta$ -Oligomere gerichtet sind, wird des Weiteren erwartet, dass sie nur daran binden und dieselbe Verteilung im Gehirn aufweisen wie A $\beta$ . Durch diese Studie wird es möglich sein die Entwicklung dieser potenziellen zukünftigen Therapiemöglichkeit zu fördern um damit schlussendlich Patienten mit Morbus Alzheimer behandeln zu können.

Schaden und Nutzenabklärung: Die einmalige intravenöse Infusion wird beim anästhesierten Tier durchgeführt. Da diese Applikationsart nur minimal invasiv ist, erzeugt sie bei den Tieren nur geringen Stress und Schmerz, aber kein Leid. Es wird nicht erwartet, dass die Substanzen Nebenwirkung auslösen. Solche können allerdings nie mit Sicherheit ausgeschlossen werden. Bei den Tieren der Vehikelgruppe entfällt diese Belastung. Die intraperitoneale Injektion zur finalen Narkose erzeugt bei den Tieren nur kurzzeitig leichten Stress und Schmerz aber kein Leid, da die Tiere sehr schnell das Bewusstsein verlieren. Durch diese Studie wird es möglich sein die Entwicklung dieser potenziellen zukünftigen Therapiemöglichkeit zu fördern um damit schlussendlich Patienten mit Morbus Alzheimer behandeln zu können.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie werden insgesamt 42 transgene APPSL Mäuse beiden Geschlechts beantragt.

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

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

Reduce: In dieser Studie sollen pro Gruppe 6 Tiere verwendet werden. Diese Gruppengröße wurde durch die geplanten Gewebeanalysen bestimmt und ist für Studien dieser Art üblich.

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

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

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

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

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

Zu erwartender Nutzen: Krebserkrankungen zählen zu den häufigsten Todesursachen weltweit und stellen eine signifikante Belastung für das Gesundheitssystem dar. Neue Behandlungsmöglichkeiten werden dringend benötigt. Das Projektziel des vorliegenden Tierversuchs ist die Etablierung, Charakterisierung und Stabilisierung verschiedener Tumormodelle, auch in Kombination mit Immunmodulatoren, in Mäusen. Diese werden zukünftig herangezogen, um neuartige Tumortherapien zu testen. Das humane, klinische Bild dieser Erkrankungen kann wesentlich durch die Verwendung vernünftig aufgesetzter Tiermodelle, welche in weiterer Folge die Entwicklung neuartiger Therapeutika erst ermöglichen, repliziert werden. Aus diesem Grund liegt der zu bemessende Schaden der Tiere wesentlich unter dem zu erwartenden Nutzen der zu ermittelnden Versuchsergebnisse, sowie dem Wohl der Patienten.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Bei den geplanten Experimenten ist die voraussichtliche Belastung der Versuchstiere, unter Berücksichtigung der Fachliteratur als auch basierend auf Anhang VIII, Abschnitt III, Abs. 1, lit. d ad Richtlinie 2010/63/EU i.d.g.F., als „mittel“ zu bemessen.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

In der beantragten Studienzeit von 5 Jahren werden maximal 71.280 Mäuse (*Mus musculus*) eingesetzt. Alle Versuche werden in Wildtyp-Tieren, aus akkreditierten Zuchteinrichtungen durchgeführt, deren Alter bei Versuchsbeginn mindestens der 5. Lebenswoche entspricht.

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

Die geplanten Versuche konnten aufgrund der in der Literatur publizierten Daten und Methoden aus vorangegangenen Tierversuchen, sowie Erkenntnissen zur statistischen Auswertbarkeit und Vergleichbarkeit der Versuche, auf ein notwendiges Minimum an einzusetzenden Versuchstieren reduziert werden. Im Rahmen dieser Versuche wird allen Anforderungen Rechnung getragen, die zur Vermeidung, Verminderung sowie Verfeinerung der Tiermodelle beitragen.

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

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

Ein Wasserrad wurde mit dem Ziel adaptiert zu gewährleisten, dass Fische während der Passage durch dieses Rad keine Verletzungen erleiden. Mit dem Versuch sollen allfällige Schädigungen an Fischen unterschiedlicher Größen während der Passage durch das Rad evaluiert werden.

zu erwartender Nutzen: Durch den Versuch können Schlüsse gezogen werden, ob bzw. für welche Fischarten der Betrieb des Wasserrads ungefährlich ist. Die dadurch gewonnenen Erkenntnisse sind hochrelevant für bestehende und künftig erforderliche Turbinenanlagen, bei denen die Wasserräder in gleicher Weise adaptiert werden können.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Schwerwiegende Verletzungen bis hin zur Mortalität der eingesetzten Fische sind unwahrscheinlich, es können lediglich Schätzungen aufgrund der Größe der Fische herangezogen werden. Bei vorsichtiger Schätzung wird bei den größeren Fischarten die Überlebensrate bei den juvenilen Tieren auf 90 – 100%, bei den adulten Tieren auf 80 – 100% geschätzt. Bei den bodenorientierten Kleinfischarten wird die Überlebensrate der im Versuch verwendeten Tiere auf 100% geschätzt.

2. Art und Anzahl der Tiere

max. 540 Fische

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

Vermeidung: Dass der spezielle Turbinentyp alle Typen der Wildfischfauna ungehindert passieren lässt, lässt sich nur durch Wildfische im Betrieb des Wasserrads erproben, nachdem zuvor bereits erfolgreiche Laborversuche durchgeführt worden sind.

Verminderung: Um die Anzahl der verwendeten Tiere zu reduzieren wurde der Versuch sorgfältig und vorrausschauend geplant, um die geringstmögliche Anzahl der im Gewässer vorkommenden Fischarten zu verwenden und dennoch aussagekräftige Ergebnisse mit statistischer Signifikanz zu erhalten. Zukünftige Studien können anhand der gewonnenen Ergebnisse die Fischzahlen optimieren und gegebenenfalls auf gewisse Altersstadien komplett verzichten.

Verfeinerung: Der Versuch wird nur von erfahrenem und geschultem Personal durchgeführt. Allfällige Komplikationen werden dokumentiert und im fächerübergreifenden Arbeitsteam behandelt und notwendige Adaptierungen vorgenommen.

Ergänzende Angaben: Das Projekt unterliegt keiner rückblickenden Bewertung.

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

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

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

Der zu erwartende Nutzen liegt in der praxistauglichen Aneignung der Fertigkeiten zur Insemination weiblicher Rinder des eigenen Bestandes durch den Tierhalter/die Tierhalterin.

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

2. Art und Anzahl der Tiere

Art: Rind, Kühe - Anzahl: 24 je Kurs

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

Vermeidung: Trotz eingehender Demonstration der Technik zunächst anhand von Bildmaterialien, sowie dem oben beschriebenen Übungsmodell und danach an Schlachtpräparaten, ist eine praxis- und tierschutzkonforme Ausbildung nur an lebenden Rindern erlernbar, eine grundsätzliche Vermeidung des Tierversuches ist daher nicht möglich.

Verminderung: Generell werden vom Verwender immer mindestens die doppelte Anzahl von Übungstieren als Kursteilnehmer/Kursteilnehmerinnen bereitgestellt (Verhältnis 2:1). Somit müssen zwar mehr Übungstiere zur Verfügung stehen, es wird jedoch immer nur an der Hälfte der Tiere (12 Rinder) geübt. Dadurch wird sichergestellt, dass einer Tiergruppe immer eine Woche zur Regeneration zur Verfügung steht und die Belastung für das Einzeltier durch diese Maßnahme letztendlich auf ein minimales und akzeptables Maß reduziert werden kann. Auf die

Verminderung der Belastung der einzelnen Tiere durch die bereits mehrmals genannten Maßnahmen (Übungsmodell, Schlachtpräparate) sei nochmals explizit hingewiesen.

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

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

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

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

Der zu erwartende Nutzen liegt in der praxistauglichen Aneignung der Fertigkeiten zur Insemination weiblicher Rinder des eigenen Bestandes durch den Tierhalter/die Tierhalterin.

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

2. Art und Anzahl der Tiere

Art: Rind, Kühe Anzahl: 20 weibliche Rinder (genehmigt waren 24 Tiere)

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

Vermeidung: Trotz eingehender Demonstration der Technik zunächst anhand von Bildmaterialien, sowie dem oben beschriebenen Übungsmodell und danach an Schlachtpräparaten, ist eine praxis- und tierschutzkonforme Ausbildung nur an lebenden Rindern erlernbar, eine grundsätzliche Vermeidung des Tierversuches ist daher nicht möglich.

Verminderung: Generell werden vom Verwender immer mindestens die doppelte Anzahl von Übungstieren als Kursteilnehmer/Kursteilnehmerinnen bereitgestellt (Verhältnis 2:1). Somit müssen zwar mehr Übungstiere zur Verfügung stehen, es wird jedoch immer nur an der Hälfte der Tiere (12 Rinder) geübt. Dadurch wird sichergestellt, dass einer Tiergruppe immer eine Woche zur Regeneration zur Verfügung steht und die Belastung für das Einzeltier durch diese Maßnahme letztendlich auf ein minimales und akzeptables Maß reduziert werden kann. Auf die

Verminderung der Belastung der einzelnen Tiere durch die bereits mehrmals genannten Maßnahmen (Übungsmodell, Schlachtpräparate) sei nochmals explizit hingewiesen.

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

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

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

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

Der zu erwartende Nutzen liegt in der praxistauglichen Aneignung der Fertigkeiten zur Insemination weiblicher Rinder des eigenen Bestandes durch den Tierhalter/die Tierhalterin.

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

2. Art und Anzahl der Tiere

Art: Rind, Kühe - Anzahl: 24 je Kurs

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

Vermeidung: Trotz eingehender Demonstration der Technik zunächst anhand von Bildmaterialien, sowie dem oben beschriebenen Übungsmodell und danach an Schlachtpräparaten, ist eine praxis- und tierschutzkonforme Ausbildung nur an lebenden Rindern erlernbar, eine grundsätzliche Vermeidung des Tierversuches ist daher nicht möglich.

Verminderung: Generell werden vom Verwender immer mindestens die doppelte Anzahl von Übungstieren als Kursteilnehmer/Kursteilnehmerinnen bereitgestellt (Verhältnis 2:1). Somit müssen zwar mehr Übungstiere zur Verfügung stehen, es wird jedoch immer nur an der Hälfte der Tiere (12 Rinder) geübt. Dadurch wird sichergestellt, dass einer Tiergruppe immer eine Woche zur Regeneration zur Verfügung steht und die Belastung für das Einzeltier durch diese Maßnahme letztendlich auf ein minimales und akzeptables Maß reduziert werden kann. Auf die

Verminderung der Belastung der einzelnen Tiere durch die bereits mehrmals genannten Maßnahmen (Übungsmodell, Schlachtpräparate) sei nochmals explizit hingewiesen.

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

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

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

Ausbildung von Landwirten und Landwirtinnen hinsichtlich der fachlichen Eignung als Eigenbestandsbesamer/Eigenbestandsbesamerin beim Rind

zu erwartender Nutzen: Erhaltung und Verbesserung der beruflichen Fähigkeiten von Landwirten/Landwirtinnen zur Durchführung der künstlichen Besamung. Der zu erwartende Nutzen liegt in der praxistauglichen Aneignung der Fertigkeiten durch den Tierhalter/Tierhalterin.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Dieser kann aus tierärztlicher Sicht als äußerst gering bewertet werden, zumal die Technik der künstlichen Besamung beim Rind in einem ersten Schritt theoretisch im Rahmen eines Vortrages demonstriert wird, daraufhin eine Demonstration und erste Schritte an Schlachtpräparaten erfolgen und daraufhin an einem für diesen Zweck angeschafften Phantom mit aus Silikon nachgebildeten Geschlechtsorganen die ersten praktischen Versuche erfolgen. Erst dann werden die praktischen Übungen am lebenden Tier unter schonender Vorgangsweise und dementsprechender Hygiene gewährleistet und durch die Anwesenheit von zwei zuständigen Tierärzten als nächster Schritt der praktischen Ausbildung durchgeführt.

2. Art und Anzahl der Tiere

Rinder, 1,5 – 10 Jahre, weiblich, geschlechtsreif, fortpflanzungsfähig und gesund, 20 Tiere je Übungsdurchgang mit 20 Teilnehmern

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

Vermeidung: Eine grundsätzliche Vermeidung der praktischen Übung und daraus folgend des Tierversuches ist nicht möglich, da trotz eingehender Demonstration der Besamungstechnik anhand von Bildmaterial, Schlachtpräparaten, künstlicher Kuh (Phantom) eine erfolgsorientierte Ausbildung nur an lebenden Rindern möglich ist. In Folge vermindern diese praktischen Übungen am lebenden Tier vergebliche Besamungsversuche der Besamer/Besamerinnen am eigenen Betrieb, wenn sie die Technik bereits erlernt haben.

Verminderung: Generell werden immer nur die Hälfte der 20 Kursrinder für die Übung verwendet, die andere Hälfte wird erst bei der nächsten praktischen Übung verwendet. Falls ein weiterer Lehrgang bei denselben Tieren praktisch übt, wird eine Regenerationsphase von mind. 3 Wochen

eingehalten. In dieser Zeit werden diese Tiere von den zuständigen Tierärzten einer Untersuchung der Geschlechtsorgane unterzogen. Falls Abweichungen vom Gesundheitszustand der Geschlechtsorgane vorhanden sind, wird das Tier vom nächsten Übungsdurchgang ausgeschlossen.

Verfeinerung: Am Kursbeginn werden sämtliche Tiere auf den allgemeinen Gesundheitszustand und der Zustand der Geschlechtsorgane untersucht. Falls eine aktuelle Beeinträchtigung des allgemeinen Gesundheitszustandes zum Zeitpunkt des Kursbeginnes vorliegt, und die Geschlechtsorgane Abweichungen vom Normalzustand aufweisen, werden die betreffenden Tiere für die Übung nicht verwendet. Am Beginn der Übungen erfolgt eine ausführliche Demonstration der Vorgangsweise durch die Tierärzte, wobei mittels Ultraschall und Scheidenspekulum eine grundsätzliche Orientierung im Bereich der Geschlechtsorgane vermittelt wird. Während der Übungen wird laufend von den Tierärzten darauf geachtet, dass die rektale Manipulation der Übungen und die Handhabung der Besamungsgeräte der guten Praxis entsprechend vorsichtig und schonend erfolgen. Nach den Übungen werden die Zustände der Tiere durch die beaufsichtigten Tierärzte beurteilt und in einem Tagesprotokoll dokumentiert. Eine dementsprechende Beurteilung, z. B. Ausschluss von der nächsten Übung, wird in einem Bericht schriftlich dokumentiert und dem Betreuungspersonal auch schriftlich übermittelt.

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

Ziele: Bei diesem Projekt handelt es sich nicht um einen Tierversuch von der klassischen Definition her, sondern es werden mikrochirurgische Übungen an Gefäßen von Kaninchen, welche über eine Laparotomie freigelegt werden, durchgeführt. Die extra-intrakranielle Bypass-Operation, also die Bypass-Operation am Gehirn, ist nur mehr an einigen wenigen Kliniken praktiziert, sodass junge Kolleginnen und Kollegen aus der Neurochirurgie nicht mehr die Möglichkeit haben, diese wichtige mikrochirurgische Operationstechnik zu erlernen.

Zu erwartender Schaden: Nach der Beendigung der mikrochirurgischen Übungen werden die Tiere in derselben Narkose sakrifiziert.

Nutzen: Bei diesem Intensivkurs üben die Teilnehmerinnen und Teilnehmer erstmals zwei Tage lang an Silikon-Modellen, dann an Modellen mit gesteigerter Anforderung. Mit diesem Wissen wird diese Operationsmethode am Kaninchen durchgeführt. Auf diese Weise können die Kolleginnen und Kollegen ihre Fertigkeiten verfeinern und in der Humanmedizin umsetzen, was den Patienten zu Gute kommt.

2. Art und Anzahl der Tiere

Kaninchen *Oryctolagus cuniculus* n = 12

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

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

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

Verfeinerung: Der Kurs hat in gradueller Weise von Tag 1 bis Tag 3 den Schwierigkeitsgrad erhöht insofern, als am Tag 1 und 2 nur an den oben genannten Simulationsmodellen trainiert wird, um die Kursteilnehmerinnen und Kursteilnehmer auf die Operation an den Tieren mit steigendem

Schwierigkeitsgrad vorzubereiten. Dadurch gelingt es, das Tier nach entsprechender Prämedikation und abgestimmter Narkose so schonend wie möglich zu operieren.

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

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

Die Techniken Vasektomie, Embryotransfer; In vitro Fertilisation und Kryokonservierung, die in diesem Projektantrag beschrieben werden, sind Standardtechniken und gehören zum technischen Repertoire jeder großen Zuchteinrichtung für Labornager. Der Embryotransfer ermöglicht die hygienische Sanierung von Mauskolonien, die mit unerwünschten mauspathogenen Erregern in Kontakt gekommen (infiziert) sind und damit die Auswertung von wissenschaftlichen Experimenten unvorhersehbar beeinflussen können. Der Embryo-Transfer erfolgt in der Regel mit Embryonen im Zweizellstadium. Es können Embryonen, die bereits in flüssigem Stickstoff eingefroren vorhanden sind aufgetaut und transferiert werden. Oder es werden frische gewonnene Eizellen und Spermien im Reagenzglas zusammengebracht und vor dem Embryo Transfer gemeinsam über Nacht bis zum embryonalen 2- Zellstadium kultiviert (In vitro Fertilisation) und anschließend transferiert. Die 2-Zell Embryonen werden in scheinträchtige Ammenmütter transferiert, die sich hormonell im richtigen Stadium befinden, damit sich diese Embryonen einnisten und ausgetragen werden können. Der „Transfer“ erfolgt durch einen kurzen chirurgischen Eingriff, bei dem die Embryonen in den Gebärtakt der Ammenmutter eingebracht werden. In allen Fällen wird die Ammenmutter auf physiologischem Wege Jungtiere zur Welt bringen, die nicht mit dem Erreger belastet sind, mit dem die Muttertiere infiziert waren. Alternativ können diese Embryonen in flüssigem Stickstoff als „backup“ für eine spätere Nutzung (Revitalisierung) oder für den Versand, eingefroren werden.

zu erwartender Nutzen: Mithilfe der mit diesem Projekt beantragten Methoden, können Mauslinien von Kontaminationen mit Pathogenen der Maus saniert werden. Des weiteren können Mauslinien weggefroren werden („cryo backup“ um im Falle einer Kontamination „saubere“ Tiere zur Verfügung zu haben, mit denen eine neue Kolonie aufgebaut werden kann.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Für die Durchführung des Projekts werden die Tiere geringen (z.B. Hormoninjektionen) bis maximal mittleren Belastungen ausgesetzt (z.B. kurze chirurgische Eingriffe unter Verwendung von erprobten und modernen Narkoseprotokollen bzw. Schmerztherapie, die dem aktuellen Stand der veterinärmedizinischen Praxis entsprechen). Der höchste Belastungsgrad, dem die Tiere während einer gesamten Testreihe ausgesetzt sein können, ist als „mittel“ zu bezeichnen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Wir verwenden ausschließlich Mäuse. Insgesamt planen wir 8925 Mäuse über einen Zeitraum von 5 zu verwenden.

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

Vermeidung („Replacement“): Der Embryo Transfer in Kombination mit In vitro Fertilisation wird zur hygienischen Sanierung von, mit nicht erwünschten Mauspathogenen kontaminierten, Mauskolonien angewandt. Der große Vorteil dieser Methode ist, daß die überwiegende Mehrheit der nicht erwünschten Pathogene aus einer Kolonie ausgemerzt werden können unter Verwendung von verhältnismäßig wenigen weiblichen Tieren, die als Eizellspenderinnen zum Einsatz kommen und während der Prozedur getötet werden müssen. Ebenso werden die männlichen Tiere, deren Sperma verwendet wird, human getötet. Die so gewonnen Ei- und Samenzellen werden aber nicht nur einmalig für einen Transfer verwendet, sondern ein Teil kann auch, für eine späterer Verwendung eingefroren werden. Diese Methode könnte durch eine hygienische Sanierung mittels Kaiserschnitt ersetzt werden – mit folgenden Nachteilen:

- Das Spektrum der Erreger, die mittels Kaiserschnitt aus einer Kolonie ausgemerzt werden können, ist erheblich kleiner.
- Um eine Kolonie zu sanieren, sind erheblich mehr lebende Tiere notwendig.
- Durch die fehlende Möglichkeit, Organe oder Zellen dabei für eine spätere Verwendung wegzufrieren, ist diese Methode auch auch viel weniger nachhaltig.

Verminderung („Reduction“): Die im Projekt beschriebenen Methoden stellen für sich genommen bereits Methoden zur Reduktion von lebend zur Verwendung kommenden Tieren dar.

- Mauslinien, die über einen gewissen (längeren) Zeitraum nicht verwendet werden, müssen so nicht lebend erhalten und Überschusstiere getötet werden sondern können eingefroren jederzeit wieder aktiviert werden, wenn sie wirklich benötigt werden. Versand von Embryonen oder Sperma anstatt lebender Tiere: es müssen keine lebenden Tiere mittels stressverursachender Transporte verschickt werden. Bei nicht korrekter Versorgung der versandten Tiere kann dies in Einzelfällen auch den Tod von Tieren nach sich ziehen können

Verfeinerung („Refinement“): Ein weitere Vorteil unserer beantragten Methoden liegt in der Tatsache, daß diese Methoden in vielen vergleichbaren Einrichtungen weltweit zum Einsatz kommen, daher eine Fülle an Information und Erfahrung vorhanden ist, um Protokolle oder Abläufe laufend zu optimieren. Die gängigsten Protokolle werden an vielen Institutionen verwendet und ermöglichen so eine permanente, leichte Vergleichbarkeit der Protokollparameter zwischen den Institutionen — z.B. wenn es Probleme mit einzelnen Schritten von Prozeduren gibt.

Ebenso ist es möglich, bei Ausfall von Personal, relativ leicht hoch qualifizierten Ersatz mit guter Erfahrung zu bekommen um diese Methoden weiterhin sicher anzuwenden.

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

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

Ziel dieser Studie ist es zu untersuchen, ob durch lokale Gabe von speziellen Biomaterialien die Regeneration einer metaphysären Fraktur im Zustand der Osteoporose ermöglicht bzw. beschleunigt werden kann.

zu erwartender Nutzen: Durch den Einsatz der parakrinen Faktoren als biologische Therapeutika kann die Transplantation von lebensfähigen Zellen umgangen werden. In mehreren präklinischen Studien konnte gezeigt werden, dass extrazelluläre Vesikel eine immunmodulatorische Wirkung haben und so die endogenen Regenerationsprozesse unterstützen können. Die Ergebnisse dieser Studie dienen als Teil der präklinischen Grundlagenforschung um eine mögliche Translation in die Klinik zu ermöglichen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Operationen führen in manchen Fällen zu einer Schwellung des umliegenden Gewebes. Nach der Osteosynthese sind die Tiere erfahrungsgemäß in Ihrer Bewegungsfreiheit nicht eingeschränkt und in der Lage das operierte Bein sofort voll zu belasten. Manchmal kommt es allerdings zu einer kurzfristigen Lahmheit im Anschluss an die OP, meist bedingt durch eine unabsichtliche Manipulation an den den Oberschenkelknochen umgebenden Nerven. Dieser Zustand kann als gering- bis mittelgradig belastend betrachtet werden und sollte sich erfahrungsgemäß innerhalb weniger Tage normalisieren. Die Versuchsdauer beträgt maximal 24 Wochen und die Tiere werden anschließend schmerzlos euthanasiert.

2. Art und Anzahl der Tiere

76 Ratten

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

Vermeidung: Die Knochenheilung ist ein komplexer Prozess mit differenziertem Zusammenspiel multipler biologischer und biomechanischer Faktoren. In vitro Versuche in der Gewebekultur wurden vollständig ausgeschöpft um die Wirkung von extrazellulären Vesikeln auf adulte Stammzellen zu untersuchen und um geeignete Trägermaterialien für die Transplantation („Scaffolds“) zu identifizieren. Die multifaktoriellen Prozesse der Knochenheilung können jedoch nicht im theoretischen Modell oder in vitro in Ihrer Gesamtheit simuliert werden und können letztendlich nur im Tierversuch studiert werden. Im hier beantragten Versuch haben die

Durchblutung, das Immunsystem und das Einwandern von Zellen aus der Defektumgebung, sowie biomechanische Einwirkungen großen Einfluß auf den Heilungserfolg. Zudem wurde anhand von intensiven Literaturrecherchen sichergestellt, daß der beantragte Versuch in dieser Form noch nicht durchgeführt bzw. veröffentlicht wurde.

Verminderung: Für die verschiedenen Analysen ist eine bestimmte Probenuntergrenze nötig, um statistisch signifikante Ergebnisse zu erhalten. Insbesondere biomechanische Untersuchungen bedürfen eines gewissen Probenminimums. Mithilfe einer statistischen Stichprobenberechnung wurde die geringste Versuchstieranzahl ermittelt.

Verfeinerung: Die Tiere werden auch nach dem Eingriff in ihren gewohnten Gruppen gehalten, um psychischen Stress zu vermeiden. Sie erhalten zudem die ersten Tage post OP ein spezielleres, weicheres Einstreu, um keine Reizung der Hautnaht zu auszulösen. Daneben erhalten sie Nistmaterial zur weiteren Beschäftigung und sie werden engmaschig klinisch untersucht, um falls nötig entsprechend reagieren zu können.

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

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

Der Nutzen des Projektes ist sehr groß, da entzündliche Infektionen durch pathogene Pilze eine oft unterschätzte aber weltweit große medizinische Bedrohung darstellen. Sie lösen sowohl chronische als auch akute lebensbedrohliche Erkrankungen aus, die jährlich mehr als 1,5 Millionen Menschenleben fordern. Die Haupterreger sind Pilze der sogenannten *Candida* spp, welche klassische opportunistische Erreger darstellen, die Schleimhäute fast aller Menschen besiedeln, aber bei einem stark geschwächten Immunsystem (Krebs- und Intensivpatienten, Säuglinge, Transplantation) schwerwiegende Infektionen auslösen, die mit hohen Mortalitätsraten von 40% einhergehen. Die Resistenz der Pilze gegen Medikamente steigt ebenso an, wodurch neue Behandlungsstrategien nötig werden. Dieses Projekt wird ein tieferes Verständnis der Immunüberwachung von Pilzen ergeben. Die hochkomplexen Wirt-Pathogen Wechselwirkungen von Pilzen mit Immunzellen werden in Mausmodellen studiert, da Mäuse über ein hoch entwickeltes und dem Menschen ähnliches Immunsystem verfügen. So werden Erkenntnisse der Grundlagenforschung auch für medizinische Anwendungen greifbarer.

Zu erwartender Nutzen: Die Resultate werden das Wissen um die Immunüberwachung von Pilzinfektion vertiefen. Diese Erkenntnisse lassen sich auf das menschliche Immunsystem übertragen, und bieten somit eine wichtige Grundlage für die Entwicklung neuer Therapiemöglichkeiten.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Im Laufe des Projektes durchläuft ein Teil der Tiere eine systemische Pilzerkrankung, die humanen Infektionen gleicht. Aus diesem Grund werden Tiere in der akuten Infektionsphase engmaschig betreut und insbesondere auf die Anwendung humaner Endpunkte geachtet, um Leiden der Tiere zu vermeiden.

2. Art und Anzahl der Tiere

3164 (maximal 5565 Mäuse) über einen Zeitraum von 5 Jahren

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

Vermeidung: Zunächst werden in vitro Vorversuche durchgeführt, um unnötige Experimente in Tieren zu vermeiden. Bei negativen Ergebnissen können so bereits im Vorfeld Tierversuche reduziert oder gar vermieden werden. Aktuelle Ergebnisse werden mit internationalen

Kooperationspartnern direkt ausgetauscht, wodurch Tierversuche weiter reduziert werden. Alle Ergebnisse werden ehestmöglich veröffentlicht, um so ähnliche Tierversuche zu vermeiden.

Verminderung: Durch die Versuchsplanung wird in Vorversuchen mit einer geringen Tierzahl festgestellt, welche Maustypen in Frage kommen. Zudem kann die Tierzahl für Kontrollgruppen aufgrund von Vorerfahrungen und Austausch mit wissenschaftlichen Partnern eingeschränkt werden.

Verfeinerung: Der Einsatz modernster Methoden die Analysen auf Einzelzellebene ermöglichen, erkennt Unterschiede bereits mit kleinen Tiergruppen. Aufgrund langjähriger Erfahrungen werden aussagekräftige Versuchsbedingungen gewählt, um die Gruppengrößen minimal zu halten, ohne dabei die statistische Auswertung zu beeinträchtigen. Die Tiere werden in einer internen Einrichtung gehalten und während der Studien engmaschig betreut und beobachtet.

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

Nervenverletzungen stellen nach wie vor eine bedeutsame klinische Herausforderung dar, da sie oftmals PatientInnen durch funktionelle Einschränkung gravierend in ihren Aktivitäten des täglichen Lebens, ihrer Selbstständigkeit und gesamten Lebensqualität eingeschränkt sind. Trotz der Fortschritte in der interdisziplinären Versorgung zur peripheren Nervenregeneration und zahlreichen modernen experimentellen Zugängen, besteht aufgrund der großteils inkompletten und langsamen Regeneration gemeinsam mit residualen funktionellen Defiziten der hohe Bedarf an neuen translationalen Zugängen.

Diese Studie untersucht die Wirkung von Stammzell-Therapie auf Nerven- und Muskelheilung. Der Fokus liegt hierbei auf der Regeneration des Muskels. Die Projektziele umfassen die Verbesserung der Muskelheilung, sowie die Entwicklung einer wirksamen Anwendung der Stammzell Transplantation nach Nervenschädigung. Um die Projektziele zu erreichen, erfolgt die Untersuchung in Ratten. Nager, insbesondere Ratten, sind das am häufigsten verwendete Modelltier zur Untersuchung der Nervenheilung. Die Studie wird vorausschauend geplant, die Therapie durch Zufallsgeneration vergeben und Placebo-kontrolliert durchgeführt.

zu erwartender Nutzen: Das Modell erlaubt die Erforschung der Muskelfunktion, des Gangbildes und des Gewebes unter Stammzelltherapie. Dies ermöglicht den empirischen Wissenszuwachs durch „Proof of Principle“ und resultierenden Folgestudien mit dem Ziel der Verbesserung der Therapie des Menschen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere erhalten eine Quetschung oder Durchschneidung mit anschließender Naht eines Unterschenkelnervens in Vollnarkose und Schmerztherapie. Daraus resultiert die Einschränkung in der Fußbeugung und des Gefühls am äußeren Unterschenkel und Fußrücken. Im Verlauf des Versuches nimmt die Einschränkung ab, da der Nervenschaden zunehmend heilt.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

213 männliche Ratten

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

Vermeidung: Die Erforschung des Nervenschadens auf nervliche und muskuläre Effekte ist nur in einem lebendigen Organismus möglich. Das verwendete Modell und die Untersuchungsmethoden sind reproduzierbar, verlässlich und allgemein gültig. Der Einsatz von Vorversuchen, sowie ex vivo Untersuchungen (Entwicklung und Kultivierung gewonnener Zellen) und in vitro Verfahren (Untersuchungen in Zellen) unterstützen das in vivo Modell (Untersuchung im lebendigen Tier) zur Erreichung der Projektziele.

Verminderung: Die Anzahl der Tiere ist auf die minimale Anzahl zur Erkennung eines klinisch-relevanten Unterschiedes durch statistische Ermittlung reduziert. Zur Reduktion der Streuung sind alle Haltungs- und Versuchsbedingungen standardisiert. Um interindividuelle Einflüsse (Körpergewicht, Gesundheitszustand, Muskeleigenschaften, Aktivität) zu minimieren, wird die gesunde Gegenseite zur Kontrolle herangezogen.

Verfeinerung: Der Schaden durch die Lähmung eines Unterschenkelnervens, ist im Vergleich zu der häufig verwendeten Ischias-Lähmung wesentlich geringer und reduziert das Ausmaß der Muskellähmung und Gefühllosigkeit an der hinteren Extremität. Zur Reduktion von Schmerzen, Angst und Leid werden die Tiere regelmäßig durch qualifiziertes Personal untersucht. Sollte es eine Verschlechterung des Gesundheitszustands geben, so werden die Tiere vermehrt beobachtet, zusätzlich gepflegt, die Haltungs- und Versorgungsbedingungen verbessert, Medikamente verabreicht, Wunden behandelt oder bei Erreichen von spezifischen Abbruchkriterien das Tier eingeschläfert (gemäß WV 2012 §20). Die Tiere erhalten bei Ankunft in die neue Behausung eine zweiwöchige Eingewöhnungsphase.

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

„Ischämische Präkonditionierung“ (=IPC; wiederholtes kurzes Abklemmen eines Gefäßes) ist eine häufig im OP getroffene Maßnahme, um menschliche Herzen vor längeren ischämischen Phasen (=Phasen, in denen die Blutzufuhr über längere Zeit unterbunden ist) zB im Zuge von Bypass- oder Herzklappenoperationen zu schützen. Bei Diabetes greift diese Methode auf Grund von metabolischen Veränderungen nur schlecht oder gar nicht, daher wären neue Methoden, die auf anderen Mechanismen beruhen, dringend notwendig. Kürzlich durchgeführte Experimente mit dem Edelgas Argon haben in Zellkulturen und Tierversuchen gezeigt, dass eine Vorbehandlung mit Argon (statt der IPC) am gesunden Herzen wirksam ist und vermutlich über andere Signalwege als die IPC verläuft. Wir wollen nun testen, ob Argon auch am diabetischen Herzen wirkt. Dies wollen wir in vivo/ex vivo testen, indem Ratten in tiefer Narkose Argon 3 x 5min einatmen, bevor das Herz entnommen wird und seine Funktionsparameter nach Ischämie außerhalb des Organismus gemessen werden.

zu erwartender Nutzen: Die Experimente sollen zeigen, ob Argon am diabetischen Herz protektiv wirksam ist. Die Komplexität des Herzens macht einen Versuch am vollständigen Organ notwendig, daher ist ein Tierversuch indiziert.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Es handelt sich um Tierversuche mit Organentnahme vom tief narkotisierten Tier.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

54 OFA-1 Ratten

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

Vermeidung: Vorversuche in Zellkultur implizieren eine mögliche Wirksamkeit von Argon in der diabetischen Ratte. Nun muss ein Tierversuch erfolgen, um die Wirkung am vollständigen Organ zu testen.

Verminderung: Die Versuchsplanung erfolgt aufbauend auf andere Vorstudien (inkl. Zellkulturstudien). Die Tierhaltung erfolgt standardisiert.

Verfeinerung: Vorwissen aus anderen Vorstudien.

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

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

Das Ziel dieser Studie ist die erstmalige experimentelle und systematische Feststellung der Schädigung von Larven und Jungfischen ausgewählter repräsentativer Fischarten (Äsche, Nase, Rotauge, Flussbarsch) mittelgroßer und großer österreichischer bzw. europäischer Fließgewässer beim Turbinendurchgang im Zuge ihrer Flussabwärtswanderung mittels der Simulation der während der Turbinenpassage erfahrenen Druckänderungen. Dazu wird eine auf internationalen Erfahrungen basierenden eigens entwickelte Barotraumkammer verwendet. Im Zuge einer Vorstudie werden die notwendigen Konzentrationen für eine entsprechende Anästhesierung der unterschiedlichen Art-Stadien ermittelt, sowie ein möglicher Einfluss der Betäubung auf das Ergebnis untersucht.

zu erwartender Nutzen: Da angenommen werden kann, dass jährlich viele Millionen von Larven und kleinere Stadien unterschiedlicher Arten durch die Turbinen heimischer Wasserkraftwerke abwandern, ist es hinsichtlich einer umfassenden Bewertung des Ausmaßes der Beeinträchtigung von Fischpopulationen in Fließgewässern durch turbinenbedingte Schädigungen notwendig, die möglichen Schädigungen dieser Altersstadien systematisch zu erfassen.

Damit werden erstmals für repräsentative europäische Fischarten auf viele Kraftwerksstandorte in Flüssen in Österreich und Europa übertragbare Resultate erzeugt, durch die der tatsächliche Einfluss der Wasserkraftnutzung auf Fischpopulationen in Fließgewässern besser abgeschätzt werden kann, und entsprechende Maßnahmen zum Schutz bzw. der Re-etablierung gefährdeter Fischarten und -population besser abgeleitet werden können.

Unmittelbar führt das vorliegende Projekt zur Bewusstseinsbildung bei Kraftwerksbetreibern, Behörden und Fischökologen. Mittelbar können die Ergebnisse des Projektes zur Formulierung von Zielen hinsichtlich der Notwendigkeit von Schutzmaßnahmen bei großen Wasserkraftwerken aber auch als Grundlagen für die Entwicklung fischfreundlicher Anlagenkonzepte verwendet werden. Die Ergebnisse können aufgrund der repräsentativen Auswahl der Arten und Altersstadien auf andere österreichische bzw. europäische Arten bzw. auf Populationsniveau umgelegt werden.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: ab einem bestimmten Verhältnis zwischen Ausgangsdruck und Nadir bei der Dekompression, werden signifikante Schädigungen der Fischlarven und Jungfischen erwartet.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

Untersucht werden im Zuge der Vor- und Hauptstudie insgesamt maximal 6710 Fische, davon 4340 Larven (Larvalstadien L-6, L1-L6; Juvenilstadium 1-2, J1-J2) und 2370 Jungfische (0+) von folgenden 4 Fischarten (Stadium und Stückzahl insgesamt je Art in Klammer): Nase (L1=210; 0+=330), Äsche (L1=560; 0+=680), Rotauge (L1=560, L3=560, L6=560, J2=560; 0+=680), Flussbarsch (L1/L2=560, L4=560, L6/J1=280; 0+=680).

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

**Vermeidung:** Die Forschungsfrage nach der druckbedingten Schädigung von Larven und Jungfischen < 10 cm heimischer Fischarten kann unterhalb von Turbinen nicht systematisch mit alternativen Methoden festgestellt werden. Eine direkte Übertragbarkeit der bisher bestehenden Ergebnisse für einzelne Fischarten bzw. Altersstadien (v.a. Juvenile des Lachses, bzw. spezielle australische Barschartige) auf die für Österreich bzw. Europa relevanten Karpfenartigen bzw. Barschartigen ist nicht möglich. Es werden für die Versuche jedoch möglichst repräsentative Arten und Stadien ausgewählt, sodass eine Übertragbarkeit auf andere europäische Arten und deren Stadien bestmöglich gewährleistet ist, und weitere Versuche für viele andere Arten vermieden werden können.

**Verminderung:** Die Auswahl der Fischarten (Nase, Äsche, Rotauge und Flussbarsch) und untersuchten Stadien für die Versuche erfolgt unter dem Gesichtspunkt der bestmöglichen Übertragbarkeit der Ergebnisse auf andere europäische Fischarten und deren Stadien. Nase, Äsche und Rotauge sind Vertreter der Physostoma (alle Karpfenartigen, Forellenartige, Wels, Hecht, etc.) und repräsentative Arten mittlerer und größerer Gewässer. Der Flussbarsch ist ein sog. Physoclist, und steht repräsentativ für alle Barschartigen bzw. Physoclisten, v.a. auch den Zander und Aalrutte. Die Festlegung der Minimalanzahl der benötigten Fische pro Stadium und Versuch zur Erzeugung statistisch relevanter Ergebnisse orientiert sich an den bisherigen internationalen Standards und statistischen Überlegungen. Die Anzahl der Versuche bzw. unterschiedlichen untersuchten Druckunterschiede ist die minimal notwendige Anzahl, um eine aussagekräftige Kurve der Schädigungen in Abhängigkeit der Druckunterschiede zu erstellen. Diese Kurve dient dann der Übertragung der Ergebnisse auf andere Kraftwerke und Standorte in Österreichs Fließgewässern, wodurch die Notwendigkeit weiterer Versuche vermieden bzw. minimiert wird.

**Verfeinerung:** Die Tiere werden in art- und stadienentsprechenden Hälterungsbecken mit natürlichen Tag- und Nachtschwankungen des Lichtes und kontrollierten Wasserbedingungen (Temperatur, Sauerstoff, Nitrit, Nitrat, Ammonium, pH) gehalten. Die Barotraumakammer wird über eine entsprechende Leitung mit demselben Wasser wie die Hälterungsanlage gespeist. Durch

die angemessene Hälterung und das möglichst stressfreie Handling der Tiere und die Minimierung der Zeit, die die Tiere dem Versuch ausgesetzt sind, erfolgt eine bestmögliche Minimierung des Stresses, dem die Tiere ausgesetzt sind. Die Pflege, Fütterung und Kontrolle der Fische erfolgen durch erfahrenes Personal bzw. werden die Fische routinemäßig von einem Tierarzt auf ihren Gesundheitszustand überprüft. Die Vorversuche dienen der Festlegung der notwendigen Konzentrationen zur Betäubung der unterschiedlichen Art-Stadien sowie der möglichen Auswirkung der Betäubung auf das Resultat, und stellen somit eine generelle Verfeinerung für diese Art von Versuchen dar.

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

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

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

zu erwartender Nutzen: Neuroentwicklungsstörungen betreffen mehr als 3% der Kinder weltweit. Dennoch ist für den Großteil der Fälle keine gezielte Therapiemöglichkeit verfügbar. Die genaue Erforschung dieser kausalen Mutationen ist unbedingt notwendig, um gezielte therapeutische Interventionsmöglichkeiten entwickeln zu können. Mehrere dieser kausalen Mutationen, für beispielsweise Autismus und Epilepsie, konnten bereits identifiziert werden, die dahinterstehenden Mechanismen sind aber noch nicht hinreichend bekannt. Darüber hinaus liegen aktuelle Ergebnisse vor, die darauf hindeuten, dass manche krankheitsassoziierten Phänotypen reversibel sind. Weitere in vivo-Experimente sind unbedingt notwendig, um diese pathologischen Hintergründe und genetische Risikofaktoren zu erforschen, bzw. eine eventuelle Reversibilität dieser Zustände zu ermitteln. Deshalb sollen im Rahmen dieses Projekts verschiedene Knockout-Modelle für Neuroentwicklungsstörungen erstellt werden. Dafür wird Genom-Editing mittels der Techniken Elektroporation und Mikroinjektion verwendet. Außerdem wird die Technik des Neuroblastocyst Complementation Assay in unserem Labor etabliert und zur Erstellung von Mausmodellen genutzt. Diese Technik ermöglicht ein schnelleres Erstellen von Autismus- und Epilepsiemodellen, und damit eine direkte Reduktion der für die Zucht verwendeten Tiere.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Für die Erstellung und Zucht dieser Mausmodelle benötigen wir invasive Methoden, wie beispielsweise Hormoninjektionen, und chirurgische Maßnahmen, wie beispielsweise Embryotransfer. Diese Methoden sind bereits gut etabliert, und es werden erprobte und optimierte Protokolle verwendet. Operationen werden ausschließlich in Narkose nach Erreichen des chirurgischen Toleranzstadiums durchgeführt. Auch eine ausreichende Schmerzbehandlung während und nach Eingriffen wird gewährleistet, und alle Tiere unterstehen tierärztlicher Supervision. Die genetische modifizierten Linien, die in diesem Projekt erstellt werden, werden auch über mindestens 2 Generation etabliert, und der mit den Knock outs verbundene Phänotyp wird dokumentiert. Der höchst mögliche Belastungsgrad, der für die Tiere zu erwarten ist, ist als „mittel“ zu bezeichnen.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden 4620 Mäuse (*Mus musculus*) über einen Zeitraum von 5 Jahren verwendet. Diese Tiere werden ausschließlich für Experimente gezüchtet.

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

#### Vermeidung:

- Aufgrund der Komplexität von Neuroentwicklungsstörungen, können diese Mausmodelle nicht durch in vitro Methoden ersetzt werden. Ein lebender Organismus, der soziales Verhalten zeigt und dessen Gehirnentwicklung in vivo analysiert werden kann, ist notwendig, um pathologische Hintergründe dieser Erkrankungen zu erforschen.

#### Verminderung:

- Zuchtpläne und experimentelle Design sind gezielt optimiert, um die verwendete Tierzahl auf das notwendige Minimum zu reduzieren. Für eine der Techniken wird darüber hinaus eine Pilotstudie durchgeführt, um sicherzustellen, dass die Tierzahl für die Projekte von Anfang an optimiert ist.
- Die Implementierung dieser Methoden resultiert in einer absoluten Reduktion von lebenden Tieren, die für Projekte importiert werden müssen, da Modelle vor Ort generiert werden können.
- Die Technik des Neural Blastocyst Complementation Assay ermöglicht eine direkte Reduktion der für die Zucht verwendeten Tiere, da ein Schritt in der Erstellung von Modellen (die Generation lebender Chimären für die Zucht) übersprungen werden kann.

#### Verfeinerung:

- Alle Eingriffe werden nur von qualifiziertem Personal vorgenommen. Der Ausbildung des Personals, das mit Tieren arbeitet, kommt hohe Priorität zu, um sicherzustellen, dass Haltung und Umgang mit Tieren, sowie invasive Maßnahmen sicher und effektiv durchgeführt werden, und die geringstmögliche Belastung damit einhergeht.
- Alle Eingriffe finden unter aseptischen Bedingungen statt und eine optimierte Anästhesie und Schmerztherapie wird gewährleistet. Das Monitoring und die postoperative Versorgung der Tiere hat hohe Priorität, und tierärztliche Versorgung steht vor Ort zur Verfügung.
- Bei der Etablierung neuer transgener Linien liegt der Fokus auf der vollständigen Dokumentation und Bewertung potentiell belasteter Phänotypen. Sollte eine transgene Linie (wider Erwarten) einer deutlichen Belastung unterliegen, werden sofort Maßnahmen ergriffen, und veterinärmedizinische Versorgung der Tiere sowie die Definition humaner Endpunkte wird gewährleistet.



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

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

Für die Durchführung von Forschungsprojekten wird eine Vielzahl von unterschiedlichen, genetisch veränderten und/oder mutierten Fischlinien gezüchtet. Diese Tiere sind nicht immer notwendigerweise gezielt gentechnisch verändert worden, sondern können auch Ergebnis natürlicher auftretender Mutationen sein. Einige dieser Linien sind weltweit einzigartig und ein Verlust dieser Linien, z.B. durch Krankheit, würde einen ernsthaften Verlust wissenschaftlicher Ressourcen darstellen. Um einem solchen Verlust vorzubeugen ist eine Konservierung der Linien mit der Möglichkeit einer späteren Wiederbelebung absolut notwendig. Ein zweiter Grund für die Konservierung von Linien ist die Reduktion der in der Zuchtanlage gehaltenen Tiere. Linien, für die eine Möglichkeit der Wiederbelebung besteht, können in deutlich geringer Zahl gehalten werden als solche, für die diese Möglichkeit nicht gegeben ist. Der Zweck des Projektes ist also die Sicherung von transgenen und/oder mutierten Zebrabärbling-Linien in Form von ultratiefgefrorenen Spermien und die Wiederbelebung von Linien durch in vitro Fertilisierung. Es handelt sich hierbei um eine züchterische Maßnahme, die nicht mit einem Neugewinn wissenschaftlicher Erkenntnisse verbunden ist. Das Projekt dient vielmehr der Sicherung von Ergebnissen aus vorherigen Experimenten und somit auch zur Sicherung der Basis für neue Projekte und der Reduktion von Tierzahlen in der Zuchtanlage. Die Konservierung wird über die Gewinnung von Spermien aus adulten Männchen und einer Lagerung der Spermien in flüssigem Stickstoff bei  $-180^{\circ}\text{C}$  erreicht. Für die Entnahme von Spermien werden Männchen zunächst betäubt. Dann wird durch eine Streichbewegung entlang der Flanken des Tieres die Spermienabgabe ausgelöst. Die Spermien werden in einer Galskapillare aufgefangen und für die Einfrierprozedur weiterverarbeitet. Das Tier wird nach der Spermientnahme direkt in einen Tank mit frischem Aquariumwasser überführt. Hier wird das Tier bis zu einer vollen Wiederherstellung der Reflexe und Eigenbewegung beobachtet. Diese Prozedur sollte insgesamt nur wenige Minuten (1-2 Minuten) dauern. Die Wiederherstellung von Linien erfolgt über in vitro Befruchtung von aus adulten Weibchen gewonnenen Eizellen. Für die Entnahme von Eizellen werden Weibchen zunächst betäubt. Dann wird durch eine Streichbewegung entlang der Flanken des Tieres die Eiabgabe ausgelöst. Die Eier werden vom Tier abgestrichen und für die in vitro Fertilisierung weiterverarbeitet. Das Tier wird nach der Eientnahme direkt in einen Tank mit frischem Aquariumwasser überführt. Hier wird das Tier bis zu einer vollen Wiederherstellung der Reflexe und Eigenbewegung beobachtet. Diese Prozedur sollte insgesamt nur wenige Minuten (1-2 Minuten) dauern.

zu erwartender Nutzen: 1. Sicherung von transgenen und/oder mutierten Zebrabärbling-Linien in Form von ultratiefgefrohrenen Spermien 2. Reduktion der Tierzahl in der Zuchtanlage

zu erwartender Schaden für die Tiere: Unbehagen durch Betäubungsprozedur

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Zebrabärbling *Danio rerio*, 1.176 Tiere pro Jahr, 5.880 Tiere in 5 Jahren

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

Vermeidung/Verminderung: Cryokonservierung von belasteten Tierlinien ermöglicht es diese Linien nur dann in der Zuchtanlage zu halten wenn dies für wissenschaftliche Experimente unmittelbar notwendig ist. So ist diese Methode ein Beitrag zu der Vermeidung bzw.

Verminderung der Zucht von belasteten Tieren. Außerdem ist die sorgfältige und zuverlässige Sicherung von neu erstellten genetisch veränderten Linien ein wichtiger Beitrag zur Vermeidung von Tierversuchen. Zebrabärbling-Linien können zum Beispiel durch Krankheit ausgelöscht werden. Sind diese Linien dann nicht gesichert, würde dies einen signifikanten Verlust von wissenschaftlichen Ressourcen bedeuten und eine Wiederholung der Projekte zur Erstellung der Linien und somit auch erneute Tierversuche, nötig machen.

Verfeinerung: Die in diesem Projekt verwendeten Methoden zur Entnahme von Spermien und Oocyten sowie der Cryoconservierung entsprechen dem neusten im Feld akzeptierten Stand der Technik. Eine Verfeinerung dieser etablierten Methoden entsprechend der konkreten Anforderungen und Gegebenheiten wird durch das gut geschulte, erfahrene Personal durchgeführt. So wird eine Verbesserung des Tierwohls wo immer möglich sichergestellt.

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

Angststörungen sind weltweit die häufigsten mentalen Erkrankungen und stellen neben dem individuellen Leid ein erhebliches gesundheitspolitisches Problem dar. Selbst nach pharmako- und/oder psychotherapeutischen Interventionen bleibt eine signifikante Anzahl von PatientInnen symptomatisch bzw. sind Angstsymptome nach kurzfristiger Linderung oft rezidiv. Die Entwicklung von verbesserten Therapien und Maßnahmen zur Vorbeugung sind deshalb von wesentlicher Bedeutung. Ziel ist es mithilfe der geplanten und beantragten Versuche, die neurobiologische Grundlage beeinträchtigter Extinktion erlernter Furcht (dies ist der Expositionstherapien zugrunde liegender Hauptprozess; „Verlernen“ der Angst), die in vielen AngstpatientInnen vorhanden ist, neurobiologisch zu charakterisieren und daraus rational pharmakologisch unterstützte Expositionstherapien zu entwickeln. Basierend auf unseren ersten translationalen Studien in Maus und Mensch fokussieren wir dabei auf das Dopaminsystem und wollen extinktionsstörende und extinktionsverbessernde Kausalität in betroffenen Individuen demonstrieren. Dies ist die Grundlage für die Entwicklung und Testung dringend benötigter Extinktionsverbessernder Substanzen sowie potentieller Biomarker für eine erfolgreiche Expositionstherapie, deren Wirkung lang anhält und somit Schutz vor Rezidiven garantiert. Alle Experimente sind im Rahmen sorgfältig konzipierter, international geprüfter wissenschaftlicher Projekte auf der Basis bereits publizierter (und von unabhängigen Experten begutachteter) Studien aufgebaut.

Zu erwartender Nutzen: In den für den medizinischen Fortschritt sehr wichtigen Studien wird Extinktion erlernter Angst studiert, die auf dem Prinzip der Pavlov'schen Konditionierung mittels Assoziation eines neutralen Stimulus mit einem leichten aversiven Reiz beruht. Diese Versuchsanordnung stellt sowohl für Mensch als auch Tier ein standardisiertes und validiertes Modell der erlernten Angst dar. Da insgesamt die Tiere keine Verletzungen oder langfristige Beeinträchtigungen des Wohlergehens oder des Allgemeinzustandes davon tragen, wird der Schweregrad des Tierversuchs als „mittel“ eingestuft.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere werden verschiedenen, etablierten Verhaltenstests nach Injektion und/oder nach einem chirurgischen Eingriff unter Anästhesie und Analgesie unterzogen. Da insgesamt die Tiere keine Verletzungen oder langfristige Beeinträchtigungen des Wohlergehens oder des Allgemeinzustandes davontragen, wird der Schweregrad des Tierversuchs als „mittel“ eingestuft.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Für die Bearbeitung aller dieser komplexen Projektziele werden 1864 Mäuse in 5 Jahren beantragt.

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

**Vermeidung:** Die Komplexität der zentralen Regulationen (anatomisch und neurochemisch) der Furchtextinktion, Verhaltensabläufe und kognitiver Prozesse schließt in-vitro Studien aus. Eine Vermeidung von Tierversuchen ist daher nicht möglich. Jedoch werden Kriterien implementiert, anhand welcher allzeit entschieden werden kann, ob mit den bereits gewonnenen Daten weiterführende Tierexperimente wissenschaftlich gerechtfertigt sind oder ob diese vermieden werden können.

**Verminderung:** Es wird allzeit darauf geachtet, dass durch Verwendung modernster Techniken und Geräte immer die zur Erfassung signifikanter Ergebnisse geringste Anzahl an Tieren in einem kollektiven Ansatz zur Bestimmung gleich mehrerer verhaltensrelevanter, biochemischer und funktioneller Parameter herangezogen werden, um zusätzliche Versuche zu vermeiden und das vorhandene biologische Material optimal zu nutzen. Wenn möglich, werden biochemische Untersuchungen beteiligter Signalwege zunächst in vitro durchgeführt (zB funktionelle zellbiologische Assays wie Luciferase-Reporterassay etc), um die benötigte Tieranzahl zu verringern.

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

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

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

Unser Institut untersucht die molekularen Mechanismen und Gendefekte, die für Stoffwechselerkrankungen verantwortlich sind. Das Ziel dieses Projektes ist es, neue Einblicke in die Biologie des Fettstoffwechsels zu erlangen. Die Erkenntnisse des Projektes könnten neue Behandlungsmöglichkeiten für Stoffwechselerkrankungen aufzeigen. Der vorliegende Antrag zielt auf die Herstellung, Züchtung und Charakterisierung von Mausmodellen für metabolische Erkrankungen ab. Unter diesen Erkrankungen versteht man Störungen des Stoffwechsels, die angeboren oder erworben sein können. Das Auftreten dieser Erkrankungen ist sehr unterschiedlich und inkludiert sowohl weit verbreitete „Volkskrankheiten“ wie Typ II Diabetes, als auch seltene Erbkrankheiten mit oftmals tödlichen Folgen. Die Ursachen für Stoffwechselerkrankungen können multifaktoriell sein oder auch durch die Mutation eines einzigen Gens verursacht werden. Um eine erworbene oder genetische Stoffwechselerkrankung zu diagnostizieren und effektiv behandeln zu können, ist es notwendig, die Ursachen dieser Erkrankung auf molekularer Ebene zu verstehen. Ein Schwerpunkt unserer Forschung ist die Herstellung und Charakterisierung von Mausmodellen mit Defekten im Stoffwechsel. Die Herstellung dieser Tiermodelle beruht auf Erkenntnissen, die durch in vitro Versuche gewonnen werden. Um die Funktion eines Gens oder die Wirkung eines Medikamentes im lebenden Organismus zu verstehen, sind jedoch Tiermodelle notwendig. Unsere Mausmodelle lieferten in der Vergangenheit wichtige Einblicke in die Biologie des Fettstoffwechsels und haben wesentlich zum Verständnis von humanen Stoffwechselerkrankungen, wie Fettleibigkeit oder Typ 2 Diabetes, beigetragen. Zusätzlich können Störungen im Stoffwechsel als Nebeneffekte von Medikamenten verursacht werden. Eine Reihe von Medikamente wie Chloroquin (Antimalariamittel und Antirheumatikum), Perhexilin (Herz-Kreislauf-Arzneimittel) und Amiodaron (Antiarrhythmikum), verursachen als Nebenwirkung eine Störung im Lipidstoffwechsel, die als drug-induced phospholipidosis (DIPL) bezeichnet wird. DIPL ist ein ernstzunehmendes Problem in der Medikamentenentwicklung und betrifft mehr als 50 Medikamente, die klinisch eingesetzt werden. In Rahmen dieses Projekts soll untersucht werden, ob es möglich ist durch eine definierte Diät die Entstehung von DIPL zu reduzieren oder zu verhindern.

zu erwartender Nutzen: Aus den geplanten Versuchsreihen erwarten wir wichtige Erkenntnisgewinne in Bezug auf die molekularen Ursachen von erworbenen und genetischen Stoffwechselerkrankungen. Die gewonnenen Ergebnisse könnten die Grundlage für die

Entwicklung von neuen Medikamenten bilden oder Behandlungsmöglichkeiten gegen diverse Stoffwechselerkrankungen aufzeigen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Versuchstiere werden abhängig vom Versuch vorübergehend und so kurz als möglich einer leichten (80 %) bis maximal mittleren Belastung (20 %) ausgesetzt. Der zu erwartende Schaden beinhaltet die Induktion von Adipositas, einer leichte Leberschädigung oder einer leichten Hämolyse. Die angewandten Methoden beinhalten eine Schwanzbiopsie zur Genotypisierung, kurzfristiger Nahrungsentzug, Verabreichung von Medikamenten, Entnahme von Blutproben und Fütterung von speziellen Diäten. Zustand und Verhalten der Mäuse werden regelmäßig kontrolliert und die Behandlung wird gegebenenfalls vorzeitig abgebrochen.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Es wird die Verwendung von max. 3900 Mäusen (*Mus musculus*) beantragt.

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

Vermeidung: Durch den Einsatz etablierter Techniken wie Zellkultur, in-vitro oder ex-vivo Experimenten werden Tierversuche in unserem Labor auf ein Minimum reduziert.

Verminderung: Die Dauer der Versuchsreihen und die Anzahl der Versuchstiere werden auf ein Minimum reduziert, das notwendig ist, um statistisch aussagekräftige Ergebnisse zu erzielen.

Verfeinerung: Wir legen Wert auf den Einsatz von modernsten Analyseverfahren, die geringe Probenmengen ermöglichen, und von nicht-invasiven Methoden. Die Haltung und Pflege der Tiere erfolgt anhand höchster Qualitätsstandards.

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

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

Ziel des Projekts ist zu erforschen, in welcher Weise das Hormon Erythropoietin, das z.B. bei Aufenthalt in Höhenlagen freigesetzt wird, die Blutglukose beeinflusst. Ein besseres Verständnis solcher Regulationsmechanismen kann letztendlich neue Möglichkeiten der medizinischen Intervention bei Glukosestoffwechselstörungen wie Diabetes mellitus aufzeigen.

zu erwartender Nutzen: Die Untersuchungen dienen einem besseren Verständnis der Regulation von Körpergewicht und Blutglukose, was zu neuen Strategien führen soll, diese durch therapeutische Intervention zu senken. Dies ist vor dem Hintergrund eines weltweiten Anstieges von Übergewicht und Diabetes eine der großen medizinischen Herausforderungen der Gegenwart.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Der Tiere durchlaufen Protokolle, die als gering- oder mittelgradig belastend eingestuft sind. Ein Teil der Mäuse ist genetisch manipuliert, allerdings sind diese Veränderungen nicht mit Schmerz oder Leid verbunden (nur marginales Übergewicht); 228 dieser Mäuse werden nur zur Zucht, nicht aber in Experimenten eingesetzt. Bei allen anderen Tieren im Projekt werden wiederholt geringgradig belastende Manipulationen wie Injektionen oder Abnahme von Blutstropfen aus der Schwanzspitze durchgeführt. Bei 268 davon ist ein auch einmaliger chirurgischer Eingriff unter Anästhesie vorgesehen (mittelgradig belastend). Bei 40 Mäusen wird eine experimentelle Form des Typ 1 Diabetes ausgelöst (mittelgradig belastend). Alle Protokolle enden mit der Tötung der Tiere, was zum Sammeln von Blut und Gewebeproben notwendig ist. Eine Minimierung der Belastung ist durch engmaschige Kontrollen und klar definierte Maßnahmen und Abläufe betreffend Narkose und Analgesie (=Schmerzstillung), sowie durch strenge Abbruchkriterien sichergestellt.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

668 Mäuse

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

Die verwendeten Protokolle stellen gegenüber jenen in vorangehenden Studien eine Verfeinerung dar, indem direkte Effekte auf den Stoffwechsel von indirekten (über Appetitverlust) unterschieden werden. Dieses verbesserte Protokoll hat Potenzial in Zukunft mit weniger Aufwand, insbesondere auch mit geringerer Tierzahl, zu klaren Schlussfolgerungen zu kommen. Es

ist zu hoffen, dass diese Verfeinerung von der internationalen Forschergemeinschaft wahrgenommen wird und so zur Vermeidung bzw. Verminderung von Tierversuchen beiträgt. Weitere Maßnahmen im Sinne der „3R“ sind:

**Vermeidung:** Es ist unumgänglich die Untersuchungen in vivo, also am intakten Organismus, durchzuführen, da die Regulation von Körpergewicht und Blutglukose von im Blut zirkulierenden Faktoren (Energiesubstrate, Hormone, ...), nervösen Faktoren und vom Zusammenspiel vieler Organe über teils ungeklärte Mechanismen beeinflusst wird. Die Gestaltung der Protokolle zielt jedoch auf Wissensgewinn bei geringstmöglichem Tierbedarf.

**Verminderung:** Durch vorausschauende Fallzahlberechnungen, entsprechende Planung der Abläufe, sowie durch standardisierte Haltungsbedingungen und Versuchsprotokolle wird im Sinne der Reduction (Verminderung von Tierversuchen) maximaler Informationsgewinn bei minimaler Tierzahl sichergestellt.

**Verfeinerung:** Im Sinne des Refinement (Verfeinerung von Tierversuchen) entsprechen die eingesetzten Mausstämme und Krankheitsmodelle (= teils Tiere mit erblichem oder ernährungsbedingtem Übergewicht), sowie das Verwendungsalter langjährigen Konventionen in der Stoffwechselforschung. So ist bei geringem Tierverbrauch bestmögliche Vergleichbarkeit und Interpretationssicherheit in Bezug auf frühere Ergebnisse gegeben. Versuchsabläufe und Haltungsbedingungen sind standardisiert und folgen dem aktuellen Stand der Wissenschaft.

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

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

Ziel des Projekts ist die Erforschung der Genexpression von CD4-1 und CD4-2 der Bachforellen als Antwort auf eine Infektion mit Viralem Hämorrhagischem Septikämie (VHS) Virus. Dies wurde bisher noch nicht in Bachforellen beschrieben und stellt somit einen potenziellen Weg dar, das Wissen um die Reaktion der CD4-Zellen von Bachforellen auf eine VHS-Infektion zu verschiedenen Zeitpunkten zu verbessern. Da der Krankheitsverlauf bei Bachforellen, im Vergleich zu anderen Salmonidenarten, mild ist, könnten CD4-Zellen im Krankheitsgeschehen eine wichtige Rolle spielen. Falls dies der Fall ist, kann das Experiment der erste Schritt in der Entwicklung eines Medikaments zur Stärkung des Immunsystems verschiedener salmonider Fischarten gegen das VHS Virus sein.

zu erwartender Nutzen: Der erwartete Nutzen des Projekts ist eine Bewertung der CD4+ - Zellen von Bachforellen während einer VHS-Infektion. Bislang wurde kein Experiment mit Bachforellen durchgeführt, um die Auswirkungen des VHS Virus zu untersuchen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Der erwartete Schaden für die Tiere besteht in der Infektion der Fische mit dem VHS Virus (intraperitoneal) und den damit einhergehenden Krankheitssymptomen, wie Lethargie, Dunkelfärbung der Haut, Exophthalmus, blasse Kiemen, Hämorrhagien in der Haut, Augen und Kiemen sowie verändertes Schwimmverhalten und Aszites. Die Fische werden zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach der Infektion euthanasiert.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

65 Bachforellen, *Salmo trutta f. fario*,

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

Vermeidung: Das Projekt dient der Untersuchung der durch Wirtsimmunität vermittelten Genexpression während der Infektion von Bachforellen mit VHS. Es gibt kein In-vitro-Modell, das eine solche Wirtsantwort angemessen nachahmen könnte. Eine Substitution durch ein In-vitro-Modell ist daher nicht möglich.

Verminderung: Das Versuchsdesign wurde so optimiert, dass mit möglichst wenigen Versuchstieren statistisch aussagekräftige Resultate zu erwarten sind.

Verfeinerung: Um die Wasserqualität zu sichern, werden die Fische mit geringer Besatzdichte in einem Durchflusssystem mit adäquater Sauerstoffversorgung gehalten. Zusätzlich werden folgende Wasserparameter einmal pro Woche untersucht: Gesamthärte, Karbonathärte, Nitrat und Nitrit. Sauerstoffgehalt, Wassertemperatur und pH werden täglich erhoben. Um einen artgerechten pH-Wert 6.5-8 zu gewährleisten wird der Tierversuch im Winter stattfinden. Die Fische werden artgerecht gefüttert. Um den Fischen ausreichend lange Ruhephasen zu ermöglichen wird ein normaler Tag/Nachtrhythmus mit mindestens 8 Stunden Dunkelheit eingehalten. Um den Stress für die Tiere möglichst gering zu halten, wird jegliches Handling auf ein Minimum reduziert. Wenn nötig (Abbruchkriterien) werden die Tiere fachgerecht euthanasiert.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. Mai 2023 vorgesehen.

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

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

Während der Entwicklung von einer befruchteten Eizelle zu einem komplexen und vielzelligen Organismus stellt die Ausbildung der drei Keimblätter – Endoderm, Mesoderm und Ektoderm – einen entscheidenden Schritt dar. Hierbei entstehen aus den pluripotenten Zellen des frühen Embryos die Vorläuferzellen aller Organe und Gewebe. Auch wenn die Organisation eines Embryos und dessen zellulärer Aufbau zwischen einzelnen Arten und Tiergruppen verschieden sind, so sind doch die molekularen und genetischen Mechanismen im Tierreich stark konserviert. Ziel der beantragten Versuche im Wirbeltier Modell Zebrafisch ist die Aufklärung grundlegender Mechanismen der Meso- und Endodermbildung. Die korrekte Entstehung der Keimblätter basiert auf der komplexen, zeitlich und räumlich genauestens gesteuerten Regulation von Signalwegen. Der Fokus dieser Studien liegt auf der bisher nur in Ansätzen verstandenen Interaktion zwischen dem Nodal- und dem FGF-Signalweg. Beide Signalwege haben unter anderem evolutionär konservierte, zentrale Funktionen bei der Bildung von Endoderm und Mesoderm, und damit bei der Entstehung aller endodermalen (u.a. Magen-Darm-Trakt, Atmungssystem) und mesodermalen Organe (u.a. Herz-Kreislauf-System, Niere, Knochen, Muskeln). Ein Verlust dieser Signalwege hat dramatische Folgen für den Embryo und führt beim Menschen in der Regel zum Absterben des Embryos oder Fötus. Während die Signalwege und ihre einzelnen Komponenten für sich genommen durch frühere Studien speziell auch im Zebrafisch bereits sehr gut untersucht sind, ist das Zusammenspiel noch weitgehend unerforscht.

zu erwartender Nutzen: Ziel der Versuche ist ein tieferes Verständnis über das Zusammenspiel frühembryonaler Signalwege bei der Zellspezifizierung und Zelldifferenzierung, und damit neue Erkenntnisse und Ansätze zur Bildung mesodermaler und endodermaler Gewebe und Organe im Rahmen der Regenerativen Medizin.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Für die Zucht einiger Linien, welche homozygot-mutant die ersten fünf Tage nicht überleben würden, werden Injektionen im 1-Zellstadium mit entsprechender mRNA zur Rettung durchgeführt. Der zu erwartende Schaden für die Tiere ist gering, da die ausgewachsenen Fische keine Defekte mehr aufweisen. Auch die heterozygot gehaltenen Tiere weisen keinen pathologischen Phänotyp auf. Für die Genotypisierung einiger Linien werden Schwanzflossenbiopsien unter Betäubung durchgeführt. Da die Schwanzflossenspitze innerhalb weniger Tage bei Zebrafischen regeneriert wird der Schaden für die Tiere als gering eingestuft.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Zebrafisch (*Danio rerio*):

- 5200 Mutante Tiere in 4 Jahren
- 800 Transgene Tiere in 4 Jahren

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

**Vermeidung:** Um die im Rahmen dieses Projekts benötigten wissenschaftlichen Erkenntnisse zu gewinnen ist es unumgänglich das in vivo Modellsystem Zebrafisch zu nutzen. Eine Vermeidung von Tierversuchen durch Nutzung anderer System ist im Rahmen dieses Projekts nicht möglich.

**Verminderung:** Um die Anzahl der verwendeten Tiere zu reduzieren werden alle Experimente sorgfältig und vorrausschauend geplant, um die Zahl der verwendeten Tiere zu reduzieren und gleichzeitig experimentelle Ergebnisse mit statistischer Signifikanz zu erhalten. Wenn Tiere euthanasiert werden, so wird deren Gewebe bzw. spezifische Organe für andere Versuche entnommen und ggf. für zukünftige Experimente entsprechend eingelagert.

**Verfeinerung:** Durch tägliche Kontrolle werden etwaige auftretende Probleme frühzeitig erkannt und entsprechende Tiere fachgerecht und nach dem jeweils aktuellen Stand der Wissenschaft euthanasiert. Sämtliche Experimente und Behandlungen der Tiere werden nur von erfahrenem und geschultem Personal durchgeführt. Neueste Erkenntnisse bzgl. der Bedingungen für Zucht, Unterbringung, Pflege und Verwendung von Tieren werden laufend berücksichtigt.

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

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

Laut Angaben der Weltgesundheitsorganisation, WHO, ist der akute Herzinfarkt bzw. die chronische Herzschwäche als Folge eines Herzinfarktes nach wie vor die häufigste Todesursache in den westlichen Industrieländern. Maßnahmen, die schwerwiegenden Folgen eines Herzinfarkts zu verringern sind somit für die medizinische Forschung von großem Interesse. Die sogenannte „Präkonditionierung“ ist ein Mechanismus, bei dem kurze Reize (z.B. körperliches Training, Sauerstoffmangel etc.) körpereigene Prozesse in Gang setzen, die das Herz für eine gewisse Zeit gegen die Auswirkungen eines Herzinfarkts schützen. Diese Präkonditionierung stellt einen wichtigen neuartigen Therapieansatz dar. Welche zellulären Prozesse allerdings für die schützende Wirkung verantwortlich sind, ist noch nicht ausreichend geklärt. Wir haben allerdings Hinweise, dass Adenosin dabei eine zentrale Rolle spielt. Im folgenden Projekt sollen deshalb durch Modulation des Adenosinstoffwechsels in Mäusen genauer untersucht werden wie Adenosin seine schützende Wirkung entfaltet.

Zu erwartender Nutzen: Die im Projekt erhobenen experimentellen Daten führen zu einem besseren Verständnis zellulärer Schutzmechanismen. Die pharmakologische Anhebung bzw. Absenkung des Adenosinspiegels über verschiedenste Angriffspunkte des Adenosinstoffwechsels könnte zur Entwicklung neuer Prophylaktika gegen Myokardinfarkt bei Hochrisikopatienten führen und ist daher von sozialökonomischer Bedeutung.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Für das Projekt werden sowohl Wildtyp als auch transgene Mäuse, deren Lebensqualität allerdings nicht beeinträchtigt ist untersucht. Einigen Tieren werden einmalig verschiedene gut charakterisierte Pharmaka in die Bauchdecke injiziert. Ein subkutaner Schnitt (0,5 cm) im Nackenbereich (unter Narkose) muss bei ein paar Tieren zur Implantation einer osmotischen Minipumpe durchgeführt werden. Für manche Versuche besteht die Notwendigkeit einer Einzelhaltung (Dauer 3 bzw. 14 Tage).

1. Art und Anzahl der Tiere

508 Labormäuse

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

Vermeidung: Alle Experimente werden unter größtmöglicher Vermeidung von körperlichem und psychischem Stress von erfahrenen Mitarbeitern unter Einhaltung hoher Qualitätsstandards

durchgeführt. Sollten Vorversuche notwendig sein, werden diese nicht an Tieren sondern an isolierten Proteinen bzw. kultivierten Zellen durchgeführt.

Verminderung: Durch Verwendung biostatistischer Verfahren wird versucht, die Anzahl an Versuchstieren auf ein notwendiges Minimum zu reduzieren. Um zusätzliche Versuche zu vermeiden, werden aus isolierten Geweben gleichzeitig mehrere Parameter bestimmt. Dies wird durch die genaue Planung des Versuchsablaufs und das optimale Ausnutzen aller Ressourcen erreicht.

Verfeinerung: Durch ein Maximum an Standardisierung in Haltung (Futter, Streu, Nestmaterial, Raumklima) sowie durch die Betreuung durch qualifiziertes und geschultes Personal ist ein Höchstmaß an Verfeinerung gewährleistet. Während des gesamten Versuchs werden die Tiere regelmäßig (1-2mal täglich) kontrolliert. Die Trainings-Experimente sind so konzipiert, dass sie den natürlichen Bewegungsdrang der Tiere als Stimulus für körperliche Betätigung nutzen und somit ein Enrichment für die Mäuse darstellen.

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

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

Diese Studie dient dazu, ein zuverlässiges, wundloses Ischämiemodell für ischämisch bedingte chronische Wunden zu etablieren und um a) mehr über die Entstehung dieser Wunden in Erfahrung zu bringen und b) relevanten, bereits verwendeten Therapieoptionen Evidenz zu verleihen und diese zu optimieren. Somit wird es möglich gemacht, langfristig, potentielle neue Therapiemodalitäten mit größerem klinischem Benefit zu entwickeln. Da bereits Modelle mit dem gleichen Wirkmechanismus für z.B. die Schlaganfall-Forschung etabliert sind, können die aus diesem Versuch entstandenen Erkenntnisse voraussichtlich ebenfalls gut auf den Menschen übertragen werden.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Der zu erwartende Schaden für die Tiere ist moderat. Den Ratten werden je nach Gruppeneinteilung unter Betäubung ischämiefördernde Stoffe, entzündungsfördernde Stoffe und/oder Kontrollformulierungen verabreicht, um eine oberflächliche Durchblutungsstörung zu generieren. Den Schweinen werden unter Betäubung oberflächliche Wunden gesetzt. In der ersten Phase der Versuche könnten Schmerzen durch die Wunden entstehen, daher erhalten die Tiere in dieser Phase vorbeugend schmerzstillende Medikamente. Bei Bedarf wird nach dieser Phase die Schmerzbehandlung fortgesetzt.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

6 Hausschweine

192 Wistar Ratten

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

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

- eine Zellkultur die Komplexität der Umgebungsparameter einer Ischämie und chronischen Wunde nicht ausreichend beschreibt.
- in vitro Experimente nicht die Reaktion des lebenden Gewebes nachstellen können.
- nur in vivo das komplexe Gefüge einer ischämisch verursachten Wunde nachgestellt werden kann.

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

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

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

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

Eine Rückenmarksischämie mit Querschnittssymptomatik ist eine schwerwiegende Komplikation im Rahmen der operativen Versorgung von thorakoabdominellen Aortenaneurysmen. Das Ziel dieser Studie ist es, den protektiven Effekt eines Medikamentes in einem Rattenmodell nach Verursachung einer Rückenmarksischämie zu testen.

zu erwartender Nutzen: Unsere Hypothese ist, dass die Verabreichung des Medikamentes vor Verursachung einer Rückenmarksischämie, eine Reduktion der Bildung von freien Radikalen und somit eine Verminderung des durch die eingeschränkte Durchblutung verursachten Schadens bewirkt. Anhand eines bereits etablierten Modells an Ratten soll dieser protektive Effekt genauer untersucht werden, sodass Tiere die mit dem Medikament vorbehandelt wurden ein besseres neurologisches Outcome aufweisen sollen als Tiere in einer Kontrollgruppe. Anhand histopathologischer, immunhistochemischer und molekularbiologischer Tests kann dann der genaue Mechanismus auf Enzymebene untersucht werden um wichtige Erkenntnisse für die zukünftige Forschung des Medikamentes mit potentiell Einsatz der Substanz im klinischen Alltag zu erzielen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: In Inhalationsnarkose mit Isofluran in Kombination mit einer Injektionsnarkose mit Fentanyl und Midazolm wird die Arteria femoralis freigelegt und ein Fogarty-Katheter bis in die Aorta descendens eingebracht. Zusätzlich wird die Arteria carotis links und die Schwanzarterie zur intraarteriellen Druckmessung freigelegt und kannüliert. Durch eine 10 minütige Ballonokklusion der Aorta descendens wird eine Klemmung der Aorta simuliert und eine Rückenmarksischämie verursacht, wodurch es zu einer Querschnittssymptomatik der Tiere kommt.

2. Art und Anzahl der Tiere

138 Ratten

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

Vermeidung: Neurologische Komplikationen wie Paraplegie verursacht durch Rückenmarksischämie während einer konventionellen Operation zur Behandlung von thorakoabdominellen Aortenaneurysmen tritt mit einer Inzidenz von 5-12 % auf. Um die neuroprotektive

Wirkung des Medikaments zu testen ist ein Tierversuchsmodell notwendig, da die Verursachung einer Rückenmarksischämie in einem in-vitro Modell nicht möglich ist. Diese Operationsmethode ist aufgrund der anatomischen Verhältnisse bzw. Größe an Mäusen nicht durchführbar, weshalb ein Rattenmodell gewählt wurde. Wie unten beschrieben wurde versucht die Anzahl der Tiere auf ein Minimum zu reduzieren um gerade noch signifikante Ergebnisse zu erzielen.

Verminderung: Die Tieranzahl pro Gruppe wurde entsprechend einer Power Kalkulation so gewählt, dass ein signifikantes Ergebnis zu erwarten ist. Es wird dafür die Mindestanzahl von 15 Tieren pro Gruppe gewählt. Es werden insgesamt 8 Gruppen zu je 15 Tieren benötigt, es ist mit einer Ausfallsrate von 15% zu rechnen, sodass eine Gesamtzahl von 138 Ratten für die Studie benötigt wird. Die angeführten Gruppen sind essentiell um die Ergebnisse miteinander vergleichen und um unspezifische Ergebnisse auszuschließen zu können.

Verfeinerung: Alle Tiere werden nach einer Akklimatationszeit von mindestens einer Woche operiert um negative Auswirkungen des Transports zu vermindern. Die Tiere werden in Gruppen von maximal 5 Tieren pro Typ IV Käfig gehalten. Dieser wird regelmäßig umgesetzt und alle Tiere mit frischen Wasser und Futter versorgt. Postoperativ werden die Tiere einzeln gehalten um Verletzungen durch andere Tiere zu vermeiden. Während des Versuchs erhalten die Tiere eine adäquate Anästhesie, Analgesie, Flüssigkeitsmanagement und unterstützende Therapie (Augencreme, Wärmeplatte, etc.). Um inadäquates Leiden zu vermeiden wurden humane Endpunkte gewählt (siehe Tierversuchsantrag).

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. Mai 2023 vorgesehen.

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

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

Sehnen sind ein schwach vaskularisiertes, bradytrophes Gewebe, daher ist der Heilungsverlauf nach Verletzungen oder chronischen Entzündungen langsam und verläuft zumeist unvollständig. Es kommt üblicherweise nicht zu einer Neubildung von intaktem Sehngewebe, sondern zur Bildung eines hyperzellulären, stark vaskularisierten Narbengewebes mit desorganisierter Matrix und schlechteren biomechanischen Eigenschaften. Die genauen Ursachen für dieses fehlende Regenerationsvermögen sind noch weitgehend unverstanden. Eine bedeutende Rolle, besonders im frühen Stadium der Heilung, kommt den eingewanderten Makrophagen zu, die einerseits Zell- und Gewebsdebris phagozytieren, andererseits aber auch ein inflammatorisches Milieu erzeugen, das auch auf die umgebenden Zellen wirkt. Eine funktionelle Besonderheit von Sehnen ist dass auf in der Sehne befindliche Zellen, egal ob nativ oder eingewandert, eine ständige mechanische Stimulation wirkt. Dass diese für die Homöostase von Sehnenzellen bedeutend ist, ist bereits sehr gut untersucht. Wie diese jedoch auf Makrophagen wirkt, die in Folge einer Verletzung einwandern, ist noch vollkommen unverstanden. Das Ziel dieser in vivo Experimente ist nun die Untersuchung des Zell-Biomaterial-Kontaktes in einer realitätsnahen mechanischen Umgebung. Diese Experimente ermöglichen die Untersuchung der Interaktion von Bindegewebs- und Immunzellen und helfen, das Verständnis der Gewebereparatur nach Verletzungen zu verbessern.

Zu erwartender Nutzen: Angesichts der zunehmend anerkannten Wichtigkeit der Entzündung als Hauptinitiator einer Sehnenkrankung ist ein besseres Verständnis der genauen Rolle der Makrophagen in den Gewebeheilungsprozessen, insbesondere ihrer Reaktion auf implantierte Konstrukte, entscheidend. Wir erhoffen uns potentiell heilungsfördernde Biomaterial-Designfaktoren herauszukristallisieren welche die Entzündungsantwort limitieren.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere, deren eine Hintergliedmaße immobilisiert wurde, weisen auf diesem Bein eine Hemiparese auf, können ihren Gang aber durch stärkere Belastung des contralateralen Hinterbeins gut kompensieren. Der operative Eingriff führt in manchen Fällen zu einer leichten Schwellung des umgebenden Gewebes, dies sollte sich erfahrungsgemäß innerhalb weniger Tage normalisieren.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für das beantragte Projekt werden insgesamt 96 adulte, ca. 3 Monate alte, männliche Sprague Dawley Ratten verwendet.

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

Vermeidung: Ein Tierversuch ist in unserem Projekt unabdingbar, da der Effekt von Mechanostimulation auf Makrophagen in einer Defektsituation nur in vivo endgültig gezeigt werden kann. Die komplizierten Wechselwirkungen auf zellulärer Ebene, der Einfluss des Körpergewichts und der Bewegung auf die Heilung lassen sich derzeit mit Ersatzmethoden noch nicht darstellen.

Verminderung: Mithilfe einer statistischen Stichprobenberechnung ermitteln wir die geringste mögliche Versuchstieranzahl, die nötig ist um statistisch signifikante Ergebnisse zu erhalten.

Verfeinerung: Die Tiere werden auch nach dem Eingriff in ihren gewohnten Gruppen gehalten, um psychischen Stress zu vermeiden. Sie erhalten zudem ein spezielleres, weiches Einstreu, um keine Reizung der Hautnaht zu auszulösen. Daneben erhalten sie Nistmaterial zur weiteren Beschäftigung und sie werden engmaschig klinisch untersucht, um ggf. entsprechend reagieren zu können (z.B. Analgesie, Abbruch).

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

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

zu erwartender Nutzen: In den letzten Jahren hat sich herausgestellt, dass für das Wachstum von Tumoren nicht nur die Tumorzellen selbst sondern auch die Zellen in ihrer Umgebung, zum Beispiel Bindegewebszellen, Gefäßzellen und Zellen des Abwehrsystems, verantwortlich sind. Tumore sind dementsprechend sehr komplexe Erkrankungen und es ist sehr schwierig, diese Komplexität in Zellkultursystemen nachzustellen. Zellen des Abwehrsystems lösen Entzündungen aus und regulieren sie, mit dem Ziel, einen gesunden Zustand zu erhalten. Tumore können dieses Kontrollsystem missbrauchen und zu ihrem Vorteil nutzen. Wachstumsfaktoren wie der Epidermale Wachstumsfaktor Rezeptor (EGFR) sind Botenstoffe, die Signale zwischen verschiedenen Zelltypen senden und Wachstum und Überleben von Zellen bewirken. In vielen Tumoren ist der EGFR vermehrt aktiv und wir konnten vor kurzem zeigen, dass in Leber- und Dickdarmkrebs die Produktion des EGFR in Abwehrzellen ein schlechter prognostischer Faktor ist. Es ist wichtig zu verstehen, wie die Zusammenarbeit zwischen Abwehrzellen und Tumorzellen in diesen Fällen funktioniert und zum Tumorwachstum beiträgt. Deswegen ist es unumgänglich, Modellorganismen wie die Maus zu verwenden, um die Mechanismen der Krankheitsentstehung bei Darm- und Leberkrebs zu untersuchen und Methoden zur Hemmung dieses entzündlichen, tumorfördernden Mechanismus zu entwickeln. Das Verständnis dieser Wechselwirkungen soll neue Erkenntnisse über die Entstehungsmechanismen von Tumoren und neue Ansätze zur Therapie bringen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die erwartete Belastung ist für die 30% der Mäuse maximal gering und für ca. 70% der Mäuse mittel. Die häufigsten Ursachen für Belastung stellen Injektionen und die Induktion von Tumoren durch Genmodulation sowie durch Operation dar.

2. Art und Anzahl der Tiere

15.992 Mäuse unterschiedlichen Genotyps vorwiegend aus Eigenzucht für 5 Jahre

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

Vermeidung: Unsere Fragestellungen untersuchen die Wechselwirkungen zwischen verschiedenen Zellpopulationen. Zur Vermeidung von Tierversuchen werden vorab immer Untersuchungen und Experimente in Zellkultursystemen durchgeführt. In Zellkultursystemen, in denen mehrere

Zelltypen wie Immunzellen und Tumorzellen und Bindegewebszellen miteinander in 3D Systemen (Organoide) kultiviert werden können, kann ein Teil der Fragestellungen beantwortet werden.

Verminderung: Die Ergebnisse aus den Zellkulturexperimenten sind Grundlage für die Entscheidung, ob Tierversuche erfolgversprechend sind. Durch den Einsatz neuer bildgebender Verfahren ist es möglich, die Zahl der Versuchstiere zu reduzieren, da nicht für jeden Untersuchungszeitpunkt extra Versuchstiere benötigt werden.

Verfeinerung: Die Haltung der Tiere erfolgt unter standardisierten Haltungs- und Zuchtbedingungen und erfolgt durch fachlich kompetentes Personal. Bei allen Methoden, die zu einer Belastung der Tiere führen, wird, wenn notwendig, Analgesie und Anästhesie durchgeführt. Die Tiere werden während der Haltung und während eines Versuches regelmäßig beobachtet und für jeden experimentellen Ansatz werden auch klare Abbruchkriterien definiert, um unnötige Schmerzen und ein Leiden der Tiere zu vermeiden.

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

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

Noch nie war die Anzahl an übergewichtigen Personen so groß wie heutzutage.

Folgeerkrankungen von Übergewicht und Fettsucht gehören zu den häufigsten Todesursachen des 21. Jahrhunderts. Die Therapie des Übergewichts stellt für die medizinische Forschung eine große Herausforderung dar. Das Fettgewebe ist nicht nur als passiver Speicher für überschüssige Energie anzusehen, sondern als ein Gewebe, das viele Hormone und Botenstoffe bildet und diese in den Blutkreislauf abgibt. So leiden übergewichtige Menschen aufgrund ihres hohen Körperfettanteils meist an einer chronischen Entzündung. Studien unserer Arbeitsgruppe haben gezeigt, dass Mäuse, denen das ATGL Gen fehlt, erhöhte Mengen an perivaskulärem Fettgewebe (Fett, das die Gefäße umhüllt) besitzen, welches eine chronische Entzündungsreaktion hervorruft. Im vorliegenden Projekt sollen Mäuse gezüchtet werden, in denen die ATGL nur in den verschiedenen Fettgeweben vorkommt. Diese Mäuse sollen biochemisch (Entzündungsmarker, Insulintoleranz) und funktionell (Gefäßfunktion) untersucht werden.

zu erwartender Nutzen: Durch diese Studien erwarten wir, den Zusammenhang zwischen Entzündung im Fettgewebe und Gefäßfunktion besser zu verstehen und so Ansatzpunkte für die Therapie von Herz-Kreislauf-Erkrankungen infolge von Übergewicht und Fettsucht aufzuzeigen.

zu erwartender Schaden: Die Versuche werden an 10 Wochen alten Mäusen durchgeführt. Die Tiere haben in diesem Lebensabschnitt eine hohe Lebensqualität. Für den Insulintoleranztest wird den Mäusen einmalig Insulin in die Bauchdecke injiziert und dann mehrmals aus einer einmal gesetzten kleinen Wunde an der Schwanzspitze eine sehr kleine Menge Blut abgenommen.

2. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere:

800 Labormäuse (48 Monate)

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

Vermeidung: Alle Experimente werden unter größtmöglicher Vermeidung von körperlichem und psychischem Stress von erfahrenen Mitarbeitern unter Einhaltung hoher Qualitätsstandards durchgeführt. Sollten Vorversuche notwendig sein, werden diese nicht an Tieren sondern an isolierten Proteinen bzw. kultivierten Zellen durchgeführt.

Verminderung: Durch Verwendung biostatistischer Verfahren wird versucht, die Anzahl an Versuchstieren auf ein notwendiges Minimum zu reduzieren.

Verfeinerung: Obwohl alle verwendeten Methoden bereits sehr gut etabliert sind, versuchen wir ständig, diese weiter zu optimieren. Durch ein Maximum an Standardisierung in Haltung (Futter, Streu, Nestmaterial, Raumklima) sowie durch die Betreuung durch qualifiziertes und geschultes Personal ist eine Markierung erfolgt im Zuge der Markierung mittels Ohrlochung, wodurch eine wiederholte Belastung der Tiere vermieden wird. Beim Insulintoleranztest ist ständig ein qualifizierter Mitarbeiter anwesend.

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

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

zu erwartender Nutzen: Jüngsten Zahlen zufolge sind 42% der österreichischen Bevölkerung übergewichtig oder fettsüchtig (adipös). Der Anteil an massiv Übergewichtigen steigt rapide und liegt in Österreich bereits bei 11%. Fettleibigkeit (Adipositas) und daraus resultierende Folgeerkrankungen wie z. B. Typ 2 Diabetes (nicht-insulinabhängiger Diabetes), Herz-Kreislaufkrankungen, Atherosklerose und Leberverfettung stellen ein zunehmendes Gesundheitsproblem dar. Die dramatische Zunahme der Adipositas geht Hand in Hand mit einer weltweiten Zunahme an Typ 2 Diabetes. Das Fehlen von Lipasen, welche für die Fettverwertung im Körper zuständig sind und deren weitere Erforschung ist ein Projektziel dieses Antrages. Speziell die nicht vorhandenen Lipasen und deren Auswirkungen auf Thrombozyten und in weitere Folge das Herz-Kreislauf-System sollen erforscht werden.

Laut einer im Jahr 2000 veröffentlichten Studie in Fachmagazin Nature wird das Körpergewicht mit einer ähnlichen Wahrscheinlichkeit auf die Kinder vererbt, wie die Körpergröße. Dies spricht eindeutig für eine genetische Komponente. Wir wollen daher die Auswirkungen des Fehlens verschiedener Lipasen in der Plazenta auf die Nachkommen untersuchen. Dies könnte die Grundlage für Therapieansätze zur Verbesserung von metabolischen Erkrankungen sein.

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

2. Art und Anzahl der Tiere

2032 Mäuse

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

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

Verminderung: Bei der Erstellung des Versuchsplanes wurde darauf geachtet, dass die Versuche mit der geringstmöglichen Belastung und kleinstmöglichen Anzahl an Versuchstieren durchgeführt werden. Außerdem wird großer Wert daraufgelegt, die Projektversuche nur mit jener minimalen Anzahl an Mäusen durchzuführen, die statistisch notwendig ist, um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten. Neben Blut werden sämtliche Gewebe in standardisierter Weise entnommen und nach

Vorkühlung in Methylbutan in flüssigem Stickstoff und nach Formalinfixierung in Paraffin bzw. bei -80°C gelagert, um eventuell nötige Nachbestimmungen unter Minimierung des Tierbedarfs durchführen zu können.

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

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

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

Das Projekt hat sich zum Ziel gesetzt, den Einfluss der sogenannten „Natural Killer“ (NK-Zellen), das sind wichtige Zellen der angeborenen Immunantwort, auf den Verlauf von „Myeloproliferativen Neoplasien“ (MPN) zu untersuchen. MPNs sind eine Gruppe bösartiger Knochenmarks-Erkrankungen mit einer übermäßigen Vermehrung bösartiger Blutzellen. Im Verlauf der Erkrankung kommt es zur Vernarbung des Knochenmarks und somit zum Versiegen der Blutbildung. NK-Zellen sind spezielle weiße Blutkörperchen, welche in der Abwehr von Viren, aber besonders in der Bekämpfung von Krebszellen eine zentrale Rolle spielen. In Vorarbeiten konnten wir zeigen, daß NK Zellen bei PatientInnen mit MPN verändert sind. Im vorliegenden Projekt soll nun untersucht werden, ob das Fehlen von NK-Zellen in einem Mausmodell für "Myeloproliferativen Neoplasien“ zu einer Veränderung des Krankheitsverlaufs führt. Zusätzlich wird der Einfluss zweier wichtiger Medikamente für diese Gruppe bösartiger Erkrankungen, das immunsuppressive Ruxolitinib und das immun-aktivierende Interferon-alpha auf die NK-Zellen in Mäusen mit MPNs untersucht.

zu erwartender Nutzen: Das vorliegende Projekt ermöglicht einen tieferen Einblick in die Interaktion zwischen dem Immunsystem und "Myeloproliferativen Neoplasien“ und kann möglicherweise die Rolle von NK-Zellen in der Entstehung und im Verlauf der MPNs. Zudem soll der Aspekt bearbeitet werden, ob Wirkung und Nebenwirkung moderner MPN Medikamente durch eine Veränderung von NK Zellen erklärbar ist.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Da es sich um eine bösartige Erkrankung handelt, ist ein möglicher teilweiser hoher Schaden für die verwendeten Tiere leider zu erwarten. Bei Fortschreiten der Erkrankung kann es zur Verschlechterung des Allgemeinzustandes, verstärkter Atmung, Veränderungen des Fells sowie bei Maximalausprägung der Erkrankung zu Kombinationen dieser Symptome sowie zusätzlich Verfärbungen des Unterbauchs, Rektumprolaps oder Paralysen kommen.

Direkt am Versuchstier durchgeführte Maßnahmen beschränken sich auf intravenöse/intraperitoneale Injektionen und orale Zufuhr von Substanzen, welche unter entsprechend möglichst schmerzfreien Bedingungen durchgeführt werden und daher für das Tier keine wesentliche Schmerzbelastung darstellt.

Zusätzlich erfolgt in einem Telexperiment eine Knochenmarkstransplantation, wobei die Versuchstiere dabei vor der Transplantation einer Bestrahlung unterzogen, wobei hier Beschwerden wie z.B. vorübergehende Antriebslosigkeit/Müdigkeit ohne signifikante Schmerzen zu erwarten sind.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

600 Mäuse

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

**Vermeidung:** Die Verwendung alternativer Methoden zu Tierversuchen ist gegenwärtig zur Untersuchung von "Myeloproliferativen Neoplasien" nur beschränkt möglich. Wo möglich und sinnvoll wird der Einsatz von Zellkulturmodellen bevorzugt.

**Verminderung:** Reduktion der Anzahl der Tiere auf ein Minimum, wo eine statistisch sichere Aussage noch möglich ist. Detaillierte Aufzeichnungen und Protokollierung der Informationen, um nachfolgende Projekte zu vermeiden.

**Verfeinerung:** Die Tiere werden in Kleingruppen (3-5 Tiere) gehalten, um eine soziale Interaktion und somit eine psychische Gesundheit zu ermöglichen. Ein Häuschen & Nestmaterial als Rückzugsmöglichkeit werden in jedem Käfig bereitgestellt.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. Mai 2023 vorgesehen.

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

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

Ziel dieses Projektes ist es eine orale Formulierung für den BCS Klasse IV (niedriges Permeationsvermögen sowie niedrige Löslichkeit) Wirkstoff Furosemid zu entwickeln. Hierbei wurden neuartige permeationsfördernde Polymere namens Cyclodextrine synthetisiert und modifiziert. Furosemid wurde ausgewählt da es schlecht löslich ist und eine geringe Membranpermeabilität aufweist. Durch die neue Formulierung soll die orale Bioverfügbarkeit deutlich gesteigert werden und die Patienten Compliance verbessert werden.

zu erwartender Nutzen: Mit dieser Studie sollen wichtige Erkenntnisse über die orale Abgabesysteme gewonnen werden, welche die orale Bioverfügbarkeit verbessern können. Die Erhöhung der Bioverfügbarkeit soll zusätzlich durch spezielle Komponenten der Formulierung erreicht werden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Es werden keine operativen Eingriffe durchgeführt. Während der gesamten Versuchsdauer sind die Tiere minimalem Stress durch Verabreichung einer nicht-toxischen Substanz (per oral, intravenös) und mehreren Blutentnahmen ausgesetzt.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Für den Versuch werden 24 männliche Sprague-Dawley Ratten benötigt. Diese werden in vier Gruppen à 6 Tiere unterteilt.

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

Vermeidung: Damit die Tierversuche nicht unnötig durchgeführt werden, wurden bereits vorab in vitro Experimente praktiziert. Es stehen keine Ersatzmethoden für diese Art pharmakokinetischer Untersuchungen zur Verfügung. Es wird immer geprüft, ob es zur Beantwortung der wissenschaftlichen Fragestellung ausreicht, auf einfache Organismen wie Bakterien oder Zell- und Gewebekulturen, zurückzugreifen. Da jedoch keine adäquaten tierversuchsfreien Ersatzmethoden zur Verfügung stehen, sind die Versuche am Tier unerlässlich.

Verminderung: Die Anzahl der Versuchstiere wird auf ein notwendiges Minimum reduziert. Dazu tragen ein gut durchdachtes Versuchsdesign und statistische und methodische Optimierungen bei.

Verfeinerung: Die Tiere werden artgerecht gehalten, also mit genügend Platz (2 Tiere pro Käfig) und in einer Umgebung, die ihr Wohlbefinden fördert. Durch die ständige Verbesserung der

Untersuchungsmethoden, wie beispielsweise spezielles Tiertraining (Gewöhnung des Tieres ans Prozedere und den Experimentator), werden Stress und Leiden so weit wie möglich reduziert. Die Blutentnahme sowie die Applikation werden ausschließlich von routiniertem und geschultem Personal 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

Fast jeder Schimmel (weißes Pferd) entwickelt im Laufe seines Lebens mindestens ein malignes Melanom, also einen bösartigen Tumor der hautpigmentbildenden Zellen. Typische Prädilektionsstellen sind die Schweifrübenunterseite, die Perianalregion, die Genitalien, die Augenlider, die Lippen und die Luftsäcke. Bisherige Therapieansätze sind nicht immer effektiv und darüber hinaus nur mit großem Aufwand und Risiken für Mensch als auch Tier durchzuführen. Die in Rinden bestimmter Bäume vorkommende Betulinsäure und deren synthetische Derivate wurden in Voruntersuchungen bereits gegen verschiedene equine, canine und humane Melanomzelllinien als wirksam getestet. Ziel dieser Studie ist es, die Wirksamkeit dieser Wirkstoffe, die jeweils in einer pharmazeutischen Formulierung (Creme) eingearbeitet sind, gegen equine Melanome an Pferden zu untersuchen.

zu erwartender Nutzen: Eine topische, dermale Behandlung ist ein völlig neuer Ansatz zur Therapie des Melanoms bei Pferden. Sofern die Wirksamkeit der Arzneimittelformulierung(en) gegen das equine Melanom gezeigt werden kann, könnte dies ein neuer Therapieansatz gegen Hautkrebs bei Pferden darstellen. Da die Wirkstoffe auch in humanen Tumorzelllinien gute Wirksamkeit zeigen, ist bei positivem Verlauf dieses Projektes eine Adaption der Ergebnisse auf humane Anwendungen möglich.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Belastungen für die Tiere ergeben sich durch Blutentnahmen aus den Jugularvenen und Feinnadelaspirationen aus den Tumorgeweben.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

18 Pferde

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

Vermeidung: Die zytostatische und zytotoxische Wirkung der zu testenden Wirkstoffe auf equine Melanomzellen konnte bereits im Zellkulturversuch nachgewiesen werden. Mittels in vitro Permeationsversuchen konnte gezeigt werden, dass die Wirkstoffe in die gewünschten Hautschichten eindringen und dort antikanzerogene Konzentrationen erreicht werden können (Ergebnisse noch nicht veröffentlicht). Nur durch in vivo Versuche an noch im Gesamtorganismus integrierter equiner Tumor-Haut kann eine Wirksamkeit gegen das equine Melanom endgültig

beurteilt werden, daher ist die Verwendung lebender Tiere nicht durch alternative Methoden zu ersetzen.

Verminderung: Durch eine statistische Abschätzung wurde die Tierzahl für diesen Versuch ausgewählt. Es werden nicht mehr Tiere verwendet, als für die Generierung aussagekräftiger Ergebnisse notwendig ist. Zeigt das Versuchsvorhaben Erfolg, so könnten zukünftige Tierversuche in diesem Forschungsbereich vermindert oder gar vermieden werden.

Verfeinerung: Die Eingriffe der Feinnadelaspiration und Venenpunktion werden von einer erfahrenen Tierärztin/einem erfahrenen Tierarzt durchgeführt, um einen raschen, präzisen und möglichst stressfreien Ablauf zu gewährleisten. Die neuartigen Cremes werden an bereits Melanom-erkrankten Pferden eines großen Gestüts durch regelmäßiges Auftragen auf die Tumorstellen geprüft, sodass die Tiere in ihrer gewohnten Umgebung und Herde verbleiben können.

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

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

Das Ziel des Projekts ist es, verbesserte, individualisierte Dosierungen der „Reserveantibiotika“ Ceftaroline und Linezolid beim akuten Lungenversagen (acute respiratory distress syndrom = ARDS) zu finden. Konzentrationsveränderungen von Ceftaroline und Linezolid im Blut, Lungengewebe und Bronchialsystem sollen im gesunden und geschädigtem Lungengewebe (unilaterales ARDS Model=unilateraler Lungenschaden) zeitgleich evaluiert werden. Die Anreicherung der Antibiotika Ceftaroline und Linezolid im geschädigten Gewebe bei akutem Lungenversagen ist entscheidend für den Therapieerfolg. Konzentrationsänderungen an den Wirkorten durch Veränderung der Mikrozirkulation in entzündetem Lungengewebe können maßgeblichen Einfluss auf die Wirksamkeit der Antibiotika haben. Die Notwendigkeit einer Dosisanpassung wäre in diesem Fall von entscheidender Bedeutung für den Therapieerfolg, weil dieser von der Zeit abhängt, in der die Gewebekonzentration die minimal inhibitorische Grenze überschreitet (time above MIC). Sollten die Antibiotika im geschädigten Gewebe durch verminderten Blutfluss (=verminderten Abtransport der Antibiotika) in höherer Konzentration als im gesunden Gewebe vorkommen, könnte man die systemisch verabreichte Dosis vermindern und dadurch die Nebenwirkungen der Substanzen reduzieren. Sollte die Antibiotikakonzentration im geschädigten Lungengewebe im Vergleich zum gesunden Gewebe reduziert sein, wäre eine Dosiserhöhung notwendig, um die optimale Wirkung zu sichern.

zu erwartender Nutzen: Verbesserte Dosierungsrichtlinien der Antibiotika Ceftaroline und Linezolid bei Patienten mit schwerem Lungenschaden auf Grund von Lungenentzündung mit resistenten Keimen (MRSA); die Notwendigkeit einer Dosisanpassung soll überprüft werden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere werden am Ende des Versuches, der unter Vollnarkose stattfindet, durch eine Überdosis während Vollnarkose schmerzlos getötet.

2. Art und Anzahl der Tiere

10 weibliche Schweine; Gewicht ca. 50 kg bis 60kg

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

Vermeidung: Die Versuchstiere durchlaufen das gesamte Experiment unter Vollnarkose, die vergleichbar einer Narkose bei einem operativen Eingriff am Menschen geführt wird. D.h. die Tiere

werden analgisiert (schmerzbefreit), sediert (=Tiefschlaf) und relaxiert (=Muskelentspannung). Das Tier wird am Ende des Experiments in Vollnarkose durch eine Überdosis von Analgetika (Schmerzmittel), Sedativa (Schlafmittel) und K<sup>+</sup>-Lösung völlig schmerzlos getötet.

Verminderung: Dadurch, dass jedes Tier seine eigene Kontrolle darstellt (der Lungenschaden wird nur einseitig erzeugt. Eine Lunge bleibt intakt und dient als „Kontrollorgan“.)

Verfeinerung: Durch die gewonnenen Ergebnisse soll die Antibiotikadosierung beim Lungenversagen z.B. durch Pneumonie am Menschen adaptiert werden. Für die Tierart wäre eine verbesserte Dosierung von veterinärmedizinisch verabreichten Antibiotika bei Infektionen vorstellbar.

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

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

Es werden knockout Mäuse zur Erforschung der physiologischen Rolle der kanonischen Transient Rezeptor Potential (TRPC) Ionenkanäle gezüchtet. Diese Ionenkanäle spielen auch eine bedeutende Rolle bei physiologischen Prozessen in verschiedenen Gewebetypen des Menschen, wobei deren Beitrag in vielen Fällen noch immer unklar und eine selektive pharmakologische Beeinflussung noch nicht möglich ist. Die TRPC1-7-knockout-Maus ermöglicht das Beobachten der vom TRPC-Kanal unbeeinflussten Funktion verschiedener Zelltypen und Geweben, was einen entscheidenden Schritt für die Erschließung dieser Kanäle als medizinisch-pharmakologischen Ansatzpunkt bedeutet.

zu erwartender Nutzen: Diese transgenen Tiere ermöglichen, verschiedene physiologische Prozesse ohne Einflussnahme der sieben bekannten TRPC Isoformen zu untersuchen. Dies ist wissenschaftlich von großer Bedeutung, da sich diese Ionenkanäle gegenseitig funktionell ersetzen können und daher Einzelprotein knockout-Experimente wenig Aussagekraft haben. Aus diesem Grund stellen Experimente mit diesen Tieren einen großen Wissensgewinn in Aussicht, der in weiterer Folge zur Entwicklung neuer therapeutischer Ansätze in der Pharmakologie und Humanmedizin genutzt werden kann.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Aufgrund langjähriger Beobachtung hat sich gezeigt, dass kaum bis keine Beeinträchtigungen der Vitalität dieser transgenen Tiere gegeben sind. Die während der Lebenszeit der Tiere geplanten Untersuchungen erfolgen mit in unserer Einrichtung bereits langjährig etablierten Methoden, die sicherstellen, dass das Tierleid auf ein absolutes Minimum begrenzt wird.

2. Art und Anzahl der Tiere

Im Zeitraum von 5 Jahren sollen 1000 Mäuse gezüchtet und für die geplanten Versuche verwendet werden.

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

Vermeidung: Da TRPC-Ionenkanäle in vielen Zelltypen vorhanden sind, besteht die grundsätzliche Möglichkeit, dass sich im knockout Versuchstier physiologische Phänomene in unterschiedlichen Geweben zeigen, welche in ihrer Ausprägung kaum vorhersehbar sind, Der Ansatz einer in-vivo

Untersuchung ist somit der einzig mögliche Zugang, mit dem die grundlegende Bedeutung der TRPC-Ionenkanäle in Säugetieren erfasst werden kann.

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

Verfeinerung: Die Tiere werden von geprüftem Tierpflegeteam versorgt und in regelmäßigen Abständen tierärztlich überprüft. Für das Wohl und die Steigerung des Bruterfolges werden die Tiere mit Nestmaterial, Häuschen und Tunneln versorgt.

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

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

Aus Vorarbeiten ergeben sich Hinweise darauf, dass in Fahd1 KO Mäusen eine phänotypische Veränderung der Myocardfunktion vorliegen könnte, welche in dem vorliegenden Antrag genauer charakterisiert werden soll. In Querschnitt- und longitudinalen Studien soll die Herzfunktion von WT und Fahd1-KO Mäusen vergleichend untersucht werden, unter Anwendung von Herz-Ultraschall, Elektromyographie, NMR imaging und weiteren Methoden. Zudem soll durch LAD-Ligation der Einfluss von Fahd1 auf die Initiierung und Progression von Myocard-Infarkten analysiert werden.

zu erwartender Nutzen: Die vorgeschlagenen Untersuchungen werden im Erfolgsfall die Rolle von FAHD1 im Stoffwechsel des Herzens der Maus ans Licht bringen, mit Implikationen für ein besseres Verständnis von Herzerkrankungen des Menschen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: In Querschnitt- und longitudinalen Studien soll die Herzfunktion von WT und Fahd1-KO Mäusen vergleichend untersucht werden, unter Anwendung von Herz-Ultraschall, Elektromyographie, NMR imaging und weiteren Methoden. Zudem soll durch LAD-Ligation der Einfluss von Fahd1 auf die Initiierung und Progression von Myocard-Infarkten analysiert werden. Die maximale Belastung der Versuchstiere ist aufgrund einer allfälligen Narkose als mittel einzustufen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Insgesamt werden 180 Mäuse für die Experimente verwendet.

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

Vermeidung: Wo möglich, werden Tierversuche durch Alternativmethoden ersetzt. Es wird in jedem Fall geprüft, ob es zur Beantwortung der wissenschaftlichen Fragestellung ausreicht, auf einfache Organismen wie wirbellose Tiere zurückzugreifen oder Zell- und Gewebekulturen als Ersatzmethoden zu verwenden. Für alle Detailfragestellungen, die in Zellkulturexperimenten und Gewebekulturen beantwortbar sind, werden Tierversuche unterlassen.

Verminderung: Die Anzahl der Versuchstiere wird im vorliegenden Antrag auf ein notwendiges Minimum reduziert. Das Projekt ist stufenweise aufgebaut, und die beantragten Experimente dienen primär dem Zweck, die Hypothese zu erhärten, dass durch eine mitochondriale Dysfunktion im Herz von Fahd1-KO Mäusen die Herzfunktion wesentlich beeinträchtigt ist. Nur bei

positiven Ergebnissen, d.h. Bestätigung der o.g. Hypothese, werden weitergehende Experimente geplant und dann in einem Amendment zum jetzigen Antrag zusätzlich beantragt.

Verfeinerung: Die Tiere werden artgerecht gehalten, also mit genügend Platz und in einer Umgebung, die ihr Wohlbefinden fördert. Durch die ständige Verbesserung der Untersuchungsmethoden, wie beispielsweise Betäubung, Narkosen und minimal-invasive Beobachtungsmethoden, werden Stress und Leiden so weit wie möglich reduziert. Für sämtliche Messungen sind modernste Analyseverfahren bzw. -geräte vorgesehen, sodass Effekte mit einer möglichst geringen Tierzahl detektiert werden können. Die Tiere werden täglich visitiert und regelmäßig klinisch untersucht.

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

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

Die komplexen, zellulären Signalnetzwerke, die an Prozessen wie Infektion, Entzündung und Autoimmunität beteiligt sind, sind evolutionär konserviert. Erkenntnisse aus Untersuchungen mit Mäusen können auf veterinär-relevante Spezies und Erkrankungen sowie auf den Menschen übertragen werden. Ziel dieses Projekts ist es, die Moleküle dieser Signalwege, ihre Interaktions- und Kommunikationspartner sowie ihre Wirkungsweise mit Hilfe von genmodifizierten Mausmodellen in den oben genannten Krankheitsprozessen zu identifizieren und charakterisieren.

Zu erwartender Nutzen: Dieses Projekt ermöglicht die Erforschung der Grundlagen der zellulären und molekularen Pathomechanismen bei Infektion, Entzündung und Autoimmunität und soll neue Erkenntnisse über die untersuchten Signalwege liefern. Langfristig kann dieses Wissen die Entwicklung von neuen Behandlungsmöglichkeiten von Infektionen, Entzündungen und Allergien unterstützen.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Infektionen mit bakteriellen und viralen Erregern sowie die Applikation von pathogenen Substanzen sind für die Tiere dosis- und Applikationsweg-abhängig belastend.

2. Art und Anzahl der Tiere

12588 Mäuse

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

Vermeidung: In vitro Methoden können die lokalen und systemischen Signalwege, die an Prozessen von Infektion, Entzündung und Autoimmunität beteiligt sind nur unzulänglich simulieren. In ihrer ganzen Komplexität können diese Signalwege/Wechselwirkungen nur in einem lebenden Gesamtorganismus (mit all seinen Organ- und Gewebebarrieren) studiert werden.

Verminderung: Durch die bestmögliche Versuchsplanung (unterstützt durch statistische Power Analysen) werden die optimalen Gruppengrößen festgelegt, um valide Ergebnisse zu ermöglichen. Durch enge Kooperation zwischen den Forschenden der einzelnen Teilbereiche, können viele Daten aus einem einzelnen Tier gewonnen und so die Tierzahlen reduziert werden.

Verfeinerung: Die Unterbringung und Haltung der Tiere erfolgt unter standardisierten Bedingungen in Käfigen mit autoklavierbarer Einstreu (Holzschnitzel) sowie Nestbau- und

Versteckmaterial. Die Tiere haben ad libitum Zugang zu Futter (Pellets) und Wasser und werden von fachkundigem Personal betreut. Die Tiere werden täglich hinsichtlich Allgemeinzustand und -verhalten kontrolliert; ab Experimentbeginn wird enghäufiger kontrolliert um Anzeichen von Krankheitssymptomen und Schmerzen rechtzeitig zu erkennen und falls erforderlich (definierte Abbruchkriterien im Score Sheet) den Endpunkt für das betroffene Tier durch fachkundige Personen zu setzen.

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

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

Ziel dieses Forschungsprojektes ist die Entwicklung und Bereitstellung eines Mausmodells, das gegenüber wichtigen Fluoreszenz-Reporterproteinen immunologisch tolerant ist und als Rezipient für Transplantationsversuche mit bestimmten fluoreszenzmarkierten Zellen und Geweben eingesetzt werden kann.

zu erwartender Nutzen: Wenn sich die selektive Toleranz von neu entwickelten Rezipienten gegenüber bestimmten Reporter-gen-exprimierenden Transplantaten mittels Gewebeverpflanzung erfolgreich zeigt, dann würde ein Mausmodell zur Verfügung stehen, welches die Verwendungsmöglichkeit zweier wichtiger Reporterproteine erweitert. Dies wäre ein wichtiger Beitrag der biomedizinischen Forschung auf dem Gebiet der Transplantation.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Das neue Mausmodell wurde mit einer selektiven Toleranz gegenüber Reporterproteinen ausgestattet. Spendertieren werden unter Anästhesie Hautproben entnommen, anschließend werden sie getötet. Den Rezipienten wird unter Anästhesie ein Hautstück entnommen und durch ein Transplantat ersetzt. Die Kontrolle der Transplantate erfolgt u.a. auch mit Einsatz des in vivo-Imaging Systems unter kurzzeitiger Inhalationsnarkose. Am Ende des Vorhabens werden die Rezipienten getötet.

2. Art und Anzahl der Tiere

108 Labormäuse (Mus musculus f. domesticus)

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

Vermeidung: Der Funktionstest kann nur am lebenden Tier mit einem intakten Immunsystem durchgeführt werden.

Verminderung: Der geplante Versuch beschränkt sich auf die geringste Anzahl an Tieren, die nötig ist, um verifizierte Ergebnisse zu erhalten. Bei den spezifisch toleranten Rezipienten wird keine Abstoßung der Transplantate, wie es bisher bei Wildtyp-Rezipienten der Fall ist, erwartet. Dadurch kann in künftigen Transplantationsversuchen die Anzahl der verwendeten Tiere reduziert werden.

Verfeinerung: Chronische Abstoßungsreaktionen, die mit entzündlichen Prozessen und folglich mit einer gewissen Belastung für das Tier einhergehen, werden mit dem neuen Tiermodell unterbunden. Die experimentellen Eingriffe erfolgen ausschließlich durch qualifiziertes Personal

und nach den neuesten Methoden. Die Tiere werden vor und nach der Operation — wenn möglich — in unveränderten Gruppen gehalten, um den Stress durch Einzelhaltung zu vermeiden. Nestbaumaterial und eine Versteckmöglichkeit (Papphäuser oder Röhren) werden angeboten.

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

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

Mit einer Prävalenz von etwa 25 % in der allgemeinen Bevölkerung zählt die nicht-alkoholische Fettlebererkrankung (NAFLD) weltweit zu den häufigsten Erkrankungen der Leber. Übergewicht und Insulinresistenz sind Hauptrisikofaktoren in der Entstehung von NAFLD. Ergebnisse von Studien mit abstinenten NAFLD-Patienten und gesunden Kontrollpersonen weisen darauf hin, dass an NAFLD erkrankte Personen deutlich höhere Nüchtern-Ethanolspiegel im Blut aufweisen als gesunde Kontrollen und dass dies mit einer verminderten Aktivität von alkoholabbauenden Enzymen einhergeht. Im vorliegenden Versuchsvorhaben soll nun untersucht werden ab welchem Zeitpunkt im Entstehungsprozess der NAFLD eine Verminderung der Enzymaktivitäten festzustellen ist. Zudem soll untersucht werden welchen Einfluss die Inhibierung der abbauenden Enzyme sowie die Gabe von spezifischen Antikörpern gegen entzündungsfördernde Botenstoffe auf die Entstehung der NAFLD hat.

zu erwartender Nutzen: Im geplanten Versuchsvorhaben sollen die molekularen Mechanismen, die der Erhöhung der Nüchtern-Ethanolspiegel sowie der Reduzierung der Aktivität alkoholabbauender Enzyme in der Entstehung der NAFLD zu Grunde liegen, untersucht werden, um so langfristig zur Entwicklung neuer Behandlungsstrategien bei der Entstehung der NAFLD beizutragen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Blut- und Gewebeentnahme erfolgt unter terminaler Narkose mit anschließender zervikaler Dislokation. Während des Versuchs sind geringe Belastungen zu erwarten. Die Mäuse werden engmaschig kontrolliert und bei auftretenden Abbruchkriterien aus dem Versuch entfernt.

2. Art und Anzahl der Tiere

Tierart: *Mus musculus*

Gesamtanzahl: 240

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

Vermeidung: Zum heutigen Zeitpunkt steht kein adäquates *in vitro* System zur Verfügung, das die zugrundeliegenden Mechanismen im Hinblick auf die Interaktion zwischen der intestinalen Mikrobiota, der Darmbarrierefunktion und der Leber sowie der vielzähligen, gewebespezifischen Zellpopulationen abbildet.

Verminderung:

1. Die Versuchstiere der einzelnen Gruppen werden unter standardisierten Bedingungen gehalten, so dass eine statistische Streuung innerhalb der Gruppen reduziert werden kann.
2. Die Bestimmung der Gruppengröße erfolgte aufgrund der im Rahmen früherer Tierversuche ermittelten Stichprobenstreuung der Zielparameter, sowie der Ergebnisse der A priori Poweranalyse mittels „GPower“.

Verfeinerung: Die Versuchstiere werden während des gesamten Versuchs in Gruppen gehalten und haben Zugang zu üblichem Enrichment, wie Einstreu, Häuschen, Nistmaterial, „non-nutritive“ Pellets, wie auch Nagehölzchen und auch Zugang zu Futter und Wasser. Außerdem werden die Versuchstiere täglich überwacht. Die Tiere erhalten eine terminale Narkose zur Blutabnahme. Zudem wurde die Anwendung schmerzloser Endpunkte (Abbruchkriterien) definiert.

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

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

Projektziele: Das vorliegende Projekt untersucht die Bedeutung von Körperfärbung in der Kommunikation von Fischen, speziell im Zusammenhang mit der Etablierung von sozialen Hierarchien. Wir wissen aus früheren Studien, dass in der Buntbarschart *Tropheus moorii*, Population „Ikola“, Tiere mit breiteren gelben Farbstreifen eine erhöhte Wahrscheinlichkeit haben, eine territoriale Auseinandersetzung zu gewinnen. Nun stellt sich die Frage, welche Mechanismen den Zusammenhang zwischen der Breite des gelben Streifens und dem Erfolg in der Auseinandersetzung herstellen. Um unnötige oder aussichtslose Kämpfe zu vermeiden, schätzen Tiere oft die Stärke eines möglichen Gegners an äußerlichen Merkmalen wie beispielsweise eben anhand seiner Körperfärbung ab. Die Streifenbreite unserer Fische könnte also mit ihrer körperlichen Durchsetzungsfähigkeit korrelieren und darüber informieren. Allerdings bleibt die Streifenbreite der erwachsenen Fische relativ zur Körpergröße konstant und kann daher keine Information über den aktuellen Zustand des Fisches vermitteln. Die im beantragten Experiment getestete Hypothese ist, dass Stress während der Jugendphase sowohl die kompetitive Durchsetzungskraft des adulten Fisches als auch sein Farbmuster (Streifenbreite) beeinflusst, und die Streifenbreite dadurch Information über die kompetitive Durchsetzungskraft des Fisches enthält. Für eine Gruppe von Fischen wird in der Jugendphase Stress simuliert, indem ihre Fütterung in größeren Abständen erfolgt als bei der Kontrollgruppe. Sobald die Fische erwachsen sind und ihr Farbmuster ausgebildet haben, wird die Streifenbreite zwischen den beiden Gruppen verglichen und in experimentellen paarweisen Auseinandersetzungen festgestellt, ob die Fische der Stressgruppe den anderen unterlegen sind. Um die Fische auf den Videoaufnahmen der experimentellen Auseinandersetzungen voneinander unterscheiden zu können, werden sie durch Klippen eines kleinen Gewebestücks (0.1 — 0.3 cm<sup>2</sup>) vom oberen oder unteren Ende (ausgezogener Spitz) der Schwanzflosse markiert. Die Gewebeentnahme erfolgt im weichstrahligen Bereich der Flossen, der generell sehr gut regeneriert. Das Ausmaß der Biopsie entspricht natürlicherweise auftretenden Verletzungen von Schwanzflossen.

zu erwartender Nutzen: Das Projekt wird einen Beitrag zum Verständnis der Kommunikation im Tierreich liefern, indem der Informationsgehalt von auffälligen Farbmustern im Zusammenhang mit Territorialität beleuchtet wird.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Gewebeentnahme erfolgt im weichstrahligen Bereich der Flossen, der generell sehr gut regeneriert. Das Ausmaß der Biopsie entspricht natürlicherweise auftretenden Verletzungen von Schwanzflossen.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Tropheus moorii, Anzahl: maximal 72 Fische

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

Vermeidung: Zur Untersuchung von Tierverhalten ist es notwendig, mit lebenden Tieren zu arbeiten.

Verminderung: Das Experiment ist dahingehend optimiert, dass mit der durchgeführten Zahl von Wiederholungen ein statistisch aussagekräftiges Ergebnis erzielt werden kann.

Verfeinerung: Die Fische werden unter für sie geeigneten Bedingungen gehalten. Die Flossenbiopsie wird rasch und unter Vermeidung von unnötigem Stress durchgeführt und verursacht keine längerfristigen Beeinträchtigungen. Die territoriale Auseinandersetzung im Experiment entspricht den bei Gruppenhaltung bzw. in der Natur vorkommenden Interaktionen.

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

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

Mit diesem Projekt wird die Rolle eines Transkriptionsfaktors in der Immunzellentwicklung bzw. in der B-Zellhomöostase untersucht. Dafür werden transgene Reporter-Mäuse eingesetzt, die durch die Emission eines grünen Fluoreszenzlichts die Expression der Transkriptionsfaktors anzeigen. Es werden in diesen Mäusen die unreifen und reifen Immunzellen nach 8, 32 und 52 Wochen auf Fluoreszenzlichtemission, sprich auf die Expression des besagten Transkriptionsfaktors, ex vivo untersucht. Weiters werden aus diesen Mäusen Immunzellen isoliert, mit welchen in vitro noch zahlreiche Stimulation durchgeführt werden.

Zu erwarteter Nutzen: Die gewonnen Ergebnisse sollen neue und wichtige Erkenntnisse liefern, wie dieser Transkriptionsfaktors in der Immunzellentwicklung und der Aktivierung dieser Zellen beteiligt ist. Wir erhalten somit neue immunologische Erkenntnisse. Die Versuchsanordnung wird unter Bedachtnahme des größtmöglichen Schutzes der Labortiere durchgeführt.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Bis dato sind für beide Mauslinien keine offensichtlichen bzw. nur milde Phänotypen beschrieben worden, daher wird die Lebensqualität der Mäuse nicht stark beeinflusst und v.a. werden keine Schmerzen für die Tiere verursacht.

2. Art und Anzahl der Tiere

Hierfür werden insgesamt 116 transgene Mäuse (C57BL/6) verwendet.

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

Im Rahme des Projektes werden vermehrt in vitro Ansätze verwendet, die somit ergänzend zu den in vivo Experimenten eingesetzt werden. Die benötigte Anzahl der Tiere wurde so gering wie möglich kalkuliert, wobei eine weitere Verminderung durch begleitende statistische Analysen angestrebt wird. Eine analgetische Behandlung der Tiere erfolgt obligat, um die Belastung der Tiere maximal herabzusetzen. Es werden Nestbaumaterial und/oder Häuschen als Enrichment zur Verfügung gestellt. Die Tierhaltung wird in regelmäßigen Abständen von den TierpflegerInnen und vom zuständigen Veterinär kontrolliert. Die Tiere werden einem regelmäßigen Handling unterzogen, um sich an etwaige Manipulationen zu gewöhnen und zusätzlichen Stress zu vermeiden.

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

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

Onkolytische Viren (OV) stellen eine neue Möglichkeit für die Behandlung von Tumoren dar. Hierbei kann sich ein onkolytisches Virus nur in Tumorzellen vermehren, wodurch diese spezifisch abgetötet werden. Gesunde Zellen werden verschont. Dieses neue Therapiekonzept wurde bereits in Zellkulturexperimenten erprobt, wobei die Tumorzellen in vitro sehr effizient abgetötet werden. Der Wirkungsmechanismus von OV ist komplex und noch weitgehend unbekannt. Zwei Hauptfaktoren bestimmen die Wirksamkeit: i) die Anfälligkeit des Tumors für Virusreplikation und ii) die Fähigkeit des OV, eine starke Antitumor-Immunantwort auszulösen. Ein tieferes Verständnis der Wirkungsweise von OV ist daher unerlässlich, um die OV Therapien auf die nächste Stufe zu heben und relevante klinische Therapieansätze zu entwickeln.

zu erwartender Nutzen: Die Ergebnisse werden unser allgemeines Verständnis über onkolytische Virustherapien erweitern. Durch dieses Projekt wird es uns möglich sein, verlässliche Aussagen über die möglichen Nebenwirkungen, den genauen Wirkmechanismus sowie die Effizienz bei einer Anwendung im Patienten zu treffen. Dadurch könnten wir neue Ziele für die Verbesserung von onkolytische Virustherapien bereitstellen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: In dieser Studie werden etablierte Tumormodelle verwendet. Es ist zu erwarten, dass bei diesen subkutanen Tumoren keine großen Leiden und Ängste auftreten. Nach der Virusbehandlung könnten die Tiere höchstens leichte Grippe-ähnliche Symptome entwickeln, die 1-2 Tage anhalten.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es sollen in den hier beantragten Experimenten maximal 4000 Mäuse über einen Zeitraum von 5 Jahren verwendet werden.

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

Vermeidung: Wir haben die Möglichkeit geprüft, den Zweck des Projekts ohne den Einsatz von Tieren zu erreichen und es gibt derzeit keine derartigen Alternativen, zumal diese Arbeit darauf abzielt, die Entwicklung von Immunantworten in einem intakten tumortragenden Organismus zu verstehen. Eine Vermeidung des beantragten Tierversuches ist daher nicht möglich.

Verminderung: Es wird versucht die Anzahl der Mäuse in den Versuchsgruppen auf ein Minimum, welches noch eine statistische Signifikanz erlaubt, zu halten. Durch den Einsatz neuer

Technologien wie Durchflusszytometrie etc. werden die Versuchszahlen reduziert, da man größere Datenmengen aus einzelnen Experimenten gewinnen kann.

Verfeinerung: Um das Wohlbefinden der Mäuse zu gewährleisten, werden die Mäuse in Gruppen gehalten und die Umgebung durch Nistmaterial, Nagehölzer und Häuschen bereichert. Der Gesundheitszustand der Mäuse wird täglich überprüft. Eingriffe wie die subkutane Tumorimplantation und intratumorale/subkutane Behandlung werden unter Anästhesie durchgeführt, um Stress zu reduzieren. Durch klar definierte Abbruchkriterien wird das Leiden der Tiere minimiert.

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

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

Retinitis pigmentosa ist eine genetisch bedingte Erkrankung, bei der zunächst die Stäbchenfunktion (Hell-Dunkel) beeinträchtigt wird, gefolgt von einer Degeneration auch der Zapfen. In Europa sind rund 130.000 Menschen von der Krankheit betroffen, die schließlich zur Erblindung führt und die immer noch nicht geheilt werden kann. Unser Mausmodell wird die Möglichkeit bieten, die Wirkung potenzieller selektiver Blocker von Ionenkanälen auf das Fortschreiten der Krankheit abzuschätzen.

Zu erwartender Nutzen: Die Ergebnisse des Projektes tragen dazu bei die zugrundeliegenden pathophysiologischen Mechanismen und Veränderungen besser zu verstehen wie auch mögliche neue therapeutische Methoden für den Menschen zu etablieren.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Der Versuch wird nach höchsten internationalen Standards durchgeführt. Beim Light/Dark Test können die Tiere zwischen einem dunklen und einem hellen Kompartiment wechseln. Die Belastung in diesen Tests ist sehr gering. Der Schweregrad des verwendeten Tiermodells, welcher als ‚mittel‘ eingestuft wurde, wird dadurch nicht verändert.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden für 3 Jahre insgesamt 225 Mäuse veranschlagt.

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

Das Projekt wurde unter Berücksichtigung der ‚3R‘ Regel geplant. Demnach zielt das Projekt auch darauf ab die Anzahl künftiger Tierversuche zu verringern, da wir hier alle Bedingungen optimieren, unter welchen in Zukunft auch für andere Ansätze herangezogen werden können. Die Bedingungen für Zucht, Unterbringung, Pflege und Verwendung von Tieren wird kontinuierlich verbessert, da die Auswirkungen des experimentellen Ansatzes für zukünftige Untersuchungen besser abgeschätzt bzw. bereits vorhergesagt werden können. Alle Versuche erfolgen unter standardisierten Bedingungen, um die Streuung der Ergebnisse auf ein Minimum zu reduzieren und wissenschaftlicher Vergleichbarkeit zu garantieren. Die Fallzahlberechnung wurde mit Rücksicht auf die statistische Auswertung durchgeführt.

Reduction: Grundsätzlich zielt das Projekt darauf ab, die Anzahl künftiger Tierversuche zu reduzieren, da die Verbesserung des Sehvermögens eines der wichtigsten Kriterien für den Fortschritt des Projektes ist.

Replacement: Sobald wir nachweisen können, dass das Ausschalten unseres Zielproteins die Sehfähigkeit der Mäuse verbessert, können wir uns in in-vitro Studien auf vielversprechende Wirkstoffe konzentrieren.

Refinement: Wird nach Standardverfahren unseres Tierhauses betrieben. Alle Verfahren verwenden modernste technische Geräte. Die Anzahl der Tiere wird auf ein Minimum beschränkt. Unsere Zuchtstrategie besteht darin, heterozygote Zuchtpaare mit Tieren der 2. Generation so zu verpaaren, dass wir daraus Kontrolltiere erhalten. Für die Genotypisierung verwenden wir Gewebe, welches beim Stanzen der Ohren gewonnen wird. Auf diese Weise wird auch das Handling der Tiere vereinfacht bzw. Schritte reduziert.

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

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

Das Projekt untersucht die Evolution visueller Signale basierend auf der Aktivität von Androgen Hormonen bei Winkerfröschen. Die Winkerfroschart *Staurois parvus* kommuniziert nicht nur akustisch mit Artgenossen sondern ebenso mit Hilfe von visuellen Signalen. Das auffällige Beinwinken bei dem für kurze Zeit ein hell gefärbter Fuß dem Rivalen präsentiert wird gilt als innerartliches, sexuell-selektiertes Signal. Vorangehende Studien zeigten, dass Frösche die winken 10x mehr Androgen-Rezeptoren in der Beinmuskulatur besitzen, als Arten die nicht winken. Wir nehmen an, dass die Aktivierung von Androgenrezeptoren ebenso die Beinbewegungen an sich beeinflusst und das erhöhte Androgen-level während der Paarungszeit die präzise Kontrolle der Anzeigesignale, bzw. Winkbewegungen ermöglicht. In einem Vorversuch konnte festgestellt werden, dass Testosteron Männchen schneller winken lässt. Nun werden Manipulationen mit Androgenen durchgeführt und mit Hilfe von Slow-motion-Videoaufnahmen von Winksignalen der Männchen wird die Geschwindigkeit und Beschleunigung der Signalkomponenten ausgewertet und mit einer Kontrollgruppe verglichen werden. Männliche Winkerfrösche, geteilt in unterschiedliche Behandlungsgruppen, erhalten mittels intraperitonealer Injektion eine Kombination von Testosteron, oder Kochsalzlösung als Kontrollsubstanz. Im Anschluss wird das Verhalten der Tiere Video-aufgezeichnet (slow-motion 250fps) und die Bewegungsdaten anhand der x und y Koordinaten erhoben. Das geplante Projekt ist ein weiterer Schritt der Untersuchung von zugrundeliegenden endokrinen Mechanismen in der Entwicklung von neuen Kommunikationssignalen und untersucht die Funktion und den Mechanismus der visuellen Kommunikation.

zu erwartender Nutzen: Das Projekt untersucht zugrundeliegende endokrine Mechanismen von neu entwickelten Kommunikationssignalen. Die Ergebnisse erlauben erstmals fortführende Schlüsse über die Veränderung von adaptiven Bewegungsabläufen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die zu testenden Individuen werden unter möglichst natürlichen Bedingungen in Terrarien mit Wasser und ausreichenden Angebot an Sitz-, Schlafplätzen und Futter gehalten. Abgesehen von der Injektion erfolgt keine weitere Störung durch den Experimentator. Die Behandlungssubstanzen und deren Dosierung behindern weder die Gesundheit noch die weitere Entwicklung der Tiere, somit wird der zu erwartende Schaden als gering eingeschätzt.

2. Art und Anzahl der Tiere

Die Winkerschart *Stauroides parvus* wird regelmäßig nachgezogen, die Individuen zeigen das arttypische Verhalten. Die Tiere bewohnen Terrarien und werden sowohl vor, während als auch nach der Versuchsreihe dort versorgt und gehalten. Für die Versuche werden 30 adulte, männliche Individuen der Art verwendet, deren Gesundheitszustand nach Abschluss der Untersuchung 14 Tage beobachtet wird.

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

Es können keine anderen Entwicklungsstadien für die Versuche, die Aufschluss über Signalverhalten von Adulttieren geben sollen, verwendet werden. Die Versuchsbedingungen sind bereits möglichst optimal und natürlich gestaltet. Die Anzahl der Tiere für die Untersuchung wird so gering wie möglich gehalten. Die Tiere bewohnen Terrarien, die die Bedingungen des natürlichen Habitats simulieren und nach Abschluss des Versuches weiter dort 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

Primäres Ziel dieses Projekts ist der Vergleich von Immunogenität und Protektivität gamma-bestrahlter vs lebender Escherichia coli Zellen in Hühnern.

Zu erwartender Nutzen: Die Nutzung von ionisierender Bestrahlung ist eine einzigartige Technik in der Entwicklung von Vakzinen. Die potentielle Anwendung dieser Methode zur Entwicklung einer Vakzine gegen Colibazillose für Hühner wird hiermit untersucht werden. Außerdem wird die Wirkung einer multiplen E. coli Infektion auf die Pathogenese der Krankheit in einem kontrollierten experimentellen Aufbau erforscht.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Infektion bzw. Immunisierung der Tiere erfolgt entweder mittels Aerosols oder intramuskulärer Injektion. Während des Projektverlaufs werden Blutprobenentnahmen zu definierten Zeitpunkten durchgeführt. Basierend auf dem Wissen aus vorangegangenen Projekten kann es durch die Infektion mit E. coli möglicherweise zu makroskopischen Läsionen in einigen Organen kommen, die nicht unbedingt klinisch manifest werden.

2. Art und Anzahl der Tiere

96 SPF Hühner

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

Vermeidung: Der gesamte Organismus wird benötigt, um die Fragestellung zu beantworten, daher kann dieses Vorhaben nicht durch Alternativmethoden ersetzt werden.

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

Verfeinerung: Das oberste Ziel ist es, Leiden der Tiere zu vermeiden. Die Tiere werden ihrer Art entsprechend untergebracht und angemessen ernährt. Um den Gesundheitsstatus der Tiere zu überprüfen, werden sie regelmäßig von qualifiziertem Personal beobachtet und klinisch untersucht. Definierte Abbruchkriterien werden angewandt, um unnötiges Tierleid zu vermeiden.

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



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

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

Bei der Entwicklung neuer Impfstoffe gegen die durch Geflügeladenoviren hervorgerufene Einschlusskörperchenhepatitis (IBH) muss die Beteiligung unterschiedlicher Serotypen berücksichtigt werden, was einen möglichst breit wirksamen Impfschutz erforderlich macht. Gerade die neu entdeckten, natürlich vorkommenden rekombinanten Geflügeladenovirus-Stämme könnten sich besonders gut als inaktivierte Impfstoffe eignen, da sie, wie bereits in in vitro-Tests gezeigt wurde, über eine gemischttypische Antigenizität verfügen. Ziel dieses Projekts ist es daher, die Wirksamkeit von inaktivierten Impfstoffen gegen bestimmte Serotypen der Geflügeladenoviren zu untersuchen.

Zu erwartender Nutzen: Erkenntnisse über die Schutzwirkung inaktivierter Impfungen, die rekombinantes Geflügeladenovirus enthalten, gegenüber Infektionen mit IBH-verursachenden Virusstämmen sowie Nachweis des Vorteils solcher Impfstoffe in Bezug auf breit wirksamen Schutz gegenüber herkömmlichen, nicht-rekombinanten Stämmen.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere werden zu Versuchsbeginn geimpft und anschließend durch Injektion mit Geflügeladenovirus infiziert. Zu definierten Zeitpunkten erfolgen Blut- und Kloakentupferentnahmen. Die Infektion kann u.a. zu Leberläsionen und im Ausnahmefall zum Tod der Tiere führen.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

140 Hühner

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

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

Verminderung: Durch eine entsprechende statistische Planung und Auswertung sowie durch die Berücksichtigung von Erfahrungswerten aus vorangegangenen Versuchen wird sichergestellt, dass der Versuch mit jener Anzahl an Tieren durchgeführt wird, die unbedingt erforderlich ist, um statistisch signifikante Daten über die zu untersuchende Fragestellung zu erreichen.

Verfeinerung: Die Belastung der Tiere wird auf das unvermeidbare Ausmaß reduziert. Die Tiere werden in Gruppen gehalten, angemessen ernährt und untergebracht. Sie werden engmaschig beobachtet und der klinische Gesundheitszustand wird regelmäßig bestimmt. Die definierten Abbruchkriterien werden im Bedarfsfall umgesetzt, um unnötiges Tierleid zu vermeiden.

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

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

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

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 Projekts neue Erkenntnisse zu gewinnen und zu verstehen, wie Schmerz in Morbus Fabry entsteht.

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: Der zu erwartende Schaden für alle Mäuse wird als gering eingeschätzt. Teilweise bekommen Mäuse Injektionen mit verschiedenen Substanzen, der Schaden aufgrund dieser Behandlung wird als mittel eingestuft. Weiters werden verschiedene Verhaltenstest durchgeführt, die dem maximalen Belastungsgrad mittel zugeteilt werden.

2. Art und Anzahl der Tiere

1.258 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 A-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): Grundlagenforschung

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

Die nicht-alkoholische Fettlebererkrankung (NAFLD) zählt heutzutage zu den weltweit häufigsten Lebererkrankungen mit steigender Prävalenz. Übergewicht und Insulinresistenz sind Hauptrisikofaktoren in der Entstehung von NAFLD. Studien weisen darauf hin, dass eine veränderte Mikrobiotazusammensetzung und intestinale Barrierefunktion bei Patienten mit NAFLD eine wichtige Rolle spielen. Des Weiteren weisen Studien auch darauf hin, dass jeweils eine orale Gabe von verschiedenen Aminosäuren protektive und therapeutische Effekte auf die Entstehung und das Voranschreiten der NAFLD aufweisen. Jedoch sind die molekularen Mechanismen, die zur Entstehung und dem Voranschreiten der NAFLD zugrunde liegen, bisher nicht vollständig geklärt. Im vorliegenden Versuchsvorhaben soll nun untersucht werden, ob eine orale Supplementation von verschiedenen Aminosäuren auch positive Effekte auf die Entstehung von NAFLD haben kann. Des Weiteren soll untersucht werden, ob die positiven Effekte additiv sind, wenn verschiedene Aminosäuren kombiniert werden.

zu erwartender Nutzen: Im geplanten Versuchsvorhaben sollen die molekularen Mechanismen, die dem möglichen protektiven Effekt einer kombinierten Gabe von verschiedenen Aminosäuren auf die Entstehung der NAFLD zu Grunde liegen, untersucht werden, um so langfristig zur Entwicklung neuer Behandlungsstrategien bei der Entstehung der NAFLD beizutragen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Blut- und Gewebeentnahme erfolgt jeweils unter terminaler Narkose mit anschließender zervikaler Dislokation. Während des Versuchs sind geringe Belastungen zu erwarten. Die Mäuse werden engmaschig kontrolliert und bei auftretenden Abbruchkriterien aus dem Versuch entfernt.

2. Art und Anzahl der Tiere

Tierart: Mus musculus

Gesamttieranzahl: 256

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

Vermeidung: Bis heute steht kein in-vitro System zur Verfügung, das die komplexe Interaktion der Leber und des Darms, an welchen die pathophysiologischen Zusammenhänge, die der Entstehung der NAFLD unterliegen, untersucht werden können. Vergleichbare Versuche sind beim Menschen aus ethischen Gründen nicht durchführbar.

Verminderung: 1. Die Versuchstiere der einzelnen Gruppen werden unter standardisierten Bedingungen gehalten, so dass eine statistische Streuung innerhalb der Gruppen reduziert werden kann. 2. Die Bestimmung der Gruppengröße erfolgte aufgrund der im Rahmen früherer Tierversuche ermittelten Stichprobenstreuung der Zielparameter, sowie der Ergebnisse der Apriori Poweranalyse mittels "GPower".

Verfeinerung: Die Versuchstiere werden während des gesamten Versuchs in Gruppen gehalten und haben Zugang zu üblichem Enrichment (Einstreu, Häuschen, Nistmaterial, Nagehölzchen), sowie auch Zugang zu Futter und Wasser. Außerdem werden die Versuchstiere täglich überwacht. Zum Versuchsende erhalten die Tiere eine terminale Narkose. Zudem wurde die Anwendung schmerzloser Endpunkte (Abbruchkriterien) definiert.

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

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

Brustkrebs zählt zu den häufigsten und tödlichsten Krebserkrankungen in westlichen Gesellschaften. Statistisch gesehen ist jede achte Frau in Europa im Lauf ihres Lebens von dieser Krankheit betroffen. Mit dem Aufkommen der modernen Genomik wurden neue Kandidatengenen mit Brustkrebs assoziiert. Die große Herausforderung ist es nun, festzustellen, welche dieser Gene die grundlegenden molekularen Signalwege der Brustentwicklung, Krebs und Metastasen initiieren kodieren.

zu erwartender Nutzen: Übergeordnetes Ziel dieses Forschungsvorhabens ist es, auf Basis neuer wissenschaftlicher Erkenntnisse neue innovative Behandlungsansätze für Brustkrebs-erkrankungen zu entwickeln, die zu einer Verlängerung des Lebens der Patienten und einer Verbesserung der Lebensqualität führen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: In dieser Studie soll ein gut charakterisiertes, chemisch-induziertes Brustkrebs-Mausmodell (dermale Verabreichung / Implantation einer osmotischen Miniaturpumpe zur gezielten und stressarmen Verabreichung von Substanzen) verwendet werden. In einigen Untersuchungen werden zusätzlich entweder den Versuchstieren die Ovarien entfernt oder die Versuchstiere werden einer geringen Bestrahlung ausgesetzt. Durch einsetzen von definierten Abruchkriterien wird der zu erwartende Schaden der Tiere als gering bis maximal mittelgradig eingestuft.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden 3.600 Mäuse beantragt.

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

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

Verminderung: Durch Standardisierung aller Haltungs- und Versuchsbedingungen, genauer Versuchsplanung und „State of the Art“ Analysemethoden wird eine geringe Streuung der Versuchsergebnisse ermöglicht. Somit und durch den sequentiellen Ablauf der Tierversuche wird

die Anzahl der Versuchstiere und die Versuchsdauer so gering wie möglich gehalten. Für die Fallzahlberechnungen steht ein Statistiker beratend zur Verfügung.

Verfeinerung: Die oben beschriebenen Versuche stellen weithin etablierte Methoden dar, die in unserem Institut mit langjähriger Erfahrung und ausgewiesener Expertise durchgeführt werden. Die Tiere werden kontinuierlich durch Fachpersonal (Tierpfleger, Tierärzte) überwacht und behandelt. Die Handhabung der Mäuse erfolgt in Übereinstimmung mit der bestehenden Standardlaborpraxis, sodass die Belastung für die Tiere auf ein Minimum reduziert wird.

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

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

In diesem Projekt soll die Auswirkungen von spezifischen Darmkeimen in der Entstehung einer nichtalkoholischen Fettlebererkrankung untersucht werden. Für diese Keime ist bereits ein positiver Effekt auf die Entstehung von Insulinsensitivität beschrieben worden. Verschiedene Umwelteinflüsse wie zum Beispiel ein westlicher Ernährungsstil genetische Risikofaktoren sowie die Zusammensetzung der Darmflora beeinflussen die Entstehung einer nichtalkoholischen Fettlebererkrankung. Um die Rolle von der Darmflora in der Entstehung und im Verlauf dieser Erkrankung besser zu verstehen, werden wir in Mäusen mittels einer fettreichen Diät eine nichtalkoholische Fettlebererkrankung auslösen und durch die zusätzlicher Gabe der Keime deren Effekt untersuchen.

zu erwartender Nutzen: Mithilfe der geplanten Versuche erhoffen wir uns das Verständnis über die Entstehung der nichtalkoholischen Fettlebererkrankung im Zusammenspiel mit der Darm-Mikrobiota zu verbessern um damit Möglichkeiten für neue Therapieansätze zu schaffen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere werden ausschließlich diätetischen Experimenten unterzogen und während der gesamten Versuchsdauer monitoriert. Sollten die Tiere einen inflammatorischen Phänotyp entwickeln, werden sie entsprechend behandelt. Bei Beendigung des Versuches werden die Tiere in Narkose schmerzfrei getötet.

2. Art und Anzahl der Tiere:

240 Tiere im Zeitraum von 3 Jahren

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

Vermeidung: Die Auswirkung dieser Keime wurde bereits in der Entstehung eines Diabetes mellitus untersucht, der Effekt auf die Entstehung und den Progress einer nichtalkoholischen Fettlebererkrankung ist allerdings noch nicht untersucht. Aufgrund der Komplexität der Erkrankung und deren Entstehung (Umwelteinflüsse, Mikrobiota, genetische Veranlagung) ist es zum derzeitigen Zeitpunkt nicht möglich dieses Tiermodell völlig durch ein Versuchssystem mit Zellkultur zu ersetzen.

Verminderung: Die Gruppengrößen wurden mittels g-Power so gewählt, dass es möglich ist, statistische Aussagen zu treffen. Des Weiteren erfolgt ein stufenweises Vorgehen bei der Durchführung der Experimente, d.h. sollten erste Versuche keinen Erkenntnisgewinn liefern, wird

die Versuchsreihe abgebrochen. Für die jeweiligen Experimente werden nur so viele Tiere verwendet, wie für das Erreichen der statistischen Signifikanz notwendig sind. Es werden so wenig wie möglich, aber so viel wie nötig Tiere im Versuch eingesetzt.

Verfeinerung: Die Mäuse werden in Gruppen gehalten und es wird ihnen Nistmaterial und Unterschlupf zur Verfügung gestellt. Alle Versuche werden von ausgebildetem und geschultem Personal durchgeführt um Ängste, Stress und eine mögliche Belastung der Tiere zu minimieren. Während des gesamten Versuches werden die Tiere regelmäßig überwacht und mittels eines klinischen Scoring-Systems objektiv bewertet. Die Versuche werden zum frühest möglichen Zeitpunkt beendet.

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

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

Versuchsziel ist die Untersuchung von heterolog in *Xenopus laevis* Oozyten exprimierten Ionenkanalproteinen. Es handelt sich dabei um eine etablierte Standardmethode, die seit vielen Jahren weltweit angewendet wird. Der Zweck des Antrages betrifft Untersuchungen an sogenannten Ionenkanalproteinen, die unter anderem im Herzmuskel eine wichtige Rolle bei der Entstehung von Arrhythmien spielen oder in Nervenzellen die Erregungsleitung bewirken.

zu erwartender Nutzen: Der Oozyt ersetzt praktisch z.B. eine Nerven- oder eine Herzmuskelzelle und erlaubt dadurch detaillierte Studien der physiologischen Funktion verschiedenster Kanalproteine bzw. deren Fehlfunktionen bei Erkrankungen des kardiovaskulären bzw. des zentralnervösen Systems. Die Erkenntnisse dieser Arbeiten liefern signifikante Beiträge zum tieferen Verständnis der Funktion dieser Proteine, daneben können die Ergebnisse dieser Arbeiten zur Entwicklung neuer, nebenwirkungsärmerer Arzneistoffe führen, ohne dass dafür Versuche am lebenden Tier durchgeführt werden müssen. Durch intensive Studien mit derartigen Modellsystemen kann die Zahl der Tierversuche in Zukunft erheblich reduziert werden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Entnahme der Oozyten erfolgt unter tiefer Narkose über einen maximal 0.5 cm langen abdominalen Schnitt. Nach Entnahme der Zellen wird der Wunde mit resorbierbarem Nahtmaterial gründlich geschlossen und regelmäßig desinfiziert. Die Wundheilung erfolgt rasch innerhalb weniger Tage.

2. Art und Anzahl der Tiere

40 Afrikanische Krallenfrösche (*Xenopus laevis*) pro Jahr (200 Tiere)

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

Vermeidung: Es kann auf aufwendige Demonstrationsversuche an Tieren verzichtet werden. Der Oozyt ersetzt praktisch z.B. eine Nerven- oder eine Herzmuskelzelle.

Verminderung: Die präparierten Oozyten werden fallen in ausreichender Anzahl an. Sie werden jedoch keinesfalls verworfen, sondern von mehreren Wissenschaftlern verschiedener Labors mit verwendet. Diese Aufteilung der Oozyten führt zu noch erheblicheren Einsparungen an Tierversuchen.

Verfeinerung: Durch die rein operative Entnahme der Zellen können die Tiere mehrmals nach ausreichender Erholungsphase wieder verwendet, wodurch die Zahl der betroffenen Tiere signifikant gesenkt werden kann. Zusätzlich kann durch die Verwendung von automatischen Technologien in den letzten Jahren wurde die Datenausbeute/Oozyt erheblich gesteigert werden.

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

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

Sklerodermie ist eine Autoimmunerkrankung die zu fibrotischen Veränderungen der Haut und auch innerer Organe führt. Eine Beteiligung der Lunge ist häufig und verschlechtert die Lebensqualität und Prognose der Patienten drastisch. Für Sklerodermiepatienten mit Lungenfibrose gibt es kaum Therapiemöglichkeiten, außer starke immunsuppressive Medikamente, die aber wenig Therapieerfolg und starke Nebenwirkungen verursachen.

Das Ziel dieses Projektes ist es eine gezielte Inaktivierung bestimmter Entzündungssignalwege und deren Auswirkung auf die Krankheit zu erforschen.

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

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

2. Art und Anzahl der Tiere

Mäuse, insgesamt: 100

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

Vermeidung: Die geplanten Tierversuche basieren auf Erkenntnissen von früheren Versuchen sowie auf Ergebnissen von in vitro Studien. Allerdings können komplexe pathophysiologische Zusammenhänge von unterschiedlichen Zelltypen und Organen, sowie dem Immunsystem mit seiner Vielzahl an unterschiedlichen Zellen nicht in vitro rekonstruiert werden. Daher ist der Einsatz von Tiermodellen zur Untersuchung potentieller neue Medikamente unvermeidlich.

Verminderung: Um Tierzahlen auf ein Minimum zu reduzieren, wurden Kontrollgruppen verkleinert und der Versuchsaufbau in einer Weise geplant, dass für jedes einzelne Tier alle wichtigen Messungen und Analysen möglich sind. Somit wird eine unnötige doppelte Durchführung um verschiedene Messungen durchzuführen verhindert.

Verfeinerung: Eingriffe welche das Wohlbefinden der Tiere beeinträchtigen würden werden unter Narkose vorgenommen. Alle Tiere werden unter optimalen, kontrollierten und schmerzfreien Bedingungen gehalten. Die Tiere werden von ausgebildeten Tierpflegern versorgt und in regelmäßigen Abständen tierärztlich überprüft. Um das Wohlbefinden der Tiere zu gewährleisten, werden sie in Gruppen gehalten, des Weiteren wird 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

Ursprünglich wurde angenommen, dass das Komplementsystem, ein evolutionärer alter angebotener Abwehrmechanismus gegen eindringende Pathogene, die Wirksamkeit von Antikörpern bei der Beseitigung von Mikroben "komplementiert". Mittlerweile wird allgemein anerkannt, dass das Komplementsystem auch an der Regulation sowohl der angeborenen als auch der adaptiven Immunimmunität beteiligt ist. Neuere Erkenntnisse unterstützen eine wichtige Rolle des Komplementes auch bei der Immunüberwachung von Krebs. Ziel dieses Projekts ist es daher, die Rolle von Komplement bei der Immunüberwachung von Tumoren in Viro- und Immuntherapien zu verstehen.

zu erwartender Nutzen: Die Ergebnisse werden unser allgemeines Verständnis erweitern, wie Komplement bei der Modulation der Krebsimmunüberwachung unter therapeutischen Bedingungen beteiligt ist, und könnten neue Ziele für die Verbesserung von Viro- und Immuntherapien bereitstellen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: In dieser Studie werden etablierte Tumormodelle verwendet. Es ist zu erwarten, dass bei diesen subkutanen Tumoren keine großen Leiden und Ängste auftreten. Nach der Virusbehandlung könnten die Tiere leichte Grippe-ähnliche Symptome entwickeln, die 1-2 Tage anhalten. Daher ist der zu erwartender Schaden für die Tiere mittel.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es sollen in den hier beantragten Experimenten maximal 3.000 Mäuse verwendet werden.

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

Vermeidung: Wir haben die Möglichkeit geprüft, den Zweck des Projekts ohne den Einsatz von Tieren zu erreichen, und es gibt derzeit keine derartigen Alternativen, zumal diese Arbeit darauf abzielt, die Entwicklung von Immunantworten in einem intakten tumortragenden Organismus zu verstehen. Eine Vermeidung des beantragten Tierversuches ist daher nicht möglich.

Verminderung: Es wird versucht die Anzahl der Mäuse in den Versuchsgruppen auf ein Minimum, welches noch eine statistische Signifikanz erlaubt, zu halten. Durch den Einsatz neuer Technologien werden die Versuchszahlen reduziert, da man größere Datenmengen aus einzelnen Experimenten gewinnen kann.

Verfeinerung: Um das Wohlbefinden der Mäuse zu gewährleisten, werden die Mäuse in Gruppen gehalten und die Umgebung durch Nistmaterial bereichert. Der Gesundheitszustand der Mäuse wird täglich überprüft. Eingriffe wie die subkutane Tumorimplantation und intratumorale/subkutane Behandlung werden unter Anästhesie durchgeführt, um Stress zu reduzieren. Durch klar definierte Abbruchkriterien wird das Leiden der Tiere minimiert.

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

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

Zu erwartender Nutzen: Im Rahmen dieses Projekts planen wir die biologische Rolle von Proteinen zu untersuchen welchen eine bestätigte Rolle bei der zellulären Antwort auf fehlerhafte Zellteilung haben und somit Tumorbildung unterdrücken sollten. Bei den geplanten Analysen sollen genetisch modifizierte Mäuse verwendet werden, um den Einfluss veränderter Proteinniveaus auf die Funktionalität der Tumorsuppression nach fehlerhafter Zellteilung und einer Anhäufung von Zentrosomen zu untersuchen. Mit diesen Versuchen können eine Reihe neuer Erkenntnisse, besonders was die Rolle dieser Gene bei Darm und Blutkrebs angeht gewonnen werden.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Dieses Wissen soll verwendet werden die Behandlung bösartiger Tumorerkrankungen beim Menschen zu verbessern und somit den Schaden der am Tier durch Blutabnahme aus der Wange, Ohrmarkierung (mittels Lochstanze) und Tumorwachstum im Darm oder Blutssystem entsteht (z.B. Gewichtsverlust und Durchfall) rechtfertigen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Maus; bis zu 1953 Tiere

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

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

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

Verbesserung: Verwendung konditioneller Allele und Transgene. Die Tiere werden in Gruppen zu je 4-5 Tieren gehalten (soziale Tiere) und haben in jedem Käfig ein Häuschen & Nistmaterial als Rückzugsmöglichkeit. Männchen werden nach Bedarf auch einzeln gehalten, um Verletzungen durch Revierkämpfe zu vermeiden. Die Kontrolle der Tiere erfolgt bei ersten Anzeichen einer Tumorerkrankung täglich.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 30. Juni 2025 vorgesehen.

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

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

Der Peptidwirkstoff Semaglutid ist für die Behandlung von Diabetes beim Menschen zugelassen. Im Weiteren weist er einen antiadipösen und schützenden Effekt gegen kardiovaskuläre Krankheiten nach. Ein entscheidender Nachteil ist jedoch, dass Semaglutid bei oraler Gabe schnell enzymatisch abgebaut wird und daher regelmäßig subkutan injiziert werden muss. Dies ist mit Schmerzen an der Injektionsstelle verbunden. Ziel dieses Projekts ist daher, die Entwicklung und in vivo-Evaluierung der Wirkung einer oralen Arzneiform in unterschiedlichen Darmabschnitten beim Schwein zu testen.

zu erwartender Nutzen: Die Ergebnisse dieses Projekts lassen wertvolle Informationen für die Entwicklung einer optimalen oralen Darreichungsform von Semaglutid erwarten. Sie würde Patienten die regelmäßigen Injektionen und damit verbundene Schmerzen ersparen und könnte zu einer breiteren Anwendung dieser Medikamentenklasse führen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Alle Tiere werden unter Allgemeinanästhesie laparotomiert, um an den gewünschten Applikationsort im Darm zu gelangen. Die zu untersuchende Substanz wird als Tablette in den Darm oder als Lösung unter die Haut appliziert. Nach Verschließen der Bauchwand wird in bestimmten zeitlichen Abständen bis 3 Stunden nach der Applikation Blut entnommen. Alle Tiere werden noch im Zustand der Allgemeinanästhesie euthanasiert.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

30 Schweine (Hausschwein; *SusScrofa domestica*)

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

Vermeidung: Die Aufnahme eines Wirkstoffs kann nur an lebenden Tieren untersucht werden, sodass die Anwendung einer alternativen Methode nicht möglich ist.

Verminderung: In dem Projekt wird die Pharmakokinetik der Resorption von Semaglutid aus dem Darm untersucht. Es ist davon auszugehen, dass interindividuelle Variabilität so gering ist, dass die Parameter mit höchstens 30 Tieren geschätzt werden können.

Verfeinerung: Die Tiere werden auf Stroh und in Gruppen so untergebracht und betreut, dass die physiologischen und verhaltensbiologischen Bedürfnisse angemessen berücksichtigt werden. Die

Fütterung erfolgt ad libitum, sauberes Trinkwasser steht ständig zur Verfügung. Auch für adäquates Beschäftigungsmaterial ist gesorgt. Pflege, Überwachung und medizinische Betreuung erfolgen durch qualifiziertes Personal. Die Studie wird unter Vollnarkose durchgeführt und beendet.

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

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

Adipositas breitet sich epidemisch in industrialisierten Ländern aus und erhöht signifikant das Risiko für die Entwicklung von Folgeerkrankungen wie Typ 2 Diabetes und kardiovaskulären Erkrankungen. Adipositas ist durch systemische, chronische Entzündungsreaktionen charakterisiert, dessen Ursprung im Fettgewebe liegen.

zu erwartender Nutzen: Dieses Projekt soll die Rolle und die molekularen Mechanismen des Immunsystems in Adipositas-assoziiierter Insulin Resistenz beschreiben und könnte dabei zur Entwicklung von neuen Therapien führen, mit dem Ziel menschliches Leiden zu reduzieren.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Mäuse mit verändertem genetischen Hintergrund werden Substanzen appliziert, die zur Freisetzung von Lipiden im Fettgewebe führen. Die Versuchstiere werden minimal durch Blutabnahmen belastet. Darüber hinaus führt diese Substanz zur Infiltration von Makrophagen und dient dazu die spezifische Rolle dieser Immunzellen im Fettgewebe zu beleuchten. Den Tieren werden teilweise zusätzlich unter Narkose Substanzen appliziert, die zur Untersuchung und Bildgebung von Stoffwechselprozessen dienen.

2. Art und Anzahl der Tiere

390 Mäuse

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

Vermeidung: Zur Vermeidung der Tierversuche werden soweit möglich Versuche mit Zellkulturen durchgeführt, deren Ergebnisse sind die Basis für alle weiterführenden Versuche. Hier werden bevorzugt bereits etablierte Makrophagen-Zelllinien und Primärzellen verwendet, deren Isolation kein Leiden des Tieres verursacht.

Verminderung: Die Anzahl der benötigten Mäuse ergibt sich aus einer statistischen Fallzahlberechnung um sicherzustellen, dass eine Signifikanz erzielt werden kann und dadurch den Tierversuch rechtfertigt. Die Stückzahl ist dabei so gering wie möglich gehalten, um das Leiden der Tiere zu reduzieren.

Verfeinerung: Die Tiere werden unter standardisierten Haltungsbedingungen betreut und Experimente werden ausschließlich von ausgebildeten Fachpersonal durchgeführt. Wir werden unsere Experimente verfeinern um sicherzustellen, dass die Tiere so wenig als möglich leiden.

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 diesem Projekt sollen neuentwickelte Kunststoffe für die Herstellung von Gefäßprothesen eingesetzt werden. Dies ist sehr wichtig, da die derzeit erhältlichen Implantate oft Früh- und Spätverschlüsse aufweisen und eine erneute Operation des Patienten erfordern. Die Biomaterialien werden nach umfangreicher Vortestung in-vitro, in Kurz- und Langzeitanwendungen in Ratten untersucht.

zu erwartender Nutzen: Die Verbesserung der Eigenschaften der Gefäßprothesen würde zu einer sicheren Anwendung der Implantate im Menschen führen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Pilotversuche werden in Vollnarkose durchgeführt und die Tiere danach sofort getötet. Die Implantationsstudien erfolgen ebenfalls in Vollnarkose. Die Belastung der Tiere ist unmittelbar nach der Operation mittelgradig. Durch geeignete Schmerzbehandlung erholen sich die Tiere rasch und zeigen nach 1-2 Tagen keine Einschränkung des Allgemeinbefindens.

2. Art und Anzahl der Tiere

68 Ratten

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

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

Verminderung: Die Kunststoffe werden in der Zellkultur getestet um zuvor toxische Wirkungen oder Aktivierungen des Immunsystems auszuschließen. Nur das Material, das in diesen Tests keine negativen Reaktionen zeigt, wird in-vivo weiter untersucht.

Verfeinerung: Alle Versuche finden nach standardisierten Protokollen statt.

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

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

Weichteildefekte, die aufgrund frei liegender Strukturen (Knochen, Nerven, Gefäße und Sehnen) oder aufgrund ihrer Ausdehnung weder selbst heilen, noch einfach vernäht werden können, werden als „kritische“ Defekte bezeichnet. Diese Defekte benötigen eine Rekonstruktion mit durchblutetem Gewebe im Sinne einer freien Lappenplastik. Ziel des Projektes ist die in vivo Züchtung eines durchbluteten und transplantationsfähigen Bindegewebslappens um Weichteilwunden im Körper des Empfängers zu decken. Vor der klinischen Anwendung dieser chirurgischen Methode am Patienten soll in einem im Großtiermodell gezeigt werden, dass diese Methode wirkungsvoll und sicher ist.

zu erwartender Nutzen: Durch die in vivo Züchtung einer Lappenplastik wird als zentraler Fortschritt die Gewebeentnahme aus einem Spenderareal beim schwerbrandverletzten oder polytraumatisierten Patienten umgangen, die bei bisherigen Techniken häufig mit Funktionseinschränkungen und langem Krankheits- und Rehabilitationsverlauf verbunden ist. Mit der neuen Technik könnte vielen Patienten geholfen werden, die bisher aufgrund limitierter Spenderareale bzw. ungünstiger anatomischer Bedingungen nur unzureichend behandelt werden konnten und lebenslang an den Folgen von Unfällen oder Verbrennungen leiden mussten. Die neuen Lappenplastiken sollten bessere Heilungsverläufe bewirken.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Eingriffe sind mit einer mittelgradigen Belastung für die Versuchstiere verbunden. Zur Schmerztherapie erhalten die Tiere ausreichend Schmerzmittel, die auf die jeweilige Tierart abgestimmt sind. Es wird angenommen, dass sich die Tiere rasch erholen und keine Funktionseinschränkungen zu erwarten sind. Die verwendeten Implantate für die Gewebeneubildung sind aus biokompatiblen Werkstoffen gefertigt.

2. Art und Anzahl der Tiere

20 Schafe

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

Vermeidung: Die Funktionalität der Lappenplastik kann nur in vivo getestet werden, bevor eine Anwendung im Menschen erfolgt.

Verminderung: Es werden die geringstmöglichen Tierzahlen verwendet, die ein statistisch aussagekräftiges Ergebnis erlauben.

Verfeinerung: Die Versuche finden unter standardisierten Versuchsbedingungen statt. Das chirurgische Modell wurde schon im Rattenmodell etabliert.

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

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

Das Ziel des beantragten Projekts ist die Feststellung der Reifung und Ovulation extra ovarieller Eizellen bei der Maus nach einer Ovariectomie.

zu erwartender Nutzen: Nach erfolgreichem Ovartransfer bei der Maus werden regelmäßig Nachkommen geboren, die vom genetischen Material des ovariectomierten Weibchens abstammen. Laut Literatur befinden sich ovarielle Follikel auch im Hilus ovaricus. Auf welche Weise diese dort trotz Ovariectomie reifen und ovulieren können, soll durch zwei Versuche festgestellt werden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Adulte Weibchen werden unter Vollnarkose ovariectomiert. Bei der Hälfte der Tiere wird nach Standardverfahren Ovargewebe unter die Nierenkapsel transplantiert. Bei der anderen Hälfte wird täglich Östradiol peroral verabreicht.

2. Art und Anzahl der Tiere

24 Mäuse

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

Vermeidung: Für die komplette endokrinologische Funktion werden Rückkopplungen mit der Hypophyse (FSH/LH-Sekretion) benötigt, die sich in vitro nicht erzielen lassen und daher einen intakten Organismus voraussetzen.

Verminderung: Die Anzahl der eingesetzten Tiere entspricht dem Minimum, das erforderlich ist, um aussagekräftige Ergebnisse zu erzielen. Die Ergebnisse der Arbeit selbst erklären, wie bei Ovartransfers bei der Maus immer wieder Nachkommen mit der Genetik des Empfängers zur Welt kommen. Damit kann ein methodischer Fehler ausgeschlossen werden und vermeintlich notwendige Wiederholungen oder größere Tierzahlen vermieden werden.

Verfeinerung: Alle Eingriffe erfolgen unter Vollnarkose mit anschließender Schmerzbehandlung. Die Tiere werden täglich mehrmals kontrolliert, um bei Komplikationen rasch die angemessenen Maßnahmen zu ergreifen. Die Techniken zur experimentellen Behandlungen der Tiere sind etabliert und werden ausschließlich durch erfahrene Personen ausgeführt.

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

Ein übermäßiger Konsum von Alkohol ist weltweit einer der führenden Gründe für ein frühzeitiges Ableben. Für alkoholbedingte Leberschädigungen gibt es leider keine guten Therapien. Es ist bekannt, dass Zellen, die Inflammation antreiben, eine wichtige Rolle bei der Entstehung dieser Schädigungen spielen. In diesem Projekt soll geklärt werden ob die Beeinflussung einer speziellen Zellreihe einen positiven Effekt auf die Entwicklung einer alkoholischen Lebererkrankung hat.

zu erwartender Nutzen: Wir erwarten uns ein besseres Verständnis der zugrundeliegende Pathomechanismen, sowie evtl. neue Angriffsziele für medikamentöse Therapien. Die verwendete Substanz ist für andere Erkrankungen, die durch Entzündungszellen verursacht werden, bereits in klinischem Gebrauch. Deshalb wären die Hürden Ergebnisse aus diesem Projekt, bei einem positiven Effekt, an den Menschen zu bringen geringer als bei komplett neu entwickelten Substanzen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Durch die vorgeschlagenen Experimente wird bei den verwendeten Tieren eine leichte bis mittlere Lebererkrankung ausgelöst, nach unserer Erfahrung haben die Tiere keinen Leidensdruck durch die Erkrankung sondern lediglich einen leichten bis mittleren Stress durch die von uns vorgenommenen Interventionen.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

152 Mäuse

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

Vermeidung: Durch einen Stufenartigen Aufbau können wir unnötiges Leid vermeiden. Wir verwenden zuerst nur einen Teil der beantragten Tiere und falls wir einen positiven Effekt sehen und noch weitere Experimente zur genaueren Aufarbeitung benötigen werden diese nur dann durchgeführt. Aufbehaltene Proben können verwendet werden um zukünftig auftretende Fragestellungen zu beantworten, ohne einen neuen Tierversuch durchzuführen.

Verminderung: Durch die Aufbewahrung von Proben kann bei zukünftigen Versuchen die Tieranzahl vermindert werden, da man mit den vorhandenen Proben schneller auf eine ausreichende Anzahl von Proben kommt um statistisch signifikante Aussagen treffen zu können.

Verfeinerung: Da das Futter jeden Tag gewechselt wird, werden die Tiere jeden Tag gesehen und klinisch bewertet. Sollte es zu irgendwelchen behebbaren Auffälligkeiten kommen wird versucht diese zu beheben (mehr Nistmaterial, mehr Nagehölzer).

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

Göttinger Minischweine werden für die Entwicklung neuer Medikamente, Toxizitätsstudien und in der Transplantationsforschung eingesetzt. Das Wissen über ihr Immunsystem ist allerdings sehr lückenhaft. Ziel dieses Projektes ist somit eine genaue Charakterisierung des Immunsystems der Minischweine.

zu erwartender Nutzen: An mononukleären Leukozyten des Blutes (peripheral blood mononuclear cells, PBMC) von Minischweinen soll die in vitro Reaktivität von immunmodulierenden Substanzen getestet werden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Belastung für die Tiere ergibt sich durch regelmäßige Blutabnahmen sowie Immunisierungen mit inaktivierten Modellantigenen.

2. Art und Anzahl der Tiere

10 Minipigs

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

Vermeidung: Die Blutgewinnung für die weiterführenden in vitro Untersuchungen ist nur von lebenden Tieren möglich, daher ist für diesen Teil des Projekts keine Alternative möglich.

Verminderung: Die Anzahl der Tiere wurde anhand eines vorhergegangenen Experiments, das die postnatale Entwicklung des Immunsystems im Hausschwein untersuchte, festgelegt.

Verfeinerung: Die Tiere werden so untergebracht und betreut, dass die physiologischen und ethologischen Bedürfnisse der Versuchstiere angemessen berücksichtigt werden. Die Haltung der Tiere in diesem Projekt erfolgt in Gruppen. Die Fütterung erfolgt ad libitum, sauberes Trinkwasser steht ständig zur Verfügung. Ebenso ist für adäquates Beschäftigungsmaterial (z.B. Kautschicke, Beißhölzer, Stroh) für die Tiere gesorgt. Pflege, Überwachung und medizinische Betreuung sowie die Blutabnahmen und die Immunisierungen erfolgen durch qualifiziertes Personal.

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 akute hämorrhagische Diarrhoe Syndrom (AHDS) ist eine häufig vorkommende Erkrankung beim Hund. Charakteristisch ist ein plötzlicher Beginn von blutigem Durchfall (<3 Tage) und Erbrechen mit teils schweren und langdauernden Krankheitsverläufen. Obwohl diese Krankheit schon lange bekannt ist, gibt es über den auslösenden Faktor nach wie vor nur Mutmaßungen. Auf Grund des akuten Auftretens wurden sowohl bakterielle Endotoxine als auch Hypersensibilitätsreaktionen (Typ 1) als mögliche Ursachen angesprochen. Ziel dieses Projekts ist die Erforschung des intestinalen Mikrobioms sowie der Nachweis von netE- und netF-Toxinen. Zusätzlich sollen prognostische Faktoren definiert werden, die es ermöglichen, Komplikationen frühzeitig zu erkennen und effizienter zu therapieren.

Zu erwartender Nutzen des Projektes: Es soll die Ursache für AHDS erforscht werden, um die Diagnose und Therapie an AHDS erkrankten Tieren effizienter durchführen zu können.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Um prognostische Faktoren erheben zu können werden eine einmalige Venenpunktion durchgeführt sowie eine rektale Tupferprobe entnommen.

2. Art und Anzahl der Tiere

105 Hunde

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

Vermeidung: Das Mikrobiom sowie prognostische Faktoren für AHDS können nur an lebenden und erkrankten Tieren der Zielspezies untersucht werden.

Verminderung: Unter Berücksichtigung der geplanten statistischen Auswertung wurde die Tierzahl so gering wie möglich gewählt; es wird nur jene Anzahl an Tieren herangezogen, die erforderlich ist, um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten.

Verfeinerung: Die Probennahme (Blutabnahme, Rektaltupfer) sowie die Überwachung und Betreuung der Tiere erfolgen durch erfahrene Tierärzte und geschulte Tierpfleger.

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

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

Das kleinzellige Bronchialkarzinom ist eine relativ häufige Form des sogenannten „Lungenkrebses“. Neben dem rasanten Wachstum und der sehr raschen Ausbildung von Metastasen, ist die Resistenzausbildung der Tumorzellen auf die gängigen Behandlungsmethoden kennzeichnend. Eine typische Beobachtung ist, dass der Patient auf die erste Behandlung noch sehr gut anspricht, aber nach kurzer Zeit breiten sich die Krebszellen wieder ungebremst aus.

Somit ist der Bedarf in der Medizin nach einem neuen therapeutischen Zugang gegeben. Große Hoffnungen werden auf die Immuntherapie gesetzt. Dieser Ansatz verfolgt das Ziel, das körpereigene Immunsystem zu aktivieren und gegen die Tumorzellen zu lenken. Der hier zu untersuchende Antikörper versucht dies auf zwei verschiedenen Wegen zu erreichen. Einerseits soll er T-Lymphozyten, eine wichtige Gruppe der weißen Blutzellen, die auch Tumore bekämpfen, direkt in das Tumorgewebe schleusen und auf diese Weise helfen den Tumor aufzulösen. Andererseits sollen so die T-Lymphozyten so aktiviert werden, dass sie die Tumorzellen als fremd erkennen und diese Zellen töten. Dass dieser zu untersuchende Antikörper diese Eigenschaften haben könnte, konnte bereits gezeigt werden. In in-vitro Versuchen wurde nachgewiesen, dass er ganz spezifisch Zellen des kleinzelligen Bronchialkarzinoms auflöst und in einem Maus-Versuch konnte eine Tumorregression induziert werden. Ziel dieser Studie ist es zu untersuchen, ob die, durch den neuen Antikörper aktivierten, T-Lymphozyten im Tumor mittels Positronen-Emissions-Tomographie (PET) nachgewiesen werden können. Mittels PET und kann die Verteilung von radioaktiv markierten Substanzen (sogenannte Tracer) in allen Organen des Körpers bestimmt werden. Mit einem speziellen und für diesen Einsatz entwickelten Tracer ist es möglich T-Zellen darzustellen.

Dazu soll als Tiermodell eine immundefiziente Mauslinie eingesetzt werden, die ein kleinzelliges Bronchialkarzinom unter die Haut implantiert bekommt. Nach einigen Tagen wird mit der Behandlung mit humanen T-Lymphozyten begonnen und wieder einige Tage danach wird der neuartige Antikörper appliziert. Zu bestimmten Zeitpunkten wird dann ein PET-Bild generiert mit dem quantitativ und qualitativ die Verteilung der T-Lymphozyten nachgewiesen werden kann und gleichzeitig damit könnten Aussagen über die Wirkungsweise des Antikörpers gegeben werden.

Zu erwartender Nutzen: Weiterführende Kenntnisse, wie und ob, eine neuartige Form der Immuntherapie zur Bekämpfung von Tumoren, und auch deren Metastasen, eingesetzt werden könnte. Dennoch handelt es sich hierbei noch um eine Grundlagenforschung, sodass noch nicht

abgeschätzt werden kann, wann sich dieses Wissen auf eine verbesserte Krebstherapie auswirken kann.

Zu erwartender Schaden: Ein Großteil der Manipulationen an den Tieren soll in Allgemeinanästhesie durchgeführt werden. Dies betrifft die Implantation der Tumore und die eigentlichen PET-Messungen. Nicht in Narkose durchgeführt wird die Verabreichungen der T-Lymphozyten in die Bauchhöhle der Mäuse und des Antikörpers in die Schwanzvenen. Obwohl eine Narkose eine Schmerzfreiheit garantiert, ist sie mit Stress verbunden, bedingt durch die damit verbundenen nötigen Zwangsmaßnahmen, der Dauer und den Nebenwirkungen. Eine fachgerechte Durchführung der Applikationen bedeutet in Summe weniger Stress für die Tiere.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

208 Mäuse.

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

Replacement-Vermeidung: Da in diesem Tierversuchsexperiment die Verteilung eines Antikörpers in einem dreidimensionalen und zufällig gewachsenen Tumor untersucht werden soll und das nur im lebenden Tier möglich ist, gibt es derzeit keine andere versuchstiersparende Alternative.

Reduction-Verminderung: Wie bei jedem Experiment, ist auch der Ausgang dieses Versuches unbekannt, obwohl im gewissen Rahmen vorhersagbar. Um die Anzahl der Mäuse so gering wie möglich zu halten, wurde ein Mehrstufenplan eingeführt. Der eigentliche Tierversuch wird erst nach 3 Vorversuchen durchgeführt. In diesen Vorversuchen werden die einzelnen Schritte und Abläufe des komplexen Hauptversuches an wenigen Tieren untersucht. Erst nach den Vorversuchen, die auch deutlich weniger belastend für die Tiere sind als der eigentliche Versuch, wird der Hauptversuch durchgeführt. Es ist schwer zu sagen, aber man kann, bedingt durch diese Vorgehensweisen, zumindest mit einer Einsparung von 50% der benötigten Versuchstiere ausgehen. Allgemein gesprochen ist diese Art der bildgebenden Untersuchungsmethode eine der Experimentalmethoden, die mit einer möglichst kleinen Tierzahl auskommt.

Refinement-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. "enviromental enrichment") und physischen Leid (z.B. Schmerzmittel) der anverantworteten Versuchstiere dienen können.

Für die Durchführung der Experimente selbst, speziell auch was die Verabreichungsmethoden betrifft, ist langjährige Expertise vorhanden.

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

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

Laut Angaben der Weltgesundheitsorganisation (WHO) wurde im Jahr 2012 weltweit bei 14,1 Millionen Menschen eine Krebserkrankung diagnostiziert, 8,2 Millionen Patienten starben an dieser Krankheit. Die WHO geht davon aus, dass bis zum Jahr 2030 die Zahl der jährlich neu diagnostizierten Krebsfälle auf 22 Millionen ansteigen wird. In Österreich wurde im Jahr 2014 bei 38.908 Menschen eine Krebsneuerkrankung dokumentiert, bei 20.392 Menschen führte eine Krebserkrankung zum Tod.

([http://www.statistik.at/web\\_de/statistiken/menschen\\_und\\_gesellschaft/gesundheit/krebserkrankungen/krebs\\_im\\_ueberblick/index.html](http://www.statistik.at/web_de/statistiken/menschen_und_gesellschaft/gesundheit/krebserkrankungen/krebs_im_ueberblick/index.html)). Damit sind Krebserkrankungen für ein Viertel der jährlichen Todesfälle in Österreich verantwortlich und nach Herz-Kreislauf-Erkrankungen die zweithäufigste Todesursache.

Zu erwartender Nutzen: Übergeordnetes Ziel dieses Forschungsvorhabens ist es, auf Basis neuer wissenschaftlicher Erkenntnisse neue innovative Behandlungsansätze für Krebserkrankungen zu entwickeln, die zu einer Verlängerung des Lebens der Patienten und einer Verbesserung der Lebensqualität führen. Kombinationstherapien bieten einen vielversprechenden Ansatz in der Krebsbehandlung. Ziel ist es dabei, die für Krebszellen wichtigen zellulären Prozesse auf verschiedenen Wegen zu blockieren. Die Tierversuche haben zum Ziel, die Funktionen des menschlichen Körpers und der menschlichen Erkrankung in einem Gesamtorganismus zu simulieren, um nachfolgende klinische Studien mit Krebspatienten mit höchstmöglicher Sicherheit und hoher Wahrscheinlichkeit für Wirksamkeit durchführen zu können.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Dieser Tierversuch wird gemäß §3 TVG 2012 mit dem Schweregrad „schwer“ eingestuft.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

11.754 Mäuse (*Mus musculus*) für das gesamte Projekt über einen Zeitraum von 3 Jahren.

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

Vermeidung: Im Tierversuch werden ausschließlich Wirkstoffe geprüft, die nach einem mehrstufigen Testverfahren auf Basis zahlreicher biochemischer, biophysikalischer und zellbiologischer in vitro Untersuchungen, insbesondere an Kulturen menschlicher und muriner Tumorzellen, als besonders erfolgsversprechend bewertet werden. Eine Vermeidung des

beantragten Tierversuches ist nicht möglich, da die komplexen Zusammenhänge zwischen neuen Therapeutika und einem Tumor sich derzeit nur in einem Gesamtorganismus (in vivo) untersuchen lassen.

Verminderung: Durch Standardisierung aller Haltungs- und Versuchsbedingungen, genaue Versuchsplanung und „State of the Art“ Analysemethoden wird eine geringe Streuung der Versuchsergebnisse ermöglicht. Somit und durch den sequentiellen Ablauf der Tierversuche wird die Anzahl der Versuchstiere und die Versuchsdauer so gering wie möglich gehalten. Für die Fallzahlberechnungen steht ein Statistiker beratend zur Verfügung. Die angegebenen Tierzahlen sind Maximalzahlen, die sich im Verlauf des Versuches reduzieren können.

Verfeinerung: Die Belastung für das Versuchstier soll über den gesamten Versuchsverlauf auf das geringstmögliche Maß vermindert werden und wird durch folgende Maßnahmen gewährleistet: 1. Artgerechte und tierschutzkonforme Unterbringung der Tiere während der gesamten Dauer der Studie, 2. Tägliche Gesundheitskontrolle, 3. Regelmäßige klinische Untersuchung der Tiere um frühzeitig Zeichen von Stress, Schmerzen, Krankheitszeichen und jegliche Verschlechterung des Allgemeinzustands zu detektieren (mithilfe eines klinischen Bewertungsbogens), 4. Einhaltung ethisch vertretbarer Endpunkte durch vordefinierte Abbruchkriterien um unnötige Schmerzen, Leiden und Schäden der Tiere zu vermeiden, 5. Die Sachkunde der beteiligten Personen. Um die auftretenden Belastungen für das Tier weiter zu reduzieren, werden die Methoden zur Durchführung und Auswertung der Versuche laufend an den neuesten Stand von Wissenschaft und Technik angepasst.“

Eine rückblickende Bewertung wird gemäß § 30 Abs. 1 Z 3 TVG 2012 nach Abschluss des Projektes (2022) stattfinden.

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

Laut Angaben der Weltgesundheitsorganisation (WHO) wurde im Jahr 2012 weltweit bei 14,1 Millionen Menschen eine Krebserkrankung diagnostiziert, 8,2 Millionen Patienten starben an dieser Krankheit. Die WHO geht davon aus, dass bis zum Jahr 2030 die Zahl der jährlich neu diagnostizierten Krebsfälle auf 22 Millionen ansteigen wird. In Österreich wurde im Jahr 2014 bei 38.908 Menschen eine Krebsneuerkrankung dokumentiert, bei 20.392 Menschen führte eine Krebserkrankung zum Tod.

([http://www.statistik.at/web\\_de/statistiken/menschen\\_und\\_gesellschaft/gesundheit/krebserkrankungen/krebs\\_im\\_ueberblick/index.html](http://www.statistik.at/web_de/statistiken/menschen_und_gesellschaft/gesundheit/krebserkrankungen/krebs_im_ueberblick/index.html)). Damit sind Krebserkrankungen für ein Viertel der jährlichen Todesfälle in Österreich verantwortlich und nach Herz-Kreislauf-Erkrankungen die zweithäufigste Todesursache.

Zu erwartender Nutzen: Übergeordnetes Ziel dieses Forschungsvorhabens ist es, auf Basis neuer wissenschaftlicher Erkenntnisse neue innovative Behandlungsansätze für Krebserkrankungen zu entwickeln, die zu einer Verlängerung des Lebens der Patienten und einer Verbesserung der Lebensqualität führen. Ziel ist es dabei, die für Krebszellen wichtigen zellulären Prozesse auf verschiedenen Wegen zu blockieren. Die Tierversuche haben zum Ziel, die Funktionen des menschlichen Körpers und der menschlichen Erkrankung in einem Gesamtorganismus zu simulieren, um nachfolgende klinische Studien mit Krebspatienten mit höchstmöglicher Sicherheit und hoher Wahrscheinlichkeit für Wirksamkeit durchführen zu können.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Dieser Tierversuch wird gemäß §3 TVG 2012 mit dem Schweregrad „schwer“ eingestuft.

2. Art und Anzahl der Tiere

16.462 Mäuse (*Mus musculus*) für das gesamte Projekt über einen Zeitraum von 3 Jahren.

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

Vermeidung: Im Tierversuch werden ausschließlich Wirkstoffe geprüft, die nach einem mehrstufigen Testverfahren auf Basis zahlreicher biochemischer, biophysikalischer und zellbiologischer in vitro Untersuchungen, insbesondere an Kulturen menschlicher und muriner Tumorzellen, als besonders erfolgsversprechend bewertet werden. Eine Vermeidung des beantragten Tierversuches ist nicht möglich, da die komplexen Zusammenhänge zwischen neuen

Therapeutika und einem Tumor sich derzeit nur in einem Gesamtorganismus (in vivo) untersuchen lassen.

Verminderung: Durch Standardisierung aller Haltungs- und Versuchsbedingungen, genaue Versuchsplanung und „State of the Art“ Analysemethoden wird eine geringe Streuung der Versuchsergebnisse ermöglicht. Somit und durch den sequentiellen Ablauf der Tierversuche wird die Anzahl der Versuchstiere und die Versuchsdauer so gering wie möglich gehalten. Für die Fallzahlberechnungen steht ein Statistiker beratend zur Verfügung. Die angegebenen Tierzahlen sind Maximalzahlen, die sich im Verlauf des Versuches reduzieren können.

Verfeinerung: Die Belastung für das Versuchstier soll über den gesamten Versuchsverlauf auf das geringstmögliche Maß vermindert werden und wird durch folgende Maßnahmen gewährleistet: 1. Artgerechte und tierschutzkonforme Unterbringung der Tiere während der gesamten Dauer der Studie, 2. Tägliche Gesundheitskontrolle, 3. Regelmäßige klinische Untersuchung der Tiere um frühzeitig Zeichen von Stress, Schmerzen, Krankheitszeichen und jegliche Verschlechterung des Allgemeinzustands zu detektieren (mithilfe eines klinischen Bewertungsbogens), 4. Einhaltung ethisch vertretbarer Endpunkte durch vordefinierte Abbruchkriterien um unnötige Schmerzen, Leiden und Schäden der Tiere zu vermeiden, 5. Die Sachkunde der beteiligten Personen. Um die auftretenden Belastungen für das Tier weiter zu reduzieren, werden die Methoden zur Durchführung und Auswertung der Versuche laufend an den neuesten Stand von Wissenschaft und Technik angepasst.“

Eine rückblickende Bewertung wird gemäß § 30 Abs. 1 Z 3 TVG 2012 nach Abschluss des Projektes (2022) stattfinden.

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

Laut Angaben der Weltgesundheitsorganisation (WHO) wurde im Jahr 2012 weltweit bei 14,1 Millionen Menschen eine Krebserkrankung diagnostiziert, 8,2 Millionen Patienten starben an dieser Krankheit. Die WHO geht davon aus, dass bis zum Jahr 2030 die Zahl der jährlich neu diagnostizierten Krebsfälle auf 22 Millionen ansteigen wird. In Österreich wurde im Jahr 2014 bei 38.908 Menschen eine Krebsneuerkrankung dokumentiert, bei 20.392 Menschen führte eine Krebserkrankung zum Tod.

([http://www.statistik.at/web\\_de/statistiken/menschen\\_und\\_gesellschaft/gesundheit/krebserkrankungen/krebs\\_im\\_ueberblick/index.html](http://www.statistik.at/web_de/statistiken/menschen_und_gesellschaft/gesundheit/krebserkrankungen/krebs_im_ueberblick/index.html)). Damit sind Krebserkrankungen für ein Viertel der jährlichen Todesfälle in Österreich verantwortlich und nach Herz-Kreislauf-Erkrankungen die zweithäufigste Todesursache.

Zu erwartender Nutzen: Übergeordnetes Ziel dieses Forschungsvorhabens ist es, auf Basis neuer wissenschaftlicher Erkenntnisse neue innovative Behandlungsansätze für Krebserkrankungen zu entwickeln, die zu einer Verlängerung des Lebens der Patienten und einer Verbesserung der Lebensqualität führen. Kombinationstherapien bieten einen vielversprechenden Ansatz in der Krebsbehandlung. Ziel ist es dabei, die für Krebszellen wichtigen zellulären Prozesse auf verschiedenen Wegen zu blockieren. Die Tierversuche haben zum Ziel, die Funktionen des menschlichen Körpers und der menschlichen Erkrankung in einem Gesamtorganismus zu simulieren, um nachfolgende klinische Studien mit Krebspatienten mit höchstmöglicher Sicherheit und hoher Wahrscheinlichkeit für Wirksamkeit durchführen zu können.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Dieser Tierversuch wird gemäß §3 TVG 2012 mit dem Schweregrad „schwer“ eingestuft.

2. Art und Anzahl der Tiere

14.078 Mäuse (*Mus musculus*) für das gesamte Projekt über einen Zeitraum von 3 Jahren.

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

Vermeidung: Im Tierversuch werden ausschließlich Wirkstoffe geprüft, die nach einem mehrstufigen Testverfahren auf Basis zahlreicher biochemischer, biophysikalischer und zellbiologischer in vitro Untersuchungen, insbesondere an Kulturen menschlicher und muriner Tumorzellen, als besonders erfolgsversprechend bewertet werden. Eine Vermeidung des

beantragten Tierversuches ist nicht möglich, da die komplexen Zusammenhänge zwischen neuen Therapeutika und einem Tumor sich derzeit nur in einem Gesamtorganismus (in vivo) untersuchen lassen.

Verminderung: Durch Standardisierung aller Haltungs- und Versuchsbedingungen, genaue Versuchsplanung und „State of the Art“ Analysemethoden wird eine geringe Streuung der Versuchsergebnisse ermöglicht. Somit und durch den sequentiellen Ablauf der Tierversuche wird die Anzahl der Versuchstiere und die Versuchsdauer so gering wie möglich gehalten. Für die Fallzahlberechnungen steht ein Statistiker beratend zur Verfügung. Die angegebenen Tierzahlen sind Maximalzahlen, die sich im Verlauf des Versuches reduzieren können.

Verfeinerung: Die Belastung für das Versuchstier soll über den gesamten Versuchsverlauf auf das geringstmögliche Maß vermindert werden und wird durch folgende Maßnahmen gewährleistet: 1. Artgerechte und tierschutzkonforme Unterbringung der Tiere während der gesamten Dauer der Studie, 2. Tägliche Gesundheitskontrolle, 3. Regelmäßige klinische Untersuchung der Tiere um frühzeitig Zeichen von Stress, Schmerzen, Krankheitszeichen und jegliche Verschlechterung des Allgemeinzustands zu detektieren (mithilfe eines klinischen Bewertungsbogens), 4. Einhaltung ethisch vertretbarer Endpunkte durch vordefinierte Abbruchkriterien um unnötige Schmerzen, Leiden und Schäden der Tiere zu vermeiden, 5. Die Sachkunde der beteiligten Personen. Um die auftretenden Belastungen für das Tier weiter zu reduzieren, werden die Methoden zur Durchführung und Auswertung der Versuche laufend an den neuesten Stand von Wissenschaft und Technik angepasst.“

Eine rückblickende Bewertung wird gemäß § 30 Abs. 1 Z 3 TVG 2012 nach Abschluss des Projektes (2022) stattfinden.

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

Laut Angaben der Weltgesundheitsorganisation (WHO) wurde im Jahr 2012 weltweit bei 14,1 Millionen Menschen eine Krebserkrankung diagnostiziert, 8,2 Millionen Patienten starben an dieser Krankheit. Die WHO geht davon aus, dass bis zum Jahr 2030 die Zahl der jährlich neu diagnostizierten Krebsfälle auf 22 Millionen ansteigen wird. In Österreich wurde im Jahr 2014 bei 38.908 Menschen eine Krebsneuerkrankung dokumentiert, bei 20.392 Menschen führte eine Krebserkrankung zum Tod.

([http://www.statistik.at/web\\_de/statistiken/menschen\\_und\\_gesellschaft/gesundheit/krebserkrankungen/krebs\\_im\\_ueberblick/index.html](http://www.statistik.at/web_de/statistiken/menschen_und_gesellschaft/gesundheit/krebserkrankungen/krebs_im_ueberblick/index.html)). Damit sind Krebserkrankungen für ein Viertel der jährlichen Todesfälle in Österreich verantwortlich und nach Herz-Kreislauf-Erkrankungen die zweithäufigste Todesursache.

Zu erwartender Nutzen: Übergeordnetes Ziel dieses Forschungsvorhabens ist es, auf Basis neuer wissenschaftlicher Erkenntnisse neue innovative Behandlungsansätze für Krebserkrankungen zu entwickeln, die zu einer Verlängerung des Lebens der Patienten und einer Verbesserung der Lebensqualität führen. Ziel ist es dabei, die für Krebszellen wichtigen zellulären Prozesse auf verschiedenen Wegen zu blockieren. Die Tierversuche haben zum Ziel, die Funktionen des menschlichen Körpers und der menschlichen Erkrankung in einem Gesamtorganismus zu simulieren, um nachfolgende klinische Studien mit Krebspatienten mit höchstmöglicher Sicherheit und hoher Wahrscheinlichkeit für Wirksamkeit durchführen zu können.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Dieser Tierversuch wird gemäß §3 TVG 2012 mit dem Schweregrad „schwer“ eingestuft.

2. Art und Anzahl der Tiere

3.090 Mäuse (*Mus musculus*) für das gesamte Projekt über einen Zeitraum von 3 Jahren.

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

Vermeidung: Im Tierversuch werden ausschließlich Wirkstoffe geprüft, die nach einem mehrstufigen Testverfahren auf Basis zahlreicher biochemischer, biophysikalischer und zellbiologischer in vitro Untersuchungen, insbesondere an Kulturen menschlicher und muriner Tumorzellen, als besonders erfolgsversprechend bewertet werden. Eine Vermeidung des beantragten Tierversuches ist nicht möglich, da die komplexen Zusammenhänge zwischen neuen

Therapeutika und einem Tumor sich derzeit nur in einem Gesamtorganismus (in vivo) untersuchen lassen.

Verminderung: Durch Standardisierung aller Haltungs- und Versuchsbedingungen, genaue Versuchsplanung und „State of the Art“ Analysemethoden wird eine geringe Streuung der Versuchsergebnisse ermöglicht. Somit und durch den sequentiellen Ablauf der Tierversuche wird die Anzahl der Versuchstiere und die Versuchsdauer so gering wie möglich gehalten. Für die Fallzahlberechnungen steht ein Statistiker beratend zur Verfügung. Die angegebenen Tierzahlen sind Maximalzahlen, die sich im Verlauf des Versuches reduzieren können.

Verfeinerung: Die Belastung für das Versuchstier soll über den gesamten Versuchsverlauf auf das geringstmögliche Maß vermindert werden und wird durch folgende Maßnahmen gewährleistet: 1. Artgerechte und tierschutzkonforme Unterbringung der Tiere während der gesamten Dauer der Studie, 2. Tägliche Gesundheitskontrolle, 3. Regelmäßige klinische Untersuchung der Tiere um frühzeitig Zeichen von Stress, Schmerzen, Krankheitszeichen und jegliche Verschlechterung des Allgemeinzustands zu detektieren (mithilfe eines klinischen Bewertungsbogens), 4. Einhaltung ethisch vertretbarer Endpunkte durch vordefinierte Abbruchkriterien um unnötige Schmerzen, Leiden und Schäden der Tiere zu vermeiden, 5. Die Sachkunde der beteiligten Personen. Um die auftretenden Belastungen für das Tier weiter zu reduzieren, werden die Methoden zur Durchführung und Auswertung der Versuche laufend an den neuesten Stand von Wissenschaft und Technik angepasst.“

Eine rückblickende Bewertung wird gemäß § 30 Abs. 1 Z 3 TVG 2012 nach Abschluss des Projektes (2022) stattfinden.

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

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

Follistatin (FST) unterdrückt die Bildung von Myostatin. Myostatin ist ein Hormon, das den Muskelaufbau verhindert. Folglich ist die Wirkung von FST eine Förderung des Muskelaufbaus. Es eignet sich deshalb für einen Missbrauch als Dopingmittel und birgt dementsprechend auch Gefahren für die Gesundheit. Das ist auch der Grund, warum diese Substanz im Kapitel S4 der verbotenen Substanzen der World Anti-Doping Agency gelistet ist. Zum gegenwärtigen Zeitpunkt ist noch keine geprüfte Arznei erhältlich, die FST enthält. Nichtsdestotrotz ist FST im Internet für Forschungszwecke käuflich. Dieses FST wird gentechnisch in E. coli erzeugt. Anders als im Körper fehlen diesem FST bestimmte chemische Strukturen. E. coli glykosiliert FST nämlich nicht, weshalb es zwar für Forschungszwecke geeignet ist, aber es ist nicht bekannt, wie es im Körper wirkt und ob ein Unterschied zum körpereigenen FST besteht. In Dopingkreisen wird diese Form des FST als „Schwarzmarkt“-FST („black market“-FST, bmFST) bezeichnet und gehandelt.

Ziel dieser Studie soll sein, die Pharmakokinetik von bmFST zu untersuchen. Dazu sollen, nach der Verabreichung von bmFST an Ratten, zu drei verschiedenen Zeitpunkten Blut und Harn gewonnen werden. Diese Proben sollen dann, mittels Western Blotting, untersucht werden, um die Konzentration des bmFST bestimmen zu können. So soll ein einfaches, sicheres, rasches und direktes Nachweissystem validiert werden.

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

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

2. Art und Anzahl der Tiere

30 Ratten

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

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

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

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

Rückblickende Bewertung: Eine rückblickende Bewertung ist nicht vorgesehen.

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

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

In den vergangenen 20 Jahren kam es weltweit zu einem dramatischen Anstieg der Adipositasprävalenz. Begleitet wurde dieser Trend von immer häufigerem Auftreten von Typ II Diabetes mellitus und nicht-alkoholischer Fettleber. Diese, früher als „Alterskrankheiten“ bekannte Erkrankungen, werden heute in zunehmendem Maße auch bei Kindern und Jugendlichen diagnostiziert. Betroffene Personen sind besonders anfällig für schwere Herz-Kreislaufkrankungen, Leberschäden (bis hin zur Zirrhose) aber auch Krebserkrankungen werden mit Fettleibigkeit assoziiert. Studien haben zudem gezeigt, dass zwischen der Entstehung und der Progression von Tumorerkrankungen sowie dem Energiestoffwechsel per se ein enger Zusammenhang besteht, und dass das Vorhandensein verschiedener Metaboliten den Krankheitsverlauf zumindest im Mausmodell entscheiden beeinflussen kann. Neuere Forschungsergebnisse haben gezeigt, dass neben psychosozialen Komponenten und Ernährungs-/Bewegungsgewohnheiten auch die genetische Prädisposition eine wichtige Rolle bei der Erkrankung an diesen Zivilisationskrankheiten spielt. Im Zentrum dieser Studien stehen meist genetisch veränderte Mausmodelle. Die Anzahl der dafür verwendeten Versuchstiere ist stark vom zu erwarteten Effekt abhängig, sprich sind die Unterschiede zur Kontrollgruppe eindeutig, beschränken sich die Experimente auf ein statistisches Minimum. Außerdem wird ständig an einer Verbesserung der Versuchsabläufe gearbeitet. Soweit als möglich, verwenden wir nicht-invasive Methoden um den Versuchstieren Leid und Stress zu ersparen. Im Zuge der beantragten Änderung des Projektes soll es zu einer Verlängerung der Projektdauer kommen.

zu erwartender Nutzen: Viele Gene sind in der Maus und im Menschen sehr ähnlich (sie sind „homolog“). Oft entsprechen sie daher auch ihrer Funktion. Genetisch veränderte Mausmodelle liefern deshalb wichtige Informationen darüber, wie molekulare und biochemische Anomalien zur Entstehung von humanen Erkrankungen beitragen. Speziell bei der Erforschung vom Fett-/Energiestoffwechsel konnten deshalb in der Vergangenheit regelrechte Durchbrüche erzielt werden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Experimente in diesem Projektantrag (um nur einige zu nennen: Insulin-, Glukosetoleranztests, Diätstudien, Blutabnahme) zielen darauf ab, Fragestellungen bezüglich molekularer Stoffwechselwege aufzuklären. Da die genetisch veränderten Mausmodelle keine erwartete Vorbelastung haben, können diese Versuche bzgl.

Schaden am Tier als „gering“ und „mittel“ eingestuft werden. Einige wenige Versuche innerhalb dieses Projektes sind zudem dem Schweregrad „schwer“ zuzuordnen. In jedem Fall wird aber sorgfältig abgewogen, ob die Durchführung des geplanten Versuchs entsprechend der Schaden-Nutzen Analyse gerechtfertigt ist

## 2. Art und Anzahl der Tiere

**Die beantragte Änderung der Projektdauer führt zu keiner Erhöhung der Tierzahl.** Es sollen maximal 7540 Mäuse verwendet werden

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

Wie viele andere Stoffwechselerkrankungen sind Diabetes, nicht-alkoholische Fettleber und das metabolische Syndrom ebenso wie Krebs Multiorganerkrankungen, sie haben daher Auswirkungen auf den gesamten Organismus. Das macht es schwierig Schlussfolgerungen aus „nur“ Zellkulturbasierten Studien zu ziehen.

**Vermeidung:** Unser Labor beherbergt eine voll ausgestattete Zellkultur, die es auch erlaubt mit Hilfe von viralen Vektoren (S2 Zellkultur) genetische Manipulationen, wie Überexpression von Proteinen oder Gen Silencing, an Zellen vorzunehmen. Wo möglich kommen derartige Methoden zum Einsatz, um die Zahl an Versuchstieren, aber auch übermäßiges Leid zu vermeiden. Im Besten Fall können Versuche an Labortieren in letzter Instanz als Proof-of-Principle Experimente vorgenommen werden.

**Verminderung:** Gewissenhafte Planung der Tierversuche ist ein wichtiger Schritt zur Verminderung der Tierversuchszahl, aber auch an Schaden am Tier. Dadurch werden wir versuchen mit so wenigen Tieren wie möglich auszukommen. Die tatsächliche Anzahl an benötigten Versuchstieren richtet sich stark nach dem tatsächlichen Effekt der geplanten Interventionen in den Experimenten. Sind daher die Unterschiede zwischen Kontrollmäusen und unseren Mausmodellen eindeutig, werden sich die Versuche auf ein statistisches Minimum reduzieren. Im Regelfall wird die Anzahl an Tieren pro Versuch zwischen 5 und 10 liegen.

**Verfeinerung:** An unserem Standort verfügen wir über High-End Technologien, wie Stoffwechselkäfige, NMR, MRI. Mit Hilfe dieser Ausstattung ist es uns möglich sehr gezielte Aussagen durch nicht-invasive Methoden über Stoffwechseleränderungen zu treffen. Wir versuchen außerdem ein Maximum an Informationen aus all unseren Experimenten zu ziehen. Selbstverständlich werden Tiere mit schweren Defekten sofort nach der Geburt getötet und

krankte Tiere isoliert und mittels zervikaler Dislokation erlöst. Unsere Mitarbeiter sind durch Fortbildungen auf dem neuesten Wissenstand und sind in der Lage die Versuche mit geringstmöglichem Leid für die Tiere durchzuführen.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 30. Juni 2020 **und bis spätestens 30. April 2021 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

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

zu erwartender Schaden für die Tiere: Es handelt sich um Finalversuche.

2. Art und Anzahl der Tiere

**Wildtypmaus (C57BL/6), 420**

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

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

Vermeidung: Ein Tierversuch ist in diesem Fall unvermeidbar, weil der Versuch aufgrund der Komplexität der Krankheitsprozesses und des RAA-Systems an einem mit dem Menschen vergleichbaren Organismus durchgeführt werden muss, um die spezifische Antwort auf die Interventionen, wie z.B. hämodynamische Veränderungen und Proteinkonzentrationen im Blut untersuchen zu können. Alternative ex-vivo oder in-vitro Modelle können die gestellten Fragen, aufgrund des komplexen physiologischen Wechselspiels der Produktion und des Abbaus von RAS Produkten in-vivo, nicht beantworten.

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

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

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

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

Das vorliegende Projekt bezieht sich auf die Entwicklung einer Krebsvakzine, mit Testung der Wirksamkeit, um diese Vakzine in eine klinische Prüfung bringen zu können. Es wird einerseits eine Tumorantigen-spezifische Vakzine gegen Brust und Magenkrebs getestet, andererseits wird eine Vakzine gegen Checkpointinhibitoren getestet, die gegen viele Tumore eingesetzt werden kann. Schließlich soll die Kombination dieser beiden Vakzine getestet werden, und deren mögliche verstärkte Wirkung überprüft werden.

zu erwartender Nutzen: Im vorliegenden Projekt soll das Konzept einer Vakzine gegen die aggressive Form von Brustkrebs und Magenkrebs getestet werden. Als Impfstoff werden hier B-Zell-Peptide der Proteine verwendet, die in den Krebszellen produziert werden. Auf diese Weise soll die Toleranz zu „selbst-Antigen“ d.h. den körpereigenen Stoffen, durchbrochen werden um eine Immunabwehr spezifisch gegen die Krebszellen zu erzeugen. Es wird erwartet, dass die Anwendung solcher Vakzine in Kombination mit anderen Therapien zu einem verbesserten Erfolg der Behandlung von solchen Tumoren führen wird. In dem vorliegenden Versuch handelt es sich um Weiterentwicklung dieser Vakzine, die bereits in einer Phase I klinischer Studie getestet wurde. Es soll untersucht werden, ob die Vakzine auch die Metastasierung verhindern kann.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Der Versuch wird an Mäusen durchgeführt. Dazu werden die Mäuse mit der Vakzine geimpft und vor und nach der Impfung wird Blut abgenommen. Während der Immunisierungsexperimente entwickeln die Mäuse Tumore. Zwei Wochen nach Tumorentwicklung werden die Mäuse getötet, die Tumore entfernt und die Größe der Tumore zwischen geimpften und nicht geimpften Mäusen verglichen und die Tumore analysiert.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

Zusammenfassend für das gesamte Tumor Projekt: **Es werden 1205 Mäuse verwendet.** Durch die unterschiedlichen Mausstämme bzw. unterschiedlichen Applikationsrouten von zu transplantierten Tumorzellen (D2F2/E2) ergeben sich verschiedene Schweregrade: in 25 (24,8) % der Mäuse ist der Schweregrad als „schwer“ einzustufen (i.e. 45 transgene Mäuse, 254 i.v. gespritzte Tumorzellen -> Metastasen). In 75 (75,2) % der Mäuse ist aber der Schweregrad nur mit

„mittel“ einzustufen, da die Tumorzellen subkutan gespritzt werden und die Tumore nicht metastasieren.

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

**Vermeidung:** Die Wirkung einer Vakzine ist ein komplexer immunologischer Vorgang der in mehreren lymphatischen Organen im Sinne eines immunologischen Netzwerks stattfindet und kann nicht nur an isolierten Zellen, Zellkultur, in vitro getestet werden.

**Verminderung:** unter Mitwirkung eines Biostatistikers wurde die geringste erforderliche Anzahl der Tiere berechnet, die für eine statistische Auswertung der Ergebnisse notwendig ist.

**Verfeinerung:** Die Tiere werden vom Mitarbeitern und vom ausgebildeten Fachpersonal versorgt. Durch eine engmaschige Überwachung und Kontrolle der Tiere wird angemessener Gesundheitszustand gewährleistet. Die Durchführung der Versuche, Tierhaltung und Hygiene-Maßnahmen entsprechen dem TVG 2012. Die Belastung der Tiere wird in diesem Versuch als mittelgradig bemessen.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. Jänner 2021 **sowie bis spätestens 31. August 2021** vorgesehen.

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

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

Zu erwartender Nutzen: Positronen-Emissions-Tomographie (PET), die mit dem Zucker-ähnlichen Radiopharmaka (Tracer) FDG und Me4FDG durchgeführt werden, sind bildgebende Methode, die die Quantifizierung von Stoffen in Organen ermöglicht. Ein relativ wenig erforschtes Gebiet ist das komplexe Verhalten von diesen zuckerähnlichen Tracern in der Niere, wobei speziell der Anteil von sogenannten Natrium-Glukose-Transportern (SGLTs) zur Rückresorption nicht vollständig geklärt ist. Die Quantifizierung von SGLT Prozessen in der Niere führt zu: einer Bestimmung der allgemeine Nierenfunktionsparameter, der Beitrag von Zucker, im Speziellen aber SGLT-bezogenen Zuckerprozessen zur Nierenfunktion, dem Verständnis von Zuckerprozessen in der Niere bei Diabetes speziell im Hinblick auf eine neue Therapieform „SGLT Inhibition“, die die SGLTFunktion unterdrückt. Für die Quantifizierung von Tracer-Prozessen werden sogenannte kinetische Modelle benötigt, also mathematische Beschreibungen von biologischen Vorgängen in einem Organ, in diesem Fall der Niere. Die einzelnen Prozesse, also etwa Filtration, Durchfluss, Ausscheidung oder Resorption, können auf diese Weise mit Prozessraten quantifiziert werden.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Um so ein kinetisches Modell zu entwickeln, bedarf es konkreter experimenteller Versuche. Die Nieren von Mäusen sollen daher entsprechend dieser Prozesse gezielt manipuliert werden, um sie dann einerseits mit bildgebenden Methoden (also PET Scans), andererseits mit entsprechenden Referenzmethoden zu untersuchen. Fünf Gruppen sollen hierfür studiert werden: 1. eine Gruppe, bei welcher konkrete Nierenfunktionen operativ beeinflusst werden, um die rein mechanistischen Vorgänge in der Niere zu studieren. Für die Quantifizierung der biochemischen Prozesse wird zudem noch 2. eine Gruppe mit Mäusen, die unter Diabetes Typ 2 leiden, vor und nach SGLT2 Inhibitor Therapie, untersucht, sowie 3. eine gesunde Kontrollgruppe. Da SGLT Inhibition lediglich eine medikamentöse Blockade darstellt, die zudem eine Gegenreaktion in anderen Zuckertransportern hervorrufen kann, wird zudem noch eine 4. Gruppe mit genetisch blockierter SGLT Funktion untersucht. Das erlaubt zudem erstmals eine genaue Quantifizierung der Kompensationsprozesse durch SGLT Inhibitor Therapie. Alle Tiere erhalten nicht-invasive Scans und Untersuchungen, bei denen kein Schaden zu erwarten ist. Gruppe 1 erhält operative Eingriffe. Bei Gruppe 4 kann eine milde Glukosurie auftreten, d.h. eine Ausscheidung von Zucker über den Harn.

2. Art und Anzahl der Tiere

**Insgesamt 102 männliche Mäuse, zwischen 10 und 12 Wochen alt, sollen untersucht werden.**

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

Durch die Verwendung modernster bildgebender Technologie wird sowohl die Anzahl der Tiere, als auch deren Belastung minimiert. Alle verwendeten Methoden stellen Standardverfahren im Bereich der Tierversuche da und sind daher umfassend evaluiert und etabliert. Der strukturierte experimentelle Aufbau verhindert, dass weitere Experimente notwendig sein werden. Durch die Verwendung zweier Radiopharmaka kann zudem noch Information über eine vergleichende Analyse gewonnen werden, ohne die Tiere zusätzlich zu schädigen. Die verwendeten Tracer sind bewilligt, werden in der Routine verwendet und es sind keine Nebenwirkungen bekannt. Die Tiere erhalten während und nach der Operationen, sowie während der Scans entsprechende anästhesierende und analgesierende Präparate.

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

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

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

Entzündliche Darmerkrankungen wie Colitis Ulcerosa und Morbus Crohn beeinträchtigen massiv die Lebensqualität der betroffenen Patienten und sind ein wesentlicher Risikofaktor für die Entwicklung von Darmkrebs. Deshalb werden intensiv therapeutisch nutzbare, protektive Zellmoleküle gesucht. Bei diesen Studien sind genveränderte Mäuse unverzichtbar. Unsere Studien in Knock-out Mäusen haben eine Schutzfunktion des Protocadherins CDHR5 bei der Darmentzündung aufgezeigt. Als experimentelles Model haben wir Darmentzündung mit der colitogenen Substanz Dextransulfat (DSS) induziert. Obwohl DSS-induzierte Darmentzündung nach wie vor ein gängiges experimentelles Mausmodel ist, haben wissenschaftliche Erkenntnisse gezeigt, dass die immunologischen Effekte der humanen Erkrankungen Colitis Ulcerosa und Morbus Crohn nur teilweise widerspiegelt werden. Beim DSS Model spielen hauptsächlich Immunzellen der angeborenen Immunität eine Rolle, während beim Menschen Zellen der erworbenen Immunität (CD4 T Zellen, wie proinflammatorische Th1, Th2, Th9 und Th17 Zellen sowie anti-inflammatorische, regulatorische T Zellen) eine wesentliche Rolle spielen. Um unsere Studien humanrelevanter zu machen, wollen wir zusätzlich das Oxazolon und TNBS Model für experimentelle Colitis etablieren und anwenden. Oxazolon-induzierte Colitis in Mäusen ist mit einer Th2-artigen Immunantwort assoziiert ist und wird als Model für Colitis Ulcerosa verwendet. Administration von TNBS führt zur Produktion von TNBS spezifischen CD4 T Zellen und Antikörpern, welche Darmentzündung auslösen. TNBS Behandlung wird aufgrund immunologischer und histopathologischen Ähnlichkeiten als Model für Morbus Crohn verwendet.

zu erwartender Nutzen: Unsere Experimente werden zeigen ob CDHR5 ein therapeutisch nutzbares Zielmolekül für die Behandlung entzündlicher Darmerkrankungen darstellt. Morbus Crohn Patienten werden mit der antientzündlichen Substanz Mesalamin behandelt. Die genaue Wirkungsweise dieser Substanz ist unklar, aber weitere Forschungsergebnisse haben gezeigt, dass Mesalamin die Expression von CDHR5 in Darmepithelzellen induziert. Unsere Erkenntnisse werden also auch darüber Auskunft geben, ob CDHR5 an der Schutzwirkung von Mesalamin beteiligt ist.

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

### 2. Anzahl und Art der Tiere

## **Erhöhung der Tierzahl von 1550 auf 2150 Mäuse**

### 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. (1) Alle Tiere werden unter standardisierten Bedingungen (geregelter Lichtzyklus, Luftfeuchtigkeit, Temperatur) mit Nistmaterial gehalten. (2) 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. (3) 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): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

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

Cochlea-Implantate werden immer häufiger auch zur Versorgung von schwerhörigen Patienten mit einem gewissen Restgehör - meist im Tieftonbereich - eingesetzt. Ziel bei diesen Operationen ist der Erhalt des Restgehörs, um elektro-akustisches Hören zu ermöglichen. Dieses ermöglicht vor allem besseres Richtungshören und Spracherkennung bei lauter Geräuschkulisse. Durch die Entwicklung atraumatischer Elektroden und Operationstechniken, aber auch Verwendung von Medikamenten (insbesondere Glukokortikoide) wird versucht, die postoperativen Ergebnisse bei Cochlea Implantat-Versorgung zu verbessern. Deshalb setzt sich diese Studie zum Ziel, den Effekt von Glukokortikoiden auf die Hörergebnisse sowie die Leitungs-Eigenschaften der Elektroden zu erforschen.

zu erwartender Nutzen: Der zu erwartende Nutzen der Studie liegt in Erkenntnissen über eine potentielle Verbesserung des Restgehörerhalts und der Impedanzen nach Cochlea-Implantat-Versorgung. Dies könnte die medizinische Versorgung der betroffenen Patientengruppe entscheidend verbessern.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Der für die Tiere zu erwartende Schaden liegt in einer Operation (einseitige Cochlea-Implantation mit bzw. ohne intra-tympanaler Verabreichung eines Glukokortikoid-haltigen Hydrogels) unter Vollnarkose. Außerdem werden wiederholte Narkosen zur Durchführung von Hörmessungen über einen Zeitraum eines Monats erfolgen.

2. Art und Anzahl der Tiere

**66 mongolische Wüstenrennmäuse (*meriones unguiculatus*)**

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

Vermeidung: Es gibt für die Testung von Hörergebnissen und Elektroden-Impedanzen derzeit keine adäquaten in-vitro Modelle. Daher ist die Verwendung von Tiermodellen notwendig.

Verminderung: Die Anzahl der Tiere wird durch Power-Analysen im Rahmen der Studienplanung möglichst geringgehalten. Zusätzlich sind wir stets um die Verfeinerung unserer Methoden bemüht, um die Streuung der Ergebnisse und die damit benötigte Tieranzahl zu reduzieren.

Verfeinerung: Der chirurgische Eingriff, die Narkose und das intra-sowie postoperative Management werden ständig auf mögliche Verbesserungen evaluiert.

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

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

Gefäßverkalkungen (Atherosklerose) und deren klinische Komplikationen, wie Herzinfarkt und Schlaganfall, sind die häufigsten Todesursachen weltweit. Für die Entstehung der Atherosklerose spielen hohe Cholesterinwerte und Entzündungen eine bedeutende Rolle. Die genauen Umstände für die Entstehung und Entwicklung der Atherosklerose sind allerdings nach wie vor ungeklärt. Mit Hilfe des immer detaillierteren Verständnisses der biochemischen Vorgänge in und zwischen Zellen wird versucht, die Ursachen und den molekularen Ablauf zu klären. Innerhalb dieses Projektes soll die Rolle eines Regulationsmechanismus in bestimmten Immunzellen in der Entstehung der Atherosklerose anhand von Mausmodellen untersucht werden. Im Detail sollen neue Mausmodelle etabliert werden, die neben genetisch bedingter Atheroskleroseanfälligkeit auch ein Defizit eines bestimmten Rezeptors haben. Diese Modelle ermöglichen es, den Effekt dieses Proteins auf die Entstehung atherosklerotischer Gefäßveränderungen zu untersuchen. Dies soll in erster Linie mittels histologischer und biochemischer sowie immunologischer Methoden an Post mortem entnommenen Geweben geschehen.

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

zu erwartender Schaden für die Tiere: Da es sich bei dieser Studie um die Untersuchung eines Krankheitsprozesses eines komplexen Organsystems handelt, können diese nur in lebenden Organismen durchgeführt werden. Die vorgenommenen Eingriffe sind allesamt mit einer geringen bis mittleren Belastung der Versuchstiere verbunden, wobei diese soweit wie möglich vermieden werden.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

#### **220 männliche Mäuse**

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

Vermeidung: Da die Aussagen von Zellkulturexperimenten begrenzt sind und nicht im Zusammenhang mit der Funktion eines Gens im ganzen Organismus stehen bzw. die in vivo Situation darstellen, ist eine Vermeidung des beantragten Tierversuches nicht möglich. Die Fragestellung ist nur in vivo zu beantworten.

Verminderung: Das Design dieser Studie fand unter genauer Berücksichtigung der 3R Regeln statt. Bei der Erstellung des Versuchsplanes wurde darauf geachtet, dass die Versuche mit der geringstmöglichen Belastung und kleinstmöglichen (aber statistisch notwendigen) Anzahl an Versuchstieren durchgeführt werden.

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

Sepsis ist eine schwerwiegende und häufige Erkrankung mit hoher Sterblichkeitsrate, welche in der Regel durch eine überschießende Entzündungsreaktion ausgelöst wird. Die häufigste und gefährlichste Konsequenz der Sepsis ist die Ausbreitung der Entzündung im gesamten Körper, gefolgt von Multiorganversagen, das wiederum zum Tod des Patienten führen kann. Um diese überschießende Entzündungsreaktion zu vermeiden, ist die effektive Kontrolle der durch Makrophagen ausgelösten Entzündung von zentraler Bedeutung. Entzündungsreaktionen spielen darüber hinaus auch für die Entstehung der Atherosklerose, die zu klinischen Komplikationen wie Myokardinfarkt und Schlaganfall führen kann, eine bedeutende Rolle. Kürzlich wurde ein Protein mit entzündungshemmenden Eigenschaften beschrieben. Die Regulation dieses Proteins erlaubt es den Zellen eine entzündungsfördernde Immunantwort auszuführen. Die konservierte Regulation dieses Proteins konnte auch in vivo in Maus und Mensch nachgewiesen werden. Um die biologische Bedeutung des Proteins im Rahmen der Entzündung im Organismus zu studieren, verwenden wir transgene Mäuse, die erhöhte Spiegel des Proteins aufweisen. Die Tiere sollten für zwei bereits genehmigte Tierversuche verwendet werden um die physiologische Rolle des Proteins in der Entzündungsreaktion, sowie während der Entstehung der Atherosklerose zu untersuchen. Darüber hinaus sollten die Tiere zur genauen Phänotypisierung, zur Entnahme primärer Zellen sowie zur Zucht mit anderen ausgewählten Mauslinien gekreuzt werden, um kombinierte genetische Modelle für weiterführende Studien zu generieren.

zu erwartender Nutzen: Aus den gewonnen Informationen erwarten wir uns ein besseres Verständnis über die Rolle des Proteins und dessen Interventionspotential im Kontext der Entzündungsreaktion und der Atherosklerose. Die Ergebnisse dienen der Grundlagenforschung sowie der möglichen Entwicklung neuer anti-inflammatorischer Medikamente. Die Ergebnisse des Projektes sollen weiters Einblicke in die Entstehung der Ursachen für Herzinfarkt und Schlaganfall liefern, welche zu neuen therapeutischen Ansätzen führen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Im Zuge des Projektes wird die Anzahl der gezüchteten Tiere auf ein Minimum reduziert und einer Belastung ausgesetzt die als gering einzustufen ist.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden vier Linien der transgenen Mäuse im C57BL/6N genetischen Hintergrund gezüchtet, die das Protein in unterschiedlicher Form und Genexpressionsstärke exprimieren. Zusätzlich zu der bereits genehmigten Anzahl für die beiden Tierversuche sollen jährlich zur Stammerhaltung pro Linie maximal 336 Mäuse gezüchtet werden, von denen statistisch jeweils die Hälfte die genetische Veränderung aufweist. Über einen Zeitraum von **3+3 Jahren** sollen insgesamt maximal 4596 Mäuse gezüchtet werden.

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

**Vermeidung:** Ziel des Projektes ist es, die Eigenschaften des Proteins in der Entzündungsreaktion und der Atherosklerose zu untersuchen. Im Tierreich ist dieses Protein nur in Wirbeltieren zu finden. Zellkulturen können das Mausmodell nicht ersetzen, da die komplexen Signalwege der systematischen Entzündung und der Atherosklerose nur in einem intakten Wirbeltierorganismus untersucht werden können. Daher existieren für das vorgelegte Projekt keine alternativen experimentellen Ansätze.

**Verminderung:** Durch genaue Versuchsplanung, sowie durch die Standardisierung aller Haltungs- und Versuchsbedingungen wird eine möglichst geringe Streuung der Ergebnisse gewährleistet und somit die Anzahl der Tiere für das Projekt auf ein Minimum reduziert. Zur weiteren Reduktion der Streuung werden Wildtyp-Geschwistertiere als Kontrollen eingesetzt, was uns wiederum erlaubt die Anzahl der benötigten Tiere weiter zu verringern.

**Verfeinerung:** Die Versuche werden unter möglichst stressfreien Bedingungen durchgeführt. Eine soziale Anreicherung der Umgebung, Nagehölzer, die Betreuung durch bekannte Personen, sowie die Sicherstellung einer möglichst vertrauten Umgebung (Gerüche, Geräusche, Luftfeuchtigkeit, Licht) sollen helfen Dystress jeglicher Art möglichst zu vermeiden. Damit geht auch eine deutlich niedrigere Varianz der Ergebnisse, eine erhöhte Qualität und somit auch eine Reduzierung der Anzahl der benötigten Versuchstiere einher. Durch Beachtung strenger Abbruchkriterien wird die Belastung der Tiere weiter reduziert. Wo immer möglich ist die Verwendung von Zellkultursystemen geplant, um die in vivo Effekte auf zellulärer Ebene zu validieren.

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

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

Wie bereits im Originalantrag beschrieben ist das Projektziel zu untersuchen, ob die Hemmung der 15-Prostaglandindehydrogenase (15-PGDH, steuert den Abbau von Botenstoffen die man als Prostaglandine und Lipoxine bezeichnet), einen positiven Effekt auf Fibrose und Entzündung im Rahmen eines Tiermodells für die idiopathische pulmonale Fibrose (IPF) hat. **Nun möchten wir zusätzlich noch untersuchen, ob sich dadurch die Lungenfunktion verbessert und ob und welche Immunzellen (v.a. weiße Blutkörperchen) hier in die Prostaglandinsynthese involviert sind. Um die Generalisierbarkeit unserer Daten zu überprüfen, werden wir dies zusätzlich auch in einem stark verkürzten Lungenentzündungsmodell untersuchen.**

Zu erwarteter Schaden für die Tiere: Das Bleomycin-Modell, das zu einer Entzündung des Lungengewebes mit nachfolgender Fibrose führt, ist inzwischen am Institut etabliert. Es führt zu einer mittelgradigen Einschränkung des Wohlbefindens der Tiere. Die Mortalität ist aber bei einmaliger Anwendung sehr gering. Die Endotoxin-induzierte Lungenschädigung durch Lipopolysaccharid führt ebenfalls zu einer sehr kurzfristigen mittelgradigen Einschränkung des Wohlbefindens der Tiere.

Zu erwarteter Nutzen: Wie bereits im Originalantrag beschrieben, ist unsere Hypothese, dass die Hemmung des Prostaglandin- und Lipoxinabbaus zu einer verminderten Inflammation und Fibrose des Lungengewebes führt. Aufgrund der zentralen Rolle der zunehmenden Fibrose im Verlauf der IPF, würde eine Behandlung, die in der Lage ist, dies aufzuhalten und eventuell sogar rückgängig zu machen, eine massive Verbesserung der derzeitigen Prognose bedeuten. Von besonderer Bedeutung ist hierbei der Effekt auf einen klinisch relevanten Parameter in der IPF, die Lungenfunktion, welchen wir daher nun mittels spezieller Messungen untersuchen möchten. Die Untersuchungen, die wir zur Prostaglandinsynthese von Immunzellen unter sowohl fibrotischen als auch akut entzündlichen Bedingungen vornehmen möchten, dienen dazu, die pathophysiologischen Vorgänge besser zu verstehen, und dadurch eventuell unsere Beobachtungen auch auf mögliche Behandlungsstrategien für das acute respiratory distress syndrome ausdehnen zu können.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden C57/Bl6 Mäuse verwendet. Um relevante Aussagen über den Erfolg der Interventionsstrategie treffen zu können, werden 148 Tiere zusätzlich benötigt. **Dadurch erhöht sich die Gesamtzahl auf 484 Mäuse.**

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

**Vermeidung:** Wie bereits im Originalantrag beschrieben sind in-vitro Daten vorhanden die darauf hinweisen, dass die 15-PGDH in der Pathogenese der IPF spielt. Die Untersuchungen an den Mäusen sind notwendig, da die Beteiligung dieses Enzyms sinnvollerweise nur in einem Tierversuch bestätigt werden kann. Da der Versuch sich mit einem Geschehen das die gesamte Lunge sowie teilweise die Atemwege und vor allem das Immunsystem betrifft beschäftigt, sind entsprechende Tiermodelle erforderlich. Eine Vermeidung des beantragten Tierversuches ist daher nicht möglich.

**Verfeinerung:** Wie bereits im Originalantrag beschrieben, wird ein international etabliertes Tierversuchsmodell verwendet, sowie standardisierte Haltungs- und Versuchsbedingungen. Jegliches unnötiges Leid sowie Stresssituationen werden vermieden. Die Versuche erfolgen so, dass es gewährleistet ist, dass jene Tiere, die auf die Behandlung warten, visuell und akustisch getrennt sind. Die Tiere werden an die Umgebung und die Tierpfleger durch vermehrten Kontakt gewöhnt um Stress bei der Versuchsdurchführung zu vermeiden. Neben den Standardbedingungen der Haltung wird den Tieren ausreichend Enrichment wie Häuschen und Nestbaumaterial zur Verfügung gestellt. Die Tiere werden in regelmäßigen Abständen tierärztlich überprüft. Die Veränderungen in der Lungenfunktionsmessung tragen wesentlich zu einer nachvollziehbaren Verbesserung bei, die geringere Variationen zulässt.

**Verminderung:** Es wird die geringstmögliche Anzahl an Tieren verwendet, die für eine statistisch signifikante Aussagekraft der Ergebnisse notwendig ist. Sollten sich Signifikanzen bereits mit weniger als den geplanten Tierzahlen ergeben, wird die Anzahl der für das Versuchsprotokoll eingesetzten Tiere entsprechend reduziert werden. Gleichzeitig werden, wann immer möglich, mehrere Parameter bestimmt, um zusätzliche Versuche zu vermeiden und das vorhandene biologische Material optimal zu nützen. Dies wird durch die genaue Planung des Versuchsablaufs und das optimale Ausnutzen aller Ressourcen erreicht. Durch das verbesserte Protokoll zur Lungenfunktionsmessung hoffen wir in Zukunft die für statistische Aussagen notwendige Tierzahl reduzieren zu können.

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

Adipositas und damit verbundene Folgeerkrankungen wie Typ2-Diabetes, koronare Herzerkrankungen und auch Krebs stellen laut WHO aktuell die größten Herausforderungen für die Weltgesundheit dar. Deshalb ist es von höchstem wissenschaftlichem Interesse, neue und wirksame Ansätze zur Bekämpfung der weltweiten „Adipositas Epidemie“ zu entwickeln. Das sogenannte „adipose tissue browning“ stellt einen neuen Ansatz in der Bekämpfung von Adipositas dar — es bietet die Möglichkeit vorhandenes Fettgewebe auf hohen Energieumsatz umzustellen. Ziel dieses Projektes ist den Wirkmechanismus einer „adipose tissue browning“ Therapie aufzuklären

zu erwartender Nutzen: Der zu erwartende Nutzen für den Menschen liegt darin einen neuartigen Ansatz für eine Therapie der Fettleibigkeit zu erforschen und in weiterer Folge diese am Patienten anzuwenden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Der zu erwartender Schaden für die Tiere ist gering, da keine Krankheit induziert wird, sondern nur der Stoffwechsel der Tiere beleuchtet wird.

2. Art und Anzahl der Tiere

**196 Ratten** und 20 Mäuse

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

Vermeidung: Die Untersuchung komplexer Stoffwechselwege kann nur im Gesamtorganismus durchgeführt werden, weil ein Zellkulturexperiment die Komplexität der Zusammenhänge nicht ausreichend beschreibt.

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

Verfeinerung: Während der Eingewöhnungszeit der Tiere von einer Woche wird neben standardmäßiger fachkundiger Betreuung durch geschultes Tierpflegepersonal eine Bereicherung („enrichment“) in Form von Bällen, Gummiringen, Stroh, Nestbaumaterial, etc. zur Verfügung

gestellt. Weiters werden die Tiere durch vermehrten Kontakt an die TierpflegerInnen gewöhnt, um den Stress der Tiere weiter zu reduzieren. Die Tiere werden während des gesamten Versuchszeitraums engmaschig überwacht und routinemäßig von Tierärzten auf ihren Gesundheitszustand kontrolliert.

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

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

Die Fettleibigkeit (Adipositas) mit ihren Folgeerkrankungen wie z. B. Typ 2 Diabetes (nichtinsulinabhängiger Diabetes), Herz-Kreislaufkrankungen, Atherosklerose und Leberverfettung sind ein großes kostspieliges Gesundheitsproblem. Die drastische Zunahme der Adipositas geht Hand in Hand mit einer weltweiten Zunahme an Typ 2 Diabetes und Atherosklerose. Die Ursachen liegen einerseits in einer einseitigen fettreichen Ernährung, andererseits in einem Mangel an Bewegung. Atherosklerose und deren klinische Komplikationen, wie Myokardinfarkt und Schlaganfall, sind die häufigsten Todesursachen weltweit. Für die Entstehung der Atherosklerose spielen Hypercholesterinämie und Entzündungen eine bedeutende Rolle. Die genauen Umstände für die Entstehung und Entwicklung der Atherosklerose sind allerdings nach wie vor ungeklärt. Mit Hilfe des immer detaillierteren Verständnisses der biochemischen Vorgänge in und zwischen Zellen und anhand von histologischen Befunden wird versucht die Ursachen und den biochemischen Ablauf zu klären. Wir untersuchen die molekularen Mechanismen und Gen-Defekte, die bei Fettstoffwechselstörungen eine Rolle spielen. Ein Schwerpunkt dieser Forschung besteht in der Charakterisierung genetisch veränderter Mausmodelle. Da die Aussagen von Zellkulturexperimenten begrenzt sind und nicht im Zusammenhang mit der Funktion eines Gens im ganzen Organismus stehen bzw. die in vivo Situation darstellen, sind transgene und knock-out Mausmodelle von entscheidender Bedeutung in der Aufklärung bestimmter Krankheiten und möglicher Therapieansätze.

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

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

### 2. Art und Anzahl der Tiere

935 Mäuse

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

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

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

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

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. August 2020 **sowie bis 31. August 2022** 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 Triglycerid-reicher 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 Triglycerid-reicher Lipoproteine beteiligt. Mit Hilfe des immer detaillierteren Verständnisses der biochemischen Vorgänge in und zwischen Zellen und anhand von histologischen Befunden wird versucht die Ursachen und den biochemischen Ablauf zu klären. In diesem Projekt untersuchen wir die potentiell positiven Auswirkungen der Überexpression des Schrittmacherenzym der Lipolyse (ATGL) im Dünndarm. Da die Aussagen von Zellkulturexperimenten begrenzt sind und nicht im Zusammenhang mit der Funktion eines Genes im ganzen Organismus stehen bzw. die in vivo Situation darstellen, sind transgene Mausmodelle von entscheidender Bedeutung in der Aufklärung bestimmter Krankheiten und möglicher Therapieansätze.

zu erwartender Nutzen: die Mechanismen der Überexpression einer Lipase deutlich besser zu verstehen, was die Grundlage für Therapieansätze zur Verbesserung von metabolischen Erkrankungen sein könnte

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

### 2. Art und Anzahl der Tiere

**353 Mäuse**

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

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

**Verminderung:** Bei der Erstellung des Versuchsplanes wurde darauf geachtet, dass die Versuche mit der geringstmöglichen Belastung und kleinstmöglichen Anzahl an Versuchstieren durchgeführt werden. Außerdem wird großer Wert daraufgelegt, die Projektversuche nur mit jener minimalen Anzahl an Mäusen durchzuführen, die statistisch notwendig ist, um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten. Neben Blut werden sämtliche Gewebe in standardisierter Weise entnommen und nach Vorkühlung in Methylbutan in flüssigem Stickstoff und nach Formalinfixierung in Paraffin bzw. bei -80°C gelagert, um eventuell nötige Nachbestimmungen unter Minimierung des Tierbedarfs durchführen zu können.

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

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

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

Kardiovaskuläre Krankheiten sind die häufigste Todesursache in der alternden westlichen Gesellschaft. Jeder fünfte Mensch über 65 Jahre hat ein erhöhtes Risiko für die sog. diastolische Herzmuskelschwäche. Obwohl die diastolische Herzinsuffizienz heute diagnostiziert werden kann, gibt es bislang keine wirksame Behandlung, hauptsächlich weil unsere Kenntnisse über die zugrundeliegenden Mechanismen lückenhaft sind und weil viele andere Organe (und nicht nur das Herz) bei der Entstehung dieser Krankheit involviert sind. Rezente Studien zeigen vielversprechende kardioprotektive Effekte der Kalorienrestriktion, die aber auf dem Niveau der gesamt Population schwer implementierbar ist. Ziele des Projektes sind (1) geschlechtsspezifische Unterschiede und Gemeinsamkeiten in den Effekten der Kalorienrestriktion nachahmende Substanzen (sog. Kalorienrestriktion Mimetika) auf die Entwicklung und Prävention der diastolischen Herzinsuffizienz systematisch in verschiedenen experimentellen Model für diastolische Herzinsuffizienz in vivo zu untersuchen, und (2) die zugrundeliegenden Mechanismen der Kalorienrestriktion nachahmenden Substanzen auf diastolische Herzinsuffizienz und Herzmuskelsteifigkeit zu erforschen.

zu erwartender Nutzen: Diese Tiermodelle sind einzigartig in dem sie rekapitulieren alle klinisch-relevante Symptome der diastolische Herzinsuffizienz, die in der gleichen Form auch bei Menschen vorkommen. Eine Prävention mit Kalorienrestriktion nachahmenden Substanzen hätte gegenüber allen gängigen Medikamenten den Vorteil, dass diese auf alle relevante Organe (systemisch) wirken und ein breites Wirkungsspektrum zeigen. Wir erwarten durch die Gabe von diesen Substanzen diastolische Herzmuskelschwäche in diesen Tieren zu verringern. Die Erkenntnisse können auch neue molekulare und zelluläre Mechanismen aufdecken, die zu einem besseren Verständnis der diastolischen Herzinsuffizienz und einen neuen Nahrungs-basierten Ansatz gegen diese und potenziell auch andere kardiovaskulären Krankheiten führen. Die Verbesserung der altersbedingten diastolischen Dysfunktion durch Kalorienrestriktion nachahmende Substanzen könnte sich langfristig in einer Reduktion von Krankenhausaufenthalten und insbesondere eines gesunden Alterns bei Menschen widerspiegeln. Dies ist wissenschaftlich von großer Bedeutung und wäre ein Meilenstein in der Entwicklung einer neuartigen Prävention- und/oder Therapiemethode für menschliche diastolische Herzmuskelschwäche.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Im Rahmen des Projektes werden sowohl nicht invasive als auch invasive Eingriffe in Narkose als terminaler Versuch und körperliche Anstrengung durchgeführt, die für die Tiere belastend sind, wobei minimale Ängste und Stress und Schmerz zuverlässig hergestellt werden können. Zudem ist es zu erwarten, dass sich früh im Leben metabolisches Syndrom (erhöhtes Cholesterolspiegel und Triglyzeridkonzentration im Plasma, Entwicklung der Insulinresistenz und Diabetes Typ2, Hyperinsulinämie, Hochblutdruck und Nierenschädigung) entwickelt. Ungewöhnlich gesteigerte Nahrungsaufnahme und Fettreiche Diät führen zum Übergewicht, linkventrikuläre Dysfunktion, die in diastolische Herzinsuffizienz einhergeht.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

**Es werden 420 Ratten und 720 Mäuse verwendet.**

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

**Vermeidung:** Herzinsuffizienz ist ein Syndrom, das nur in vivo auftritt. Ein in vitro Modell für die dabei stattfindenden chronischen Veränderungen existiert nicht. Daher ist für die Projektarbeit der Tierversuch unverzichtbar. Die positiven Effekte der Substanzen auf die Herzinsuffizienz, die durch andere Risikofaktoren induziert wurden, wurden untersucht. Erst nachdem das positiv bewertet werden konnte, besteht die Möglichkeit die Substanzen im Versuchstier mit allen klinisch-relevanten Symptomen der diastolische Herzinsuffizienz und Physiologie anderer Organe zu testen.

**Verminderung:** Abgeleitet aus unseren bisherigen Erfahrungen wird versucht die Anzahl der Tiere minimal zu halten um eine statistisch signifikante Aussage zu treffen. Um die Tierzahl weiterhin zu verringern, werden die gewonnen Daten aus einem Versuch umgehend analysiert und statistisch geprüft. Sollte ein signifikantes Ergebnis bereits vor der geplanten Anzahl an Tieren erreicht werden, werden die Versuche eingestellt. Gleichzeitig werden in allen Versuchen mehrere Parameter bestimmt, um zusätzliche Versuche zu vermeiden und das vorhandene biologische Material für analytische Zwecke optimal zu nutzen. Dies wird durch die genaue Planung des Versuchsablaufs und das optimale Ausnutzen aller Ressourcen erreicht.

**Verfeinerung:** 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. Alle Versuche werden ausschließlich von sachkundigem und geschultem Personal durchgeführt. Alle Methoden sind standardisiert und

etabliert um den Stress, Ängste und Unwohl der Tiere zu vermeiden und die Belastung zu minimieren.

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

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

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

Die Alzheimer Krankheit und vaskuläre Demenz sind die Hauptursachen von altersbedingter Demenz - einer der Hauptgründe für altersassoziierte Probleme unseres Gesundheits- und Pflegesystems als auch für die Gesellschaft insgesamt. Weltweit sind etwa 35 Millionen Menschen von Demenzerkrankungen betroffen, zwei Drittel davon in Entwicklungsländern. Bis 2050 wird die Zahl auf voraussichtlich 115 Millionen ansteigen. Das Ziel der hier beantragten Tierversuche ist es, eine signifikante physiologische und pathophysiologische Rolle von spezifischen Proteinen, die aus Ergebnissen von Zellkulturexperimenten (in vitro) hervorgeht, auch in vivo zu bestätigen, zu charakterisieren und zu verstehen. Zu diesem Zweck werden grundlegende physiologische und biochemische Untersuchungen an mutanten Mausmodellen durchgeführt, die ein oder mehrere spezifische Proteine überexprimieren (transgene Mäuse). Im Besonderen wird hier untersucht, ob und wie bestimmte Proteine die Entstehung der Alzheimer Krankheit verhindern/verzögern oder gar deren Entstehung beschleunigen.

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

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

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Im eingereichten Antrag wird angesucht, die Überexpression eines Apolipoproteins im Alzheimermausmodell zu untersuchen. Wir suchen insgesamt um die Verwendung von 1650 Tieren **über einen Zeitraum von 5 Jahren an**.

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

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

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

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

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

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

Leberzellkarzinom ist weltweit die dritt-tödlichste Krebserkrankung. Die häufigsten Risikofaktoren sind Stoffwechselerkrankungen (wie z.B. Fettleber), Vergiftung (Aflatoxin, Alkohol), und Infektion mit dem Hepatitis Virus. Die Behandlung mit molekularen Therapien wird erst im Spätstadium der Krankheit eingesetzt und bewirkt, im Vergleich zu anderen Krebsarten, nur eine minimale Lebensverlängerung von wenigen Monaten. Es besteht also die Notwendigkeit neue Therapieansätze zu entwickeln, welche die Wirkung der Krebstherapie unterstützen und verstärken. Basierend auf den speziellen energetischen Bedürfnissen von Krebszellen, ist es plausibel mittels Ernährungsregimes in die Krebsentstehung einzugreifen. In diesem Zusammenhang wurde vermehrt gezeigt, dass mehrmaliges, intermittierendes Fasten in verschiedenen Krebsarten eine, die Krebstherapie unterstützende, Wirkung hat. Dies ergibt sich durch eine Fasten-induzierte Sensitivierung von Krebszellen gegenüber der Krebstherapie, während normale Zellen durch Nahrungsentzug vor der Wirkung des Krebstherapeutikums geschützt werden, ein Effekt der differentielle Stressresistenz genannt wurde. Zusätzlich zeigen aktuelle Studien, dass Fasten, oder eine Fasten-nachahmende Diät, positive Effekte auf das Immunsystem, die Regenerationsfähigkeit des Organismus und auf Stoffwechselprozesse hat. Die Mechanismen dieser positiven Effekte von Fasten sind aber weitgehend ungeklärt. In Studien des Antragstellers wurde gezeigt, dass das p53 Protein (als Tumor-Suppressor-Gen bekannt) durch das Fasten in der Mausleber und in primären humanen Leberzellen stabilisiert und aktiviert wird. Diese Aktivierung reguliert den Aminosäuren- und Glukose-Haushalt während des Nahrungsentzugs. In Zelllinien, welche vom Leberzellkarzinom hergeleitet wurden, findet ebenso eine p53 Stabilisierung durch Nahrungsentzug statt. Somit unterstützen die Vordaten des Ansuchenden die Hypothese, dass die Regulation des Energiehaushaltes durch die fasten-induzierte p53 Aktivierung ein zugrunde liegender Mechanismus der differentiellen Stressresistenz im Kontext des Leberzellkarzinoms ist. Diese Hypothese soll in dieser vorklinischen Studie mit den bereits entwickelten Werkzeugen getestet werden. Mit den Ergebnissen dieser Studien sollten bislang unbekannte Mechanismen aufgeschlüsselt werden, deren Verständnis den Einsatz von therapeutischem Fasten als Unterstützung von Krebstherapie in der Behandlung von Leberzellkarzinom besser auf individuelle Patienten abstimmen lässt. **Um die Translationsmöglichkeit in die Klinik zu maximieren, müssen Interaktionen mit dem**

**Immunsystem (tumor surveillance) untersucht werden. Dazu sind Versuche in Mäusen mit einem humanen Immunsystem geplant.**

zu erwartender Nutzen: Mit den Ergebnissen dieser Studien sollten bislang unbekannte Mechanismen aufgeschlüsselt werden, deren Verständnis den Einsatz von therapeutischem Fasten als Unterstützung von molekularer Krebstherapie in der Behandlung von Leberzellkarzinom besser auf individuelle Patienten abstimmen lässt.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Da es sich vorwiegend um Kurzzeit-Experimente handelt und die nötigen Applikationen Standardprozeduren sind, sind kaum Schäden zu erwarten. Da das Fasten von Mäusen sehr gut vertragen wird, sind außer Hungergefühl keine Schäden zu erwarten.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

### **805 Mäuse**

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

Die Zucht und Haltung der Versuchstiere wie auch die Versuchsdurchführung und die Organentnahme halten sich streng an die Richtlinien der Gesellschaft für Versuchstierkunde (GV Solas, <http://www.gv-solas.de>) und erfüllen somit die proklamierten „3Rs“ der tierexperimentellen Forschung von Russel und Burch (1959) (Reduction, Refinement, Replacement).

Vermeidung: Um die komplexen, physiologischen Zusammenhänge während der Fastenprotokolle (z.B. Interorgankommunikation) zu berücksichtigen, müssen die Untersuchungen in vivo Erfolgen. Genauere mechanistische Details, werden im Folgenden ex vivo (Zelllinien, primäre Zellen, Explantate) untersucht. Die verwendeten HepG2 Zellen werden umfangreich getestet (Invasion, Migration, Proliferation; Colony forming unit Assay) bevor sie den Tieren injiziert werden.

Verminderung: Bei der Wahl der Gruppengrößen, 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 mehrerer Gewebe (Leber, Lunge, Lymphknoten usw.), sowie durch die Durchführung mehrere, verschiedener Analysenmethoden [Expressionsanalyse, Proteinanalyse (Western blot), Immunohistochemische Analyse], die Tierzahl gering gehalten werden. Speziell wurden Methoden etabliert, welche eine akkurate Aufteilung der Mausleber gewährleistet, um aus einer Mausleber mehrere Analysen zu ermöglichen und somit die notwendige Anzahl der Versuchstiere reduziert. Die Pilotversuche sind

notwendig, um die Erfolgswahrscheinlichkeit der Hauptversuche zu erhöhen und somit die Gruppengröße minimal zu halten und Wiederholungen zu vermeiden. Um die Erfolgswahrscheinlichkeiten mit Mäusen mit humanisierten Immunsystem zu maximieren, kooperieren wir mit einem erfahrenen Hämatologen und Stammzellenexperten welcher bereits eine Genehmigung für die entsprechenden Modelle und ausführliche Erfahrungen gesammelt hat.

Verfeinerung: Bei der Durchführung unserer Versuche sowie der Haltung der Mäuse gehen wir nach international üblichen Standards vor. In der Zucht werden die Tiere vorwiegend in Gruppen gehalten und um das Wohlbefinden zu steigern wird den Tieren „Enrichment“ in Form von Nistmaterial und Häuschen zur Verfügung gestellt. Durch das 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 Tiere regelmäßig von Tierärzten auf ihren Gesundheitszustand kontrolliert und nur gesunde Tiere werden der experimentellen Kohorte zugeordnet. 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

Ziel des Projektes ist das Zusammenspiel von Umweltfaktoren und genetischen Risikofaktoren bei Morbus Crohn zu untersuchen. Mit Hilfe von Mäusen, die durch genetische Veränderung ein antioxidatives Enzym in Darmepithelzellen nicht bilden können, haben wir die Möglichkeit die Rolle eines Morbus Crohn Risikogenes im Darm zu untersuchen. Die Rolle dieser Enzyme im Darm ist bis jetzt nur unzureichend untersucht und wir erhoffen uns bessere Einblicke in die Entstehung der Krankheit. **In der nun beantragten Veränderung des Projektes, geht es darum ein potentiell neues Therapeutikum zu testen, welches zielgerichtet einen Pathomechanismus angreift den wir im Rahmen des ursprünglich genehmigten Projektes herausgefunden haben.**

zu erwartender Nutzen: Durch unsere Versuche erhoffen wir uns neue Therapieansätze für die Behandlung von Morbus Crohn.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere werden ausschließlich dietätischen Experimenten unterzogen und während der gesamten Versuchsdauer monitoriert. Sollten die Tiere einen inflammatorischen Phänotyp entwickeln werden sie entsprechend behandelt. Bei Beendigung des Versuches werden die Tiere narkotisiert.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

1080 Mäuse für einen Zeitraum von 4 Jahren.

**Beantragte Veränderung: 60 zusätzliche Mäuse.**

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

Vermeidung: Es wurden bereits eine Vielzahl von Zellkulturversuchen durchgeführt, auf Grund der Komplexität der Erkrankung und der Interaktion verschiedener Organsysteme (Darmepithelimmunologie, Mikrobiota, Ernährung) ist es zum derzeitigen Zeitpunkt nicht möglich dieses Tiermodell völlig durch ein in vitro System zu ersetzen.

Verminderung: Die Gruppengrößen wurden so gewählt, dass es möglich ist statistische Aussagen zu treffen (g-Power). Des weiteren erfolgt ein stufenweises Vorgehen bei der Durchführung der Experimente, d.h. sollten erste Versuche keinen Erkenntnisgewinn liefern, wird die Versuchsreihe abgebrochen. Für die jeweiligen Experimente werden nur so viele Tiere verwendet, wie für das

Erreichen der statistischen Signifikanz notwendig sind. Es werden so wenig wie möglich, aber so viel wie nötig Tiere im Versuch eingesetzt.

Verfeinerung: Die Mäuse werden in Gruppen gehalten und es wird ihnen Nestmaterial und Häuschen zur Verfügung gestellt. Alle Versuche werden von ausgebildetem und geschultem Personal durchgeführt um Ängste, Stress und eine mögliche Belastung der Tiere zu minimieren. Während des gesamten Versuches werden die Tiere regelmäßig überwacht und mittels eines scoring Systems objektiv bewertet. Die Versuche werden zum frühest möglichen Zeitpunkt beendet.

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

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

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

zu erwartender Nutzen: Das Verständnis über die Ausbildung des Gedächtnisses im Gehirn ist von entscheidender Bedeutung für die effektive Behandlung von Patientinnen mit neurologischen Erkrankungen, wie Demenz und mentaler Retardierung/Entwicklungsstörung. Die im Zuge des Projekts durchzuführenden Versuche an Nagetieren dienen der Identifizierung der neuronalen Pfade, die bei der Bildung unterschiedlicher Gedächtnissysteme eine zentrale Rolle spielen, und der Untersuchung der synaptischen Mechanismen, die zu dauerhaften Veränderungen der Neurotransmission in diesen Nervenbahnen führen. Des Weiteren werden die Unterschiede in der synaptischen Struktur und der Distribution der Schlüsselmoleküle zwischen der linken und rechten Hemisphäre der Nagetiere analysiert. Mäuse und Ratten werden als Tiermodelle für die Gedächtnisbildung und Links-Rechts-Asymmetrie unter Einbindung von Verhaltensparadigmen und neurochirurgischen Eingriffen am Gehirn herangezogen, einschließlich der Injektion von Markierungssubstanzen, chemischen Fixierungsverfahren und Proteinprobenvorbereitungen, die potentielle Belastungen und Dezimierungen unter der Versuchspopulation hervorrufen können.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Wir verwenden hauptsächlich kurz dauernde, sehr gut etablierte Operationsmethoden, des Weiteren Organentnahmen um histologische Schnitte anzufertigen. Eine der angewandten Methoden ist außerdem der Blutentzug in tiefer Narkose — die Tiere wachen nicht mehr auf, das Blut wird dabei durch ein Fixationsmittel ersetzt. Ein Schwerpunkt der Methodik sind außerdem noch einige gute etablierte Verhaltensanalysen die nicht invasiv sind und daher keinerlei Schmerzen für die Tiere verursachen. Höchster zu erwartender Schweregrad: mittel

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Ratten: 310

## **Mäuse 24295**

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

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

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

**Verfeinerung:** Regelmäßige Rücksprachen mit dem veterinärmedizinischen Personal sollen zur weitergehenden Verbesserung des Versuchsprotokolls beitragen. Es werden alle erforderlichen Maßnahmen gesetzt, um die chirurgischen und verhaltensorientierten Paradigmen zu vereinfachen und so die Versuchstierbeanspruchung zu minimieren. Zudem soll die Dauer der

chirurgischen Eingriffe am lebenden Objekt durch verbesserte und optimierte Fähigkeiten der Durchführenden und den ausschließlichen Einsatz von hierfür speziell geschultem Fachpersonal verringert werden

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

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

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 Rezeptorkanälen, 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 für die Tiere: Wir planen Standardoperationen in tiefer Narkose kombiniert mit effektiver Schmerzbehandlung, von denen wir erwarten, dass sie mittelgradig Schmerzen verursachen. Die hohe Anzahl der Tiere (Mäuse) 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. Wir planen, für dieses Projekt mit Mäusen und Ratten über einen Zeitraum von fünf Jahren zu arbeiten.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

**Ratten: 625**

Mäuse 27120

Höchster zu erwartender Schweregrad: mittel

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

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

Es wird eine klinische Studie an Pferden zur Behandlung des equinen Sarkoids, des häufigsten Hauttumors bei Pferden, durchgeführt, da es derzeit keine universell einsetzbare erfolgreiche Therapiemethode gibt. Insbesondere erschwert die Neigung zu Rezidiven die Therapie. Derzeit werden betroffenen Tiere mit chirurgischen, chemotherapeutischen und immunologischen Methoden behandelt. In vielen Fällen verunmöglicht die schiefe Anzahl und Größe der Tumore eine Behandlung. Ein onkolytisches Virus wurde bereits an Mäusen erfolgreich zur Behandlung von Hauttumoren getestet. Ein besonderer Vorteil von onkolytischen Viren ist, dass sie eine Immunantwort erzeugen, die auf alle Tumoren am Tier, nicht nur auf die lokal behandelten wirkt. In einer vorklinischen Studie wurde die gute Verträglichkeit und die Wirkung auf die Tumorummunität des Virus beim Pferd bestätigt. In einer klinischen Studie soll jetzt die Wirkung bei 30 an equinem Sarkoid leidenden Pferden überprüft werden.

zu erwartender Nutzen: Entwicklung einer für das Pferd schonenden und wirksamen Therapie des equinen Sarkoids.

zu erwartender Schaden für die Tiere: **1-3 Tumore werden in Abständen 3-mal**

**(Auffrischungsimpfungen nach 1 bzw 3 Monaten) mit dem onkolytischen Virus injiziert.** Da equine Sarkoide keine Nervenversorgung haben, verursacht die intra-tumorale Injektion nicht mehr Schmerzen als z.B. eine Impfung. Nach der ersten Applikation ist vorübergehend maximal mittelgradiges Fieber zu erwarten. Dann wird über die 6 folgenden Monate die Änderung der Größen aller Tumore am Pferd verfolgt.

2. Art und Anzahl der Tiere

30 Pferde

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

Vermeidung: Die Prüfung der Wirksamkeit einer Therapie zur Behandlung von Tumoren bei Pferden ist nur an, an diesem Tumor erkrankten, lebenden Pferden möglich.

Verminderung: Die Stichprobengröße ist so festgelegt, dass aussagekräftige Ergebnisse erzielt werden können.

Verfeinerung: Wenn sich der zu behandelnde Tumor an besonders empfindlichen oder schwer erreichbaren Körperstellen befindet, werden die Pferde vor der intra-tumoralen Injektion sediert. Nach der letzten Anwendung des Therapeutikums werden die Tiere wieder in ihr vertrautes Umfeld entlassen und der Verlauf der Größenveränderung der Tumore monatlich fotografisch dokumentiert und ausgewertet.

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 beantragten Tierversuches ist es, ein umfangreiches Verständnis der Immunantwort (Zytokinproduktion von T-Zell-Subtypen) nach protektiver Vakzinierung bzw. Infektion mit *H. meleagridis* bei Hühnern und Puten zu gewinnen.

zu erwartender Nutzen: Die Identifizierung der Zusammenhänge des Immunschutzes stellt neben dem allgemeinen Erkenntnisgewinn über Mechanismen und Funktion des Immunsystems einen bedeutenden Nutzen im Zusammenhang mit der Entwicklung von Vakzinen gegen parasitäre Erkrankungen dar.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere werden mittels Kropfsonde mit virulenten bzw. attenuierten Histomonaden von Hühnern und Puten infiziert bzw. geimpft. Die Infektion kann zu apathischen Verhalten sowie Beschwerden des Gastrointestinaltraktes führen.

2. Art und Anzahl der Tiere

36 Hühner und **78 Puten**.

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

Vermeidung: Ein detailliertes Verständnis der durch *H. meleagridis* ausgelösten T-Zell gesteuerten Immunantwort beim Geflügel kann nur durch Verwendung von lebenden Tieren der Zielspezies erreicht werden, Ein Ersatz des Tierversuchs ist daher nicht möglich.

Verminderung: Die Tierzahl wurde aufgrund statistischer Berechnungen so weit wie möglich vermindert, ohne den wahrscheinlichen Erfolg des Tierversuchs zu gefährden.

Verfeinerung: Aufgrund genau definierter Abbruchkriterien wird unnötiges Tierleid vermieden.

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

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

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

Bei der Entwicklung neuer Impfstoffe gegen die durch Geflügeladenoviren hervorgerufene Einschlusskörperchenhepatitis muss die Beteiligung unterschiedlicher Serotypen berücksichtigt werden, was einen möglichst breit wirksamen Impfschutz erforderlich macht. Ziel des hier beschriebenen Versuchs ist es, die breite Schutzwirkung eines speziellen in vitro generierten rekombinanten Fiberproteins zu testen. Im Verlauf des geplanten Versuchs entstand die Notwendigkeit, eine weitere Booster-Impfung durchzuführen, um adäquate Impfantikörper zu induzieren. Dies hatte mithin einen späteren Infektionszeitpunkt zur Folge, mit resultierender Abmilderung der erfassbaren klinisch-pathologischen Parameter aufgrund der natürlichen Altersresistenz der Tiere gegenüber der Infektion.

**Eine Änderung des Versuchs begründet sich mit der Notwendigkeit zur Generierung statistisch valider Daten, und beinhaltet — basierend auf den zuvor beschriebenen Beobachtungen — eine Modifikation des zeitlichen Ablaufes im Impf- und Beprobungsschema. Dies beinhaltet (i) eine früh zu erfolgende Primär und nachfolgende Booster-Impfung, bzw. (ii) die Primär-Impfung zu einem späteren Zeitpunkt mit möglicherweise stärker entwickelter Immunkompetenz der Tiere. Damit soll die Bildung einer ausreichenden Antikörpermenge bis zum festgelegten Infektionszeitpunkt sichergestellt werden. Zudem soll die Tiergruppenszahl von bisher 15 auf 20 angehoben werden, um die Spätfolgen des Challenges adäquat zu erfassen. Unter Beibehaltung des dem Versuch zugrundeliegenden Aufbaus ergibt sich daher eine Erhöhung der Tierzahl um weitere 90Tiere.**

Zu erwartender Nutzen: Erkenntnisse über die breite Schutzwirkung eines auf rekombinatem Protein -basierten Impfstoffes gegenüber Infektion mit unterschiedlichen Serotypen des Geflügeladenovirus.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere werden zu Versuchsbeginn geimpft und anschließend mit Geflügeladenovirus (durch Injektion) infiziert. Zu definierten Zeitpunkten erfolgen Blut- und Kloakentupferentnahmen. Die Infektion kann u.a. zu Leberläsionen und Mattigkeit führen.

2. Art und Anzahl der Tiere

## 216 SPF-Broiler

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

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

Verminderung: Durch eine entsprechende statistische Planung und Auswertung sowie durch die Berücksichtigung von Erfahrungswerten aus vorangegangenen Versuchen wird sichergestellt, dass der Versuch mit jener Anzahl an Tieren durchgeführt wird, die unbedingt erforderlich ist, um statistisch signifikante Daten über die zu untersuchende Fragestellung zu erreichen.

Verfeinerung: Die Belastung der Tiere wird auf das unvermeidbare Ausmaß reduziert. Die Tiere werden in Gruppen gehalten, angemessen ernährt und untergebracht. Sie werden regelmäßig beobachtet und der klinische Gesundheitszustand bestimmt. Die definierten Abbruchkriterien werden im Bedarfsfall umgesetzt, um unnötiges Tierleid zu vermeiden.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 30. November 2021 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 Schaden und Nutzen

Ziel: In dieser Studie sollten C57Bl/6 Mäuse für 24 bzw. 48 Stunden gefastet werden um dadurch Autophagieprozesse im Körper auszulösen. Nach der Fastenzeit wären die Tiere euthanasiert und unterschiedliche Gewebe entnommen worden.

Das Projekt wurde nicht durchgeführt.

Schaden und Nutzenabklärung: Die Kontrolltiere wären ausschließlich durch eine Pentobarbitalinjektion euthanasiert worden um Gewebe zu gewinnen. Alle Tiere die gefastet worden wären, hätten starken Hunger gehabt und wären somit starkem Stress und Leid ausgesetzt gewesen, da den Tieren die Nahrung verwehrt worden wäre. Da das Projekt nicht durchgeführt wurde, entstanden allerdings keine Schäden für die Tiere. Um grundsätzliche Prozesse der Autophagie zu untersuchen, sollten in diesem Projekt C57BL/6 Mäuse für unterschiedliche Zeiten gefastet werden, um damit Autophagie zu induzieren. Durch die unterschiedlichen Zeitpunkte der Euthanasie wäre es möglich gewesen, Autophagie unterschiedlicher Stadien in den Geweben zu untersuchen. Aus organisatorischen Gründen wurde allerdings gegen eine Durchführung der Studie entschieden.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie wurden 24 männliche C57BL/6 Mäuse im Altern von ca. 10 Wochen beantragt. Da das Projekt nicht durchgeführt wurde, wurden 0 Mäuse verwendet.

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

Vermeidung: Um Medikamente gegen die Parkinsonkrankheit entwickeln zu können, müssen Zielstrukturen erkannt und diese auf ihre physiologische Funktion untersucht werden. Nur dann ist es möglich spezifische Medikamente gegen die Krankheit zu entwickeln.

Verminderung: In dieser Studie sollten pro Gruppe 8 Tiere verwendet werden. Diese Gruppengröße wäre für diese Studie ausreichend gewesen, da die Gewebe biochemisch auf RNA und Proteinebene analysiert werden sollten. Da die Studie nicht stattgefunden hat, wurden keine Tiere verwendet.

Verbesserung: Stressminimierung: An dieser Stelle soll ausdrücklich festgehalten werden, dass der Tierversuch unter Vermeidung aller mit dem Versuchszweck nicht notwendig verbundenen Belastungen durchgeführt worden wäre.

Gesundheitszustand: Generell gilt des Weiteren, dass zur Durchführung des Tierversuchs nur Tiere verwendet worden wären, deren Gesundheitszustand einwandfrei gewesen wäre.

Alle Tiere wären unter ständiger tierärztlicher Kontrolle gestanden. Erkrankte oder verletzte Tiere wären in einem Patientenblatt vermerkt und täglich beobachtet worden. Hätte ein Tier an Symptomen wie Verletzungen, Umfangsvermehrung oder Anämie gelitten wäre der Tierarzt so rasch wie möglich informiert worden und hätte über Behandlung oder Euthanasie entschieden.

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

1. Angaben über Projektziele, einschließlich Schaden und Nutzen

Der Myokardinfarkt stellt immer noch, mit anderen Herzkreislauferkrankungen, den „Killer#1“ in den Ländern der „1. Welt“ dar. Experimentelle und klinische Daten haben gezeigt, dass die frühe Wiedereröffnung (Reperfusion) des verschlossenen Gefäßes zu einer Verminderung der Infarktgröße und des einhergehenden Schadens (Ischämieschadens) bis hin zu höherem Überleben führt. Im vorliegenden Projekt wurde nun der Effekt von einer kurzfristigen Unterbrechung des Blutflusses am Bein, vergleichbar mit dem Aufblasen einer Blutdruckmanschette, auf die Langzeitergebnisse nach Herzinfarkt untersucht. Die Untersuchungen am Tiermodell sollten den zugrundeliegenden Mechanismus dieses Effektes erklären, um so die Anwendung am Menschen zu ermöglichen.

Nutzen: Die Ergebnisse zeigen interessante Zusammenhänge zwischen „Remote ischemic conditioning“ (RIC; Unterbrechen des peripheren Blutflusses), Neuregulin-1 (NRG-1), Inflammation und Remodeling (Umbau des Herzens auf unterschiedlichen Ebenen). Gemäß unserer Ziele konnten wir das erste Mal zeigen, dass singuläres RIC das post-ischämische Remodeling des Myokards deutlich verbessert und dies mit signifikant erhöhten Protein-Werten von NRG-1 und erhöhter ErbB3- mRNA Expression einhergeht. Dies wiederum ging mit einer signifikant verbesserten Herzleistung einher. Diese Ergebnisse wurden von International Journal begutachtet, akzeptiert und publiziert. Ein zweites Manuskript wird darauf abzielen, die regulatorische Rolle von wiederholtem RIC auf die Herzfunktion zu untersuchen. Es wird weitere Forschung von Nöten sein, um die Signalwege besser verstehen zu können, aber mit unseren Daten lässt sich weitere Nachforschung durch neue Projekte rechtfertigen.

Schaden für die Tiere: Der für die Tiere zu erwartende Schaden lag bei einer Operation unter Vollnarkose mit anschließendem Training unter leichter Betäubung. Die Tiere erhielten permanenten Zugang zu Schmerzmitteln über das Trinkwasser. So konnte eine schmerzfreie Lebenszeit der Tiere sichergestellt werden. Insgesamt wurden für diese Studie 312 männliche OFA-1/Wistar Ratten verwendet. Der Schweregrad des Schadens lag für 80% (n=250) dieser Tiere bei „schwer“ (Myokardinfarkt mit oder ohne RIC), für die restlichen 20% (n=62) bei „mittel“ (Sham; Kontrolltiere, ohne MI). 8% (n=20) der Tiere mit „schwerem“ Schweregrad konnten nicht in die Datenevaluierung integriert werden, da sie intraoperativ verstarben oder in Folge der

Operation mindestens eine der definierten Ausschlusskriterien erfüllten und somit sakrifiziert wurden. 3% (n=2) der Kontrolltiere mit dem Schweregrad „mittel“ verstarb intraoperativ oder in den ersten 24h nach der OP.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Insgesamt wurden für diese Studie 312 männliche OFA-1/Wistar Ratten verwendet.

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

**Vermeidung:** Zur Verminderung, Vermeidung und Linderung jeglichen Leidens von der Geburt bis zum Tod wurden, wie in der Versuchsplanung beschrieben, die modernsten experimentellen Methoden eingesetzt sowie angemessene Methoden zur Anästhesie, Analgesie und Schmerzlinderung angewandt. Um die postoperative Erholungsphase der Tiere optimal zu gestalten, ist es von großem Vorteil die Tiere länger als die in der Literatur beschriebene halbe Stunde unter einer Wärmelampe sitzen zu lassen. Nach der OP dauert es eine gewisse Zeit, bis der Kreislauf des Tieres so stabil ist bzw. sich das Tier aktiv genug bewegt, um eine angemessene Körpertemperatur aufrecht zu erhalten. Diese Phase sollte mittels Wärmelampe kompensiert werden.

**Verminderung:** Die Tierzahlen der Untersuchungsgruppen wurden durch genaue Fallzahlplanung bei gleichzeitig akzeptabler Standard-Abweichung (Power-Analysis) auf die minimal erforderliche Anzahl reduziert. Die durch das Amendment neubeantragte Erhöhung der Tieranzahl, war zur Erfüllung der Haupthypothese notwendig, wurde aber wie bereits vorher mittels Power-Analysis kalkuliert. Eine Reduktion der Tierzahl wäre nur auf Kosten der neuen Erkenntnisse möglich gewesen und hätte im Endeffekt keine Verminderung der Anzahl nach sich gezogen, da bei fehlenden aussagekräftigen Ergebnissen, eine Wiederholung der Versuche mit neuen Tieren nötig gewesen wäre.

**Verfeinerung:** Durch standardisierte Tierhaltung und Versuchsbedingungen konnte die biologische Streuung der Ergebnisse minimalisiert und somit das Outcome maximiert 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 Schaden und Nutzen

Nutzen: Der Lungenhochdruck oder pulmonale Hypertension (PH) ist eine schwere progressive Erkrankung, die ohne adäquate Therapie innerhalb von wenigen Jahren zum Tod führt. Eine schwere Form dieser Erkrankung ist die chronisch thromboembolische pulmonale Hypertension (CTEPH). Aufgrund der komplexen Erkrankung und der unspezifischen Symptome wie Müdigkeit ist die Früherkennung der Erkrankung sehr schwierig. Bis heute gibt es auch kein geeignetes Tiermodell, welches helfen kann, die Erkrankung besser beforschbar zu machen und eventuell eine Früherkennung zu ermöglichen. Ziel der vorliegenden Studie war es hierfür ein geeignetes Modell zu schaffen. Es wurden hierfür Vorversuche durchgeführt, die gezeigt haben, dass die benutzten Labormethoden nicht zielführend sind um dieses Tiermodell zu schaffen. Aus diesem Grund wurde die Versuche hier beendet um weiteren Tiere ohne großen wissenschaftlichen Nutzen zu opfern.

Schaden für die Tiere: Es wurden insgesamt 44 Versuchstiere verwendet, es wurde aber, da es sich um Vorversuche handelte keine schwere Belastung der Versuchstieren beobachtet sondern wir sahen eine mittelgradige Belastung bei allen Versuchstieren

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Wildtyp Mäuse , n=0

Knockout Mäuse, n= 44

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

Zur Verminderung, Vermeidung und Linderung jeglichen Leidens von der Geburt bis zum Tod werden, wie in der Versuchsplanung beschrieben, wurden die modernsten experimentellen Methoden eingesetzt sowie angemessene Methoden zur Anästhesie, Analgesie und Schmerzlinderung angewandt. Vor einer erneuten Durchführung der Versuche müssen aber die beschriebenen Labormethoden soweit adaptiert werden, dass es bei einem neuerlichen Versuch zu einer größtmöglichen Reduktion der verwendeten Tieren kommen kann.

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

### 1. Angaben über die Projektziele, einschließlich Schaden und Nutzen

Unsere Forschungsgruppe befasst sich mit der Entstehung der Leberzirrhose im Rahmen der nicht-alkoholischen Fettlebererkrankung (NAFLD) und medikamentös nicht behandelbaren Gallenwegserkrankungen wie der primär sklerosierenden Cholangitis (PSC). Ein typisches Merkmal der NAFLD ist die Akkumulation von Fett (vor allem von Neutralfetten/Triglyceriden). Im Gegensatz zum Fettgewebe weist die Leber eine limitierte Speicherkapazität für Fett auf wobei ein Fettüberschuss die Leberzellen schädigt. Ist diese Kapazität erschöpft entsteht aus einer vergleichsweise harmlosen Fettleber (Steatose) eine entzündliche Lebererkrankung (Steatohepatitis), welche in weiterer Folge zur Leberzirrhose und Krebs fortschreiten kann. Lipid-spaltende Enzyme (Lipasen und ihre Cofaktoren) sind für den dreistufigen Abbau von Triglyceriden zu freien Fettsäuren von großer Bedeutung. Freie Fettsäuren fungieren als Energieträger und Signalmoleküle, können aber im Überschuss ebenfalls zellschädigend wirken. Neueste Erkenntnisse weisen darauf hin, dass die Lipasen nicht nur in den Leberzellen und dem Fettgewebe von Bedeutung sind, sondern auch für die Funktion der Gallenwege von großer Wichtigkeit sein könnten. Daher ist es Ziel dieser Studie die Rolle dieser Lipasen, ihrer Cofaktoren sowie der durch sie freigesetzten Lipidabbauprodukte, beispielsweise freie Fettsäuren, in der Entstehung der NAFLD und Gallenwegserkrankungen zu untersuchen. Zu diesem Zweck werden transgene Mäuse die entweder spezifische Lipasen oder einen Coregulator nicht exprimieren gezüchtet und mit unterschiedlichen Hepatotoxinen bzw Endotoxinen stimuliert um die Rolle dieser Enzyme in der Progression der Fettlebererkrankung und Gallenwegserkrankung zu untersuchen.

Mit den bisher durchgeführten Experimenten konnte gezeigt werden, dass spezifische Lipasen in der Entstehung der NAFLD eine maßgebliche Rolle spielen. Mäuse die bestimmte Lipasen nicht exprimieren bzw mit Inhibitoren der Lipasen therapiert wurden sind vor der Entwicklung der vergleichsweise harmlosen Fettleber zur Steatohepatitis, welche in weiterer Folge zu Leberzirrhose und Krebs fortschreiten kann geschützt.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Gesamtzahl: 3456

Transgene Tiere: 864 homozygous; 1728 heterozygous

Nicht transgene Tiere: 864

Verwendete Tiere Gesamtzahl: 93

Davon Transgene Tiere: 48 (19 gering belastet; 19 mittel belastet, 10 schwer belastet)

Nicht Transgene Tiere: 45 (21 gering belastet; 17 mittel belastet, 7 schwer belastet)

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

Vermeidung: Da die Interaktionen zwischen den unterschiedlichen Leberzellen wie Hepatozyten, Entzündungszellen (und den von ihnen sezernierten Zytokinen und Chemokinen), Gallengangs epithelzellen (Cholangiozyten) und hepatischen Sternzellen (als zelluläre Quelle der Fibrose/Bindegewebsbildung in der Leber), sowie das Zusammenspiel mit extrahepatischem Gewebe (Fettgewebe/Adipocyten) in der Pathogenese der NAFLD eine essentielle Rolle spielen sind Tierversuche unumgänglich. Die Anzahl der Versuchstiere beziehungsweise der Tierexperimente wurde durch das Durchführen von zusätzlichen Zellkultur Experimenten so gering wie möglich gehalten. In diesen Zelllinien wurde durch sogenannte „knock down“ Methoden die Expression des „Genes of Interest“ verringert. Es wurden unterschiedliche (oben angeführten) Zellarten verwenden um den direkten mechanistischen Zusammenhang dieser verschiedenen Zelltypen untereinander festzustellen. Diese in vitro Modelle erlaubten uns die Beantwortung spezifischer mechanistische Fragestellungen ohne weitere Tierexperimente durchführen zu müssen.

Verminderung: Die Experimente wurden seriell durchgeführt. Zeigten die ersten Pilotstudien keine vielversprechenden Ergebnisse wurden keine weiteren Experimente durchgeführt.

Verfeinerung: Alle angeführten experimentellen Techniken sind in unserem Labor optimiert und wurden von erfahrenen Wissenschaftlern durchgeführt, somit konnte das bestmögliche Wohlbefinden für die Versuchstiere gewährleistet werden.

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

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

Nahrungsmittelallergien stellen sowohl für Menschen wie auch für Tiere ein hohes Gesundheitsrisiko dar und können mit schweren allergischen Reaktionen einhergehen. Daher ist es von großer Wichtigkeit leicht verfügbare und anwendbare Allergie-präventive Maßnahmen zu definieren, die bei bereits bestehender Allergie eingesetzt werden können.

Nutzen: Rund 5-8% der Bevölkerung wird im Laufe des Lebens eine Nahrungsmittelallergie entwickeln. Wie in Vorstudien gezeigt, konnte durch das im Projekt verabreichte Mittel durch Reduktion der allergischen Reaktion die Sicherheit gesteigert werden. Dies stellt somit einen Meilenstein in der Vermeidung einer schweren allergischen Reaktion sowohl bei Menschen- wie auch bei Tierpatienten dar.

Schaden für die Tiere: In der vorliegenden Studie sind nur Allergene zum Einsatz gekommen, die auch in unserer täglichen Nahrung zu finden sind. Es ist weder bei Fütterung oder bei der Verabreichung der Behandlungssubstanzen eine schwere allergische Reaktion aufgetreten, der tatsächlich aufgetretene Schweregrad ist daher als gering einzustufen.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Balb/c Mäuse, Anzahl: 160 Tiere

Es wurde der zweite Teil der Experimente mit 32 Mäuse durchgeführt. Bei allen Tieren war der tatsächlich auftretende Schweregrad als gering einzustufen.

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

Vermeidung: Ein Ersatz für den vorliegenden Tierversuch ist derzeit nicht verfügbar. Die Fragestellung kann nicht im Zellmodell untersucht werden. Allerdings ist es gelungen die Anzahl der verwendeten Tiere auf 32 zu reduzieren, da die Versuche im Experiment 1 wissenschaftlich nicht mehr zwingend notwendig waren.

Verminderung: Zur Schonung der Tiere werden möglichst wenige Eingriffe vorgenommen. Zusätzlich wurde der Versuch unter standardisierten Bedingungen geplant. Durch die Behandlung der Tiere ist mit keiner Belastung zu rechnen.

Verfeinerung: Die zu verwendende Tieranzahl konnte durch genaue Planung der Arbeiten und durch statistische Planung so weit wie möglich reduziert werden.

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

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

Die Projektziele dieses Experiments wurden erreicht. Die Experimente zeigten, dass die intravenöse Verabreichung von extrazellulären Vesikeln, die von mesenchymalen Stammzellen (MSCs) abgegeben werden, die biologische Aktivität von verabreichten MSCs reproduzieren kann. Wir beobachteten, dass eine akute Verabreichung von MSCs oder ihrer extrazellulären Vesikeln nach einer Rückenmarksverletzung im Rattenmodell Neuroinflammation und Narbenbildung signifikant reduzierte, zwei Faktoren, die sich andernfalls negativ auf die Langzeitprognose auswirken. In unserem experimentellen Aufbau zeigte sich keine signifikante funktionelle Verbesserung oder verbessertes neuronales Überleben in den behandelten (MSCs oder Vesikel) gegenüber den unbehandelten Ratten.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Nach Querschnittsverletzung auf thorakaler Höhe sind vorübergehend die Hinterpfoten gelähmt und die Blasenfunktion unzureichend. Die manuelle Blasenentleerung und die Verabreichung von Schmerzmitteln sorgen für das Wohl der Tiere. Für diesen Versuch wurden insgesamt 95 weibliche Ratten beantragt. Von diesen wurden 71 Tiere verwendet, die einen tatsächlichen Schweregrad von maximal „mittel“ erreichten (60 „mittel“, 8 „gering“, 3 „keine Wiederherstellung der Lebensfunktion“).

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

Für unsere Experimente haben wir eine Inzuchtlinie von Ratten (Fischer 344) verwendet, sowie ein hochstandardisiertes Modell der Rückenmarksverletzung. Dadurch konnte die Anzahl an verwendeten Ratten in den Versuchsgruppen klein gehalten werden ohne eine statistisch valide Auswertung zu gefährden. Zusätzlich haben die parallel in vitro (Mikroglia Zelllinie) durchgeführten Untersuchungen und die schon im vornherein optimierte post-operative Pflege der Tiere positiv zu den 3Rs beigetragen.

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

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

Erreichen der Projektziele: Der Pilz *Aphanomyces invadans* ist der Erreger des Epizootischen Ulcerativen Syndroms (EUS), einer bedeutenden Erkrankung zahlreicher Süß- und Brackwasserfische. Eine mögliche Verbreitung der Krankheit nach Europa, wo sie bisher nicht auftritt, wird als Bedrohung gesehen. Die Studie sollte zeigen, ob durch eine gentechnische Ausschaltung spezieller Enzyme (Proteasen) des Pilzes seine Invasivität und damit seine krankmachenden Eigenschaften beeinflusst werden können. Dazu wurde eine Gruppe Fische mit unverändertem und eine mit gentechnisch verändertem Pilz infiziert; eine dritte Gruppe Fische diente als negative Kontrollgruppe. In dem Versuch erkrankten 100 % der mit dem unveränderten Pilz infizierten Fische, während alle Fische die mit dem genetisch veränderten Pilz infiziert wurden, gesund blieben. Dieses Ergebnis wurde durch Gewebsuntersuchungen bestätigt. Die aufgestellte Hypothese wurde daher bestätigt und das Projektziel erreicht.

Nutzen: Das Verständnis der krankmachenden Eigenschaften eines Krankheitserregers ist eine Voraussetzung für die gezielte Entwicklung von Bekämpfungsstrategien. Im vorliegenden Projekt wurde erstmals eine Beteiligung von Proteasen am Virulenzmechanismus von *A. invadans* nachgewiesen. Darüber hinaus wurde das CRISPR/Cas9 System erstmals zum Genome Editing von *A. invadans* eingesetzt. Die dabei gewonnenen Erkenntnisse sind für WissenschaftlerInnen die sich mit dieser Methode oder dem Pathogen auseinandersetzen, wertvoll.

Schaden: Für den Versuch wurden drei Gruppen von je 60 Zwergfadenfischen verwendet. Für die Gruppe welche mit dem ursprünglichen Erreger infiziert wurde, war der Schweregrad „schwer“ (die Fische zeigten Krankheitssymptome). Die Fische der beiden anderen (Infektionsgruppe mit verändertem Pilz, nicht infizierte Kontrollgruppe) zeigten keine Beeinträchtigung, daher wurde hier ein Schweregrad „gering“ erreicht.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

180 Fische

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

Eine Vermeidung eines Versuches mit lebenden Tieren war zur Durchführung dieser Untersuchung nicht möglich, da nur so die direkte Wirkung des Ausschaltens von Genen des Pathogens auf den Wirtsorganismus beurteilt werden konnte. Solche Versuche können derzeit nicht durch in-vitro oder in-silico Versuche ersetzt werden. Es wurde die geringstmögliche Anzahl an Tieren gewählt, um noch ein statistisch aussagekräftiges Ergebnis mit einem Konfidenzniveau von 95% zu erhalten. Die Ergebnisse des Versuchs ermöglichen es entsprechenden weiterführenden Projekten, mit einer kürzeren Versuchsdauer und weniger Versuchstieren auszukommen. Während der gesamten Versuchsdauer wurde auf ausgezeichnete, der Art entsprechende Wasserqualität geachtet sowie jeglicher für die Fische unnötiger Stress vermieden.