

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. Im geplanten Versuch soll die Schutzwirkung einer möglicherweise besonders geeigneten Pentonbase-basierten Impfung gegenüber Infektionen mit drei heterologen, Einschlusskörperchenhepatitis verursachenden Virusstämmen getestet werden, um das Schutzspektrum dieses Proteins gegen alle im Feld krankheitsrelevanten Serotypen zu evaluieren.

zu erwartender Nutzen: Erkenntnisse über die Schutzwirkung einer Pentonbase-basierten Impfung gegenüber Infektionen mit drei heterologen, Einschlusskörperchenhepatitis verursachenden Virusstämmen.

zu erwartender Schaden: Die Tiere werden zu Versuchsbeginn geimpft und anschließend mit Geflügeladenovirus (durch Injektion) infiziert. Zu definierten Zeitpunkten erfolgen Blut- und Kloakentupferprobenentnahmen. Die Infektion kann u. a. zu Leberläsionen und Mattigkeit führen.

2. Art und Anzahl der Tiere

126 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 31. Mai 2021 vorgesehen.

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

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

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

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

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

2. Art und Anzahl der Tiere

Zuchtmäuse: 490

Versuchs Mäuse: 188

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

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

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

Verfeinerung: Die Tiere werden den FELASA-Richtlinien entsprechend gehalten und täglich kontrolliert. Alle operativen Eingriffe erfolgen unter Vollnarkose und mit anschließender

Schmerztherapie. Klar definierte Abbruchkriterien stellen sicher, dass es zu keinem unnötigen Leid für die Tiere kommt.

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

Neuromuskuläre Erkrankungen führen häufig zu einer massiven körperlichen Beeinträchtigung der Patienten oder sogar zum vorzeitigen Tod. Ein Verständnis für die ursächlichen Mechanismen und Wirkungsweisen der einzelnen Erkrankungen ist essentiell, um die Bedürfnisse der Patienten verstehen und neue Therapieansätze entwickeln zu können. Auch sind die Funktionen und Interaktionspartner der einzelnen betroffenen Proteine nicht immer bekannt. Eine Aufklärung dieser Mechanismen im lebenden Organismus ist aber notwendig, um essentielle Fragen zu den grundlegenden pathologischen Mechanismen dieser Erkrankungen zu beantworten. Um die Ursachen verschiedener komplexer humaner Erkrankungen herauszufinden ist es heutzutage möglich, im Modellorganismus Maus verschiedene Gene, die für diese Krankheiten verantwortlich sind, entweder auszuschalten oder einzubringen. Im vorliegenden Antrag ersuchen wir daher um die Bewilligung der Zucht von fünf Mauslinien zur Untersuchung von neuromuskulären Erkrankungen sowie deren Genotypisierungen. Diese Mauslinien, denen jeweils ein bestimmtes Protein fehlt (knock-out Mäuse), dienen als Krankheitsmodelle für humane neuromuskuläre Erkrankungen. Die Mäuse sollen für die Charakterisierung mittels Organentnahme und die Isolierung von Zellen aus getöteten Tieren bzw. für weiter führende Studien vorhanden sein.

zu erwartender Nutzen: Mit dieser Zucht wird gewährleistet, dass diese Mauslinien für die weitere Forschung zugänglich sein werden. Charakterisierung von Gewebe durch Organentnahme und Isolierung von Zellen wird die Grundlage für weitreichende Versuche sein. Dadurch werden wir neue Erkenntnisse im Bereich der neuromuskulären Erkrankungen erhalten. Verständnis für die molekularen Abläufe bei komplexen humanen Erkrankungen ist die Voraussetzung für die Entwicklung von Therapiemöglichkeiten.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Belastung der Mäuse durch die Modifizierungen ihres Genoms ist als gering einzustufen.

2. Art und Anzahl der Tiere

3.000 Mäuse unterschiedlichen Genotyps für 5 Jahre

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

**Vermeidung:** Eine Vermeidung des beantragten Tierversuches ist nicht möglich, da es sich bei neuromuskulären Erkrankungen um komplexe Störungen von komplexen Zellsystemen handelt, die in einfacheren Systemen nicht ausreichen untersucht und nachgestellt werden können. Viele Fragestellungen können nur durch Untersuchung von Muskelgewebe beantwortet werden. Zur Vermeidung von Tierversuchen werden jedoch im größtmöglichen Ausmaß Untersuchungen und Experimente an Zellkultursystemen durchgeführt, wobei die dafür verwendeten Zellen ebenfalls aus Mäusen gewonnen werden müssen. Die Erhaltungszucht und Genotypisierung der Mäuse ist daher für die Organentnahme und die Isolierung von Zellen aus getöteten Tieren notwendig.

**Verminderung:** Die Anzahl der Tiere wird so gering wie möglich gehalten, muss jedoch die Erhaltung der einzelnen Mauslinien garantieren sowie die Durchführung von Experimenten ermöglichen, sodass wissenschaftlich stichhaltige Daten erhoben werden können. Durch Standardisierung der Zucht wird die Anzahl der Tiere, die genotypisiert werden müssen, ebenfalls so gering wie möglich gehalten.

**Verfeinerung:** Sämtliche Mäuse werden unter optimierten Bedingungen gehalten, die den Schutz der Tiere garantieren. Auf eine allgemein gute Pflege und Behandlung wird geachtet. Die Mäuse werden in geeigneten Tierstationen, unter standardisierten Bedingungen (geregelter Lichtzyklus, Luftfeuchtigkeit, Temperatur) und so weit wie möglich ungestört gehalten. Sie werden in Gruppen mit geeignetem Streu, Nistmaterial und Nistkästen gehalten. Die Tiere werden während der Haltung regelmäßig beobachtet und für jeden experimentellen Ansatz werden klare Abbruchkriterien definiert, um unnötige Schmerzen und Leiden der Tiere zu vermeiden.

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

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

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

Ziel ist die Verwendung des Schafmodells zur Abhaltung eines vaginalen Operationskurses.

zu erwartender Nutzen: Erwerb und Verbesserung chirurgischer Fähigkeiten in einer speziellen chirurgischen Technik.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Kein Schaden zu Lebzeiten, Tötung am Ende des Versuchs in tiefer Narkose.

2. Art und Anzahl der Tiere

Weibliche Schafe. Maximal 25 Tiere in 3 Jahren.

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

Vermeidung: Alternativ könnte ein Simulator zur Anwendung kommen.

Verminderung: Sämtliche Teilnehmer an diesem Operationskurs sind entweder Frauenärzte in Ausbildung, die bereits intensives Trockentraining und zahlreiche Operationsassistenzen vorweisen können oder erfahrene Vaginalchirurgen. Es ist daher nicht vorgesehen, Tiere Laien zur Grundausbildung zur Verfügung zu stellen. Es können verschiedene Operationen an einem Tier durchgeführt werden. Somit dient ein Tier zum Training an mehreren Eingriffen und dies führt zur Verringerung der Zahl der verwendeten Tiere auf das unbedingt erforderliche Minimum.

Verbesserung: Eine fachgerechte Anästhesie mit nachfolgender schmerzloser Tötung führt zu einer Minimierung der Belastungen für die verwendeten Tiere.

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

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

Ziel dieses Projekts ist die Optimierung einer Methode zur Messung des evaporativen Wasserverlustes durch die Haut bei Vögeln, um nachfolgend Untersuchungen zum Verhalten von Zugvögeln durchführen zu können.

zu erwartender Nutzen: Der erwartete Nutzen liegt in der Anwendung einer verbesserten und optimal funktionierenden Respirometrie-Anlage. Diese soll in einem zukünftig geplanten Projekt herangezogen werden, in dem Erkenntnisse darüber gewonnen werden sollen, welche Limitierungen den Vogelzug beeinflussen und wie flexibel Vögel auf klimatische Veränderungen reagieren können.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere sind durch das Tragen einer Maske während des Aufenthaltes in einer Respirometrie-Kammer einer stressbedingten Belastung ausgesetzt.

2. Art und Anzahl der Tiere

20 Haussperlinge

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

Vermeidung: Dieses Vorhaben kann nur mit lebenden Vögeln durchgeführt werden, da alle Bedingungen denen des zukünftigen Versuches ähneln müssen.

Verminderung: Die Anzahl der Vögel wird auf jenes Minimum beschränkt, das voraussichtlich erforderlich ist, um das System zu optimieren. Sobald sich das System bewährt, wird der Versuch abgebrochen. 20 Tiere sind die maximale Anzahl, die für die Optimierung notwendig sein dürfte.

Verfeinerung: Die Vögel stammen aus einer Volierenhaltung und sind das Handling durch Menschen gewöhnt. Sie werden nach deren Verwendung sofort wieder in ihr vertrautes Umfeld verbracht.

Sollte ein Vogel das Tragen der Maske nicht dulden, wird die Maßnahme sofort abgebrochen.

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

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

Nahrungsmittelallergien stellen sowohl für Menschen wie auch für Tiere ein hohes Gesundheitsrisiko dar. Aufgrund zahlreicher Studien ist bekannt, dass Magensäureblocker, die bei Magensäure-bedingten Erkrankungen eingesetzt werden, eine Nahrungsmittelallergie auslösen können. Da diese Medikamente für die Behandlung der Patienten teilweise auch über einen langen Zeitraum klinisch sehr wichtig sind, ist es essentiell Maßnahmen zu definieren, um die Nebenwirkung der Behandlung im Sinne einer Allergieentwicklung nach Möglichkeit zu reduzieren.

zu erwartender Nutzen: Magensäureblocker werden von vielen Patienten aufgrund häufiger Magensäure-bedingten Beschwerden eingenommen. Wir konnten zeigen, dass bei rund 25% dieser Patienten die Allergieneigung steigt. Daher wäre es ein Meilenstein eine Allergieentwicklung unter Therapie mit Magensäureblockern zu verhindern, um die Sicherheit der behandelten Patienten zu erhöhen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: In der vorliegenden Studie kommen nur Allergene zum Einsatz, die auch in unserer täglichen Nahrung zu finden sind. Es wird keine schwere Reaktion ausgelöst und es ist daher kein Schaden für die Tiere zu erwarten. Sollte wider Erwarten eine schwere allergische Reaktion auftreten, werden die Tiere sofort aus dem Versuch genommen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Balb/c Mäuse, Anzahl: 40 Tiere

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

Vermeidung: Ein Ersatz für den vorliegenden Tierversuch ist derzeit nicht verfügbar. Die Fragestellung kann nicht im Zellmodell untersucht werden.

Verminderung: 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 aufgrund einer allergischen Reaktion 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): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

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

Das Ziel der Studie ist der Vergleich zweier Medikamente zur Aufrechterhaltung einer Narkose (Alfaxalone vs. Alfaxalone-Midazolam per Dauertropf) bei Meerschweinchen während eines chirurgisch indizierten Eingriffs. Klinische Daten wie Herzfrequenz, Atemfrequenz und Dauer der Aufwachphase sollen verglichen werden.

zu erwartender Nutzen: Sollten sich die Ergebnisse der erhobenen klinischen Daten beider Narkoseprotokolle nicht signifikant unterscheiden, ist der Einsatz des Alfaxalone-Midazolam-Dauertropfes zu bevorzugen, da hiermit eine Reduktion des Alfaxalon Verbrauchs insgesamt zu erwarten ist. Ein weiterer Vorteil in diesem Fall ist die Antagonisierbarkeit des Midazolams, das zusätzlich zu einer beschleunigten Aufwachphase führen sollte.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Es besteht das Risiko einer Hämatombildung im Bereich der für den venösen Zugang verwendeten Extremitäten, sowie die Möglichkeit einer paravenösen Applikation des Medikaments.

2. Art und Anzahl der Tiere

30 Meerschweinchen

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

Vermeidung: Der Einsatz von lebenden Tieren kann nicht vermieden werden, da der Effekt der beiden Narkoseprotokolle nur am lebenden Tier evaluiert werden kann.

Verminderung: Die Anzahl der benötigten Meerschweinchen zum Vergleich der Narkoseprotokolle wurde basierend auf den Ergebnissen ähnlicher Studien bestimmt und auf die unbedingt erforderliche Anzahl beschränkt.

Verfeinerung: Die Tiere werden während der Narkose und in der Aufwachphase kontinuierlich von Spezialisten überwacht. Wenn möglich, werden die Tiere noch am selben Tag wieder in ihre gewohnte Umgebung entlassen.

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

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

Ziel dieses Projekts ist die Bereitstellung genetisch modifizierter Labormäuse als wichtiges Modell in vielen Bereichen der biomedizinischen Grundlagenforschung.

zu erwartender Nutzen: Genetische Veränderungen im Erbgut sind oftmals an der Entwicklung menschlicher und tierischer Erkrankungen beteiligt. Der Einsatz von genetisch modifizierten Labormäusen als Modell zur Erforschung von genetisch bedingten oder mitbedingten Krankheitsursachen hat sich in der biomedizinischen Forschung bewährt. Besonders wichtig sind Tiermodelle bei der Erforschung seltener Erkrankungen des Menschen, die, wie die Bezeichnung impliziert, durch die wenigen betroffenen Patienten nur schwierig zu erforschen sind.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Das Projekt beinhaltet Hormoninjektionen und minimale chirurgische Eingriffe unter Allgemeinanästhesie, die keine anhaltenden Schmerzen oder Belastungen bei den Tieren nach sich ziehen.

2. Art und Anzahl der Tiere

15000 Mäuse

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

Vermeidung: Den Tierversuchen gehen Experimente an Zellkulturen voraus, um die Verwendung lebender Tiere soweit wie möglich minimieren zu können. Ein vollständiger Ersatz der beantragten Versuche durch in vitro-, in silico- oder ex vivo-Methoden ist nicht möglich.

Verminderung: Alle nötigen Verfahren an Tieren werden durch erfahrene Fachkräfte effizient, schonend und nach dem neuesten wissenschaftlichen Kenntnisstand durchgeführt, was signifikant zur Reduktion der benötigten Tierzahlen beiträgt. Die Archivierung und Bereitstellung von bereits charakterisierten Modellen, bewirken eine weitere Reduzierung der Anzahl der eingesetzten Versuchstiere.

Verbesserung: Alle potenziell belastenden Eingriffe werden mit schonenden Techniken und Methoden sowie ausschließlich durch erfahrene Personen durchgeführt. Potenziell schmerzhaft Eingriffe werden, soweit notwendig, unter Allgemeinnarkose vorgenommen. Außerdem erhalten die Tiere vorbeugend und nach weiterem Bedarf Schmerzmittel. Der Gesundheitszustand der Tiere wird täglich kontrolliert. Sollten wider Erwarten Abweichungen vom normalen Verhalten oder Anzeichen von Schmerzen, Leiden, Ängsten oder dauerhaften Schäden festgestellt werden, erfolgt eine tierärztliche Nachkontrolle, um erforderlichenfalls sofort adäquate Gegenmaßnahmen einzuleiten.

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

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

Osteoarthritis (OA), ist eine degenerative Gelenkserkrankung, die mit kontinuierlich fortschreitender Gelenksknorpeldegeneration einhergeht. Da Gelenksknorpel keine nennenswerte Regenerationsfähigkeit aufweisen, kann es zu einer Akkumulation von Defekten kommen, die zu einer chronisch-progressiven degenerativen Gelenkserkrankung führen. Bisher gibt es keine Behandlung, die eine langfristige Verbesserung des Krankheitsbildes bewirken kann. Der neu entwickelte „lamellar graft“ besteht aus dezellularisiertem Knorpel, der mit Zellen des Patienten besiedelt werden soll. Nach intensiven in vitro Studien wurde der „lamellar graft“ bereits in einer Vorstudie in einem Mausmodell ohne mechanische Belastung erfolgreich getestet. Der „lamellar graft“ soll nun in einer der Belastung des humanen Knies ähnlichen Umgebung getestet werden.

zu erwartender Nutzen: Dieser Versuch kann zur künftigen Entwicklung einer neuen Therapieform für Osteoarthritis beitragen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Bei adulten Schafen werden Gelenksknorpelverletzungen chirurgisch induziert und anschließend mit „lamellar graft“ bzw. mit einem kommerziell erhältlichen Implantat behandelt. Postoperativ erfolgt eine MRI der Kniegelenke. 3 bis 12 Monate nach der Operation werden die Tiere euthanasiert, um den Heilungsverlauf histologisch untersuchen zu können.

2. Art und Anzahl der Tiere

56 Schafe

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

Vermeidung: Das Projekt verfolgt das Ziel, den neu entwickelten „lamellar graft“ unter mechanischer Belastung zu untersuchen, was nur am lebenden Tier möglich ist.

Verminderung: Die benötigte Tierzahl wurde auf Basis der Daten einer vorangehenden Studie berechnet bzw. beruht auf den Gruppengrößen vergleichbarer Studien.

Verfeinerung: Alle Eingriffe werden von erfahrenen Tierärzten durchgeführt. Die Tiere erhalten ein multimodales perioperatives Schmerzmanagement sowie eine postoperative Schmerzbehandlung. Sie werden in Gruppen und in ihrer vertrauten Umgebung gehalten, um Stress 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

Genetisch veränderte Labormäuse stellen ein wichtiges Modell im Bereich der biomedizinischen Forschung dar. Die hier vorliegenden Modelle sollen auf grundlegende Veränderungen in Protein-DNA Wechselwirkungen untersucht werden um neue Ansätze für mögliche Therapien zu erforschen.

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

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

2. Art und Anzahl der Tiere

Labormäuse (*Mus musculus*), Anzahl 2656

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

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

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

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

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

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

Trotz verbesserter Behandlungsmöglichkeiten stellen Herz-Kreislaufkrankungen nach wie vor eine der Haupttodesursachen dar. Experimentelle Daten legen nahe, dass das Eiweißmolekül TRPA<sub>1</sub> den Gewebeschaden des Herzmuskels durch Mangel- oder Nicht-Durchblutung und nachfolgender Wiederdurchblutung verändert. TRPA<sub>1</sub> ist sowohl auf Herzmuskelzellen vorhanden, als auch auf Nervenzellen die das Herz versorgen. Im Rahmen dieser Studie soll untersucht werden, ob durch eine Beeinflussung von TRPA<sub>1</sub> der Herzmuskelschaden vermindert werden kann.

zu erwartender Nutzen: Der zu erwartende Nutzen ist, dass mit diesem Projekt die Basis für neue Therapiemöglichkeiten nach Herzinfarkten gelegt wird.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Der für die Tiere zu erwartende Schaden liegt bei einer Operation unter Vollnarkose.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

558 OFA-1 Ratten.

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

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

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

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

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

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

Projektziele: Das Ziel des Projekts ist es herauszufinden, inwiefern *Histomonas meleagridis* die Ausbreitung einer Bakterienpopulation vom Gastrointestinaltrakt — besonders *Escherichia coli* — beeinflusst. Damit soll das gehäufte Vorkommen von Colibacillose in Hühnern, die gleichzeitig eine Infektion mit *H. meleagridis* haben, erklärt werden.

zu erwartender Nutzen: Die Ergebnisse werden hilfreich sein, um die Interaktion zwischen *H. meleagridis* und *E. coli* in Hühnern besser zu verstehen. Dies wird eine Erklärung ermöglichen, warum Colibacillose in Tieren, die mit *H. meleagridis* infiziert sind, schwerer verläuft als bei Tieren, die keine solche Infektion aufweisen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere werden je nach Gruppenzuteilung mit *H. meleagridis* und *E. coli* oral und cloacal infiziert. Bei den Tieren der infizierten Gruppen kann eine Blinddarmentzündung auftreten.

2. Art und Anzahl der Tiere

48 Hühner

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

Vermeidung: Da zur Untersuchung der beschriebenen Fragestellung der gesamte Organismus beobachtet werden muss, ist es nicht möglich, den Tierversuch durch alternative Methoden zu ersetzen.

Verminderung: Der Versuch wird mit jener Anzahl an Tieren durchgeführt, die unbedingt notwendig ist, um eine valide und somit statistisch abgesicherte Aussage zu bekommen.

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 wird laufend bestimmt. Die definierten Abbruchkriterien werden im Bedarfsfall umgesetzt, um unnötiges Tierleid zu vermeiden.

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

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

Projektziel: In diesem Projekt sollen Sauerstoffkonzentrationen im Gehirn überprüft werden und eine Veränderung im Sauerstoffgehalt mit Adipositas in Beziehung gesetzt werden. Dazu soll eine kontinuierliche in-vivo Messmethode entwickelt werden.

zu erwartender Nutzen: Die Ergebnisse des Projekts haben das Potential einen wichtigen Beitrag für zukünftige Therapien von Adipositas und assoziierten Erkrankungen zu leisten.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Es wird eine moderate Belastung durch die invasive Implantation erwartet. Weitere Beeinträchtigungen sind auszuschließen.

2. Art und Anzahl der Tiere

40 Mäuse

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

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

Vermeidung: Das Versuchsziel kann nicht mit anderen Methoden als mit einem Tierversuch erreicht werden weil die zu untersuchenden Parameter nur in vivo getestet werden können, weil eine Zellkultur die Komplexität der Umgebungsparameter im Gehirn 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.

Verbesserung: Während der Eingewöhnungszeit der Tiere von einer Woche wird neben standardmäßiger fachkundiger Betreuung durch geschultes Tierpflegepersonal eine Bereicherung („enrichment“) in Form von 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): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

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

Innerhalb dieser Studie wollen wir die Auswirkung des Fehlens eines antioxidativen Proteins in einem Mausmodell für das hereditäre Kolonkarzinom untersuchen.

zu erwartender Nutzen: Diese Studie hilft uns die molekularen Mechanismen der Darmkrebsentstehung zu verstehen. Diese Erkenntnisse tragen zur Entwicklung chemopräventiver Medikamente für Menschen mit erhöhtem Darmkrebsrisiko bei.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Bei einem Teil der Mäuse kommt es zu Entstehung eines Darmtumors, der mitunter dazu führen kann, dass die Mäuse an Gewicht verlieren und es zu Blutungen oder einem Rektumprolaps kommen kann. Deswegen werden die Tiere täglich untersucht, um die individuellen Abbruchkriterien zu überprüfen und gegebenenfalls stark beeinträchtigte Tiere zu euthanasieren um diese so von ihrem Leid frühzeitig erlösen zu können.

2. Art und Anzahl der Tiere

Insgesamt sollen für den Versuch 143 Mäuse verwendet werden.

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

Vermeidung: Soweit möglich, werden zur Beantwortung der Fragestellungen Zellkulturexperimente durchgeführt. Bis jetzt konnten wir in vitro zeigen, dass eine Hochregulierung eines bestimmten antioxidativen Proteins zu einer Reduktion von Mutationen in repetitiven DNS Sequenzen führt und dieser Mechanismus möglicherweise eine Tumorentstehung verzögert. Ob der Verlust dieses antioxidativen Proteins tatsächlich zu einer erhöhten Tumorgenese führt, und somit tatsächlich ein Zielgen für die Tumoprävention darstellt, kann nur in vivo überprüft werden.

Verminderung: Die Tierzahl für diesen Versuch wurde mittels Fallzahlberechnung auf ein notwendiges Minimum kalkuliert. Die Anzahl der Kontrollmäuse, welche keine Tumoren entwickeln, wurde auf ein Minimum reduziert.

Verfeinerung: Nah verwandte Mäuse werden für die Studie verwendet, um die genetische Variabilität so gering wie möglich zu halten und somit eine geringe Streuung der Ergebnisse zu gewährleisten. Durch vorhergegangene Versuche in einem der Mausmodelle konnten wir den besten Zeitpunkt für die Euthanasie (beim Auftreten von Tumoren) schon bestimmen und verlängern dadurch nicht unnötig die Versuchsdauer.

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

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

Ziel dieser Studie ist es, die Wirkung von Fichtenfaulpech- oder Fichtenharz-Salbe auf Kastrationswunden beim männlichen Schwein im Vergleich zu einer Placebogruppe (Salbengrundlage Schweineschmalz), einer Negativkontrolle ohne Behandlung und einer Positivkontrolle (herkömmlicher antibiotischer Wundspray) zu untersuchen.

zu erwartender Nutzen: Das Projekt soll den Einsatz von Fichtenfaulpech- oder Fichtenharz-Salbe bei Wunden und Wundheilungsstörungen untersuchen. Da die Schweinehaut der menschlichen Haut sehr ähnlich ist, erlaubt die Verwendung von Ferkeln einen Vergleich zur Anwendung am Menschen. Neben dem wundheilenden Effekt weist Fichtenfaulpech- oder Fichtenharz-Salbe auch eine antibakterielle Wirkung auf, sodass zu erwarten ist, dass der Einsatz von Antibiotika sowohl in der Human- als auch in der Veterinärmedizin reduziert werden kann.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die eingesetzten Untersuchungsmethoden beschränken sich auf die Entnahme von Blut und Tupferproben sowie der Anwendung und Kontrolle der Wirkung von Fichtenfaulpech- oder Fichtenharz-Salbe auf Kastrationswunden.

2. Art und Anzahl der Tiere

100 Schweine

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

Vermeidung: Eine Vermeidung des Tierversuchs ist nicht möglich, da für die Wirkung einer Substanz sowohl in der Human- als auch in der Veterinärmedizin Anwendungsstudien an Wunden von lebenden Individuen erforderlich sind.

Verminderung: Die Anzahl der Versuchstiere richtet sich nach vergleichbaren Studien.

Verfeinerung: Die Tiere werden während des gesamten Versuchs von fachkundigem Personal betreut. Der Gesundheitszustand der Tiere wird engmaschig überwacht. Durch regelmäßigen Kontakt zum Pflegepersonal können sich die Schweine an den menschlichen Kontakt gewöhnen, wodurch bei der Dokumentation der Wunden weniger Stress ausgelöst wird. Das Risiko von Unverträglichkeiten oder Allergien ist als gering einzustufen. Sollten dennoch Unverträglichkeiten oder Allergien auftreten, werden die betroffenen Tiere therapeutisch behandelt und nicht mehr weiter mit den zu testenden Salben in Kontakt gebracht.

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, eine verbesserte Dosierung der derzeit verabreichten Antibiotika bei ARDS (acute respiratory distress syndrom = akutes Lungenversagen) zu finden. Die Penetration der Antibiotika ins geschädigte Gewebe bei ARDS ist entscheidend für den Therapieerfolg und somit für die Heilungschancen.

zu erwartender Nutzen: Der zu erwartende Nutzen besteht in einer Verbesserung der Dosierungsrichtlinien der Antibiotika Meropenem und Teikoplanin bei Patienten mit schwerem ARDS.

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

2. Art und Anzahl der Tiere

10 weibliche Schweine mit einem Gewicht von ca. 50 kg.

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

Vermeidung: Unmittelbar vor dem Experiment werden die Tiere mit einer Ketamin- und Dormicum-Injektion in den Muskel prämediziert, um jeglichen Stress zu vermeiden. 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, sediert und relaxiert.

Verminderung: Eine Verminderung der Anzahl der benötigten Versuchstiere wird dadurch angestrebt, dass jedes Tier seine eigene Kontrolle darstellt (ARDS wird nur einseitig erzeugt. Eine Lunge bleibt intakt und dient als „Kontrollorgan“). Durch diesen experimentellen Ansatz lassen sich Schwankungen von Tier zu Tier ausblenden, denn die gesunde Lunge dient als Kontrolle (=100%) und es wird die Veränderung in der ARDS Lunge berechnet. Dadurch lässt sich die Anzahl der benötigten Tiere stark reduzieren.

Verfeinerung: Durch die gewonnenen Ergebnisse soll die Antibiotikadosierung bei ARDS z. B. durch Pneumonie am Menschen adaptiert werden. Für die Tierart wäre eine verbesserte Dosierung von veterinärmedizinisch verabreichten Antibiotika bei pulmonalen Infektionen vorstellbar. Zusätzlich könnte man bei Experimenten an paarigen Organen einen ähnlichen experimentellen Ansatz wählen und daher in Zukunft die Anzahl der Tiere, die für relevante Ergebnisse benötigt werden, auch bei künftigen Studien reduzieren.



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

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

zu erwartender Nutzen: Bakterielle Peritonitis ist eine lebensbedrohende Erkrankung, ausgelöst durch Infektion des Peritoneums mit Darmbakterien wie es zum Beispiel bei einem Blinddarmdurchbruch vorkommt. Eine gefährliche Konsequenz sind systemische Infektion und Sepsis mit darauffolgendem Multiorganversagen. Während die Bakterienlast mittlerweile erfolgreich mit Antibiotika behandelt werden kann, fehlt es immer noch an wirksamen therapeutischen Ansätzen um die außer Kontrolle geratene Immun- bzw. Entzündungsreaktion wieder zu Regulieren. Im Zuge unserer Arbeit haben wir eine Möglichkeit entdeckt den Sepsis-induzierten Organschaden zu verringern, wollen dies nun mechanistisch aufklären und damit zum besseren Verständnis der Modulation von Entzündungsreaktionen sowie zur Pathogenese von Sepsis beitragen

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

2. Art und Anzahl der Tiere

944 Mäuse unterschiedlichen Genotyps.

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

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

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

Verfeinerung: Die Infektionsstudien werden derart verfeinert und durchgeführt, dass Leiden durch folgende Maßnahmen vermindert wird: 1. Werden sämtliche Eingriffe unter Narkose durchgeführt; 2. Werden die Infektionen derart geplant, dass Krankheitssymptome so weit als möglich vermieden werden; 3. Wird zur Verminderung der Tierzahl bei sämtlichen Versuchen auf streng standardisierte Versuchsbedingungen Wert gelegt.

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

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

Das Bakterium *Staphylococcus (S.) aureus* kann schwere Infektionen verursachen, die zu Wundinfektionen und lebensbedrohenden Zuständen, wie etwa Knochenentzündung, Entzündung des Herzens und der Lunge sowie Sepsis und Toxic shock Syndrome (TSS) führen können. Durch die stark zunehmende Antibiotika-Resistenz von *S. aureus* stellen dessen Infektionen ein immer bedrohlicher werdendes Gesundheitsproblem dar. In diesem Projekt soll nun die Antikörperproduktion ausgewählter und in der Zellkultur vorgetesteter Kandidat-Impfstoffe im Kaninchenmodell überprüft werden.

zu erwartender Nutzen: Eine Impfung mit modifizierten Toxinen würde einen immensen Fortschritt für die Volksgesundheit bedeuten.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Der zu erwartende Schaden ist gering. Pro Impfung erfolgen eine Blutabnahme und ein Kanüleneinstich gemäß guter tierärztlicher Praxis. Die Entblutung der Tiere findet nach mehrmaliger Impfung in Vollnarkose statt.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden 90 weiße Neuseeländerkaninchen in einem Zeitraum von 3 Jahren verwendet.

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

Vermeidung: Die Kandidaten werden zuerst *in vitro* vorselektiert, die endgültige Testung muss aber in einem lebenden Organismus stattfinden.

Verminderung: Es werden pro Impfstoffkandidat geringste Tierzahlen mit einer möglichst großen statistischen Signifikanz gewählt. Alle Untersuchungen finden unter standardisierten kontrollierten Bedingungen statt.

Verfeinerung: Alle Untersuchungen finden unter standardisierten kontrollierten Bedingungen statt.

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

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

Adeno-assoziiertes Virus (AAV)-vermittelter Gentransfer ist derzeit der Goldstandard für die stabile und langfristige Expression von Transgenen in der Retina. Diese Studie wird die Wirksamkeit einer AAV-Vektor basierten Gentherapie für bestimmte Ionenkanalproteine im Netzhautgewebe der Maus untersuchen.

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. Die Injektion von viralen Vektoren erfolgt durch sehr gut etablierte Operationsmethoden, wodurch wir keinen langfristigen Schaden erwarten. Der Schweregrad wird als ‚mittel‘ eingestuft.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden für 3 Jahre insgesamt 1728 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 gentherapeutische Ansätze herangezogen werden können. Die Bedingungen für Zucht, Unterbringung, Pflege und Verwendung von Tieren wird kontinuierlich verbessert, da die Auswirkungen des experimentellen Ansatzes (subretinale AAV Injektion) 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.

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

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

Die erfolgreiche Abwehr bakterieller Erreger erfordert ein Zusammenspiel verschiedener Zellen des Immunsystems. Fresszellen, sogenannte Makrophagen, sind eine der ersten Abwehrmechanismen des Körpers gegen eindringende Bakterien, indem sie diese Bakterien aktiv aufnehmen und dann zerstören. Manche Bakterien sind aber in der Lage diese Mechanismen zu umgehen. Das Fehlen von regulatorischen Proteinen kann zu einer unkontrollierten Verbreitung der Bakterien im Körper führen. Wir versuchen durch das Ausschalten von bestimmten Genen das Immunsystem anzuregen, damit es den Kampf gegen Bakterien wieder aufnimmt. Das Ziel dieses Projekts ist es, die molekularen Mechanismen zu erforschen, die zur Inhibierung von den Genen führen, die eine Infektion begünstigen. Wir wollen im Detail untersuchen wie Bakterien Gene anregen, die die Ausbreitung dieser Bakterien selber vereinfachen. Dadurch erwarten wir uns wichtige Einblicke in die Mechanismen und Abläufe, die die Anfälligkeit für eine global bedeutsame Infektionserkrankung regulieren.

zu erwartender Nutzen: Das Verständnis dieses neuen Mechanismus und dessen Aufklärung, kann zur Entwicklung neuer immunoregulatorischer und therapeutischer Ansätze zur Therapie von Infektionen führen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Im Rahmen des Projektes wird eine Infektion mit einem intrazellulären Erreger nachgeahmt. Dies kann im Laufe der Immunantwort zu einer Verschlechterung des Allgemeinzustandes, Entstehung von Fieber und einer Reduktion der Nahrungs- und Wasseraufnahme führen. Die Mäuse werden von geprüften Tierpflegern/Tierpflegerinnen und einem Tierarzt/einer Tierärztin fachgerecht betreut und versorgt.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für die Etablierung und Erhaltungszucht der Mausstämmen sowie für die Experimente werden 1332 Mäuse in einem Zeitraum von 5 Jahren benötigt.

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

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

Verminderung: Die Anzahl der Mäuse wird aufgrund bereits in unserem Labor durchgeführter Projekte so berechnet, dass mit möglichst wenigen Mäusen statistisch signifikante Aussagen getroffen werden können. Sorgfältige Datenaufzeichnungen und die Zusammenarbeit als Gruppe

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

Verfeinerung: Während des ganzen Projektes werden detaillierte Aufzeichnungen geführt, damit die Durchführung von nachfolgenden Projekten vereinfacht und verbessert werden kann und maximale Informationen aus den Versuchen erhalten werden können.

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

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

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

Dieser Kurs wird teilnehmenden Chirurgen ermöglichen, eine endoskopische Kontrolle eines Verletzungsereignisses der Arteria carotis interna unter Verwendung von direkten Gefäßreparatur- und Verschlusstechniken durchzuführen.

zu erwartender Nutzen: Dieser Kurs wird es den Teilnehmern ermöglichen (1) besser auf die Verwendung von blutungskontrollierenden Alternativen zur Nasentamponade und Embolisation vorbereitet zu sein, (2) die chirurgischen Resultate für zukünftige Patienten die sich Schädelbasisresektionen unterziehen, zu verbessern und (3) eine totale Okklusion des Gefäßes und den nachfolgenden Tod / Schlaganfall zu verhindern. Ziele des Kurses sind: a) Veranschaulichung der chirurgisch-endoskopischen Herausforderungen, die eine große Gefäßverletzung mit sich bringt. b) Training von chirurgischen Techniken, die für das sichere Management essentiell sind. c) Das äußerst herausfordernde Szenario einer großen Gefäßverletzung zu vermitteln, mit der Schädelbasischirurgen im Rahmen von endoskopischen Operationen konfrontiert sein können und diese mit maximaler Effizienz zu kontrollieren.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Es werden während der Eingriffe keine Schmerzen bei den Tieren auftreten, da die Tiere durchgehend unter tiefer Betäubung stehen. Am Ende der Operation werden die Tiere schmerzlos getötet.

2. Art und Anzahl der Tiere

Merinoschaf, 54, männlich, 40kg

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

Vermeidung: Die Blutstillung ist ein hochkomplexes System von vielen Faktoren, die miteinander in Beziehung stehen, um ein empfindliches Gleichgewicht der Blutgerinnung zu gewährleisten, aber dabei trotzdem eine anhaltende Abgabe von Blut an lebenswichtiges Gewebe zu ermöglichen. Es ist daher vor allem in der Chirurgie unmöglich, dieses System in vitro oder über Computersysteme nachzuahmen.

Verminderung: Dies ist ein Kurs, der ausschließlich auf HNO und Neurochirurgen abzielt, da festgestellt wurde, dass diese Chirurgen am meisten davon profitieren wenn sie diese Techniken erlernen. Darüber hinaus sind es diese Chirurgen, die am ehesten während der Operation auf ein Karotis-Verletzungsereignis treffen. Es muss daher die Blutung am lebenden Tier simuliert werden.

Verfeinerung: Schafe wurden ausgewählt, da sie ein ähnliches kardiovaskuläres Profil wie der Mensch besitzen, was eine Verletzung des Modells eines großen Gefäßes bei einer Verletzung der

Halsschlagader während einer Nasennebenhöhlenoperation ermöglicht. Es werden während der Eingriffe keine Schmerzen bei den Tieren auftreten, da die Tiere durchgehend unter tiefer Narkose stehen. Am Ende des Verfahrens werden die Tiere schmerzlos getötet.

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

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

Dieses Projekt zielt darauf ab neuartige Mäuse mit gezielten genetischen Veränderungen zu züchten welche für 2 Forschungsprojekte verwendet werden. Das Ziel des ersten Projektes (Grundlagenforschung) ist es, neuartige Zellen im Knochenmark zu identifizieren und deren Bedeutung für die Immunzellreifung, für die Entstehung von Tumoren und die Bildung von Metastasen zu erforschen. Das Ziel des zweiten Projektes (angewandte Forschung zur Behandlung von Krebserkrankungen) ist es, mit Hilfe von neuartigen Mäusen (welche ein menschliches Immunsystem entwickeln) und der Transplantation von therapieresistenten Patiententumoren, die zellulären und molekularen Mechanismen des Tumorwachstums, der Beeinflussung des Tumorwachstums durch Zellen des Immunsystems, und der Entwicklung von therapieresistenten Tumoren untersucht werden. Darüber hinaus sollen neuartige Kombinations-Immuntherapien getestet werden, welche in der Lage sind komplette und dauerhafte Therapieerfolge zu erzielen.

zu erwartender Nutzen: Translationale und präzisions-medicinische Forschungsvorhaben sind in hohem Maße geeignet um präklinische Forschungsergebnisse zu liefern welche dann für die gezielte Planung und Durchführung von klinischen Studien zur Behandlung von therapieresistenten Krebspatienten genutzt werden können.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Geringe Belastung. Die Zucht von Tieren mit genetisch bedingten Immundefekten führt zu einem erhöhten Infektionsrisiko. Das Risiko von Infektionen wird allerdings durch die Haltung der Tiere in sehr reinen Räumen minimiert.

2. Art und Anzahl der Tiere

8.773 Mäuse unterschiedlichen Genotyps.

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

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

Verminderung: Zur Verminderung der Tierzahl wird bei sämtlichen Versuchen auf streng standardisierte Versuchsbedingungen Wert gelegt. Die Anzahl der Tiere beruht auf statistischen Berechnungen und langjähriger, internationaler Erfahrung in der Forschung. Mauslinien die nicht in Verwendung sind werden archiviert, um Tierzahlen durch eine Erhaltungszucht zu reduzieren

Verfeinerung: Vor der Anwendung der tierexperimentellen Methoden wird die wissenschaftliche Literatur nach methodischen Verbesserungen durchsucht, die eine geringere Belastung für die Versuchstiere bedeuten. Wenn die wissenschaftliche Fragestellung durch alternative in vitro Methoden abgedeckt werden kann, wird von in vivo Experimenten Abstand genommen.



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 betroffene 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 Tumorimmunität 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 während 2 Wochen wiederholt 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

Im Projekt soll eine neue künstliche Herzklappe, welche speziell auch für Herzklappenpatienten in der Dritten Welt geeignet ist, an Schweinen im Langzeitverlauf (bis zu 5 Monate) getestet werden. Derzeitige, kommerziell erhältliche Modelle haben entweder das Problem der Verkalkung oder der Entwicklung einer zunehmenden Undichtheit. Die neue, hier vorgestellte Klappe, wurde bereits in Akutversuchen und am Klappensimulator erfolgreich getestet. Für erste Testung am Menschen fehlt die Erfahrung im Großtier über längere Zeit. Die aktuelle Studie soll die Ergebnisse hinsichtlich der Haltbarkeit der Klappe liefern.

zu erwartender Nutzen: Wir erwarten Erfahrungen mit der neuen künstlichen Herzklappe, die wichtige Hinweise für deren Implantation und Verwendung beim Menschen geben soll.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Den Tieren wird in Narkose analog zur Operation beim Menschen minimal-invasiv eine Herzklappe über die Herzspitze eingeführt. Danach wachen die Tiere wieder auf und werden entsprechend dem Protokoll mittels Ultraschall bis zu 5 Monate nachuntersucht. Am Ende des Versuchs wird das Tier schmerzfrei getötet und die Klappe für weitere Untersuchungen entnommen.

2. Art und Anzahl der Tiere

mini pigs: n=50

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

Vermeidung: Diese Studien können nur an Tieren durchgeführt werden, da nur in diesen die Wechselwirkungen zwischen den künstlichen Oberflächen der Klappen und dem Tier erhoben werden können.

Verminderung: Die benötigte Tieranzahl wurde mittels Fallzahlberechnung so gering wie möglich kalkuliert, wobei eine Verminderung durch begleitende statistische Analysen angestrebt wird. Des Weiteren wird eine möglichst niedrige Anzahl der eingesetzten Tiere durch eine Standardisierung gewährleistet, bei der die experimentelle Variabilität minimiert wird, Die Veröffentlichung unserer Forschungsergebnisse in frei zugänglichen Journalen und Datenbanken dient auch einer Reduktion von Tierexperimenten, durch Vermeidung unnötiger Wiederholungen.

Verfeinerung: Die Haltung der Tiere erfolgt nach den FELASA Richtlinien in einem „enriched environment“ und die Versuche werden von hochqualifiziertem Personal durchgeführt, wodurch eine Verfeinerung (refinement) der Tierversuche erreicht wird.

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

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

Bei der caninen Dirofilariose handelt es sich um eine parasitäre durch Mücken übertragene Erkrankung mit zoonotischem Potential, welche durch *Dirofilaria* spp. verursacht wird. Diese Infektionskrankheit breitet sich aktuell über weite Teile Mittel- und Osteuropas aus. Österreich gilt seit sechs Jahren als endemisch für *Dirofilaria repens* und frei für *Dirofilaria immitis*, Durch den zunehmenden Reiseverkehr mit Hunden und steigende Zahlen von aus endemischen Gebieten importierten Hunden, gewinnt diese Erkrankung auch in bisher nicht endemischen Ländern wie Österreich an Bedeutung. Die Fallzahlen von importierten und mit Dirofilarien infizierten Hunden haben sich in Österreich innerhalb der letzten 4 Jahre vervierfacht. Ziel dieser Studie ist es, die Prävalenz der Dirofilariose bei aus dem endemischen Ausland importierten Hunden in österreichischen Tierheimen zu evaluieren.

zu erwartender Nutzen: Die Ergebnisse kommen den untersuchten Tieren zugute, da sie Auskunft über ihren Infektions- und Gesundheitsstatus der Hunde liefern. Die als infiziert identifizierten Hunde können sofort entsprechend therapiert und damit geheilt werden. Da es sich bei der Dirofilariose um eine Zoonose handelt, ist diese Untersuchung auch für das österreichische Gesundheitswesen von besonderem Interesse. Durch die Ergebnisse dieser Studie werden die Wichtigkeit der Untersuchung von Hunden aus dem Ausland auf Reisekrankheiten, sowie vorbeugende Maßnahmen für Reisen mit Hunden ins Ausland verdeutlicht. Sollten in den gefangenen Mücken Dirofilarien nachgewiesen werden können, so würde dies einen entscheidenden Aufschluss über die mögliche Endemisierung der Dirofilariose in Österreich bieten.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere werden im Rahmen dieses Projekts klinisch untersucht und einer einmaligen Blutabnahme unter den aktuellen veterinärmedizinischen Standards unterzogen.

2. Art und Anzahl der Tiere

150 Hunde

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

Vermeidung: Der Infektionsstatus mit Dirofilariose kann nur an lebenden Tieren der Zielspezies erhoben werden. Die Anwendung von Ersatz- und Ergänzungsmethoden ist daher nicht möglich.

Verminderung: Für dieses Projekt werden nur jene Anzahl an Hunden beprobt, die erforderlich ist, um aussagekräftige Ergebnisse über den Infektionsstatus mit Dirofilariose von Tierheimhunden in Österreich zu erzielen.

Verfeinerung: Die im Rahmen dieses Tierversuchs verwendeten Tiere werden in den Tierheimen nach den geltenden tierschutzrechtlichen Standards untergebracht und betreut. Es werden nur Hunde untersucht, welche bereits ausreichend auf den Menschen sozialisiert sind und denen das medizinische Handling keinen übermäßigen Stress verursacht.

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

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

Atherosklerose, auch Arterienverkalkung, stellt nach wie vor die Todesursache Nr. 1 in westlichen Industrienationen dar. Daher werden neue Therapien zur Senkung des Cholesterins dringend benötigt. Zudem würde jeder Therapieansatz vor Atherosklerose schützen, der es ermöglicht, überschüssiges Cholesterin zu entfernen. Es ist bekannt, dass bestimmte Nahrungsergänzungsmittel (z. B.: mit Omega-6 Fettsäuren) das Risiko senken, an Herz-Kreislaufkrankungen zu erkranken. Um neue wirksame Therapien zu entwickeln, müssen neue Substanzen identifiziert und charakterisiert werden, die cholesterin-senkende Eigenschaften aufweisen.

zu erwartender Nutzen: Dieses Projekt soll helfen, neue Behandlungsmethoden gegen erhöhte Blutfettwerte und Arterienverkalkung zu charakterisieren. Die geplanten Untersuchungen werden helfen, den Weg für die Entwicklung einer neuen Therapie zu ebnen, um Atherosklerose zu bekämpfen und damit die Rate an Herzinfarkten und Schlaganfällen deutlich zu senken.

zu erwartender Schaden für die Tiere: In den geplanten Versuchen werden keine pathologischen Auswirkungen bei den Tieren erwartet. Die spezielle fettreiche Diät in den Atherosklerosestudien kann zu einer Gewichtszunahme bei den Tieren führen.

2. Art und Anzahl der Tiere

2500 Mäuse

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

Vermeidung: Bereits durchgeführte Vorversuche mit Zellkultur konnten wichtige Ergebnisse liefern, jedoch braucht es aufgrund der Komplexität des Lipoxinstoffwechsels ein intaktes biologisches System mit allen Geweben, um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten.

Verminderung: Anhand der Ergebnisse bereits durchgeführter Studien und den publizierten Daten wird die Zahl der Tiere auf das Mindestmaß reduziert, bei dem noch signifikante Effekte zu erwarten sind.

Verfeinerung: Alle Experimente werden mit geschulten Fachpersonal durchgeführt, es wird für eine tiergerechte Haltung gesorgt (z. B.: mit „Environmental Enrichment“). Auch bei einem vorzeitigen Versuchsabbruch werden alle relevanten Parameter bestimmt.

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

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

Das Knochenmark ist ein wichtiges Organ welches die Reifung von vielen verschiedenen Immunzellen steuert, das Überleben von Gedächtnis-Immunzellen sichert, aber auch die Metastasenbildung begünstigt. Dieses Grundlagen-Forschungsprojekt zielt darauf ab neuartige Zellen im Knochenmark zu identifizieren und deren Bedeutung für die Immunzellreifung, für die Entstehung von Tumoren und die Bildung von Metastasen zu erforschen. Dafür verwenden wir neuartige, speziell für dieses Projekt entwickelte Mäuse. Diese Mäuse werden für Immunzellreifungs- und Tumorinduktionsexperimente verwendet um die genaue Bedeutung und Funktion von verschiedenen Zell-Unterarten im Knochenmark zu erforschen.

zu erwartender Nutzen: Dieses Grundlagen-Forschungsprojekt soll wichtige Erkenntnisse liefern wie die unterschiedlichen Zellen im Knochenmark organisiert sind, wie und welche Zellen die Reifung und Funktion von ganz bestimmten Immunzellen beeinflussen und welche Zell-Unterarten das Tumorwachstum und die Metastasenbildung im Knochenmark hemmen bzw. fördern.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Geringgradige Belastung durch Immundefizienz. Mittelgradige Belastung durch die aseptische chirurgische Transplantation von Stromazellen unter die Nierenkapsel. Mittel- bis schwergradige Belastung durch Tumorwachstum bzw. Metastasenbildung.

2. Art und Anzahl der Tiere

2.355 Mäuse unterschiedlichen Genotyps.

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

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

Verminderung: Zur Verminderung der Tierzahl wird bei sämtlichen Versuchen auf streng standardisierte Versuchsbedingungen Wert gelegt. Die Anzahl der Tiere beruht auf statistischen Berechnungen und langjähriger, internationaler Erfahrung in der Forschung.

Verfeinerung: Die Tumorstudien werden derart verfeinert und durchgeführt, dass Leiden durch folgende Maßnahmen vermindert wird: 1. Werden sämtliche Eingriffe unter Narkose durchgeführt; 2. Werden die Tumorexperimente derart geplant, dass Krankheitssymptome so weit als möglich vermieden werden; 3. Wird zur Verminderung der Tierzahl bei sämtlichen Versuchen auf streng standardisierte Versuchsbedingungen Wert gelegt.

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



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

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

Ziel dieses Vorhabens ist die Ausbildung von Personen, die tierexperimentell arbeiten werden und hierfür eine entsprechende gesetzlich verpflichtende Ausbildung nachweisen müssen. Die Lehrinhalte dieser Ausbildung berücksichtigen die neuesten Erkenntnisse im Fachgebiet und legen ihren Schwerpunkt im tierschutzgerechten Umgang mit Versuchstieren während der Haltung und experimentellen Nutzung.

zu erwartender Nutzen: liegt in der postgradualen Ausbildung in Theorie und Praxis von Personen, die tierexperimentell arbeiten (werden). Durch diese Ausbildung soll gewährleistet werden, dass die TeilnehmerInnen einen tierschutzgerechten Umgang mit Labortieren im Sinne der 3R erlernen. Es wird ein Bewusstsein sowohl für das Wohlergehen der Tiere als auch für die ethische Verantwortung im Tierversuch geschaffen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Geübt werden u. a. Fixationsgriffe, Applikations- und Blutentnahmetechniken.

2. Art und Anzahl der Tiere

1380 Mäuse, 600 Ratten, 28 Kaninchen

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

Vermeidung: Zur Demonstration bzw. als vorausgehendes Training werden den KursteilnehmerInnen alternative Lehrmethoden zur Verfügung gestellt (Power Point Präsentationen, Vorführung und Training an Dummies). Die Übung am lebenden Tier ist allerdings nicht zu vermeiden, um eine gute praxisorientierte Ausbildung zu gewährleisten.

Verminderung: Alle nötigen Verfahren werden zunächst an Dummies geübt sowie effizient, schonend und nach neuestem wissenschaftlichem Kenntnisstand durchgeführt, was zur Reduktion der benötigten Tierzahlen beiträgt.

Verfeinerung: Potenziell schmerzhaft Eingriffe werden, soweit notwendig, unter direkter Anleitung am narkotisierten Tier durchgeführt. Im Anschluss an die praktischen Übungen werden die Tiere tierärztlich kontrolliert, um Abweichungen im Verhalten (als mögliche Anzeichen von Schmerzen, Leiden und/oder Ängsten) unverzüglich zu erkennen und Gegenmaßnahmen einleiten 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

Die Cochleaimplantation (das chirurgische Einführen eines Hörimplantates in das Innenohr) ist eine wichtige Therapieoption bei Patienten mit ausgeprägtem Hörverlust oder Taubheit. Seit einigen Jahren können auch Patienten mit noch vorhandenem Gehör im Tieftonbereich implantiert werden. In dieser Patientengruppe ist es erstrebenswert, das bestehende Restgehör bei der Operation zu schonen und wenn möglich zu erhalten. Bei der Cochleaimplantation wird eine Elektrode über das runde Fenster oder durch einen gebohrten Zugang in die Hörschnecke eingeführt. Dabei können sowohl direkte mechanische Verletzungen, als auch Spätschäden wie eine Entzündung oder Vernarbung um die Elektrode, knöcherne Umbauten in der Hörschnecke und Minderung von Nervenzellen auftreten. Ein Effekt der Entzündung ist die Reduktion der Verbindungen zwischen Nervenzellen und inneren Haarzellen. Eine potenziell wirksame Methode zur Vermeidung dieser Spätschäden ist die Implantation mit Wirkstoff-überzogenen Elektroden. Hier konnten mit Dexamethason-freisetzenden Elektroden bereits positive Ergebnisse gezeigt werden. Diese Studie untersucht einen neuen Wirkstoff zur möglichen Verbesserung des Restgehörerhalts. Dieser besitzt radikalfangende Effekte, wodurch die Nervenzellen geschützt werden sollen. Außerdem könnte der Wirkstoff eine mögliche Neubildung der zerstörten Verbindungen zwischen Nerven- und Haarzellen bewirken. Das Ziel dieser Studie ist es, die Wirksamkeit einer mit diesem Wirkstoff überzogenen Elektrode in der restgehörerhaltenden Cochleaimplantation zu zeigen. Diese Pilotstudie soll außerdem Einsicht über die optimale Tierspezies und den operativen Zugang im Cochleaimplantations-Tiermodell geben.

zu erwartender Nutzen: Der zu erwartende Nutzen liegt in der Erkenntnis, ob Elektroden, welche mit dem oben beschriebenen Wirkstoff überzogen sind, einen restgehörerhaltenden Einfluss in der Cochleaimplantation zeigen, und ob der Wirkstoff einen positiven Effekt auf den Erhalt von Nervenzellen, von Haarzellen sowie deren Verbindungen zeigt. Außerdem soll durch diese Pilotstudie die Erkenntnis gewonnen werden, welche Tierspezies sich am besten zum Cochleaimplantations-Tiermodell eignet.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Der für die Tiere zu erwartende Schaden liegt in einer Cochleaimplantation sowie in den folgenden Narkosen zur Hörmessung. Nach der letzten Hörmessung werden die Tiere unter tiefer Narkose eingeschläfert, um im Anschluss die Innenohre histologisch aufarbeiten zu können.

2. Art und Anzahl der Tiere

20 pigmentierte Meerschweine und 20 Mongolische Wüstenspringmäuse

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

Vermeidung: Derzeit existiert noch keine Alternative zum Tiermodell, um restgehörverbessernde Maßnahmen nach der Cochleaimplantation zu testen.

Verminderung: Diese Studie stellt ein Pilotprojekt dar, um das ideale Tiermodell sowie den optimalen operativen Zugang für die Cochleaimplantation zu eruieren. Wir hoffen durch den gewonnenen Standard die Variabilität der Resultate und damit die Anzahl der zu verwendeten Tiere in den Folgestudien zu reduzieren.

Verfeinerung: Während des gesamten Projekts werden Operation, Narkose, pre-, intra- und postoperative Behandlung sowie Messmethoden konstant für mögliche Verbesserungen evaluiert.

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

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

Ziel der Studie: In diesem Projekt soll die Pharmakokinetik neuer Antikörper-Wirkstoff-Konjugate in wildtyp Ratten untersucht werden. Dafür werden weibliche Wistar-RccHan Ratten einmalig intravenös mit einer der drei Substanzen oder Kontrollantikörper behandelt. Den Tieren wird zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Injektion in vivo Blut entnommen. Ein bis drei Wochen nach der Injektion werden die Tiere euthanasiert und final Blut entnommen. Das gewonnene Plasma wird vom Auftraggeber auf Konzentrationen des Antikörpers untersucht.

Schaden und Nutzenabklärung: Die einmalige intravenöse Behandlung stellt für die Tiere nur geringen Stress und/oder Schmerz dar. Da es sich bei den Substanzen um Substanzen handelt, die vergleichbar mit den in einem früheren Projekt verwendeten Substanzen sind, kann davon ausgegangen werden, dass es zu keinen oder nur geringen Nebenwirkungen kommt. Nach der Behandlung wird den Tieren zweimalig in vivo Blut entnommen. Dieser Eingriff wird in den Tieren leichten Stress und Schmerz verursachen. Nach der zweimaligen Blutentnahme werden die Tiere zu verschiedenen Zeitpunkten mittels intraperitonealer Pentobarbitalinjektion euthanasiert. Diese Tötungsmethode stellt für die Tiere nur geringen Stress dar, da sie schnell das Bewusstsein verlieren.

Durch diese Studie wird es möglich sein, die Stabilität und somit die Metabolisierungsrate des neuen Antikörper-Wirkstoff-Konjugats zu ermitteln. Mit diesen Untersuchungen kann die benötigte Substanzkonzentration für in vivo Effizienzstudien ermittelt werden.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie werden insgesamt 120 Wistar-RccHan Ratten beantragt.

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

Replace: Um neue Medikamente gegen Krebserkrankungen 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 5 Tiere verwendet werden. Diese Gruppengrößen sind für Pharmakokinetikstudien 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 Studie durch so genanntes

„Handling“ mit den involvierten Personen bzw. mit den jeweiligen Versuchsapparaten vertraut gemacht, um unerwünschte, stressbedingte, falschpositive bzw. falschnegative Ergebnisse zu vermeiden. Gleichgeschlechtliche Tiere werden zusammen im Käfig gehalten, soweit es die Tierzahl erlaubt. Dadurch verbleiben die Tiere in ihrem Familienverband und zusätzlicher psychischer Stress, z. B. von neuerlichen Revierkämpfen oder der Vereinzelnung, wird vermieden. Gesundheitszustand: Generell gilt des Weiteren, dass zur Durchführung des Tierversuchs nur Tiere verwendet werden, deren Gesundheitszustand einwandfrei ist. Alle Tiere stehen unter ständiger tierärztlicher Kontrolle. Leidet ein Tier an Symptomen wie Verletzungen, Umfangsvermehrung oder Anämie wird der Tierarzt so rasch wie möglich informiert und entscheidet über Behandlung oder Euthanasie.

Schulungen: Es soll festgehalten werden, dass die Versuche von den Personen erst nach Abschluss eines ausführlichen Trainings in den unterschiedlichen Techniken, 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): Grundlagenforschung

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

Chronische Schmerzpatienten leiden oft unter weiteren belastenden Begleiterkrankungen wie Depressionen oder einem stark gestörten Schlafverhalten. Aus der Klinik ist bekannt, dass Menschen mit Schlafschwierigkeiten signifikant häufiger pathologische Schmerzen entwickeln. Die klinische Beziehung zwischen krankhaftem Schlaf und chronischem Schmerz ist bekannt, jedoch sind die Mechanismen, die dieser Interaktion zugrunde liegen, noch unbekannt. Eine mögliche Verbindung könnte die Entzündung von Gehirnarealen sein, die bei beiden Phänomenen eine wichtige Rolle spielen. Das vorgeschlagene Projekt untersucht deshalb im Tiermodell, ob eine nicht-stresshafte Schlafreduktion oder die Anwendung eines Schmerzmodells zu Entzündungsprozessen in einer Gehirnregion führen, welche eine wichtige Rolle für die emotionalen Aspekte der Schmerzwahrnehmung spielen. Anschließend soll in Schnittpräparaten dieser Gehirnareale mittels elektrischer Ableitungen untersucht werden, welchen Einfluss diese Entzündungen auf die Aktivität der Nervenzellen haben, die bei der Verarbeitung von Schmerzreizen beteiligt sind.

zu erwartender Nutzen: Diese Studie untersucht den Zusammenhang von Entzündungen und der Schmerzverarbeitung in Hirnregionen, die wichtig für die emotionalen Aspekte von Schmerzen sind, und könnte so einen wichtigen Beitrag für neue therapeutische Ansätze bei chronischen Schmerzpatienten leisten.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere werden kurzen chirurgischen Eingriffen in tiefer Narkose und begleitender Analgesie unterzogen. Einige Tiere erfahren kurzzeitig einen milden Schlafentzug. Ein weiterer Teil der Mäuse wird etablierten Schmerzmodellen unterzogen, die über viele Jahre ständig verfeinert wurden, um die Belastung der Tiere möglichst gering zu halten.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden 248 Mäuse benötigt.

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

Vermeidung: Das Ziel dieser Studie macht eine Untersuchung im lebenden Tier notwendig. Deshalb ist eine Vermeidung von Tierversuchen nicht möglich.

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

Verfeinerung: Um den Stress der Tiere zu minimieren, werden die Tiere der Testumgebung so kurz wie möglich ausgesetzt. Die Tiere werden ständig beobachtet, um mögliches Leiden rechtzeitig zu

erkennen, zu beenden oder zu reduzieren. Der kurze chirurgische Eingriff wird unter fachgerechter tiefer Narkose und begleitender Analgesie durchgeführt.

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

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

Ziel des Projektes ist die Ausbildung und Schulung von tierexperimentell tätigen Personen. Dabei wird ein fachgerechter und schonender Umgang mit dem Tier erlernt. Es erfolgt eine Ausbildung in der Schmerzerkennung und der Beurteilung des Gesundheitszustandes und Wohlbefindens der Tiere. Zusätzlich wird die fachgerechte Durchführung möglichst schonender tierexperimenteller Methoden unter Aufsicht und Anleitung erlernt.

zu erwartender Nutzen: Die Erlangung der Sachkunde für die Arbeit und den Umgang mit Mäusen und Ratten. Gut ausgebildetes und geschultes Personal ist essentiell, um die Belastung für die in zukünftigen Tierversuchen verwendeten Tiere so gering wie möglich zu halten.

zu erwartender Schaden für die Tiere: An den Tieren werden tierexperimentelle Manipulationen, wie beispielsweise Injektionen, durch ungeübte Personen durchgeführt.

2. Art und Anzahl der Tiere

4440 Mäuse und 516 Ratten über einen Zeitraum von 3 Jahren

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

Vermeidung: Tierexperimentell arbeitende Personen müssen entsprechend ausgebildet sein, bevor sie selbständig am Tier arbeiten können. Daher ist es erforderlich, dass die Methoden und Techniken, wie beispielsweise Injektionen, zunächst unter Anleitung und Aufsicht erlernt werden. Es wird zunächst mit Videos und anschließend mit Dummys gearbeitet, bevor Manipulationen am Tier erfolgen. Um die Qualifikation des Personals sicher stellen zu können, müssen allerdings (unter Aufsicht) auch Manipulationen am Tier stattfinden.

Verminderung: Es wird soweit möglich mit Videos und Dummys gearbeitet. Des weiteren werden für die Ausbildung von Personen, soweit möglich, keine Tiere gezüchtet oder zugekauft, sondern Überschusstiere aus transgenen Zuchten verwendet, die aufgrund ihres Genotyps oder Geschlechts in anderen Projekten nicht verwendet werden können.

Verfeinerung: Die Teilnahme am praktischen Training ist nur für Personen möglich, die zuvor eine theoretische Prüfung über die Themen Recht, Ethik, Biologie, Tierpflege und Tiergesundheit, Schmerzerkennung und Schmerzbehandlung, Projektdesign, Prinzipien der humanen Tötung von Tieren, Anästhesie und tierexperimentelle Methoden erfolgreich abgelegt haben. Im praktischen Training wird in Kleingruppen von maximal 4 Personen pro Trainer gearbeitet. Bei manchen Methoden, wie der intravenösen Injektion, wird lediglich in Einzeltrainings gearbeitet.

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 neonatale Maladaptations-Syndrom (NMS; Neonatal Maladjustment Syndrome, Dummy Foal Syndrome) ist eine der häufigsten Erkrankungen von Fohlen in den ersten 72 Lebensstunden. Pathogenetisch wurde für diese Erkrankung ursprünglich ein geburtsbedingter Sauerstoffmangel und dadurch verursachte Hirnschäden verantwortlich gemacht. In neuerer Zeit kam man zu der Erkenntnis, dass NMS bei Fohlen häufig nicht als Folge einer Hypoxie auftritt, sondern auf eine Unreife der Nebennierenrinde zurückzuführen ist, die durch eine dem ungeborenen Fohlen entsprechende Hormonkonzentration zu Verhaltensstörungen und Bewusstseinstörungen führt. Es wird vermutet, dass durch eine kontrollierte Kompression des Brustkorbes von neugeborenen Fohlen mittels einer Seilschlinge Verhältnisse wie unter der Geburt geschaffen werden können, die eine Reifung der Nebennierenrinde induzieren, so dass Hormone, die das Bewusstsein beeinträchtigen, abgebaut werden können. Dies ist bislang nicht untersucht, und es ist auch unklar, ob eine solche Reaktion bei gesunden wie kranken Fohlen nach der Geburt noch auslösbar ist und inwieweit sie zu schädlichen Nebenwirkungen führen kann.

zu erwartender Nutzen: Es sollen Voraussetzungen für eine kontrollierte Therapie des Neonatalen Maladaptationssyndroms bei Fohlen geschaffen werden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Den Fohlen wird ein Venenverweilkatheter gesetzt, um nachfolgend in zeitlichen Abständen Blutproben zu entnehmen. Um den Brustkorb werden ein Polar-Gurt zur kontinuierlichen Ableitung der Herzfrequenz sowie ein gepolstertes Seil gelegt, um die Kompression des Brustkorbes für eine Dauer von 20 Minuten durchzuführen. Während dieser Zeit liegt das Fohlen. Danach erfolgt das Öffnen des Seils und das Fohlen kann spontan aufstehen.

2. Art und Anzahl der Tiere:

30 Pferde

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

Vermeidung: Die Untersuchung der Reaktion von gesunden wie an NMS erkrankten neugeborenen Fohlen auf eine kontrollierte Kompression des Thorax ist nur an lebenden Tieren möglich.

Verminderung: Die Anzahl der Tiere wurde so gewählt, dass statistisch aussagekräftige Ergebnisse erzielt werden können.

Verfeinerung: Es kommen ausschließlich diagnostische Routineverfahren zur Anwendung, die weit optimiert sind und bei Klinikpatienten regelmäßig durchgeführt werden. Die Fohlen werden mit

ihren Müttern für die Versuchsdauer in Einzelboxen gehalten. Die Setzung eines Venenverweilkatheters ermöglicht schmerz- und stressfreie wiederholte Blutabnahmen.

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

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

Ziel dieses Projekts ist die Erforschung der Funktion von Regulationsgenen, die eine wichtige Rolle bei der Embryonalentwicklung spielen. Mit Hilfe von Tierversuchen soll die Funktion wichtiger Gene während der Entwicklung von Eizellen erforscht werden. Darunter auch eine umfassende Studie, die sich mit dem natürlichen Vorgang des Alterns im Hinblick auf die Eizell-Entwicklung befasst. Insbesondere gilt es die molekularen Mechanismen, die die Qualität und das Alter der Eizellen beeinflussen, aufzuklären. Welche Fehler während der Zellteilungen entstehen ist eine der zentralen Fragestellung. Daher ist für die Untersuchung der humanen Embryonalentwicklung das Tiermodell erforderlich und unerlässlich.

zu erwartender Nutzen: Durch den Eingriff werden neue wissenschaftliche Erkenntnisse für die biomedizinische Grundlagenforschung und Reproduktionsmedizin betreffend neuer Therapieansätze bei Unfruchtbarkeit gewonnen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Im Rahmen des Projekts werden den Tieren Hormone intraperitoneal verabreicht. Die Tiere werden in diesen Versuchen somit einer geringen Belastung ausgesetzt.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden 12.100 Mäuse beantragt.

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

Vermeidung: Es existieren derzeit keine äquivalenten experimentellen Systeme in Zellkultur, um die reproduktiven und embryonalen Entwicklungsprozesse im Rahmen dieses Projekts zu untersuchen. Nach sorgfältiger Literaturrecherche werden daher nur biomedizinisch-relevante Versuche durchgeführt. Es werden Experimente nur dann durchgeführt, wenn die Wechselwirkung der zu untersuchenden Gene im gesamten Organismus studiert werden muss.

Verminderung: Wir verwenden die kleinstmögliche Anzahl an Mäusen, um statistische Unterschiede zwischen Kontroll- und Versuchsbedingungen zu erhalten. Allerdings sind aufgrund der unabhängigen Variablen und der Variabilität der untersuchten Phänotypen größere Probenmengen für statistisch gültige Proben nötig. Eine gute Versuchsplanung sowie eine ordnungsgemäße Datenerhebung und -analyse ermöglicht uns die Anzahl der benötigten Versuchstiere zu minimieren. Weiterhin wird die Streuung der Ergebnisse durch Standardisierung der Haltungsbedingungen so gering wie möglich gehalten und so die Anzahl der Tiere auf das erforderliche Mindestmaß reduziert. Unsere geplanten Versuche entsprechen dem aktuellen Stand der naturwissenschaftlichen Forschung.

Verfeinerung: Alle Projektmitarbeiterinnen und Projektmitarbeiter sind mit den für dieses Projekt erforderlichen Techniken vertraut und für die Durchführung qualifiziert. Die Tiere werden kontinuierlich durch Fachpersonal (Tierpfleger, Tierarzt) 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): Entwicklung und Herstellung sowie Qualitäts-, Wirksamkeits- und Unbedenklichkeitsprüfung von Arzneimitteln, Lebensmitteln, Futtermitteln und anderen Stoffen oder Produkten, wenn dies zur Erreichung der in § 5 Z 2 genannten Ziele erforderlich ist

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

Das Bakterium *Staphylococcus (S.) aureus* kann schwere Infektionen verursachen, die zu Wundinfektionen und lebensbedrohenden Zuständen, wie etwa Knochenentzündung, Entzündung des Herzens und der Lunge sowie Sepsis und Toxic Shock Syndrome (TSS) führen können. Durch die stark zunehmende Antibiotika-Resistenz von *S. aureus* stellen dessen Infektionen ein immer bedrohlicher werdendes Gesundheitsproblem dar. In diesem Projekt soll nun die Unschädlichkeit ausgewählter und in der Zellkultur vorgetesteter Kandidat-Impfstoffe im Kaninchenmodell überprüft werden.

zu erwartender Nutzen: Eine Impfung mit modifizierten Toxinen würde einen immensen Fortschritt für die Volksgesundheit bedeuten.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Der zu erwartende Schaden ist mittel. Alle Kandidaten wurden vorab in Zellkulturen auf ihre fehlende toxische Wirkung hin geprüft, und es wird nur mit entsprechend detoxifizierten Kandidaten weitergearbeitet. Auf Grund der Erfahrung aus den Toxizitäts-Studien von den vorhergegangenen Impfstoffkandidaten können wir sagen, dass die fehlende in vitro Toxizität sehr gut mit der fehlenden in vivo Toxizität korreliert. Pro Applikation und Blutabnahme erfolgt ein Kanüleneinstich gemäß guter tierärztlicher Praxis. Die Tötung der Tiere findet nach dem Ende des Beobachtungszeitraumes in Vollnarkose statt.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden 26 weiße Neuseeländerkaninchen in einem Zeitraum von 2 Jahren verwendet.

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

Vermeidung: Die Kandidaten werden zuerst in vitro vorselektiert, die endgültige Testung muss aber in einem lebenden Organismus stattfinden. Daher kann der Tierversuch nicht vermieden werden.

Verminderung: Es werden pro Impfstoffkandidat geringste Tierzahlen gewählt. Alle Untersuchungen finden unter standardisierten kontrollierten Bedingungen statt

Verfeinerung: Alle Untersuchungen finden unter standardisierten kontrollierten Bedingungen 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

Das Ziel der vorliegenden Studie ist es, basierend auf den Ergebnissen von bereits durchgeführten Tierexperimenten, die Wundheilung im Bereich definierter Wunden genau zu untersuchen. Dazu sollen am Markt erhältliche bzw. bereits in den bisherigen Tierversuchen erprobte Wundauflagen zum Einsatz kommen und miteinander verglichen werden.

zu erwartender Nutzen: Durch die Evaluierung der Wundheilung ist es möglich darzustellen, wie sich unterschiedliche Wundauflagen auf die Wunde bzw. auf die Wundheilung selbst auswirken. Die Ergebnisse können dazu genutzt werden, PatientInnen effektiver zu behandeln.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Nach der Spalthautentnahme ist bei den Tieren mit einem dem menschlichen Empfinden entsprechendem Schmerzausmaß zu rechnen. Die Nachversorgung der Tiere entspricht der des Menschen. Die OP Wunden werden mit den unterschiedlichen Wundauflagen versorgt und mittels Standardverbänden vor weiteren mechanischen Störungen geschützt. Zusätzlich wird ein Umverband über alle Wundfelder angelegt. Die Versuchstiere unterliegen einer regelmäßigen veterinärmedizinischen Kontrolle.

2. Art und Anzahl der Tiere

24 Hausschweine

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

Vermeidung: Die geplanten Versuche müssen in vivo durchgeführt werden, da man untersuchen möchte, wie sich das Gewebe in vivo verhält. Obwohl einige in vitro Hautmodelle, z. B. zur Hautirritationstestung, beschrieben sind, können diese nicht zur Durchführung von Wundheilungsstudien benutzt werden, da diesen Modellen ein Blutgefäßsystem, sowie Immunzellen als wichtige Bestandteile des Wundheilungsprozesses fehlen.

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

Verfeinerung: Die Tiere werden nach der Operation kontinuierlich analgetisch versorgt. Für das Wohl der Tiere wird gesorgt, indem sie neben der Standardtierhaltung ein zusätzliches Angebot, wie Bälle und Gummiringe („environmental enrichment“) zur Verfügung gestellt bekommen. Des Weiteren wird versucht, den Stress der Tiere so weit wie möglich zu reduzieren, indem sie durch entsprechendes Handling vom Tierpflegepersonal an den Menschen gewöhnt werden. So ist sichergestellt, dass die Schweine an Berührungen und sonstiges Handling gewöhnt sind und der

diesbezüglich empfundene Stress während der Experimente reduziert ist. Das Tierärzteam kontrolliert die Tiere vor und während des gesamten Versuchszeitraums regelmäßig auf ihren Gesundheitszustand und etwaige Schmerzen.

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, junge 4L/PS-NA Mäuse mit einer von 2 Testsubstanzen in je 2 Konzentrationen einmalig oder wiederholt intravenös zu behandeln und zu verschiedenen Zeitpunkten Blut und Gewebe für pharmakokinetische Analysen zu gewinnen. Die neuen Substanzen sollen für eine Anwendung als Enzyersatztherapie zur Behandlung der Typ 3 Gaucher Krankheit auf ihre pharmakokinetischen Eigenschaften im Tiermodell untersucht werden. Dadurch wird es möglich sein, die Substanz zügig in klinische Studien zu überführen, so dass die Substanz schnellst möglich Patienten zur Verfügung gestellt werden kann.

Schaden und Nutzenabklärung: 4L/PS-NA Mäuse weisen laut Literatur einen starken motorischen Phänotyp auf, der progressiv verläuft. Die Tiere werden im Schnitt 22 Wochen alt. Da der Phänotyp jedoch sehr robust ist und es nur zu wenigen Unterschieden im zeitlichen Verlauf der Progression kommt, ist der Verlauf der Krankheit bei den Tieren sehr gut vorhersehbar. Die Tiere weisen ab einem Alter von ca.10-12 Wochen erste schwache motorische Defizite auf. Da einige der hier verwendeten Tiere bereits im oder vor einem Alter von 10 Wochen euthanasiert werden, ist die Wahrscheinlichkeit somit sehr gering, dass bereits motorische Defizite auftreten. Tiere, die älter werden als 10 Wochen, werden voraussichtlich einen progressiven motorischen Phänotyp entwickeln. Da die Tiere jedoch spätestens mit einem Alter von 12 Wochen euthanasiert werden, werden sie voraussichtlich nur geringe-mittlere motorische Einschränkungen aufweisen. Die intravenöse Injektion der Studientiere wird einen nur sehr schwachen Schmerz und Stress bei den Tieren verursachen. Eine Zunahme der Nebenwirkungen durch die Substanzgabe im Vergleich zu bereits zugelassenen Enzyersatztherapien ist durch die höhere Stabilität der Substanzen möglich. Die Studie soll Gewebe der transgenen Tiere nach unterschiedlichen Zeitpunkten der Substanzbehandlung für die pharmakokinetische Analysen der neuen Substanzen zur Verfügung stellen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie werden insgesamt 154 4L/PS-NA Mäuse und 38 Kontrollgeschwistertiere beantragt. Tiere beiden Geschlechts sollen verwendet werden.

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

Vermeidung: Um neue Substanzen gegen die Gaucher Krankheit zu testen ist es erforderlich, Tiermodelle für die Austestung neuer Testsubstanzen zu verwenden. Ersatzmethoden wie z. B.

Zellkulturen können zwar Ansätze liefern, für weitere Schritte müssen jedoch Tiermodelle zum Einsatz kommen, um möglichst vergleichbare Resultate zum Menschen zu erzielen.

Verminderung: In dieser Studie sollen pro Gewebeentnahme 6-10 Tiere verwendet werden. Dies ist für diese Studie erforderlich um statistisch signifikante Ergebnisse zu erzielen. Reservetiere sind bei dieser Anzahl von Tieren inkludiert.

Verbesserung: Stressminimierung: An dieser Stelle soll ausdrücklich festgehalten werden, dass der Tierversuch unter Vermeidung aller mit dem Versuchszweck nicht notwendig verbundenen Belastungen durchgeführt wird. Gleichgeschlechtliche Tiere werden zusammen im Käfig gehalten, soweit es die Tierzahl erlaubt. Dadurch verbleiben die Tiere in ihrem Familienverband und zusätzlicher psychischer Stress, z. B. von neuerlichen Revierkämpfen oder der Vereinzelnung, wird vermieden. Gesundheitszustand: Generell gilt des Weiteren, dass zur Durchführung des Tierversuchs nur Tiere verwendet werden, deren Gesundheitszustand einwandfrei ist. Alle Tiere stehen unter ständiger tierärztlicher Kontrolle. Leidet ein Tier an Symptomen wie Verletzungen, Umfangsvermehrung oder Anämie wird der Tierarzt so rasch wie möglich informiert und entscheidet über Behandlung oder Euthanasie. Schulungen: Es soll festgehalten werden, dass die Versuche von den Personen erst nach Abschluss eines ausführlichen Trainings in den unterschiedlichen Techniken, Verhaltenstests, Gesundheitskontrolle 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): Ausbildung an Hochschulen oder Ausbildung zwecks Erwerb, Erhaltung oder Verbesserung von beruflichen Fähigkeiten

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

Gemäß § 19 (2) TVG 2012 müssen alle Personen, die Tierversuche durchführen, Tierversuchs-Projekte gestalten, Tiere pflegen oder töten entsprechend ausgebildet und geschult sein. Um die Sachkunde der an Tierversuchen beteiligten Personen zu gewährleisten, werden Mitarbeiter unserer Einrichtung in Techniken der Versuchstierkunde geschult. Dies umfasst nicht nur das Erlernen neuer Techniken, sondern auch die Optimierung etablierter Verfahren. Durchgeführt werden diese Schulungen von erfahrenen Mitarbeitern, die zu jedem Zeitpunkt das Wohlergehen der Versuchstiere sicherstellen. Übergeordnetes Ziel ist es, auf Basis neuer wissenschaftlicher Erkenntnisse innovative Behandlungsansätze für Krebserkrankungen zu entwickeln, die zu einer Verlängerung des Lebens der Patienten und einer Verbesserung der Lebensqualität führen. Dieser Tierversuch wird gemäß § 3 TVG 2012 mit dem Schweregrad „gering“ eingestuft.

2. Art und Anzahl der Tiere

1.500 Mäuse (*Mus musculus*) für das gesamte Projekt über einen Zeitraum von 5 Jahren.

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

Vermeidung: In der onkologischen Forschung sind Tierversuche unvermeidlich, da die komplexen Zusammenhänge zwischen neuen Therapeutika und einem Tumor sich derzeit nur in einem Gesamtorganismus (*in vivo*) untersuchen lassen. Ausgebildetes und geschultes Personal ist eine Grundvoraussetzung für die Durchführung eines jeden Forschungsvorhabens. Eine Vermeidung der hier beantragten Tierversuche zur Aus- und Weiterbildung ist somit nicht möglich.

Verminderung: Wann immer möglich, werden die zu erlernenden Techniken in einem ersten Schritt an toten Tieren aus anderen Projekten geübt. Erst danach wird die Durchführung der Techniken an lebenden Tieren optimiert.

Verfeinerung: Die Belastung für das Versuchstier soll über den gesamten Versuchsverlauf auf das geringstmögliche Maß reduziert werden und dies 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 Personen, welche die Tierversuche zur Aus- und Weiterbildung betreuen.

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

Klinische Studien mit Wachstumsfaktoren zur symptomatischen Therapie neurologischer Störungen haben bisher leider nicht die erwarteten Erfolge gezeigt. Alternativ stellen aber auch die Rezeptoren für einige dieser Faktoren oder ihre Signaltransduktionswege mögliche Angriffspunkte dar, die pharmakologisch beeinflussbar sein können. In den letzten Jahren sind daher vermehrt Modulatoren neuronaler und glialer Signalketten in den Fokus der neurowissenschaftlichen Forschung gerückt. Wir haben in unseren Arbeiten gezeigt, dass das Ausschalten oder Herunterregulieren des Modulators ‚Sprouty2‘ periphere Nervenregeneration fördert und die Folgen vaskulärer oder exzitatorischer Läsionen im Zentralnervensystem vermindert. In dem vorliegenden Projekt wollen wir daher einen gentherapeutischen Ansatz zur Veränderung der Sprouty2-Proteinlevel im Maus-Modell testen. Es wird in Vorversuchen festgestellt, ob erhöhte oder verminderte Mengen von Sprouty2 im Gehirn von Mäusen zelltypspezifisch hergestellt werden können. Dafür werden lentivirale Partikel direkt in das Gehirn injiziert. Die Ergebnisse können neue therapeutische Ansätze zur Beeinflussung der Signalweiterleitung in Nerven- und Gliazellen bei neurologischen Erkrankungen aufzeigen. Die lokal begrenzte Infektion von Nerven- und Gliazellen erfolgt minimal-invasiv und sehr gezielt mit der sogenannten stereotaktischen Injektion durch ein kleines Loch in der Schädeldecke des Versuchstieres. Dabei wird eine nur sehr geringe Anzahl von Partikeln unter vollständiger Narkose (Anästhesie) und unter Ausschaltung des Schmerzempfindens (Analgesie) appliziert. Eine post-operative Analgesie wird durchgeführt. Weiterhin werden die Tiere täglich post-operativ beobachtet.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es sollen in den hier beantragten Experimenten 26 Mäuse verwendet werden.

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

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

Interaktion mit anderen Wissenschaftlern auf dem Gebiet wurden die Protokolle verfeinert, um die Belastung für die Tiere zu minimieren

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

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

Das Bakterium *Staphylococcus (S.) aureus* ist ein Teil der normalen Bakterienflora des Menschen und besiedelt vor allem die Haut und die oberen Atemwege von 10-30% aller Menschen. Es kann aber auch schwere Infektionen verursachen (z. B. Knochenentzündungen oder Schock). In diesem Projekt soll die Unschädlichkeit und die Wirksamkeit von neuen Impfstoffkandidaten gegen *Staphylococcus aureus* in der Maus untersucht werden.

zu erwartender Nutzen: Durch die stark zunehmende Antibiotika-Resistenz von *S. aureus* stellen dessen Infektionen ein immer bedrohlicher werdendes Gesundheitsproblem dar. Die wirksame Impfung mit modifizierten Toxinen würde einen enormen Fortschritt für die Volksgesundheit bedeuten.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Applikationen erfolgen subcutan ein bis mehrmals. Bei jeder Applikation kommt es zu einer kurzzeitigen Fixierung und einem Nadelstich. Durch die Applikation der Impfstoffkandidaten wird keine Beeinträchtigung der Tiere erwartet. Bei der Applikation der Narkose intraperitoneal kommt es einmalig zu einem Nadelstich. Die Entblutung der Tiere erfolgt in Narkose. Anschließend erfolgt die Tötung durch Genickbruch.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden 780 Mäuse im Alter von 9-10 Wochen verwendet.

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

Vermeidung: Die Wirksamkeit des Impfstoffkandidaten muss nach der in vitro-Testung in einem lebenden Organismus bewiesen werden.

Verminderung: Es werden die geringsten Tierzahlen verwendet, die für die Gewinnung statistisch aussagekräftiger Ergebnisse notwendig sind. Ergebnisse werden publiziert.

Verfeinerung: Es finden alle Untersuchungen unter kontrollierten Bedingungen statt.

Eine rückblickende Bewertung ist gemäß § 30 Abs. 1 Z 3 TVG 2012 nach Abschluss des Projektes (2020) vorgesehen.

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

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

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

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

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

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

Die Amputation eines Armes bedeutet für den Patienten eine deutliche Einschränkung in der Lebensqualität. Mit modernen Prothesen versuchen wir die Armfunktion bestmöglich wiederherzustellen. Doch aufgrund von Problemen in der Signalübertragung zur Steuerung dieser Prothesen sind viele Patienten damit unzufrieden und verwenden diese nicht. Die Signalübertragung erfolgt heutzutage, wie schon seit einigen Jahrzehnten, über Elektroden die außen an der Haut anliegen und die Aktivität der darunterliegenden Muskulatur messen. Viele Schwierigkeiten ergeben sich unter anderem daraus, dass diese Elektroden sich einerseits oft bewegen und andererseits auch nur sehr wenige Signale messen können. In diesem Versuch soll ein implantierbares Vollsystem getestet werden, das viele dieser Unzulänglichkeiten ausbessern kann. Dadurch, dass die Elektroden direkt am Muskel platziert werden, kommt es zu keinen Verschiebungen mehr. Außerdem können somit mehr Signale gemessen werden, was den Patienten in Zukunft eine verbesserte Ansteuerung der Prothese ermöglichen kann. Dieser Versuch wird im Schaf durchgeführt. Die Tiere werden für 12 Wochen mit diesem implantierten System beobachtet und es werden regelmäßig Messungen der Muskelaktivität gemacht.

zu erwartender Nutzen: Durch die Durchführung dieses Projektes wird sich zeigen, ob dieses System langfristig verwendet werden kann um Signale von Muskeln abzuleiten. Auf diese Erfahrungen aufbauend kann dann entschieden werden ob die Durchführung weiterer Projekte und im Verlauf auch eine klinische Anwendung am Menschen möglich ist. Langfristig kann Menschen mit Verlust einer Gliedmaße durch diese Technologie eine verbesserte Prothesensteuerung ermöglicht werden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Es werden in einer Operation Muskelelektroden und eine Zentralkomponente implantiert. Der Eingriff ist für das Tier mittelgradig belastend, wird jedoch durch eine entsprechende Anästhesie und Schmerzbekämpfung weitestgehend reduziert.

2. Art und Anzahl der Tiere

7 erwachsene Bergschafe

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

Vermeidung: Die Testung des Implantats im Tier ist notwendig um später eine sichere Anwendung im Menschen zu gewährleisten. Nur in einem lebenden Organismus ist es möglich alle Einflüsse auf die Elektrodenfunktion darzustellen.

Verminderung: Im Sinne der Verminderung wurde ein Versuch mit geringer Tieranzahl geplant. Die Tieranzahl wurde anhand Erfahrungen mit ähnlichen Projekten so gewählt, dass mit geringstmöglicher Anzahl noch eine sinnvolle Evaluation der Elektrodenfunktion erfolgen kann. In demselben Bestreben, wurde auch auf eine Kontrollgruppe verzichtet.

Verfeinerung: Der Versuch wurde insofern verfeinert, dass eine standardisierte Versuchsdurchführung angewandt wird. Der verwendete implantierte Stimulator erfordert keine Hautdurchführungen, was zu einer Verminderung von Komplikationen führt. Während der Signalmessungen spüren die Tiere nichts, das heißt sie erleiden dadurch auch keinen Stress.

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

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

Versuchstiere mit gezielten genetischen Veränderungen stellen wertvolle Instrumente für die biomedizinische Forschung dar. Allerdings können manche genetische Veränderungen bereits ohne experimentelle Eingriffe Gesundheit und Wohlbefinden der Versuchstiere beeinträchtigen. Solange für einen konkreten Stamm diese Möglichkeit nicht durch systematische Untersuchungen ausgeschlossen werden kann, ist ihre Zucht und Haltung genehmigungspflichtig. Im gegenständlichen Projekt wird daher die Genehmigung für die Erhaltungszucht von 19 genetisch veränderten Mausstämmen beantragt, die auf verschiedenen Gebieten der immunologischen Forschung Verwendung finden. Ziele des vorliegenden Projektes sind (i) die Erhaltung der Mausstämme über die Projektdauer von 5 Jahren sowie (ii) die Bereitstellung solcher Tiere für biomedizinische Forschungsprojekte.

zu erwartender Nutzen: Der zu erwartende Nutzen besteht in der Bereitstellung von Versuchstieren mit ausgewählten genetischen Veränderung für Projekte auf dem Gebiet der biomedizinischen Forschung, sowie die Erhaltung dieser Linien an der lokalen Einrichtung.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die beantragten Linien tragen genetische Veränderungen, die zwar per se vermutlich keine Belastung für die Tiere bewirken, jedoch Defekte im Immunsystem verursachen. Diese Tiere sind daher einem erhöhten Infektionsrisiko ausgesetzt, das aber durch spezifiziert pathogenfreie (SPF) Haltungsbedingungen weitgehend minimiert wird.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für die Erhaltung von 19 Mausstämmen, inklusive der Bereitstellung von Tieren, die in anderen Projekten weiter verwendet werden, über einen Zeitraum von 5 Jahren wird eine Anzahl von insgesamt 15625 Mäusen beantragt.

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

Vermeidung: Die Nutzer der Einrichtung werden durch das lokale Tierschutzgremium dahingehend beraten, keine Stämme zu erhalten, die in absehbarer Zeit nicht benötigt werden. Solche Stämme sollen im Bedarfsfall neu angeschafft oder kryokonserviert werden.

Verminderung: Nicht vermeidbare Erhaltungszuchten sollen auf das nötige Minimum an Individuen beiderlei Geschlechts beschränkt werden, und Nachfolgenerationen sollen in möglichst großen Zeitabständen gezüchtet werden, ohne jedoch den Verlust eines Stammes durch Überalterung zu riskieren. Tiere, die aus der Erhaltungszucht entstehen und zur weiteren Zucht nicht benötigt werden sollen, soweit möglich, in anderen Projekten weiter verwendet werden.

Verfeinerung: Die Genotypisierung soll an den Gewebebiopsien durchgeführt werden, die im Zuge der Kennzeichnung durch Ohrlochung ohnehin anfallen.

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

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

Ziel dieser Studie ist es herauszufinden, mit welchen Signalen Eier und Jungtiere das Brutpflegeverhalten in ihren Eltern auslösen und den Eikannibalismus unterbinden. Um die Wechselwirkung zwischen Hormonen und Brutfürsorge zu untersuchen und die Resultate generalisieren zu können, sollen zwei nahe verwandte Fischarten erforscht werden. Die beiden Arten teilen sich denselben Lebensraum und sind in ihrer Biologie sehr ähnlich. Die einzigen markanten Unterschiede sind ihre soziale Organisation und die Arbeitsteilung bei der Brutpflege. Im Rahmen dieses Projekts soll das Brutpflegeverhalten beider Fischarten unter verschiedenen Versuchsbedingungen (wie z. B. Versperren des Zugangs zur Bruthöhle oder Entfernen eines Zuchtpartners aus dem Becken für einen definierten Zeitraum) untersucht werden.

zu erwartender Nutzen: Die Untersuchung der Änderung des Brutverhaltens soll es ermöglichen, den Einfluss verschiedener Signalwege auf die Brutpflege zu ermitteln. Eine verhaltensbiologische Vorstudie hat ergeben, dass Eikannibalismus ab dem Zeitpunkt der Eiablage nicht mehr auftritt. Mit diesen Experimenten soll ergründet werden, ob ein bestimmter Signalweg die Brutpflege auslöst oder ob mehrere körpereigene und in der Umgebung vorhandene Signale zusammenwirken, um das charakteristische Brutpflegeverhalten auszulösen. Der Versuch trägt dazu bei, die endokrinologischen Prozesse von sozialen Verhaltensweisen, insbesondere der Brutpflege, bei Wirbeltieren zu entschlüsseln.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere erfahren möglicherweise Stress durch manche Manipulationen (Wiegen, Messen), Umsetzen in andere Becken sowie durch testrelevante Veränderungen der Umgebung oder der Haltung. Für einen Test werden juvenile Tiere kurzzeitig in beengten Verhältnissen gehalten (Röhre von 15 cm Länge x 6 cm Durchmesser, dieser entspricht der doppelten Körpergröße).

2. Art und Anzahl der Tiere

920 Fische (zwei verschiedene Arten: 460 Art A, 460 Art B)

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

Vermeidung: Das Projekt basiert auf Verhaltensbeobachtungen, daher ist der Einsatz lebender Tiere erforderlich und kann nicht durch Alternativmethode ersetzt werden.

Verminderung: Durch die Standardisierung aller Verhaltens- und Versuchsbedingungen kann eine Reduktion der Streuung bei den Versuchsergebnissen erreicht werden.

Verfeinerung: Wiegen und Messen der Fische erfolgen fachgerecht durch geübtes Personal, dadurch wird die stressbedingte Belastung der Tiere so kurz wie möglich gehalten. Die Studienergebnisse

sind nur relevant, wenn sich die Tiere natürlich verhalten. Während der Verhaltensbeobachtung selbst werden daher keine Manipulationen an den Versuchstieren durchgeführt.

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

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

Entzündungsreaktion und Infektionen können Faktoren der Hämostase beeinflussen und deren Gleichgewicht stören. Dadurch können sowohl das Thrombose- als auch das Blutungsrisiko erhöht werden. Das Ziel dieses Projekts ist die Erforschung des Zusammenspiels von Thrombozyten, Leukozyten und Endothelzellen, sowie ihre Beeinflussung durch Pathogene während Immunreaktionen und deren Einfluss auf die Entstehung von Hämorrhagie und Thrombose.

zu erwartender Nutzen: Wir erwarten detailliertere Erkenntnisse über die Interaktion von inflammatorischen und hämostatischen Mechanismen. Das aus diesem Projekt gewonnene Wissen wird dazu beitragen neue Therapieansätze zu entwickeln, die im Speziellen das Thrombose- bzw. das Blutungsrisiko während Entzündungserkrankungen und Infektionen senken sollen. Des Weiteren sollen die Experimente helfen, geeignete Biomarker für Thromboserisiko zu identifizieren.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Unter Narkose wird den Tieren Blut abgenommen, Substanzen injiziert und Krankheitsmodelle angewendet, welche die humanen Krankheitsbilder imitieren. Um möglichen Schmerzen vorzubeugen, werden die Tiere mit Schmerzmitteln behandelt. Weiters werden die Tiere engmaschig kontrolliert, um bei etwaigen Verschlechterungen des Gesundheitszustandes raschest möglich eingreifen zu können.

2. Art und Anzahl der Tiere

3267 Mäuse über 5 Jahre

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

Vermeidung: Diesem Tierversuchsantrag gehen zahlreiche in vitro Experimente voran, die auf die Relevanz der untersuchten Proteine und Zellen für die vorgeschlagenen in vivo Experimente hinweisen. Da es ein sehr komplexes Zusammenspiel zwischen den verschiedenen Zelltypen und Faktoren in vivo gibt, die in vitro nicht nachgestellt werden können, können diese Fragestellungen nur mit in vivo Versuchen untersucht werden. Die Ergebnisse werden in internationalen Fachzeitschriften publiziert und auf Kongressen präsentiert, um eine Wiederholung der Versuche durch andere Arbeitsgruppen zu vermeiden.

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

Verfeinerung: Die Tiere werden entsprechend den FELASA Richtlinien in einem „enriched environment“ gehalten. Um mögliche Schmerzen vorzubeugen werden die Tiere mit Schmerzmittel behandelt.

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

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

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

Beinahe alle biologischen Prozesse in Säugetieren werden durch die Expression von Genen gesteuert, und viele Erkrankungen im Menschen wie z. B. Krebs lassen sich durch eine „falsche“ Genregulation erklären. Vereinfacht dargestellt werden die Gene durch bestimmte Proteine, die sogenannten Transkriptionsfaktoren, kontrolliert. Allerdings spielen auch weitere Gene, die nicht für Proteine kodieren, eine Rolle in diesen Prozessen. Das Projektziel dieses Antrags ist es, eine bestimmte Gruppe dieser nicht-Protein-kodierenden Gene, die u. a. auch an der Entstehung diverser Erkrankungen im Menschen wie z. B. Krebs beteiligt sind, besser zu verstehen, wobei wir uns in erster Linie auf das Immunsystem konzentrieren werden. Dazu möchten wir Zellkulturexperimente mit tierexperimentellen Arbeiten kombinieren. Im Detail planen wir, die Expression bzw. die Funktion der entsprechenden Gene mittels einer speziellen Technik in definierten Zellen des Immunsystems in der Maus auszuschalten und diese Zellen bzw. die gesamten Tiere dann zu charakterisieren.

zu erwartender Nutzen: Wir hoffen, dass das Projekt dazu beiträgt, die Rolle der zu untersuchenden Gene im Immunsystem besser zu verstehen. Auf lange Sicht wird dies u.U. helfen, diese Gene bzw. deren Produkte auch im Rahmen von Therapien zu nutzen und somit eine gezieltere Bekämpfung von Krankheiten zu ermöglichen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Durch das Ausschalten der zu untersuchenden Gene in definierten Zellen des Immunsystems werden nur geringe Auswirkungen auf die Tiere erwartet, d. h. es werden über den Verlust der Immunfunktion hinaus keine Folgen erwartet. Da die Tiere unter keimarmen Bedingungen gehalten werden, werden sich mögliche Immundefekte ferner nicht auf die Lebensqualität auswirken. Bis auf regelmäßige Blutentnahmen zur Kontrolle des Gesundheitszustands der Mäuse werden keine Eingriffe am lebenden Tier vorgenommen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Von den verschiedenen Mausstämmen werden dafür in den kommenden 5 Jahren 1070 Tiere gezüchtet und für Untersuchungen zum Einsatz kommen.

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

Vermeidung: Die Verwendung alternativer Methoden ist gegenwärtig nur beschränkt möglich, da sich das Immunsystem aus verschiedenen, ständig miteinander interagierenden Zellpopulationen zusammensetzt, was in einer Zellkultur nur begrenzt abgebildet werden kann. Für den Großteil der molekularen Untersuchungen und wann immer möglich werden jedoch Zelllinien dem Tiermodell vorgezogen, wobei sich die Zelllinien entweder aus bereits etablierten Linien ableiten oder aus den erwähnten Mauslinien generiert werden.

Verminderung: In der Regel werden pro Genotyp maximal 2 Zuchtkäfige verwendet und die Zahl der erwachsenen Tiere in einer etablierten Kolonie beträgt, je nach Bedarf, in der Regel zwischen 5-20 Tieren. Bei den Verpaarungsstrategien wird darauf geachtet, dass die Zahl von nicht zu analysierenden Genotypen minimiert wird. Durch möglichst große Standardisierung aller Haltungs- und Versuchsbedingungen wird ferner versucht, eine möglichst geringe Streuung der Versuchsergebnisse zu erzielen. Unter Berücksichtigung der statistischen Auswerteverfahren soll so die Zahl der benötigten Tiere auf das notwendige Minimum reduziert werden.

Verfeinerung: Um der sozialen Natur der Mäuse Rechnung zu tragen, werden die Tiere in Gruppen zu je 3-5 Tieren gehalten. In jedem Käfig werden Einstreu, Nistmaterial sowie kleine Häuser als Rückzugsmöglichkeit angeboten. Männchen werden nach Bedarf auch einzeln gehalten, um Stress und Verletzungen durch Revierkämpfe zu vermeiden.

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

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

Kleine Gasmoleküle (NO, CO, H<sub>2</sub>S) entstehen in Menschen als Ergebnis von endogenen physiologischen Reaktionen. Die physiologische Bedeutung von NO ist bekannt, allerdings die Rolle von CO oder H<sub>2</sub>S ist kontrovers. Die Ex-vivo Lungenperfusion (EVLP) kommt an immer mehr Transplantzentren weltweit zum Einsatz. Sie ermöglicht die ausführliche Evaluierung einer Spenderlunge mit fraglicher qualitativer Eignung zur Implantation. Darüber hinaus konnte bei grenzwertigen Organen auch eine Verbesserung der Funktion gezeigt werden. Vor diesem Hintergrund wurden in jüngerer Zeit eine Weiterentwicklung der Komponenten und Konzeption der EVLP vorangetrieben, um ihr Potential für eine Nutzbarmachung von primär inakzeptablen Organen zu erhöhen. Diese Studie hat zum Ziel, den Effekt von CO, H<sub>2</sub>S und einer Kombination der Gase auf die regenerative Kapazität der EVLP zu untersuchen. Vorgeschädigte Lungen von Spendertieren werden für 4 Stunden mit EVLP behandelt und dann in Empfängertiere transplantiert. Die Versuche werden in Vollnarkose mit sofortiger Einschläferung der Tiere durchgeführt. In der Behandlungsgruppe CO und H<sub>2</sub>S werden während der EVLP der Organe verabreicht. Die Kontrollgruppe wird mit Standard EVLP behandelt. Die Funktionen der transplantierten Lungen werden für 24 Stunde nach der Implantation evaluiert und dann werden die Empfängertiere schmerzfrei getötet.

zu erwartender Nutzen: Diese Studie soll das Verständnis und das therapeutisches Potential der Gasmoleküle während EVLP untersuchen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Alle chirurgische Eingriffe werden unter entsprechender Anästhesie, Antibiotikatherapie und Schmerztherapie durchgeführt.

2. Art und Anzahl der Tiere

80 Edelschweine mit einem Körpergewicht von 35-45 kg.

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

Vermeidung: Die In-vitro Studien sind nicht angemessen, um die komplexen Interaktionen von verschiedenen Zellen und Geweben in der Lungen zu untersuchen. Wie bereits erwähnt, ist es notwendig die Lunge innerhalb ihres Milieus zu analysieren, um die konstanten Interaktionen zwischen dem intraalveolären Kompartiment, den kleinen Atemwegen und dem alveolären Epithelium, dem Parenchym und dem Gefäßgewebe zu erfassen.

Verminderung: Die Fallzahl wurde angesichts der deskriptiven Art der ersten Phase der Studie, der primären Endpunkten, der Erfolgsrate der relevanten Fachliteratur und der geplanten Lernkurve des chirurgischen Eingriffs berechnet.

Verfeinerung: Alle angeführten Eingriffe werden von erfahrenen Chirurgen durchgeführt um ein bestmöglich schonendes Vorgehen zu gewährleisten.

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

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

So wie für andere genetisch bedingte Erkrankungen ist die Charakterisierung der krankheitsverursachenden Gene von entscheidender Bedeutung für die Entwicklung von effizienten Therapien gegen Krebs. In diesem Projektantrag wollen wir Mäusen Zellen verabreichen, welche anschließend in den Mäusen zur Entwicklung von Tumoren, die den humanen sehr ähnlich sind, führen. Durch die Möglichkeit, Gene in den Zelllinien vor der Verabreichung zu manipulieren (Überexpression oder Knock-down bzw. Knock-out) können verschiedene Signalwege in der Tumorentwicklung genau untersucht werden. Es lassen sich unter Anwendung dieser Tiermodelle wichtige Kenntnisse für die Krebsforschung finden. Insbesondere wollen wir unser Augenmerk auf hämatopoetische Tumore (Leukämien, Lymphome) legen.

zu erwartender Nutzen: Ziel dieses Projektes ist es, mit Hilfe transgener Mäuse neue und vertiefende Einblicke in die Entstehung unterschiedlicher Arten von Krebs zu gewinnen und neue Therapieansätze zu erforschen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: In vitro-Studien können die Komplexität des Immunsystems oder der physiologischen Prozesse, die während der Entstehung eines Tumors ablaufen, nicht ausreichend wiedergeben und müssen daher durch in vivo-Experimente in Säugetieren ergänzt werden. Die Mäuse werden nach der Transplantation Tumore entwickeln, und die Versuche sind mit einem mittleren Schweregrad zu bewerten. Die Tiere werden genau kontrolliert und die Mäuse gegebenenfalls gemäß der Abbruchkriterien schmerzfrei getötet.

2. Art und Anzahl der Tiere

Mäuse (*mus musculus*); 1904

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

Vermeidung: In vitro Modelle sowie öffentlich zugängliche Datenbanken lieferten uns wichtige Vorkenntnisse, um unsere Versuche möglichst zielgerichtet planen zu können, und unser Versuchsdesign zielt darauf ab, die Gesamtzahl der Versuchsmäuse so gering wie möglich zu halten.

Verminderung: Wir werden nur gut geschultes Personal einsetzen, um die Belastung der Tiere so gering wie möglich zu halten, aber auch um höchstmögliche Standardisierung der Versuche zu erzielen, um damit die Streuung der Ergebnisse und damit der Mauszahlen zu verringern. Sind die Ergebnisse zwischen den Mausgruppen eindeutig, werden sich die Experimente auf ein statistisches Minimum beschränken, und ein sequenzieller Versuchsaufbau erlaubt die Entscheidung, ob ein darauf folgender Teilversuch überhaupt noch sinnvoll ist und durchgeführt wird oder nicht. Weiters

werden die Versuche aufeinander abgestimmt, dass die Anzahl an Kontrollgruppen reduziert werden kann.

Verfeinerung: Für das Wohl der Tiere wird Sorge getragen. Die Haltung in kleinen Gruppen und environmental enrichment (Nistmaterial, Rückzugsmöglichkeiten) tragen zum Wohlbefinden der Tiere bei, das auch für solche Experimente essentiell ist, um unkontrollierte Stressfaktoren zu reduzieren. Die Versuchsmäuse werden artgerecht gehalten, der Krankheitsverlauf genau überwacht und erfahrene Tierpfleger sorgen für das Wohl der Tiere. Natürlich werden Versuche gegebenenfalls vorzeitig beendet, falls die definierten Abbruchskriterien eintreffen.

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

1. Angaben über Projektziele, einschließlich Schaden und Nutzen

Mit dem Begriff „Vorhofflimmern“ beschreibt man eine unregelmäßige, schnelle Erregungsbildung in den Vorhöfen, welche die langsamere physiologische Erregungsbildung im Sinusknoten überdeckt, funktionell die Vorhofkontraktion aufhebt und zu einer Dilatation und einem bindegewebigen Umbau der Vorhöfe führt. In den erweiterten Vorhöfen kommt es lokal zu einer Stase des Blutflusses mit der Gefahr der Thrombenbildung und embolischer Ereignisse, in der gefährlichsten Ausprägung zu einem Schlaganfall. Vorhofflimmern ist mit einem erheblichen Leidensdruck, einer erhöhten Morbidität (5fach erhöhtes Risiko eines Schlaganfalls) und gesellschaftlichen Kosten verbunden. Der wichtigste Risikofaktor für das Auftreten von Vorhofflimmern ist der Bluthochdruck.

zu erwartender Nutzen: Ziel des beantragten Projektes ist es, neue Behandlungsansätze zu entwickeln, indem eine Substanz verwendet wird, von der angenommen wird, dass sie strukturelle Änderungen rückgängig macht, die durch Bluthochdruck verursacht werden. Diese Versuchsreihe hat zum Ziel, die Mechanismen zu untersuchen, die der endemisch auftretenden Erkrankung Vorhofflimmern zugrunde liegen, um personalisierte Behandlungskonzepte für betroffene Patienten zu finden und somit die Morbidität und Mortalität durch die Erkrankung zu reduzieren.

zu erwartender Schaden für die Tiere: In unserem Tiermodell beim Schwein werden sowohl Vorhofflimmern als auch arterielle Hypertonie schmerzfrei induziert. In einer Subgruppe wird die Substanz Sacubitril verabreicht, die bereits bei Patientinnen mit Herzschwäche eingesetzt wird. Sämtliche Eingriffe bei den Versuchstieren erfolgen in adäquater Sedierung oder Narkose. Alle Verfahren sind technisch in der Arbeitsgruppe etabliert und werden ebenso bei Patienten eingesetzt (elektrophysiologische Untersuchung der Vorhöfe). In den bisherigen Versuchsreihen ergab sich niemals ein Anhalt für Schmerzen, Leiden oder Angst der Tiere. Angesichts der Hinfälligkeit, Morbidität und Sterblichkeit von Patienten mit Vorhofflimmern halten wir die mit dem Projekt verbundene Belastung der Tiere für vertretbar.

2. Art und Anzahl der Tiere

50 weibliche Hausschweine

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

Vermeidung: Eine Vermeidung des beantragten Tierversuches ist nicht möglich, da Herzrhythmusstörungen wie das Vorhofflimmern eine systemische Pathophysiologie umfassen und nicht z. B. in Zellkulturen nachgestellt werden können. Da Vorhoffunktion und Erregungsbildung und -leitung in den Vorhöfen gemessen werden, ist ein Großtiermodell erforderlich. Für die Spezies Schwein spricht die dem Menschen sehr ähnliche Anatomie des Herzkreislaufsystems und Reaktion

auf Blutzuckerauslenkungen. Durch die aufwendigen Messungen wird angestrebt, den größtmöglichen Wissenszuwachs aus einer geringstmöglichen Anzahl an Versuchstieren zu gewinnen.

Verminderung: Sollten sich statistisch eindeutige Ergebnisse bereits mit weniger als den geplanten Tierzahlen ergeben, wird die Anzahl der für das Versuchsprotokoll eingesetzten Tiere entsprechend reduziert werden. Dies liegt über den Tierschutz hinaus angesichts der aufwendigen Messungen im genuinen Interesse des Antragstellers.

Verfeinerung: Die Tiere werden zunächst für eine Woche unter tierärztlicher Aufsicht an die neue Umgebung gewöhnt, damit ein durch den Transport bedingter Stresszustand abklingen kann. Es findet über den Versuchszeitraum ein werktäglicher Umgang mit den Tieren durch die Experimentatoren und Tierpfleger statt, so dass sich die Tiere an diese Personen gewöhnen und nicht invasive Messungen ohne Stress und idealerweise ohne oder mit nur geringer Sedierung durchgeführt werden können. Die Schweine werden in Gruppen gehalten, haben Rüsselkontakt, stehen auf Mikrostroh und haben Nagehölzer als Enrichment zur Verfügung.

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

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

Die Ex-vivo Lungenperfusion (EVLP) kommt an immer mehr Transplantzentren weltweit zum Einsatz. Sie ermöglicht die ausführliche Evaluierung einer Spenderlunge mit fraglicher qualitativer Eignung zur Implantation. Darüber hinaus konnte bei grenzwertigen Organen auch eine Verbesserung der Funktion gezeigt werden. Vor diesem Hintergrund wurden in jüngerer Zeit eine Weiterentwicklung der Komponenten und Konzeption der EVLP vorangetrieben, um ihr Potential für eine Nutzbarmachung von primär inakzeptablen Organen zu erhöhen. Einer der Schwachpunkte der EVLP stellt die Unmöglichkeit dar, die EVLP während langzeitige Perfusionen von vorgeschädigten Organen stabil zu behalten. Die vorliegende Studie hat zum Ziel, den Effekt einer Hämodiafiltration (HDF) und der Absorption von inflammatorischen Mediatoren auf die regenerative Kapazität der EVLP zu untersuchen. Vorgeschädigte Lungen von Spendertieren werden für 24 Stunden mit EVLP behandelt und dann in Empfängertiere transplantiert. Die Lungen in der Behandlungsgruppen werden zusätzlich mit HDF und/oder Absorption behandelt. Die Funktionen der implantierten Lungen werden für 24 Stunde nach der Transplantation evaluiert und dann werden die Empfängertiere schmerzfrei getötet. Die Versuche werden in Vollnarkose mit sofortiger Einschläferung der Tiere durchgeführt.

zu erwartender Nutzen: Diese Studie soll das therapeutisches Potential der Hämodialyse und der Absorption der Zytokinen während EVLP untersuchen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Alle chirurgische Eingriffe werden unter entsprechender Anästhesie, Antibiotikatherapie und Schmerztherapie durchgeführt.

2. Art und Anzahl der Tiere

80 Edelschweine mit einem Körpergewicht von 35-45 kg.

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

Vermeidung: Die in-vitro Studien sind nicht angemessen, um die komplexen Interaktionen von verschiedenen Zellen und Geweben in der Lungen zu untersuchen. Wie bereits erwähnt, ist es notwendig die Lunge innerhalb ihres Milieus zu analysieren, um die konstanten Interaktionen zwischen dem intraalveolären Kompartiment, den kleinen Atemwegen und dem alveolären Epithelium, dem Parenchym und dem Gefäßgewebe zu erfassen.

Verminderung: Die Fallzahl wurde angesichts der deskriptiven Art der ersten Phase der Studie, der primären Endpunkten, der Erfolgsrate der relevanten Fachliteratur und der geplanten Lernkurve des chirurgischen Eingriffs berechnet.

Verfeinerung: Alle angeführten Eingriffe werden von erfahrenen Chirurgen durchgeführt um ein bestmöglich schonendes Vorgehen zu gewährleisten.

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

In der vorliegenden Studie soll eine neue Medikamentenklasse zur Behandlung eines akuten Herzinfarktes getestet werden. Insgesamt sollen 3 Medikamente mit ähnlicher Wirkungsweise zum Einsatz kommen. In einzelnen Arbeitspaketen soll die Wirksamkeit der einzelnen Substanzen zur Verringerung des Herzmuskelschadens getestet werden. Ein Herzinfarktmodell an der Ratte eignet sich hier aufgrund der Parallelen zum akuten Herzinfarkt in PatientInnen, wichtige Erkenntnisse zu gewinnen.

Zu erwartender Nutzen: Der primäre Nutzen der vorliegenden Studie ist es, eine Aussage zur Wirksamkeit der getesteten Substanzen zu erhalten, die Größe des Herzmuskelschadens nach einem Infarkt zu verringern. Außerdem werden wir in dieser Studie viel über die Ursachen des Herzinfarktes lernen und erkennen können, ob der Angriffspunkt unserer Therapie tatsächlich die wichtige Rolle spielt, die wir vermuten. Darüber hinaus werden diese Ergebnisse höchstinteressant für viele andere Bereiche der Medizin sein, da das adressierte Regelungssystem nicht nur im akuten Herzinfarkt sondern in vielerlei Erkrankungen eine wichtige Rolle spielen könnte. Somit könnten für die hier getestete Therapie möglicherweise auch Hinweise für deren Nutzen in anderen Einsatzgebieten gefunden werden.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Aufgrund des operativen Modells sowie der Blutabnahmen kann es zu Schmerzen kommen, welche jedoch durch schmerzstillende Medikamente behandelt werden. In einer Gruppe mit 6 Wochen Verlaufskontrolle kann eine Atemnot bei Belastung bestehen. Unangenehme Nebenwirkungen der getesteten Substanzen sind auf Basis der bisherigen Erkenntnisse nicht zu erwarten.

2. Art und Anzahl der Tiere

Insgesamt sollen 304 Ratten eingesetzt werden.

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

Vermeidung: Mit den zu testenden Substanzen wurden ausführliche Laborexperimente durchgeführt, welche einen starken Effekt zeigten. Nun sollen diese Substanzen in einem reproduzierbaren und kontrollierten Herzinfarktmodell getestet werden. Dieses Modell ist in der durchführenden Einrichtung sehr gut etabliert.

Verminderung: Es ist ein zentrales Ziel, die Anzahl der zu verwendeten Tier auf ein Minimum zu reduzieren. Dies wird sichergestellt durch langjährige Erfahrung mit dem Operationsmodell sowie

eine standardisierte Versorgung der Tiere. Außerdem wurde die Fallzahlberechnung mittels statistischer Verfahren durchgeführt, um die Minimalanzahl der notwendigen Tiere zu berechnen.

Verfeinerung: Die präsentierten Arbeitspakete 1-5 bauen auf einander auf. Wenn eine Behandlung keinen relevanten Unterschied zeigt, werden die darauffolgenden Experimente mit dieser Kondition nicht durchgeführt werden. Durch Standardisierung und Optimierung der Tierhaltung sowie durch häufig durchgeführte Kontrollen und die Verwendung lang erprobter standardisierter Anästhesieschemata wird angestrebt, die Belastung der Versuchstiere auf ein Minimum zu reduzieren.

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

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

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

In diesem Projekt soll die Interaktion zwischen Umwelteinflüssen (wie z. B. westliche Ernährungsgewohnheiten), dem Immunsystem sowie genetischen Risikofaktoren in der Entstehung von Entzündungsprozessen in metabolisch aktiven Organen wie dem Fettgewebe und der Leber in Mäusen untersucht werden. Entzündungsprozesse in diesen Organen, die im Rahmen von ungesunden Ernährungsgewohnheiten (zu viel Fett und kurzkettige Kohlenhydrate) entstehen können, führen zu Stoffwechselstörungen (z. B. DM Typ 2), welche immer mehr Menschen betreffen. Um Pathomechanismen, die hinter diesen Entzündungsprozessen stehen, besser zu verstehen, verwenden wir Mäuse, die ein antioxidativ-wirksames Enzym in Fettgewebszellen bzw. in Leberzellen nicht bilden können. Die Funktion dieses Enzyms im Hinblick auf die Entstehung von metabolischen Störungen ist momentan noch kaum untersucht, weshalb wir uns einen besseren Einblick in die Entstehung und Regulierung von metabolischer Entzündung erhoffen.

zu erwartender Nutzen: Mithilfe der geplanten Versuche erhoffen wir uns das Verständnis über die Entstehung sowie die Regulierung metabolischer Inflammation im Rahmen von Stoffwechselerkrankungen 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 narkotisiert.

2. Art und Anzahl der Tiere

800 Mäuse im Zeitraum von 4 Jahren

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

Vermeidung: Es wurden bereits eine Vielzahl von Zellkulturversuchen durchgeführt, aufgrund der Komplexität der Erkrankung und der Interaktion verschiedener Organsysteme (Immunsystem, Umwelteinflüsse, genetische Veranlagung) ist es zum derzeitigen Zeitpunkt nicht möglich dieses Tiermodell völlig durch ein Versuchssystem mit Zellkultur 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 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 Scoring-Systems objektiv bewertet. Die Versuche werden zum frühest möglichen Zeitpunkt beendet.

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

Obwohl seit Jahrzehnten bekannt ist dass das Immunsystem im Kampf gegen Krebs eine Schlüsselrolle einnimmt, konnte die Immuntherapie erst vor kurzem Erfolge feiern. Leider sind komplette und dauerhafte Erfolge nach einer Immuntherapie nur bei einem Teil der Krebspatienten erkennbar. Ein Schlüsselfaktor welcher den Erfolg einer Krebstherapie limitiert ist die Infiltration von Tumoren mit ganz bestimmten Immunzellen, sogenannten Fresszellen, welche das Wachstum von Blutgefäßen im Tumor, die Resistenzentwicklung gegenüber Therapien und die Metastasenbildung fördern. Mit Hilfe von neuartigen Mäusen und der Transplantation von therapieresistenten Patiententumoren sollen die zellulären und molekularen Mechanismen des Tumorwachstums und der Entwicklung von therapieresistenten Tumoren untersucht werden. Darüber hinaus sollen neuartige Kombinations-Immuntherapien getestet werden, welche in der Lage sind komplette und dauerhafte Therapieerfolge zu erzielen.

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

zu erwartender Schaden für die Tiere: Mittelgradige bis schwergradige Belastung durch Tumorwachstum, Metastasenbildung und entzündliche Immunreaktion während der Immuntherapie.

2. Art und Anzahl der Tiere

3.780 Mäuse unterschiedlichen Genotyps.

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

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

Verminderung: Zur Verminderung der Tierzahl wird bei sämtlichen Versuchen auf streng standardisierte Versuchsbedingungen Wert gelegt. Die Anzahl der Tiere beruht auf statistischen Berechnungen und langjähriger, internationaler Erfahrung in der Forschung.

Verfeinerung: Die Tumorstudien werden derart verfeinert und durchgeführt, dass Leiden durch folgende Maßnahmen vermindert wird: 1. Werden sämtliche Eingriffe unter Narkose durchgeführt; 2. Werden die Tumorexperimente derart geplant, dass Krankheitssymptome so weit als möglich

vermieden werden; 3. Wird zur Verminderung der Tierzahl bei sämtlichen Versuchen auf streng standardisierte Versuchsbedingungen Wert gelegt.

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

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

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

Bei Gehirnerschütterungen kommt es teilweise zu beträchtlichen Schädigungen der Gehirnzellen. Diese Schädigungen können kurz- und/oder langfristige körperliche und geistliche Beeinträchtigungen für die Patienten zur Folge haben. Bisher gibt es keine Möglichkeit, diese Behinderungen wirksam zu behandeln und die geschädigten Gehirnzellen wieder zu „heilen“. Ob und wie sich die Patienten erholen, ist oftmals einfach Glück bzw. Zufall. Ziel dieses Projekts ist es daher, durch eine Injektion von bestimmten Stammzellen nach einer Gehirnerschütterung das Immunsystem soweit zu beeinflussen, dass es rascher reagiert und so die Schädigungen der Gehirnzellen möglichst gering gehalten werden können.

zu erwartender Nutzen: Sollte diese Hypothese im Tierversuch bestätigt werden können, so wäre eine Übertragung dieses neuen Therapieansatzes auch auf den Patienten möglich. Dies würde eine neuartige, vielversprechende Behandlungsoption nach Gehirnerschütterung bedeuten, wodurch die Patienten vor einer weiteren Schädigung der Gehirnzellen geschützt werden könnten. Somit könnte ein großes Problem in der derzeitigen Behandlung von Gehirnerschütterungen gelöst werden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere werden in Narkose operiert, direkt nach dem Herbeiführen der Gehirnerschütterung werden sie mit Schmerzmitteln und Antibiotika therapiert. Die Veränderungen in Struktur und Funktion des Gehirns nach Gehirnerschütterung bei Nagetieren sind außerdem zeitlich begrenzt. Eine kleine Tiergruppe (n=8) wird für die Entnahme des Serums nach 24 Stunden ein schweres SHT bekommen. In diesem Versuch wird überwiegend ein mittleres Trauma gesetzt, jedoch sind die Gehirnfunktionen selbst bei schwerem Trauma im Normalfall nach drei Wochen komplett wiederhergestellt. Wenn sich der Zustand eines Tieres wider Erwarten doch verschlechtern sollte, wird der Versuch natürlich abgebrochen und das Tier wird durch fachgerechtes Personal von seinem Leiden erlöst.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für diesen Tierversuch werden 250 männliche Sprague-Dawley Ratten verwendet.

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

Vermeidung: Die Vermeidung des Tierversuchs ist nicht möglich, da die Fragestellung nur im lebenden Organismus zu beantworten ist. Die positiven Auswirkungen dieser bestimmten, neuartigen Stammzelltherapie auf die Regeneration nach Gehirnerschütterung müssen erst im Tier getestet werden, bevor sie eventuell in einer klinischen Studie am Patienten zum Einsatz kommt.

Verminderung: Im Rahmen des Versuchs wird großer Wert darauf gelegt, die Versuche nur mit jener minimalen Anzahl von Ratten durchzuführen, die statistisch notwendig ist, um aussagekräftige

Ergebnisse zu erhalten. In diesem Projekt erhalten die Tiere eine einmalige Gehirnerschütterung sowie Gabe von Stammzellen, die Opferrung wird nur an zwei Zeitpunkten durchgeführt. Auf diese Weise kann die Tierzahl nochmals gering gehalten werden.

Verfeinerung: Während der Eingewöhnungszeit werden die Tiere standardmäßig durch fachkundiges, geschultes Tierpflegepersonal betreut. In dieser Zeit werden ihnen Futter, Wasser sowie Material zum Nestbau zur Verfügung gestellt. Durch vermehrten Kontakt werden die Tiere an die TierpflegerInnen gewöhnt, um Stress zu reduzieren. Während der gesamten Zeit vor dem Versuch werden die Tiere engmaschig überwacht und routinemäßig von TierärztInnen auf ihren Gesundheitszustand überprüft.

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

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

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

Ziel dieses Projekts ist die Untersuchung der biologischen Rolle eines Proteins, das eine wichtige Rolle in der Homöostase des Metabolismus von braunen und weißen Fettzellen spielt. Vor allem das braune Fettgewebe ist ein sehr interessantes Ziel für die Behandlung von Fettleibigkeit und Diabetes. Daher ist es wichtig, die molekularen Grundlagen dieses Gewebes genau zu erforschen. Um die Rolle des oben erwähnten Proteins im Detail zu analysieren, wurden Mäuse mit einer Veränderung des entsprechenden Gens im Fettgewebe generiert. An diesen Mäusen werden dann in Abhängigkeit von der Haltungstemperatur und einer geänderten Diät mit Hilfe von Protein- und RNA-Analysen Veränderungen im Fettgewebe und Analysen des Blutplasmas Veränderungen des Gesamtmetabolismus untersucht.

zu erwartender Nutzen: Die Versuchsdaten sollen wichtige Informationen liefern über die Rolle dieses Zellbestandteils im Fettgewebismetabolismus. Dies kann dabei helfen Therapien für metabolische Krankheiten wie zum Beispiel Diabetes und Fettleibigkeit zu entwickeln.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere werden unter anderem Kälte ausgesetzt (schwere Belastung des Herz-Kreislauf-Systems), ihnen wird Blut abgenommen (leichte Belastung), ihnen wird für einen gewissen Zeitraum Futter entzogen (mittlere Belastung) und sie werden einmalig pharmakologisch behandelt um eine Kälteexposition im Fettgewebe „vorzutäuschen“ ohne Nebeneffekte auf das Herz-Kreislaufsystem (leichte Belastung). Bei diesen Experimenten werden sie kurzzeitig in Einzelhaltung gehalten. Die Zeiträume werden bei jedem Experiment minimal gehalten, um die Belastung zu minimieren.

2. Art und Anzahl der Tiere

Mäuse, 440 Tiere unterschiedlichen Genotyps

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

In diesem Projekt wird mit einem international akzeptierten Mausmodell gearbeitet und berücksichtigt alle Anforderungen der „3R“.

Vermeidung: Unter Ausreizung aller möglichen in vitro Methoden wie Zellkultur von isolierten Fettzellen wurden bereits wichtige Ergebnisse erzielt. Allerdings ist die Regulation des Fettgewebes multifaktoriell und bezieht den kompletten Organismus ein. So gibt es viele Wechselwirkungen zwischen Leber, weißem und braunem Fettgewebe, die zum Teil wenig bekannt sind, aber eine wichtige Rolle in diesem Projekt spielen. Diese können zum momentanen Zeitpunkt leider noch nicht in diesem Umfang in der Zellkultur nachgebildet werden und machen das Mausmodell momentan unersetzlich.

Verminderung: Die Tierzahl wurde auf ein Minimum reduziert unter anderem durch Standardisierung der Haltungs- und Versuchsbedingungen. Dies reduziert die Varianz zwischen den Ergebnissen der Einzeltiere ebenso wie die Verwendung von Wurfgeschwistern als Kontrolltiere und gentechnisch veränderte Tiere. Weiterhin ist die Zahl der Surplustiere minimal. Unsere Zuchtstrategie erlaubt uns, dass ein großer Anteil der geborenen Tiere auch für die Versuche verwendet werden kann. Außerdem wurde eine Berechnung zur minimalen Tierzahl für aussagekräftige Ergebnisse durchgeführt.

Verfeinerung: Die Tiere werden soweit möglich in Gruppen gehalten. Ihre Käfige enthalten ein Häuschen, Nestmaterial und Holzstöckchen als Rückzugs- und Beschäftigungsmöglichkeit. Zudem wird eine neue mögliche verfeinerte Haltungstemperatur einbezogen, bei der der Metabolismus der Mäuse auf einem Minimum ist.

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

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

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

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

zu erwartender Nutzen: Die zellulären und molekularen Prozesse, die zur Entstehung von immunologischen Erkrankungen führen, sind in vielen Fällen nicht ausreichend beschrieben. Ebenfalls sind die Funktionen von schon bekannten Gene und Proteine, die an diesen Prozessen beteiligt sind, nicht vollständig im Detail bekannt. Ein besseres Verständnis ist aber wichtig, um neue therapeutische Ansätze aufzeigen zu können. Durch die im Antrag beschriebenen Experimente erwarten wir uns Aufklärung über die Funktion von den untersuchten Genen und Proteinen in der Regulation der T-Zellvermittelten Immunantwort und auch, wie T-Zellen mit anderen Zellen des Immunsystems in Wechselwirkung treten und diese Zellen auch regulieren. Dadurch soll es auch möglich sein, neue potentielle Therapieansätze aufzuzeigen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Es werden bei der Immunisierung der Tiere durch die Verwendung von verschiedenen Adjuvantien lokale Reize gesetzt, die zu einer Entzündungsreaktion führen. Die Verwendung dieser Adjuvantien ist aber notwendig, um verschiedene Arten der Immunantwort auszulösen und die T-Zellfunktionen zu bestimmen. Im Rahmen mancher experimenteller Ansätze wird die T-Zellfunktion durch Zelltransfer in Empfängertiere untersucht. Dadurch kann es zu entzündlichen Darmerkrankungen und daraus resultierend zu einem Durchfall und Gewichtsverlust der Tiere kommen. Die eingesetzten Mäuse werden täglich kontrolliert und bei einem eventuellen Auftreten von vorab definierten Abbruchkriterien aus dem Versuch entfernt.

2. Art und Anzahl der Tiere

Mäuse (*mus musculus*), 3516 Tiere unterschiedlichen Genotyps

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

Vermeidung: Mit unsere Studien haben sich wir uns zum Ziel gesetzt, mit Hilfe transgener Ansätze die Funktionsweise wichtiger immunregulatorischer Moleküle zu identifizieren und dadurch grundlegende Einblicke in die Regulation des Immunsystems zu gewinnen. Diese komplexen Reaktionen können nicht ausschließlich in einem Zellkulturmodell untersucht werden, weil der Immunantwort komplexe zelluläre Interaktionen zugrunde liegen, die nur in vivo studiert werden

können. Deshalb können diese (medizinisch relevanten) Fragestellungen nur unter Einbeziehung eines Tiermodells (d. h. transgener Mäuse) untersucht werden.

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

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

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): 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 die Wirksamkeit vier neuer Testsubstanzen gegen die Alzheimer Krankheit im Tiermodell zu untersuchen. Dadurch wird es möglich sein die Wirksamkeit der Testsubstanzen auf die Kognition der Tiere zu testen.

Schaden und Nutzenabklärung: Die genetischen Veränderungen von 5xFAD Mäusen führen in älteren Tieren zu kognitiven Defiziten, welche die Tiere im Alltag jedoch nicht beeinträchtigen. Da die Substanzen bisher noch nicht chronisch in vivo verwendet wurden, könnten die Substanzen unerwartete Nebenwirkungen auslösen. Durch die Testung der Tiere im Morris Water Maze entsteht für die Tiere nur kurzzeitig leichter Stress jedoch kein Schmerz oder Leid, da die Tiere motorisch auch im höheren Alter keine Defizite aufweisen. Durch die wiederholte orale Behandlung entsteht für die Tiere nur leichter, kurzzeitiger Stress und Schmerz, da davon ausgegangen werden kann, dass sich die Tiere an die tägliche Prozedur gewöhnen. In der vorliegenden Studie sollen small molecules untersucht werden die eine anti-aggregatorische Wirkung auf Abeta haben. Durch eine Langzeitbehandlung sollen die Substanzen die APP Plaques in den Tieren verringern und dadurch auch die neuroinflammatorischen Prozesse verringern und die kognitiven Leistungen verbessern. Da die zu testenden Substanzen gegen humanes Abeta gerichtet sind ist es unerlässlich die Wirksamkeit in einem genetisch verändertem Mausmodell zu testen, dass das entsprechende humane Protein exprimiert.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden 135 männliche 5xFAD Mäuse und 75 nicht transgene Geschwistertiere ab einem Alter von 3,5 Monaten verwendet.

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

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

Verminderung: In dieser Studie sollen pro Gruppe 15 Tiere verwendet werden. Diese Gruppengröße ist erforderlich um signifikante Unterschiede im Verhaltenstest beobachten zu können und die geplanten quantitativen und qualitativen Analysen durchführen zu können.

Verbesserung: Stressminimierung: An dieser Stelle soll ausdrücklich festgehalten werden, dass der Tierversuch unter Vermeidung aller mit dem Versuchszweck nicht notwendig verbundenen

Belastungen durchgeführt wird. Die Tiere werden bereits vor Beginn der Studie durch so genanntes „Handling“ mit den involvierten Personen bzw. mit den jeweiligen Versuchsapparaten vertraut gemacht, um unerwünschte, stressbedingte, falschpositive bzw. falschnegative Ergebnisse zu vermeiden. Gleichgeschlechtliche Tiere werden zusammen im Käfig gehalten, soweit es die Tierzahl erlaubt. Dadurch verbleiben die Tiere in ihrem Familienverband und zusätzlicher psychischer Stress, z. B. von neuerlichen Revierkämpfen oder der Vereinzelnung, wird vermieden. Gesundheitszustand: Generell gilt, dass zur Durchführung des Tierversuchs nur Tiere verwendet werden, deren Gesundheitszustand einwandfrei ist. Alle Tiere stehen unter ständiger, tierärztlicher Kontrolle. Erkrankte oder verletzte Tiere werden gegebenenfalls in einem separaten Quarantänerraum untergebracht und beobachtet. Leidet ein Tier an Symptomen wie Verletzungen, Umfangsvermehrung oder Anämie wird der Tierarzt so rasch wie möglich informiert und entscheidet über Behandlung oder Euthanasie. Schulungen: Es soll festgehalten werden, dass die Versuche von den Personen erst nach Abschluss eines ausführlichen Trainings in den unterschiedlichen Techniken, 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): Grundlagenforschung

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

Allergien betreffen ca 25% der Bevölkerung in Europa und sind eine Überempfindlichkeitsreaktion des Immunsystems. Die einzige, langfristig wirkende Therapie von Allergien ist die allergen-spezifische Immuntherapie, die Veränderungen des Immunsystems im Patienten auslöst. Leider ist diese Behandlung in zahlreichen PatientInnen nicht erfolgreich. Um die Effektivität der allergen-spezifischen Immuntherapie zu erhöhen, ist es notwendig, die der Behandlung zu Grunde liegenden immunologischen Wirkmechanismen zu verstehen. Bisherige Forschungen haben ergeben, dass die allergen-spezifische Immuntherapie die Produktion von blockierenden Antikörpern auslöst. Diese können das Auslösen der IgE-vermittelten allergischen Kaskade verhindern und somit die allergischen Symptome vermindern. Derzeit ist jedoch noch nicht klar, welche Eigenschaften solche Antikörper aufweisen müssen, um tatsächlich die klinischen Symptome verhindern zu können. Ziel des vorliegenden Projektes ist es, diese Eigenschaften besser zu charakterisieren. Basierend auf den gewonnenen Erkenntnissen können Impfstoffe für die allergen-spezifische Immuntherapie maßgeschneidert werden, die die therapeutisch relevanten Veränderungen des Immunsystems besonders fördern.

zu erwartender Nutzen: Die Ergebnisse dieses Projekts werden wesentlich zur Entwicklung einer verbesserten Allergietherapie beitragen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere werden nach einer Behandlungsdauer von max. 116 Tagen getötet. Während dieser Behandlungsdauer sind nur wenige Interventionen an den Tieren geplant, was deren Leiden reduziert. Die Mäuse werden am letzten Tag unter Narkose behandelt um schmerzfrei zu sein. Der höchste Schweregrad ist Mittel.

2. Art und Anzahl der Tiere

1875 Mäuse

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

Zur Vermeidung von Tierversuchen wurden, soweit möglich, Versuche mit Zellkulturen durchgeführt. Diese ‚in vitro‘ Ergebnisse sind die Basis für alle weiterführenden Versuche. Das Leiden der Tiere wird durch folgende Maßnahmen vermindert: 1. sämtliche Eingriffe erfolgen unter Narkose; 2. Krankheitssymptome einer Graft versus Host Reaktion werden durch die kurze Zeitspanne so weit als möglich vermieden; 3. Zur Verminderung der Tierzahl wird bei sämtlichen Versuchen auf streng standardisierte Versuchsbedingungen Wert gelegt; 4. Während der Studie werden laufend „in vitro“ Versuche mit Zellkulturen durchgeführt, um, soweit möglich, die Anzahl der notwendigen Versuchstiere zu verringern.



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

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

Obwohl die genetische Information, codiert in der DNA, in allen Körperzellen eines Menschen gleich ist unterscheiden sich die Zellen unseres Körpers je nach deren Aufgaben. Zellen unseres Immunsystems zum Beispiel schützen den Menschen indem sie Krankheitserreger erkennen und zerstören. Wir interessieren uns für die Mechanismen die die Identität unserer unterschiedlichen Immunzelltypen bestimmen und diese so „programmieren“ dass eine Infektion mit Bakterien oder Viren wirkungsvoll bekämpft werden kann. Einer dieser Mechanismen ist eine Veränderung der DNA, bei der Cytosin-Basen chemisch modifiziert werden. Dadurch werden Regionen auf der DNA geöffnet oder geschlossen, und so die Eigenschaften und Funktionen der Zellen verändert. So wird die Immunantwort gesteuert und verfeinert. Fehler in dieser Identitätsfindung führen dazu, dass Infektionen nicht mehr bekämpft werden können oder Impfungen nicht mehr wirken. Leider können im Zellkultursystem bisher nur Teilaspekte der Immunantwort erfasst werden. Nur durch den Schritt in das Mausmodell lassen sich die komplexen Abläufe innerhalb eines höher entwickelten Organismus nachvollziehen. Unsere Vorversuche im limitierten Zellkultursystem haben gezeigt dass die programmierte Veränderung der Cytosin-Basen in der DNA von Immunzellen tatsächlich die Antikörperproduktion beeinflussen kann. Im Rahmen dieses Projektvorschlags soll darauf aufbauend diese Fragestellung in einem lebenden Organismus geklärt werden.

zu erwartender Nutzen: Das Projekt ist grundlagenwissenschaftlich orientiert und darauf ausgerichtet unbekannte Mechanismen zu entschlüsseln die es Zellen unseres Immunsystems erlauben unseren Körper vor Infektionen zu schützen. Darüberhinausgehend erhoffen wir uns dass unsere Erkenntnisse im Rahmen der Verbesserung von Impfungen - vor allem im alternden Organismus - zukünftig eine Anwendung finden werden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die von uns gewählten experimentellen Verfahren sind darauf ausgerichtet, mit einem Minimum an belastenden Eingriffen oder Behandlungen auszukommen. Alle experimentellen Schritte sind so optimiert worden, dass durch möglichst wenige Manipulationen ein größtmöglicher Erkenntnisgewinn erzielt werden kann. Die Belastung der Tiere ergibt sich aus der Auslösung einer Immunreaktion in gesunden Tieren, etwa vergleichbar mit einer Grippeimpfung beim Menschen, sowie Blutabnahmen mit minimal-invasiven gängigen Methoden. Die kumulative Belastung wird als gering eingestuft.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für diesen Versuch werden insgesamt 120 Mäuse verschiedener genetisch veränderter Mausstämmen beantragt.

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

Vermeidung: Bisher ist es nicht möglich die Immunreaktion im Zellkultursystem nachzustellen. Dies hat wahrscheinlich mit dem komplexen Zusammenspiel verschiedener Zelltypen (Dendritische Zellen, Makrophagen, NK Zellen, T Zellen, ...) zu tun. Der hier beantragte Versuch ist daher unerlässlich zur Beantwortung der Fragestellung, und trägt leider nicht zur Vermeidung zukünftiger Tierversuche bei.

Verminderung: Die von uns beantragten Fallzahlen wurden so gestaltet, dass sie die Generierung einer ausreichenden Zahl experimenteller Mäuse erlauben. Wir verwenden dabei die geringste Tierzahl die ein aussagekräftiges Ergebnis erwarten lässt. Zusätzlich sind unsere Experimente so geplant, dass möglichst viele Daten aus wenigen Tieren gewonnen werden können. Eine rasche Veröffentlichung der Ergebnisse in internationalen Fachjournalen ist geplant, so dass die Wahrscheinlichkeit einer Wiederholung des gleichen Versuchs möglichst gering gehalten wird.

Verfeinerung: Die Tiere werden während des gesamten Versuchs in Gruppen gehalten. Jeder Käfig ist mit Nistmaterial, einem Häuschen und Nagerhölzchen ausgestattet. Der Zugang zu Futter und Wasser wird nicht limitiert. Die Versuche sind standardisiert und werden ausschließlich von sachkundigem Personal durchgeführt.

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

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

Alterungsprozesse sind typischerweise von degenerativen Gewebsveränderungen begleitet. Dies trifft auch auf Nahrungsverwertung und somit auf das Darmrohr, insbesondere das Darmepithel zu. Die Gewebeerhaltung desselben basiert auf der Aktivität der Stammzellen (intestinale Stammzellen; ISZ), aus denen alle Epithelzelltypen des Epithels hervorgehen. Eine alterungsbedingte Verminderung der Teilungsfähigkeit der ISZ wird als Ursache für eine reduzierte Epitheldynamik im Alter verantwortlich gemacht. Um die Teilungsfähigkeit von ISZs im Verlauf des Lebens zu untersuchen, werden Individuen des Türkisen Prachtgrundkärpflings (*Nothobranchius furzeri*) verwendet. Diese Fischart ist sehr kurzlebig und zeigt dennoch ähnliche Alterungsprozesse wie der Mensch, darunter auch verminderte Nahrungsaufnahme. Den Tieren wird ein Marker für Zellteilung verabreicht, der es erlauben wird, erstmals ISZ in diesem neuen Modellsystem zu identifizieren und in weiterer Folge deren Zellteilungsaktivität während des gesamten Lebenszyklus studieren zu können.

zu erwartender Nutzen: In dieser Studie werden ISZ identifiziert und deren Aktivität untersucht sowie Erkenntnisse über die diesbezüglichen Steuerungsmechanismen im Alterungsverlauf gewonnen. Die Kenntnis dieser Mechanismen könnte letztlich dazu beitragen, Therapieansätze bei alterungs- oder krankheitsbedingten Darmfunktionsstörungen von Patienten zu entwickeln.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Der Schaden für die Tiere ist als „gering bis mittelgradig“ einzustufen. Den Tieren werden während kurzer Zeiträume Markersubstanzen verabreicht, die entweder über die Nahrungsaufnahme oder durch Injektion in die Körperhöhle unter Narkose aufgenommen werden.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden 186 Fische benötigt.

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

Vermeidung: Da es sich bei den Türkisen Prachtgrundkärpflingen um ein neues Modellsystem handelt sind keine Vordaten über ISZs vorhanden. Es ist daher nicht möglich, diese Studie in vitro durchzuführen und eine Vermeidung von Tierversuchen daher nicht möglich.

Verminderung: Die Anzahl der benötigten Tiere ergibt sich aus Erfahrungswerten sowie nach Durchsicht der einschlägigen Literatur, damit nur das unbedingt erforderliche Mindestmaß Verwendung findet, um ein aussagekräftiges Ergebnis zu erzielen. Um die Anzahl der verwendeten Versuchstiere weiter zu verringern, werden Versuchsreihen umgehend analysiert. Sollten bereits mit weniger als den angegebenen Tieren eindeutige Aussagen getroffen werden können, werden die

Versuche eingestellt. Die Versuchsanordnung orientiert sich an gängiger Laborpraxis, um die Belastung der Tiere zu minimieren.

Verfeinerung: Um die Schmerz- oder Stressbelastung bei der Verabreichung der Markersubstanzen zu minimieren wird entweder die Wassertemperatur etwas reduziert oder die Injektion unter Sedativa durchgeführt. Nach der Verabreichung werden die Fische unter standardisierten Bedingungen im Durchflußsystem gehalten, welche ihren artgerechten Verhaltensansprüchen entspricht und dadurch Stress minimiert. Sie werden mindestens zweimal täglich kontrolliert.

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

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

Ziel dieses Projekts ist die Vorbereitung einer in vivo Gentherapie zur Behandlung der rezessiv dystrophen Form von Epidermolysis bullosa (RDEB). Dabei handelt es sich um eine genetisch bedingte, rezessiv vererbte, blasenbildende Hauterkrankung, für die keine kausale in vivo Therapie existiert. Zurzeit ist nur die ex vivo Behandlung mit in vitro korrigierten Hauttransplantaten möglich. In diesem Tierversuch werden sowohl in vitro hergestellte Hautäquivalente, als auch hypomorphe Maushaut auf den Rücken von immundefizienten Mäusen transplantiert. Die Hautäquivalente werden aus isolierten Patientenzellen hergestellt und die hypomorphen Maushäute aus der laufenden Zucht der belasteten Mauslinien bezogen. Die genetische Korrektur erfolgt mittels RNA Trans-Splicing. Die dafür hergestellten Trans-Splicing Moleküle werden mittels Gene-Gun Applikation in die Haut eingebracht. Es soll überprüft werden, ob sich das korrigierte Protein korrekt einlagert und die korrigierte Haut wieder die normale Funktionalität einer gesunden Haut aufweist. Ein positiver Ausgang dieses Versuches würde einen deutlichen Fortschritt in der in vivo Behandlung von RDEB bedeuten. Mit dieser Applikation könnten bestimmte Körperareale gezielt am Patienten behandelt werden, und die Lebensqualität der betroffenen Personen bedeutend verbessert werden.

zu erwartender Nutzen: Hautäquivalente in denen ein bestimmtes Strukturprotein der Haut fehlt sollen in diesem Tierversuch korrigiert und ihre Funktionalität überprüft werden, um die Anwendbarkeit als gentherapeutische Behandlung am Menschen zu überprüfen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Ein Schaden für die Versuchstiere (Schmerzen, Leiden, etc.) wird durch Anästhesie, Analgesie und optimale Haltungsbedingungen vermieden. Der Tierversuch endet mit dem Tod der Tiere zum Zwecke der Biopsieentnahme für die histologische Auswertung.

2. Art und Anzahl der Tiere

Art: Maus

Anzahl: 110 Tiere

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

Wir, die Projektleiterin und die an der Durchführung beteiligten Personen, sind uns der 3R-Regel bewusst (Replacement, Refinement, Reduction; Russell und Burch, 1959). Bei der Planung und Konzeption des Tierversuches hatte das Wohl der Labortiere einen hohen Stellenwert, denn leidende Tiere, die euthanasiert werden müssen, tragen nicht zum positiven Ausgang der Studie bei. Das Wohlergehen der Tiere ist daher nicht nur im Sinne des Tierschutzes, sondern auch für die

erfolgreiche Durchführung des Projekts von großer Bedeutung. Im Hinblick auf die 3R-Regel kommen wir zu folgender Feststellung:

**Vermeidung:** Tierversuche sollen durch alternative Methoden ersetzt werden. Die Herstellung von Hautäquivalenten unter in vitro Bedingungen in der Zellkultur, kann man mittlerweile als Routine bezeichnen. Die physiologische Funktionalität dieser Hautäquivalente, zum Zwecke einer ex vivo Gentherapie, kann allerdings nur und ausschließlich am lebenden Tier getestet werden. Für den vorliegenden Tierversuch gibt es daher keine in Frage kommenden Ersatzmethoden.

**Verminderung:** Die Anzahl an benötigten Labortieren soll auf ein Mindestmaß reduziert werden. Die Anzahl an benötigten Tieren für den vorliegenden Tierversuch resultiert aus dem Studiendesign, der Gruppengröße und der Anzahl an Versuchs- und Kontrollgruppen.

**Verfeinerung:** Die Belastung für das Labortier soll auf das unablässliche Maß vermindert werden. Wir gewährleisten diese Forderung durch 1. artgerechte und tierschutzkonforme Unterbringung der Tiere während der gesamten Dauer der Studie, 2. die Sachkunde der beteiligten Personen, 3. optimale Operationstechniken sowie Narkose, und 4. optimale post-operative Betreuung (z. B. Analgesie).

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

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

Die Wirkung von N-Stearyl ethanolamin auf die Experimentelle Autoimmune Enzephalomyelitis  
Die experimentelle autoimmune Enzephalomyelitis (EAE) wird zur Modellierung verschiedener Aspekte der Multiplen Sklerose (MS) in Nagetieren und Primaten verwendet. MS ist eine komplexe neurologische Erkrankung mit vielgestaltiger Symptomatik, die bei jungen Erwachsenen auftritt und bis dato nicht heilbar ist. Zu den Symptomen gehören Entzündungen, Demyelinisierung und axonaler Verlust. Diese Tiermodelle sind notwendig, um die Pathophysiologie dieser Erkrankung zu erforschen und potenzielle Schutz- und Therapiestrategien zu bewerten. In diesem Projekt werden die Effekte eines Cannabinoid-Derivats im Modell der murinen experimentellen autoimmunen Enzephalomyelitis untersucht. Im Speziellen wollen wir auf die Wirkung des Derivats auf die (1) Produktion von Entzündungsmediatoren, (2) die Effektorfunktion von Entzündungszellen und die Funktionalität der (3) Blut-Hirn-Schranke eingehen.

zu erwartender Nutzen: Die Ergebnisse dieser Studie werden sowohl Hinweise auf die Entstehung der Multiplen Sklerose liefern, als auch neue molekulare Angriffspunkte und daraus resultierend neue pharmakotherapeutische Ansätze für die Behandlung der Erkrankung beim Menschen eröffnen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Der Schaden für die Tiere ist mit der Belastung beim erkrankten Menschen vergleichbar. Die auftretenden Schmerzen sind gleich wie bei Patienten die unter Multipler Sklerose leiden. Diese Studie wird mit Mäusen durchgeführt. Alter der Tiere. In die Studie werden 8-10 Wochen alte gesunde Mäuse eingeschlossen Anzahl. Die Anzahl der Mäuse, die benötigt wird, um statistisch aussagekräftige Daten zu generieren, wurde aus Vordaten und der vorhandenen Literatur ermittelt.

2. Art und Anzahl der Tiere

140 Mäuse werden in die Studie eingeschlossen.

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

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

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

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

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

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

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

zu erwartender Nutzen: Epilepsie betrifft etwa 1% der Bevölkerung, verursacht enorme sozio-ökonomische Kosten, und kann für die betroffenen Patienten sehr belastend sein. Bis zu 40% aller Epilepsiepatienten sind von Temporallappen-Epilepsie betroffen. Diese Form der Epilepsie ist besonders schwer medikamentös zu behandeln und so wirken bei 30-40% dieser Patienten die derzeit verfügbaren antiepileptischen Medikamente nicht oder nur unzureichend. Die Entwicklung neuer Therapieansätze ist daher für diesen Teil der Patienten von größter Bedeutung. Der Hippocampus ist die für die Entstehung der Temporallappen-Epilepsie entscheidende Hirnregion und stellt oft auch den epileptischen Herd (Fokus) dar. Informationsweiterleitung im Hippocampus steht unter enger Kontrolle von verschiedenen Gruppen hemmender Interneurone, die unterschiedlich empfindlich für durch Epilepsie ausgelöstes Zellsterben sind. Mit Hilfe eines Modells der Temporallappenepilepsie wollen wir die unterschiedlichen Beiträge von körpereigenen Mechanismen, die das Auftreten von epileptischen Anfällen unterdrücken könnten, aufklären. Die Ergebnisse dieser Experimente könnten Hinweise über das Potential derartiger Anpassungen zur Anfallsvermeidung geben und Grundlage für etwaige zukünftige Therapieoptionen darstellen. Zusätzlich wollen wir untersuchen, ob eine Ausschaltung von Interneuronen, welche spezifisch andere Interneurone hemmen (Disinhibition), in bereits epileptischen Mäusen eine Verringerung der spontan auftretenden epileptischen Anfälle bewirken kann. Auch dies könnte eine mögliche zukünftige Therapieoption im Menschen darstellen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Implantation des telemetrischen EEG-Senders (Transmitter) zur Aufzeichnung der Anfälle wird von den Mäusen problemlos vertragen und bietet gegenüber herkömmlichen verkabelten Systemen den Vorteil der völligen Bewegungsfreiheit der Mäuse. Die Mäuse zeigen schon kurz nach der Operation ihr normales motorisches Verhalten (Laufen, Klettern, ...) und sind durch die Implantation des Transmitters nicht in ihren Bewegungen eingeschränkt. Nach der Virus-Injektion entwickeln die Mäuse nach wenigen Tagen bis Wochen spontane epileptische Anfälle (nur 1 bis 2 Anfälle pro Woche). Diese dauern nur etwa 20-50 Sekunden, enden von selbst und werden von den Mäusen gut vertragen. Nach Anfallsende gehen die Mäuse sofort ihrer normalen Beschäftigung nach (z. B. Fressen, Fellpflege, ...). Es entstehen keine Hirnschäden.

2. Art und Anzahl der Tiere

Insgesamt sollen über einen Zeitraum von 2 Jahren maximal 96 Mäuse verwendet werden.

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

Vermeidung und Verminderung: Durch die stufenweise Durchführung der Experimente mit einer Zwischenevaluation kann die Zahl der im folgenden Experiment verwendeten Mäuse relativ niedrig gehalten werden.

Verfeinerung: Im Gegensatz zu früheren Modellen wird bei unserem aktuellen Epilepsiemodell mittels Inaktivierung von Interneuronen das Setzen eines anfänglichen Status epilepticus und die damit einhergehende intensive Belastung und Anfallstätigkeit vermieden. Die für die EEG-Ableitung verwendeten kabellosen Sender sind für die Mäuse viel weniger belastend als die früher verwendeten verkabelten Systeme.

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, umgangssprachlich auch als „Blutvergiftung“ bekannt, ist eine komplexe systemische Entzündungsreaktion des Organismus auf eine Infektion durch Bakterien, deren Toxine oder Pilze. Im Verlauf der Sepsis kommt es häufig zum Versagen eines oder mehrerer Organe (Multiorganversagen) und dem septischen Schock. Trotz moderner intensivmedizinischer Behandlung steigt die Zahl der an Sepsis erkrankten Fälle, und die Prognose ist äußerst ernst: bis zu 60 % der Erkrankten sterben trotz maximaler Therapie. In den letzten Jahren wurde viel über die mit der Sepsis einhergehende überschießende Immunantwort geforscht. Es ist unter anderem beobachtet worden, dass im Verlauf einer Sepsis zuerst das sogenannte „gute“ Cholesterin, sinkt, gefolgt von einer Senkung des „bösen“ Cholesterins. Lipidmediatoren werden während der Infektion von weißen Blutzellen freigesetzt und sind mitverantwortlich an Initiierung und Resolution der Inflammation. Im Infektionsverlauf gelangen, je nach Stadium, verschiedene weiße Blutzellen zum Ort der Infektion mit dem Ziel, die pathogenen Bakterien abzutöten.

zu erwartender Nutzen: Das Ziel unseres geplanten Projektes ist die Bildung von Lipidmediatoren in einem Tiermodell einer gramnegativen Sepsis zu untersuchen. Die Versuche werden helfen, die in der Sepsis beobachtete Cholesterinsenkung zu erklären und neue Erkenntnisse im Immunmetabolismus zu bringen. Zudem könnten die geplanten Untersuchungen helfen, neue Angriffspunkte in der Therapie der Sepsis zu entdecken, womit die Rate an Todesfällen durch diese dramatische Erkrankung gesenkt werden könnte.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Induktion einer Sepsis kann zu einer Verschlechterung des Allgemeinzustandes der Tiere führen. Der Gesundheitszustand der Mäuse wird zweimal täglich von qualifiziertem Personal überprüft und das Gewicht der Tiere sowie die Körperoberflächentemperatur bestimmt. Der Versuch wird abgebrochen bevor es zu einer Entgleisung der Sepsis kommt.

2. Art und Anzahl der Tiere

5100 Mäuse

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

Vermeidung: Bereits durchgeführte Vorversuche mit Zellkultur konnten bereits wichtige Ergebnisse liefern, jedoch braucht es aufgrund der Komplexität des Verlaufs einer Sepsis ein intaktes biologisches System mit allen Geweben, um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten.

Verminderung: Anhand der Ergebnisse bereits durchgeführter Studien und den publizierten Daten über Infektionsversuche wird die Zahl der Tiere auf das Mindestmaß reduziert, bei dem noch signifikante Effekte zu erwarten sind.

Verfeinerung: Alle Experimente werden mit geschulten Fachpersonal durchgeführt, es wird für eine tiergerechte Haltung gesorgt (z. B.: mit „Environmental Enrichment“). Auch bei einem vorzeitigen Versuchsabbruch werden alle relevanten Parameter bestimmt, Abbruchkriterien werden genau festgelegt, um unnötiges Leiden der Tiere zu vermeiden.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 30. September 2024 vorgesehen.

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

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

Erythropoetin ist ein Hormon, das als Wachstumsfaktor für die Blutbildung von großer Bedeutung ist. Insofern hat es große therapeutische Bedeutung bei Erkrankungen, wie Nieren-, Tumor- und anderen Erkrankungen, die mit einer Blutarmut einhergehen. Leider wird dieses Hormon, auch bekannt als EPO, besonders im Sport missbraucht, um die Leistung zu steigern. Eine missbräuchliche Verwendung von EPO birgt aber ein hohes Risiko. Es kann zu einer bedenklichen Blutverdickung kommen, die zu Schlaganfällen, Herzinfarkt und zu Lungenembolie führen kann. Ist schon der Nachweis von herkömmlichen verwendeten EPO-Substanzen, die auch als Medikamente zugelassen sind, schwierig, so ist es umso mehr für EPO-Derivate, die noch nicht zugelassen sind und noch in der Entwicklung stecken. EPO-Fc ist ein solches Derivat. Es wurde entwickelt, um ein Präparat zu haben, das möglichst lange im Körper verbleibt. EPO-Fc ist ein sogenanntes Fusionsprotein, das heißt an Erythropoetin wurde ein Teil eines Antikörpers angehängt, mit dem Effekt einer verlängerten Halbwertszeit im Körper. Der Nachweis von EPO-Fc ist zwar prinzipiell möglich, aber es ist unklar, wie genau ein Nachweis einem Vergleich mit einem Standard entsprechen muss. Vor allem weil EPO-Fc im Organismus einem Abbau unterliegt, somit auch nur Teile vorhanden sein könnten.

Ziel dieser Studie ist es, das Verhalten von Blut und Harnproben mit EPO-Fc in zwei Nachweissystemen, SDS- und SAR-Page, zu untersuchen, nachdem es 48 Stunden in einem Organismus zirkuliert ist. So soll ein einfaches, sicheres, rasches und direktes Nachweissystem validiert werden.

zu erwartender Nutzen: Der zu erwartende Nutzen ist ein Nachweisverfahren, das zwischen den üblichen und zugelassenen EPO-Varianten und EPO-Fc 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 Anämie leiden und zukünftig EPO-Fc erhalten, eine Rolle spielen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Der größte zu erwartende Schaden ist die subkutane Applikation EPO-Fc, 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

32 Ratten

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

Replacement-Vermeidung: Da für dieses Experiment unbedingt notwendig ist, dass EPO-Fc in einem Organismus einem physiologischen Abbau unterliegt, 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 EPO 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.

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. Im geplanten Versuch soll die breite der Schutzwirkung einer Fiber-basierten Impfung gegenüber Infektionen mit heterologen Virusstämmen getestet werden.

zu erwartender Nutzen: Erkenntnisse über die Schutzwirkung einer Fiber-basierten Impfung gegenüber Infektionen mit homologem/heterologem Virusstamm.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere werden zu Versuchsbeginn geimpft und anschließend durch Injektion mit Geflügeladenoviren infiziert. Zu definierten Zeitpunkten erfolgen Blut- und Kloakentupferprobenentnahmen. Die Infektion kann u. a. zu Leberläsionen und Mattigkeit führen.

2. Art und Anzahl der Tiere

108 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 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 31. Juli 2021 vorgesehen.

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

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

Ziel der Studie: Ziel dieser Studie ist Untersuchung neuer Testsubstanzen auf ihre Wirksamkeit gegen die Amyotrophe Lateralsklerose. Es soll untersucht werden ob die Substanzen die entzündlichen Prozesse im Tiermodell reduzieren können und ob die Substanzen die Lebenserwartung der Tiere erhöhen können.

Schaden: Die Expression des SOD1-G93A Transgens stellt für die Tiere relativ schnell eine körperliche Belastung dar, da die Tiere in den Vorder- und/oder Hinterextremitäten Lähmungen bekommen. In weiterer Folge sind die Tiere nicht mehr in der Lage sich aufzurichten. Zusätzlich wird eine Survival Analyse durchgeführt, bei der die Tiere erst beim Erreichen der humanen Endpunkte euthanasiert werden. Nicht-transgene Tiere dieser Studie zeigen dagegen keinen Phänotyp. Die Kontrolle der motorischen Fähigkeiten der Tiere mittels des Vercelli Scoring Systems stellt für die Tiere keinen Stress oder Schmerz dar. Die wiederholt verwendeten motorischen Tests Wire hanging, Grip strength und Rotarod Test stellen für die Tiere zu Beginn nur geringen Stress, aber keinen Schmerz dar. Mit steigendem Alter und Anstieg der motorischen Defizite wird es den Tieren schwerer fallen die Tests durchzuführen. Die orale Behandlung der Tiere stellt aufgrund eines Gewöhnungseffekts nur geringen Stress für die Tiere dar, jedoch keinen Schmerz oder Leid. Die Testsubstanzen wurden bereits in anderen Tiermodellen verwendet in denen sich keine Nebenwirkungen zeigten.

Nutzen: Durch diese Analyse wird es möglich sein, zu untersuchen, ob die Testsubstanzen eine lebensverlängernde Wirkung haben. Insgesamt wird durch diese Studie der konzentrationsabhängige Effekt der Testsubstanzen auf die ALS-spezifische Pathologie untersucht. Dadurch wird es möglich sein, die Entwicklung dieser Substanzen zu fördern, so dass sie zügig in klinischen Studien getestet und letztendlich ALS Patienten zur Verfügung gestellt werden können.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden 120 transgene Mäuse und 20 nicht transgene Geschwistertiere verwendet.

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

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

Reduce: In dieser Studie sollen pro Gruppe 20 Tiere verwendet werden. Die Gruppen werden jedoch weiter unterteilt und ein Teil der Tiere für die Gewebegewinnung zu einem spezifischen Alter euthanasiert während die restlichen Tiere auf ihre Überlebensrate untersucht werden. Um in beiden Projektteilen signifikante Ergebnisse zu erzielen, ist die Zahl der Tiere zum Start der Studie mit 20 Tieren realistisch gewählt.

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 bzw. mit den jeweiligen Versuchsapparaten vertraut gemacht, um unerwünschte, stressbedingte, falschpositive bzw. falschnegative Ergebnisse zu vermeiden. Gleichgeschlechtliche Tiere werden zusammen im Käfig gehalten, soweit es die Tierzahl erlaubt. Dadurch verbleiben die Tiere in ihrem Familienverband und zusätzlicher psychischer Stress, z. B. von neuerlichen Revierkämpfen oder der Vereinzelung, wird vermieden. Gesundheitszustand: Generell gilt des Weiteren, dass zur Durchführung des Tierversuchs nur Tiere verwendet werden, deren Gesundheitszustand einwandfrei ist. Alle Tiere stehen unter ständiger tierärztlicher Kontrolle. Erkrankte bzw. verletzte Tiere werden in einem Patientenblatt vermerkt und täglich auf Ihren Gesundheitszustand kontrolliert. Leidet ein Tier an Symptomen wie Verletzungen, Umfangsvermehrung oder Anämie wird der Tierarzt so rasch wie möglich informiert und entscheidet über Behandlung oder Euthanasie.

Eine „rückblickende Bewertung“ wird gemäß § 30 TVG 2012 bis längstens 31. Juli 2021 stattfinden.

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

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

Projektziele: Das menschliche Immunsystem schützt uns vor Krankheitserregern und Fremdstoffen, und auch vor inneren Gefahren wie z. B. Tumorzellen. Die schützende Immunantwort muss sorgfältig reguliert werden, da Fehlreaktionen des Immunsystems die Ursachen vieler Erkrankungen, wie z. B. Autoimmunerkrankungen, sind. Auf Grund ungeklärter zellulärer und molekularer Veränderungen kommt es bei Autoimmunerkrankungen zum Verlust der Selbsttoleranz und das Immunsystem richtet sich gegen körpereigene Strukturen. Um die Prozesse, die zu diesen Erkrankungen führen, besser zu verstehen, müssen die grundlegenden immunologischen Reaktionen bei der Entstehung dieser Erkrankungen und auch während des Krankheitsverlaufs aufgeklärt werden. In diesem Projekt untersuchen wir, wie bestimmte Faktoren in Immunzellen die Entstehung und Aufrechterhaltung von Autoimmunerkrankungen regulieren.

zu erwartender Nutzen: Die zellulären und molekularen Prozesse, die zur Entstehung von Autoimmunerkrankungen führen, sind in vielen Fällen leider nicht ausreichend beschrieben. Durch die im Antrag beschriebenen Experimente erwarten wir uns Aufklärung über die Regulation von Immunzellen bei der Entstehung einer Autoimmunerkrankung, die auch als Mausmodell für humane Autoimmunkrankheit Multiple Sklerose angesehen werden kann. Durch die Ergebnisse unserer Versuche könnten neue potentielle Therapieansätze zur Behandlung von Autoimmunerkrankungen aufgezeigt werden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Das verwendete Tiermodell wird als Mausmodell für die humane Erkrankung Multiple Sklerose angesehen. Die Tiere werden mit einem körpereigenen Eiweiß und einem Adjuvant immunisiert. Dadurch kommt es zu einer lokalen Entzündungsreaktion. Nach der Immunisierung entwickeln die Mäuse eine Autoimmunreaktion gegen das körpereigene Eiweiß und dadurch treten nach 10 Tagen klinische Symptome der Autoimmunerkrankung auf. Die Tiere werden täglich kontrolliert und bei einem eventuellen Auftreten von vorab definierten Abbruchkriterien aus dem Versuch entfernt.

2. Art und Anzahl der Tiere

Mäuse (*mus musculus*), 496 Tiere unterschiedlichen Genotyps

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

Vermeidung: Mit unsere Studien haben sich wir uns zum Ziel gesetzt, mit Hilfe transgener Ansätze die Funktionsweise wichtiger immunregulatorischer Moleküle zu identifizieren und dadurch grundlegende Einblicke in die Regulation des Immunsystems zu gewinnen. Diese komplexen Reaktionen können nicht ausschließlich in einem Zellkulturmodell untersucht werden, weil der Immunantwort komplexe zelluläre Interaktionen zugrunde liegen, die nur in vivo studiert werden

können. Deshalb können diese (medizinisch relevanten) Fragestellungen nur unter Einbeziehung eines Tiermodells (d. h. transgener Mäuse) untersucht werden.

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

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

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

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

Die Immunonkologie hat sich als äußerst vielversprechendes Gebiet etabliert, um neuartige und potenziell kurative Behandlungsmöglichkeiten für Krebspatienten zu entwickeln. Die körpereigene Immunabwehr ist häufig nicht in der Lage, Tumore abzustößten, da sie nicht ausreichend als körperfremd erkannt werden. Es kommt sogar oft zu einer Depression des Immunsystems durch den Tumor. In den letzten Jahren konnten einige Tumorarten erfolgreich mit sogenannten Checkpoint Inhibitoren behandelt werden, die die körpereigene Immunabwehr steigern. Die Anwendungsbereiche dieser Biologika sind jedoch beschränkt. Trotz ihrer beeindruckenden klinischen Wirksamkeit hat sich herausgestellt, dass optimale Resultate nur bei einer Kombination dieser Hemmstoffe (derzeit überwiegend monoklonale Antikörper) miteinander oder mit anderen Antitumor-Therapeutika erzielt werden können.

Zu erwartender Nutzen: Die Forschungs- und Entwicklungsarbeiten zielen darauf ab, innovative Wirkstoffe zur Behandlung von soliden und hämatopoetischen Tumoren durch die Steigerung der Antitumorwirkung menschlicher Lymphozyten zu verfolgen. Die gezielte Hemmung immunologischer Regulatorproteine durch spezifische si-RNA (small interfering RNA) ist entscheidend für immunonkologische Therapien der nächsten Generation. Modifizierte T-Zellen, in denen die Produktion bestimmter Proteine durch si-RNA Transfektion ausgeschaltet wird, werden gegebenenfalls mit Checkpoint Inhibitoren kombiniert. Es wird erwartet, dass dieser Ansatz das derzeitige therapeutische Spektrum von Checkpoint-Inhibitoren deutlich erweitern wird.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Insgesamt kann die Belastung für die verwendeten Mäuse als mittel eingestuft werden. Bei den Tieren wird unter Narkose mittels Injektion von Tumorzellen ein auf die Haut begrenzter Tumor induziert, der täglich kontrolliert wird. Der Versuch wird spätestens dann beendet, wenn der Tumor die Tiere in ihrem Bewegungsablauf behindert. Die Mäuse erhalten si-RNA-modifizierte T-Zellen als Injektion und Checkpoint Inhibitoren entweder per Schlundsonde oder als Injektion. Am Ende des Beobachtungszeitraums von maximal 3 Wochen werden die Mäuse sanft getötet und wissenschaftlich relevante Organe werden für Nachuntersuchungen isoliert.

2. Art und Anzahl der Tiere

Maximal 8280 Mäuse von drei verschiedenen Genotypen (für eine Untersuchungszeit von 3 Jahren)

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

Vermeidung: Nach Ausschöpfung aller in vitro Methoden sind zur weiteren Abklärung der Fragestellung Untersuchungen an einem Gesamtorganismus erforderlich. Die Anzahl der benötigten Tierversuche wird durch vorgeschaltete Untersuchungen in der Zellkultur reduziert.

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

Verfeinerung: Das Projekt verwendet ein etabliertes und international akzeptiertes Mausmodell und berücksichtigt alle Anforderungen zur Verbesserung der Untersuchungen wie z. B. eine Verkürzung des Untersuchungszeitraums.

Eine rückblickende Bewertung wird gemäß §30 Abs. 1 Z 1 TVG 2012 nach Abschluss des Projektes (2021) stattfinden.

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

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

Das allgemeine Ziel des Projekts besteht darin, die hormonellen Mechanismen bei der Brutpflege von Tieren besser zu verstehen. Brutpflege ist ein essentieller Bestandteil im Sozialleben vieler Tiere. Dennoch sind die Mechanismen, die diesen Verhaltensweisen zugrunde liegen, meist nur in wenigen Säugetier-Arten erforscht, und das meist unter strengen Laborbedingungen ohne ökologisch relevantem Kontext. Pfeilgiftfrösche sind ideale Modellorganismen, um Hormon-Verhaltens-Interaktionen im elterlichen Verhalten zu untersuchen, angesichts ihrer bemerkenswerten Vielfalt an reproduktivem und sozialem Verhalten, der Tatsache, dass elterliche Fürsorge weder auf Männchen noch auf Weibchen beschränkt und unabhängig von Paarbindung ist, und der Möglichkeit ihr Verhalten sowohl unter natürlichen als auch unter Laborbedingungen untersuchen zu können. Nichtsdestotrotz wissen wir überraschenderweise sehr wenig über die zugrundeliegenden Mechanismen, die bei diesen Fröschen bei ihren elterlichen Entscheidungen eine Rolle spielen. In diesem Projekt wollen wir die Rolle von Hormonen hinsichtlich des Brutpflegeverhaltens untersuchen. Dazu wollen wir einerseits nicht-invasive Hormonmessungen an Fröschen mittels Wasserbad-Extraktion durchführen, die wir zuvor genau validieren müssen. Weiter benötigen wir eine DNA Probe von jedem Individuum, um genetische Elternschaftstests durchführen zu können.

zu erwartender Nutzen: Die Ergebnisse dieses Projekts werden zu einem besseren generellen Verständnis über Mechanismen des Brutpflegeverhaltens von Tieren beitragen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Alle Methoden sind sorgfältig ausgewählt und folgen bereits etablierten Protokollen, was Schaden an den Tieren verhindern soll.

2. Art und Anzahl der Tiere

*Allobates femoralis* (Pfeilgiftfrosch-Art, auch „Glanzschinkel-Baumsteiger“), Laborpopulation geschätzte Maximalzahl: 500 Tiere

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

Vermeidung: Es können für die geplanten Untersuchungen keine Alternativmethoden zum Einsatz kommen. Einerseits gibt es keine andere zuverlässige Möglichkeit, DNA der Tiere zu gewinnen, da es sich bei *Allobates femoralis* um eine sehr kleine Froschart handelt (ca 2 cm Kopf-Rumpf-Länge). Andererseits müssen wir die Validierungen der Hormonmessungen an genau der Tierart durchführen, an der die folgenden (nicht-invasiven) Messungen geplant sind.

Verminderung: Da die Entnahme von Zehenscheiben lediglich dem Sammeln von genetischem Material dient, ist dies auch nur ein einziges Mal für jedes Individuum durchzuführen, und das Risiko

einer doppelten Durchführung ausgeschlossen. Da es sich hier um keine pharmakologische Studie handelt, sind alle verwendeten Substanzen ungiftig und werden in wenigen Stunden bis Tage im Körper der Tiere abgebaut. Es werden nur maximal 3 Durchgänge (Hormon, Hormonblocker, Kontrolle) per Tier durchgeführt, und zwischen den Durchgängen mindestens eine Woche Erholungsphase eingehalten. Zur Minimierung der Zahl der Versuchstiere wird die Stichprobengröße ( $n=10-15$  pro Testgruppe) so gering wie möglich gehalten.

Verfeinerung: Um genetisches Material jedes Individuums zu gewinnen, soll allen Adulttieren jeweils ein kleiner Teil der mittleren Zehenscheibe von beiden Hinterextremitäten entnommen werden. Durch den nur wenige Sekunden dauernden Eingriff, wird die Handhabung pro Tier auf ein Minimum reduziert. Blutungen kommen nur in Ausnahmefällen vor und die Tiere zeigen innerhalb weniger Minuten wieder ihr gewohntes Verhalten (z.B. Territoriales Rufen der Männchen, Balz). Die Regeneration der Zehe setzt nach ca. 2 Monaten ein, und nach einem Jahr sind die Zehenscheiben bis fast zur Gänze nachgebildet. Um die nicht-invasive Wasserbad-Hormonmessungs-Methode zu validieren, sollen adulten Fröschen Hormongaben subcutan in die Bauchhöhle verabreicht werden (Testosteron, Cortisol, Arginin-Vasopressin, Mesotocin, bzw. korrespondierende Hormonblocker). Anschließend wird der jeweilige Hormonlevel mittels Wasserbad-Extraktion ermittelt. Weiters wollen wir den Einfluss dieser Hormone auf das jeweilige Verhalten der Tiere untersuchen. Nach Verabreichung mit einem Hormon, oder dem jeweiligen Hormon-Rezeptor-Blocker, werden die Tiere hinsichtlich verschiedenster Verhaltensweisen (Territorialverhalten, Brutpflegeverhalten) mittels Videoaufzeichnung überwacht und analysiert werden. Da wir an den Auswirkungen von Hormonen auf das natürliche Verhalten der Tiere interessiert sind, liegen sämtliche Hormongaben im natürlichen physiologischen Bereich der Tiere. Wir stützen uns bei der Ermittlung der verwendeten Dosis auf bereits erhobene Messungen in unserer Untersuchungsart im Freiland und auf bereits publizierte Ergebnisse von vergleichbaren Arten.

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

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

Projektziele: Das menschliche Immunsystem schützt uns vor Krankheitserregern. Eine sorgfältige Regulation der Immunantwort ist aber essentiell, weil fehlgeleitete Immunreaktionen die Ursachen vieler immunologischer Erkrankungen sind, wie es z. B. bei Allergie, bei chronisch-entzündlichen Erkrankungen oder auch bei Autoimmunerkrankungen der Fall ist. Daher ist es wichtig, die molekularen Prozesse aufzuklären, die der Regulation der schützenden aber auch der fehlgeleitenden Immunantwort zugrunde liegen. In dem Projekt versuchen wir medizinisch relevante Gene und Proteine zu identifizieren und zu charakterisieren, die Immunzellen regulieren. Durch ein besseres Verständnis der Funktion dieser Faktoren und auch ein Verstehen der molekularen Mechanismen soll es schlussendlich auch möglich sein, neue potentielle Therapieansätze zu identifizieren.

zu erwartender Nutzen: Die im Versuch durchgeführten Experimente werden verwendet, um zu testen, ob immunologische Veränderungen in knockout Mäusen durch zellautonome Defekte in Immunzellen hervorgerufen werden oder durch Veränderungen außerhalb des hämatopoietischen Systems, die dann die Entstehung und Funktion von Immunzellen beeinflussen. Zusätzlich kann die Funktion von Immunzellen, die experimentell hervorgerufene genetische Veränderungen haben, nach Transplantation der Stammzellen und Rekonstitution des Immunsystems untersucht werden. Wir erwarten, dass die Ergebnisse der Experimente die Funktion der untersuchten Gene aufzeigen und auch Hinweise geben, ob die untersuchten Gene geeignete „Zielstrukturen“ für therapeutische Ansätze sind.

zu erwartender Schaden für die Tiere: In dieser in der immunologischen Grundlagenforschung häufig angewandten Methode werden Knochenmarkzellen (inkl. Blutstammzellen) von einer Maus in eine Empfängermaus transplantiert. Die Tiere werden daher bestrahlt, um das körpereigene Immunsystem zu zerstören. Danach bekommen die Tiere eine Knochenmarktransplantation (i.v., unter Narkose) mit Stammzellen. Nach Transplantation und erfolgter Rekonstitution des transplantierten Knochenmarks und der Entstehung eines neuen Immunsystems in der Empfängermaus erholen sich die Tiere aber sehr rasch. Die Tiere werden täglich kontrolliert und bei einem eventuellen Auftreten von vorab definierten Abbruchkriterien aus dem Versuch entfernt.

2. Art und Anzahl der Tiere

Mäuse (*mus musculus*), 1484 Tiere unterschiedlichen Genotyps

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

Vermeidung: Mit unsere Studien haben sich wir uns zum Ziel gesetzt, mit Hilfe transgener Ansätze die Funktionsweise wichtiger immunregulatorischer Moleküle zu identifizieren und dadurch

grundlegende Einblicke in die Regulation des Immunsystems zu gewinnen. Diese komplexen Reaktionen können nicht ausschließlich in einem Zellkulturmodell untersucht werden, weil der Immunantwort komplexe zelluläre Interaktionen zugrunde liegen, die nur in vivo studiert werden können. Deshalb können diese (medizinisch relevanten) Fragestellungen nur unter Einbeziehung eines Tiermodells (d. h. transgener Mäuse) untersucht werden.

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

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

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

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

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

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

2. Art und Anzahl der Tiere

60 Bergschafe

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

Vermeidung: In vitro Untersuchungen und Zelltestungen ohne Tierversuche wurden bereits mit den genannten Materialien durchgeführt. Die Ergebnisse zeigten, dass bei langsamer Degradation des Materials keine Zytotoxizität und gute Biokompatibilität vorhanden ist und das Material gut von den Zellen verstoffwechselt wird. Allerdings kann die Wirkung der Implantate in einem zusammenhängenden Organsystem, bzw. das biomechanische Verhalten der Implantate nur im Tier untersucht werden. Ein finaler Versuch am Großtiermodell zur kombinierten Bestätigung von in

vitro und in vivo Ergebnissen der vorhergehenden Studien ist zur anschließenden Durchführung einer klinischen Studie unumgänglich.

Verminderung: Zur Senkung der Tieranzahl auf ein Minimum, wurde angestrebt möglichst viele Versuche pro Tier in vivo durchzuführen. Durch die nicht invasive und nicht destruktive Untersuchung mittels humanem CT bleibt das Gesamtkollektiv der Versuchstiere bis zum Ende der Studienlaufzeit erhalten und erlaubt eine möglichst geringe, statistisch relevante Anzahl an Tieren. Bei den in vivo Untersuchungen können nämlich Parameter wie die Schnittstelle zwischen Knochen und Implantat, bzw. die Degradation des Implantat-Materials gemessen werden, ohne das Tier opfern zu müssen. Außerdem lässt sich die zeitliche Entwicklung des Implantats im Tier darstellen, wodurch sich die statistische Relevanz erhöht.

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

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

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

Das Ziel dieses Projekts ist es, die Rolle eines Proteins anhand eines Mausmodells in der Entwicklung und Progression von Anaplastischen-Großzelligen Lymphomen zu untersuchen. Dieses Lymphom tritt im Menschen meist bei Kindern und jungen Erwachsenen auf und wird in 50% aller Fälle von einem Tumor förderndem Fusionsprotein verursacht. Unser Labor konnte in mehreren Vorversuchen ein Protein identifizieren, das eine bedeutende Rolle in der Lymphom Entstehung und Progression spielt. In dem vorliegenden Tierversuchsantrag untersuchen wir nun die Auswirkung unseres Proteins auf die untergeordnete Signaltransduktionskette und versuchen den molekularen Wirkungsmechanismus unseres identifizierten Signalweges zu entschlüsseln. In den jetzt geplanten Tierversuchen, sollen 3 wichtige Fragen geklärt werden: 1. Kann Lymphomentstehung durch zusätzlichen Knockout des identifizierten Signaltransduktionswegs verlangsamt werden? 2. Kann in murinen Krebs Transplantationsmodellen mit menschlichen Zellen, die einen knockout unseres Signaltransduktionsweges tragen die Krebsentstehung verhindert werden? Können neuartige Inhibitoren des identifizierten Signaltransduktionsweges die Krebsentstehung in Maus Transplantationsmodellen mit menschlichen Lymphomzellen verhindern? Unsere Ergebnisse aus dieser Studie haben einen besonders wichtigen Einfluss auf die Humanmedizin, da daraus eine neue Therapie für die Lymphombehandlung erwartet werden kann.

zu erwartender Nutzen: Dieses Projekt hat direkten Einfluss auf die menschliche Gesundheit, da basierend auf unseren Vordaten eine neue Therapieform zur Behandlung von Lymphomen entstehen könnte. Unsere Experimente werden unterstützend in der Klärung des molekularen Signalwegs und der Wirkungsweise der in Kombinationstherapie verwendeten Medikamente sein.

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

2. Art und Anzahl der Tiere

Mäuse unterschiedlichen Genotyps: Gesamtzahl der Mäuse für experimentelle Studien für 5 Jahre  
Studiendauer: insgesamt 900 Mäuse

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

Vermeidung: Durch vorherige Durchführung von Laborversuchen, Auswertungen von bereits vorhandenen humanen Daten und Überlebensstatistiken von Patientendaten konnte bereits eine

Beteiligung des zu untersuchenden Signaltransduktionsweges in der Lymphomentstehung festgestellt werden. Unser Ziel ist es, so viele Experimente wie möglich in Maus und/oder humanen Zelllinien mittels gentechnischen Manipulationsmethoden durchzuführen um die Anzahl an tatsächlichen Versuchstieren gering zu halten.

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

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

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

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

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

Ziel der Studie: In diesem Projekt soll ein Mausmodell der Amyotrophen Lateralsklerose (ALS) mit spätem Phänotyp ab einem Alter von 24 Wochen mit Hilfe verschiedener Verhaltenstests und histologischen Analysen auf seinen Phänotyp untersucht werden. Es wird eine Analyse der Überlebensrate der Tiere durchgeführt und das Tier bei Erreichen eines Abbruchkriteriums umgehend euthanasiert. Der langsamere progressive Krankheitsverlauf dieser Linie kann ein besseres Modell für die Untersuchung früher Stadien von ALS darstellen. Damit wird es möglich sein die Entwicklung neuer Substanzen für die präventive Therapie und die Therapie in den frühen Phasen der Krankheit zu fördern.

Schaden: Durch das SOD<sub>1</sub> Transgen entwickeln die Tiere einen späten, dann jedoch einen schweren motorischen Phänotyp. Ein Teil der Tiere wird bis zum Erreichen eines humanen Endpunkts gehalten. Bei den nicht-transgenen Gruppen entfällt der Phänotyp. Durch die wiederholte Verwendung der motorischen Tests Wire Suspension, Grip Strength, Beam Walk und Rota Rod werden die Tiere nur geringem Stress, aber keinen Schmerz oder Leid ausgesetzt. Bei transgenen Tieren kann der Stress etwas höher ausfallen, da sie durch den Phänotyp Probleme haben könnten die motorischen Tests durchzuführen. Der Pasta Gnawing Test stellt für die Tiere keinen Stress, Schmerz oder Leid dar, sondern kann sogar als mildes Enrichment angesehen werden. Die einmalige intraperitoneale Injektion der finalen Narkose erzeugt bei den Tieren nur geringen Stress und Schmerz, aber kein Leid.

Nutzen: Das in dieser Studie untersuchte Mausmodell für ALS zeigt einen weniger aggressiven Krankheitsverlauf. Durch dieses Modell wird vor allem die Entwicklung neuer Substanzen für die präventive Therapie und die Therapie in den frühen Phasen der Krankheit gefördert. Ein besseres Verständnis dieses Modells ermöglicht die Austestung neuer Substanzen mit möglichst geringen Tierzahlen und kürzeren Behandlungsdauern.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden 100 transgene Mäuse und 80 nicht transgene Geschwistertiere verwendet.

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

Replace: Um Medikamente gegen die Amyotrophe Lateralsklerose zu testen, ist es erforderlich auf Tiermodelle zurück zu greifen. Ersatzmethoden wie z. B. Zellkulturen können zwar Ansätze liefern, für weitere Schritte müssen jedoch Tiermodelle zum Einsatz kommen um möglichst vergleichbare Resultate zum Menschen zu erzielen. Um einen weiteren Fortschritt in der Erforschung dieser Erkrankung zu sichern, ist es unerlässlich die bestehenden Modelle stetig zu verbessern und zu erweitern.

Reduce: In dieser Studie sollen pro transgener Gruppe 50 Tiere und pro Wildtyp Gruppe 40 Tiere verwendet werden, welche nach Geschlecht aufgeteilt sind. Die Gruppengröße ist bedingt durch die Aufteilung der Studie in einen Gewebeentnahme-Teil und einen Survival-Teil. Zusätzlich wurde die meist hohe Variabilität bei der Bestimmung der Überlebensrate und die Einberechnung von Ersatztieren bedacht.

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 bzw. mit den jeweiligen Versuchsapparaten vertraut gemacht, um unerwünschte, stressbedingte, falschpositive bzw. falschnegative Ergebnisse zu vermeiden. Gleichgeschlechtliche Tiere werden zusammen im Käfig gehalten, soweit es die Tierzahl erlaubt. Dadurch verbleiben die Tiere in ihrem Familienverband und zusätzlicher psychischer Stress, z. B. von neuerlichen Revierkämpfen oder der Vereinzelung, wird vermieden. Gesundheitszustand: Generell gilt des Weiteren, dass zur Durchführung des Tierversuchs nur Tiere verwendet werden, deren Gesundheitszustand einwandfrei ist. Alle Tiere stehen unter ständiger tierärztlicher Kontrolle. Erkrankte bzw. verletzte Tiere werden in einem Patientenblatt vermerkt und täglich auf Ihren Gesundheitszustand kontrolliert. Leidet ein Tier an Symptomen wie Verletzungen, Umfangvermehrung oder Anämie wird der Tierarzt so rasch wie möglich informiert und entscheidet über Behandlung oder Euthanasie. Schulungen: Es soll festgehalten werden, dass die Versuche von den Personen erst nach Abschluss eines ausführlichen Trainings in den unterschiedlichen Techniken, Injektionen, Gesundheitskontrolle usw. durchgeführt werden dürfen. So soll gewährleistet werden, dass die Methoden ordnungsgemäß durchgeführt werden und die Tiere keinem zusätzlichen Stress ausgesetzt sind.

Eine „rückblickende Bewertung“ wird gemäß § 30 TVG 2012 bis längstens 30. September 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

Ziel der Studie: In diesem Projekt sollen männliche Wistar Han IGS Ratten einmalig mit einer Testsubstanz behandelt werden. Anschließend werden histologische und biochemische Analysen der Gehirne durchgeführt. Dabei werden die Lokalisation der neuronalen Aktivierung und die Beziehung der Intensität mit der Dosierung der Substanz beobachtet und mit der Aktivierung durch Kontrollsubstanzen verglichen. Die Testsubstanz wird bereits in klinischen Studien der Phase 2a getestet. Durch diese Studie wird es möglich sein, das bisherige Wissen über die Substanz zu erweitern und somit ihre Entwicklung für die Therapie von Prader-Willi-Syndrom zu fördern.

Schaden und Nutzenabklärung: Die einmalige subkutane Behandlung stellt für die Tiere nur geringen Stress und/oder Schmerz dar. Auch die intraperitoneale Behandlung erzeugt bei den Tieren nur geringen Stress und/oder Schmerz. Da die Testsubstanz bereits in klinischen Studien getestet wird, kann davon ausgegangen werden, dass es zu keinen oder nur geringen Nebenwirkungen kommt. Durch die Euthanasie der Tiere 90 Minuten nach der Behandlung kommt es voraussichtlich auch durch die Kontrollsubstanzen zu keinen oder nur zu geringen Nebenwirkungen. Während der 90 min wird den Tieren das Futter entzogen, der Wasserzugang bleibt jedoch ad libitum. Das kann unter Umständen bei den Tieren geringen Stress auslösen, aber keinen Schmerz oder Leiden. Am Ende der 90 min werden die Tiere mittels intraperitonealer Pentobarbitalinjektion euthanasiert und Gewebe entnommen. Diese Tötungsmethode stellt für die Tiere nur geringen Stress und/oder Schmerz dar, da sie schnell das Bewusstsein verlieren.

Durch diese Studie wird es möglich sein die neuronale Aktivierung durch die Testsubstanz genauer zu beschreiben und somit die Weiterentwicklung dieser für die Therapie von Prader-Willi-Syndrom zu fördern.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie werden insgesamt 84 männliche Wistar Han IGS Ratten beantragt.

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

Replace: Um neue Medikamente gegen endokrine Erkrankungen weiterzuentwickeln, 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 6-8 Tiere verwendet werden. Diese Gruppengrößen sind für die aussagekräftige Analyse der Gewebe notwendig und 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 Studie durch so genanntes „Handling“ mit den involvierten Personen bzw. mit den jeweiligen Versuchsapparaten vertraut gemacht, um unerwünschte, stressbedingte, falschpositive bzw. falschnegative Ergebnisse zu vermeiden. Gleichgeschlechtliche Tiere werden zusammen im Käfig gehalten, soweit es die Tierzahl erlaubt. Dadurch verbleiben die Tiere in ihrem Familienverband und zusätzlicher psychischer Stress, z. B. von neuerlichen Revierkämpfen oder der Vereinzelnung, wird vermieden. Gesundheitszustand: Generell gilt des Weiteren, dass zur Durchführung des Tierversuchs nur Tiere verwendet werden, deren Gesundheitszustand einwandfrei ist. Alle Tiere stehen unter ständiger tierärztlicher Kontrolle. Leidet ein Tier an Symptomen wie Verletzungen, Umfangsvermehrung oder Anämie wird der Tierarzt so rasch wie möglich informiert und entscheidet über Behandlung oder Euthanasie. Schulungen: Es soll festgehalten werden, dass die Versuche von den Personen erst nach Abschluss eines ausführlichen Trainings in den unterschiedlichen Techniken, 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): Grundlagenforschung

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

Das Projekt zur Erforschung der Rolle eines Entzündungsfaktors bei der Entstehung thrombotischer Blutgefäßkrankungen baut auf Ergebnisse eines bereits bestehenden Antrages auf. Die neu hinzugefügten Experimente sollen spezifische Fragestellungen zu Gefäßverkalkung, Entstehung von Blutgefäßen, Lipid-Metabolismus und Plättchenfunktion mithilfe unserer derzeitigen genehmigten Mausstämme beantworten. Kardiovaskuläre Erkrankungen sind die weltweit häufigste Todesursache (WHO-Bericht 2015) und die Erforschung der zugrunde liegenden Mechanismen ist essentiell für deren Prävention und Behandlung. Die Untersuchung der Interaktion zwischen Hepatozyten (Leberzellen) und Thrombozyten (Blutplättchen) ist für viele Forschungsbereiche (Hepatologie, Atherosklerose, Lipidmetabolismus und Thromboseforschung) relevant und kann deren Weiterentwicklung signifikant vorwärtstreiben. Die Erkenntnisse aus diesem Projekt sollen dazu dienen neue Therapieansätze zu entwickeln, die im Speziellen die entzündungsvermittelte Auslösung pathologischer Blutgerinnung betreffen. Dabei sollen die Rollen von Endothelzellen, glatten Muskelzellen und Abwehrzellen untersucht werden, wie auch die Bedeutung von Blutplättchen und deren Vorläuferzellen, den Megakaryozyten. In weiterer Hinsicht sollen dadurch Strategien aufgebaut werden, wie man in thrombotische Krankheitsprozesse therapeutisch eingreifen kann ohne die normale Blutgerinnung zu beeinträchtigen.

zu erwartender Nutzen: Wir erwarten tiefere Einblicke in die molekularen und zellulären Zusammenhänge zwischen Entzündungsprozessen, (Gefäßverkalkung und thrombotischen Krankheitsbildern unter Berücksichtigung von Endothelzellen, Abwehrzellen und anderer Komponenten des Blutgefäßsystems. Dadurch sollen neue Ansätze zur Behandlung oder Prävention thrombo-inflammatorischer Krankheitsprozesse entwickelt werden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Den Tieren wird unter Betäubung Blut abgenommen, sie werden unter Narkose unterschiedlichen Reizen ausgesetzt, und ihnen werden die verschiedenen Substanzen verabreicht, welche die Entzündungsprozesse beschleunigen. Weiters wird ihr Stoffwechsel untersucht.

2. Art und Anzahl der Tiere

928 Mäuse

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

Vermeidung: Diese Studien können nur an Tieren durchgeführt werden, da nur in diesen die komplexen Wechselwirkungen zwischen den verschiedenen Zelltypen und Blutgefäß-Strukturen in natürlicher Weise vorhanden sind. Um eine unnötige Wiederholung der Experimente durch andere Arbeitsgruppen zu vermeiden, werden unsere Ergebnisse in internationalen Fachzeitschriften

publiziert und auf Kongressen präsentiert. Der kostenlose, uneingeschränkte Zugang zu den Journalen ist gewährleistet, da wir unsere Ergebnisse als „Open-Access“ Artikel publizieren. Die erhobenen Daten werden in öffentlich zugänglichen Datenbanken gespeichert (GEO: Gene Expression Omnibus Datenbank der National Library of Medicine, USA; PRIDE-Datenbank des EMBL-EBI Konsortiums). Dadurch sollen Tierversuche anderer Forschungsgruppen vermieden werden.

Verminderung: Die benötigte Tieranzahl wurde mittels Fallzahlberechnung so gering wie möglich kalkuliert, wobei eine Verminderung durch begleitende statistische Analysen angestrebt wird. Des Weiteren wird eine möglichst niedrige Anzahl der eingesetzten Tiere durch eine Standardisierung gewährleistet bei der die experimentelle Variabilität minimiert wird. Um das zu erreichen werden Tiergruppen verglichen, bei denen eine genau definierte genetische Veränderung vorliegt, aber abgesehen davon alle anderen Faktoren, wie etwa Alter, genetischer Hintergrund und Haltungsbedingungen, gleich sind. Die Veröffentlichung unserer Forschungsergebnisse in frei zugänglichen Journalen und Datenbanken dient auch einer Reduktion von Tierexperimenten, durch Vermeidung unnötiger Wiederholungen.

Verfeinerung: Die Haltung der Tiere erfolgt nach den FELASA Richtlinien in einem „enriched environment“ und die Versuche werden von hochqualifiziertem Personal durchgeführt, wodurch eine Verfeinerung (refinement) der Tierversuche erreicht wird.

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

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

Auf Grund der anatomischen Gegebenheiten bietet die Lunge 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 MRP<sub>1</sub> (multidrug resistance associated protein 1, ABCC<sub>1</sub>), P-gp (P-glykoprotein, ABCB<sub>1</sub>) und BCRP (breast cancer resistance protein, ABCG<sub>2</sub>). Ziel dieses Projektes ist es die Bedeutung von ABC-Transportern für die komplexe Pharmakokinetik der inhalativen Verabreichung zu untersuchen und möglichst exakt zu beschreiben. Als Methodik zur Bestimmung der Pharmakokinetik sollen Positronenemissions-Tomographie(PET)-Scans dienen. Die erhaltenen Bilder erlauben es einen sogenannten Tracer (eine beliebige Substanz an die ein radioaktives Nuklid gekoppelt wurde) im Körper über die Zeit zu verfolgen. So kann die Pharmakokinetik von inhalierten Substanzen in der Lunge bestimmt werden. In diesem ersten Teil dieses großangelegten Projekts soll die Rolle des Transporters ABCC<sub>1</sub> (MRP<sub>1</sub>) genauer untersucht werden. Insgesamt sollen noch 2 weitere Transporter (ABCB<sub>1</sub>, P-gp und ABCG<sub>2</sub>, BCRP), sowie eine eventuelle klinische Anwendung der inhalativen Applikation des Antibiotikums Ciprofloxacin untersucht werden. Da hier auch neue Methoden, vor allem im Zusammenhang mit PET-Scans, etabliert werden müssen, fiel die Wahl auf ABCC<sub>1</sub>, um damit zu beginnen. Im Gegensatz zu den anderen Transportern ist ABCC<sub>1</sub> auch in den oberen Atemwegen zu finden, wodurch die Aussicht auf einen raschen Erfolg trotz der zu erwartenden technischen Probleme sehr wahrscheinlich ist. Erst nach der Etablierung der neuartigen Methodik werden die anderen Transporter untersucht, die nur in den unteren Atemwegen (Alveolen) nachgewiesen wurden. Zum Einsatz kommt ein für ABCC<sub>1</sub> spezifischer Tracer. Er wird unter Allgemeinanästhesie intratracheal in einer sehr kleinen Tröpfchengröße appliziert und dann wird das behandelte Tier in den PET-Scanner transferiert und gemessen. Diese Ergebnisse sollen einen Rückschluss auf die Pharmakokinetik in der Lunge geben.

Zu erwartender Nutzen: Der zu erwartende Nutzen ist, einen tieferen Einblick auf darauf zu haben, wie ABCC<sub>1</sub> die Pharmakokinetik von Medikamenten die über den Atmungstrakt verabreicht werden beeinflusst. 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. Nur bei einer Versuchsgruppe (8 Tiere) wird zuerst ein sogenannter Inhibitor direkt in die Bauchhöhle 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

80 Ratten

## 3. Erfüllung der „3R“ (Replacement, Reduction, Refinement)

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

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

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

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

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

Lumbale Querschnittsverletzungen, die zu einer sakralen/infrasakralen Blasendysfunktion führen, machen ca. 1/3 der Querschnittsverletzungen aus. Aufgrund der Läsion des spinalen Reflexzentrums im Sakralrückenmark kommt es zu einer Retentionsblase mit Überlaufinkontinenz. Der akontaktile Detrusor und ein neurogen überaktiver externer urethraler Sphinkter definieren diese Blasenpathologie im Menschen. Ein entsprechendes Tiermodell, mittels dem die funktionellen und strukturellen Veränderungen im unteren Harntrakt nach lumbaler Querschnittsläsion untersucht und zu den Ergebnissen im Menschen korreliert werden können, gibt es in dieser Form noch nicht. Die wenigen Publikationen, die eine lumbale Querschnittsverletzung im Rattenmodell untersucht haben, konzentrierten sich auf die motorischen Veränderungen. Das Ziel dieses Tierversuches ein Ratten-Querschnittsmodell mit lumbaler Läsion zu entwickeln und dabei das Hauptaugenmerk auf die funktionellen und strukturellen Veränderungen der Harnblase (mittels implantiertem Dauerkatheter) in einem zweimonatigen Nachuntersuchungszeitraum zu legen. Weitere Fragestellungen die mit diesem Tierversuch abgedeckt werden sollen sind: Definition der exakten Lage des sakralen Reflexzentrums im Rattenstamm Lewis mittels anterograden (ausgehend vom pontinen Miktionszentrum) und retrograden (ausgehend vom Harnblasenmuskel und externen urethralen Sphinkter) Markierungen. Veränderungen der Blasendysfunktion bei kompletter Transektion oder mittlerer bis schwerer Kontusion des lumbalen Rückenmarks. Korrelation der Blasendysfunktion auf lumbaler Höhe im Vergleich zur Standardläsionshöhe T9. Daten zur T9 Querschnittsverletzung (Transektion) liegen uns aufgrund unseren bereits durchgeführten Studien vor. Definierung der motorischen Veränderungen nach lumbaler Querschnittsverletzung (Transektion und Kontusion) im Vergleich zur Literatur und zur Standardläsionshöhe T9.

zu erwartender Nutzen: Entwicklung eines standardisierten und gut umschriebenen lumbalen Querschnittsmodell in der Ratte sowie die umfassende Beschreibung der Veränderungen der Harnblase in der Nachverfolgungszeit. Ziel ist es mit diesem neuen Modell neue zukünftige vielversprechende Therapieoptionen für die Blasendysfunktion nach lumbalem Querschnitt zu entwickeln.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere werden einer lumbalen Querschnittsoperation unterzogen, um in einer 2-monatigen Nachverfolgungszeit die Veränderungen der Blasenfunktion zu dokumentieren.

2. Art und Anzahl der Tiere

65 Ratten

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

Vermeidung: Um Erkenntnisse über die Auswirkungen eines lumbalen Querschnitts auf die Harnblasenfunktion in Ratten zu erhalten, ist ein Überlebensmodell in Ratten notwendig. Eine zukünftig komplette Vermeidung von Tierversuchen wird durch diesen Versuch nicht erzielt.

Verminderung: Durch die Etablierung dieses neuen Modelles und der umfassenden funktionellen Charakterisierung können für zukünftige Anträge die Tierzahlen exakt berechnet werden. Dies wird zu einer Reduktion der Tiere pro Gruppe sowie einer gezielteren Planung des Studiendesigns und der Hauptzielparameter führen.

Verfeinerung: Die Querschnittsverletzung sowie die Implantation des Blasenverweilkatheters erfolgen in allgemeiner Narkose. Die Narkose gemäß den Richtlinien für Nagetiere wird sorgfältig überwacht. Durch die analgetischen Maßnahmen und einer antibiotischen Abschirmung sollen Schmerzen und Infektionen (insbesondere Wundinfektionen bei der Katheteraustrittsstelle sowie an der Rückenmarks-verletzung) vermieden werden. Eine tägliche mehrfache Kontrolle durch Projektmitarbeiter wird zur Überprüfung des Gesundheitszustandes durchgeführt. Dabei werden die Tiere eingehend auf jegliche Anzeichen von Schmerzen, Infekten oder Verletzungen überprüft. Die Unterbringung der verletzten Tiere wird an ihre Bedürfnisse angepasst. Sollte es wider Erwarten zu unvorhersehbaren Nebenerscheinungen wie zum Beispiel akuten schwerwiegenden Infektionen, starker Gewichtsverlust oder dem Verlust des Katheters kommen, wird die Euthanasie erfolgen.

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

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

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

Ziel der Studie: Ziel dieser Studie ist die Testung eines Sphingosine-1-Phosphatrezeptor 5 Agonisten auf die Pathologie der Niemann-Pick Krankheit. Für diese Studie werden homozygote NPC1<sup>-/-</sup> Tiere sowie wildtyp Tiere ab einem Alter von 8 Tagen für die Dauer ihres Lebens mit unterschiedlichen Konzentrationen der Substanz behandelt und die Auswirkung auf die motorischen Defizite der Tiere untersucht. Die Tiere werden auf ihre Überlebensrate analysiert.

Schaden und Nutzenabklärung: Den Tieren wird im Alter von 7 Tagen der Zehenphalanx für die Genotypisierung und Identifizierung amputiert. Dieser Eingriff kann laut Literatur ohne Narkose durchgeführt werden und sollte daher bei den Tieren nur leichten Schmerz oder Leid auslösen. Durch die 1-2 Mal tägliche, subkutane oder orale Behandlung der Tiere ab einem frühen Alter, gewöhnen sich die Tiere schnell an die Prozedur, so dass sich der Stress für die Tiere mit der Zeit reduziert. Die einmalige in vivo Blutentnahme stellt für die Tiere geringen Stress und Schmerz dar. Der Beam Walk Test und Wire Suspension Test stellen für die Tiere geringen bis mittleren Stress dar, da sie auf Grund von motorischen Defiziten vom Apparat herunterfallen könnten. Ein Fall würde jedoch keine Schmerzen auslösen. Aufgrund der Survivalanalyse der NPC1<sup>-/-</sup> Mäuse kommt es zur Ausbildung von Niemann-Pick-Krankheits-spezifischen Defiziten, die in den Tieren Stress, Schmerz und somit Leiden auslösen können. Durch die Verwendung von Score Sheets wird der Stress, Schmerz und das Leiden jedoch auf ein Minimum reduziert. Durch diese Studie wird es möglich sein die Wirkung dieses Sphingosine-1-Phosphatrezeptor 5 Agonisten auf die Pathologie der Niemann-Pick Krankheit zu untersuchen und dadurch die Entwicklung dieses Wirkstoffs zur Zulassung als Medikament in der Klinik zu fördern.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie werden insgesamt 120 Mäuse beantragt (100 NPC1<sup>-/-</sup> und 20 wt Mäuse).

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

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

Verminderung: Da die Variabilität von Verhaltenstests und Survivalanalysen recht hoch ist, muss die Gruppengröße relativ hoch gewählt werden. Es werden weibliche und männliche Tiere getestet, geschlechtsspezifische Unterschieden werden jedoch nicht erwartet.

Verbesserung: Stressminimierung: An dieser Stelle soll ausdrücklich festgehalten werden, dass der Tierversuch unter Vermeidung aller mit dem Versuchszweck nicht notwendig verbundenen Belastungen durchgeführt wird. Die Tiere werden bereits vor Beginn der Studie durch so genanntes „Handling“ mit den involvierten Personen bzw. mit den jeweiligen Versuchsapparaten vertraut gemacht, um unerwünschte, stressbedingte, falschpositive bzw. falschnegative Ergebnisse zu vermeiden. Gleichgeschlechtliche Tiere werden zusammen im Käfig gehalten, soweit es die Tierzahl erlaubt. Dadurch verbleiben die Tiere in ihrem Familienverband und zusätzlicher psychischer Stress, z. B. von neuerlichen Revierkämpfen oder der Vereinzelnung, wird vermieden. Gesundheitszustand: Generell gilt, dass zur Durchführung des Tierversuchs nur Tiere verwendet werden, deren Gesundheitszustand einwandfrei ist. Alle Tiere stehen unter ständiger, tierärztlicher Kontrolle. Erkrankte oder verletzte Tiere werden gegebenenfalls in einem separaten Quarantänerraum untergebracht und beobachtet. Leidet ein Tier an Symptomen wie Verletzungen, Umfangsvermehrung oder Anämie wird der Tierarzt so rasch wie möglich informiert und entscheidet über Behandlung oder Euthanasie. Schulungen: Es soll festgehalten werden, dass die Versuche von den Personen erst nach Abschluss eines ausführlichen Trainings in den unterschiedlichen Techniken, Injektionen, Gesundheitskontrolle usw. durchgeführt werden dürfen. So wird gewährleistet, dass die Methoden ordnungsgemäß durchgeführt werden und die Tiere keinem zusätzlichen Stress ausgesetzt sind.

Eine „rückblickende Bewertung“ wird gemäß § 30 TVG 2012 bis längstens 31. Juli 2022

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

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

Wir wollen die tumorsuppressive Wirkung von Fasten, Fasten-nachahmende Diäten und Kalorienrestriktions-Mimetika bei aggressiven Lymphomen (=Lymphdrüsenkrebs) untersuchen. Im Detail wollen wir klären, ob diese suppressive Wirkung durch einen nukleären Rezeptor mediiert sein kann. Unsere transgenen Mäuse entwickeln im Schnitt zwischen 12-16 Wochen Lymphome. Wir wollen durch Fasten, Fasten-nachahmende Diäten und Kalorienrestriktions-Mimetika mit diesen transgenen Tieren mit und ohne Knockout des entsprechenden Transkriptionsfaktors die Entwicklung der Lymphome im Vergleich zu „normal“ gefütterten Mäusen, die dasselbe Transgen tragen, untersuchen. Zudem werden immunkompetente Mäuse mit Mauslymphomzellen mit Knockout des entsprechenden Transkriptionsfaktors transplantiert und den oben genannten ernährungstechnischen Interventionen unterzogen. Auch hier wird die Entwicklung der Lymphome im Vergleich zu „normal“ gefütterten Mäusen, denen dieselben Lymphomzellen transplantiert werden, ermittelt.

zu erwartender Nutzen: Der Versuch dient der in vivo Charakterisierung bis dato unbekannter tumorsuppressiver Wirkung von Fasten, Fasten-nachahmende Diäten und Kalorienrestriktions Mimetika in der Entstehung und Progression von aggressiven Lymphomen. In weiterer Folge könnte diese Intervention in der Behandlung von aggressiven Lymphomen Einsatz finden. Die Versuchsanordnung wird unter Bedachtnahme des größtmöglichen Schutzes der Labortiere durchgeführt.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die transgenen Mäuse entwickeln ohne Manipulation zu 90% innerhalb des ersten Lebensjahres ein aggressives B-Zelllymphom, welches wie beim Menschen meist asymptomatisch verläuft. Nach Entwicklung des Lymphoms wird das kranke Tier mittels zervikaler Dislokation unter Narkose euthanasiert, um Schmerzen zu vermeiden.

2. Art und Anzahl der Tiere

Hierfür werden insgesamt 498 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.

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

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

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

Altersbedingte Demenz und kognitive Beeinträchtigungen sind ein gravierendes Problem in industriellen Gesellschaften mit hoher Lebenserwartung. Kognitive Funktionen können durch eine Reihe von chemischen Verbindungen, die in der Lage sind die Funktion des Dopamin-Transporters (DAT) zu beeinflussen, verbessert werden. Der Dopamintransporter ist für die Wiederaufnahme ausgeschütteten extrazellulären Dopamins in die Synapsen verantwortlich. Eine Inhibition des DAT führt demnach zu einer langfristigen Erhöhung extrazellulären Dopamins, das dann durch Bindung an die Dopaminrezeptoren zu einer Steigerung der Lern- und Gedächtnisleistung führen kann. Der Typ 1 Dopaminrezeptor (DiR) ist hierbei von besonderer Bedeutung. Bislang werden allerdings Substanzen verwendet die relativ unspezifisch nicht nur DAT inhibieren oder den DiR aktivieren, sondern auch den Noradrenalin- und Serotonintransporter oder andere Dopaminrezeptoren, was zu unerwünschten Nebeneffekten des allgemeinen Erregungszustandes oder zu depressiven Schüben führen kann. Die Untersuchungen dienen dazu, diese Nebenwirkungen zu vermeiden. Dazu werden nach Beendigung der Experimente Veränderungen von gedächtnisrelevanten Rezeptorkomplexen untersucht, um die gedächtnisverbessernden Mechanismen auch auf der molekularen Ebene zu verstehen. Zusätzlich werden die Substanzen an zwei Mausmodellen kognitionsvermindernder menschlicher Erbkrankheiten (Angelman-Syndrom und Fragile X Syndrom), die Veränderungen des dopaminergen Systems zur Folge haben, im Lernmodell getestet.

zu erwartender Nutzen: Es werden neue spezifische Verbindungen synthetisiert, die geeignet sind, die Lern- und Gedächtnisleistungen bei gleichzeitiger Vermeidung neurologischer Nebenwirkungen zu verbessern.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Neben den Verhaltensversuchen werden auch neuronale Reaktionen erfasst. Während der Untersuchungen sind keine physiologischen (Stresshormone) oder Verhaltensänderungen zu erkennen, die auf Schmerzen hinweisen. Im weiteren Verlauf wird die Lern- und Gedächtnisleistung der Tiere untersucht, bei diesen Untersuchungen muss die Schmerzfreiheit Bedingung sein.

2. Art und Anzahl der Tiere

Ratten (Sprague Dawley): 892

Mäuse: 100

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

Vermeidung: Die Vielzahl der synthetisierten Substanzen wird zunächst in Zellkulturen auf ihre Spezifität und Effektivität zur Dopaminwiederaufnahme getestet. Ausschließlich die

vielversprechendsten Substanzen werden dann in vivo im wachen, freibeweglichen und lernenden Tier getestet. Die Verhaltens- und Gehirnkplexität der Ratte sind nötig, um Rückschlüsse auf den Menschen zu erlauben. Die hippokampale LTP wird wesentlich durch extra hippokampale Strukturen beeinflusst, deren Afferenzen jedoch in postmortalen Schnittpräparaten nicht feststellbar sind.

Verminderung: Die Anzahl der Tiere wird durch die statistische Absicherung der Ergebnisse und der erforderlichen Experimental- und Kontrollgruppen vorgegeben. Ersteres erfordert eine ausreichende Stichprobengröße der einzelnen Gruppen, letzteres erfordert eine genügende Anzahl von Gruppen, um interferierende Faktoren, die auf die Ergebnisse Einfluss nehmen können, auszuschließen. Die Anzahl der Gruppen wird auf das nötigste beschränkt.

Verfeinerung: Unter unseren Versuchsbedingungen sind bei den Tieren postoperativ keine Anzeichen von Schmerzen (Stresshormone, Verhaltensänderungen) zu erkennen.

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. 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 zur Behandlung von Krebserkrankungen. Ziel ist es dabei, die für Krebszellen wichtigen zellulären Prozesse auf verschiedenen Wegen zu blockieren.

Zu erwartender Nutzen: 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: Die Tiere werden in diesen Versuchen einer mittleren Belastung ausgesetzt.

2. Art und Anzahl der Tiere

8.390 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 Tumorzellen, als besonders erfolgsversprechend bewertet werden. Eine Vermeidung des beantragten Tierversuches ist nicht möglich, da die komplexen Zusammenhänge zwischen neuen Therapeutika, Immunsystem und einem Tumor sich derzeit nur in einem Gesamtorganismus (in vivo) untersuchen lassen.

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. 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 geringst mögliche 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 von „score sheets“), 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.

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. 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 zur Behandlung von Krebserkrankungen. Ziel ist es dabei, die für Krebszellen wichtigen zellulären Prozesse auf verschiedenen Wegen zu blockieren.

zu erwartender Nutzen: 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: Die Tiere werden in diesen Versuchen einer schweren Belastung ausgesetzt.

2. Art und Anzahl der Tiere

8.389 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 Tumorzellen, als besonders erfolgsversprechend bewertet werden. Eine Vermeidung des beantragten Tierversuches ist nicht möglich, da die komplexen Zusammenhänge zwischen neuen Therapeutika, Immunsystem und einem Tumor sich derzeit nur in einem Gesamtorganismus (in vivo) untersuchen lassen.

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. 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 geringst mögliche 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 von „score sheets“), 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 (2021) erfolgen.

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. 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.

Die Tiere werden in diesen Versuchen einer schweren Belastung ausgesetzt.

2. Art und Anzahl der Tiere

14.047 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 Tumorzellen, als besonders erfolgsversprechend bewertet werden. Eine Vermeidung des beantragten Tierversuches ist nicht möglich, da die komplexen Zusammenhänge zwischen neuen Therapeutika, Immunsystem und einem Tumor sich derzeit nur in einem Gesamtorganismus (*in vivo*) untersuchen lassen.

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. 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 geringst mögliche 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 von „score sheets“), 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 (2021) erfolgen.

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 werden 4L/PS-NA Tiere sowie Wildtyp Tiere ab einem Alter von 8 Tagen bis zu einem Alter von 5 Wochen mit einem Sphingosine-1-Phosphatrezeptor 5 Agonisten, einer Positivsubstanz oder einem Vehikel behandelt und der Substanzeffekt miteinander verglichen. Die Gehirne werden dem Auftraggeber zur biochemischen und histologischen Analyse zur Verfügung gestellt. Ziel dieser Studie ist die Testung eines Sphingosine-1-Phosphatrezeptor 5 Agonisten auf die Pathologie der Gaucher Krankheit.

Schaden und Nutzenabklärung: 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.10-12 Wochen erste schwache motorische Defizite auf. Da die hier verwendeten Tiere bereits vor im Alter von 5 Wochen euthanasiert werden, ist die Wahrscheinlichkeit somit sehr gering, dass bereits motorische Defizite auftreten. Den Tieren wird im Alter von 5-7 Tagen der Zehenphalanx für die Genotypisierung und Identifizierung amputiert. Dieser Eingriff kann laut Literatur ohne Narkose durchgeführt werden und sollte daher bei den Tieren nur leichten Schmerz oder Leid auslösen. Durch die 1-2 Mal tägliche, subkutane, orale bzw. intraperitoneale Behandlung der Tiere ab einem frühen Alter, gewöhnen sich die Tiere schnell an die Prozedur, so dass sich der Stress für die Tiere mit der Zeit reduziert.

Durch diese Studie wird es möglich sein die Wirkung dieses Sphingosine-1-Phosphatrezeptor 5 Agonisten auf die Pathologie der Gaucher Krankheit zu untersuchen und dadurch die Entwicklung dieses Wirkstoffs zur Zulassung als Medikament in der Klinik zu fördern.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie werden insgesamt 80 Mäuse beantragt, 60 4L/PS-NA Mäuse und 20 C57BL/6 wildtyp Mäuse.

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

Vermeidung: 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.

Verminderung: In dieser Studie sollen pro Gruppe 20 Tiere verwendet werden. Diese Gruppengröße ist erforderlich, da eine große Anzahl an biochemischen und histologischen Untersuchungen vom Auftraggeber durchgeführt werden sollen.

Verbesserung: Stressminimierung: An dieser Stelle soll ausdrücklich festgehalten werden, dass der Tierversuch unter Vermeidung aller mit dem Versuchszweck nicht notwendig verbundenen Belastungen durchgeführt wird. Die Tiere werden bereits vor Beginn der Studie durch so genanntes „Handling“ mit den involvierten Personen bzw. mit den jeweiligen Versuchsapparaten vertraut gemacht, um unerwünschte, stressbedingte, falschpositive bzw. falschnegative Ergebnisse zu vermeiden. Gleichgeschlechtliche Tiere 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, tierärztlicher Kontrolle. Erkrankte oder verletzte Tiere werden gegebenenfalls in einem separaten Quarantänerraum untergebracht und beobachtet. Leidet ein Tier an Symptomen wie Verletzungen, Umfangsvermehrung oder Anämie wird der Tierarzt so rasch wie möglich informiert und entscheidet über Behandlung oder Euthanasie. Humane Endpunkte werden unter Punkt e genauer erläutert. 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 wird gewährleistet, dass die Methoden ordnungsgemäß durchgeführt werden und die Tiere keinem zusätzlichen Stress

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verbesserung des Wohlergehens der Tiere

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

Die Verwendung von Antibiotika im Tierfutter wurde weltweit gängige Praxis. Mit dem Einsatz von Antibiotika konnten nicht nur Krankheiten und Sterblichkeitsraten reduziert, sondern auch Futtermittelverwertung und Fleischqualität verbessert werden. Aufkommende Bedenken hinsichtlich Antibiotikaresistenzen haben allerdings zu Anwendungsbeschränkung geführt. In Europa und den Vereinigten Staaten von Amerika ist der Einsatz von Antibiotika als Wachstumsförderer gänzlich verboten und auf die therapeutische Verwendung eingeschränkt. Um die positiven Effekte der antibiotischen Wachstumsförderer zu ersetzen, wird zunehmend auf Alternativen, wie zum Beispiel den Einsatz ätherischer Öle und / oder Pflanzenextrakte als natürliche Futterzusatzstoffe, gesetzt.

Ziel dieses Projektes ist es, die Wirksamkeit unterschiedlicher Rohpflanzenextrakte und aufgereinigter Metaboliten (Phytochemikalien) auf Leistungs-, Gesundheits- und Stressparameter von Broilern zu untersuchen. Zusätzlich werden die Diversität und relative Menge von Antibiotika-Resistenzgenen in Broiler-Fäkalien untersucht, sowie deren Dynamik innerhalb eines Zeitraums von 7 Tagen überwacht. Antibiotika-Resistenzgene in der Viehhaltung sind eine Angelegenheit von öffentlichem Interesse und Studien zur Abgaben von Antibiotika-Resistenzgenen durch Fäkalien sind gefragt.

zu erwartender Nutzen: Die Untersuchung der Effekte einzelner Phytochemikalien als Futtermittelzusatzstoffe auf Gesundheits- Stress- und Leistungsparameter von Broilern kann wertvolles Wissen für die Mastgeflügel-Produktion liefern. Die gewonnenen Resultate leisten darüber hinaus einen Beitrag zur Verbesserung des Gesundheitsstatus beim Broiler. Zudem soll die Studie Informationen über die Diversität und relative Menge von Antibiotika-Resistenzgenen in Broiler-Fäkalien liefern.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Basierend auf Literaturdaten sind keine klinischen Symptome bei diesem Tierversuch zu erwarten. Zur Messung der Gesundheits- und Stressparameter im Blut werden allerdings insgesamt 50% der Tiere (insgesamt 160 Tiere) am Ende des Tierversuchs stress- und schmerzfrei euthanasiert.

2. Art und Anzahl der Tiere

320 ROSS 308 Küken

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

Vermeidung: Die Beantwortung der Fragestellung in diesem Projekt ist nur am intakten Organismus möglich. Da neben Leistungsparametern auch Blut- und Kotproben analysiert werden sollen, um die

Effekte der Phytochemikalien im intakten Organismus zu untersuchen. Es kann daher nicht auf eine in vitro Studie oder auf eine Ersatz- bzw. Ergänzungsstudie ausgewichen werden.

Verminderung: Bei dem geplanten Versuchsvorhaben handelt es sich um eine Pilotstudie zu der bislang keine verfügbaren Referenzdaten vorliegen. Sie dient der Ermittlung erster Daten zur Berechnung von der zu erwartenden Effektstärke für die getesteten Substanzen, um Gruppen- und Replikat-Anzahl für eine Folgestudie mit den vielversprechendsten Substanzen mit einer Statistical Power > 0,8 zu eruieren.

Verfeinerung: Die Tiere werden von Tag 0 bis Tag 37 in Buchten gehalten (20 Tiere/Bucht) und an den Versuchstagen 0, 14, 21, 28 und 35 gewogen; und an den Tagen 14 und 28 beringt bzw. neu beringt. Zusätzlich werden an den Tagen 14 und 21 Kotproben aus jeder Bucht gesammelt. An den Tagen 35, 36 und 37 werden insgesamt je 50-60 Tiere (10 Tiere pro Gruppe) schmerz- und stressfrei euthanasiert, um Blutproben zu sammeln. Der Boden der Bucht ist mit Einstreu bedeckt. Die Tiere können sich in den Buchten frei bewegen, haben ständig freien Zugang zu Wasser und Futter, letzteres wird 2-mal täglich (morgens und abends) frisch angeboten. Während des Projektes werden Stress und Schmerzen der Broiler so gering wie möglich gehalten. Die Tiere werden zweimal täglich von geschulten Personen sorgfältig betreut. Sollten die Tiere Anzeichen von Schmerzen zeigen oder in irgendeiner Weise beeinträchtigt sein, werden sie vom Versuch ausgeschlossen und tierärztlich betreut.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): 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 2015 bei 39.906 Menschen eine Krebsneuerkrankung dokumentiert, bei 20.209 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. 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.

zu erwartender Nutzen: 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

10.429 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 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, 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. 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 (2021) erfolgen.

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

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

Stechmücken und Zecken sind wichtigen blutsaugende Parasiten, die Krankheitserreger (Viren, Bakterien und andere) übertragen und auch Allergien auslösen können; alleine in Österreich werden jährlich bis zu 25.000 Personen durch Zecken mit Borrelia-Bakterien infiziert, daneben sind Zecken Überträger der Viruserkrankung Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME). Derzeit gibt es praktische keine Möglichkeit, nach einem Stich die Art des Verursachers zu identifizieren, was aber zur Klärung der Ursachen allergischer Reaktionen und zur Eingrenzung möglicher übertragenen Krankheitserreger (z. B. übertragen Stechmücken andere Erreger als Zecken) sehr wichtig wäre. Auch die Feststellung, ob eine Übertragung bei einem Stich stattgefunden hat, ist derzeit bis zum Auftreten von Symptomen oft nicht möglich. Das Ziel dieses Projekts ist daher die Schaffung einer praxistauglichen Methode zum gleichzeitigen Nachweis und der Bestimmung des Stichverursachers und allfälliger übertragener Krankheitserreger an der Einstichstelle. Dazu kommt eine neue Methode zum Nachweis der jeweiligen Erbsubstanz an der Einstichstelle am Wirt (Tier, Mensch) zum Einsatz.

zu erwartender Nutzen: Eine praxistaugliche Methode, mit der gleichzeitig Verursacher eines Stichs und übertragene Krankheitserreger nachgewiesen werden können, kann die Prognose und Therapie für Patientinnen (und auch Tiere) deutlich verbessern.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Eine Zecke oder Mücke wird auf die Maus (unter Narkose!) gesetzt. Während des Saugens der Zecke müssen die Mäuse 1-2 Tage in einem Käfig mit Gitterboden zubringen. Zu bestimmten Zeiten wird die Maus getötet; Erbsubstanz des Stichverursachers und des übertragenen Krankheitserregers wird in einer Gewebeprobe von der Einstichstelle nachgewiesen.

2. Art und Anzahl der Tiere

minimal 30, maximal 252 Mäuse im Zeitraum von 3 Jahren

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

Vermeidung: Die verwendete neue Methode (siehe Punkt 1) wird zuerst in vitro „im Reagenzglas“ im Labor) unter möglichst realistischen Bedingungen getestet. Außerdem wird im Labor sichergestellt, dass es zu keinen Verwechslungen mit anderen stechenden Parasiten und Krankheitserregern kommen kann. Für eine praxistaugliche Methode für Patienten und Tiere sowie die behandelnden Ärzte/Tierärzte ist der völlige Verzicht auf Tierversuche dennoch nicht möglich, da die im Labor entwickelten Methoden auch in Hautproben von der Einstichstelle der Menschen/Tiere funktionieren müssen.

Verminderung: Jede Versuchsgruppe umfasst 6 Tiere, was laut Kalkulation das Minimum darstellt, um statistisch abgesicherte Resultate erzielen zu können. Nur wenn die Schlussfolgerungen noch nicht eindeutig sind, werden die Fallzahlen auf 9 Tiere je Gruppe (nur in den betreffenden Gruppen!) erhöht, um die nötige statistische Aussagekraft zu erreichen. Um möglichst wenige Versuchstiere zu benötigen, ist der Versuchsplan mehrstufig. Im ersten Schritt wird nur ein Zeitpunkt untersucht, um die praktische Machbarkeit der Methode zu prüfen. Nur bei Erfolg wird eine zweite Versuchsreihe mit zusätzlichen Zeitpunkten zur Untersuchung der Nachweisbarkeitsdauer durchgeführt.

Verfeinerung: Da Mäuse soziale Tiere sind, werden sie in Gruppen gehalten (6 Tiere pro Käfig). In jedem Käfig haben die Mäuse ein blickdichtes Häuschen als Rückzugsmöglichkeit; neben der Einstreu steht zusätzliches Nistmaterial zur Verfügung, das sie gerne zum Nestbau annehmen (manche Gruppen bevorzugen ein Nest außerhalb des Häuschens). Auch Nagehölzchen werden zur Beschäftigung gerne von den Tieren angenommen. Eine fixe Lichtperiode sorgt für einen konstanten Hell-Dunkel-Wechsel. Die Tiere werden vor dem Versuch zunächst eine Woche lang an ihre neue Umgebung gewöhnt und dabei auch jeden Tag einmal aus dem Käfig genommen, auf der Hand (mit Handschuhen) gehalten, gestreichelt und „angesprochen“, um sie an die den Versuch durchführenden Menschen zu gewöhnen (Konditionierung). Trotz des dadurch nötigen höheren Zeitaufwands sind wir von dieser Methodik überzeugt, da sie sich sehr bewährt hat, um Angst/Stress bei der späteren Durchführung des Versuchs zu reduzieren. Die Mäuse zeigen einen deutlich reduzierten Fluchtreflex und sind handzahmer als nicht-konditionierte Tiere. Während der 1-2stündigen Narkose werden Wärmekissen unter dem Käfig platziert, um eine Unterkühlung der Tiere zu vermeiden. Während der Narkose wird Bepanthen-Augensalbe verwendet, um ein Austrocknen und Schädigung der Cornea zu verhindern.

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. 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 zur Behandlung von Krebserkrankungen. Ziel ist es dabei, die für Krebszellen wichtigen zellulären Prozesse auf verschiedenen Wegen zu blockieren.

Zu erwartender Nutzen: 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: Die Tiere werden in diesen Versuchen einer schweren Belastung ausgesetzt.

2. Art und Anzahl der Tiere

1.602 Mäuse (*Mus musculus*) für das gesamte Projekt über einen Zeitraum von 2 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 Tumorzellen, als besonders erfolgsversprechend bewertet werden. Eine Vermeidung des beantragten Tierversuches ist nicht möglich, da die komplexen Zusammenhänge zwischen neuen Therapeutika, Immunsystem und einem Tumor sich derzeit nur in einem Gesamtorganismus (in vivo) untersuchen lassen.

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. 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 geringst mögliche 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 von „score sheets“), 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 (2020) erfolgen.

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

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

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

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

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

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Minimalvariante: 16 Ratten und jeweils 16 Mäuse vom Stamm C57BL/6J und CD1

Maximalvariante: 240 Ratten und jeweils 144 Mäuse von den Stämmen C57BL/6J, C57BL/6N und CD1

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

Vermeidung unnötiger Tierversuche, wenn sich herausstellen sollte, dass die Daten bzgl. DSI CPP/CPA durch die Anwesenheit der jeweils anderen Genus verfälscht werden (Vermeidung von Datenmüll).

Anwendung des 3R Kriteriums Reduce/Verminderung: Sollte sich herausstellen, dass Mäuse in Gegenwart von Ratten weder im Verhaltenstest noch in Bezug auf den Stressparameter FCM einen Unterschied zu allein versuchsbegleitend gehaltenen Mäusen zeigen ist geplant die Versuchsserie zu unterbrechen und die Ergebnisse in einer wissenschaftlichen Zeitschrift (peer reviewed journal) zu publizieren. Sollten die Gutachter (reviewer) der wissenschaftlichen Zeitschrift keine weiteren Versuche fordern, ist geplant, die Versuche zu beenden um die Zahl der benötigten Versuchstiere so gering wie möglich zu halten dh jeweils 16 Mäuse vom Stamm C57BL/6J und CD1 (d. h. 32 Mäuse insgesamt) und jeweils 8 Sprague Dawley Ratten (d. h. 16 Ratten insgesamt). Verminderung der Belastung der Versuchstiere: die Untersuchungen sind so vorgesehen, dass die Tiere durch entsprechende Versuchsvorbereitung und Versuchsbegleitung nur minimal belastet werden.

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

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

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

Mykotoxine sind sekundäre Metaboliten von zahlreichen Schimmelpilzen, die unter anderem von der Gattung *Fusarium* produziert werden. Verschiedene Arten von Fusarienpilzen befallen weltweit die Getreidebestände und ihre Mykotoxine belasten die jeweiligen Ernteprodukte. Mykotoxine sind somit eine Gefahr für die Gesundheit von Menschen und Tieren und werden im Bereich der Ernährung von landwirtschaftlichen Nutztieren intensiv untersucht. Innerhalb der *Fusarium*-Toxine spielt Deoxynivalenol (DON) eine wichtige Rolle, da es bei Nutztieren zu reduzierter Futteraufnahme und Wachstumsverlusten, gastrointestinalen Störungen, neuroendokrinen und hepatologischen Veränderungen sowie zur Beeinträchtigung des Immunsystems führt. Jüngere Untersuchungen zeigten, dass bereits mehr als 55% des weltweiten Futters und Mischfutters mit DON kontaminiert sind. Hohe Niederschlagsmengen wie im Sommer 2014 führen außerdem zu erhöhtem Fusarienbefall in Getreide, mit dem Resultat, dass nach der Ernte des Jahres 2014 92% aller europäischen Getreideproben positiv auf DON getestet wurden, mit teilweise sehr hohen Konzentrationen (>10 mg DON/kg). Schweine sind aufgrund ihrer stark getreidehaltigen Futterrationen besonders hohen DON Konzentrationen wie auch anderen Mykotoxinen ausgesetzt. Die Effekte eines Hormons nach Aufnahme von DON-kontaminiertem Futter sollen im Schwein evaluiert werden. Zur optimalen und stressfreien Durchführung des komplexen Versuchsvorhabens sollen intravenöse Injektionen gefolgt von frequenter venöser Blutabnahme mittels Zentralvenenkatheters (ZVK) verwendet werden. In diesem Vorversuch soll das ZVK Material zusammen mit den postoperativen Schutzmäntelchen sowie die Applikation einer Testlösung an bis zu sechs Tieren getestet werden. Ziel ist es abzuklären, welches Kathetermaterial und Routine sich für diese Anwendung am besten eignet (insbesondere bezüglich Applikation, Wiederfindungsrate, Anwendung).

zu erwartender Nutzen: Die gewonnenen Resultate zu den erwarteten positiven Effekten des Hormons, die die DON-induzierten Effekte entschärfen sollen, liefern wertvolles Wissen für die Schweineproduktion und leisten einen Beitrag zur Verbesserung des Gesundheitsstatus beim Schwein.

Der Vorversuch dient der Etablierung einer Katheterimplantationsroutine mit optimaler Katheterspezifikation, die für zukünftige Projekte essentiell ist. Des Weiteren sollen die Erkenntnisse hierzu im Rahmen der Publikation der Ergebnisse des Hauptversuches veröffentlicht werden.

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

2. Art und Anzahl der Tiere

6 Absetzferkel (Ferkel ÖHYB, 4 Wochen alt, ca. 8-9 kg)

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

**Vermeidung:** Die Beantwortung der Fragestellung in diesem Projekt ist nur am intakten Organismus möglich, da der Einfluss eines Hormons auf die Futteraufnahme geprüft werden soll und im Rahmen dessen Blutproben zur Analyse gewonnen werden müssen. Es kann daher nicht auf eine in vitro Studie oder auf eine Ersatz- bzw. Ergänzungsstudie ausgewichen werden.

**Verminderung:** Bei dem geplanten Versuchsvorhaben handelt es sich um einen Vorversuch zu der bislang keine verfügbaren Referenzdaten vorliegen. Der Vorversuch erfolgt an der geringstmöglichen Anzahl an Tieren.

**Verfeinerung:** Die Tiere werden während der Adaptationsphase (Versuchstag 0-4) in Gruppen (zu zweit) in Käfigen (je 2.25 m<sup>2</sup>) gehalten. Die Applikation der Katheter am Tag 5 erfolgt mittels einfach Punktion (vergleichbar einer Blutentnahme) unter Sedierung, um Stress durch die Fixierung zu vermeiden. Die Tiere werden dann für den Folgezeitraum (bis zu 7 Tagen, Versuchstag 5-12) allein gehalten, um eine Verletzung (Infektionsgefahr, Blutung) auszuschließen. An den Versuchstagen 6-12 erfolgt die Applikation mit 0,9% NaCl Lösung 2-mal täglich sowie die mehrmals tägliche Blutprobennahme (max. 5 ml pro Tag). Die Tiere werden von geschultem Personal tagsüber über mehrere Stunden 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 Beurteilung, Erkennung, Regulierung oder Veränderung physiologischer Zustände bei Menschen, Tieren oder Pflanzen

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

Projektziele: Mykotoxine sind toxische Sekundärmetaboliten von Pilzen, die auf Futterpflanzen wachsen und bei der Aufnahme durch Tiere zu Vergiftungserscheinungen (Mykotoxikosen) führen. Diese äußern sich in einer starken Beeinträchtigung der Tiergesundheit und Produktivität und sind mit deutlichen wirtschaftlichen Einbußen verknüpft. Unter den mehr als 300 bis jetzt bekannten Mykotoxinen sind in Europa und anderen Teilen der nördlichen Hemisphäre vor allem Fusariumtoxine von größerer Bedeutung, einschließlich Deoxynivalenol (DON) und Zearalenon (ZON). Beide treten bei Mais und Getreidepflanzen auf. Die Belastung der Futtermittel ist starken saisonalen Schwankungen unterworfen und hängt unmittelbar von den klimatischen Bedingungen beim Wachstum der Pflanze und Ausreifung der Samen ab. Hohe Gehalte führen zu gesundheitlichen Problemen und starken Leistungsminderungen.

Im Rahmen des vorliegenden Bilanzversuch wird die Wirkung des Einsatzes von Klinoptilolith bzw. neu entwickelten gecoatetem Klinoptilolith-Composit im Vergleich zu einer negativen Kontrollgruppe auf die Fixierung von den Mycotoxinen DON und ZON bzw. von Nährstoffen untersucht. Dafür wird eine Futtermischung auf Basis einer natürlich kontaminierten Gerste, welche unter den Richtwerten für ein Schweinemastalleinfuttermittel gemäß Empfehlung der Kommission 2006/576/EG hergestellt.

Der Versuchsaufbau entspricht einem doppelten 3x3 lateinischen Quadrat in zwei Wiederholungen. In jeder Wiederholung werden als Versuchstiere neun männliche, kastrierte Mastschweine eingesetzt, welche mit einem Gewicht von ca. 35 kg möglichst gleichmäßig nach Lebendmasse und Herkunft auf die zur Verfügung stehenden Verdauungskäfige aufgeteilt werden.

Zur Akklimatisierung an den Versuchsstall, in welchem sie nach den Vorschriften der Tierhaltungsverordnung gehalten werden, erhalten die Tiere für die ersten zehn Tage herkömmliches Mastfutter. Die eigentliche Versuchsperiode beginnt mit der Einstallung der Tiere in die Stoffwechselkäfige und startet mit einer 3-tägigen Adaptionphase an das Futter (Vorphase) und einer anschließenden 4-tägigen Sammelphase (Hauptphase). Der Versuch setzt sich aus 3 Durchgängen (= jeweils eine Adaption- und eine Hauptphase) zusammen, wodurch gewährleistet werden kann, dass jedes Tier alle Versuchsmischungen vorgelegt bekommt. Somit wird jede Futtermischung an allen neun Tieren studiert.

Anhand der vor Beginn eines jeden Durchganges ermittelten Lebendmasse der Tiere wird die Tagesration für den Zeitraum des jeweiligen Versuchsdurchganges kalkuliert. Das Futter wird zweimal am Tag vorgelegt. Während der Sammelphase wird zweimal pro Tag eine vollständige

quantitative Harn- und Kotprobe gesammelt. Zur Reduktion urinspezifischer Ammoniakverluste wird der Urin in den Sammelgefäßen angesäuert, 2-mal täglich durch ein Sieb gefiltert und in Kanister abgefüllt. Diese werden bis zur weiteren Analyse (bei 4 °C) gekühlt aufbewahrt. Die Sammelkotproben werden in einer Gefrierzelle bei -20 C aufbewahrt. Am Ende von jedem Durchgang wird vom aufgetauten und homogenisierten Gesamtkot jedes Tieres und Durchgang eine frische Probe zur Trockensubstanzbestimmung entnommen und der verbleibende Teil für weitere Analysen gefrieretrocknet.

Zur Berechnung der Bilanzen werden die gesammelten Futter-, Harn- und Kotmengen auf folgende Parameter untersucht: Mycotoxine DON bzw. ZON sowie Nährstoffgehalte.

zu erwartender Nutzen: Informationsgewinn ob eine Bindung der Mycotoxine im Chymus erfolgt und eine Aufnahme durch die Darmwand verhindert wird und dadurch die negativen Effekte auf den tierischen Organismus vermieden werden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Auf Grund der Einzelhaltung in Stoffwechsellkäfigen handelt es sich um einen Tierversuch mit dem Schweregrad schwer.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

18 Mastschweine

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

Die Forschungsfrage kann nicht über Ersatzmethoden beantwortet werden, da Ausscheidungsprodukte, Verdaulichkeit und Darmfunktionalität mit Hilfe eines intakten und gesunden Organismus untersucht werden müssen. Durch den Versuchsaufbau im lateinischen Quadrat, kann die Anzahl der Versuchstiere drastisch minimiert werden und ermöglicht statistisch aussagekräftige Ergebnisse. Da während des Versuches nur Einzelfuttermittel bzw. zugelassene Futtermittelzusatzstoffe (Aminosäuren, Vitamin- und Spurenelementprämixe) an die Tiere verfüttert werden, erfolgt nach Versuchsende und damit einhergehender tierärztlicher Kontrolle eine Eingliederung der Tiere in einen herkömmlichen Schweinebestand. Eine Tötung im Rahmen des Tierversuches findet somit nicht statt.

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

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

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

Infektionen durch Schimmelpilze aus der Gruppe der Mucorales verlaufen sehr aggressiv, führen durch therapeutisch-chirurgische Maßnahmen häufig zu dauerhaften Entstellungen der Patienten und sind mit einer hohen Todesrate verbunden (über 90%). Die weltweite Zunahme dieser Erkrankungen ist vor allem durch Resistenzen gegen viele Pilzmedikamente bedingt, die zur Vorbeugung bei Risikopatienten (Immunschwäche, unkontrollierte Diabetes-Erkrankung, Verwundungen...) eingesetzt werden. In einigen Kliniken sind sie bereits die häufigste Ursache von Schimmelpilzinfekten. Viele Mechanismen des Krankheitsverlaufs und der Immunreaktion sind noch ungeklärt; hinzukommt, dass neben der Therapie auch eine zuverlässige und schnelle Diagnose schwierig ist, die wegen des raschen Krankheitsverlaufs wichtig wäre. Dieses Projekt beschäftigt sich mit den wichtigsten Krankheitserregern unter den Mucorales. Es handelt sich um ein Modell, bei dem die Infektion durch Einatmung der Sporen erfolgt (inhalative Infektion). Die Tiere bleiben entweder unbehandelt oder erhalten Amphotericin B, eines der wenigen Mittel gegen Pilzkrankungen, die in Laborversuchen eine Wirkung gegen die genannte Pilzgruppe zeigt. Die verschiedenen Versuchsgruppen haben entweder ein intaktes Immunsystem oder weisen definierte Immundefekte auf: Cortison-Therapie, Zytostatika-Behandlung, Defekte des Komplementsystems (ein wichtiges Element der angeborenen Immunität), einen Mangel an Fresszellen in der Lunge oder eines bestimmten Typs weißer Blutkörperchen.

zu erwartender Nutzen: Die gezielte Ausschaltung einzelner Elemente der Immunabwehr soll zeigen, welche Elemente unserer Immunität besonders zur Abwehr der verschiedenen Arten dieser gefährlichen Schimmelpilze benötigt werden und bei welchen Immundefekten die Therapie mit Amphotericin B unzureichend ist und daher weitere Therapiemaßnahmen und Vorbeugung eingesetzt werden muss. Dieses Projekt kann somit wichtige Daten für eine zukünftige Verbesserung der Behandlung (gezielter Einsatz/angepasste Dosis/Kombination mit weiteren Wirkstoffen) bei oben genannten Patienten-Risikogruppen liefern. Der wichtigste erwartete Nutzen besteht daher darin, die Rate der Erkrankungen und der Sterblichkeit durch diese Form von Pilzinfektionen zu senken.

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

2. Art und Anzahl der Tiere

minimal 384 und maximal 762 Mäuse im Zeitraum von 4 Jahren

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

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

Verminderung: Jede Versuchsgruppe beinhaltet 9 Tiere. Diese Mindestzahl wurde für unsere Studien explizit von einem Gutachter gefordert, um statistisch abgesicherte Resultate erzielen zu können. Zur Verminderung der Versuchstierzahl werden zudem die gewonnenen Daten der nicht infizierten Kontrollgruppen in künftigen Versuchen als Referenzdaten erneut verwendet; zusätzlich werden von den Tieren dieser Gruppen Gewebeproben für weitere Wachstumsversuche mit den Krankheitserregern im Labor gewonnen. Da sich bei einem früheren Projekt zwei Formen von Immundefekten bei zwei Arten von Mucorales als geringer Risikofaktor darstellten, verzichten wir auch bei den anderen Arten auf diese Versuchsgruppen. Zur weiteren Minderung der Versuchstierzahl werden die Versuche mehrstufig durchgeführt. Zunächst werden nur die zwei bedeutsamsten Krankheitserreger verwendet (Minimal-Variante). Nur bei deutlich erkennbaren Unterschieden im Krankheitsverlauf werden die Versuche auf weitere Arten ausgeweitet.

Verfeinerung: Da Mäuse soziale Tiere sind, werden sie immer in Gruppen gehalten. In jedem Käfig erhalten die Mäuse ein Häuschen als Rückzugsmöglichkeit und neben der Einstreu noch zusätzliches Nistmaterial, das sie nach unserer Erfahrung sehr gerne zum Nestbau annehmen; manche Gruppen bevorzugen ein selbst gebautes Nest außerhalb des Häuschens. Auch die Nagehölzchen in den Käfigen werden gerne angenommen. Die Tiere werden vor dem Versuch zunächst eine Woche lang an ihre neue Umgebung gewöhnt. Dabei werden sie auch jeden Tag einmal aus dem Käfig genommen, auf der Hand (mit Handschuhen) gehalten, gestreichelt und „angesprochen“, um sie an die den Versuch durchführenden Menschen zu gewöhnen (Konditionierung). Trotz des dadurch nötigen höheren Zeitaufwands sind wir von dieser Methodik überzeugt, da sie sich sehr bewährt hat, um Angst/Stress bei der späteren Durchführung des Versuchs zu reduzieren; die Tiere zeigen einen

deutlich reduzierten Fluchtreflex und sind deutlich handzahmer als nicht-konditionierte Tiere. Wenn die Tiere während der Versuche erste Krankheitssymptome zeigen, werden ihnen in Wasser aufgeweichte Pellets angeboten. Dies erleichtert ihnen gegenüber der Futterraufe und der Trinkflasche die Futter- und Wasseraufnahme. Auch diese Maßnahme hat sich bereits in früheren Versuchen bewährt und wird von den Mäusen gern angenommen.

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

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

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

Für den Versuch werden 9-10 jährige weibliche Schafe benötigt, an welchen die Auswirkungen chronischer elektrischer Stimulation des n. laryngeus recurrens auf die Kehlkopfmuskulatur exploriert werden sollen. Die Kehlköpfe von Schafen weisen anatomisch-funktionell eine große Ähnlichkeit zu humanen Kehlköpfen auf. Die Auswirkungen chronisch-elektrischer Stimulation können weder in-vitro noch in humanen Versuchen untersucht werden. Die Ergebnisse sollen zum einen Aufschluss über die physiologischen Alterungsvorgänge liefern und zum anderen die Auswirkungen eines völlig neuen Therapieansatzes explorieren. An den Tieren wird der die Kehlkopfmuskulatur versorgende Nerv beidseits mit einer speziellen Elektrode stimuliert, die mit einem Schrittmacher verbunden ist. Dieser ist im Halsbereich unter der Haut angebracht. Da der Schrittmacher elektronisch von außen gesteuert werden kann, sind keine weiteren Narkosen für den Versuch notwendig.

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

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

2. Art und Anzahl der Tiere

Es sollen 44 weibliche Schafe für den Versuch herangezogen werden.

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

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

Verminderung: Abgeleitet aus in vitro Daten und Daten aus der Literatur wird versucht, die Anzahl der Tiere in den Versuchsgruppen auf ein Minimum, welches noch eine statistische Signifikanz erlaubt, zu halten. Gleichzeitig sollen in allen Versuchen immer mehrere Parameter bestimmt

werden, um zusätzliche Versuche zu vermeiden und das vorhandene biologische Material optimal auszunutzen. Dies wird durch genaue Planung des Versuchsablaufs erreicht.

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

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

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

Die Natur des neuronalen Codes zu verstehen ist eine der größten Herausforderungen der modernen Neurowissenschaft. Es wird allgemein angenommen, dass der Code digital funktioniert und auf der Frequenz und dem Timing von Aktionspotentialen in Neuronen nach dem Alles-oder-Nichts-Prinzip basiert. Neuere Erkenntnisse deuten jedoch darauf hin, dass die Kodierung auch analoge Komponenten aufweist, die in der Frequenz und der Amplitude von synaptischen Potentialen enthalten sind. Es bleibt allerdings offen, wie sich unter-schwellige synaptische Aktivität auf das Verhalten auswirkt und wie unter-schwellige Aktivität Aktionspotentialspitzen auslösen und sich damit auf die digitale Komponente des Codes auswirken kann. Die Beantwortung dieser Fragen erfordert eine sorgfältige In-vivo-Analyse der synaptischen Aktivität in morphologisch und funktionell identifizierten Zellen bei wachen, verhaltensaktiven Tieren. Ziel dieses Projekts ist es, die Mechanismen der neuronalen Kodierung im Hippocampus zu untersuchen, einer Schlüsselregion, die an der räumlichen Kodierung, dem Lernen und dem Gedächtnis beteiligt ist. Insbesondere möchten wir eine präzise biophysikalische Analyse der Einzelzellaktivität in identifizierten Hippocampus-Neuronen während Verhaltensaktivitäten durchführen. Hierzu werden wir die unter-schwellige synaptische Aktivität, die Aktionspotentialaktivität und die Beziehung zwischen diesen beiden Aktivitätsformen untersuchen.

zu erwartender Nutzen: Diese Versuche liefern wichtige Informationen über die Gehirnfunktion, da sie uns die Möglichkeit bieten, absolute Spannungssignale zu messen. Damit versetzen uns die geplanten Versuche in die Lage, eine sogenannte „Ground Truth“-Basis zu ermitteln, die die Interpretation von Daten aus Feldpotentialaufzeichnungen oder Calcium-Bildgebungsversuchen erleichtert. Wir erwarten, dass uns die geplanten Versuche wichtige Informationen über die Kodierung, Speicherung und Verarbeitung von Informationen im Hippocampus liefern. Des Weiteren ist anzunehmen, dass das Projekt Grundlagen für die künftige Erforschung von synaptischen Erkrankungen liefert, darunter chronische Schmerzen, Epilepsie, Depression, Schizophrenie, Autismus und neurodegenerative Erkrankungen, wie beispielsweise die Alzheimer'sche Erkrankung, bei denen die Synapsenfunktion gestört ist.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Wesentlich für die Erreichung unserer Projektziele ist der Einsatz von sehr komplexen, aber auch sehr gut etablierten chirurgischen sowie einfachen, nicht chirurgischen Methoden, um unsere Zielregion entsprechend darstellen und erforschen zu können. Diese Eingriffe werden jedoch ausschließlich unter Verwendung von erprobten Narkoseprotokollen, die dem aktuellen Stand der „Good Veterinary Practice“ entsprechen, durchgeführt. Hochmoderne Narkoseprotokolle werden, begleitet von einer der aktuellen medizinischen Praxis entsprechenden Schmerztherapie, angewendet. Unnötig verursachter Schmerz würde sich für unseren Projekterfolg

als besonders kontraproduktiv erweisen, einer zuverlässigen Schmerztherapie wird daher besonderes Augenmerk geschenkt. Der höchste Belastungsgrad, dem die Tiere ausgesetzt werden könnten, ist als „mittel“ zu bezeichnen.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Wir verwenden für die geplanten Experimente Labormäuse und Laborratten. Insgesamt werden 750 Mäuse und 150 Ratten über einen Zeitraum von 5 Jahren für die Analysen verwendet.

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

**Vermeidung:** Ziel dieses Projekts ist es, die Mechanismen der neuronalen Kodierung in den Hippocampus-Neuronen zu untersuchen und die synaptischen Berechnungsmechanismen einzelner Neurone in-vivo zu entschlüsseln. Analysen der synaptischen Eigenschaften erfordern Versuche mit weitgehend intakten Gehirnpräparaten. Diese Versuche können nicht durch In-vitro-Versuche an kultivierten Neuronen oder Hirnschnitten ersetzt werden, da in diesem Fall die In-vivo-Bedingungen nicht vollständig simuliert werden können und wir keine Möglichkeit haben, die Zusammenhänge zwischen der synaptischen Funktion und der VerhaltensEbene zu untersuchen. Ferner können diese Versuche nicht durch theoretische Analysen in Berechnungsmodellen ersetzt werden. Allerdings verfügen der Antragsteller und seine Gruppe über umfassende Kenntnisse über die synaptische Übertragung und Vernetzung durch In-vitro-Versuche und rechnerische Analysen. Basierend auf diesen detaillierten Erkenntnissen wurden konkrete Hypothesen zur Netzwerk-Funktion formuliert. Wir bemühen uns, die In-vivo-Tierversuche nach Möglichkeit durch In-vitro-Messungen oder In-silico-Simulationen zu ersetzen. Ein großer Vorteil ist, dass sowohl die In-vivo-Verfahren als auch die In-vitro- und In-silico-Methoden im Labor des Antragstellers gut etabliert sind. Auf diese Weise können wir die Anzahl der Versuchstiere durch sorgfältige Versuchsplanung und modellbasierte Entwicklung von Hypothesen minimieren.

**Verminderung:** Wir versuchen, die Anzahl der Versuchstiere auf ein Minimum zu reduzieren, und zwar durch:

- (1) Kennzeichnung und morphologische Post-hoc-Analysen aller identifizierter Neurone. Dadurch wird die, durch Einbeziehung verschiedener Typen von Hauptneuronen in den Datensatz verursachte Variabilität reduziert, wodurch wir ein Höchstmaß an Informationen aus einem Minimum an erfassten Zellen gewinnen können.
- (2) Wir werden die Gruppengröße abhängig von den Versuchsbedingungen neu anpassen, entsprechend dem Ergebnis der ersten Versuchsreihe.
- (3) Der Antragsteller und die Mitglieder seiner Arbeitsgruppe verfügen über große Erfahrung mit biologischen Versuchen. Nur erfahrenen Mitarbeitern ist es gestattet, diese anspruchsvollen und komplizierten Operationen durchzuführen.

(4) Besonders komplizierte Operationsschritte werden zuvor an toten Tieren geübt.

Verfeinerung:

- Die Überwachung der kardiovaskulären Parameter während der Operation wird uns viel früher als jedes klinische Anzeichen über negative Veränderungen im Wohlbefinden des Versuchstiers während der Operation informieren. So können wir reagieren, bevor das Tier einen kritischen Zustand erreicht.
- Wir versuchen außerdem, die Erholungszeit nach der Operation zu maximieren. Wir geben den Tieren mindestens eine Woche Erholzeit, bevor sie dann wieder für z. B. Verhaltenstraining eingesetzt werden.
- Wie oben beschrieben haben wir ein modifiziertes Wasserlimitierungs- und Belohnungsprotokoll entwickelt, das sich für das Training bewährt hat. Dieses Protokoll ist im Vergleich zu früher verwendeten Protokollen deutlich moderater.
- Sämtliche aus den ersten Versuchsreihen gewonnenen Erkenntnisse werden genutzt, um die Gestaltung der nachfolgenden Versuche zu verfeinern und die Versuchsdurchführung zu optimieren.
- Besonders komplizierte Operationsschritte werden zuvor an toten Tieren geübt
- Basierend auf den Fortschritten in diesem Gebiet und unseren ersten Ergebnissen, werden wir die Versuche stetig weiter verbessern, indem wir uns auf die aussagekräftigsten Versuche konzentrieren und die Forschungslinien beenden, die sich als weniger aussagekräftig erweisen.

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

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

Die Funktion einzelner Gene wird im Allgemeinen mittels genetischer Methoden untersucht, wobei das entsprechende Gen aus dem Genom der Zelle entfernt, stillgelegt oder modifiziert wird. Gene, die für Überleben, Wachstum und Teilung jeder Zelle wichtig sind, können erfolgreich in genmodifizierten Zelllinien in Gewebekultur analysiert werden. Bei Genen, die eine wichtige Rolle bei der Embryonalentwicklung, der Organentstehung oder genetisch bedingten Erkrankungen im erwachsenen Organismus spielen, ist dies nicht möglich. Die Funktionen dieser Gene können nur im gesamten Organismus und somit in der Wechselwirkung mehrerer Zelltypen eines Organs analysiert werden. Für solche Studien sind Mäuse ideal geeignet, da sie das am besten etablierte Säugetiermodell für das Studium der Genfunktion während der normalen Entwicklung und bei genetisch bedingten Erkrankungen darstellen. Mit Hilfe der beantragten Eingriffe werden mutante (transgene) Mäuse hergestellt, indem definierte DNA-Sequenzen in Mauseizygoten injiziert werden, diese anschließend in scheinträchtige Weibchen implantiert werden und sich daraus transgene Tiere entwickeln. Diese Methode zur Herstellung transgener Mäuse wird weltweit verwendet und anerkannt. Die gentechnisch veränderten Mäuse werden in Bereichen der Grundlagenforschung eingesetzt, die sich mit grundlegenden Fragestellungen auf dem Gebiet der Entwicklungsbiologie, Krebsforschung, Immunologie, Neurobiologie und Epigenetik befassen. Auf diese Weise können wichtige Erkenntnisse bezüglich der Beteiligung diverser Gene an menschlichen Erkrankungen gewonnen und überprüft werden.

Zu erwartender Nutzen: Weiterer Erkenntnisgewinn durch die mittels Mikroinjektion hergestellten transgenen Mäuse über die Funktion bedeutender Regulationsgene, die eine wichtige Rolle bei der Embryonalentwicklung, der Organentstehung oder genetisch bedingten Erkrankungen spielen.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Belastung durch Injektionen und chirurgische Eingriffe bei der Gewinnung und Implantation von Mauseizygoten.

2. Art und Anzahl der Tiere

Im Rahmen des fünfjährigen Projekts sind maximal 7375 Mäuse vorgesehen.

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

Die Erfahrung des umfassend ausgebildeten Personals sowie die Fachkompetenz der WissenschaftlerInnen garantieren dafür, dass die Zahl der verwendeten Tiere und das Ausmaß etwaiger Schmerzen oder Ängste so gering wie möglich gehalten werden. Die Handhabung der Mäuse erfolgt in Übereinstimmung mit der bestehenden Standardlaborpraxis, sodass die Belastung für die Tiere auf ein Minimum reduziert wird. Die Tiere werden laufend von Tierpflegern und Tierärzten überwacht und behandelt.

Eine rückblickende Bewertung wird gemäß § 30 Abs 1 Z 1 TVG 2012 nach Abschluss des Projektes (2023) erfolgen.

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

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

Seit der Entschlüsselung der Genome von Mensch und Maus kennt man eine Vielzahl von Genen, jedoch häufig nicht deren genaue Aufgabe und Funktion im Organismus. Ziel dieses Projekts ist es, die Rolle wichtiger Gene bei der Zelldifferenzierung und Wachstumskontrolle spezialisierter Blutzellen, sowie bei der Entstehung von Leukämien in genetisch modifizierten Mäusen zu analysieren. Um Aufschluss über die Funktion solcher wichtigen Gene zu erhalten, wird deren Aktivität gezielt beeinflusst und die daraus folgende Auswirkung untersucht. Mäuse (transgene Modelle) eignen sich hervorragend für den Zweck dieses Projekts. Sie sind ein anerkanntes und unerlässliches Modell für das Studium von Genfunktionen, da keine äquivalenten experimentellen Systeme in Zellkultur oder anderen Tierarten existieren, mit denen die spezifischen Fragestellungen untersucht werden könnten. Die geplante Modulation der Genaktivität kann auf verschiedene Weise durchgeführt werden. Durch genetische Veränderung und Kreuzung von Mauslinien erzeugt man Tiere, deren Gene zu einem definierten Zeitpunkt im blutbildenden System wie mit einem molekularen Schalter aktiviert werden können. In ähnlicher Weise können auch Mäuse geschaffen werden, in denen Gene gezielt in gewünschten Blutzellen inaktiviert werden können. Als Auslöser genügt jeweils die Zugabe einer pharmakologisch wirksamen Substanz (z. B. Tetrazyklin oder Interferon). In den letzten Jahren wurden durch gezielte Suche nach Arzneimitteln eine große Menge weiterer Substanzen isoliert und charakterisiert, die in der Lage sind, die Aktivität bestimmter Gene und ihre Funktion zu modulieren. Solche pharmakologischen Substanzen wollen wir nun in Mausmodellen für menschliche Leukämien auf ihre anti-leukämische Wirkungen untersuchen.

Zu erwartender Nutzen: Weiterer Erkenntnisgewinn über die Funktion bedeutender Regulationsgene, die eine wichtige Rolle bei der Zelldifferenzierung und Wachstumskontrolle spezialisierter Blutzellen sowie bei der Entstehung von Leukämien spielen.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Ein möglicher Schaden kann auf Grund der genetischen Veränderungen der Mäuse sowie der Verabreichung von pharmakologischen Substanzen entstehen und wird durch engmaschiges Monitoring und definierte Abbruchkriterien möglichst gering gehalten.

2. Art und Anzahl der Tiere

Im Rahmen des fünfjährigen Projekts sind maximal 2810 Mäuse vorgesehen.

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

Die Erfahrung des umfassend ausgebildeten Personals sowie die Fachkompetenz der WissenschaftlerInnen garantieren dafür, dass die Zahl der verwendeten Tiere und das Ausmaß

etwaiger Schmerzen oder Ängste so gering wie möglich gehalten werden. Die Handhabung der Mäuse erfolgt in Übereinstimmung mit der bestehenden Standardlaborpraxis, sodass die Belastung für die Tiere auf ein Minimum reduziert wird. Die Tiere werden laufend von Tierpflegern und Tierärzten überwacht und behandelt.

Eine rückblickende Bewertung wird gemäß § 30 Abs 1 Z 1 TVG 2012 nach Abschluss des Projektes (2023) erfolgen.

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

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

In vorangegangenen Publikationen wurde festgestellt, dass ein wichtiges Enzym in der Fettsäure Biogenese in der Leber durch verschiedenen Lipide reguliert wird. Jedoch ist nicht bekannt von welchem Organ diese regulativ wirkenden Lipide synthetisiert bzw. freigesetzt werden. Deshalb soll mit Hilfe verschiedener genetisch veränderter Mausmodelle untersucht werden, inwiefern das Fehlen von einem weiteren Enzym, welches Triglyzeride abbaut, das Vorhandensein der regulatorisch wirkenden Lipide, und somit in Folge die Fettsäure Biogenese in der Leber beeinflusst. Um zu erforschen, inwiefern eine pharmakologische Inhibierung oder eine im Laufe des Lebens erworbene Defizienz des Triglyzerid-abbauenden Enzyms die Fettsäure Biogenese in der Leber beeinflusst, sollen im Rahmen der Abänderung des Projektes neue Mausmodelle und zusätzliche Versuche durchgeführt werden

zu erwartender Nutzen: Ziel dieses Projektes ist es zu verstehen, wie sich ein kataboles Enzym auf die Regulation des anabolen Fettstoffwechsels in der Leber auswirkt. Die aus dem geplanten Tierversuchen gewonnenen Ergebnisse sollen helfen, die biochemisch-medizinische Forschung im Bereich der Stoffwechsel- und Gefäßkrankungen voranzutreiben und können dadurch langfristig zu verbesserten Behandlungs- und Vorsorgestrategien für Patienten führen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Experimente, die in diesem Projekt beantragt werden, gehen nicht über den Schweregrad mittel hinaus. Die Tiere werden maximal für 12 Stunden gefastet. Die Tiere werden über die Dauer des Versuchs genau beobachtet um sie gegebenenfalls zu euthanasieren, falls der angegebene Schweregrad überschritten wird.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

**Durch die beantragte Änderung werden zusätzlich 6584 Tiere benötigt. Die Untersuchungen werden als „gering“ oder „mittel“ belastet eingestuft werden (Laufzeit 3 Jahre). Insgesamt werden maximal 12680 Mäuse (Mus Musculus) benötigt, wobei die Untersuchungen als maximal „mittel“ belastet eingestuft werden.** Die Anzahl der verwendeten Tiere ist abhängig vom zu erwartenden oder vorausgesagten Effekt, d. h. sind die zu erwartenden Veränderungen zwischen den Gruppen eindeutig, werden sich die Experimente auf ein statistisches Minimum beschränken und daher weniger Tiere verwendet. Zusätzlich wird ständig an der Verbesserung der Versuchsabläufe gearbeitet.

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

Vermeidung: Aus ethischen Gründen und Gründen des Tierschutzes werden Tierversuche soweit möglich vermieden und entsprechende Versuche in etablierten Zellkulturmodellen durchgeführt.

Weiters sollen gute Versuchsplanung und Recherchen die Tierversuchszahlen auf ein statistisches Minimum beschränken.

Verminderung: In diesen für den medizinischen Fortschritt wichtigen Untersuchungen wird immer auf eine möglichst geringe Belastung der Versuchstiere geachtet. Außerdem wird großer Wert daraufgelegt, die Projektversuche nur mit jener minimalen Anzahl an Mäusen durchzuführen, die statistisch notwendig ist, um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten. Eine doppelte Durchführung von Versuchen ist auszuschließen.

Verfeinerung: Wenn möglich sollen finale oder invasive Methoden durch wenig- bzw. nicht invasive Methoden ersetzt werden. Zudem soll durch Mitarbeiterschulungen die Verwendung von neuen, weniger invasiven Methoden gefördert werden.

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

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

Dieses Projekt beinhaltet Wirksamkeitstests neuer Wirkstoffe zur Behandlung von Schmerzen. Bis dato gibt es keine zufriedenstellende Behandlung von starken und chronischen Schmerzen beim Menschen. Eine verbesserte Schmerztherapie ist von hoher Wichtigkeit, da mehr als 20 Prozent der Bevölkerung von chronischen Schmerzen betroffen sind, welche derzeit noch immer inadäquat therapiert werden. Neben der erwünschten analgetischen Wirkung zeigen die derzeit zur Verfügung stehenden Schmerzmittel eine Reihe von unerwünschten Nebenwirkungen, welche deren Anwendung erschweren. Schwere und chronische Schmerzzustände, wie z. B. Chronischer Entzündungsschmerz und Tumorschmerzen, stellen nach wie vor ein großes medizinisches, soziales und volkswirtschaftliches Problem dar. In den letzten Jahren sind aber wichtige Fortschritte bei der Erforschung der molekularen Mechanismen, die der Schmerzempfindung zugrunde liegen, erzielt worden. Diese neuen Erkenntnisse haben wir zur Grundlage neuerer Entwicklungen im Bereich der Analgetika gewählt. Die geplante Studie umfasst experimentelle Arbeiten, mit dem Ziel Wirkstoffe mit einem zielgerichteten pharmakologischen Profil, wissenschaftlich erwiesener Wirksamkeit und günstigem Sicherheitsprofil zu identifizieren und zu charakterisieren, um chronische und starke Schmerzen inklusive Entzündungsschmerz und Tumorschmerzen in Zukunft besser behandeln zu können. Das Vorgehen erfolgt stufenweise. Zellkulturexperimente bilden die Basis des Projekts und sollen durch die Untersuchung im Tier unterstützt und ergänzt werden. Die durch extensive Vorversuche (in vitro Tests in Zellen) gewonnenen Erkenntnisse werden herangezogen, um jene Substanzen zu identifizieren, welchen hohe analgetische Wirksamkeit und geringes Nebenwirkungspotenzial vorausgesagt wird. Es soll geklärt werden, ob nach Administration der effektiven analgetischen Dosen Verhaltensänderungen der Tiere zu beobachten sind und welcher Wirkmechanismus für die Schmerzlinderung verantwortlich ist. In dieser Studie wird lediglich das Verhalten der Tiere nach Behandlung mit analgetischen Dosen des Wirkstoffes beobachtet, was nur eine mäßige Belastung für die Tiere darstellt. Die Erkenntnisse aus diesen Versuchen könnten eine wissenschaftliche Grundlage für die zukünftige bessere Behandlung von starken und chronischen Schmerzen liefern. Angesichts des möglichen großen Nutzens für den Menschen, erscheint der zu erwartende Schaden, der den Mäusen zugefügt wird, als akzeptabel.

2. Art und Anzahl der Tiere

**996 Mäuse für den Zeitraum von drei + drei Jahren und neun Monaten**

3. Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung

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

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

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

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

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

Beim abdominalen Aortenaneurysma (AAA) handelt es sich um eine degenerative Erweiterung der Aorta, die zur Gefäßruptur (verbunden mit einem hohen Todesrisiko) führen kann. In rezenten wissenschaftlichen Publikationen ist die Beteiligung von so genannten 'neutrophil extracellular traps' (NETs) in der AAA Pathogenese gezeigt. Neue Behandlungsmethoden, um die Ausbildung von NETs in Aneurysmen zu unterbinden, sollen in dieser Studie mittels AAA Tiermodellen getestet werden.

Der zu erwartende Nutzen dieser Tierstudie liegt in der Evaluierung neuer Therapiemöglichkeiten für das abdominale Aortenaneurysma.

Der zu erwartende Schaden für die Tiere: Ein abdominales Aortenaneurysma wird bei Versuchstieren mittels Operation (Pumpen Implantation oder Aorta Perfusion) ausgelöst, und die Mäuse werden über einen Zeitraum von maximal 28 Tagen beobachtet. Zur Therapie erhalten die Tiere einen venösen Blutzugang, um die tägliche Verabreichung der Substanzen so schmerzarm wie möglich zu gestalten. Alle Versuchstiere werden im Studienzeitraum schmerzlos getötet.

2. Art und Anzahl der Tiere

**Es werden insgesamt 382 Tiere vom Typ *Mus musculus* für die Studie benötigt.**

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

Vermeidung: Durch die sorgfältige Auswahl der AAA Tiermodelle (mit zu erwartender NET Beteiligung) soll ein Fehlschlag bzw. der unnötige Einsatz von Versuchstieren in einem inadäquaten Modell vermieden werden. Weiters wird die Dosis neuer therapeutischer Substanzen optimiert, um Wirksamkeit bei geringst möglicher Belastung der Tiere zu erzielen.

Verminderung: Ultraschall wird verwendet, um mehrere Datensätze von einem einzigen Tier zu sammeln. Durch statistische Berechnungen wurde die Anzahl der Mäuse so minimiert, dass so wenige wie möglich eingesetzt werden, dabei aber trotzdem ein statistisch signifikantes Ergebnis zustande kommen kann. Durch Standardisierung der Tierhaltung und des methodischen Vorgehens wird die Streuung der Ergebnisse deutlich vermindert.

Verfeinerung: Die Mäuse werden in geeigneten Käfigen gehalten, wobei ihr Wohlbefinden täglich kontrolliert wird. In den Käfigen wird Nistmaterial zur Beschäftigung der Mäuse angeboten. Des Weiteren wird auf unnötige Stresserzeugung für die Tiere verzichtet, indem Lärmquellen sowie auch

grelles, persistierendes Licht vermieden werden. Außerdem werden potentielle Schmerzen durch adäquate Medikation verhindert.

**Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. Mai 2022 vorgesehen.**

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

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

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

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

zu erwartender Schaden für die Tiere: **Von 120 Mäusen werden ausschließlich Blutproben für die Isolierung von Blutzellen oder Plasma genommen. 374 Mäuse werden einem operativen Eingriff unter Vollnarkose unterzogen – mit nachfolgender entsprechender Schmerzlinderung.** Hierbei wird eine tiefe Venenthrombose erzeugt, die über einen Zeitraum von ca. 1 Woche entsteht und sich über die nächsten weiteren 2 Wochen wieder auflöst. Bei 60 Tieren wird vergleichsweise eine akute arterielle Thrombose über einen Zeitraum von 15 Minuten ausgelöst, wobei die Tiere nicht mehr aus der Narkose erwachen.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

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

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

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

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

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

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

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

Cathelicidine sind antimikrobiellen Peptide, die ein breites Aktivitätsspektrum gegen diverse Mikroorganismen aufweisen und als potente Immunregulatoren wirken. Neben ihrer Aktivität gegen Bakterien sind Cathelicidine auch gegen einige Virenstämme wirksam. Mit Hilfe des murinen Papillomvirus *Mus musculus papillomavirus 1* (MmuPV<sub>1</sub>) wird der Einfluss des murinen Cathelicidins CRAMP auf Hautinfektionen mit Papillomviren untersucht. Hierfür wurden CRAMP-defiziente Mäuse und als Kontrolle wild-typ (wt) C57BL/6J Mäuse an der Haut mit MmuPV<sub>1</sub> inokuliert und der natürlich Verlauf der Hautinfektion sowie mögliche Unterschiede in der Virusreplikation/Viruslast und Papillomentstehung zwischen den beiden Mauslinien dokumentiert. Die bisher durchgeführten Versuche deuten auf eine biologische Relevanz des murinen Cathelicidins in der Verhinderung einer kutanen Papillomvirusinfektion und dadurch verursachten Erkrankungen hin. Als nächstes soll der Einfluss von CRAMP auf das murine Immunsystem untersucht werden. Eine Voraussetzung dafür ist die Zucht der benötigten Tiere, zumindest für ein Jahr. Ziel ist die Zucht homozygoter CRAMP-defizienter Mäuse sowie der entsprechenden wt C57BL/6J Kontrollen. Die Verpaarung erfolgt streng getrennt: 1) CRAMP-defiziente Mäuse: homozygot weiblich x homozygot männlich. 2) wt C57BL/6J: weiblich x männlich. Die Verpaarung CRAMP-defizient und wt ist absolut unerwünscht und wird nicht durchgeführt. Die zu erwartende Anzahl an Jungtieren in dem Jahr würde die Anzahl an benötigten Tieren für die Durchführung des Projekts abdecken.

zu erwartender Nutzen: Die Projektziele können nicht durch in vitro Versuche ersetzt werden und dienen neuer klinischer Erkenntnisse zur Entstehung, Prävention und/oder Behandlung von durch Papillomviren verursachten Hauterkrankungen. Wenn Cathelicidine die in vivo Infektion mit kutanen Papillomviren verhindern oder verringern könnten, könnte dies die Entwicklung von anti-viralen Mitteln, die z. B. als Lokalthherapie oder systemische Therapie Verwendung finden, unterstützen, um eine Virus Übertragung zu verhindern.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Belastung der CRAMP-defizienten Zuchttiere: gering; Belastung der wt Zuchttiere: keine. Belastung der Versuchstiere: mittel. Bei keinem der bisher verwendeten Tiere kam es zu einem höheren Schweregrad der erwarteten Belastung. Kutane Papillome stellen keine Einschränkung der Lebensqualität der Tiere dar. Die verwendeten CRAMP-defizienten Mäuse zeigen eine normale Entwicklung, Fertilität und Lebenserwartung und sind durch das Fehlen von CRAMP nicht beeinträchtigt.

2. Art und Anzahl der Tiere

Zusätzlich zu den bereits bewilligten 105 Mäusen unterschiedlicher Genotypen, werden weitere Mäuse (insgesamt 126 Tiere) benötigt. Die zusätzlich benötigten Tiere bestehen aus:

- 6 CRAMP-defizienten Zucht-Mäusen (je 3 männliche und 3 weibliche) und
- 80 CRAMP-defizienten Jungtieren (weiblich und männlich) aus der Verpaarung der CRAMP-defizienten Zucht-Mäuse und
- 40 weiblichen wt C57BL/6J Jungtieren.

**Die benötigte Tierzahl erhöht sich auf insgesamt 231 Tiere.**

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

Die Erfüllung der drei R (reduce, refine and replace) stellt einen zentralen Aspekts dieses Projekts dar: Standardisierte Bedingungen, eine genaue Planung und Durchführung der Versuche wird eine Reduktion der Versuchstiere auf ein Minimum ermöglichen (Reduction). Für eine weitere Verminderung können männliche Jungtiere aus der Verpaarung wt C57BL/6J Mäuse, falls Bedarf besteht, gerne anderen Forschungsgruppen zur Verfügung gestellt werden. Wann immer es experimentell möglich ist werden wir eine alternative Strategie anstreben (Ausbau der in vitro Experimente), um die in vivo durchgeführten Experimente und somit die Zahl der Versuchstiere gering zu halten (Replacement). Zusätzlich werden die Versuchstiere unter Bedingungen gehalten werden, welche jeglichen zusätzlichen Stress für die Versuchstiere vermeiden soll (Refinement).

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

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

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

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

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

2. Art und Anzahl der Tiere

**Es werden 626 Mäuse des Stamms C57BL/6 verwendet.**

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

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

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. Jänner 2021 sowie bis spätestens 31. Juli 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

zu erwartender Nutzen: Die Untersuchungen dienen einem besseren Verständnis der Regulation von Körpergewicht und Blutglukose und der Möglichkeiten, 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: 72% der Tiere durchlaufen Protokolle, die als wenig belastend eingestuft sind, 216 davon werden nur zur Zucht verwendet und ihre Belastung besteht nur in angeborenem moderatem Übergewicht. Für 28% der Tiere sind mittelgradig belastende Protokolle vorgesehen. Die experimentellen Eingriffe enden mit der Tötung der Tiere zum Sammeln von Blut und Gewebeproben. 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

**1062 Mäuse; 36 Ratten**

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

Im Projekt wird u. a. untersucht, ob Behandlungsprotokolle, wie sie bei Nagern in mehr als tausend Studien zur Wirkung des meistverschriebenen Diabetesmedikaments (Metformin) angewandt wurden, überhaupt bestgeeignet sind, um Schlussfolgerungen über die klinische Wirkungen zu ziehen. Der angestrebte Informationsgewinn hat relevantes Potenzial zu Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung von zukünftigen Experimenten zu diesem Thema. Weitere Maßnahmen im Sinne der „3R“ sind:

Vermeidung: Die Versuche am intakten Organismus werden im Sinne des Replacement (Vermeidung von Tierversuchen) soweit möglich durch in Vitro-Untersuchungen ergänzt bzw. ersetzt. In Vivo Untersuchungen sind aber unumgänglich, da die Regulation von Körpergewicht und Blutglukose untersucht wird, die auf dem Zusammenspiel vieler, teils ungeklärter Mechanismen und Organe beruht.

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 Arten, Stämme und Krankheitsmodelle (= teils Tiere mit erblichem oder ernährungsbedingtem Übergewicht), sowie das Verwendungsalter langjährigen Konventionen in der Stoffwechselforschung, sodass auch bei geringem Tierverbrauch bestmögliche Vergleichbarkeit und Interpretationssicherheit in Bezug auf frühere Ergebnisse besteht. Versuchsabläufe und Haltungsbedingungen sind standardisiert und folgen dem aktuellen Stand der Wissenschaft.

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

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

Leberverfettung wird nicht nur durch erhöhte Cholesterin-Spiegel in Kombination mit Übergewicht ausgelöst, sondern kann auch im Rahmen einer Chemotherapie als unerwünschte Nebenwirkung auftreten. Hierbei kommt es zu einer toxischen Schädigung der Leber, die mit Verfettung und strukturellen Änderungen des Lebergewebes verbunden ist. So kann es passieren, dass der Patient von Krebs geheilt wird, jedoch mit Leberproblemen zu kämpfen hat. Neue Ergebnisse konnten zeigen, dass Blutgerinnungsaspekte eine wichtige Rolle bei der Entstehung von Fettleber-Erkrankungen spielen. Aus diesem Grund wollen wir testen ob eine Hemmung bestimmter Faktoren durch etablierte Medikamente das Auftreten von Chemotherapie-induzierter Leberschädigung vermindert.

zu erwartender Nutzen: Mit unserem präklinischen Modell wollen wir die Hypothese testen, dass eine pharmakologische Hemmung bestimmter Faktoren der Blutgerinnung die Lebertoxizität häufig eingesetzter Chemotherapeutika vermindert. Eine Bestätigung dieser Hypothese könnte sehr rasch klinisch umgesetzt werden, da die entsprechenden Medikamente bereits zugelassen sind.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Den Mäusen werden Blutverdünner verabreicht und es wird ihre Leberfunktion nach Chemotherapie getestet.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

**Mäuse: Erhöhung um 78 auf 1.506**

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

Vermeidung: Diese Studien können nur in Tiermodellen durchgeführt werden, da nur in diesen die komplexen Wechselwirkungen zwischen den verschiedenen Leber-Zelltypen und den Thrombozyten in natürlicher Weise vorhanden sind. Publikation der Forschungsergebnisse in frei zugänglichen Journalen und Datenbanken dient zur Vermeidung weiterer Tierversuche durch andere Forschungsgruppen.

Verminderung: Die benötigte Tieranzahl wurde mittels Fallzahlberechnung so gering wie möglich kalkuliert, wobei eine Verminderung durch begleitende statistische Analysen angestrebt wird. Des Weiteren wird eine möglichst niedrige Anzahl der eingesetzten Tiere durch Standardisierung gewährleistet, bei der die experimentelle Variabilität so gering wie möglich gehalten wird. Um das zu erreichen werden Tiergruppen verglichen, die sich nicht in Alter, genetischem Hintergrund und Haltungsbedingungen unterscheiden. Um die unnötige Wiederholung der Experimente durch andere Arbeitsgruppen zu vermeiden, werden unsere Ergebnisse in internationalen

Fachzeitschriften publiziert und auf Kongressen präsentiert. Da dieses Projekt im Rahmen eines geförderten Projektes durchgeführt wird, ist der kostenlose Zugang zu den Journalen gewährleistet. Genexpressionsdaten oder Proteomics-Daten werden in öffentlich zugänglichen Datenbanken gespeichert (GEO: Gene Expression Omnibus Daten der National Library of Medicine, USA; PRIDE-Datenbank des EMBL-EBI Konsortiums). Dadurch wird insgesamt die Zahl der Tierversuche reduziert.

Verfeinerung: Die Haltung der Tiere erfolgt nach den FELASA Richtlinien in einem „enriched environment“ und die Versuche werden von hochqualifiziertem Personal durchgeführt

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 28. Februar 2023 vorgesehen.

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

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

Die Fokal segmentale Glomerulosklerose (FSGS) bezeichnet eine Gruppe von chronischen Erkrankungen der Niere, die unbehandelt in der Mehrzahl der Fälle zu komplettem Nierenversagen führt. Sox9 ist einer der am stärksten erhöhten Transkriptionsfaktoren in Patienten mit FSGS und in vitro wurde bereits gezeigt, dass die Überexpression des Transkriptionsfaktors Sox9 die kleine, regulatorische RNA miR-193a hochreguliert. Dementsprechend möchten wir in vivo die Hypothese überprüfen, ob eine Überexpression von Sox9 und daraus resultierende Hochregulation miR13a in der Niere zu einem FSGS-Phänotyp führt bzw. Möglichkeiten gefunden werden, wie das therapierbar wäre.

zu erwartender Nutzen: Das geplante Projekt soll Einblick in die bis heute schlecht verstandene Krankheitsentstehung der FSGS erlauben und helfen, neue Targets für die Therapie dieser schweren Erkrankung aufzudecken.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Mäuse werden über gentechnische Verfahren so verändert, dass das Zielgen in der Niere stark vermehrt wird, was auch in manchen Patienten beobachtet wird. Wir gehen davon aus, dass dies zu einer FSGS-ähnlichen Erkrankung mit Proteinurie führt.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

**insgesamt 1640 Mäuse** unterschiedlichen Genotyps.

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

Vermeidung: Die zugrundeliegenden Hypothesen der vorliegenden Versuche wurden ausführlich in verschiedenen Studien gezeigt. Eine weitere Aufklärung erfordert die Überprüfung in einem in vivo Modell, vor allem für die Charakterisierung der zu erwartenden FSGS durch funktionelle, histologische und molekularbiologische Untersuchungen besteht keine Alternative zur Tierstudie.

Verminderung: Die notwendige Anzahl der Tiere wurde durch Berechnung der Stichprobengröße ermittelt. Die biologische Streuung wird durch standardisierte Tierhaltung und methodisches Vorgehen weiter vermindert.

Verfeinerung: Die Belastung der Versuchstiere wird durch laufende Beurteilung des klinischen Zustandbildes und durch klare Abbruchkriterien auf ein Minimum reduziert.

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

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

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

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

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

2. Art und Anzahl der Tiere

760 Mäuse

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

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

**Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. August 2019 sowie bis spätestens 31. August 2022 vorgesehen.**

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

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

Die Histondeazetylasen HDAC<sub>1</sub>, HDAC<sub>2</sub> und die DNA-Methyltransferase DNMT<sub>1</sub> spielen eine wichtige Rolle in der Regulation der Genexpression, der Proliferation und der Differenzierung. Generelle Inhibitoren von Histondeazetylasen und DNA-Methyltransferasen werden momentan in klinischen Versuchen als Tumorthapeutika getestet bzw. schon in der Tumorthapie eingesetzt. Die Identität der relevanten Target-Enzyme ist aber zum Großteil unklar. Die geplanten Tierversuche sollen Aufschluss darüber geben, ob HDAC<sub>1</sub>, HDAC<sub>2</sub> und DNMT<sub>1</sub> wichtige Targets für pharmakologische Inhibitoren darstellen. Durch den Einsatz von Isoform-spezifischen Inhibitoren sollte es möglich sein, unnötige Nebeneffekte in therapeutischen Ansätzen zu vermeiden. Versuchsziel ist einerseits Effekte der Deletion oder Inaktivierung von spezifischen HDACs und DNMTs auf die Homöostase der Haut und den dort residierenden Immunzellen und andererseits auf den Zeitverlauf und das Ausmaß der Tumorentstehung zu untersuchen.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

**Insgesamt werden 4.724 Mäuse, einschließlich 3.603 Mäuse für Zucht- und Stammerhaltung, verwendet.**

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

Vermeidung: Für diese Fragestellung gibt es naturgemäß keinen in vitro Ersatz.

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

Verfeinerung: Durch Standardisierung aller Haltungs- und Versuchsbedingungen und genaue Versuchsplanung wird eine geringe Streuung der Versuchsergebnisse ermöglicht und somit die Tierzahl auf das notwendige Minimum reduziert.

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

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

Ein typisches Merkmal der primär sklerosierenden Cholangitis (PSC) ist das Auftreten von Leberentzündung und die Bildung von Bindegewebe rund um den Gallengang, was zu Störungen des Galleflusses und Infektionen führt. Da die komplexen Interaktionen zwischen den unterschiedlichen Leberzellen wie Hepatozyten, Entzündungszellen (und den von ihnen sezernierten Zytokinen und Chemokinen), Gallengangsepithelzellen (Cholangiozyten) und hepatischen Sternzellen (als zelluläre Quelle der Fibrose/Bindegewebsbildung in der Leber), in der Pathogenese der PSC eine essentielle Rolle spielen sind Tierversuche leider unumgänglich. Es wird angenommen, dass bestimmte Gallensäuren (die nach ihrer Synthese in den Leberzellen über bestimmte Transportproteine in den Gallengang gepumpt werden) Auslöser für diese Gallenwegserkrankung sein könnten. Zu diesem Zweck wird untersucht ob transgene Mäuse, denen bestimmte Gallensäuretransporter bzw. deren regulatorische Transkriptionsfaktoren fehlen, gegenüber etablierten Auslösern einer Cholestase geschützt sind.

Zu erwartender Nutzen: Die Durchführung dieses Projekts soll neue Möglichkeiten für pharmakologische Therapiestrategien für cholestatische Lebererkrankungen aufzeigen.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Fragestellung wird bei unterschiedlichen Leberschädigungen untersucht werden. Diese Schädigungen basieren auf wissenschaftlich anerkannten Modellen, d. h. Schäden die auch in humanen Patienten zu beobachten sind. Die Belastung der Tiere wird die laufende Betreuung und durch Einsatz von Schmerzmittel auf ein Minimum reduziert.

2. Art und Anzahl der Tiere

**Tiere:(mus musculus, Maus) 2032**

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

Vermeidung: Um die Anzahl der Versuchstiere beziehungsweise der Tierexperimente so gering wie möglich zu halten, werden in vitro Versuche in kommerziell erhältlichen Zelllinien durchgeführt. In diesen Zelllinien wird durch sogenannte „knock down“ Methoden die Expression des Schlüsseligens verringert. Soweit möglich werden auch KO-Kulturen der unterschiedlichen (oben angeführten) Zellarten verwendet, um den direkten mechanistischen Zusammenhang zwischen diesen verschiedenen Zellentypen feststellen zu können. Diese in vitro Modelle erlauben die Beantwortung spezifischer mechanistischer Fragestellungen und tragen maßgeblich zur Einschränkung notwendiger Tierexperimente bei.

Verminderung: Zur deutlichen Herabsetzung der Streuung der Ergebnisse erfolgen die Tierhaltung und das methodische Vorgehen unter standardisierten Bedingungen. Ein weiterer Punkt für eine Verminderung der Versuchstiere ist die serielle Durchführung der geplanten Experimente.

Verfeinerung: Alle angeführten experimentellen Techniken sind in unserem Labor optimiert und werden von erfahrenen Wissenschaftern durchgeführt, damit das bestmögliche Wohlbefinden für die Versuchstiere gewährleistet werden kann.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 28. Februar 2023 vorgesehen.

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

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

Das maligne Melanom, ein hochgradig bösartiger Tumor, der früh zur Metastasierung neigt, weist eine extrem hohe Sterblichkeitsrate auf. Obwohl rezente Fortschritte in der Therapie erzielt wurden, bleibt die fünfjährige Überlebenswahrscheinlichkeit mit etwa 5% alarmierend niedrig. In Zellkulturstudien konnten wir metabolische Veränderungen charakterisieren, die bösartige Zellen von gutartigen unterscheiden. Darauf aufbauend haben wir Substanzen identifiziert, die in-vitro die Migration hemmen. Diese Substanzen sollen nun im Tierversuch getestet werden. In transgenen Mausmodellen, die die Entstehung des humanen Melanoms widerspiegeln, werden wir die verschiedenen erfolgsversprechenden Substanzen applizieren, um ihre anti-tumorigene Wirkung zu prüfen.

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

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

### 2. Art und Anzahl der Tiere

**Mit diesem Antrag wird um Bewilligung von maximal 610 Mäusen unterschiedlichen Genotyps ersucht.**

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

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

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

Verfeinerung: Um die beantragten Versuche optimal durchzuführen, kooperiert der Antragsteller mit Experten, die praktische Erfahrung mit den verwendeten Methoden nachweisen können. Die

Substanzen, die appliziert werden sollen, wurden im Vorversuch in Zellkulturen umfassend getestet, sodass nur vielversprechende und wirksame Substanzen im Tierversuch getestet werden. Die Verwendung von etablierten Tiermodellen garantiert das erfolgreiche Testen der gestellten Hypothesen unter minimalem Belastung der Tiere. Die Haltung der Tiere erfolgt über die Standards hinaus in einem "enriched environment".

**Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. Oktober 2020 sowie bis spätestens 31. Oktober 2023 vorgesehen.**

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

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

Das Projekt zur Erforschung der "Rolle von anti-inflammatorischen Signalwegen und deren Modulation von chronischen Entzündungen, Tumorentstehung und Antitumorimmunität" mit Hilfe von Mausmodellen dient in erster Linie dazu, mehr über die Interaktion von Zellen, die an der Immunabwehr beteiligt sind, zu lernen. Dies kann Implikationen haben auf Therapieansätze, die im speziellen die Antitumorimmunität betreffen. Auf der anderen und vielleicht wichtigeren Seite werden spezifisch Effekte von PI3K und mTOR Defizienz und die pharmakologische Blockierung dieses wichtigen Signalweges, der in der Tumorentstehung eine wichtige Rolle spielt, untersucht. Es soll geklärt werden, ob diese Antitumorbehandlung negative Auswirkungen auf die Immunantwort im Patienten haben könnte.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Nach Abänderung weitere 1848 Mäuse (zu den 1298 Mäusen, insgesamt 3146 Mäuse)

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

Im Rahmen des Projektes werden vermehrt in vitro Ansätze verwendet, die dann auch ergänzend zu den in vivo Experimenten eingesetzt werden können. Die benötigte Tierzahl wurde mittels Fallzahlberechnung so gering wie möglich kalkuliert, wobei eine Verminderung durch begleitende statistische Analysen angestrebt wird. Des Weiteren wird eine Verminderung der Anzahl durch eine Standardisierung gewährleistet. Analgetische Behandlung der Tiere erfolgt, um die Belastung der Tiere herabzusetzen. Die Haltung der Tiere erfolgt nach den FELASA Richtlinien in einem "enriched environment"

**Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. Mai 2019 sowie bis spätestens 31. August 2021 vorgesehen.**

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

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

zu erwartender Nutzen: Ziel dieser Studie ist es, die Rolle eines Proteins im anaplastischen großzelligen Lymphom (ALCL) in einem Mausmodell zu charakterisieren. Das ALCL ist ein seltenes und aggressives Non-Hodgkin T Zell Lymphom, das vorwiegend in Kindern und jungen Erwachsenen auftritt. Klinisch werden kutane und systemische ALCL unterschieden, wobei letztere weiter in 2 Subtypen eingeteilt wird: Anaplastische Lymphom Kinase positive (ALK+) ALCL und ALK negative (ALK-) ALCL. ALK+ALCL wurde intensiv erforscht und neben der klassischen Chemotherapie zeigen neu entwickelten ALK Inhibitoren gutes Ansprechen bei deutlich geringerem Nebenwirkungsspektrum. Im Gegensatz dazu ist derzeit noch wenig über die onkogenen Faktoren des ALK-ALCL bekannt, das mit einer Überlebensrate von 50% innerhalb der ersten 5 Jahre auch den aggressiveren Subtyp darstellt. Ziel dieser Studie ist der Erkenntnisgewinn über onkogene Mechanismen in ALCL, im spezielleren über den ALK- Subtyp, ferner wollen wir neue therapeutische Kinase Targets identifizieren, die nicht mit ALK assoziiert sind und die in Kombination mit bereits angewendeten Inhibitoren, oder exklusiv als Therapeutika eingesetzt werden können. Unsere ex vivo Daten deuten darauf hin, dass die Abwesenheit einer bestimmten Tyrosinkinase mit der Verringerung des Tumorwachstums in humanen ALCL Zelllinien korreliert.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Da es bei NPM-ALK Mäusen zu einer spontanen Tumorentstehung kommt, werden alle ALK+ NPM-ALK transgenen Tiere im Zeitraum der Tumorentstehung kontinuierlich (jeden zweiten Tag) auf Anzeichen eines mediastinalen Tumors (Ruhedyspnoe, vermindertes Gewicht, reduzierte Motilität) untersucht und bei positiven Anzeichen den weiter geplanten Untersuchungen zugeführt. Die Belastung der Versuchstiere wird aufgrund der bekannten humanen schmerzfreien Symptomatik des Anaplastischen Großzelligen Lymphoms als maximal mittelgradig eingestuft ferner auch da Metastasenbildung in dem Zeitintervall des Versuchs nicht auftritt. Die Fortpflanzung und Züchtung ist bis zu einem späten Stadium möglich. Die TYK2 Mäuse zeigen keine markanten Abnormalitäten in der Entwicklung, Fertilität und Ontogenese von Blutzellen (13) daher wird ihre Belastung als gering eingestuft. Knockout Mäuse werden solange beobachtet bis Tumorzeichen auftreten, und dann den geplanten Untersuchungen zugeführt. Sollte es zu keiner Tumorentstehung kommen, werden 50 Wochen als maximale Beobachtungsdauer angenommen. Mittels eines sog. PDX (Patient Derived Xenograft) Mausmodell werden humane ALCL Zellen subkutan in NSG Mäuse injiziert. Nach etwa 6 Monaten entwickelt sich der humane Tumor in den Mäusen. Analog dazu werden wir auch humane Zellen, die wir akut von Gewebe von ALCL Patienten bekommen, subkutan in NSG Mäuse injizieren. Da die Xenograft Mäuse ab Transplantation mit den Tumorzellen

mit den Inhibitoren behandelt werden und die Gesamtdauer des Versuchs 6 Wochen beträgt, ist deren Belastung maximal als mittelgradig einzustufen, da während dieses Zeitraumes Metastasenbildung nicht auftritt. Für die Bestimmung des Blutbildes wird unter Narkose (Ketamin (100 mg/kg)/ Xylazin (10 mg/kg); intraperitoneal) der retrobulbäre Venenplexus punktiert, um eine möglichst große Blutmenge zu gewinnen. Das Versuchstier wird anschließend durch zervikale Dislokation getötet. Ein Aliquot der Blut- und Knochenmarkszellen wird mittels Flow Cytometry auf Oberflächenmarker hin untersucht, die restlichen Zellen werden in Kultur genommen, um sie für weiteren Analysen anzuzüchten. Die Tumore werden entnommen, gewogen und anschließend geteilt. Ein kleiner Teil wird in Paraffin eingebettet und den entsprechenden Analysen zugeführt. Ein weiteres Stück Tumormasse wird unter sterilen Bedingungen wieder in Kultur genommen, um das Wachstumsverhalten in vitro zu evaluieren. Der Hauptanteil wird in flüssigem Stickstoff schockgefroren und biochemischen Untersuchungen zugeführt (PCR, EMSA, Western- und Northernblot). Histologische und immunhistochemische Untersuchungen verifizieren Unterschiede im Wachstumsverhalten der Tumorzellen und werden durch detaillierte Beschreibung und Fotodokumentation wiedergegeben, Banden aus Northern- und Westernblot Analysen werden densitometrisch vermessen und ebenfalls fotodokumentiert.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Mäuse unterschiedlichen Genotyps: Gesamtzahl der Mäuse für experimentelle Studien für **5 Jahre + 5 Jahre Studiendauer** = 540

Gesamtzahl der gezüchteten Tiere unterschiedlichen Genotyps = 972

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

Vermeidung: Es wurden von unserer Gruppe bereits zahlreiche in vitro Analysen durchgeführt, die auf die mögliche Beteiligung von dieser Tyrosinkinase in der Tumorphiliferation hinweisen. Diese Analysemethoden sind nun an ihre Grenzen gestoßen. Um die bisher gewonnenen Daten in einem reaktionsfähigen Organismus zu bestätigen und deren systemische Bedeutung zu erfassen, ist die Verwendung der Mäuse notwendig.

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

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

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. August 2019 sowie bis spätestens 31. August 2024 vorgesehen.

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

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

Die Lungenfibrose ist eine lebensbedrohliche chronische Erkrankung der Lunge mit dem Leitbefund einer fortschreitenden Fibrose des Lungengewebes. Sie entsteht durch chronische Entzündungsvorgänge, wobei auch die feinen Wände der Lungenbläschen betroffen sind. Dabei wird das entzündete Lungengewebe in Bindegewebe umgebaut - es kommt zu einer krankhaften Vermehrung des Bindegewebes zwischen den Lungenbläschen und den sie umgebenden Blutgefäßen, welches dann verhärtet und vernarbt (fibrosiert). Potente Medikamente, die Lungenfibrose senken bzw. eine weitere Verschlechterung verhindern können, stehen leider weiterhin nicht zur Verfügung. Das Ziel unseres Projekts ist es, die frühe Phase der Lungenentzündung bei Lungenfibrose zu untersuchen.

zu erwartende Nutzen: Die Ergebnisse können unsere Kenntnisse über die Entstehung der Krankheit in Menschen erweitern. Das Ziel ist neue Signalweg zu entdecken die zu neuen therapeutischen Möglichkeiten führen können.

zu erwartende Schaden für die Tiere: Die Tiere entwickeln Symptome der Lungenentzündung, die dem menschlichen Krankheit ähnlich sind, wie zum Beispiel häufig andauernde Abnahme der körperlichen Belastbarkeit, sowie ein Anstieg der Atemfrequenz.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

**Mäuse, insgesamt: 1038**

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

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

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

Verfeinerung: Die absolute Anzahl der Tiere wurde minimiert, indem mehrere unterschiedliche Messwerte (Parameter) pro Tier gemessen werden. Dies dient der Verfeinerung der Versuche und der Reduktion der Zahl der Tiere. Eingriffe welche das Wohlbefinden der Tiere beeinträchtigen würden werden unter Narkose vorgenommen. Alle Tiere werden unter optimalen, kontrollierten

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

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

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

Diese Pilotstudie dient dazu, eine neue schonende Methode auszutesten, um bildgebende PatientInnen Daten zu erhalten. Derzeit werden Computertomographie-Untersuchungen (CT) durchgeführt, um solche Daten zu erhalten. Dadurch werden die PatientInnen jedoch hohen Strahlenbelastungen ausgesetzt und diese Untersuchungen sind während einer Operation nicht möglich. In dieser Studie wird nun eine neue, berührungslose Scanning-Methode am Schwein untersucht. Dabei handelt es sich um ein Gerät in Form eines Arms, das während einer Operation innerhalb kurzer Zeit 3D-Bilder des geschädigten Knochens aufnehmen kann. Ein Austesten der Methode im lebenden Organismus ist notwendig, um untersuchen zu können, ob eine Unterscheidung von Knochen zu anderem Gewebe möglich ist und ob Körperflüssigkeiten wie z. B. Blut die Aufnahmen beeinflussen.

zu erwartender Nutzen: Wenn im Rahmen dieses Tierversuchs bestätigt werden kann, dass die neue Methode zufriedenstellende 3D-Bilder liefert, könnte sie in naher Zukunft in vielen Fällen die CT-Untersuchungen ersetzen. Die PatientInnen könnten während einer Operation untersucht werden und müssten keiner Strahlenbelastung mehr ausgesetzt werden. Eine Anwendung der Methode am Tier wäre in solch einem Fall auch möglich und würde dieselben Vorteile bringen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere werden in Narkose operiert, um Schädelknochen, Rippe und Unterschenkel untersuchen zu können. Wenn der Versuch beendet ist, werden die in tiefer Narkose befindlichen Tiere euthanasiert. Es erfolgt keine Wiederherstellung der Lebensfunktion, mit Schmerzen während des Versuchs ist nicht zu rechnen.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

**Für diesen Tierversuch werden fünf erwachsene, männliche Schweine verwendet.**

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

Vermeidung: Die Vermeidung des Tierversuchs ist nicht möglich, da die Fragestellung nur im lebenden Organismus zu beantworten ist. Vorversuche am präparierten Schweineschädel wurden bereits durchgeführt, einige Fragen, wie z. B. der Einfluss von Blut auf die Messungen, konnten damals jedoch nicht beantwortet werden. Nach der erfolgreichen Durchführung des Tierversuchs können weitere Tierversuche vermieden werden, da die Ergebnisse für alle lebenden Organismen anwendbar sind.

Verminderung: Für diesen Tierversuch wird mit einer kleinen Tierzahl von fünf Schweinen gearbeitet. Diese Tierzahl ist ausreichend, da nur die Anwendbarkeit einer Methode überprüft wird.

Nach der Durchführung des Tierversuchs müssen keine weiteren Tiere mehr benützt werden, da die Ergebnisse für alle lebenden Organismen angewandt werden können.

Verfeinerung: Während der Eingewöhnungszeit der Tiere von 7-14 Tagen werden sie standardmäßig durch fachkundiges, geschultes Tierpflegepersonal betreut. In dieser Zeit werden ihnen Bälle, Gummiringe, Stroh, etc. zur Verfügung gestellt. Durch vermehrten Kontakt werden die Tiere an die TierpflegerInnen gewöhnt, um Stress zu reduzieren. Während der gesamten Zeit vor dem Versuch werden die Tiere engmaschig überwacht und routinemäßig von TierärztInnen auf ihren Gesundheitszustand überprüft.

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

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

Ziel des Projektes ist es, den Effekt verschiedener Substanzen (Spermidin i.p., Rapamycin i.p., Hydroxycitrat i.p., Nicotinamid i.p.) auf das, durch Verbrühungen hervorgerufene Nachbrennen und die damit einhergehenden Gewebsschädigungen zu verhindern/reduzieren.

zu erwartender Nutzen: Die Vermeidung großflächiger, tiefgreifender Gewebsschäden sowie Infektionen nach Verbrennung. Besonderes Augenmerk wird auf Verringerung des „Nachbrennens“ gelegt.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Wir erwarten die gleichen Schmerzen wie bei den Menschen bei gleichen Verbrennungen/Verbrühungen. Das Tier wird während der gesamten Behandlung adäquat mit Schmerzmittel versorgt und bekommt einen Wundverband. Durch die getesteten Mittel/Placebos werden keine zusätzlichen Schäden hervorgerufen. Die Versuchstiere werden regelmäßig von einem Veterinärmediziner begutachtet, sodass sichergestellt wird, dass bei ersten Anzeichen des Leidens (Gewichtsverlust, Essen - und Trinkverweigerung sowie Veränderungen des Aussehens und Verhaltens) die Tiere von ihrem Leid erlöst werden.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für den Versuch werden Sprague Dawley Ratten verwendet. **Insgesamt werden max. 132 männliche Ratten mit etwa 500g Gewicht herangezogen. (72 Ratten Verabreichung der Substanzen intraperitoneal, max. 60 Ratten mechanistische Studie, inkl. 20% Drop-out-Ratten)**

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

Vermeidung: Die geplanten Versuche müssen in vivo durchgeführt werden, da man eruieren möchte, wie sich das Gewebe unter bestimmten Bedingungen (Applikation von Spermidin, Rapamycin, Nicotinamid, Hydroxycitrat) verhält. Diese komplexen Mechanismen können nur in vivo untersucht werden.

Verminderung: Die Anzahl der Versuchstiere wird auf das Nötigste vermindert, um noch eine adäquate statistische Auswertung zu gewährleisten.

Verfeinerung: Nach Anlieferung bekommen die Tiere eine Eingewöhnungszeit von 7-14 Tagen, um sich an die neue Umgebung zu gewöhnen und Stress zu reduzieren. Die Tiere werden nach der Operation kontinuierlich analgetisch versorgt. Für das Wohl der Tiere wird neben der Standardtierhaltung zusätzliches Enrichment in Form von Nestpaks und Zellstoff bereitgestellt. Des

Weiteren wird versucht, den Stress der Tiere so weit wie möglich zu reduzieren, indem sie durch entsprechendes Handling von geschultem Tierpflegepersonal an den Menschen gewöhnt werden. So ist sichergestellt, dass die Ratten an Berührung und sonstiges Handling gewöhnt sind und der diesbezüglich empfundene Stress während der Experimente reduziert ist. Über den gesamten Versuchszeitraum werden die Tiere engmaschig überwacht und von Tierärzten auf ihren Gesundheitszustand kontrolliert.

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

### 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 gesamten 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 einem experimentellen Modell 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: Dieses Tiermodell ist einzigartig in dem es rekapituliert alle klinisch-relevante Symptome der diastolischen 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 Nahrungsbasierten 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 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, Hyperinsulinemie, Hochblutdruck und Nierenschädigung) entwickelt. Ungewöhnlich gesteigerte Nahrungsaufnahme führt zum Übergewicht, linkventrikuläre Dysfunktion, die in diastolische Herzinsuffizienz einhergeht.

2. Art und Anzahl der Tiere

**Es werden 280 Ratten und 340 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. Der positive Effekt der Substanz auf die Herzinsuffizienz, die durch andere Risikofaktoren induziert wurde, wurde 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 gewonnenen 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): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

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

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

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

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere werden erwachsen erworben und zur Eingewöhnung für mindestens eine Woche gehalten. Danach erhalten die Tiere Diäten zur Ausdifferenzierung der Homocysteinämie bzw. der atherosklerotischen Plaques. Ein bis zwei Wochen nach Diätstart erfolgt eine operative Schädigung der Aortengefäße zur Initiierung der Atherosklerose mittels Katheter, schmerzfrei unter entsprechender Narkose. Dabei ist keine physische Beeinträchtigung der Tiere zu erwarten, postoperative Schmerzen entsprechen denen beim Menschen. **Die Tiere erhalten die Spezialdiäten dann noch für 8 bis maximal 10 Wochen. Auch hier ist keine weitere Schmerzbelastung bei den Tieren zu erwarten.** Durch die Injektionen wird keine zusätzliche

Schmerzbelastung erwartet. **Im Schnitt 8-10 Wochen nach der operativen Schädigung erfolgt dann die Sakrifizierung entsprechend den Bestimmungen, und danach die ex vivo Analysen.**

2. Art und Anzahl der Tiere

80 Kaninchen

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

**Vermeidung:** Eine Vermeidung des beantragten Tierversuches ist nicht möglich, da Herz-Kreislauf Erkrankungen wie die Entstehung von atherosklerotischen Plaques in den Gefäßen und Hyperhomocysteinämie nicht z. B. in Zellkulturen nachgestellt werden können. Da größere Versuchstiere dem menschlichen Szenario der Atherosklerose näher kommen, werden für diese Studie Kaninchen benötigt.

**Verminderung:** Durch die aufwendigen Messungen, in vivo mittels Ultraschall und ex vivo mittels Histologie und neuester analytischer Methoden, wird angestrebt den größtmöglichen Wissenszuwachs aus einer geringstmöglichen Anzahl an Versuchstieren zu gewinnen. Sollten sich statistisch eindeutige Ergebnisse bereits mit weniger als den geplanten Tierzahlen ergeben, wird die Anzahl der für das Versuchsprotokoll eingesetzten Tiere entsprechend reduziert werden.

**Verfeinerung:** Sämtliche Eingriffe bei den Versuchstieren erfolgen in adäquater Sedierung oder Narkose. In den bisherigen Versuchsreihen ergab sich kein Anhalt für Schmerzen, Leiden oder Angst der Tiere. Die Tiere werden zunächst für eine Woche unter tierärztlicher Aufsicht an die neue Umgebung gewöhnt, damit ein durch den Transport bedingter Stresszustand abklingen kann. Es findet über den Versuchszeitraum ein werktäglicher Umgang mit den Tieren durch das Tierpflegepersonal und Experimentatorenteam statt, so dass sich die Tiere an diese Personen gewöhnen und nicht-invasive Messungen ohne Stress und idealerweise ohne oder mit nur geringer Sedierung durchgeführt werden können. Das Tierärzeteam kontrolliert die Tiere regelmäßig auf ihren Gesundheitszustand. Die Kaninchen werden in genormten Käfigen den Bestimmungen entsprechend gehalten und erhalten Enrichment in Form von z. B. Hartholzstückchen.

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

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

Projektziel liegt in der Aufklärung molekularer Mechanismen, die zur Tumorentstehung und Therapieresistenz in Mensch und Tier beitragen. Diesbezüglich wird besonders die Rolle von programmierten Zelltod hinterfragt. Dies geschieht in der Regel in verschiedenen Experimenten in Zellkultur, wobei primäre Zellen aus Mausstämmen mit erhöhter Tumorneigung und Zelltod-Defekten isoliert werden. Diese Tumor-Mausmodelle dienen in weitere Folge auch zur Etablierung von Zuchten die kombinierte modifizierte Allele beinhalten. Wenn angebracht werden diese Tiere auch bis zur Etablierung von Tumoren beobachtet um primäres Tumormaterial zu erhalten.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Von 15 verschiedenen Mausstämmen werden dazu bis zu 7750 Tiere **in einem Zeitraum von 5 + 5 Jahren** gezüchtet und gehalten.

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

**Vermeidung:** Die Verwendung alternativer Methoden ist gegenwärtig nur beschränkt möglich. Krebserkrankungen sind multifaktorielle Pathologien, die in Zellkultur nur in äußerst limitiertem Masse abgebildet werden können. Der Großteil der geplanten Untersuchungen nutzt jedoch Zellmaterial aus den erwähnten Mauslinien vor Entstehung der eigentlichen Pathologie.

**Verminderung:** In der Regel werden pro Genotyp maximal 2 Zuchtkäfige verwendet und die Zahl der erwachsenen Tiere in einer etablierten Kolonie beträgt, je nach Bedarf, in der Regel zwischen 10-20 Tieren. Wenn biologisch möglich werden immer Tiere mit homozygot veränderten Allelen verpaart, um das Entstehen von nicht analysierbaren Genotypen (Heterozygote oder Wildtyp Tiere) zu minimieren. Durch den Einsatz von Transplantationsverfahren in immundefiziente Mäuse kann auch die Zahl der Tiere, die einen primären Tumor ausbilden deutlich verringert werden.

**Verfeinerung:** Die Tiere werden in Gruppen zu je 4-7 Tieren gehalten (soziale Tiere) und haben in jedem Käfig Einstreu, Stroh als auch ein Häuschen als Rückzugsmöglichkeit. Männchen werden nach Bedarf auch einzeln gehalten, um Verletzungen durch Revierkämpfe zu vermeiden.

**Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. August 2019 sowie bis spätestens 31. August 2024 vorgesehen.**

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

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

Für viele Abhängige ist der Weg aus der Sucht sehr schwierig, da die Konfrontation mit speziellen drogenassoziierten Reizen oft zu einem Rückfall führt. Wir wollen Abhängigen helfen, indem wir die funktionelle Rolle eines Transkriptionsfaktors für den angenehmen Effekt von Drogen untersuchen. Dafür werden wir ein Modell verwenden, in dem die Versuchstiere den Effekt von Kokain mit ihrer Umgebung verknüpfen.

zu erwartender Nutzen: Das vorliegende Projekt untersucht zum ersten Mal den Zusammenhang von ein DNA-bindendes Protein, das an der Transkriptionsregulierung und dem Remodellieren von Chromatin beteiligt ist, mit dem Effekt von Kokain und Stress. Das daraus gewonnene Wissen könnte entscheidend für die Identifikation neuer Ziele für die medikamentöse Behandlung von Abhängigkeitserkrankungen sein.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere erhalten Kokain-Injektionen, die das Belohnungssystem des Gehirns beeinflussen. Einige werden einer stereotaktischen Operation unterzogen, können sich jedoch einen Monat lang erholen und erhalten eine angemessene Versorgung und Analgesie. Sie werden auch eine Woche vor und während des Experiments isoliert gehalten (eine Maus pro Käfig). Einige Mäuse werden über einen Zeitraum von 1 Tag bis maximal 3 Wochen einem chronischen leichten Stressverfahren unterzogen.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

**Für das von uns geplante Projekt werden insgesamt 163 Mäuse benötigt.**

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

Vermeidung: Labortiere ersetzen ist leider nicht möglich

Verminderung: Für alle Einzelprojekte werden auf Basis von statistischen Verfahren die geringst mögliche Anzahl von Tieren verwendet.

Verfeinerung: Außerdem werden wir die geplanten Experimente soweit verfeinern, dass Stress und andere Belastungen für die Tiere so gering wie möglich bleiben. Unser Projekt entspricht daher dem Konzept der 3R (Replacement, Reduction, Refinement) Sowohl in der Tierhaltung (Sachkundiges Pflegepersonal, Einstreu, und Nistmaterial in den Käfigen, Rückzugsmöglichkeit in den Käfigen, usw.) als auch während der experimentellen Phase. Das bei der Markierung entnommene Gewebe wird für die Genotypisierung verwendet, wodurch sich die Beschwerden für die Tiere minimieren.

Aktualisierte nichttechnische Projektzusammenfassung (ursprüngliche Fassung veröffentlicht 2017, Q4, Seite 182 und 183)

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

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

Atherosklerose und deren Folgekrankheiten stellen in den westlichen Industrienationen nach wie vor die Todesursache Nr. 1 dar. Aktuell gibt es außer der konsequenten Beherrschung der

beeinflussbaren Risikofaktoren wenige Möglichkeiten, Atherosklerose vorzubeugen oder gar rückgängig zu machen. Besonders bei der Hypercholesterinämie gab es seit der Entwicklung der Statine in den 1980ern keine wesentlichen Erkenntnisse. Wir möchten genetische Beteiligung wichtiger Genprodukte untersuchen, die entscheidende Schnittstellen zwischen Fett- und Eisenstoffwechsel darstellen können. Die Tiere erhalten eine fettreiche Diät und nehmen deshalb an Gewicht zu und entwickeln folglich eine Atherosklerose. Wir haben in früheren Versuchsreihen herausgefunden, dass ein bestimmtes Protein den LDL Rezeptor, den wichtigsten Transporter für das schlechte Cholesterin, reguliert. Nun möchten wir herausfinden, wie genau diese Interaktion funktioniert, weshalb wir Tiere, welchen ein bestimmtes Gen fehlt, mit Fettfutter füttern. In anderen Versuchsreihen werden den Tieren sog. Adeno Assoziierte Viren (AAV) gespritzt, welche dann in der Leber das jeweilige Zielgen regulieren. Anschließend beobachten und analysieren wir die Auswirkungen auf den Cholesterinhaushalt.

zu erwartender Nutzen: Das Verständnis über die genaue Interaktion dieser Proteine kann dazu führen, dass neue Behandlungsstrategien im Kampf gegen die Atherosklerosebildung im Menschen entwickelt werden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere haben in etwa die gleichen Leiden wie übergewichtige Menschen. Außerdem erhalten sie Injektionen und alle 2 Wochen werden ihnen bis zu 4 Tropfen Blut abgenommen.

2. Art und Anzahl der Tiere

#### **1.664 Mäuse**

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

Vermeidung: Der Beitrag zur Vermeidung zukünftiger Tierversuche ist gering, da wir die Interaktion des Eisenhaushaltes und Cholesterinmetabolismus untersuchen. Diese komplexen Zusammenhänge sind nicht mit einem isolierten in vitro oder in silico System möglich.

Verminderung: Der Beitrag für die Verminderung der Anzahl der Versuchstiere ist mittel, weil wir keine große Zucht benötigen, um Doppel- bzw. Dreifach-knockout-Tiere zu generieren, sondern dies mittels AAV mediertem Gentransfer durchführen. Somit sparen wir eine große Anzahl von Tieren.

Verfeinerung: Der Beitrag für die Verfeinerung kann als gering bewertet werden, da in Hinsicht zum genehmigten Hautprojekt keine neuen Methoden genutzt werden, welche die Zucht, Unterbringung, Pflege oder Verwendung der Tiere verbessern würden.

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

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

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

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

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Folgender Methoden können bei den Tieren Schmerzen verursachen: Blutabnahme für Insulin- und Glukosemessungen, Glukose- und Insulininjektionen, **Tamoxifen-Gavage**. Weiters führt die geplante Infektion mit Salmonella Bakterien bei den Tieren zu typischen Symptomen wie erhöhte Temperatur, Unwohlsein, Erbrechen und Durchfall.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

#### **1779 Mäuse sowie zusätzlich 500 Mäuse für die Zucht**

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

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

Verminderung: Die Zucht wird engmaschig überwacht, um möglichst wenig Tiere zu benötigen. Die Versuche sind statistisch so geplant, dass nur die kleinstmögliche Anzahl an Tieren verwendet wird, welche für den Erhalt signifikanter Ergebnisse notwendig sind.

Verfeinerung: Die geplanten Belastungen sind vorübergehend und gering. Mögliche Auswirkungen durch die genetische Manipulation werden durch engmaschige Kontrolle der Zucht durch geschultes Personal verfolgt. Die Mäuse werden in Käfigen mit zusätzlichem Nistmaterial, einem Maushaus und Nagehölzern gehalten.

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

Wir wollen untersuchen, welchen Einfluss ein wichtiges Enzym über dessen physiologische Rolle bisher nichts bekannt ist, im Kontext eines intakten Organismus hat. Versuche in Zellkultur haben bereits aufgezeigt, dass eine Rolle im Glukosestoffwechsel sowie in der Immunantwort zu erwarten sind und diese beiden Bereiche sollen deshalb mit etablierten Methoden genau untersucht werden. Insbesondere von Interesse ist hier einerseits, dass neue Angriffspunkte in der Therapie von Zuckerkrankheit dringend gebraucht werden und andererseits entzündliche Erkrankungen noch immer nicht ausreichend erforscht sind und auch hier weitere zelluläre Spieler entdeckt werden müssen, um neue und effektive Therapiemöglichkeiten zu finden. Dieser Antrag dient als Zucht- und Halteantrag für alle Mäuse mit einer zu erwartenden Belastung von ohne Belastung bis geringe Belastung. Da die verwendeten Mauslinien im Vorfeld aber noch nicht beschrieben und damit auch „entlastet“ wurden, dient dieser Antrag auch dazu, den Phänotyp dieser Tiere genau zu erfassen.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

#### **14950 Mäuse**

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

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

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

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

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

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

Das Ziel dieses Projekts ist es zu untersuchen welche Rolle die Haut dendritischen Zellen bei der Entstehung und des Wachstums eines Melanoms einnehmen. Eine Fragestellung beschäftigt sich mit der Untersuchung welche Mechanismen zum Verlust der dendritischen Zellen in einem Melanom führen. Eine weitere Fragestellung beschäftigt sich damit, ob mit Hilfe einer dendritischen Zellbasierten Immuntherapie diese spontanen Tumore in ihrem Wachstum eingeschränkt werden können. Dabei sollen Fusionsmoleküle aus Tumor-Antigenen und Nanopartikeln von dendritischen Zellen aufgenommen werden und eine starke Immunantwort gegen den Tumor auslösen. Das Ziel ist zu untersuchen, ob durch diese Immunisierung ein Therapieansatz soweit verbessert werden kann, dass ein Einsatz an Krebspatienten vorstellbar wäre.

zu erwartender Nutzen: Neue Erkenntnisse über die Mechanismen der Antigenpräsentation und Induktion von T-Zellantworten durch dendritische Zellen der Haut sind für die Entwicklung einer Immuntherapie gegen Tumore unerlässlich. Die Erkenntnisse, die wir aus diesem Projekt erzielen werden, helfen uns diese Form der Immuntherapie weiter zu entwickeln, sodass in Zukunft Krebspatienten behandelt werden können.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Den Tieren wird in den geplanten Versuchen ein gewisses Maß an Leid zugefügt da versucht wird entstandene Tumore zu therapieren. Eine umfassende Betreuung der Tiere, eine auf das Minimum beschränkte Behandlungszeit und eine Schmerzbehandlung reduzieren das Leid der Tiere.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

**Maus, 530 Tiere** für einen Zeitraum von 4 Jahren

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

Vermeidung: Im vorliegenden Antrag sollen die Auswirkungen eines vorhandenen Tumors auf immunologisch relevante Zellpopulationen untersucht werden. Weiters sollen die immunologischen Auswirkungen einer Vakzinierung gegen Tumorantigen mit eben diesen Zellpopulationen untersucht werden. Dazu wurden möglichst krankheitsrelevante Tumormausmodelle ausgewählt. Die hier untersuchten immunologischen Funktionen können nicht an isolierten Zellen oder Organen untersucht werden. Diese Funktionen hängen direkt von den Interaktionen von verschiedenen Zelltypen und Organen ab und können nicht mit in vitro Versuchen erfasst werden.

Verminderung: Wir versuchen die Anzahl der Mäuse durch folgendes Vorgehen so weit wie möglich zu reduzieren: 1) Alle Experimente sind so geplant, dass in einem Versuchsablauf möglichst viele

Parameter untersucht werden können. 2) Die möglichst genaue Definition der Versuchsabläufe wurde aus früheren Versuchen optimiert und reduziert daher die Zahl der Tiere um eine statistische Signifikanz zu erreichen. 3) Die Zucht der benötigten Tiere wird so angelegt, dass so wenige Tiere wie möglich geboten werden die man nicht für die Versuche benötigen würde.

Verfeinerung: In den geplanten Versuchsabläufen soll durch verstärkte Versorgung und Kontrolle der Tiere ein bestmögliches Wohlergehen gewährleistet werden. Da die Tiere in den Versuchen gewissen Belastungen ausgesetzt sind, wurden mit einem Bewertungssystem entsprechende Maßnahmen definiert um übermäßiges Leid der Tiere zu vermindern. Diese Maßnahmen beinhalten eine verstärkte Beobachtung und Betreuung der Tiere, eine auf das Minimum beschränkte Behandlungszeit und eine Schmerzbehandlung.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 30. November 2022 vorgesehen.

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

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

Ziel ist das Studium der Mechanismen der vollständigen Herzregeneration in neugeborenen Mäusen. Die daraus gewonnenen Erkenntnisse werden anschließend an erwachsenen Mäusen getestet. Langfristiges Ziel ist es Herzregeneration in erwachsenen Mäusen zu erreichen und somit ein Therapiekonzept bzw. einen Therapiemechanismus für die Krankheit der ischämischen Kardiomyopathie („Herzschwäche“) nach Herzinfarkt im Menschen zu etablieren.

zu erwartender Nutzen: Langfristig: Neue Konzepte in der Herzinfarkt- und Herzinsuffizienztherapie. Kurzfristig: Neue Erkenntnisse über die Mechanismen, welche es neugeborenen Mäusen ermöglichen ihr Herz nach einem Herzinfarkt wieder vollständig wiederherzustellen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Kurzfristige Stresssituation wenn die Tiere von der Mutter entfernt werden und im Anschluss narkotisiert werden. Während der Intervention befinden sich die Tiere in Narkose. Sie werden außerdem schon vor der Behandlung und auch danach mit einem starken Schmerzmittel therapiert, um ein Leiden so bestmöglich verhindern zu können

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Für dieses Projekt werden Mäuse (*Mus musculus*) verwendet. Insgesamt wird eine Anzahl von **2010 Mäusen** für einen Zeitraum von 5 Jahren beantragt.

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

Vermeidung: Grundlagenkonzepte werden zeitgleich *in vitro* und *in silico* (Computermodelle) getestet. Zur Entwicklung neuer Therapien für komplexe Vorgänge wie dem Herzinfarkt und der Herzregeneration sind jedoch Tierexperimente unumgänglich.

Verminderung: Die tierexperimentellen Operationen werden ausschließlich von sehr erfahrenen WissenschaftlerInnen durchgeführt, wodurch gewährleistet wird, dass nur die geringstmögliche Anzahl an Tieren verwendet werden muss. Alle verwendeten Methoden sind auf dem letzten Stand der Wissenschaft und wurden von den durchführenden WissenschaftlerInnen stetig weiterentwickelt. Zudem kooperieren wir international mit Forschungsgruppen die an ähnlichen Fragestellungen arbeiten. Der kontinuierliche Austausch ermöglicht die Anpassung und Optimierung der Versuche je nach bereits vorhandenen Experimenten.

Verfeinerung: Die Versuche werden von erfahrenen WissenschaftlerInnen durchgeführt, dadurch ist die geringstmögliche Belastung der Versuchstiere garantiert. Durch den Einsatz von hochpotenter Schmerzmittel und Narkosemedikamenten, welche auch in der Humanmedizin angewendet

werden, ist eine optimale (Schmerz-)Therapie der Tiere gewährleistet. Ultraschalluntersuchungen spielen eine große Rolle in den geplanten Experimenten. Diese sind schmerzlos, um Stress und Leiden für die Tiere noch weiter zu reduzieren führen wir jedoch auch diese während einer kurzen Inhalationsnarkose mit Isofluran (Narkosegas) durch.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 30. September 2022 vorgesehen.

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

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

Versuchstiere mit gezielten genetischen Veränderungen stellen wertvolle Instrumente für die biomedizinische Forschung dar. Allerdings können manche genetische Veränderungen bereits ohne experimentelle Eingriffe Gesundheit und Wohlbefinden der Versuchstiere beeinträchtigen. Solange für einen konkreten Stamm diese Möglichkeit nicht durch systematische Untersuchungen ausgeschlossen werden kann, ist ihre Zucht und Haltung genehmigungspflichtig. Im gegenständlichen Projekt wird daher die Genehmigung für die Erhaltungszucht von **27 genetisch veränderten Mausstämmen** beantragt, die auf verschiedenen Gebieten der immunologischen Forschung Verwendung finden. Ziel des vorliegenden Projektes ist (i) die Erhaltung der Mausstämme über die Projektdauer von 5 Jahren sowie (ii) deren Bereitstellung für die Weiterverwendung in Forschungsprojekten der lokalen Arbeitsgruppen. Für Stämme, zu denen noch keine ausreichenden Informationen über mögliche Belastungen durch die jeweilige gentechnische Veränderung vorliegen, werden diese durch systematische Analysen (allgemeines Erscheinungsbild, Gesundheitszustand und Verhalten) erarbeitet. Die dazu erforderlichen Untersuchungen sind ausschließlich nicht-invasive Beobachtungen an Tieren in verschiedenen Lebensabschnitten und stellen daher keinerlei Belastung für die Tiere dar.

zu erwartender Nutzen: Der zu erwartende Nutzen besteht in der Bereitstellung von Versuchstieren mit ausgewählten genetischen Veränderung für Projekte auf dem Gebiet der biomedizinischen Forschung, sowie die Erhaltung dieser Linien an der lokalen Einrichtung. Ein weiterer Nutzen besteht in einer von kompetentem Fachpersonal systematisch erhobenen und dokumentierten Erhebung der möglichen Beeinträchtigungen dieser Tiere durch ihre spezifischen genetischen Veränderungen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: **14 der 27 beantragten Linien** tragen genetische Veränderungen, die zwar per se vermutlich keine Belastung für die Tiere bewirken, jedoch Defekte im Immunsystem verursachen. Diese Tiere sind daher einem erhöhten Infektionsrisiko ausgesetzt, das aber durch spezifiziert pathogenfreie (SPF) Haltungsbedingungen weitgehend minimiert wird. Drei Linien entwickeln mit fortschreitendem Alter Hautläsionen bzw. in Einzelfälle kachektische Syndrome, deren Auftreten ein definitives Abbruchkriterium darstellt. Tiere dieser Linien werden in der Regel noch vor Auftreten von Läsionen ausgeschieden. Für 11 Linien liegen noch keine ausreichenden Informationen über genetisch bedingte Belastungen vor. Diese sollen im Rahmen des Projekts erarbeitet werden. Aus der Art der genetischen Veränderungen sowie den bisherigen Erfahrungen lässt sich für diese Tiere keine das Wohlbefinden erkennbar beeinträchtigende Wirkung erwarten.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Für die Erhaltung von **27 Mausstämmen** über einen Zeitraum von 5 Jahren wird eine Anzahl von insgesamt **9000 Mäusen** benötigt.

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

**Vermeidung:** Die Nutzer der Einrichtung werden durch das lokale Tierschutzgremium dahingehend beraten, keine Stämme zu erhalten, die in absehbarer Zeit nicht benötigt werden. Solche Stämme sollen im Bedarfsfall neu angeschafft oder kryokonserviert werden.

**Verminderung:** Nicht vermeidbare Erhaltungszuchten sollen auf das nötige Minimum an Individuen beiderlei Geschlechts beschränkt werden, und Nachfolgenerationen sollen in möglichst großen Zeitabständen gezüchtet werden, ohne jedoch den Verlust eines Stammes durch Überalterung zu riskieren. Tiere, die aus der Erhaltungszucht entstehen und zur weiteren Zucht nicht benötigt werden sollen, soweit möglich, in anderen Projekten weiter verwendet werden.

**Verfeinerung:** Die Erhebung der durch die genetischen Veränderungen verursachten Belastungen sind ausnahmslos nicht invasiv bzw post mortem Untersuchungen. Die Genotypisierung soll, soweit praktikabel, an den Gewebenbiopsien durchgeführt werden, die im Zuge der Kennzeichnung durch Ohrlochung ohnehin anfallen. Wo Blutproben zur Analyse erforderlich sind, werden die Methoden so weit minimiert, dass eine möglichst geringe Menge Blut für die Analyse ausreicht.

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

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

Versuchstiere mit gezielten genetischen Veränderungen stellen wertvolle Instrumente für die biomedizinische Forschung dar. Allerdings können manche genetische Veränderungen bereits ohne experimentelle Eingriffe Gesundheit und Wohlbefinden der Versuchstiere beeinträchtigen. Solange für einen konkreten Stamm diese Möglichkeit nicht durch systematische Untersuchungen ausgeschlossen werden kann, ist ihre Zucht und Haltung genehmigungspflichtig. Im gegenständlichen Projekt wird daher die Genehmigung für die Erhaltungszucht von 24 genetisch veränderten Mausstämmen beantragt, die auf verschiedenen Gebieten der immunologischen Forschung Verwendung finden. Ziele des vorliegenden Projektes sind (i) die Erhaltung der Mausstämme über die Projektdauer von 5 Jahren sowie (ii) die systematische Untersuchung der einzelnen Stämme auf mögliche Beeinträchtigungen in ihrem allgemeinen Erscheinungsbild, Gesundheitszustand und Verhalten. Die dazu erforderlichen Untersuchungen sind ausschließlich nicht-invasive Beobachtungen an Tieren in verschiedenen Lebensabschnitten und stellen daher keinerlei Belastung für die Tiere dar.

zu erwartender Nutzen: Der zu erwartende Nutzen besteht in der Bereitstellung von Versuchstieren mit ausgewählten genetischen Veränderung für Projekte auf dem Gebiet der biomedizinischen Forschung, sowie die Erhaltung dieser Linien an der lokalen Einrichtung. Ein weiterer Nutzen besteht in einer von kompetentem Fachpersonal systematisch erhobenen und dokumentierten Erhebung der möglichen Beeinträchtigungen dieser Tiere durch ihre spezifischen genetischen Veränderungen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: 17 der 24 beantragten Linien tragen genetische Veränderungen, die zwar per se vermutlich keine Belastung für die Tiere bewirken, jedoch Defekte im Immunsystem verursachen. Diese Tiere sind daher einem erhöhten Infektionsrisiko ausgesetzt, das aber durch spezifiziert pathogenfreie (SPF) Haltungsbedingungen weitgehend minimiert wird. Die übrigen 7 Linien sind genetisch vermutlich unbelastet. Die Bestimmung ihrer genetischen Eigenschaften erfordert jedoch die Entnahme einer Gewebeprobe (Schwanzspitzen- bzw. Ohrlochungsbiopsie oder Venenpunktion).

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Für die Erhaltung von 24 Mausstämmen, inklusive der Bereitstellung von Tieren, die in anderen Projekten weiter verwendet werden, über einen Zeitraum von 5 Jahren wird eine Anzahl von **insgesamt 15570 Mäusen** beantragt.

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

Vermeidung: Die Nutzer der Einrichtung werden durch das lokale Tierschutzgremium dahingehend beraten, keine Stämme zu erhalten, die in absehbarer Zeit nicht benötigt werden. Solche Stämme sollen im Bedarfsfall neu angeschafft oder kryokonserviert werden.

Verminderung: Nicht vermeidbare Erhaltungszuchten sollen auf das nötige Minimum an Individuen beiderlei Geschlechts beschränkt werden, und Nachfolgegenerationen sollen in möglichst großen Zeitabständen gezüchtet werden, ohne jedoch den Verlust eines Stammes durch Überalterung zu riskieren. Tiere, die aus der Erhaltungszucht entstehen und zur weiteren Zucht nicht benötigt werden sollen, soweit möglich, in anderen Projekten weiter verwendet werden.

Verfeinerung: Die Erhebung der durch die genetischen Veränderungen verursachten Belastungen sind ausnahmslos nicht invasiv bzw post mortem Untersuchungen. Die Genotypisierung soll, soweit praktikabel, an den Gewebenbiopsien durchgeführt werden, die im Zuge der Kennzeichnung durch Ohrlochung ohnehin anfallen.

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

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

zu erwartender Nutzen: Mit einer durchschnittlichen Häufigkeit von etwa 1 % ist Autismus ein weltweites Problem. Obwohl in einigen Fällen die genetische Basis bereits identifiziert wurde, gibt es praktisch kein Heilmittel für ASS (Autismus-Spektrum-Störungen). Es ist heute noch zu wenig über die Ereignisse, die zu Autismus führen, und mögliche Behandlungsstrategien bekannt. Allerdings zeigen jüngste bemerkenswerte Studien an Mäusen, dass ASS-ähnliche Defizite in einigen Fällen reversibel sein können, und möglicherweise im Erwachsenenalter durch Störungen der Genfunktion verursachte ASS-ähnliche Defekte deuten darauf hin, dass ASS nicht nur einfach das Ergebnis von Anomalien in frühen Entwicklungsstadien des Gehirns sind. Nichtsdestoweniger ist die genaue Beteiligung der meisten identifizierten ASS-Gene an der Krankheit in den verschiedenen Entwicklungsstadien immer noch unbekannt. Ziel dieses Projekts ist es, den Zusammenhang zwischen Autismus und der Entwicklung zu untersuchen. Zu diesem Zweck werden wir eine zeitliche Dissektion der Ereignisse durchführen, welche der Entwicklung von Autismus-ähnlichen Defiziten zugrunde liegen. Wir verwenden dafür Mäuse, bei denen zu unterschiedlichen Zeitpunkten „Gendelektionen“ (gezielte Ausschaltung von Genen die für die Ausbildung bestimmter Eigenschaften verantwortlich sind) durchgeführt werden können. Wir werden uns bei unseren Untersuchungen darauf konzentrieren, ob ASS-ähnliche Phänotypen (Phänotyp = das individuelle Erscheinungsbild eines Tieres als Ergebnis aller genetischen Merkmale/ ererbten Attribute) immer aus Defekten in der individuellen Entwicklung oder letztendlich durch die Erhaltung gewisser Genfunktionen nach Abschluss der Entwicklung entstehen. Letztlich sollen mit dieser Vorgehensweise die Entwicklungsstadien geklärt werden, die besonders empfindlich auf Störungen biologischer Bahnen in direktem Zusammenhang mit ASS reagieren. Darüber hinaus sollen molekulare Ereignisse untersucht werden, welchen den Veränderungen, die in einem sich entwickelnden autistischen Gehirn auftreten, zugrunde liegen. Das heißt, im Wesentlichen ein besseres Verständnis dafür zu bekommen, wie sich ASS entwickeln. Dies könnte zu neuen Behandlungsstrategien führen. Zu den autistischen Defekten zählen Verhaltenssymptome, Fehlentwicklungen der Hirnanatomie und Kommunikationsanomalien zwischen den Neuronen. Um festzustellen, ob eine Deletion von ASS-Genen, abhängig vom Entwicklungsstadium zum Zeitpunkt der Deletion, eine Phänotyp-Unterkategorie hervorruft, werden wir das Verhalten, die Hirnmorphologie und die Hirnfunktion genetisch veränderter Mäuse mit Mäusen vergleichen, deren Gene nicht entfernt wurden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: **6736 Tiere** davon werden tatsächlich für Tierversuche verwendet. Da wir allerdings mit mehreren ganz neuen Mauslinien und deren Kreuzungen arbeiten

wollen, von denen eine Linie noch nicht existiert sondern gerade gezüchtet wird, melden wir auch die meisten Zuchttiere als Experimenttiere an. Wir müssen im Laufe des Projekts beurteilen, inwieweit die neuen Linien tatsächlich einen Phänotyp im Sinne einer Belastung entwickeln werden. Wir werden Mäuse verwenden, um eine menschliche Erkrankung (ASS) am Mausmodell abzubilden, da diese – biologisch betrachtet – dem Menschen ähneln, insbesondere in Hinblick auf die Gehirnentwicklung. Ein besonders wichtiger Aspekt ist, dass wir auf diese Weise, im Gegensatz zu anderen Modellen (z. B, Zellkultur, *C. elegans*), die Symptomtrias festlegen können, die ASS kennzeichnet (gestörte soziale Interaktion, Kommunikationsdefizite und repetitive Verhaltensweisen). Man kann die Genome von Mäusen direkt manipulieren, um einen menschlichen Zustand zu imitieren.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Wir planen für dieses Projekt im Verlauf von 5 Jahren (bis Ende Projekt) **20614 Mäuse** zu verwenden.

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

**Vermeidung:** Autismus-Spektrum-Störungen sind komplexe neurologische Entwicklungsstörungen. Während *in vitro* Techniken (d. h. Zellkulturen) verwendet werden, um spezifische Fragen zu beantworten, erfordert die hohe Komplexität dieser Erkrankungen eine Analyse der Gehirnentwicklung *in vivo*. Dies kann nicht dupliziert oder in einfacheren Systemen als bei Tieren mit einem deutlich erkennbaren Sozialverhalten modelliert werden.

**Verminderung:** Wir nutzen die kleinstmögliche Anzahl an Mäusen, um statistische Unterschiede zwischen Kontroll- und Versuchsbedingungen darzustellen. Allerdings sind aufgrund der unabhängigen Variablen und der Variabilität der untersuchten Phänotypen größere Probenmengen für statistisch gültige Proben nötig. Eine gute Versuchsplanung sowie eine ordnungsgemäße Datenerhebung und -analyse werden die Anzahl der benötigten Versuchstiere minimieren. Falls ein spezielles Verfahren wiederholt im Labor eingesetzt werden sollte, wird es eine historische Kontrollaufzeichnung für dieses Verfahren geben. Im Rahmen des Möglichen werden wir keinen vollständigen Kontrollsatz durchführen, sondern stattdessen nur eine sehr geringe Anzahl von Kontrollen vornehmen und zeigen, dass sie in die historischen Kontrollgrenzen fallen.

**Verfeinerung:** Alle Verfahren werden von geschulten, mit den Techniken vertrauten Personen durchgeführt. Injektionen werden mit den kleinstmöglichen Nadeln ausgeführt und die verwendeten Mengen und Dosen entsprechen den Empfehlungen der GV-SOLAS.

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

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

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

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

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

### 2. Art und Anzahl der Tiere

**Ratte (*rattus norwegicus*): 225**

Maus (*Mus Musculus*): 6514

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

Vermeidung: Im Rahmen der Möglichkeiten entwickeln und nutzen wir in-vitro Modelle (embryonale Stammzellen) für unsere Untersuchungen. Wir führen eine große Zahl der Untersuchungen z. B. an Hühnerembryonen und Zebrafischembryonen durch. Darüber hinaus

nutzen wir die Küken- und Zebrafisch-Modellsysteme für die Durchführung von Pilotstudien, bevor wir mit Experimenten an Mäusen beginnen.

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

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

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

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

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

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

### 2. Art und Anzahl der Tiere

#### **40.020 für unser Projekt gezüchtete Mäuse (Mus musculus)**

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

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

Verminderung: Um die Zahl an verwendeten Tieren so niedrig wie möglich zu halten bei gleichzeitigem Erhalt von signifikanten, statistischen Aussagen werden wir mit Pilotstudien arbeiten, die uns eine Aussage darüber geben, ob unser Ansatz korrekt ist und zu statistisch signifikanten Aussagen führen kann. Die Ergebnisse dieser Pilotstudien entscheiden ob und in welchem Ausmaß (mit wie vielen Tieren) wir unsere anschließenden Experimente durchführen. In

unserem Fall ist von Vorteil, dass jedes Tier 2 Augen besitzt, die beide Ergebnisse liefern. Wir behandeln ein Auge und verwenden das 2. Auge als unbehandelte Kontrolle. Dadurch können wir die Zahl der verwendeten Versuchstiere reduzieren.

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

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

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

Ziel der Untersuchung ist es zu überprüfen, ob die Anwendung von Nelkenöl (und analogen Reinsubstanzen) geeignet ist, das Hornwachstum bei Ziegenkitzen und Kälbern zu unterbinden und ob bzw. wie stark die Tiere hierdurch belastet werden. Die verwendeten Substanzen sind zwar zur Anwendung bei Lebensmittel liefernden Tieren zugelassen, da aber das Rückstandsverhalten der Substanzen im Zusammenhang mit der untersuchten Applikationsform nicht bekannt ist, wird in dieser Studie zusätzlich das Rückstandsverhalten der Substanzen im Blut untersucht.

zu erwartender Nutzen: Die subkutane Anwendung von Nelkenöl (und analogen Reinsubstanzen) wäre möglicherweise eine schonende Alternative zu den bisherigen Enthornungsmethoden, wie beispielsweise der thermischen Zerstörung der Hornanlagen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: An den Tieren werden je nach Versuchsgruppe verschiedene Eingriffe bzw. Maßnahmen durchgeführt (thermische Enthornung mit Anästhesie, subkutane Applikation der Testsubstanzen, Blutentnahmen).

2. Art und Anzahl der Tiere

85 Ziegenkitze und 79 Kälber

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

Vermeidung: Da der Einfluss von Nelkenöl (und analogen Reinsubstanzen) auf das Hornwachstum von Ziegenkitzen und Kälber untersucht und mögliche Beeinträchtigungen des Wohlbefindes der Tiere beobachtet werden sollen, kann dieser Versuch nicht ohne lebende Tiere durchgeführt werden.

Verminderung: Es wird nur jene Anzahl an Tieren verwendet, die unbedingt erforderlich ist, um die Fragestellungen aussagekräftig zu beantworten.

Verfeinerung: Alle schmerzhaften Eingriffe (thermische Enthornung, Biopotatentnahme) werden unter Allgemeinanästhesie und/oder Lokalanästhesie und Verabreichung von Schmerzmittel durch eine qualifizierte Person durchgeführt, um unnötige Belastungen bzw. Komplikationen zu vermeiden. Um eine mehrmalige Venenpunktion zu vermeiden werden die Tiere unter Lokalanästhesie mit einem intravenösen Jugularkatheter versehen.

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

Ichthyophthirius multifiliis sind hoch pathogene parasitäre Ciliaten, welche die Weißpunktkrankheit bei Fischen verursachen. Der komplexe Entwicklungszyklus dieser Parasiten macht die Behandlung der Weißpunktkrankheit schwierig, da nicht alle Parasitenstadien gleichzeitig eliminiert werden können. Das Ziel dieses Projektes ist es, eine Methode zur Unterbrechung des Entwicklungszyklus von I.multifiliis zu entwickeln, um so die Erkrankung zu kontrollieren.

zu erwartender Nutzen: des Projekts ist es, mit Hilfe der Antisense-Technologie die Expression essenzieller Gene für die Zellteilung, das Wachstum und die Pathogenese von I. multifiliis gezielt hinunterzuregulieren und damit die Entwicklung des Parasiten und die Manifestation der Krankheit zu verhindern.

zu erwartender Schaden für die Tiere: des Projekts ist die Auswirkung der Infektion auf die Fische, die schwere Krankheitssymptome wie Atemnot, „Flossenklemmen“, Abmagern etc. zur Folge haben kann.

2. Art und Anzahl der Tiere

10 Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*)

240 Karpfen (*Cyprinus carpio*)

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

Vermeidung: Da I.multifiliis nicht in vitro vermehrt werden kann, ist die Anwendung einer Alternativmethode nicht möglich und der Tierversuch für die Erreichung des Zieles unerlässlich.

Verminderung: Es wird ein genaues experimentelles Design verwendet, um sicherzustellen, dass nur jene Anzahl an infizierten Fischen verwendet wird, die unbedingt erforderlich ist, um ein zuverlässiges Versuchsergebnis zu erhalten.

Verfeinerung: Die Fische werden im Durchflusssystem gehalten. Alle Interaktionen werden auf ein Minimum reduziert, um den Stress für die Tiere möglichst gering zu halten. Die Tiere werden engmaschig kontrolliert und bei Anzeichen einer Krankheit unverzüglich euthanasiert.

**Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. März 2020 vorgesehen.**

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

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

Ein gesundes Skelettsystem ist von besonderer Bedeutung für die Schweinegesundheit und das Wohlbefinden. Jedoch sind Erkrankungen des Bewegungsapparates in Schweinebeständen weit verbreitet. Das Ziel dieses Projektes ist es, verlässliche Biomarker für die Diagnostik der Knochengesundheit beim Schwein zu evaluieren und auf ihre Tauglichkeit für die praktische Anwendung beim Monitoring von Schweinebeständen zu überprüfen. Um die verschiedenen möglichen Biomarker zu evaluieren, werden zwei Rationen mit einem unterschiedlichen Gehalt an verfügbarem Phosphor formuliert.

zu erwartender Nutzen: Die Ergebnisse des vorliegenden Versuches werden eine Einschätzung ermöglichen, welche Kombination von Parametern in fester Korrelation mit der Knochengesundheit, vor allem mit dem Kalzium- und Phosphorhaushalt, der Schweine steht und somit ein diagnostisches Tool beim Monitoring von Schweinebeständen liefert, um präventiv Erkrankungen am Skelettsystem und damit einhergehender Minderung des Wohlbefindens der Schweine vorbeugen zu können.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Schweine werden in Gruppen von 12 Tieren gehalten und haben ausreichend Bewegungsfreiheit. Die Versuchsfutter entsprechen in ihrer Zusammensetzung einem typischen Österreichischen Schweinefutter. Eine Ration (ohne Zusatz von Phytase) wird einen etwas geringeren Gehalt an verfügbaren Phosphor enthalten als empfohlen, was aber keine negativen Auswirkungen auf die allgemeine Gesundheit und zu keiner äußerlich merklichen Veränderung des Knochenwachstums führen sollte. Es werden wiederholt Blutproben aus der Halsvene und Kotproben über rektale Stimulation genommen. In der Mitte und am Ende der Studie werden Schweine zur Probennahme von Darm-, Blut- und Knochengeweben durch einem Tierarzt/ärztin fachgerecht euthanasiert.

2. Art und Anzahl der Tiere:

**216 männliche Schweine ab 25 kg**

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

Vermeidung: Das Ziel des vorliegenden Versuches ist es, verlässliche Biomarker für die Routinemäßige Evaluierung der Knochengesundheit in Schweinebeständen zu etablieren. Die Untersuchung der relevanten Parameter im Serum, Kot und Knochen sowie in Leber und Niere ist nur mit Schweinen in vivo möglich, da ein enges Zusammenspiel der einzelnen

Stoffwechselprozesse vorliegt, welche detailliert als Ganzes untersucht werden sollen. Der Ersatz durch eine versuchstierfreie Methode ist in diesem Fall nicht möglich.

Verminderung: Die Anzahl der Versuchstiere wird auf ein Minimum begrenzt, um eine statistisch gesicherte Aussage zu erreichen.

Verfeinerung: Die Betreuung und Überwachung der Tiere sowie die Probennahme erfolgen durch qualifiziertes Personal. Der Versuch wird in einem klimatisierten und modern ausgestatteten Tierstall durchgeführt. Futter und sauberes Trinkwasser stehen zur freien Verfügung. Die Tiere werden in Gruppen von 12 Tieren gehalten, können sich frei bewegen und erhalten formbares Beschäftigungsmaterial (z. B. Sisalstricke), was die Befriedigung der der physiologischen Bedürfnisse der Versuchstiere gewährleisten soll.

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 vorliegenden Tierversuches ist es, definierte Kontrollseren gegen ausgewählte Viren oder in vitro hergestellte rekombinante Virusbestandteile zu generieren, indem spezifisch pathogenfreie (SPF) Hühner mit den betreffenden Referenzstämmen bzw. rekombinanten Antigenen dieser Viren inokuliert werden.

zu erwartender Nutzen: Die untersuchten Krankheitserreger sind für verschiedene Krankheitsbilder bei Hühnern verantwortlich, die zu einer hohen Sterblichkeitsrate führen können. Die Überprüfung des Infektionsstatus sowie der Nachweis von Impfantikörpern sind daher sehr wichtig, wobei sowohl die Entwicklung neuer serologischer Nachweismethoden als auch möglicher neuer Impfungen auf dem Einsatz von monospezifischen Kontrollseren basiert. Durch das Vorkommen neuer Viren im Feld, sowie Fragen zum Kreuzschutz zwischen unterschiedlichen Virustypen, ist es notwendig, weitere Kontrollseren zu gewinnen, anhand derer eine Kreuzreaktivität nachgewiesen werden kann. Diese Erkenntnisse dienen in weiterer Folge auch zur Optimierung von Impfstudien.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Immunisierung der Tiere erfolgt mittels intramuskulärer Injektion. Anschließend erfolgen zu definierten Zeitpunkten Blutabnahmen. Da inaktivierte Viren oder isolierte Virusbestandteile (Proteine) verwendet werden, lässt der Versuch keine klinischen Symptome bei den Tieren erwarten. Es handelt sich um eine terminale Studie, sodass die Tiere am Ende des Versuches unter Narkose getötet werden.

2. Art und Anzahl der Tiere

**310 Hühner**

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

Vermeidung: Die benötigten standardisierten Kontrollseren sind käuflich nicht zu erwerben und können ausschließlich in Hühnern generiert werden. Ein Tierversuch ist in diesem Fall unerlässlich und kann nicht durch Alternativmethoden ersetzt werden.

Verminderung: Der Versuch wird mit jener Anzahl an Tieren durchgeführt, die unbedingt notwendig ist, um eine für die Testverfahren benötigte Menge an Serum gegen die selektierten Virusstämmen bzw. deren Antigene zu gewährleisten.

Verfeinerung: Das oberste Ziel ist es, Leiden der Tiere zu vermeiden. Es werden inaktivierte Viren oder Proteine verwendet, die keinerlei Infektion bewirken oder Nebeneffekte haben. Die Tiere werden ihrer Art entsprechend untergebracht und angemessen ernährt. Um den Gesundheitsstatus

der Tiere zu überprüfen, werden sie regelmäßig von qualifiziertem Personal beobachtet und klinisch untersucht.

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

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

Die Häufigkeit von Herz-Kreislauf-Erkrankungen nimmt in den Industrieländern immer mehr zu und stellt die Gesundheitssysteme weltweit vor große Herausforderungen. Entstehung und Verlauf der Erkrankung sind hochkomplex und von vielen noch kaum bekannten Einflussgrößen abhängig. Erkrankungshäufigkeit und Sterblichkeit sind trotz guter medizinischer Versorgung konstant hoch. Es ist daher dringend erforderlich, die komplexen molekularen Mechanismen, die diesem Krankheitsbild zugrunde liegen, genauer zu untersuchen, um in Zukunft eine frühere Diagnose und wirksamere Behandlung zu ermöglichen. Kürzlich konnte gezeigt werden, dass eine Korrelation zwischen dem Hormon Fgf23 und wichtigen Parametern der Herzfunktion besteht und Fgf23 eine eigenständige Rolle bei der Entstehung und Pathogenese von Herz-Kreislauf-Erkrankungen spielen könnte. Daher soll im vorliegenden Projekt die Rolle von Fgf23 bei der Entstehung von Entzündungsprozessen im Herzgewebe untersucht werden. Ziel des vorliegenden Projektes ist es, genaueren Einblick in die molekularen Mechanismen zu gewinnen, über die Fgf23 möglicherweise pathologische Prozesse am Herzen beeinflusst.

zu erwartender Schaden für die Tiere: An einem Teil der Tiere muss durch einen operativen Eingriff eine Herzerkrankung induziert werden. Vorliegende Daten aus vergleichbaren Versuchsvorhaben zeigen, dass die Sterblichkeit bei Mäusen bei der geplanten Vorgehensweise gering ist.

zu erwartender Nutzen: Die Studie lässt neue Erkenntnisse über die Entstehungsmechanismen von Herz-Kreislauf-Erkrankungen erwarten, die in weiterer Folge dazu beitragen können, Prävention und Therapie zu verbessern.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Insgesamt sollen maximal 1382 Mäuse in Versuch genommen werden. Für die Bereitstellung dieser Tiere müssen aus zuchttechnischen Gründen insgesamt bis zu 1154 Mäuse erzeugt werden.

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

Vermeidung: Da sich die Fragestellung auf systemische regulatorische Mechanismen im lebenden Organismus bezieht, kann sie nur mit Hilfe eines Tiermodells untersucht werden. Ergänzend zu den Versuchen werden verschiedene in-vitro- Methoden (aus Probenmaterial von den Versuchstieren) angewandt.

Verminderung: Alle Eingriffe werden von sachkundigen und erfahrenen Personen durchgeführt, so dass OP-bedingte Verluste minimiert werden. Die Zucht der Tiere läuft parallel zu den Versuchen und orientiert sich am gerade bestehenden Bedarf, sodass die Zahl nicht benötigter Tiere niedrig

gehalten werden kann. Für dieses Projekt wird die kleinste Anzahl an Tieren verwendet, die nötig ist, um statistisch relevante Ergebnisse zu erhalten.

Verfeinerung: Alle Tiere werden in Gruppen gehalten. Männchen, die operiert werden sollen, werden schon vorher mit einem alten weiblichen Tier ("retired breeder") zusammengesetzt, das für die gesamte Dauer des Versuchs bei seinem Partner bleibt. Als Enrichment werden Lagenzellstoff und Papprollen zur Verfügung gestellt. Anästhesie, Analgesie und OP-Technik wurden im Rahmen bereits durchgeführter vergleichbarer Versuche im Hinblick auf eine möglichst geringe Belastung der Tiere optimiert. Alle Tiere werden tierärztlich überwacht und engmaschig kontrolliert. Beim Auftreten klinischer Symptome werden die Tiere schmerzlos getötet.

**Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 29. Februar 2020 sowie bis spätestens 30. September 2021 vorgesehen.**

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

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

Das Ovarialkarzinom ist die tödlichste gynäkologische Karzinomart und die vierthäufigste krebsbezogene Todesursache von Frauen in westlichen Industrieländern. In Europa werden jedes Jahr rund 63.000 neue Fälle diagnostiziert. Ovarialkrebs ist somit eine enorme Belastung für die Gesellschaft, nicht nur durch Morbidität und Mortalität, sondern auch durch die hohen Behandlungskosten. Unsere Forschung konzentriert sich auf das Verstehen der Interaktion zwischen Karzinomzellen und dem Immunsystem. Wir sind speziell an den Natürlichen Killerzellen (NK Zellen) interessiert, welche zu den weißen Blutzellen und dem angeborenen Immunsystem gehören. NK Zellen sind dafür bekannt, dass sie eine wichtige Rolle in der Bekämpfung von Tumorzellen und virusinfizierten Zellen spielen. Um die Rolle von NK Zellen, die den Wirt vor der Ovarialtumorbildung in vivo schützen, zu verstehen, haben wir ein Ovarialkarzinommodell in Mäusen mit regulärem Immunsystem und Mäusen mit kompromittiertem Immunsystem untersucht. Wir konnten zeigen, dass Mäuse mit hyperaktiven NK- Zellen verglichen mit normalen Tieren eine längere Zeit brauchen um Tumoren zu entwickeln, bzw. Mäuse ohne funktionierende NK Zellen tumoranfällig sind und ein beschleunigtes Tumorwachstum zeigen. Ebenso unterschiedlich und in Korrelation zur NK- Aktivität waren die Spiegel von vascular endothelial growth factor (VEGF) in Plasma und Aszites. Diese Entdeckung ist nicht nur wichtig für das Verständnis der Entstehung des Ovarialkarzinoms, sondern hätte bei genauerer Auswertung auch therapeutische Relevanz, da Antikörper gegen VEGF bereits in der Klinik angewandt werden. Die geplante Weiterverfolgung dieser wichtigen Beobachtung war leider nicht möglich, da die Forschungsförderorganisation, trotz äußerst positiver internationaler Begutachtung, auf Grund eingeschränkter budgetärer Mittel, von einer weiteren Förderung Abstand nahm und das Projekt somit frühzeitig abgebrochen werden musste.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Von geplant 640 Mäusen unterschiedlichen Genotyps wurden 338 Tiere verwendet. (338 schwer belastet)

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

Die unternommenen Schritte, um die Prinzipien Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung zu erfüllen:

Das Ziel dieser Studie war es, zu verstehen, wie NK Zellen den Wirt vor der Ovarialkarzinomentstehung schützen und wie die komplexen Interaktionen des Tumorumfeldes und den NK Zellen in vivo funktionieren. Dies war mit einer in vitro Arbeit nicht möglich, da wir ein

Modell, welches die verschiedenen Krebsstadien repräsentiert, benötigen und auch verschiedenen Immunsysteme (intaktes Immunsystem und verschiedenen molekulargenetische exakt definierte Tumordefizienzen).

Da das benötigte Ovarialkarzinom Mausmodell bereits zuvor etabliert wurde und wir in einer engen Kooperation mit den Autoren (Entwicklern) standen, haben wir die geringste Anzahl an Mäusen verwendet. Durch Standardisierung der Tierhaltung und der Versuchsbedingungen wurden die Streuung der Versuchsergebnisse und somit die benötigte Tieranzahl reduziert. Die Anzahl der Tiere wurde durch eine Fallzahlberechnung auf das notwendige Maß minimiert.

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

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

Infektionen der Lunge gehören zu den häufigsten und gefährlichsten Infektionskrankheiten weltweit. Selbst in der Antibiotika-Ära sind sie immer noch eine der Hauptursachen von Hospitalisierung und Tod. Wir studieren immunologische Mechanismen, die ganz wesentlich die Abwehr einer Infektion beeinflussen und erwarten uns wichtige neue Erkenntnisse, die zu einer verbesserten Abwehr führen können.

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

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

### 2. Art und Anzahl der Tiere

830 Mäuse (von 1252 bewilligten) wurden verwendet, hiervon waren 107 Tieren mit „keine Wiederherstellung der Lebensfunktion“, 200 Tiere mit geringem, 522 mit mittlerem und 1 Tier mit schwerem Schweregrad klassifizierbar.

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

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

Verminderung: Es wurde zur Verminderung der Tierzahl bei sämtlichen Versuchen auf streng standardisierte Versuchsbedingungen Wert gelegt. Auf Grund der guten Planung und hohen Aussagekräftigkeit einiger Versuche konnte auf die Verwendung zusätzlicher, bereits bewilligter Tiere verzichtet werden.

Verfeinerung: Sämtliche Eingriffe wurden unter Narkose durchgeführt. Die Infektionen waren derart geplant, dass Krankheitssymptome so weit als möglich vermieden werden konnten.

Überlebensexperimente wurden nur durchgeführt, wenn die vorherige Analyse der ohne maßgebliche Schmerzen oder Leiden verursachenden Versuche mit einer an Sicherheit grenzenden Wahrscheinlichkeit zu einem Überlebensunterschied führte. Da dies nicht gegeben war, wurden keine Überlebensversuche 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 Schaden und Nutzen

PatientInnen mit chronischer Polyarthritis sind häufig von kardiovaskulären Begleiterkrankungen mit frühzeitiger Todesfolge betroffen. Die genauen Mechanismen kardiovaskulärer Veränderungen bei chronischen Autoimmunerkrankungen sind bislang wenig untersucht. In dieser Studie wurde der Einfluß chronischer Entzündungsbedingungen auf das Herzgewebe und die Herzfunktion in einem Arthritismausmodell detailliert untersucht.

Nutzen: Die Studie lieferte neue Erkenntnisse über TNF-medierte Mechanismen chronischer Entzündungsprozesse auf die Herzfunktion.

Schaden für die Tiere: Der für die Tiere zu erwartende Schaden lag bei einer mittleren bis zu schweren Belastung durch die Gelenkentzündungen der Tiere sowie einer geringen bis mittleren Belastung bei Magnetresonanzuntersuchungen sowie Messungen hämodynamische Parameter am Herzen unter Vollnarkose. Die durchgeführten Experimente umfassten 32 Mäuse (16 Tumornekrosefaktor transgene (hTNFtg) Mäuse, 16 Wildtyp Mäuse), wobei die Gelenkerkrankung (Zunahme der Pfotenschwellung, Abnahme der Griffstärke) bei 10 hTNFtg Mäusen zu einer mittleren und bei 6 hTNFtg Mäusen zu einer schweren Belastung führte. Bei den 16 Wildtyptieren ergab sich durch die Untersuchungsmethode eine geringe Belastung.

2. Art und Anzahl der Tiere

Mus musculus, 32 Tiere

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

Vermeidung: Die gestellten Projektziele konnten nicht durch Ersatzmethoden wie in vitro Versuche ersetzt werden und dienen unmittelbar neuer klinischer Erkenntnisse

Verminderung: Im Rahmen dieses Projektes wurde die Zahl der Tiere entsprechend einer genauen Fallzahlberechnung (Poweranalyse) so gering wie möglich gehalten. Außerdem trugen die standardisierten Versuchs- und Haltungsbedingungen maßgeblich zu einer geringen Streuung der Versuchsergebnisse und somit zur Verringerung der Tieranzahl bei.

Verfeinerung: Die in dieser Studie verwendeten Modelle sind seit Jahren an der Abteilung sehr gut etabliert und optimiert. An der Verbesserung der Durchführung wird stetig weitergearbeitet.

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

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

Erkrankungen, wie die Aortenklappenstenose oder die arterielle Hypertonie führen zur Ausbildung einer hypertensiven linksventrikulären Hypertrophie. Im Rahmen dessen kommt es neben zellulären Veränderungen auch zu Veränderungen in der extrazellulären Matrix, die als Gerüst des Herzgewebes dient und dieses stabilisiert. Hierzu gehört unter anderem eine progrediente Vernarbung des Herzgewebes. In weiterer Folge kommt es zu einer Verminderung der Pumpleistung des Herzens. Wird die erkrankte Aortenklappe operativ ersetzt, kommt es zu einer Rückbildung der krankhaften Veränderungen. Dieser Vorgang wird als Reverse Remodeling bezeichnet und ist bis dato nur sehr lückenhaft untersucht. Im Rahmen dieser Studie konnten mit Hilfe eines Knockout Modells und nach Induktion eines Reverse Remodelings durch Aortic Banding und Debanding erste Hinweise auf die Beteiligung eines Glykoproteins der extrazellulären Matrix am Reverse Remodeling nachgewiesen werden. Fortführende Untersuchungen zur Identifizierung der beteiligten Mechanismen, sowie in weiterer Folge die Umsetzung der gewonnenen Erkenntnisse auf die Diagnostik und Therapie im Menschen sind geplant.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Ursprünglich beantragt 384 Mäuse, 232 verwendete Mäuse schwer belastet

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

Der Versuchsaufbau sowie das Protokoll sind international etabliert und erlauben eine standardisierte Untersuchung der Fragestellung. Für den Erhalt aussagekräftiger Resultate ist die Versuchsgröße basierend auf einer Fallzahlberechnung so gering wie möglich kalkuliert. Durch Standardisierung aller Haltungs- und Versuchsbedingungen und genaue Versuchsplanung soll eine möglichst geringe Streuung der Versuchsergebnisse erzielt werden.

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

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

1. Angaben über Projektziele, einschließlich Schaden und Nutzen

Das Ziel dieser Studie war es, den neuroprotektiven Effekt von BH<sub>4</sub> in einem Rattenmodell nach Induzierung einer Rückenmarksischämie zu testen. In der klinisch-neurologischen Austestung sowie in der histologischen Auswertung konnte ein Benefit durch BH<sub>4</sub>-Gabe nachgewiesen werden. Größere Gruppen sind jedoch erforderlich um eine statistische Signifikanz zu erreichen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Insgesamt wurden 87 Tiere (Ratten) verwendet, davon waren 25 Ratten „schwer“, 12 Ratten „mittel“ und 50 Ratten bis zu „gering“ belastet.

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

Es wurde versucht die Anzahl der Tiere auf ein Minimum zu reduzieren, um gerade noch signifikante Ergebnisse zu erzielen. Bei, jedoch, erhöhter perioperativer Mortalität sind größere Gruppen erforderlich. Eine Verwendung von Mäusen ist aufgrund der Größe der Gefäße und der minimal invasiven Operationsmethode nicht möglich. Durch die Durchführung von Vortests an kleineren Gruppen konnte eine Gruppe, und dadurch Ratten eingespart werden. Alle Tiere wurden nach einer Akklimatationszeit von mindestens einer Woche operiert um negative Auswirkungen des Transports zu vermindern. Die Tiere wurden in Gruppen von maximal 5 Tieren pro Typ IV Käfig gehalten. Dieser wird regelmäßig umgesetzt und alle Tiere mit frischen Wasser und Essen versorgt. Postoperativ wurden die Tiere einzeln gehalten um Verletzungen durch andere Tiere zu vermeiden. Es wurde auf eine adäquate Anästhesie, Analgesie, Flüssigkeitsmanagement und unterstützende Therapie (Augencreme, Wärmeplatte, etc.) geachtet.

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

1. Angaben über Projektziele, einschließlich Schaden und Nutzen

Projektziel: Das Ziel war die Wirkung eines antimikrobiellen Futterergänzungsmittels zu untersuchen, um Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*) vor einer Infektion mit *Flavobacterium psychrophilum* zu schützen.

Nutzen: Das Ziel des Projekts war es, die Eignung einer umweltfreundlichen Alternative zu Antibiotika zu demonstrieren.

Schaden: Der Schaden für die Tiere bestand in dem Stress, dem die Fische während des Infektionsprozesses ausgesetzt wurden. Die für die Flavobakteriose typischen Krankheitsanzeichen waren Hämorrhagien an den Flossen, Exophthalmus, Umfangsvermehrungen im Bauchbereich bedingt durch Aszites, Peritonitis, sowie Hypertrophie von Milz und Niere. 48 Regenbogenforellen waren nicht belastet, 106 Regenbogenforellen gering belastet, 132 Regenbogenforellen mittel belastet und 14 Regenbogenforellen schwer belastet.

2. Art und Anzahl der Tiere

300 Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*)

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

Vermeidung: Da die komplexe Interaktion zwischen dem Immunsystem der Regenbogenforellen, dem Futterzusatzstoff und dem Pathogen untersucht wurde, war die Verwendung lebender Tiere unerlässlich.

Verminderung: Die Versuchstierzahl wurde auf Grundlage der Erfahrungen mit Untersuchungen anderer Futterzusätze festgelegt und auf jene Anzahl beschränkt, die zur Erzielung statistisch aussagekräftiger Ergebnisse unbedingt erforderlich ist.

Verfeinerung: Um Disstress für die Tiere zu minimieren, wurde jegliches Handling auf das unbedingt erforderliche Ausmaß reduziert und auf eine homogene Gruppenzusammenstellung geachtet. Die Wasserqualität wurde durch ein Durchflusssystem mit adäquater Sauerstoffversorgung und durch die erforderlichen hygienischen Maßnahmen auf einem konstant hohen Niveau gehalten. Die Futtermenge betrug 1 % des Körpergewichts. Eine Kontrolle der Tiere erfolgte zunächst mindestens dreimal täglich, ab dem Zeitpunkt der Infektion erfolgten häufigere Kontrollen. Bei Anzeichen einer Infektion wurden die Fische unverzüglich fachgerecht euthanasiert.

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

1. Angaben über Projektziele, einschließlich Schaden und Nutzen

Bedeutung und Begründung des Projekts: Das Ziel dieses Projektes war es, das Auftreten der Drehkrankheit bei Regenbogenforellen durch die Unterbrechung des Entwicklungszyklus des Erregers (*M. cerebralis*) zu verhindern. Dieses Ziel wurde durch die Entwicklung effizienter siRNAs erreicht, welche die Expression wichtiger Gene, die für die Entwicklung der Sporen in *T. tubifex* essentiell sind, ausschalten. Die Wirkung der siRNA auf das Ziel-Gen wurde durch quantitative-PCR geprüft.

Nutzen: Der Nutzen bestand in der Gewinnung von Information über Genfunktionen und in der Entwicklung einer Möglichkeit zur Kontrolle der Drehkrankheit der Salmoniden via siRNA.

Schaden für die Tiere: Die infizierten Versuchsfische zeigten die von der Drehkrankheit verursachten Symptome (z. B. Skelettdeformationen, Schwarzfärbung der Haut im kaudalen Bereich, Drehbewegungen beim Schwimmen); ein Teil der Fische war schwer belastet.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für diesen Tierversuch wurden insgesamt 240 Regenbogenforelle Brütlinge, *Oncorhynchus mykiss* verwendet.

Im Rahmen des Tierversuches wurden 90 Regenbogenforellen nicht belastet, 0 Regenbogenforellen gering belastet, 0 Regenbogenforellen mittel belastet und 150 Regenbogenforellen schwer belastet wurden.

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

Vermeidung: Da die Auswirkung von unbehandelten und modifizierten Erregern auf Regenbogenforellen sowie deren Immunreaktion untersucht werden sollten, war es nicht möglich, auf Alternativmethoden zurückzugreifen. Die Verwendung lebender Fische war somit unerlässlich.

Verminderung: Es wurde nur jene Anzahl an Fischen verwendet, die unbedingt erforderlich war, um statistisch aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten.

Verfeinerung: Die Wasserqualität wurde durch ständigen Wasserdurchlauf, adäquate Sauerstoffversorgung und das Entfernen von Futterresten und Fäkalien gesichert. Die Fische wurden täglich mit 1% ihres Körpergewichts an Futter versorgt. Darüber hinaus wurden alle Interaktionen mit den Fischen auf das notwendige Minimum reduziert, um den mit Handlingmaßnahmen verbundenen Stress zu minimieren. Um haltungsbedingten Stress zu vermeiden, wurden jeweils nur 10 Fische (4 - 5 cm) in einem 100 l Aquarium gehalten. Die Fische

wurden mindestens zweimal täglich kontrolliert. Fische, die klinische Krankheitsanzeichen der Drehkrankheit, wie Drehbewegungen beim Schwimmen oder Schwarzfärbung der Haut im kaudalen Bereich zeigten, wurden aus dem Aquarium entfernt und sofort fachgerecht mit einer Überdosis MS 222 euthanasiert. Durch den perakuten Verlauf der Krankheit konnte bei einigen Tieren eine schwere Belastung nicht verhindert werden. Die Probennahme erfolgte ausschließlich post mortem.

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

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

Das Projektziel bestand darin, die Unterschiede in der Proteinexpression als Antwort auf die Infektion mit *Y. ruckeri*, Biotyp 1 und 2, in Regenbogenforellen zu klären.

Nutzen: Insgesamt wurden 3375 Proteine in der Kopfniere und 2642 Proteine in der Milz identifiziert, wobei 34 Proteine in der Kopfniere und 85 Proteine in der Milz der infizierten Regenbogenforellen zu verschiedenen Zeitpunkten unterschiedlich hoch- und herunterreguliert waren. Zusätzlich wurden 1409 Proteine im Darm identifiziert, wobei 60 Proteine hochreguliert und 75 Proteine herunterreguliert waren. Das Verständnis der als Reaktion auf die Infektion auftretenden Proteinexpression ist in weiterer Folge eine Voraussetzung für die Entwicklung prophylaktischer Maßnahmen zur Kontrolle dieser Infektionen.

Schaden für die Tiere: Bei den mit *Y. ruckeri* infizierten Fischen traten die für die Rotmaulseuche typischen Krankheitsanzeichen (z. B. subkutane Hämorrhagien in und um das Maul und Rachen) auf. 9 Tage nach der Exposition wurden auch Vergrößerungen der Milz und Rötungen des Darms beobachtet. *Y. ruckeri* wurde während der Experimentperiode aus der Kopfniere der beprobten Fische reisoliert. Der höchste beobachtete Schweregrad war "schwer".

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Insgesamt wurden 362 Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*) für den Tierversuch verwendet. Aus der Tabelle folgt, dass im Rahmen des Tierversuches 94 Regenbogenforellen nicht belastet, 82 Regenbogenforellen gering belastet, 74 Regenbogenforellen mittel belastet und 112 Regenbogenforellen schwer belastet wurden.

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

Vermeidung: Die Untersuchung biochemischer Vorgänge sowie die Beobachtung der Immunantwort von Fischen setzt die Verwendung lebender Tiere voraus, sodass es nicht möglich war auf Alternativmethoden zurückzugreifen.

Verminderung: Für diesen Versuch wurde jene statistisch berechnete Anzahl an Tieren verwendet, die unbedingt erforderlich war, um aussagekräftige Ergebnisse zu erzielen.

Verfeinerung: Um Stress zu vermeiden, wurde auf eine homogene Gruppenzusammenstellung geachtet. Weiters wurden alle Interaktionen mit den Fischen auf das erforderliche Minimum reduziert. Die Wasserqualität wurde durch ständigen Wasserdurchlauf und adäquate Sauerstoffversorgung sowie durch die erforderlichen hygienischen Maßnahmen gesichert. Die Futtermenge betrug 1 % des Körpergewichts. Die Fische wurden mindestens dreimal täglich

kontrolliert. Fische, die klinische Krankheitsanzeichen zeigten, wurden unverzüglich fachgerecht euthanasiert. Da die untersuchte Infektion durch rasches Fortschreiten charakterisiert ist und Krankheitsanzeichen bei Fischen erst in einem späten Krankheitsstadium manifest werden, konnte das Auftreten einer schweren Belastung bei einem Teil der Fische nicht verhindert werden.

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

1. Angaben über Projektziele, einschließlich Schaden und Nutzen

Projektziel: Ziel dieses Projekts ist es, den Entwicklungszyklus von *I. multifiliis* zu unterbrechen, um die Weißpünktchenkrankheit unter Kontrolle zu bringen. Mit Hilfe der Antisense-Technologie soll die Expression von Genen, die essentiell für die Zellteilung, das Wachstum und die Pathogenese von *I. multifiliis* sind, gezielt herunter reguliert bzw. völlig unterdrückt werden.

Der Nutzen bestand darin, Stadien der die Weißpünktchenkrankheit auslösenden Parasiten zu gewinnen bzw. zu vermehren und zu versuchen, die Manifestation der Krankheit zu verhindern.

Der Schaden für die Tiere bestand in dem Stress, dem die Fische während des Infektionsprozesses ausgesetzt waren. Tatsächlicher Schaden: Die für die Optimierung der Transfektion infizierten Fische zeigten Anzeichen der Weißpünktchenkrankheit (vermehrte Schleimproduktion und weiße Pünktchen auf der gesamten Epidermis). Tatsächliche erhobene Schweregrade: Bei allen Fischen wurde der Schweregrad „schwer“ erhoben.

2. Art und Anzahl der Tiere

5 Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*)

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

Vermeidung: Da derzeit keine *in vitro* Methode zur Gewinnung der Parasitenstadien existiert, war die Verwendung lebender Tiere unerlässlich.

Verminderung: Die Versuche wurden auf Grundlage der Erfahrungen mit anderen Infektionsversuche konzipiert und die Anzahl der Versuchstiere so gering gehalten, dass die Ergebnisse noch aussagekräftig bleiben.

Verfeinerung: Die Fische wurden mindestens zweimal täglich kontrolliert. Um den Stress für die Tiere möglichst gering zu halten, wurde jegliches Handling auf ein Minimum reduziert. Bei ersten Anzeichen einer Infektion, wie weiße Punkte auf der gesamten Epidermis, Trübung der Haut und vermehrte Schleimproduktion, wurden die Fische fachgerecht euthanasiert, um Sporen zu gewinnen.

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

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

Ein zentrales Ziel dieses Projektes war es, die pathophysiologische Rolle von FGF23 bei chronischer Niereninsuffizienz (CKD, chronic kidney disease) zu erforschen. Dazu sollten verschiedene Versuche an Mäusen durchgeführt werden, bei denen auf chirurgischem Weg eine CKD erzeugt worden war (Nierenteilresektion).

Nutzen: Obwohl die Versuche noch nicht ganz abgeschlossen sind, steht schon fest, dass das Projektziel weitgehend erreicht worden ist: Unsere Experimente haben gezeigt, dass FGF23 ein wesentlicher Faktor in der Pathophysiologie von CKD ist. Dabei sind 2 verschiedene Signaltransduktionswege am Effekt beteiligt, was wir durch den Einsatz spezifischer Hemmstoffe nachweisen konnten. Darüber hinaus konnten wir zeigen, dass die lokal gesteigerte Sekretion von FGF23 im Knochen zu der bei CKD-Patienten typischen Mineralisierungsstörung beiträgt. Dadurch konnten wir ganz konkret neue Wege der Therapie der CKD im Menschen aufzeigen: unsere Daten wurden bereits im Rahmen einer prospektiven Studie mit CKD-Patienten als auch auf den Menschen anwendbar verifiziert. Ein Teil der Daten wurde bereits publiziert bzw. auf verschiedenen Kongressen präsentiert, weitere Publikationen sind in Vorbereitung.

Schaden für die Tiere: Im Rahmen des Projektes ist es notwendig, bei einem Teil der Tiere chirurgisch (durch Nierenteilresektion) oder durch die Gabe spezifischer Substanzen mit dem Futter eine chronische Niereninsuffizienz zu erzeugen. Dabei handelt es sich um gut etablierte und dokumentierte Tiermodelle. Belastungsschwerpunkte traten bisher, wie erwartet, hauptsächlich im Bereich der chirurgischen Eingriffe v.a. durch allgemeine OP-Risiken (z. B. Blutungen) auf und konnten durch optimierte Anästhesie, Analgesie und engmaschiges Monitoring minimiert werden. Deutliche Symptome eines klinisch manifesten Nierenversagens sind bei der gewählten Vorgehensweise erst nach ca. 12 Wochen zu erwarten. Alle Tiere im Versuch wurden mindestens einmal pro Woche gewogen und tierärztlich untersucht. Mäuse, die deutliche Krankheitszeichen oder Gewichtsverluste zeigen, wurden eingeschläfert.

Von den bisher verwendeten 438 Mäusen wurden 151 als mittelgradig belastet eingestuft (scheinoperierte Kontrolltiere) und 287 als schwer belastet aufgrund der Induktion eines irreparablen Nierenschadens.

### 2. Art und Anzahl der Tiere:

438 Mäuse

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

Vermeidung: Studien, in deren Rahmen Wechselbeziehungen verschiedener Organsystemen in Modellen für chronische Erkrankungen untersucht werden, können nur an lebenden Tieren durchgeführt werden.

Verminderung: In einigen Fällen konnten die Gruppengrößen reduziert werden, wahrscheinlich kann auch auf die Durchführung einiger noch ausstehender Teilversuche verzichtet werden (Projekt noch nicht abgeschlossen!).

Verfeinerung: Optimierte Anästhesie und OP-Technik sowie lückenlose Analgesie trugen zur schnellen Erholung der Tiere post-OP bei. Da die Versuchsdauer meist mehrere Wochen betrug, wurde jedes Männchen mit einem alten Weibchen („retired breeder“) vergesellschaftet, um seine sozialen Bedürfnisse befriedigen zu können. Alle Tiere wurden während des gesamten Versuchs bezüglich Allgemeinbefinden und Körpergewicht überwacht. Dabei hat sich gezeigt, dass die sich über Wochen entwickelnde CKD im Versuchszeitrahmen tatsächlich sehr milde verläuft, progredienter Gewichtsverlust oder äußerlich erkennbare Anzeichen eines verschlechterten Allgemeinbefindens waren kaum oder gar nicht erkennbar. Der Verzicht auf die Implantation von Pumpen hat zu einer generellen Verfeinerung des Modells beigetragen. Das Projekt hat auch wesentlich dazu beigetragen, das experimentelle CKD-Modell im Sinne des Refinements zu verbessern. Der verwendete Mausstamm gilt als sehr resistent gegenüber der chirurgischen Induktion von CKD, gemäß Literatur ist die zusätzliche Infusion von Angiotensin II über subkutane Pumpen dazu notwendig. Im Rahmen von Vorversuchen konnten wir zeigen, dass eine Diät mit verändertem Mineralstoffgehalt ausreicht, um 8 Wochen nach der Operation bereits im Mittel eine ca. 50%ige Reduktion der glomerulären Filtrationsrate zu erzeugen, auf die zusätzliche Implantation von subkutanen Pumpen konnte verzichtet werden.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 29. Februar 2020 vorgesehen.