

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

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

Nach einem Myokardinfarkt (MI) erhöht links ventrikuläres Remodeling (LVR) Morbidität und Mortalität. Das Ausmaß des LVR wird beeinflusst von der Infarktgröße, dem Zeitpunkt der Reperfusion und der darauffolgenden Therapie.

Um den ischämischen Schaden möglichst gering zu halten, wird in der Klinik eine therapeutische Reperfusion angestrebt. Reoxygenierung von ischämischem Gewebe nach einem Infarkt führt jedoch zum Ischämie-Reperfusionssyndrom, welches für bis zu 50% der Infarktgröße verantwortlich ist. Ischämie-Reperfusion erhöht über die Anhäufung von Calcium und reaktive oxygen species (ROS) die mitochondriale Permeabilität, welche zur Schwellung und Dysfunktion der Mitochondrien führt. In weiterer Folge kommt es zur Ruptur der mitochondrialen Membran und Nekrose.

Der Einfluss der extrazellulären Matrix auf den Ischämie-Reperfusionsschaden ist bis dato nur lückenhaft untersucht. Hierfür planen wir unter Verwendung eines Knock-Out Maus Modells, sowie anhand eines akuten Ischämie-Reperfusion-Modells den Einfluss eines Proteins als potenzielles therapeutisches Ziel zu analysieren. Die Herzfunktion stellt unseren Hauptzielparameter dar, außerdem sind weiterführende molekularbiologische und histologische Untersuchungen geplant.

*zu erwartender Nutzen:* Beschreibung eines potentiellen therapeutischen Ziels im Ischämie-Reperfusionsschaden

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Operation unter tiefer Narkose

*2. Art und Anzahl der Tiere*

Mäuse: 157

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

Der Versuchsaufbau sowie das Protokoll sind jahrelang international etabliert und erlauben eine standardisierte Untersuchung der Fragestellung. Für den Erhalt aussagekräftiger Resultate ist die Versuchsgröße basierend auf einer Fallzahlberechnung so gering wie möglich kalkuliert. Durch Standardisierung aller Haltungs- und Versuchsbedingungen und genaue Versuchsplanung soll eine möglichst geringe Streuung der Versuchsergebnisse erzielt werden.

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

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

Das beantragte Versuchsvorhaben dient der Untersuchung von neuronalen und peripheren Rezeptoren und Transportern, des molekularen Stoffwechsels, sowie Antikörper-Antigen-Wechselwirkungen mittels  $\mu$ PET/CT/MR, das heißt, es sollen Erkenntnisse über Stoffwechselvorgänge vor allem des Gehirns gewonnen werden, die die Entstehung und Therapie von Erkrankungen verbessern helfen. So erhofft man sich mittels Einsatz von radioaktiv markierten Substanzen Aufschluss über Verteilung und Häufigkeit von Rezeptoren, Stoffwechselvorgängen und Hormonen bei verschiedensten cerebralen und peripheren Erkrankungen.

Es ist geplant, die Pharmakokinetik neuer Tracer, d.h. die Verteilung im Körper, (basierend auf Leitstrukturen, deren Wirksamkeit belegt ist) sowohl auf klassischem Wege wie auch mittels hochauflösender  $\mu$ PET/CT/MR-Bildgebung zu bestimmen.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:*

Die Versuchstiere werden unter Narkose dem jeweiligen bildgebenden Verfahren unterzogen und unter Beibehaltung der Narkose schmerzfrei getötet. Eine Wiederherstellung der Lebensfunktionen ist nicht gegeben.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

Es werden Ratten (Sprague-Dawley) sowie Mäuse (Balb/c) verwendet. Die von Zwischenergebnissen abhängige Anzahl der benötigten Tiere beträgt maximal 174 Mäuse und 290 Ratten pro Jahr. Die Gesamtzahl in 3 Jahren beträgt maximal 870 Ratten und 522 Mäuse.

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

*Vermeidung:*

Für die vorliegenden langfristigen Untersuchungen zu einer Verteilung neuer Radiopharmaka beim einzelnen Tier im zeitlichen Verlauf sind Tierversuche unerlässlich, um zu untersuchen, ob eine spätere Anwendung am Menschen sinnvoll und ungefährlich ist. Die Wechselwirkung dieser Arzneimittel hängt von vielen Prozessen ab (etwa Durchblutung oder organspezifische Eigenheiten) und müssen mit dem lebenden Gesamtorganismus charakterisiert werden. Derartige Prozesse sind mit alternativen in-vitro oder ex-vivo Systemen nicht nachzustellen.

*Verminderung:*

Durch Verwendung modernster bildgebender Methoden und Technologien werden das Ausmaß der Belastung und die Zahl der benötigten Tiere im Rahmen des Möglichen minimiert. Im Sinne der Vermeidung werden im Reagenzglas und an Zellkulturen geplante Methoden kritisch geprüft, bevor Versuchstiere zum Einsatz kommen.

*Verfeinerung:*

Im Sinne der Verminderung wurde die Reihenfolge der Tests so geplant, dass sich in Abhängigkeit von Zwischenergebnissen nachfolgende Experimente womöglich erübrigen.

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

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

In den letzten Jahrzehnten konnte sich die Transplantation als Standardtherapie zur Behandlung von endgültigem Organversagen in der Klinik durchsetzen. Dies kann Großteiles auf die beträchtlichen Fortschritte im Kurzzeitüberleben des Transplantates zurückgeführt werden. Während akute Abstoßungen (= innerhalb der ersten Wochen) heutzutage vermieden oder gut behandelt werden können, bleibt die chronische Abstoßung noch immer die häufigste Ursache für den späten Verlust des Transplantates. Darüber hinaus birgt die kontinuierliche Suppression des Immunsystems ein erhöhtes Risiko für schwerwiegende Nebenwirkungen wie Tumore, Infekte und metabolische Störungen. Folglich wäre ein Zustand erstrebenswert, in welchem der Empfänger das fremde Organ akzeptiert ohne auf Immunsuppressiva angewiesen zu sein (= Transplantationstoleranz). Eine Möglichkeit diesen Zustand zu erreichen, ist dem Empfänger Knochenmark des Spenders zu transplantieren.

*zu erwartender Nutzen:* Sobald sich die Knochenmarkszellen des Spenders im Empfänger eingenistet haben, kann der Empfänger vom selben Spender ein Organ erhalten, ohne Immunsuppressiva zu benötigen. Der routinemäßige Einsatz dieses Ansatzes scheitert derzeit jedoch an der für die Patienten äußerst belastenden Vorbehandlung des Knochenmarkempfangs und dessen Nebenwirkungen (z.B. Bestrahlung). Deswegen forscht unsere Arbeitsgruppe an Patienten schonenden Vorbehandlungen für den Knochenmarksempfang, um dieses Protokoll in der Klinik zu etablieren.

*zu erwartender Schaden:* Insgesamt kann die Belastung für diese Mäuse je nach Gruppenzugehörigkeit als gering bis mittel eingestuft werden. Während der chirurgischen Eingriffe werden die Mäuse narkotisiert und gegen postoperative Schmerzen analgesiert. Nach erfolgreicher Transplantation erhalten die Mäuse keine weiteren Behandlungen und werden für einen Zeitraum von bis zu 150 Tagen nachbeobachtet. Während der Beobachtungszeit wird den Mäusen alle 4 Wochen Blut abgenommen, um die Präsenz von Spenderzellen zu kontrollieren. Die Transplantate werden in regelmäßigen Abständen visuell kontrolliert. Am Ende der Nachbeobachtungszeit werden die Mäuse sanft getötet und wissenschaftlich relevante Organe werden für Nachuntersuchungen isoliert.

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

1342 Mäuse unterschiedlichen Genotyps (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 wurde durch vorgeschaltete Untersuchungen in vitro (Zellkulturen, isoliertem Gewebe etc.) reduziert.

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

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

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

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

Physiologische Informationen aus hämatologischen Parametern wie verschiedene endokrine Hormone (z.B. Corticosteron, Testosteron) oder Leukozytenzahl und Hämatokrit können sowohl für intra-als auch für inter-spezifischer Studien in verschiedenen Bereichen der Biologie von Nutzen sein, zum Beispiel bei der Untersuchung von Prozessen der Anpassung an exogene bzw. endogene Faktoren wie z.B. Jahreszeit oder Alter, aber auch in weiteren Bereichen der Verhaltensbiologie, wie z.B. bei der Untersuchung von potentiellen ontogenetischen Einflussfaktoren von Persönlichkeit. Ebenso lassen sich aus den Parametern Rückschlüsse auf den allgemeinen Gesundheitszustand der Tiere ziehen.

Ziel der beantragten Studie ist die Einführung eines Langzeit-Monitorings für eine Waldrappkolonie (*Geronticus eremita*). Die Probennahme soll insgesamt mindestens bis Ende des Jahres 2014 weiterlaufen und das mehrmalige Fangen derselben Tiere erlauben, um (1) kurzfristig die Ontogenie der individuellen Persönlichkeiten und (2) langfristig individuelle saisonale und altersabhängige Muster der verschiedenen Parameter zu untersuchen. Da ein ähnliches Monitoringprogramm bei einer Graugansschar durchgeführt wird, wird einen direkter Vergleich zwischen den Arten erlaubt. Des Weiteren ermöglichen die Messungen der physiologischen Stressreaktivität in Kombination mit etablierten Verhaltenstests und regelmäßigen Beobachtungen die Ontogenie von Persönlichkeit und potentielle Einflussfaktoren zu untersuchen. Die Beeinträchtigung der Versuchstiere durch die geplanten Untersuchungen ist als minimal einzustufen, da die Dauer der Blutentnahme sehr kurz ist, schonend von erfahrenen Mitarbeitern durchgeführt wird und die Tiere im Anschluss sofort freigelassen werden können.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Das Projekt betrifft eine Querschnittuntersuchung einer Waldrappkolonie von derzeit ca. 60 Vögeln. Das Procedere umfasst schonendes Fangen per Hand sowie die Blutabnahme aus der Flügelvene. Die insgesamt erforderliche Probenmenge ist mit 1000 µl für einen Vogel dieser Größe (1-1,2kg) sehr gering, dauert nur wenige Sekunden und die Blutung lässt sich durch leichten Druck auf die Vene sofort stillen. Derartige Blutabnahmen stellen eine Standardmethode von verhaltensökologischen Untersuchungen dar und sind z.B. im Falle dieser Studie einer nicht-invasiven Bestimmung der Corticosteronmetabolite aus Kotproben vorzuziehen, da diese eine sehr lange Separation der Tiere von mehr als einer Stunde zur Sammlung der Kotproben erfordern und die Tiere stark belasten würde. Zudem soll das Fangen für die Blutabnahme wann immer möglich, im Rahmen der Beringung der Jungtiere vor dem Flüggewerden, bzw. mit der Nachberingung von Tieren, die Ringe verloren haben, kombiniert werden. Dadurch ist für die Blutabnahme kein eigenes Fangen von Nöten. Inklusive Beringung, Blutabnahme und, im Falle von Jungtieren, Wiegen und Messen dauert das Procedere vom Fangen bis zum Wiederentlassen weniger als 5 Minuten. Auf diese Art und Weise sollen Blutproben von 30 Jung- und 30 Adultvögeln genommen werden. Diese Anzahl an Tieren ist notwendig, um Unterschiede bezüglich der Aufzucht (eltern- oder handaufgezogen/ Jungvögel) sowie alle Altersgruppen und saisonalen Phasen abdecken und analysieren zu können. Die routinemäßige, tägliche Beobachtung der Waldraupe erlaubt ein genaues Monitoring der Tiere in den nächsten Stunden, Tagen und Wochen nach der Blutabnahme.

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

Dieses Projekt entspricht dem Konzept der 3R: Es wird versucht durch eine einzige geringe Blutabnahme, so viele Informationen wie möglich über das Individuum zu erhalten. Zudem soll das Fangen für die Blutabnahme wann immer möglich, z. B. im Rahmen der ersten Beringung der Jungtiere vor dem Flüggewerden, kombiniert werden. Damit ist für die Blutabnahme kein eigenes Fangen von Nöten. Die Blutabnahmen sind von sehr kurzer Dauer und werden schonend von erfahrenen Mitarbeitern durchgeführt, sodass das Wohlergehen der Tiere nicht beeinträchtigt wird.

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

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

Moderne Imagingverfahren wie Magnetresonanztomographie, Computertomographie oder optisches Imaging haben sich zu einer wesentlichen Säule der medizinischen Diagnostik und der präklinischen Forschung entwickelt. Aufgrund der Komplexität der Technologien und der hohen Kosten wurde europaweit eine Reihe von Core Facilities etabliert, die solche Geräte betreiben und bildgebende Verfahren als Forschungsdienstleistungen anbieten. Das vorliegende Projekt hat die Implementierung eines neuen Imagingsystems zum Ziel. Für dieses System sind Messprotokolle zu entwickeln und Messparameter zu optimieren um zu einem möglichst guten Signal-Rauschverhältnis der aufgenommenen Bilder zu gelangen und Artefakte wie zum Beispiel Bildverzerrungen zu minimieren. Bei der Optimierung der Messprotokolle sind Parameter empirisch zu erfassen und anzupassen, bis eine optimale Bildqualität erreicht wird. Wo möglich werden diese Imaging Parameter ex vivo optimiert werden, für eine Reihe von Fragestellungen sind jedoch lebende Tiere notwendig (zum Beispiel für die Optimierung von Perfusionsmessungen oder von kardiovaskulärem Imaging).

*zu erwartender Schaden:* Die Tiere für diese Experimente werden aufgrund der nicht-invasiven Natur des Imagingverfahrens und der Untersuchung der Tiere unter Narkose nur geringgradig belastet.

*zu erwartender Nutzen:* Der Nutzen dieses Projektes ist hoch, da zukünftige Forschungsprojekte, die die Dienstleistungen der Imaging-Plattform in Anspruch nehmen, auf bereits optimierte Messprotokolle zurückgreifen können und damit die Belastung dieser Tiere und die Anzahl dieser reduziert werden und gleichzeitig die Standardisierung der Verfahren und die Qualität der Ergebnisse erhöht wird. Diese Imaging-Plattform wird für ein breites Spektrum von präklinischen Anwendungen verwendet werden, die unter anderem Neurowissenschaften, Stoffwechsel- und kardiovaskuläre Forschung, Erforschung von Medikamenten, etc. inkludiert. Die zukünftigen Forschungsprojekte sind nicht von diesem Antrag umfasst, sondern werden gesondert beantragt.

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

Die Studien werden an Wildtyp-Mäusen unterschiedlicher Stämme beider Geschlechter durchgeführt. Es sind insgesamt 420 Mäuse vorgesehen.

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

Es ist international anerkannt, dass durch die Etablierung spezialisierter Core Facilities im Allgemeinen und die Verfügbarmachung von Imagingtechnologien im Speziellen die „3R“ in optimaler Weise adressiert werden. Die Erfahrung des geschulten Personals sowie die Fachkompetenz der WissenschaftlerInnen der Imaging-Plattform ist eine Grundvoraussetzung, dass die Anzahl der Tiere, die Schmerzen, die Leiden und Ängste so gering wie möglich sein werden. Die Haltung der Tiere erfolgt nach Richtlinien und sie werden auf einer täglichen Basis durch Fachpersonal (Tierpfleger, Tierarzt) für allgemeines Verhalten überwacht und behandelt. Alle Parameter, die an Phantomen oder toten Mäusen optimiert werden können, werden auf diese Weise optimiert. Die experimentellen Protokolle, welche entwickelt werden, sind hoch standardisiert. Die Imaging-Plattform ist in ein Netzwerk von anderen MRI-Zentren eingebunden, in dem regelmäßig Erfahrungen und Protokolle ausgetauscht werden. Durch Verwendung von in anderen Laboratorien validierten Protokollen wird die wissenschaftliche Vergleichbarkeit und Validität bei gleichzeitiger Reduktion der Tierzahlen erhöht. Nach Etablierung der Imagingverfahren wird die Imaging-Plattform in der Lage sein, zur Erfüllung der „3R“ bei den Tierversuchen der zukünftigen Nutzer wesentlich beizutragen. Es ist bekannt, dass verlässliche in vivo Imaging-Verfahren die Tierzahlen bei vor allem onkologischen Studien wesentlich verringern. Die in vivo Untersuchungen werden nur dann auf Mausmodelle ausgedehnt, wenn Literatur bzw. in vitro Daten nicht informativ sind oder klare Hinweise für bisher unbekanntes Vernetzung auftreten. Auch hier kann die Imaging-Plattform mit ihrer Erfahrung wesentliche Unterstützung liefern. Durch das Halten der Tiere auf definierten Hintergrund wird die Kontrollgruppe bei konditionellen Tieren ebenfalls reduziert.

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 die Erforschung extrahepatischer Manifestationen von cholestatischen Lebererkrankungen. Bei Erkrankungen im Bereich der Gallenwege fallen vermehrt gallepflichtige Stoffe (Bilirubin, Gallensäuren,...) an, die alternativ in den Systemkreislauf gelangen und nicht nur die Leber selbst, sondern auch andere Organe, wie z.B. die Niere, schädigen können. Gallensäuren, die im Normalfall über die Gallenwege in den Dünndarm ausgeschieden werden und beispielsweise eine wichtige Rolle in der Fettverdauung spielen, sind potentiell toxische Substanzen, können aber auch als Signalmoleküle wirken und verschiedene Stoffwechselprozesse im Körper beeinflussen.

Von besonderem Interesse in diesem Projekt sind die Auswirkungen von Erkrankungen im Bereich der Gallenwege und insbesondere der Effekt von Gallensäuren auf die Niere (cholämische Nephropathie), die Nebenniere (Hepatoadrenales Syndrom) und das Herz (cholestatische Kardiomyopathie). Diese Erkrankungsbilder sollen anhand von Mausmodellen für cholestatische Lebererkrankungen (Gallengangsligatur, etc.) geklärt werden. Dazu kommen auch Experimente zur Ursachenfindung (z.B. Rolle der Autophagie) zum Einsatz. Bei den Experimenten handelt es sich um Untersuchungen von komplexen biologischen Regelmechanismen, die nur im Tiermodell durchgeführt werden können, um die Auswirkungen von Gallenwegserkrankungen im Gesamtorganismus zu beurteilen. Sämtliche Versuchsansätze werden zur Beantwortung mehrerer Fragestellungen simultan verwendet um eine optimale Nutzung der gewonnen Materialien (Leber, Niere, Nebenniere, Herz, Blut) zu sichern und die notwendige Tierzahl maximal niedrig zu halten.

*zu erwartender Nutzen:* Extrahepatische Manifestationen und systemische Komplikationen von Erkrankungen der Leber und der Gallenwege führen oftmals zu einer Verschlechterung des Zustandes der betroffenen PatientInnen und sind bislang sowohl in Bezug auf Diagnostik als auch in Bezug auf therapeutische Maßnahmen im klinischen Alltag unterrepräsentiert. Die oben beschriebenen Untersuchungen im Tiermodell werden neue Erkenntnisse in der Entstehung cholestatischer Lebererkrankungen und deren Komplikationen bringen, die direkte diagnostische und therapeutische Implikationen für die Betreuung von PatientInnen mit Leber- und Gallenwegserkrankungen nach sich ziehen sollen.

*zu erwartender Schaden:* An den Versuchstieren werden zur Beurteilung des Einflusses von Gallensäuren auf die verschiedenen Stoffwechselforgänge in den oben beschriebenen Organen folgende Experimente durchgeführt:

- Kurzfristiges (max. 12h) Einsperren in Stoffwechselfäfige zur Sammlung von Stuhl und Harn
- Nahrungsentzug für maximal 12 Stunden
- Fütterung verschiedener potentiell schädlicher Gallensäuren durch Einmischen in das Haltungsfutter
- Verabreichung verschiedener Substanzen über das Maul
- Operationen am Bauch in Narkose und unter adäquater Schmerztherapie (Abbinden des Gallengangs, Entfernung der Nebennieren)
- Tötung der Niere unter Narkose

Neben genetisch unveränderten sogenannten Wildtyp Mäusen kommen auch genetisch veränderte Mäuse zum Einsatz, die jedoch durch ihre Mutation alleine in ihrem Dasein nicht beeinträchtigt sind und eine normale Lebenserwartung aufweisen.

Der höchste Schweregrad der Experimente ist den langjährigen Erfahrungen des Projektleiters zufolge als „mittel“ (Schweregrad 2) einzustufen. Alle oben beschriebenen Versuche werden schon seit mehreren Jahren an der Tierversuchsanstalt durchgeführt und laufend optimiert um den Schaden maximal gering zu halten.

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

Für obenstehende Experimente werden ausschließlich Mäuse verwendet:

Genetisch unveränderte Wildtyp Mäuse: 262 (Zucht: 626)  
Genetisch veränderte Mäuse: 194 (Zucht: 463)  
Anzahl der Zuchttiere: 1089  
Anzahl der Versuchstiere: 456

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

*Vermeidung:* Bei der Erstellung der Versuchspläne wurde darauf geachtet, dass die Versuche mit der geringstmöglichen Belastung und kleinstmöglichen Anzahl an Versuchstieren in einem stufenweisen Prozess durchgeführt werden. Die Betreuung der Tiere erfolgt durch ausgebildetes Tierpflegerpersonal. Futter und Wasser werden mit Ausnahme eines Versuchs (Futterentzug für maximal 12 Stunden) unbegrenzt zur Verfügung gestellt. Die Mäuse werden in Gruppen von 3-5 Tieren gehalten und um den Zuchterfolg zu erhöhen, Nestbaumaterial und/oder Häuschen zur Verfügung gestellt. Die Tierhaltung wird in regelmäßigen Abständen vom zuständigen Veterinär kontrolliert. Die Tiere werden einem regelmäßigen Handling unterzogen um sich an etwaige Manipulationen zu gewöhnen. Bei operativen Eingriffen erfahren die Tiere eine fachgerechte Schmerztherapie und Narkose.

*Verminderung:* Zur Verminderung bzw. Vermeidung jeglichen Leidens von der Geburt bis zum Tod erfolgen alle Tierversuche möglichst kurz und unter adäquater Schmerztherapie (kurz vor, während und nach den operativen Eingriffen). Sollte es während des Versuches zu nicht leicht therapierbaren, instabilen Kreislaufsituationen oder anderen unvorhergesehenen Notfällen kommen, wird im Sinne unserer ethischen Verantwortung und des Tierschutzgesetzes die Sakrifizierung des Versuchstieres vorgenommen. Durch die Erfahrung des Antragsstellers ist die Anzahl solcher zu erwartender Ereignisse als sehr niedrig einzustufen.

*Verfeinerung:* Um die Anzahl der Versuchstiere möglichst gering zu halten werden in einem ersten Schritt die jeweiligen Experimente mit einer Tierzahl von 5 Tieren pro Gruppe geplant. Nach den Erfahrungen des Tierversuchsleiters ist diese Zahl in einem ersten Schritt zur Abschätzung weiterer notwendiger Experimente ausreichend. Bei der Tötung der Tiere werden sämtliche Gewebe in standardisierter Weise entnommen und gelagert, um eventuell nötige Nachbestimmungen unter Minimierung des Tierbedarfs durchführen zu können. Durch die Wahl eines stufenweisen Versuchsplanes wie oben angeführt ist die Gefahr nicht gerechtfertigter doppelter Durchführung von Tierversuchen minimiert. Durch ein sehr präzises Dokumentationssystem der Tierversuche und gewonnen Gewebe und Körperflüssigkeiten (Blut, Harn) zusammen mit einem streng standardisiertem Schema für die Organentnahme und Aufarbeitung konnte der Tierversuchsleiter im Sinne von qualitätsfördernden Maßnahmen die Verwertungsmöglichkeiten der gewonnen Materialien steigern.

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 allergenspezifische Immuntherapie, die Veränderungen des Immunsystems im Patienten auslöst. Leider ist diese Behandlung in zahlreichen PatientInnen nicht erfolgreich. Um die Effektivität der allergenspezifischen 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 sowohl die Produktion von regulatorischen T-Lymphozyten als auch von blockierenden Antikörpern auslöst. Derzeit ist jedoch noch nicht klar, welche dieser Veränderungen für die Verminderung der allergischen Symptome relevant ist. Ziel des vorliegenden Projektes ist es, herauszufinden, ob die Veränderungen der T-Lymphozyten oder die Antikörperproduktion in behandelten AllergikerInnen gegen den neuerlichen Allergenkontakt tolerant machen. Basierend auf den gewonnenen Erkenntnissen können Impfstoffe für die allergenspezifische 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:* Die Tiere werden nach einer Behandlungsdauer von max. 24 Tagen getötet. Während dieser kurzen Behandlungsdauer sind nur wenige Interventionen an den Tieren geplant, was somit deren Leiden reduziert. Die Mäuse werden am letzten Tag unter Narkose behandelt um schmerzfrei zu sein.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

1201 NOD-SCID  $\gamma c^{-/-}$  (NSG) 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. Werden sämtliche Eingriffe unter Narkose durchgeführt; 2. Werden die Immunisierungen derart geplant, dass Krankheitssymptome einer Graft versus Host Reaktion so weit als möglich vermieden werden; 3. Wird zur Verminderung der Tierzahl 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*

Herz-Kreislaufkrankungen sind nicht nur in den Industrieländern, sondern weltweit immer häufiger Ursache von Todesfällen und eine große Belastung für die Gesundheitssysteme. Obwohl viele Risikofaktoren wie z. B. Bluthochdruck, verengte Herzkranzgefäße, erhöhte Cholesterinwerte, Adipositas und Diabetes inzwischen bekannt sind und große Anstrengungen in Therapie und Prävention unternommen werden, gelingt es derzeit nicht, die Erkrankungshäufigkeit oder die Zahl der Todesfälle wesentlich zu beeinflussen. Ein Hauptproblem ist, dass viele molekulare Faktoren und Mechanismen, die in der komplexen Pathogenese von Herz-Kreislaufkrankungen lokal oder systemisch eine Rolle spielen, noch unbekannt sind bzw. erst nach und nach aufgedeckt werden. In den letzten Jahren ist dabei auch Vitamin-D-Hormon in den Fokus der Wissenschaft gerückt, dessen Funktionen im Knochenstoffwechsel und in vielen anderen Geweben schon seit vielen Jahren Gegenstand der Forschung sind. In den meisten Studien ist es jedoch sehr schwierig, organ- oder zelltypspezifische Effekte von Vitamin D gegenüber systemischen Effekten sicher abzugrenzen, weil das Hormon im Organismus in sehr vielen verschiedenen Geweben und Zelltypen Funktionen ausübt und deshalb in einem multifaktoriellen Geschehen wie einer Kardiovaskulären Erkrankung auf verschiedenen Ebenen wirksam werden kann. Inzwischen gibt es die Möglichkeit, in konditionellen („geflochten“) Mausstämmen zelltypspezifisch die Funktionen von Vitamin D zu untersuchen, es existiert jedoch derzeit noch kein Tiermodell, in dem die Funktionen von Vitamin D im Herz-Kreislaufsystem vergleichend in verschiedenen Expressionsvarianten (in ansonsten „gesunden“ Tieren) differenziert untersucht werden kann.

Ziel des vorliegenden Projektes ist es, ein solches komplexes Mausmodell zu etablieren und zu testen.

*zu erwartender Nutzen:* ist die Bereitstellung von Mäusen, die durch gentechnisch induzierte Mutationen in ihrem Erbgut gewebespezifische Untersuchungen zur Bedeutung von Vitamin D im Herz-Kreislaufsystem ermöglichen.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Alle bei der Zucht entstehenden Phänotypvarianten sind so subtil, dass sie die Lebensqualität der Tiere in ihrer normalen Käfigumgebung nicht erkennbar beeinflussen; deshalb wird die maximale Belastung der Tiere durch die genetische Veränderung als gering eingestuft. Der größte Teil der Mäuse muss zum Zweck der Genotypisierung einer Schwanzspitzenbiopsie unterzogen werden.

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

Insgesamt sind für dieses Projekt maximal 13.900 Mäuse veranschlagt, wobei sich die Tierzahl v.a. aus der Anzahl der verschiedenen Zuchtvarianten bzw. Genotypkombinationen ergibt.

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

*Vermeidung:* Da es sich um ein Tiermodell handelt, in dem die systemischen Auswirkungen (Herz/Niere/Knochen) einer genetischen Veränderung untersucht werden sollen, kann auf die Arbeit mit lebenden Tieren nicht verzichtet werden.

*Verminderung:* Es ist unser Ziel, die Gewebespezifität und Performance jeder Komponente des Systems an Gewebeproben auszutesten, bevor irgendein Tier einem belastenden Versuch unterzogen wird. Gleichzeitig bietet sich uns so die Möglichkeit, verschiedene Methoden der Gewebeanalyse zu testen und zu optimieren sowie darüber hinaus die Zahl an geplanten Zuchtvarianten soweit wie möglich zu reduzieren.

*Verfeinerung:* Alle Tiere werden in Gruppen gehalten. Als Enrichment steht allen Mäusen Lagenzellstoff zum Nestbau zur Verfügung sowie zusätzliches Material (Papprollen, Klettermaterial aus Holz oder Kunststoffhäuschen), wo die Gruppenstruktur das sinnvoll erscheinen lässt.

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

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

Ziel des Projektes ist gemäß § 5 des TVG 2012 die translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten oder anderen Anomalien oder deren Folgen bei Menschen, Tieren oder Pflanzen. Der Versuch bedingt keine Operationen. Die Belastung der 3260 transgenen und nicht transgenen eingesetzten Mäuse wird als „gering“ eingestuft.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

3260 Mäuse

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

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

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

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

Die Rotmaulseuche ist eine durch *Yersinia ruckeri* hervorgerufene Erkrankung der Regenbogenforelle (Rbf). Die Krankheit führt zu erheblichen wirtschaftlichen Verlusten, vor allem in der Aquakultur der Salmoniden. Frühere Studien untersuchten *Y. ruckeri* Stämme in Biotyp 1 (beweglich und Lipase-positiv) und Biotyp 2 (unbeweglich und Lipase-negativ). Bisherige Studien haben gezeigt, dass Biotyp 2 Stämme für den Ausbruch der Rotmaulseuche bei den Rbf, die gegen Biotyp 1 geimpft waren, verantwortlich sind. Die monovalente Impfung ist somit nicht geeignet, um die Fische vor einer Infektion zu schützen. Es besteht ein dringender Bedarf, die biochemischen Veränderungen im Fisch zu verstehen und die Unterschiede in der Immunantwort bezüglich Biotyp 1 und 2 Stämmen zu klären. Proteomik kann wichtige Informationen über die biochemischen Veränderungen in Geweben und Zellen liefern. Bis heute besteht einen Bedarf an Wissen über das tatsächliche Wirtsprotein, dessen Expression während einer Infektion mit *Y. ruckeri* hoch-oder runterreguliert ist. Dieses Projekt zielt darauf ab, unterschiedlich exprimierte Proteinprofile von mit *Y. ruckeri* Biotyp 1 und 2 infizierten Rbf, welche zu unterschiedlichen Zeitpunkten beprobt werden, zu identifizieren. Dadurch können die beobachteten biochemischen Veränderungen auf Proteinebene geklärt werden und die Wirkungsmechanismen der Proteine, deren Expression sich nach der Infektion verändert haben, analysiert werden.

Der erwartete Nutzen besteht in der Darstellung m Erhalt der ersten Proteinprofile von Rbf in Reaktion auf eine bakterielle Infektion. Das Projekt wird dazu beitragen, die beobachteten Unterschiede in der Proteinexpression als Antwort auf die Infektion mit *Y. ruckeri* Biotyp 1 und 2 in den untersuchten Regenbogenforellen zu klären. Die identifizierten Proteine werden analysiert, um dynamische Informationen zu liefern, die uns helfen die biologischen Prozesse und, durch die Infektion aktivierte biochemische Stoffwechselwege, wie Signaltransduktion und Proteasomaktivität, zu verstehen. Zukünftig können die identifizierten Proteine für die Herstellung von Markern oder Protein-Chip Ansätzen zur Identifizierung von resistenten Fischen und in therapeutischen Ansätzen zum "knock-down" von Genen, die am Krankheitsgeschehen beteiligt sind, eingesetzt werden.

Der erwartete Schaden betrifft die Versuchsfische, da die Ausbildung von Läsionen im Maulbereich und an der Basis der Flossen erwartet wird. Bei tiefer Ausprägung der Läsionen kann es zu Apathie, Futterverweigerung und anschließender Abmagerung der Fische kommen, was eine frühzeitige Euthanasie der Fische bewirken würde.

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

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

Anzahl der verwendeten Tiere: 362.

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

*Vermeidung:* Das Ziel dieser Studie ist biochemische Veränderungen im Fisch zu verstehen. Das kann nicht in vitro simuliert werden und daher ist ein Tierversuch unentbehrlich.

*Verminderung:* Die Studie ist so ausgelegt, dass die verwendete Fischanzahl so gering wie möglich ist, aber dennoch genug um ein statistisch aussagekräftiges Ergebnis zu bekommen.

*Verfeinerung:* Um Stress für die Fische möglichst gering zu halten werden je 10 Fische (14-15 cm) in 100 l Aquarien bei 17 °C ± 1°C im Durchflusssystem gehalten und alle Interaktionen mit den Fischen auf ein Minimum reduziert. Die Fische werden mit kommerziellem Forellenfutter ad libitum gefüttert

und mindestens zweimal täglich kontrolliert. Sollten klinische Erscheinungen (Hämorrhagien im Maulbereich oder an der Basis der Flossen) auftreten, werden die Fische fachgerecht euthanasiert.

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

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

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

Im vorliegenden Projekt soll die Wirkung von Psychostimulantien sowie die Rolle des serotonergen Systems in einem Mausmodell für Angelman Syndrom untersucht werden. Angelman Syndrom ist eine schwere neurogenetische Erkrankung für die es derzeit keine wirksame Therapie gibt. Grund für diese Untersuchung ist die hohe Inzidenz (mehr als 50%) von autistischen Störungen in PatientInnen mit Angelman Syndrom und die damit einhergehende Implikation des serotonergen Systems bei der Pathogenese des Angelman Syndrom.

*zu erwartender Nutzen:* Es sollen mögliche therapeutische Angriffspunkte im Serotoninhaushalt gefunden werden, was den Vorteil hat, dass bereits eine Vielzahl von Medikamenten in klinischer Verwendung ist (z.B. atypische Neuroleptika oder Antidepressiva), die an unterschiedlichsten Stellen im Serotoninsystem angreifen und somit unmittelbar zur Behandlung von Störungen aus dem autistischen Formenkreis bei Angelman Syndrom PatientInnen zur Verfügung stehen würden.

*zu erwartender Schaden:* Die Angelman Syndrom Mäuse erhalten unterschiedliche Substanzen verabreicht (ein Großteil davon ist bereits in klinischer Verwendung oder in klinischen Studien), die in das Serotoninsystem eingreifen. Die substanzinduzierten Effekte auf das Verhalten und die Bewegungsmuster der Tiere soll mit Hilfe von Video-Messungen untersucht werden. Es sind für die Tiere keine unerwünschten Effekte oder sonstige Schäden durch die Behandlung und Video-Aufzeichnungen zu erwarten. Am Ende der Untersuchungen werden die Mäuse schmerzfrei eingeschläfert und die Organe für weiterführende Laboruntersuchungen verwendet.

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

Angelman Syndrom Mäuse sowie weitere Mäuse unterschiedlichen Genotyps sollen untersucht werden; entsprechende Wildtyp-Mäuse fungieren als Kontrollen; insgesamt werden 2560 Tiere für die über einen Zeitraum von 5 Jahren geplanten Versuche benötigt.

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

*Vermeidung/Replacement:* Wir haben dem angesuchten Tierexperiment umfassende in vitro-Studien vorangehen lassen und wollen nun die Experimente durch eine Beobachtung in einem physiologischen Kontext absichern. Entsprechend dem Anspruch des TV-Gesetzes prüfen wir nur diejenigen Fragen im tiermedizinischen Experiment, die sich nicht durch in vitro-Zellkulturen überprüfen lassen. Dazu gehören die verhaltenspharmakologische Auswirkung von Serotoninmodulatoren bei Mäusen mit Angelman Syndrom.

*Verminderung/Reduction:* Wir haben Abbruchkriterien definiert, welche in Kraft treten werden: damit können wir Tierversuche sinnvoll vermeiden und tragen so zu deren Verminderung bei.

Für jedes Experiment erfolgt eine a priori Berechnung der Fallzahl (mit Hilfe des online sample size calculators (<http://www.quantitativeskills.com/sisa/>)), wobei die hohe statistische Power auf 95% gewählt wurde, weil auf diese Weise die Experimente eindeutige Antworten liefern werden und damit nicht wiederholt werden müssen. Dies hilft entscheidend mit, die Anzahl der zu verwendenden Tiere zu begrenzen. Die Anzahl der Tiere wird auch gering gehalten, da wir Tiere aus einem homogenen genetischen Background verwenden, die unter standardisierten Bedingungen gehalten werden. Gleiches gilt für den Ablauf der Experimente, die unter ebenfalls standardisierten Bedingungen durchgeführt und ausgewertet werden. Auch dies führt zu einer entscheidenden Verminderung der biologischen Streuung der Ergebnisse und damit zu einer Verminderung der einzusetzenden Tierzahlen.

*Verfeinerung/Refinement:* Der jetzige Ansatz wird mit genetisch modifizierten Tieren durchgeführt. Damit kann eine wesentlich eindeutiger Antwort erzielt werden als durch den Einsatz pharmakologisch wirksamer Inhibitoren. Weil sowohl die Aktivität als auch das Sucht- und Abhängigkeitsbildende Potential gemessen wird, ist so eine tiefer gehende Interpretation der Befunde gewährleistet.

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

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

Die primär sklerosierende Cholangitis stellt eine schwierig zu behandelnde Erkrankung dar, für die es mit Ausnahme der Lebertransplantation aktuell keine heilende, medikamentöse Therapie gibt. Die Mdr2/Abcb4 Gen Knockout Maus gilt mittlerweile als weltweiter Standard für die Testung therapeutischer Strategien bei primär sklerosierender Cholangitis im Tiermodell. Ziel des Projektes ist die Erforschung der therapeutischen Wirksamkeit von Kaffee bei sklerosierender Cholangitis im Mausmodell (Mdr/Abcb4 Gen Knockout Mäuse).

*zu erwartender Nutzen:* Mit Ausnahme der Lebertransplantation gibt es aktuell keine heilende, medikamentöse Therapie der primär sklerosierenden Cholangitis. Aufgrund rezenter Forschungsergebnisse könnte Kaffee und seine Bestandteile ein potentiell Therapeutikum bei Lebererkrankungen wie etwa der primär sklerosierenden Cholangitis darstellen. Die oben beschriebenen Untersuchungen im Tiermodell werden neue Erkenntnisse in der Entstehung cholestatischer Lebererkrankungen und deren Komplikationen bringen, die direkte diagnostische und therapeutische Implikationen für die Betreuung von Patientinnen mit primär sklerosierender Cholangitis nach sich ziehen sollen.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Mdr/Abcb4 Gen Knockout Mäuse sind durch ihre Mutation alleine in ihrem Dasein nicht beeinträchtigt. Beginnend mit 2 Wochen entwickelt sich in der Leber der Mdr2<sup>-/-</sup>Mäuse eine chronische Gallengangsentzündung, die dem humanen Krankheitsbild einer primär sklerosierenden Cholangitis gleicht. Dies führt jedoch weder zur Gewichtsabnahme, verminderten Nahrungsaufnahme, Schmerzhaltungen noch zu verkürzter Lebenserwartung. Ebenso entwickeln die Mdr2<sup>-/-</sup> beginnend mit 6 Monaten Lebertumore, welche in Einzelfällen mit ca. 18 Monaten auch zu pulmonalen Ansiedelungen führte.

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

Für obenstehende Experimente werden ausschließlich Mäuse verwendet:

Genetisch unveränderte Wildtyp Mäuse: 20 (Zucht: 51)

Genetisch veränderte Mäuse: 20 (Zucht: 51)

Anzahl der Zuchttiere: 102

Anzahl der Versuchstiere: 40

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

*Vermeidung:* Bei den angeführten Experimenten handelt es sich um die Testung möglicher therapeutischer Effekte von Kaffee bei sklerosierender Cholangitis im Tiermodell der Mdr2 Knockout Maus, die aufgrund der komplexen Pathophysiologie der Erkrankung nur in-vivo durchgeführt werden kann.

*Verfeinerung:* Die Mäuse werden in Gruppenhaltung gehalten und um den Zuchterfolg zu erhöhen Nestbaumaterial und/oder Häuschen als Enrichement zur Verfügung gestellt. Die Tierhaltung wird in regelmäßigen Abständen vom zuständigen Veterinär kontrolliert. Die Tiere werden einem regelmäßigen Handling durch gut ausgebildete Tierpfleger unterzogen um sich an etwaige Manipulationen zu gewöhnen und Stress zu reduzieren. Sollte es während des Versuches zu nicht leicht therapierbaren, instabilen Kreislaufsituationen oder anderen unvorhergesehenen Notfällen kommen, wird im Sinne unserer ethischen Verantwortung und des Tierschutzgesetzes die Sakrifizierung des Versuchstieres, in einem separaten Raum, um zusätzlichen Stress bei den anderen Mäusen zu verhindern, vorgenommen. Durch die Erfahrung des Antragsstellers ist die Anzahl solcher zu erwartender Ereignisse als sehr niedrig einzustufen.

*Verminderung:* Bei der Erstellung der Versuchspläne wurde darauf geachtet, dass die Versuche mit der geringstmöglichen Belastung und kleinstmöglichen Anzahl an Versuchstieren in einem stufenweisen Prozess durchgeführt werden. Um die Anzahl der Versuchstiere möglichst gering zu halten werden in einem ersten Schritt die jeweiligen Experimente mit einer Tierzahl von 5 Tieren pro

Gruppe geplant. Nach den Erfahrungen des Tierversuchsleiters ist diese Zahl in einem ersten Schritt zur Abschätzung weiterer notwendiger Experimente ausreichend. Bei der Tötung der Tiere werden sämtliche Gewebe in standardisierter Weise entnommen und gelagert, um eventuell nötige Nachbestimmungen unter Minimierung des Tierbedarfs durchführen zu können. Durch die Wahl eines stufenweisen Versuchsplanes wie oben angeführt ist die Gefahr nicht gerechtfertigter doppelter Durchführung von Tierversuchen minimiert. Durch ein sehr präzises Dokumentationssystem der Tierversuche und gewonnen Gewebe und Körperflüssigkeiten (Blut, Harn) zusammen mit einem streng standardisiertem Schema für die Organentnahme und Aufarbeitung konnte der Tierversuchsleiter im Sinne von qualitätsfördernden Maßnahmen die Verwertungsmöglichkeiten der gewonnen Materialien steigern.

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

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

Kalziumionen fungieren als wichtige Botenstoffe und Regulatoren in Zellen. Insbesondere im Nervensystem und in Muskelzellen steuert die transiente Veränderung der zellulären Kalziumkonzentration deren primäre Zellfunktionen, wie die Signalweiterleitung von Zelle zu Zelle bzw. die Kontraktion. Darüber hinaus ist Kalzium an der Regelung des Zellwachstums, der Zelldifferenzierung und dem Zelltod beteiligt. Dementsprechend sind die Mechanismen und Moleküle, welche die strikte Regulation von Kalziumionen in Zellen bewirken, von zentraler Bedeutung für normale Körperfunktionen. Schädigungen dieser Moleküle, zum Beispiel bei genetischen Erkrankungen, bei traumatischen Verletzungen, durch Autoimmunerkrankungen, durch Sauerstoffmangel, oder einfach durch den Alterungsprozess führen sowohl beim Menschen als auch bei Mäusen zu diversen neurologischen Erkrankungen. Die Entschlüsselung jener molekularen Mechanismen, die zelluläre Kalziumsignale steuern, ist somit von großer Wichtigkeit für das Verständnis dieser grundlegenden Funktionen erregbarer Zellen. Weiters ist zu erwarten, dass ein detaillierteres Verständnis der zellulären Kalziumregulation zu einem effektiveren Einsatz bestehender Medikamente führen wird und dazu beiträgt, dass neuartige Behandlungsformen mit geringeren Nebenwirkungen entwickelt werden können.

In dem vorliegenden Projekt möchten wir nun jene molekularen Mechanismen untersuchen, welche einen wesentlichen Schritt in der Entwicklung des peripheren motorischen Systems regulieren. In der Vergangenheit hat unser Team ein bisher unbekanntes Kalziumregulationsprotein entdeckt, welchem durch eigene Forschungsarbeiten, sowie durch Untersuchungen anderer Gruppen, eine wichtige Rolle in der Entwicklung des motorischen Systems zugeschrieben wird. Wenn dem so ist, sollten in Tieren, denen dieses Protein fehlt oder bei denen es krankhaft verändert ist, diese Entwicklungsschritte versagen.

Die Grundlage zum Aufklären dieser Proteinfunktionen bilden im gegenständlichen Projekt mehrere Mausstämmen mit natürlich vorkommenden oder gentechnisch erzeugten Erkrankungen in verschiedenen Kalziumregulationsproteinen. Um entschlüsseln zu können, welches dieser Proteine essentiell für die Entwicklung des neuro-muskulären Systems ist, müssen Embryos dieser Mäuse untersucht werden. Untersuchungen an postnatalen Mäusen sind nicht vorgesehen. Um Embryonen des entsprechenden Genotyps zu erhalten, müssen die verwendeten Mausstämmen rein gezüchtet und teilweise miteinander gekreuzt werden. Dies geschieht durch die Verpaarung von asymptomatischen (gesunden) Krankheitsträgern, bei denen jedes Elternteil sowohl ein normales, als auch ein mutiertes Gen besitzt. Wenn bei den Nachkommen dieser Elternteile nun zwei kranke Gene zusammentreffen (homozygot) wird das jeweilige Protein nicht mehr, bzw. nicht korrekt gebildet und es kommt zum Versagen der entsprechenden Zellfunktion. Entsprechend der Wichtigkeit der untersuchten Kalziumregulationsproteine sind homozygote Mäuse mit einem solchen Gendefekt nicht lebensfähig. Daher müssen für die Untersuchung des motorischen Systems trächtige Muttertiere in unterschiedlichen Stadien der Trächtigkeit eingeschläfert, und deren Embryos zur Gewebeentnahme entnommen werden. Nerven und Muskelgewebe werden danach mittels Mikroskopie, physiologischen und molekularbiologischen Methoden analysiert. Dabei ist es uns zum Beispiel möglich zu untersuchen, wie sich das Fehlen bestimmter Kalzium-Regulationsproteine auf die Entwicklung von Zell-Zell-Verbindungen im neuro-muskulären System auswirkt. Längerfristige Experimente (Elektrostimulation, pharmakologische Behandlung) sollen nicht an lebenden Tieren, sondern im Ersatzexperiment an Gewebekulturen untersucht werden. Dazu werden Nerv-Muskelpräparate aus getöteten Embryonen entnommen und für die Dauer der Experimente in Kultur am Leben erhalten.

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

Über die gesamte Projektlaufzeit von 5 Jahren werden pro Mausrasse maximal zwischen 20 und 100 Mäuse, insgesamt 315, für diese Untersuchungen verwendet.

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

Die Mausmutanten werden als heterozygote Tiere gezüchtet; diese Tiere sind gesund und phänotypisch unauffällig. Homozygote Nachkommen werden bereits im Embryonalstadium getötet, um daraus Zellen für in vitro Experimente zu gewinnen. Somit entsteht den Versuchstieren keinerlei Leid (Schaden). Dem gegenüber steht der Nutzen des erwarteten Wissensgewinns zu grundlegenden Zellfunktionen und deren potentieller Bedeutung in neurologischen Erkrankungen.

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

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

Im Laufe der letzten Jahre wurde eine große Anzahl an neuen, innovativen Chemotherapeutika synthetisiert und in diversen Zellkulturexperimenten bzw. *in vitro* Modellen auf ihre Wirksamkeit untersucht. Ein besonderer Fokus lag hier auf der Entwicklung von Substanzen mit verringertem Nebenwirkungsprofil. Ziel des vorgelegten Tierversuchs ist es, die krebshemmende Wirkung der vielversprechendsten dieser neuen Verbindungen bzw. Substanzkombinationen in humanen und murinen Xenograftmodellen zu untersuchen. Dazu werden therapieresistente und -sensitive Tumorzellmodelle subkutan in SCID Mäusen appliziert und die neuen Verbindungen als Einzelsubstanz (bzw. in Kombination mit bereits zugelassenen Medikamenten) verabreicht. Die gewonnenen Daten sollen dazu dienen, die Aktivität dieser Substanzen gegen (chemotherapieresistente) Krebszellen zu bestimmen und klinische Studien mit der/ den besten Therapieansätzen vorzubereiten.

*zu erwartender Nutzen:* Entwicklung neuer Medikamente und -kombinationen, mit verbesserter Verträglichkeit

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Substanzapplikation, Narkose, subkutanes Tumorwachstum

### 2. Art und Anzahl der Tiere

2022 Mäuse

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

*Vermeidung:* Die im Rahmen der hier beantragten Versuche zu untersuchenden Verbindungen sind ausnahmslos die vielversprechendsten Vertreter ihrer Substanzgruppe ("Lead Compounds"). Sie wurden unter strengen Qualitätskriterien (Reinheit, Stabilität, vielversprechendes Wirkspektrum, etc.) aus einem Panel von mehr als 2000 Kandidaten ausgewählt, und es handelt sich in den meisten Fällen um sogenannte „2nd oder 3rd generation drugs“, also Verbindungen, die im Rahmen eines Optimierungsprozesses anhand neuester wissenschaftlicher Erkenntnisse weiterentwickelt und verbessert wurden. Zusätzlich, um möglichst großen wissenschaftlichen Nutzen aus den durchgeführten Experimenten zu ziehen. Werden bei den vielversprechendsten Versuchen, die Tiere narkotisiert und mittels bildgebender Verfahren untersucht. Dies soll neben dem Gewinn an essentieller Information über die Effekte auf die Tumorbio­logie auch dabei helfen, diese bildgebenden Verfahren weiterzuentwickeln und für den klinischen Einsatz zu optimieren.

*Verminderung:* In den meisten Versuchsansätzen wird die Aktivität der Substanzen zunächst nur in 2 Zellmodellen getestet. Substanzen, die in diesen Experimenten keine interessante krebshemmende Aktivität zeigen, werden danach aus dem Testpanel genommen und die folgenden Versuche werden für diese Substanzen nicht mehr durchgeführt. In manchen Versuchsansätzen ist die Testung einer Vielzahl an Zellmodellen geplant. Allerdings ist bei einem Teil dieser Modelle, die Tumorigenität der Zelllinien *in vivo* noch nicht bekannt. Daher wird diese zuerst an einer kleinen Zahl von Tieren ausgetestet. Nur Zellmodelle, die ein ausreichend stabiles und rasches Wachstum aufweisen, werden dann für die weiteren Tests verwendet. Einige der Testverbindungen sind derzeit noch in chemischer Entwicklung. Sobald diese verfügbar sind, wird überprüft, ob sie über ausreichende Stabilität und Löslichkeit für einen Tierversuch verfügen. Nur Verbindungen, die alle Voraussetzungen erfüllen, werden dann schlussendlich tatsächlich getestet. Durch all diese Faktoren ist zu erwarten, dass sich die Zahl der tatsächlich verwendeten Tiere deutlich verringert (ca. die Hälfte der beantragten Tiere). Durch Standardisierung aller Komponenten in den Haltungsbedingungen wird die Streuung der Ergebnisse möglichst gering gehalten, wodurch die Tierzahl auf ein Mindestmaß beschränkt werden kann.

*Verfeinerung:* Um eine möglichst geringe Belastung für die Versuchstiere zu gewährleisten, wird in Vorversuchen die Verträglichkeit der Testkonzentration zuerst mit einer kleinen Zahl von Mäusen (n=2 pro Gruppe) überprüft (Versuchsansatz 1). Alle weiteren Versuche werden dann nur mit einer

gut verträglichen Dosis durchgeführt. Außerdem beinhaltet das zu testende Substanzpanel mehrere Kandidaten, die mit dem Ziel entwickelt wurden, durch spezielle Tumortargeting-Strategien die Anreicherung der Substanz im malignen Gewebe zu maximieren und dadurch die Wirksamkeit zu erhöhen und die Nebenwirkungen zu senken. Aufgrund dieser Herangehensweise (und dem bereits vorhandenen Wissens über Verträglichkeit und Wirkungsweise der Vorgängerverbindungen) ist für die zu testenden Substanzen in den vorgeschlagenen Konzentrationen eine exzellente Verträglichkeit zu erwarten.

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

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

In der hier geplanten Studie geht es darum zu erfahren wie Säugetiere ihre Energieausgaben optimieren. Wir wollen dabei untersuchen welche Rolle die Fellfarbe spielt. So wechselt der Dsungarische Hamster (*Phodopus sungorus*) von einem braunen Sommerfell zu einem weißen Winterfell. Bisher nahm man an, dass dieser Farbwechsel rein der Tarnungsoptimierung und damit der Vermeidung von Fressfeinden dient. Inzwischen konnte aber vor allem an australischen Kleinsäugetern festgestellt werden, dass die Tiere je nach Fellfarbe Wärmeeinstrahlung (Sonnenlicht) unterschiedlich nutzen, um sich passiv aufzuwärmen. Die Energieersparnis ist dabei beträchtlich und öffnet völlig neue Ansichten zum Nutzen von Fellfarben bei Säugetieren. Dsungarische Hamster sind bekannte Haustiere, leben aber natürlicherweise in den Weiten der russischen Steppen. Die kleinen Hamster sind auch den ganzen, extrem kalten Winter aktiv, zeigen aber täglich kurze Phasen des Energiesparens, indem sie ihre Körpertemperatur stundenweise auf bis zu 15°C absenken (*daily torpor*). Das Aufwärmen nach diesen "Sparphasen" ist kostenaufwändig und zehrt viel der zuvor eingesparten Energie. Wir wollen nun untersuchen, ob die Tiere gezielt Sonnenbäder nehmen um ihre Körpertemperatur zu regulieren (Energiehaushalt zu optimieren) und welche Rolle die Fellfarbe dabei spielt. Drei Hypothesen sollen experimentell überprüft werden:

- Hamster in weißem Winterfell zeigen ein anderes "Sonnenbadverhalten" (unter Wärmestrahlern) als Hamster mit braunem Sommerfell. Zur Kontrolle werden zusätzlich weiße Winterfellhamster mit Haarfärbemittel braun gefärbt. Es wird erwartet, dass sich diese Hamster anders verhalten als weiße Winterhamster.
- Die Stoffwechselraten und Körpertemperaturen von drei Gruppen von Hamstern (weißes Winterfell, braunes Sommerfell und braun gefärbtes Winterfell) unterscheiden sich entsprechend der Fellfarbe und des unterschiedlichen Sonnenbadverhaltens.
- Winterhamster (natürlich weiß im Vergleich zu braun gefärbten) zeigen Unterschiede in der Stoffwechselrate und in der Aufwärmung nach Phasen mit *daily torpor*, wenn eine Wärmequelle (Wärmestrahler) zur Verfügung steht.

*zu erwartender Nutzen:* Zweck des Tierversuchs ist die Grundlagenforschung. Es geht dabei darum unser Wissen über den Energiehaushalt von Säugetieren zu erweitern. Dieses Wissen ist notwendig, um z.B. Auswirkungen von Klimaänderungen auf den Energiehaushalt von Säugetieren besser abschätzen zu können.

*zu erwartender Schaden:* Die Tiere werden einem operativen Eingriff unter Narkose zur Implantation von Temperaturloggern unterzogen (mittlerer Schweregrad). Weiters wird eine Färbung des Fells unter leichter Narkose vorgenommen (bei 10 Tieren, mit Haarfärbemittel für Menschen, geringer Schweregrad). Die Stoffwechselrate wird indirekt mittels Respirometrie (abgegebenes Kohlendioxid im Verhältnis zu aufgenommenen Sauerstoff) gemessen (keine Beeinträchtigung).

### 2. Art und Anzahl der Tiere

30 Individuen der Art (*Phodopus sungorus*), Dsungarischer Hamster

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

*Vermeidung:* Studien zum Verhalten und zu physiologischen Anpassungen können aufgrund ihrer Komplexität nur an lebenden Organismen durchgeführt werden.

*Verminderung:* Durch eine statistische Poweranalyse wurde ermittelt wie viele Tiere für Versuch minimal notwendig sind, um eine statistische signifikante Aussage zu ermöglichen. Durch diese Berechnung wird vermieden unnötig viele Tiere zu belasten, bzw. nicht aussagekräftige Ergebnisse zu erzielen.

*Verfeinerung:* Operative Eingriffe (Implantation von Temperaturloggern) werden von erfahrenen Tierärzten vorgenommen und ermöglichen es den Tieren, trotz kontinuierlicher Aufzeichnung der Körpertemperatur ein natürliches Verhalten zu zeigen.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. Oktober 2015 vorgesehen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Beurteilung, Erkennung, Regulierung oder Veränderung physiologischer Zustände bei Menschen, Tieren oder Pflanzen

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

Für viele Katzenbesitzer und deren Katzen ist ein Tierarztbesuch ein stressreiches Ereignis. Aggressive Widerstände beim Versuch die Katze in die Transportbox zu setzen und stressbedingtes Verhalten der Katze während des Transportes und beim Tierarzt werden von Katzenbesitzern als Gründe angegeben, die sie vom Tierarztbesuch abhalten. Auch für das tierärztliche Personal stellt der Umgang mit einer gestressten/ängstlichen Katze ein erhöhtes Verletzungsrisiko dar. Katzen können in bedrohlichen Situationen mit Aggression reagieren, wenn sie keine anderen Möglichkeiten, wie z.B. Flucht, haben. Obwohl die Gewöhnung der Katzen an die Transportbox und an die Autofahrt, sowie an die tierärztliche Untersuchung zur Gestaltung eines möglichst stressarmen Tierarztbesuches von zahlreichen Experten empfohlen wird, gibt es bis dato noch keine wissenschaftlichen Untersuchungen, welche diese Empfehlungen unterstützen. Hauptziel dieser Untersuchung ist zu testen, ob sich der Stress für Katzen während des Transportes durch ein vorhergehendes Training reduzieren lässt und ob dadurch auch das Handling im Rahmen des Tierarztbesuches erleichtert wird. Zusätzlich soll in dieser Studie die Praktikabilität von Speichelkortisol und Ohrtemperatur als weitere wenig invasive Stressparameter getestet werden. Die Stressevaluierung erfolgt anhand des Cat stress scores (CSS) durch Messung des Speichelkortisols und der Ohrtemperatur. Der CSS basiert auf einem Ethogramm für Katzen und lässt aufgrund der Beurteilung von Körperhaltung, Gesichtsausdruck, Vokalisation und Aktivitätslevel eine Einteilung des Stresses auf einer Skala von 1-7 zu, wobei 1-vollkommen entspannt und 7-terrorisiert ist.

*zu erwartender Nutzen:* Das Training der Katzen stellt eine mentale Stimulation und Anreicherung der Umwelt dar, welche das Wohlergehen der Tiere fördert und den Stress bei zukünftigen Transporten gegebenenfalls mindert. Die Evaluierung der Praktikabilität der Messung von Speichelkortisol und Ohrtemperatur als weitere wenig invasive Methoden der Stressmessung bei Hauskatzen können zur Reduktion von invasiven Messmethoden in weiteren wissenschaftlichen Studien führen. Die Ergebnisse zur Effektivität des Transporttrainings dienen als wissenschaftliche Grundlage für Empfehlungen zum schonenden Transport von Katzen.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Der Belastungsgrad für die teilnehmenden Katzen wird aufgrund der während des Transports zu erwartenden Aktivierung der Stressachse und dem Gefühl von Furcht als mittel eingestuft. Diese Einschätzung beruht auf Erfahrungen aus der tierärztlichen Praxis. Die Belastung geht nicht über ein Ausmaß hinaus, welchem die meisten Katzen im alltäglichen Leben in regelmäßigen Abständen ausgesetzt sind. Daher sind weder Schäden noch Leiden, die über die Lebensbedingungen einer verantwortungsvoll gehaltenen Hauskatze hinausgehen zu erwarten.

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

22 Hauskatzen

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

*Vermeidung:* Da in dieser Untersuchung der Stress von Katzen beim Transport und die Effektivität eines Trainingsprogramms zur Verminderung desselben evaluiert werden soll, gibt es keine Alternative zum Einsatz derselben.

*Verminderung:* Die Stichprobengröße wurde anhand von statistischen Berechnungen mit wahrscheinlichen Daten des CSS bestimmt. Der CSS wurde als Hauptparameter der Studie gewählt da die Interpretation von Speichelkortisolwerten nur mit Verhaltensdaten zuverlässig ist und bei Katzen kaum Daten vorliegen, die zur Berechnung der Stichprobengröße verwendet hätten werden können. Um die Stichprobe möglichst klein zu halten wurde die Testanordnung so gewählt, dass jede Katze als ihre Eigenkontrolle dient.

*Verfeinerung:* Die Katzen werden während der gesamten Studiendauer in ihrer gewohnten Umgebung untergebracht sein und der Umgang mit ihnen während des Trainings und des Versuches wird möglichst schonend und stressarm gestaltet. Für das Training kommen ausschließlich gewaltfreie, auf positiver Bekräftigung beruhende Methoden zum Einsatz. Positive Bekräftigung ist eine Trainingsmethode welche auf dem Einsatz von Belohnung des erwünschten Verhaltens beruht. Diese Methode wurde bereits bei einer Vielzahl von Tierarten zur Erleichterung von tierärztlichen Eingriffen sowie Pflegemaßnahmen eingesetzt. Sollte ein Tier durch sein Verhalten seine Gesundheit gefährden oder gesundheitliche Probleme entwickeln, wird es aus der Studie ausgeschlossen.

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

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

Diese Studie ist in drei Teilprojekte unterteilt: Im ersten Projekt werden transgene APPxhQC Mäuse im Alter von 8 Monaten für 16 Wochen wöchentlich mit einem Antikörper intraperitoneal behandelt. Im Anschluss werden die Tiere euthanasiert und Gehirne entnommen und biochemisch und histologisch auf krankheitsspezifische Pathologien untersucht. Im zweiten Projekt werden transgene APPxhQC Mäuse im Alter von 3 Monaten für 6 Monate über das Futter mit einer von zwei Testsubstanzen behandelt. Im Anschluss werden die Gewebe wiederum auf krankheitsspezifische Pathologien untersucht. Im dritten Projekt werden transgene APPxhQC Mäuse im Alter von 8 Monaten für 16 Wochen wöchentlich mit dem in Projekt 1 verwendeten Antikörper und während des ganzen Zeitraums mit einer der beiden Testsubstanzen aus Projekt 2 über das Futter behandelt. Ziel dieser drei Studien ist die erfolgreiche Testung des neuen Antikörpers und der Testsubstanzen gegen die Alzheimer'sche Krankheit, so dass die weitere Testung dieser Substanzen initiiert werden kann.

Neben Herzkreislauf Erkrankungen und Krebs zählen vor allem neurodegenerative Erkrankungen wie die Alzheimer'sche Erkrankung zu den schwerwiegendsten und vor allem kostenintensivsten Krankheiten des 20. und 21. Jahrhunderts. Je älter Menschen werden, umso häufiger erkranken sie an der Alzheimer'schen Erkrankung - einer fortschreitenden, degenerativen und unheilbaren Gehirnstörung. Betroffen sind etwa 3 % der Bevölkerung von 65-74 Jahren, 20 % der von 75-84 Jahren und 50 % der über 85-jährigen. Ungefähr 15 Prozent der österreichischen Bevölkerung sind 65 Jahre und älter. Heutigen Schätzungen zufolge leiden in Österreich ca. 100 000 bis 200 000 Menschen an einer Form von Demenz, wobei die am häufigsten vorkommenden Formen die Multi-Infarkt-Demenz und - mit einem 50 Prozent Anteil - die Alzheimer Krankheit sind. Glutaminylcyclase (QC) ist ein Enzym, das die Bildung von Pyroglutamat Peptiden oder Proteinen (pGlu) vom N-terminalen Glutaminrest aus katalysiert. Da pGlu zur Stabilisierung von Peptiden sowie Schutz vor deren Spaltung bietet, spielt diese Reaktion eine wichtige Rolle in verschiedenen Krankheiten.

In der Alzheimer'schen Krankheit (AD) führt die pGlu-Bildung von Amyloid beta (A $\beta$ ) Peptiden zu spezifischen Peptiden mit erhöhter Neurotoxizität, einer verlängerten Halbwertszeit sowie einer erhöhten Tendenz zur Aggregation. Außerdem sind pyroglutamierte Peptide für mehr als 50 % aller A $\beta$  Ablagerungen in den typischen Plaques verantwortlich, die im Gehirn eines Alzheimer Patienten beobachtet werden können. In pharmakologischen in vivo Studien konnte bereits gezeigt werden, dass eine Inhibierung von QC zu einer Verminderung von pGlu A $\beta$  und einer Verbesserung von kognitiven Fähigkeiten führt.

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

Für diese Studie werden insgesamt 320 transgene APPxhQC Mäuse und 20 nicht transgene Geschwistertiere beantragt.

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

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

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

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

Instabile Herzpatienten sowie Patienten, die sich einer Herzoperation unterziehen, benötigen oftmals eine vorübergehende mechanische Herzunterstützung (Herzpumpe). Das neue Prinzip der mechanischen Herzunterstützung "Left Ventricular Flow Accelerator" (LVFA) orientiert sich an dem primären Defekt des kranken Herzens, nämlich der Herzschwäche, welche das Blut nur ungenügend beschleunigt und deshalb der Kreislauf nicht adäquat funktioniert. Das Ziel der implantierbaren Pumpe LVFA ist es, das Blut in der Herzkammer periodisch während der normalen Auswurfphase im Ausflusstrakt zu beschleunigen und so das Pumpvolumen des kranken Herzens zu normalisieren. In Akutversuchen soll nun an Schafen die prognostizierte Wirkung getestet werden. Bei 3 Tieren wird die Implantationstechnik geprüft und erste Messungen durchgeführt. Bei 12 Tieren werden laut Protokoll Messungen bei normalen Kreislauf und nach medikamentöse Schädigung der Herzmuskelkraft durchgeführt, wobei Einschalt und Ausschaltzyklen abwechseln um die Wirkung der Unterstützung zu dokumentieren. Folgende Parameter werden getestet:

- Pumpenrelevante Faktoren: Hitzeentwicklung, Drehzahl des Impellers
- Kreislaurelevante Faktoren: ausgeworfenes Volumen, Blutdruckverhalten, EKG
- Blutschädigung, Thrombenbildung

*zu erwartender Nutzen:* Durch das vollkommen neue Behandlungskonzept liegen keine Erfahrungen über die pathophysiologische Konsequenz dieses Unterstützungssystems auf. Durch die hier erzielten Messergebnisse wird es erst möglich sein, die prognostizierten Auswirkungen zu verifizieren und die klinische Relevanz zu testen. Die möglichen in-vitro Untersuchungen wurden durchgeführt. Die Testung am intakten, narkotisierten Tier ist zur pathophysiologischen Abklärung notwendig, da das Unterstützungssystem ins schlagende Herz integriert wird und synchron zur Herzaktion gesteuert werden muss ("proof of concept").

*zu erwartender Schaden:* Die Tiere werden in Vollnarkose gelegt und nach Abschluss der Messungen noch in Narkose eingeschläfert.

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

15 ausgewachsene Schafe

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

*Vermeidung:* Die technischen Pumpfunktionen wurden ausgiebig mit Hilfe künstlicher Kreislaufmodelle getestet, die biologischen Auswirkungen können nur an einem Gesamtorganismus überprüft werden, dessen Blutkreislauf ähnlich dem des Menschen ist.

*Verminderung:* Die Zahl der in dieser Pilotserie zu verwendenden Tiere wurde soweit minimiert, dass eine prinzipielle Aussage über die neue Form der mechanischen Kreislaufunterstützung möglich erscheint.

*Verfeinerung:* Die Tiere werden veterinärmedizinisch untersucht und von erfahrenen Tierpflegern unter standardisierten Bedingungen an die Laborbedingungen gewöhnt, so dass jeder unnötige Stress vermieden wird. Die Untersuchungen werden von erfahrenen Herzchirurgen und Technikern nach einem standardisierten Protokoll durchgeführt, um so eine wissenschaftliche Auswertung zu ermöglichen.

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

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

Das menschliche Immunsystem hat die wichtige Aufgabe, den Körper vor Krankheitserregern und Fremdstoffen zu schützen. Die Immunantwort muss aber sorgfältig reguliert werden, da Fehlreaktionen des Immunsystems die Ursachen vieler Erkrankungen, wie z.B. chronisch-entzündliche Erkrankungen oder Autoimmunerkrankungen, sein können.

Das primäre Interesse unserer Forschungsgruppe gilt der Erforschung der Rolle von metabolischen Mechanismen in der Immunzellfunktion. Im Rahmen unserer Studien benutzen wir mehrere transgene (knockout) Mäuse um die Bedeutung zentraler Regulatoren von Stoffwechselfunktionen auf das Funktionieren von Immunzellen zu untersuchen.

*zu erwartender Nutzen:* Ziel dieser Untersuchungen ist es zum einen die Wechselwirkungen zwischen Stoffwechsel und Immunsystem besser zu verstehen und zum anderen Interventionsmöglichkeiten durch die Kenntnis dieser Wechselwirkungen zu eröffnen.

Mit den gewonnenen Erkenntnissen hoffen wir die Zusammenhänge zwischen Stoffwechsel und Immunsystem besser zu verstehen, genauer, welchen Einfluss „Hunger“ auf das Immunsystem hat.  
*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Die Mäuse werden in einer Reihe immunologisch relevanter Fragestellungen untersucht, zu denen auch Infektionen mit potentiell tödlichem Ausgang gehören. Um den Tieren hierbei jedoch unnötiges Leiden zu ersparen werden sie engmaschig überwacht und bei genau definierten Abbruchkriterien aus dem Versuch genommen. Weiters wird an den Tieren ein steriles Entzündungsmodell durchgeführt, wobei bakterielle Bestandteile verabreicht werden, die Tiere entwickeln Krankheitssymptome ähnlich einer Grippe. Außerdem werden Impfstudien an den Tieren durchgeführt sowie durch fettige Nahrung eine Fettsucht herbeigeführt. Um die Gene der Mäuse zu untersuchen, wird allen eine kleine Gewebeprobe am Schwanz entnommen woraus DNA isoliert wird, dies stellt für die Tiere jedoch kaum eine Belastung dar.

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

In diesem Projekt werden, bei voller Charakterisierung aller Genotypen, 1586 Mäuse unterschiedlichen Genotyps für Experimente verwendet.

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

Es sind bereits alle Stimulationsversuche an isolierten humanen Immunzellen in vitro durchgeführt, sodass eine Tierbelastung hintangestellt werden konnte.

*Verminderung:* Jedes Experiment wird unter standardisierten und international anerkannten Versuchsbedingungen durchgeführt, und die experimentellen Schwankungen zu reduzieren. Damit wird sichergestellt, dass, bei gleichzeitiger Einhaltung der notwendigen wissenschaftlichen Sorgfalt, die Tierzahl so niedrig wie möglich gehalten werden kann.

*Verfeinerung:* Alle Tiere werden unter standardisierten Bedingungen (geregelter Lichtzyklus, Luftfeuchtigkeit, Temperatur) in einem sogenannten „enriched environment“ (Papierrollen im Käfig um den Mäusen einen Unterschlupf zu ermöglichen, etc.) gehalten. Die Tiere werden während der Haltung und während eines Versuches regelmäßig beobachtet und für jeden experimentellen Ansatz werden auch klare Abbruchkriterien definiert, um unnötige Schmerzen und ein Leiden der Tiere zu vermeiden.

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

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

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

Der Zweck der Studie ist es die Limitierungen bereits etablierter Methoden, zur Bestimmung der Pharmakokinetik (Aufnahme und Verteilung von Wirkstoffen im Körper) und Pharmakodynamik (Wirkung des Wirkstoffs auf den Körper für das Sampling von proteingebundenen, lipophilen und großmolekularen Substanzen aufzuzeigen und in einem direkten Vergleich die Vorteile einer alternativen neuen Methode darzulegen. Dies soll zum einen die Unterschiede zwischen den Methoden klar hervorbringen aber zum anderen auch Synergien der Technologien aufzeigen.

*zu erwartender Nutzen:* Durch den Vergleich und dem Erkennen von Synergien, zwischen etablierten Technologien und der alternativen Methode, soll die Qualität pharmakologischer Studien verbessert und die Anzahl der benötigten Versuchstiere verringert werden.

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

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

360 Ratten und 410 Mäuse

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

*Vermeidung:* Das Versuchsziel kann nur im Tierversuch erreicht werden weil die zu untersuchenden Parameter (PK ins Gehirn und PD im Gehirn) nur in vivo getestet werden können, weil:

- In vitro Versuche die Situation im lebenden Gewebe nicht nachstellen können, da die unterschiedlichen Gewebetypen jeweils ihre eigene Charakteristik, in pharmakologischer Sicht, aufweisen (z. B. Transportcharakteristik der Kapillaren, Verteilungscharakteristik im Interstitium, Metabolismus und Zellinteraktion mit Substanzen).
- Ex vivo Studien keine ausreichende Immunantwort und keine Durchblutung aufweisen, sodass die Aussagekraft der Ergebnisse nicht gewährleistet ist.

*Verminderung:* Die Versuche erfolgen mit kleinstmöglichen Gruppengrößen. Dabei wurde sorgfältig abgewogen, zwischen einer möglichst kleinen gesamten Versuchstieranzahl und der statistischen Signifikanz, die eine eindeutige Aussage zulässt. Durch die im jeweiligen Versuch gewonnen Daten, können die notwendigen Versuchstiere für zukünftige Versuch möglichst gering gehalten werden.

*Verfeinerung:* Das Handling der Tiere wird ausschließlich von geschultem Personal durchgeführt, um den Stress dem die Tiere ausgesetzt sind gering zu halten. Die Tiere werden während des gesamten Versuchszeitraums engmaschig überwacht und routinemäßig von Tierärzten auf ihren Gesundheitszustand kontrolliert. Die Tiere haben nachdem sie geliefert werden eine Eingewöhnungszeit von einer Woche bevor mit dem Versuch begonnen wird. Als Enrichment wird Nestbaumaterial angeboten.

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*

*zu erwartender Nutzen:* Die in dem vorliegenden Antrag auf Genehmigung von Tierversuchen aufgeführten tierexperimentellen Methoden dienen der postgradualen Ausbildung zum Erwerb von Spezialkenntnissen in den Bereichen Embryotransfer und Transgenerstellung sowie Kryokonservierung von Mäuseembryonen und -spermien. Die Lehrinhalte umfassen die theoretische Ausbildung und das praktische Arbeiten mit Labormäusen, bei welchen, angefangen vom fachgerechten Handling der Tiere bis zu allen für die jeweilige Spezialaufgabe notwendigen Operationstechniken (Vasektomie und Embryotransfer), eine vertiefende Ausbildung dieser speziellen tierexperimentellen Techniken gewährleistet werden soll. Die Notwendigkeit einer entsprechenden fachlich vertieften Ausbildung ergibt sich nicht nur aus nationalen und internationalen Gesetzen zum Schutz von Versuchstieren (CoE Convention 123, Art. 26; Tierversuchsrichtlinie 86/609/EEC, Art. 7; Tierversuchsgesetz, §6 (1b)), auch durch Umsetzung der neuen EU-Tierversuchsrichtlinie 2010/63/EU wird ein einheitliches Ausbildungsniveau, sowie Sachkenntnis und kontinuierliche Weiterbildung von Personen, die mit Versuchstieren arbeiten, gesetzlich gefordert. Allen an Tierversuchen beteiligten Personen obliegt die Pflicht, für Wohlergehen und kleinstmögliches Leiden der Labortiere zu sorgen. Maßgebliche Voraussetzung dafür ist ihre fachliche Kompetenz. Dabei dient die fachgerechte Durchführung routinemäßiger tierexperimenteller Techniken nicht nur dem Schutz der Tiere und der Erzielung valider Resultate, sondern auch dem Schutz des ausführenden Personals vor Verletzungen.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Die Embryonenspender erhalten zur Superovulation 2 intraperitoneale Injektionen. Für die operativen Eingriffe wie Vasektomie und Embryotransfer werden die Tiere in Narkose gelegt. Diese wird intraperitoneal verabreicht, die Schmerzbehandlung erfolgt mittels subkutaner Injektion. Anleitung zur Durchführung der Techniken und Methoden werden nur unter Aufsicht erfahrener Personen durchgeführt, sodass diese die getätigten Maßnahmen zum Wohl der Tiere sofort unterbrechen oder abbrechen können. Aufgrund der Manipulationen durch weniger geübte Personen, kann es zu erhöhter Belastung der Tiere kommen. Als maximal zu erwartende Schweregrad wird "mittelgradig" angegeben.

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

Es werden 310 in einem registrierten Zuchtbetrieb der EU geborene Mäuse pro Jahr über einen Zeitraum von fünf Jahren eingesetzt, was einer Gesamtzahl von 1550 entspricht.

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

*Vermeidung:* Eine Vermeidung von Tierversuchen ist bei der Ausbildung bezgl. tierexperimenteller Techniken nicht möglich.

*Verminderung:* Die Betreuung der Tiere erfolgt durch erfahrenes Personal. Die praktische Arbeit ist so konzipiert, dass die Anzahl der benötigten Tiere pro auszubildende Person auf das Minimum beschränkt ist ohne die Belastung für das Einzeltier zu erhöhen. Der Erwerb der im Antrag angeführten Spezialkenntnisse soll längerfristig zur Reduzierung von Tierzahlen beitragen. Somit kann etwa eine Erhaltungszucht von Stämmen und eine damit verbundene hohe Tierzahl durch Kryokonservierung und Revitalisierung mittels Embryotransfer vermieden werden. Die Kryokonservierung von Embryonen und/oder Spermatozoen und deren Lagerung in flüssigem Stickstoff ermöglicht auch einen unproblematischen Austausch von tierischem Material und vermindert so aufwendige und für die Tiere stressige Transporte.

*Verfeinerung:* Eine Narkose mit analgetischer Komponente, sowie eine adäquate Schmerzbehandlung während und nach dem Eingriff sollen zur Linderung von Schmerzen, Leiden und Ängsten beitragen. Eventuell auftretende Belastungen sollen durch eine engmaschige Kontrolle der Tier durch geschulte Mitarbeiter rechtzeitig erkannt und behandelt werden. Zum Erlernen und Üben von Nahttechniken werden Dummies eingesetzt. Die Fähigkeiten der Teilnehmer werden durch Fachpersonal überprüft, bevor am lebenden Tier gearbeitet werden darf.

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 tierexperimentellen Kurses: 24 hocherfahrene, interventionell tätige Endoskopiker in einer neuartigen endoskopischen Operationstechnik, der endoskopischen Submukosadisektion (ESD), experimentell auszubilden (d.h. Durchführung von je 5 ESDs und Komplikationsmanagement am lebenden Schwein [im Magen, Kolon, evtl. Ösophagus]), um sie auf die selbständige Durchführung von ESD-Eingriffen am Patienten vorzubereiten, also für ESD von mukosalen Frühkarzinomen oder Vorläuferläsionen (im Magen, Dickdarm, Ösophagus).

*Nutzen:* a) Allgemein: Nur die ESD ist ein tumorchirurgisch einwandfreies Verfahren zur Abtragung von Frühkarzinomen und praekarzinomatösen Neoplasien (z.B. lateral spreitende Tumore des Dickdarms = LSTs). Der größte Fortschritt der letzten Jahrzehnte in der Onkologie der Karzinome des Gastrointestinaltraktes ist die Frühdiagnose und die endoskopische Operation von Frühkarzinomen (Nutzen: Heilungsrate »95%. OP-Mortalität 0 -<1 %. minimal invasive OP mit erhaltener Organfunktion). Er muss umgehend in der westlichen Welt auf japanischem Qualitätsniveau etabliert werden. Diese neuartige OP-Technik ist auch für hocherfahrene interventionelle Endoskopiker sehr schwierig zu erlernen. Sobald die ESD in Mitteleuropa (in einigen Jahren) etabliert sein wird, wird die ESD ohne Tierversuche unter direkter Anleitung (Tutoring) am Patienten erlernt werden (wie in Japan).

b) Ausbildung: Vorerst besteht noch dringender tierexperimenteller Ausbildungsbedarf für hocherfahrene interventionelle Endoskopiker aus Schwerpunktzentren. Durch das tierexperimentelle Training im ESD Expert Workshop unter direkter Anleitung von international anerkannten Experten wird die Risikoeinschätzung und die korrekte und schonendste ESD-Technik vermittelt. Dadurch werden die Risiken für die Patienten bei Anwendung der ESD minimiert.

*Begründung:* Sechs ESD Expert Training Workshops mit hocherfahrenen interventionellen Endoskopikern als Teilnehmern zeigten, dass diese trotz ihrer Grundkenntnisse in den neuen Messerpräparationstechniken durchaus Bedarf für ein intensives hands-on training in vivo haben. Die ESDs wurden zwar von den dreiköpfigen Teilnehmerteams (20 min Präparationszeit je Teilnehmer am selben Tier) relativ schnell durchgeführt (durchschnittliche Dauer von 57, 68, 67, 88, 92 bzw. 79 min). Die hohe Komplikationsrate (33% Perforationen bezogen auf 74 Eingriffe bzw. 30% Perforationen bezogen auf 88 Eingriffe) reduzierte sich 2011, 2012 auf 9% bzw. 10,6%, 2013 bzw. 2014 auf 0% bzw. 2,4%. Die sichere Dissektionstechnik entsprach 2014 einer Geschwindigkeit von 3,6 cm<sup>2</sup>/Std (3,1, 4,1 bzw. 4,0 cm<sup>2</sup>/Std in 2013 / 2012 / 2011). Am Jungschwein-Kolon wurden 34 ESOs (41% Perforationen) im Workshop 2011, und 12 ESD mit 33% Perforationen im WS 2012 und 28 ESDs mit null Perforationen im WS 2013 durchgeführt. Dies zeigt die Präzision der Anleitung und Kontrolle durch die Tutoren (besserer Lehrerfolg). Denn am "hauchdünnen" Jungschwein-Kolon hatten früher auch japanische Experten bis zu 25% Perforationsrate. Das Jungschwein-Kolon verlangt noch akribischere ESD-Technik als das Kolon von Patienten.

*Schaden:* Schaden am Patienten entsteht (nach tierexperimenteller Ausbildung der Endoskopiker), wenn a) Frühkarzinome mittels ESD schadhaf (Fehlbeurteilung durch den Pathologen) oder inkomplett (Tumorrezidiv) reseziert werden, oder b) eine Verletzung des Organs mit Folgen (Blutung, Perforation und Peritonitis) auftritt.

a) Onkologische Risiken (Tumorstaging und Fehlbeurteilung, inkomplette Resektion) werden im Rahmen des Vorbereitungs-Seminars und des Theorie-Tages ausführlich demonstriert einschließlich der Strategien zur Risikominimierung.

b) Organverletzungen (Blutung, selbst kleine Perforationen) werden von technisch hierfür versierten Endoskopikern ohne Schaden für den Patienten beherrscht. Es war allerdings ein wichtiger Kritikpunkt der Teilnehmer der 5 ESD-Workshops 2009-2013, dass das Training des endoskopischen Komplikations-Managements nicht ausreichend gewesen sei. Inzwischen wurden auch hierzu eine Reihe von verfeinerten Techniken zur Stillung von (arteriellen) Blutungen oder Verschluss von Organperforationen (am Magen, Darm) publiziert. Dieses Defizit wird nun behoben durch Einführung je einer 4. Station pro Sitzung zum Training der endoskopischen Versorgung von Komplikationen.

Begründung: Kleine ESD-Perforationen werden bei sachgerechtem endoskopischem Verschluss (Clipping) konservativ ohne Operation behandelt. Laut strukturierter Befragung haben die 18 Teilnehmer des ESD-Workshops 2009 in den nach-folgenden 12 Monaten 144 ESD, z.T. auch in schwierigeren Organen/Lokalisationen, an Patienten durchgeführt. Sechs der Teilnehmer hatten 10-20 ESDs durchgeführt und waren zu schwierigeren ESD-Lokalisationen übergegangen. Insgesamt kam es zu Perforation bei 9,7% der 144 ESD. Die Perforationen wurden endoskopisch erfolgreich geclipped (6,2%) oder operiert (3,5%), es gab keine letalen Komplikationen und keine persistierende Morbidität. Die Komplikationsrate in der frühen klinischen Lernkurve lag aber damit im oberen Bereich der Studien der japanischen Literatur. Allerdings hatte eine französische Sammelstatistik (188 ESDs an 16 Zentren) über die ESD-Lernkurve ohne experimentelles ESD-Training sogar wesentlich höhere Perforationsraten gezeigt (insgesamt 18%, besonders in schwierigeren Lokalisationen: 50% im Caecum, 66% im rechten Colon und im Sigma, 100% im Duodenum) und 11,2% Blutungen. Durch dieses Training im ESD Expert Workshop wird die Risikoeinschätzung unter direkter Anleitung von international anerkannten Experten vermittelt und das ESD-Risiko für die Anwendung am Patienten bereits minimiert. Aber gezieltes Training des Komplikationsmanagements und damit sichere Beherrschung von Komplikationen in der Lernkurve machen die ESD noch sicherer für die Patienten.

## *2. Art und Anzahl der Tiere*

Art: Zuchtschwein (*Sus scrofa*) aus Nutztierhaltung. Speziell Jungschweine (20-25 kg) sind für Standardendoskope (aus Humanmedizin) anatomisch am besten geeignet. Tierversuchsumfang: 4 -5 ESDs pro Teilnehmer, nur 3 Teilnehmer pro Schwein, da sonst die hands-on Trainingszeit zu kurz bemessen ist. Insgesamt vier Trainingssitzungen je 4,5 Std) mit je 8 Trainingsstationen an zwei Tagen. Anzahl der Tiere: 4 x 8 Tiere =32 Tiere. Reduktion der Anzahl verwendeter Tiere: Falls einzelne Versuchstiere nach der Morgensitzung so stabil sind, dass sie für die ganze Nachmittagssitzung verwendet werden können, reduziert sich die verwendete Anzahl an Tieren dementsprechend (z.B. um 4 Tiere, die dann in der Nutztierhaltung verbleiben).

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

*Vermeidung* von Verlusten verwendeter Tiere: Mortalität während des Tierversuchs: Die jungen Tiere sind respiratorisch sehr vulnerabel, ein Halbseitenpneumothorax führt (im Gegensatz zum Menschen) unverzüglich zum Tod durch Asphyxie. Die Tutoren bevorzugen dennoch dieses experimentelle Modell gegenüber maschinell beatmeten Tieren, da die intravenöse Narkose mit Spontanatmung eine hohe Analogie zum klinischen ESD-Eingriff zeigt und die Risikokonstellation an das Risikobewusstsein der Teilnehmer appelliert. Die OP-Mortalität war im Workshop 2009 sehr hoch gewesen (33% der Tiere bzw. 10,8% der Eingriffe (Perforation-4 Asphyxie durch Hemipneumothorax). Zur Vermeidung der OP-Mortalität im Tierversuch wurde ESD im Ösophagus äußerst vorsichtig (z.B. nur mit Haken=hook-Messer) und erst am Ende der Sitzungen durchgeführt. In den folgenden Workshops gab es 2010 keine, 2011 nur 2, 2012, 2013 und 2014 keine letale Komplikation (Mortalität 0%, 8%, 0%, 0%). Reduktion der Anzahl verwendeter Tiere, falls einzelne Tiere kardiorespiratorisch in langer Narkose so stabil sind, dass sie für beide Sitzungen eines Tages (Vollnarkose über 11 Std. Dauer) verwendet werden können. Wahrscheinlich Reduktion um 4 Tiere (von beantragt 32 auf verwendet 28 Tiere) möglich (wie 2014).

*Verminderung* der experimentellen Belastung der Tiere: Vorbereitungsphase (48 Std): Die Tiere werden getrennt aufgestellt und erhalten am Vortag nur Breikost und Trinkwasser ad libitum (erste 24 Std). Am zweiten Tag erhalten sie zur Magen-| Darm-Entleerung inertes Abführmittel (Movicol-Darmspüllösung, wird gerne getrunken) stundenweise im Trinkwasser (ad libitum) und über die letzten 12 Std nur "Wasserfasten" (intermittierend mit Wasser bzw. Zusatz von Darmspüllösung). Transport (6 km) zur Verwendung: Die Tiere werden im Lieferbetrieb über eine intravenöse Kanüle am Ohr tierärztlich sediert (mit Azaperon und Ketamin) und in Wärmeschutzdecken unter tierärztlicher Begleitung im Tiertransportwagen transportiert. Tierversuch (5 bis 11 Stunden): Durchführung der endoskopischen OPs unter tierärztlicher Vollnarkose, schonender Lagerung (Wärmedecken), Monitoring (Puls, Atmung, Temp., Reflexe), Verwendung hochwertiger

humanmedizinischer Therapieinstrumentarien, Vermeidung und Linderung jeglichen Leidens (schmerz-/angstlose Endpunkte) und finaler Euthanasierung durch die Tierärzte.

*Verfeinerung* der Lerninhalte: In den 6 Workshops (2009-2014) wurden Experten aus Mittel- und Westeuropa mit großer regionaler Streuung ausgebildet, mit dem Ziel ESD-Zentren flächendeckend zu etablieren. Lerninhalte: Die Teilnehmer lernen und erwerben praktische Erfahrung mit

- a) den vier wichtigsten Messertechniken (Dual, Hook, Flush, Hybrid knife),
- b) Problem-/Risikoeinschätzung und technische Selbsteinschätzung,
- c) Standard Operating Procedures für ESDs am Magen, Oesophagus, Rektum/Colon,
- d) akribischer, schwieriger ESD-Technik am (sehr zarten!) Kolon (technische Perfektion),
- e) neuen Techniken zur Beherrschung von Komplikationen (Blutungen, Perforation etc.), insbesondere werden an je zwei Parallelstationen bewusst Komplikationen gesetzt („intentional complications“), um die Technik der endoskopischen Korrektur (Hämostase, Wandverschlussstechniken nach Perforation) zu demonstrieren und trainieren. Der Workshop vermittelt in experimentellem Training unter direkter Anleitung von anerkannten Experten die diagnostischen Kenntnisse und technischen Fertigkeiten für die Durchführung von ESDs -zur Verminderung des Behandlungsrisikos der Patienten.

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

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

Etwa fünfzig Prozent aller Patienten mit einer Herzmuskelschwäche (Herzinsuffizienz) sterben an Herzrhythmusstörungen (Arrhythmien), die häufig durch Stress ausgelöst werden. Auch nach einem vorangegangenen Herzinfarkt steigt die Wahrscheinlichkeit für einen plötzlichen Herztod durch Arrhythmien um eine vielfaches an. Aus der Literatur ist es bekannt, dass Arrhythmien mit einer gestörten intrazellulären Ionen-Homöostase und Fehlregulation des Ryanodin-Rezeptors (RyR, intrazellulärer Kalzium Freisetzungskanal) verbunden sind. Die derzeitigen pharmakologischen Behandlungsmethoden sind unzureichend und mit einem hohen Potenzial an Nebenwirkungen versehen. In dieser Studie wird eine neue Substanz, die in Zellkulturmodellen vielversprechende Ergebnisse lieferte, an Mäusen mit einer humanen Knock-In RyR Mutation (sog. gain-of-function) auf ihre antiarrhythmogene Wirkung untersucht.

*zu erwartender Schaden:* Im Rahmen des Projektes werden invasive Eingriffe in Narkose durchgeführt, die für die Tiere belastend sind, wobei Schmerzfreiheit zuverlässig hergestellt werden kann. Zudem können Arrhythmien ausgelöst werden, die ähnlich wie bei Menschen zu Missempfindungen führen aber nur von kurzer Dauer sein werden.

*zu erwartender Nutzen:* Diese transgene Mäuse stellen eine einzigartige Gelegenheit dar um die Effekte dieser Substanz auf Stress-induzierte Arrhythmien zu testen, die in der gleichen Form auch bei Menschen vorkommen. Eine Therapie mit dieser Substanz hätte gegenüber allen gängigen Antiarrhythmika den Vorteil, dass diese intrazellulär eingreift und daher im Gegensatz zu derzeitigen Antiarrhythmika, die Transporter in der Zellmembran modulieren, das Aktionspotenzial der Zelle nicht oder nur gering beeinflusst und damit wesentlich weniger pro-arrhythmische Nebenwirkungen zeigt. Wir erwarten durch die Gabe von dieser Substanz Herzrhythmusstörungen in diesen Mäusen zu verringern. Dies ist wissenschaftlich von großer Bedeutung und wäre ein Meilenstein in der Entwicklung einer neuartigen Therapiemethode für menschliche Herzrhythmusstörungen.

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

Im Projekt werden insgesamt max. 480 Mäuse für Tierversuche verwendet.

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

*Vermeidung:* Der positive Effekt der Substanz auf die Neigung zur Herzrhythmusstörungen wurde zunächst an einem Zellkulturmodell und anschließend an frisch isolierten Herzmuskelzellen untersucht. Erst nachdem beide Versuche positiv bewertet werden konnten, besteht die Möglichkeit die Substanz im Versuchstier auf stress-induzierte Herzrhythmusstörungen und Physiologie anderer Organe zu testen. Der Ansatz einer *in-vivo* Untersuchung ist der einzig mögliche Zugang, mit dem der anti-arrhythmogene Effekt in Säugetieren erfasst werden kann.

*Verminderung:* Abgeleitet aus *in vitro* Daten und unseren bisherigen Erfahrungen wird versucht die Anzahl der Mäuse minimal zu halten um eine statistisch signifikante Aussage zu treffen. Um die Tierzahl weiterhin zu verringern, werden die gewonnen Daten aus einem Versuch umgehend analysiert und statistisch geprüft. Sollte ein signifikantes Ergebnis bereits vor der geplanten Anzahl an Tieren erreicht werden, werden die Versuche eingestellt. Gleichzeitig werden in allen Versuchen mehrere Parameter bestimmt, um zusätzliche Versuche zu vermeiden und das vorhandene biologische Material für analytische Zwecke optimal zu nutzen. Dies wird durch die genaue Planung des Versuchsablaufs und das optimale Ausnutzen aller Ressourcen erreicht. Die Zucht der Tiere wird so klein wie möglich gehalten, dass so wenige Tiere wie möglich geboren werden, die nicht in Versuche fließen.

*Verfeinerung:* Die Tiere werden von ausgebildeten Tierpflegern versorgt und in regelmäßigen Abständen tierärztlich überprüft um das Wohlbefinden der Tiere zu gewährleisten. Gruppenhaltung und Zugabe von Enrichment-Material in die Käfige (Maushäuser, Tunnels) soll positiv auf die Zucht wirken.

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

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

Mit dem vorgestellten Projekt sollen Regulationsmechanismen in einem Modell der sogenannten Glomerulonephritis genauer untersucht werden. In einem von uns seit langem verwendeten Mausmodell, welches der menschlichen Erkrankung sehr ähnlich ist, wird die Rolle des Hormonrezeptors E Prostaglandin Rezeptor 4 studiert. Prostaglandin E2 (PGE2) wird in unserem Körper vor allem bei Entzündungsprozessen produziert und hat viele Effekte auf unser Immunsystem. PGE2 wirkt über vier verschiedene Rezeptoren (EP1-4). Der EP4 Rezeptor kommt auf verschiedenen Immunzellen und in der Niere vor. Die Rolle des EP4 Rezeptors, sowie dessen Immunsystem steuernde Rolle in Erkrankungen wie der Glomerulonephritis, ist nach wie vor nicht ausreichend geklärt und soll nun näher untersucht werden. Die Mäuse werden nach erfolgter Immunisierung, mit einem vom Kaninchen gewonnenen Antiserum injiziert, was zur Ausbildung der Glomerulonephritis führt. Daraufhin werden die Mäuse nach 1,2 und 4 Wochen getötet und die Ausprägung der Glomerulonephritis, die Verteilung diverser Immunzellen in Nieren, Milz und Lymphknoten und somit Ursache etwaiger Unterschiede analysiert.

*zu erwartender Nutzen:* So kann herausgefunden werden, welche Bedeutung die genannten Moleküle in dieser Erkrankung spielen, um so die Grundlage für eventuelle neue Therapien zu schaffen. Darüber hinaus, erwarten wir uns ein genaueres Verständnis der Rolle dieses Rezeptors in der Niere und in der Glomerulonephritis.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Durch die vorangegangene Immunisierung werden die Mäuse während des Versuchs einen geschwollenen Fuß haben. Sollte jedoch während der Versuchsreihe eine Maus Zeichen von schwerem Stress zeigen bzw. leiden, wird das Tier dem Tierarzt vorgestellt. Dieser entscheidet ob die Abbruchkriterien zutreffen und leitet wenn erforderlich die fachgerechte Euthanasie, in einem separaten Raum, ein. Wir versuchen durch Tiergerechte Haltung und Umgang mit den Tieren den Stress für die Mäuse jedoch so gering wie möglich zu halten.

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

Im Rahmen dieses Projektes werden 162 Mäuse untersucht.

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

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

*Verminderung:* Bei unseren Versuchen wird die Anzahl an verwendeten Mäusen durch sorgfältige Planung der Versuche möglichst gering gehalten. Wir wissen jedoch, dass der zeitliche Ablauf der Glomerulonephritis durch das Auftreten verschiedener Mechanismen in verschiedenen Geweben zu verschiedenen Zeitpunkten geprägt ist, wodurch die Untersuchung der unterschiedlichen Zeitpunkte bedingt wird. Zur Erlangung von statistischer und biologischer Signifikanz benötigen wir zudem eine unabhängige Bestätigung von einmal beobachteten Unterschieden.

*Verfeinerung:* Bei der Durchführung unserer Versuche sowie der Zucht und Haltung der Mäuse gehen wir nach international üblichen Standards vor. Die Tiere werden mit ausreichend Nestmaterial zum Nestbau sowie Enrichment versorgt, um eine möglichst artgemäße Haltung zu gewährleisten. Nach ihrer Anlieferung bekommen die Mäuse zumindest eine Eingewöhnungszeit von einer Woche. Durch Handling von ausgebildeten Tierpflegern, die die Tiere versorgen, wird zusätzlicher Stress vermieden. Die Mäuse werden routinemäßig von Tierärzten auf ihren Gesundheitszustand kontrolliert. Sollte ein Tier zu irgendeinem Zeitpunkt Symptome von Stress und/oder Schmerzen zeigen, entscheidet der Tierarzt über das weitere Vorgehen

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

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

**Projektziel:** Das Ziel ist es aussagekräftige Ergebnisse über den Wirkungsort -und Mechanismus des in dieser Studie verwendeten Medikaments in Bezug auf den Stoffwechsel und Hormonhaushalt zu bekommen.

**zu erwartender Nutzen:** Ziel der beantragten Studie ist die Aufklärung der Wirkung von einem Medikament gegen Diabetes an zwei verschiedenen Applikationsorten. Bei der gegenwärtig praktizierten Verabreichungsform tritt sehr häufig Übelkeit auf. Neue Dosierungsschemata und Applikationsformen können die Nebenwirkungen vermindern und erhöhen damit die Anwenderakzeptanz.

**zu erwartender Schaden:** Die Implantation der Verabreichungspumpen erfolgt unter Anästhesie durch erfahrenes Personal. Die metabolischen und physiologischen Parameter der Tiere werden extensiv, nicht invasiv und automatisiert überwacht. Das Töten der Tiere wird ausschließlich von geschultem Personal durchgeführt. Versuche und Tötungen werden nicht in Gegenwart anderer wacher Tiere durchgeführt.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

101 Ratten

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

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

**Vermeidung:** Das Versuchsziel kann nicht mit anderen Methoden als mit einem Tierversuch erreicht werden weil

- die zu untersuchenden Parameter (Stoffwechsel, Kalorimetrie, Fress-und Trinkverhalten, Körpergewichtsänderungen) nur *in vivo* getestet werden können.
- *in vitro* Experimente nicht die Interaktion mit lebendem Gewebe nachstellen können.
- nur *in vivo* der Zusammenhang vom zentralen Nervensystem und der Peripherie des Körpers erforscht werden kann.
- nur im Tierversuch ein Experiment im Gehirn mit einem Wirkstoff in der vorliegenden Entwicklungsstufe ethisch zu rechtfertigen ist.

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

**Verfeinerung:** Das Handling der Tiere wird ausschließlich von geschultem Personal durchgeführt um den Stress dem die Tiere ausgesetzt sind gering zu halten. Die Ratten werden während des gesamten Versuchszeitraums engmaschig überwacht. Die Ratten haben nachdem sie geliefert werden eine Eingewöhnungszeit von einer Woche bevor mit dem Versuch begonnen wird. Als Enrichment wird Nestbaumaterial angeboten.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Schutz der natürlichen Umwelt im Interesse der Gesundheit oder des Wohlergehens von Mensch oder Tier

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

Das Herbizid "Roundup" (Wirkstoff Glyphosat) ist das in Österreich am häufigsten verwendete Pflanzenschutzmittel, sowohl im landwirtschaftlichen als auch im privaten Bereich. Obwohl nicht für die Anwendung im aquatischen Bereich zugelassen, wird es in der Praxis oft in unmittelbarer Nähe zu Gewässern angewandt (z. B. zur Bekämpfung von Neophyten im Uferbereich) bzw. wird es aus benachbarten landwirtschaftlichen Flächen in Gewässer eingewaschen. Amphibien sind eine geschützte Tiergruppe, die oft Gewässer in der Kulturlandschaft für die Eiablage aufsucht und deshalb potentiell durch Einträge von Pflanzenschutzmittel gefährdet ist. Tatsächlich zeigen wissenschaftliche Studien zur Wirkung von Roundup auf Nichtzielorganismen zum Teil gravierende negative Wirkungen auf die Larven-Entwicklung von Amphibien. Jedoch wurden diese Studien vorwiegend in den USA mit den dort heimischen Amphibienarten durchgeführt, während zur Wirkung auf Kaulquappen von in Österreich heimischen Amphibienarten keine international publizierten Arbeiten bekannt sind. Durch die globale Erwärmung wird eine signifikante Auswirkung auf das Klima weltweit erwartet, mit Temperaturänderungen, die sich auf die Physiologie und räumlichen Verteilung von Amphibien auswirken werden. Unseres Wissens wurden der Zusammenhang von Pestiziden und Temperatur und ihre Auswirkungen auf Amphibien in Europa noch nie experimentell untersucht. Ein Pilotprojekt zu diesem Thema wurde 2014 begonnen und soll nun durch weiterführende Experimente mit einem weiteren in Österreich bis zum Jahr 2022 zugelassenen Roundup-Produkt ergänzt werden. Da verschiedene Roundup-Produkte in den USA nachweislich unterschiedlich starke Wirkungen auf Amphibien haben können, trägt die geplante Studie zur Aufklärung des Gefährdungsgrades von in Österreich zugelassenen Herbiziden bei. Für die Versuchstiere sind je nach angewandter Konzentration keine bis letale Auswirkungen zu erwarten.

Projektziele:

- Die Auswirkung von Roundup auf die Ei- und Larven-Entwicklung auf die in Österreich weit verbreitete Erdkröte (*Bufo bufo*) zu testen;
- Da es im Zuge des globalen Klimawandels wahrscheinlich zu einer Erwärmung der Oberflächengewässer kommen wird, wollen wir zusätzlich die Wechselwirkungen einer Erhöhung der Wassertemperatur auf die Effekte von Roundup untersuchen. Die Untersuchungen sollen in aquatischen Mikrokosmen im Labor durchgeführt werden; dabei werden Roundup-Konzentrationen eingesetzt, wie sie auch im Freiland zu erwarten sind.

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

Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere: 250 Eier sowie 250 Kaulquappen der Erdkröte (*Bufo bufo*)

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

Ein Einfluss von Roundup auf heimische Amphibien-Larven und -Eier ist bisher wissenschaftlich sehr wenig untersucht worden. Eine Auswirkung des Herbizids auf heimische Amphibien kann aufgrund bisherig publizierter Studien nur vermutet, jedoch nicht belegt werden. Alle Amphibienarten sind in Österreich gesetzlich geschützt. Die geplanten Versuche sollen jedoch mit einer in Österreich weit verbreiteten Amphibienart (Erdkröte, *Bufo bufo*) durchgeführt werden. Aufgrund der weiten Verbreitung der Erdkröte, auch im Kulturland kommt diese Art ständig mit diesem Herbizid in Kontakt. Für die Versuche wird das Minimum an Eiern und Larven verwendet, das für eine statistisch fundierte Aussage erforderlich ist. Die Versuche sollen mit insgesamt 250 Eiern und 250 Larven der Erdkröte durchgeführt werden. Das entspricht nur etwa 1/12 der Ei-Anzahl, die von einem einzigen Erdkrötenweibchen pro Saison gelegt werden kann.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. Oktober 2015 vorgesehen.

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

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

Die in unserem Projekt verwendeten Inhibitoren der DPP4 (Dipeptidyl-Peptidase 4), ursprünglich zu Behandlung von Diabetes mellitus Typ 2 entwickelte Medikamente, haben eine nachgewiesene positive Wirkung auf die Funktion und Heilung von Gefäßen und am Herzen. Dieser positive Effekt wird dadurch hervorgerufen, dass die DPP4-Inhibitoren u.a. die Einwanderung von Vorläuferstammzellen (zirkulierende Progenitorzellen, ciPC) in die geschädigten Areale fördern.

Durch die steigende Anzahl an Patienten mit den sogenannten koronaren Herzerkrankungen (Erkrankung der Herzkranzgefäße, welche den Herzmuskel mit Blut versorgen) gewinnen die kardiologischen Eingriffe mittels Herzkatheter und die Implantation von Stents immer mehr an Bedeutung. Da der koronaren Herzerkrankung eine Atherosklerose der Herzkranzgefäße zu Grunde liegt, möchten wir untersuchen, ob wie in zahlreichen Vorversuchen gezeigt Gliptine auch eine positive Wirkung auf die Gefäßheilung nach Stentimplantation im erkrankten Blutgefäß haben.

Hierfür möchten wir Kaninchen biologisch abbaubare Stents in ein Gefäß im Oberschenkel implantieren um den Heilungsverlauf beurteilen zu können. Wir werden Kaninchen mit "gesunden" und atherosklerotischen Gefäßen behandeln, um einerseits den direkten Einfluss der Gliptine auf die Heilung der Gefäße zu beurteilen und andererseits den Gliptin-Effekt auf den Verlauf der Gefäßverkalkung zu untersuchen. Hierfür sollen insbesondere die Gefäßfunktion mittels Ultraschall beurteilt werden und anschließend feingewebliche Untersuchungen der mit Stent versehenen Gefäße durchgeführt werden.

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

Geplant ist eine Gesamtanzahl von 110 Kaninchen über einen Zeitraum von 5 Jahren.

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

Tierschutz und die „3R“ (Replacement, Reduction, Refinement -Ersatz der Tiere durch nicht-Tiermodelle, Verminderung der Tierzahlen, Verbesserung der Haltungs- und Versuchsbedingungen) sind uns bei unseren Projekten stets ein großes Anliegen. Daher achten wir zu jeder Zeit unseres Projekts darauf, dass die Haltungsbedingungen den Ansprüchen der Tiere gerecht werden und immer ausreichendes Enrichment zur Beschäftigung und Wohlbefinden der Tiere vorhanden ist. Um jederzeit eine gute (tierärztliche) Überwachung des Tierwohls zu gewährleisten verwenden wir speziell von uns für das Projekt entworfene Protokolle und ein von uns für unsere Projekte entworfenes Belastungs-Scoring-Sheet. Diese stehen allen Projektmitarbeiterinnen zur Einsicht zur Verfügung, was jedem/jeder MitarbeiterIN ermöglicht, sich angemessen um die Tiere zu kümmern, damit die Tiere zu jeder Zeit während des Versuchs wohlfühlen und ein tiergerechtes Leben gesichert ist. Bei erfolgreichem Versuchsverlauf erwarten wir durch diese Versuchsserie die Etablierung eines neuartigen Therapieansatzes, der die Verträglichkeit und Einheilung von bioresorbierbaren endovaskulären Stents im atherosklerotischen Blutgefäß deutlich verbessern kann.

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

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

Jedes Jahr erleiden in Österreich nahezu ein Prozent aller Neugeborenen eine Hirnschädigung unterschiedlichen Schweregrads. Durch Fortschritte in der intensivmedizinischen Versorgung konnten die Überlebensraten der betroffenen Kinder in den letzten Jahrzehnten erheblich verbessert werden, das Risiko für Folgeschäden mit zum Teil lebenslangen Behinderungen ist jedoch nach wie vor hoch. Bislang existiert keine wirksame medikamentöse Behandlung, um diese Folgeschäden zu verhindern. Unsere Arbeitsgruppe beschäftigt sich mit der Entwicklung von Therapiestrategien zur Verhinderung bzw. Verminderung der Hirnschädigung bei Neu- und Frühgeborenen, wobei besonderes Augenmerk auf eine rasche Anwendbarkeit in der Klinik gelegt wird. Bevor jedoch Studien an Neugeborenen durchgeführt werden können, ist eine eingehende Untersuchung von vielversprechenden Substanzen unerlässlich. Im vorliegenden Projekt soll untersucht werden, ob sich a) die Bildung eines speziellen körpereigenen Stoffes im sich entwickelnden Gehirn durch Sauerstoffmangel und Minderdurchblutung verändert und b) ob durch die zusätzliche Gabe dieses Stoffes das Ausmaß der Schädigung im unreifen Gehirn verringert werden kann.

*zu erwartender Nutzen:* Das vorliegende Projekt bringt einen Erkenntnisgewinn und stellt einen wesentlichen Schritt in Richtung der Entwicklung von wirksamen Therapiemöglichkeiten zur Verringerung von Hirnschädigungen bei Neugeborenen dar.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Es erfolgt ein operativer Eingriff unter Narkose mit zusätzlicher lokaler Betäubung.

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

Die maximal erforderliche Zahl beläuft sich auf 315 Mäuse in einem Zeitraum von 1,5 Jahren.

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

*Vermeidung:* Die im Rahmen des Projektes zum Einsatz kommende Substanz wurde in unserem Labor im Vorfeld bereits eingehend in der Zellkultur untersucht. Hierbei erbrachte sie äußerst vielversprechende Ergebnisse. Der Beweis eines günstigen Effektes nach Sauerstoffmangel und Minderdurchblutung am lebendigen Objekt ist jedoch noch ausständig und vor einem Einsatz in der Klinik unerlässlich.

*Verminderung:* Um die Anzahl so gering wie möglich zu halten, erfolgt ein schrittweises Vorgehen. Weiterführende Untersuchungen werden nur durchgeführt, wenn die Voruntersuchungen vielversprechende Ergebnisse erbringen.

*Verfeinerung:* Während der gesamten Projektdauer werden umfassende Maßnahmen ergriffen, um die Belastung für die Versuchstiere so gering wie möglich zu halten. Die Tiere werden unter artgerechten Bedingungen gemeinsam mit dem Muttertier gehalten. Es erfolgen regelmäßige Kontrollen durch eigens ausgebildete Tierpfleger. Die Dauer der Eingriffe wird so kurz wie möglich gehalten. Während sämtlicher Eingriffe erfolgt ein entsprechendes Wärmemanagement; alle Eingriffe werden nur nach vorhergehender lokaler Betäubung unter Narkose durchgeführt.

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

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

Asthma gehört zu den häufigsten chronischen Erkrankungen weltweit; Schätzungen zufolge hat sich die Häufigkeit von Asthmadagnosen in Westeuropa in den letzten zehn Jahren mehr als verdoppelt. Nach heutiger Auffassung liegt dem Asthma bronchiale ursächlich eine chronische Entzündung der Atemwege zugrunde, die auch für die Symptome verantwortlich gemacht wird. In diesem Projekt soll deshalb die gerichtete Einwanderung von Entzündungszellen in das Lungengewebe sowie in den bronchoalveolaren untersucht werden. Ein weiteres Ziel ist es Mechanismen aufzuklären, welche die Einwanderung der Entzündungszellen beeinflussen und vor allem hemmen können. Diese Studie ermöglicht das Beobachten der Interaktion von Entzündungszellen und spezifischen Entzündungsmediatoren *in vivo*, was einen entscheidenden Schritt für die Erschließung dieser Entzündungszellen und Entzündungsmediatoren und deren Rezeptoren als medizinisch-pharmakologischen Ansatzpunkte bedeutet.

*zu erwartender Schaden:* Für diese Untersuchung werden sowohl Wildtyp als auch transgene Tiere herangezogen. Aus früheren Beobachtungen sind kaum bis geringe Beeinträchtigungen der Vitalität dieser transgenen Tiere bekannt. Die während der Lebenszeit der Tiere geplanten Untersuchungen erfolgen mit bereits etablierten Methoden, die in dieser Form in unserer Einrichtung bereits angewandt werden und das Tierleid auf ein absolutes Minimum begrenzen.

*zu erwartender Nutzen:* Vor allem die Untersuchung an den transgenen Tiere stellt die erstmalige Gelegenheit dar, spezifische Regulationsmechanismen, die zur Einwanderung von Entzündungszellen ins Gewebe verantwortlich sind, zu untersuchen. Dies ist wissenschaftlich von großer Bedeutung, da wir dadurch spezifische Möglichkeiten der therapeutischen Intervention in diesem Migrationsprozess, aber auch mögliche Nebenwirkungen evaluieren können. Daher stellen Experimente mit diesen Tieren einen großen Wissensgewinn in Aussicht, der in weiterer Folge zur Entwicklung neuer therapeutischer Ansätze in der Pharmakologie und Humanmedizin genutzt werden kann.

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

Es sollen 510 Mäuse über einen Zeitraum von 4 Jahren in Versuche einfließen.

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

*Vermeidung:* Wir haben bereits eine Reihe von *in vitro* Versuchen an isolierten humanen Zellen durchgeführt, die darauf hinweisen, dass verschiedene Entzündungsmediatoren ein neues therapeutisches Angriffsziel in der Therapie allergisch-entzündlicher Erkrankungen darstellen. Rezeptoren für Entzündungsmediatoren sind jedoch in vielen Zelltypen/Geweben unterschiedlich exprimiert, daher besteht die grundsätzliche Möglichkeit, dass sich im Versuchstier physiologische Phänomene zeigen, welche in ihrer Ausprägung *in vitro* kaum vorhersehbar sind. Der Ansatz einer *in vivo* Untersuchung ist somit der einzig mögliche Zugang, die Bedeutung und Funktion verschiedener Mediatoren für die anti-entzündlichen Therapie zu bestimmen.

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

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

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

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

Das Projekt dient der translationalen oder angewandten Forschung zur Entwicklung und Herstellung sowie Qualitäts-, Wirksamkeits- und Unbedenklichkeitsprüfung von Arzneimitteln.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

Das Arzneimittel soll der Vorbeugung oder Behandlung potentiell lebensbedrohlicher Erkrankungen dienen, weshalb die Verwendung von max. 40 Tieren (20 Hühner, 10 Gänse und 10 Puten) für 5 Jahre gerechtfertigt ist.

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

Das Projekt wurde im Hinblick auf Verminderung (Verwendung geringstmöglicher Tierzahlen bei aussagekräftigen Ergebnissen), Verbesserung (in Tierhaltung und –Verwendung) geprüft; die komplette Vermeidung ist aufgrund der Komplexheit der Erkrankung und Therapie nicht möglich. Die Zielsetzung des vorliegenden Tierversuchsprojektes mit Aufgabenstellung, geplanten Tierarten und Tierzahlen kann nicht durch wissenschaftlich aussagenkräftige verfügbare und behördlich anerkannte Ersatzmethode erreicht werden.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Beurteilung, Erkennung, Regulierung oder Veränderung physiologischer Zustände bei Menschen, Tieren oder Pflanzen

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

Die in der modernen Tierhaltung übliche Fütterung kraftfutterreicher Rationen an Milchkühe resultiert häufig in Verdauungsstörungen. Verdauungsstörungen sind kritische Stoffwechselkrankheiten bei Milchkühen, weil damit eine Kettenreaktion mit hoher Toxinbildung im Pansen und Stoffwechselkrankheiten der Kuh verbunden ist. Grundsätzlich wird davon ausgegangen, dass durch die Fütterung von Futterzusätzen, das Risiko solcher Verdauungsstörungen vorgebeugt werden kann. Es ist allerdings kaum etwas über die Auswirkungen von Futterzusätzen auf die Pansenökologie und auf die mikrobielle Aktivität bei Kühen bekannt. In diesem Projekt sollen die Wirkungsmechanismen von unterschiedlichen Futterzusätzen (Kräutermischungen, Hefen und Toxinbindern) auf das mikrobielle Ökosystem im Pansen und auf die Toxinfreisetzung sowie Gesundheit beim Rind erforscht werden. Toxinbinder können Toxine binden und abbauen und dadurch für das Tier unschädlich machen.

*zu erwartender Nutzen:* Erkenntnisgewinn über die Rolle der Futterzusätze auf die Pansengesundheit beim Rind. Dadurch können gezielte Präventionsmaßnahmen erarbeitet werden, die die Gesundheit verbessern.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Es sollen acht kanulierte Kühe für den Versuch eingesetzt werden. Da sechs der acht Tiere bereits aus einem vorherigen Versuch herangezogen werden und somit bereits fistuliert sind, sollen lediglich 2 Kühe in diesem Versuch kanuliert werden. Den neu zu fistulierenden Kühen kommt eine mittelgradige Belastung zu. Für die sechs bereits fistulierten Kühen ist die Belastung für diese Tiere als gering einzustufen. Den Kühen werden Proben (Pansenproben, Blutproben, Kotproben) entnommen. Die Probenahme findet nach einer kurzen fachgerechten Fixierung in einem Behandlungsraum statt um Verletzungen zu vermeiden. Ansonsten werden die Kühe wie unter normalen Haltungsbedingungen gefüttert und in Gruppe gehalten.

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

8 Kühe, die eine permanente Silikon-Pansenkanüle für verdauungsphysiologische Untersuchungen haben.

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

*Vermeidung:* In dem Versuch werden Tiere, die bereits für einen früheren Versuch verwendet wurden, eingesetzt. Durch die Verwendung von Kühen mit bereits vorhandenen Pansenkanülen vermeiden wir Stress durch die Anwendung von Schlundsonden oder die Schlachtung einer großen Anzahl von Tieren. Die Inkubation von Futtersäckchen im Pansen ist schmerzfrei und ohne Zwangsmaßnahmen an den Tieren durchführbar.

*Verminderung:* Durch die Reduktion der Tierzahl auf ein Minimum von 8 Tieren, sowie durch das erneute Verwenden von bereits fistulierten Tieren und durch das Versuchsdesign in dem Fütterungsversuch findet dieser Punkt volle Anwendung. Die Kühe erhalten in diesem Versuch Futterkomponenten die von Milchkühen sehr gut vertragen werden und der üblichen Praxis entsprechen.

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

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

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

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 4 genetisch veränderten Mausstämmen beantragt, die auf verschiedenen Gebieten der immunologischen Forschung Verwendung finden. Ziele des vorliegenden Projektes sind (i) die Erhaltung der Mausstämmen über die Projektdauer von 5 Jahren sowie (ii) die systematische Untersuchung der einzelnen Stämme auf mögliche Beeinträchtigungen in ihrem allgemeinen Erscheinungsbild, Gesundheitszustand und Verhalten.

*zu erwartender Nutzen:* Der zu erwartende Nutzen besteht in einer von kompetentem Fachpersonal systematisch erhobenen und dokumentierten Erhebung der möglichen Beeinträchtigungen dieser Tiere durch ihre spezifischen genetischen Veränderungen.

*zu erwartender Schaden:* Bei diesen Stämmen handelt es sich um seit längerem etablierte Linien. Aus der Art der genetischen Veränderung ist für die beantragten Stämme eine Beeinträchtigung nicht zu erwarten. Drei der Stämme können homozygot gehalten werden, womit auch die Notwendigkeit entfällt, die Tiere durch Ohrlochung o.ä. Methoden individuell zu kennzeichnen. Gewebebiopsien zur Sicherstellung des Genotyps werden nur bei geringen Stichproben genommen. Bei zwei der Stämme, der auf einen anderen genetischen Hintergrund rück-/gekreuzt werden soll, müssen alle Nachkommen von wenigstens 6 Generationen genotypisiert werden. Die Untersuchungen zur Erhebung der durch die genetischen Veränderungen möglicherweise verursachten Belastungen sind ausschließlich nichtinvasive Beobachtungen an Tieren in verschiedenen Lebensabschnitten und stellen selbst keinerlei Belastung für die Tiere dar.

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

Für diese Untersuchungen und die Erhaltung der Mausstämmen über einen Zeitraum von 5 Jahren wird insgesamt eine Anzahl von 1350 Mäusen benötigt.

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

*Vermeidung:* Zucht und Haltung von genetisch veränderten Tieren gelten nach TVG 2012 solange als Tierversuche, bis nachgewiesen ist, dass die genetischen Veränderungen keine nachteiligen Auswirkungen auf die Tiere haben. Zur Sicherung des Bestandes dieser für biomedizinische Forschungsprojekte benötigten Stämme ist zumindest eine Erhaltungszucht erforderlich, die nicht zur Gänze vermieden werden kann.

*Verminderung:* Allerdings werden verschiedene Maßnahmen getroffen, um die erforderlichen Tierzahlen zu verringern: (i) die Zuchten werden so dimensioniert, dass nicht wesentlich mehr als die zur Bestandssicherung benötigten Tiere geboren werden; (ii) drei der hier verwendeten Stämme werden homozygot gezüchtet, zwei zuerst heterozygot, danach homozygot, wodurch sichergestellt ist, dass final jedes Tier die genetische Veränderung trägt; (iii) die Abstände zwischen den Generationen werden möglichst gedehnt, um die Zahl der erforderlichen Zuchtansätze über die Zeit zu minimieren.

*Verfeinerung:* Durch homozygote Zucht entfallen Variationen des Genotyps, wodurch Gewebebiopsien zu dessen Feststellung weitestgehend entfallen. Analysen zur periodischen Bestätigung des Genotyps werden nur sporadisch an wenigen Stichproben vorgenommen. Aus diesem Grund kann auch die permanente Kennzeichnung individueller Tiere durch Ohrlochung o. ä. Methoden auf wenige Individuen beschränkt 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*

Diese Studie ist in 4 Projekte unterteilt. In Projekt 1 sollen die MPSIIIA Mäuse als Modell des Sanfilippo-Syndroms im Vergleich zu wildtyp Tieren auf kognitive Defizite untersucht werden. Im zweiten Projekt sollen MPSIIIA Mäuse durch die Verwendung verschiedener Behandlungsregime mit einer Substanz behandelt werden und die Substanzkonzentration im Anschluss in verschiedenen Geweben vom Auftraggeber untersucht werden. Im dritten Projekt sollen MPSIIIA Mäuse mit einem Behandlungsregime aus Projekt 2 behandelt und im Anschluss das Verhalten der Tiere in verschiedenen Verhaltenstests untersucht werden. Danach werden die Tiere euthanasiert und die Gewebe biochemisch und histologisch auf pathologische Veränderungen untersucht. Durch diese Studie wird es möglich sein die Effizienz der Testsubstanz zu testen. In einem vierten Projekt sollen MPSIIIA Mäuse die Testsubstanz ebenfalls nach dem Behandlungsregime von Projekt 2 und 3 erhalten, jedoch in unterschiedlichen Konzentrationen. Im Anschluss werden die Tiere erneut in Verhaltenstests untersucht und Gewebe histologisch und biochemisch analysiert. Ziel der gesamten Studie ist daher die detaillierte Analyse der Wirkung der Testsubstanz. Dadurch soll die Substanz schnellst möglich für die klinische Testung zugelassen und somit schnell für die Behandlung des Sanfilippo Syndroms in der Klinik eingesetzt werden können.

Das Sanfilippo-Syndrom ist eine seltene, angeborene, autosomal rezessive lysosomale Stoffwechselerkrankung. Sie gehört zu den Mucopolysaccharidosen, einer Gruppe von Störungen des Abbaus von langkettigen Zuckermolekülen, den Glykosaminoglykanen. MPS IIIA wird durch eine Mutation im SGSH Gen verursacht das zu einem Mangel an N-Sulfoglukosamin Sulfohydrolase Enzym führt. Dieser Mangel wiederum führt zur Ablagerung von nicht abgebautem Heparansulfat, einer Vergrößerung von Lysosomen und Zell- und Organversagen. Betroffene Kinder sind bei Geburt noch unauffällig. Ab dem dritten bis vierten Lebensjahr verzögert sich die geistige Entwicklung und ein aggressives, extrem unruhiges Verhalten (Hyperaktivität) tritt auf. Im Alter von ca. 20 Jahren tritt die Verhaltensstörung in den Hintergrund und wird durch eine zunehmende spastische Lähmung abgelöst. Die meisten Patienten versterben bereits in der zweiten Lebensdekade. Es ist hauptsächlich das Gehirn betroffen. Die Patienten sind in der Regel normalwüchsig und haben wenig Skelettauffälligkeiten. Eine ursächliche Therapie gibt es nicht, so dass die Behandlung rein symptomatisch ist. Durch die vorliegende Studie soll daher das MPSIIIA Mausmodell der Krankheit weiter charakterisiert werden und im Anschluss das richtige Behandlungsregime, die Effektivität und die Dosiswirkung einer Substanz zur Behandlung der Krankheit untersucht werden. Durch diese straffe Untersuchung der Wirkungsweise der Testsubstanz wird es zügig möglich sein die Substanz in klinischen Studien auf ihre Wirksamkeit zu untersuchen.

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

Für diese Studie werden insgesamt 290 MPS IIIA Mäuse und 91 wildtyp Mäuse beantragt.

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

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

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

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

In der beantragten Studie soll evaluiert werden, wie groß der Unterschied von verschiedenen Implantatoberflächen auf Knochenregeneration und -neubildung ist. Für die klinische Verwendung der zu testenden Oberflächen im orthopädischen und dentalen Bereich ist die Beschleunigung der Knochenanlagerung und Erhöhung der mechanischen Belastbarkeit von besonderer Bedeutung. Ziel der Untersuchung ist daher, eine frühe Beanspruchung nach Hüftoperationen oder schnelle prothetische Versorgung von Zahnimplantaten mit z. B. Kronen oder Brücken zu erreichen. Dies hat unmittelbare Vorteile für den Patienten und somit großen Einfluss auf die Lebensqualität. Um die gewonnenen Ergebnisse rasch Patienten zur Verfügung zu stellen, ist mittelfristig die Etablierung eines Implantatsystems auf dem kommerziellen Markt geplant.

*zu erwartender Nutzen:* ist eine schnellere Belastung von Hüft- bzw. Versorgung von Zahnimplantaten, die im Knochen verankert sind. Dies stellt eine entscheidende Verbesserung der Lebensqualität dar und soll möglichst bald klinische Anwendung finden.

*zu erwartender Schaden:* für die Tiere ist aufgrund des schonenden OP-Vorgehens, der Positionierung der Implantate sowie der geringen Größe der Probekörper (3,5 mm Durchmesser, 11 mm Länge) als "gering" bis "mittel" einzustufen. Die Implantation erfolgt unter sterilen Kautelen mit Instrumenten und chirurgischer Technik, welche "State-of-the-Art" für das Setzen von Implantaten beim Menschen ist. Zur Vermeidung von Wundheilungsstörungen wird eine prophylaktische Gabe von Antibiotika sowie zur Behandlung von Schmerzen eine adäquate Analgesie verabreicht. Somit werden Beeinträchtigung und Leiden der Tiere maximal reduziert. Des Weiteren werden die Tiere nach dem operativen Eingriff frei auf einer Weide gehalten, um so ein möglichst natürliches und vertrautes Umfeld zu gewährleisten.

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

12 Schafe

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

*Vermeidung:* Es gibt kein in vitro-System, um diese Tierversuche zu ersetzen. Die bisher gewonnenen Erkenntnisse deuten auf eine Beschleunigung/Verbesserung der Knochenheilung hin, können aber nicht direkt auf den Menschen übertragen werden. Das Tiermodell ist daher notwendig, um an Erkenntnisse über Heilungsprozesse sowie deren Verbesserungsmöglichkeiten in einem komplexen System, wie einem lebenden Organismus, zu gelangen.

*Verminderung:* Es werden nur so viele Tiere verwendet, wie für das Erreichen der statistischen Signifikanz notwendig ist. Es werden so wenige Tiere wie möglich aber so viele Tiere wie nötig im Versuch eingesetzt. Des Weiteren werden mehrere Untersuchungen (Computertomographie, Biomechanik, Histologie) zur Evaluierung des Knochenbaus durchgeführt, um eine möglichst genaue Datenlage bereitstellen zu können.

*Verfeinerung:* Es werden Implantate geringer Größe und ein gut zugängliches OP-Gebiet mit State-of-the-Art Instrumentarium und chirurgischer Technik verwendet, sodass das Leid der Tiere maximal reduziert wird. Die Tiere werden in Gruppen gehalten und täglich von geschulten Mitarbeitern gewissenhaft betreut. Jede Behandlung der Tiere wird von erfahrenen Personen durchgeführt, bei jedem operativen Eingriff werden die Tiere narkotisiert sowie postoperativ einer umfassenden Schmerztherapie zugeführt. Mit dieser Forschungsreihe sollen Prozesse untersucht und neue Erkenntnisse gewonnen werden, die baldmöglichst Einzug in die Klinik finden und somit neue Therapieoptionen in Hinblick auf knöchernen Regenerationsmöglichkeiten beinhalten sollen.

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 Syndrom des Trockenen Auges stellt eine der häufigsten Erkrankungen der Augenoberfläche bei älteren Menschen dar. Einer der wichtigsten therapeutischen Ansätze besteht in der Verabreichung von befeuchtenden Augentropfen (Lubrikantien). Ein häufiges Problem jedoch stellt die relativ geringe Verweildauer an der Augenoberfläche dar. Dies führt dazu, dass die Substanzen mehrmals täglich eingetropt werden müssen. Aus diesem Grund wäre die Entwicklung von befeuchtenden Augentropfen mit langer Verweildauer an der Augenfläche wünschenswert. Dazu muss jedoch die Verweilzeit verschiedener Inhaltsstoffe der derzeit verwendeten Lubrikantien charakterisiert werden. In der vorliegenden Studie soll der Effekt verschiedener Biopolymere auf die Aufenthaltsdauer an der Augenoberfläche mittels ultrahochauflösender optischer Kohärenztomographie (OCT) untersucht werden. Bisher wurde die Verweildauer von topisch applizierten Substanzen mittels radioaktiver Markierung und Positronenemissionstomographie (PET) durchgeführt. Dieses Verfahren ist aber auf Grund der radioaktiven Strahlung sehr belastend, weshalb das neu entwickelte und nicht invasive System zur Messung der Tränenfilmdicke mittels OCT zu bevorzugen ist.

*zu erwartender Nutzen:* Die gewonnenen Daten der Studie sollen es in Zukunft ermöglichen Augentropfen zu entwickeln die über einen längeren Zeitraum an der Augenoberfläche verweilen und so nicht mehr so häufig eingetropt werden müssen. So soll die Belastung der betroffenen Patienten vermindert werden und die Nebenwirkungen der Therapie reduziert werden.

*zu erwartender Schaden:* Die Tiere leiden unter den Symptomen des trockenen Auges, einer sehr häufigen Erkrankung des Auges bei älteren Menschen.

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

Für dieses Projekt werden in Summe 60 weibliche Mäuse (C57BL/6) mit induziertem trockenem Auge verwendet.

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

*Vermeidung:* Die optische Kohärenztomographie (OCT) ist ein nicht invasives Verfahren. Untersuchungen zur Aufenthaltsdauer von Augentropfen an der Augenoberfläche mittels OCT verursachen keine Schmerzen und sind berührungslos. Alternativen wie beispielsweise die Untersuchung der Verweildauer mittels radioaktiver Markierung und Positronenemissionstomographie (PET) sind invasiv und daher mit einer hohen Belastung für die Tiere verbunden. Die Entwicklung des OCTs für Kleintiere macht es möglich auf das PET in diesem Versuchsaufbau zu verzichten. Derzeit ist kein ausreichend komplexes in vitro Ersatzmodell für die durchzuführenden Versuche verfügbar. Aufgrund der Heterogenität der Erkrankung und der Komplexität der Pathogenese ist es notwendig, die Versuche an einem standardisierten Modell durchzuführen um aussagekräftige Daten zu erhalten.

*Verminderung:* Eine Fallzahlberechnung zur Reduktion der benötigten Gruppengrößen bei gleichzeitigem Erhalt von aussagekräftigen Ergebnissen wurde durchgeführt. Alle Haltings- und Versuchsbedingungen sind standardisiert, um die Streuung der Versuchsergebnisse möglichst gering zu halten. So ist es möglich aussagekräftige Daten bei einer reduzierten Tierzahl zu erhalten.

*Verfeinerung:* Bei dem hier verwendeten Modell handelt es sich um ein Standardtiermodell für das trockene Auge. Die Haltung der Tiere erfolgt ebenfalls unter standardisierten Bedingungen. Weiters wird die Haltung der Tiere sobald sie Symptome des trockenen Auges aufweisen soweit wie möglich verkürzt um mögliches Leiden zu reduzieren.

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

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

Das Ziel des Projekts ist die Charakterisierung der neuronalen Organisation des Mandelkerns (Amygdala) und seiner Projektionen in andere Hirnareale. Die Amygdala ist eine Hirnstruktur, die in der Entstehung einfacher emotionale Erinnerungen wie z.B.: die Auslösung vegetativer (Herzfrequenz,...) oder motorischer (Erstarren,...) Reaktionen als Antwort auf einen emotionalen Stimulus involviert ist. Das Verständnis solcher einfachen Erinnerungsformen spielt eine wichtige Rolle in der Aufklärung häufiger psychiatrischer Krankheitsbilder wie zum Beispiel Angststörungen oder posttraumatische Belastungsstörungen. Um dieses Ziel zu erreichen nützen wir molekulare und genetische Methoden sowie das neu entwickelte „transsynaptic tracing“ – Verfahren.

*zu erwartender Nutzen:* die funktionale, neurochemische und anatomische Charakterisierung der Amygdala.

*zu erwartender Schaden:* Das Projekt erfordert die stereotaktische Injektion viraler Vektoren in die Amygdala erwachsener Mäuse.

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

141 Mäuse innerhalb von 3 Jahren (Tierversuchsschweregrad: mittel)

Zusätzlich werden ca. 100 Mäuse für die anfängliche Expansion der Linie bzw für die am Beginn unvermeidbare heterozygote Zucht (nur 25% des Wurfes haben den gezielten Genotyp) einer Genotypisierung unterzogen die ein „tail-clipping“ (Tierversuchsschweregrad: gering) erfordert.

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

*Vermeidung:* Im Rahmen unseres Forschungsgebiets können wir nicht auf die Verwendung von Tieren verzichten da die Erforschung von synaptischen Verbindungen einen lebenden Organismus voraussetzt. Die Verwendung einer organotypischen Zellkultur würde unter anderem die Erforschung der neuronalen Verbindungen zwischen einzelnen, räumlich weiter entfernten Hirnregionen nicht erfassen.

*Verminderung:* Die Anzahl der Tiere wurde auf jenes Minimum reduziert welches noch eine aussagekräftige Statistik ermöglicht. Zusätzlich ist es im Rahmen unserer Versuche möglich männliche sowie weibliche Tiere einzusetzen, wodurch die Anzahl der Vermehrungen (Zuchtzyklen) für die benötigte Tieranzahl ebenfalls reduziert ist.

*Verfeinerung:* Wir werden die kleinstmöglichen Kanülen und Mengen verwenden, um den Tieren unnötiges Leid und Schmerzen zu ersparen. Erfahrungsgemäß werden minimal-invasive OPs von den Tieren gut vertragen und beinhalten nur minimale Belastungen. Während der OP und in der Aufwachphase wird darauf geachtet dass die Tiere nicht auskühlen (Decken, Wärmepads) bzw. ihre Augen vor der Austrocknung (Augensalbe) geschützt. Die Tiere werden in der postoperativen Phase täglich auf ihren Gesundheitsstatus untersucht und im seltenen Falle einer postoperativen Infektion/Entzündung erhalten die Tiere eine entsprechende medikamentöse Behandlung. Außerdem wird in der postoperativen Phase zusätzliches Futter auf dem Käfigboden zur Verfügung gestellt um eine gute Versorgung sicherzustellen. Die Unterbringung in Käfigen mit Rückzugsmöglichkeit (Plastikrollen) und Nistmaterial gewährleistet ein niedriges Stresspotential der Tiere. Die Tiere werden täglich (beinhaltet Wochenenddienst) versorgt (Futter, Wasser). Ebenso wird auf ihr allgemeines Wohl (saubere Käfige, warme Umgebung, Rückzugsmöglichkeit, soziale Haltung) geachtet. Treten irgendwelche Leidens- oder Stressanzeichen (Körperhaltung, Fellbeschaffenheit, signifikanter Gewichtsverlust, Entzündungen, Infektionen) bei den Tieren auf, werden angemessene Maßnahmen getroffen.

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 5-7 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.

zu erwartender Schaden für das Tier: 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.

Beschreibung der Methoden die an den Tieren angewendet werden: An den Tieren wird der die Kehlkopfmuskulatur versorgende Nerv beidseits dargestellt und freipräpariert. Anschließend wird um die Nerven eine spezielle Elektrode angebracht, die mit einem Schrittmacher verbunden ist. Dieser ist im Bereich des Brustbeines unter der Haut angebracht. Da der Schrittmacher elektronisch von außen gesteuert werden kann, sind keine weiteren Narkosen für die den Versuch notwendig. Der Eingriff sowie die postoperative Phase werden dabei von geschulten Tierärzten geleitet und überwacht.

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

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

Es sollen für die Versuche 48 weibliche Schafe Tiere (davon 6 Reservetiere) 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 geprüfte Tierpfleger und die Experimentatoren statt, sodass sich die Tiere an diese Personen gewöhnen, und zusätzlicher Stress bei Messungen vermieden wird. Zusätzlich werden die Tiere in regelmäßigen Abständen tierärztlich untersucht.

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

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

Mechanismen für entzündliche Darmerkrankungen, insbesondere des Morbus Crohn, und für das Kolonkarzinom sollen untersucht werden. Diese Erkrankungen sind schwer zu behandeln und neue Therapiemöglichkeiten sind dringend erforderlich. Entzündungsmechanismen ausgehend von Leukozyten und deren Mediatoren spielen nach neuesten Erkenntnissen eine wesentliche Rolle auch bei der Karzinogenese. Im diesem Projekt werden eosinophile Leukozyten, die Auswirkung dieser Zellen auf die Darmschleimhaut, und Rezeptoren, die auf Eosinophilen vorkommen und das Immunsystem beeinflussen, auf ihre entzündungsfördernde und mögliche kanzerogene Wirkung untersucht. Deren Ausschaltung von solchen Rezeptoren soll den Entzündungsprozess und die Karzinogenese verlangsamen und damit positiv auf eine Heilung einwirken.

*zu erwartender Schaden:* Für die Untersuchungen werden Wildtyp- und transgene eosinophilfreie Mäuse verwendet. Die transgenen Mäuse sind vollkommen vital und zeigen keine Beeinträchtigungen. Die Untersuchungen während der Lebenszeit der Mäuse werden an Hand langjähriger, etablierter und bekannter Methoden durchgeführt, in denen das Tierleid auf ein Minimum reduziert ist.

*zu erwartender Nutzen:* Durch die transgenen Tiere kann das komplexe Zusammenspiel der Leukozyten in diesen Erkrankungen im lebenden Organismus untersucht werden. Dieses Zusammenspiel kann nicht in einem Einzelversuch nachgestellt werden. Deswegen bringen die Untersuchungen in der transgenen Maus einen beträchtlichen neuen Wissensgewinn, der in der Grundlagen- und angewandten Forschung und in der Humanmedizin von äußerst großem Nutzen ist.

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

Insgesamt sollen 96 (davon 48 transgene) Mäuse verwendet werden.

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

*Vermeidung:* Entzündliche Darmerkrankungen und das Kolonkarzinom sind komplexe Erkrankungen, an denen das Zusammenwirken von Immunzellen aus dem Knochenmark und lymphatischer Organe mit verschiedenen Zelltypen aus der Darmschleimhaut, wie Epithelzellen und Krebszellen eine wichtige Rolle spielen. Diese unterschiedlichen Zelltypen und Organsysteme interagieren untereinander nur in einem intakten Organismus. Fragestellungen zu den entzündlichen Darmerkrankungen und Entzündungsmechanismen, die das Kolonkarzinom induzieren und fördern, können daher nicht an einem isolierten Organsystem oder einer Zellkultur adressiert werden, sondern nur am Gesamtorganismus.

*Verminderung:* Ausgehend von Versuchen in Zellkulturen und Daten aus der Literatur wird versucht, die Anzahl der Mäuse in den Versuchsgruppen auf ein Minimum, welches noch eine statistische Signifikanz erlaubt, zu halten. Dies geschieht durch genaue Planung des Versuchs. Durch eine statistische Analyse, basierend auf Vordaten oder Daten aus der Literatur, kann die Anzahl der Tiere in der Versuchsgruppen weitgehend gut geschätzt und die Gruppen äußerst klein gehalten werden. Die analytische Bestimmung von biologischem Material wird so gut wie möglich auf viele Parameter ausgedehnt. Damit wird das vorhandene biologische Material optimal ausgenutzt.

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

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

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

Die Drehkrankheit der Salmoniden, verursacht durch *Myxobolus cerebralis*, gilt nicht nur als ein Problem in den Teichwirtschaften Europas, sondern stellt auch eine große Bedrohung für das Überleben der Regenbogenforelle (*Oncorhynchus mykiss*) in den freien Gewässern Nordamerikas dar. Um seinen Lebenszyklus zu vollenden benötigt *M. cerebralis* einen wirbellosen Wirt. Als solcher ist nur eine einzige Art, nämlich der Oligochaet *Tubifex tubifex* bekannt. Der Parasit wechselt zwischen zwei Sporenformen: der Actinospore (Triactinomyxon), die sich in dem Oligochaeten entwickelt, und der Myxospore (*M. cerebralis*) in Salmoniden.

RNA-Interferenz (RNAi) ist eine Technik, in der exogene doppelsträngige RNA, die als komplementär zu mRNA bekannt ist, in eine Zelle eingeführt wird, um gezielt bestimmte Gene auszuschalten. RNAi wurde erfolgreich bei vielen parasitären Erregern wie *Caenorhabditis elegans*, oder den für Menschen pathogenen Erregern *Onchocerca volvulus* und *Schistosoma mansoni* eingesetzt.

Das Ziel dieses Projektes ist einerseits, den Entwicklungszyklus von *M. cerebralis* im oligochaeten Wirt zu unterbrechen oder zu stören. Dies wird durch die Entwicklung effizienter siRNAs erreicht, welche die Expression wichtige Gene, die für die Entwicklung der Sporen im *T. tubifex* essentiell sind, ausschalten. Andererseits wird versucht, reife Triactinomyxon-Sporen von *M. cerebralis* mit siRNAs zu behandeln und erst dann spezifisch pathogenfreie (SPF) Regenbogenforellen damit zu infizieren, um die Wirkung der ausgeschalteten Gene zu überprüfen. Die Wirkung der siRNA auf das Ziel-Gen wird durch quantitative-PCR geprüft. Die Ergebnisse dieses Projekts sollen Beiträge zur Prävention und Kontrolle der Drehkrankheit von Salmoniden sowie zum Verständnis von Genfunktionen.

Um dieses Ziel zu erreichen werden folgende Versuche durchgeführt:

A) Expositionsversuche von SPF Regenbogenforellen mit siRNA behandelten Triactinomyxon-Sporen sowie als Kontrolle Expositionsversuche von SPF Regenbogenforellen mit nicht behandelten Triactinomyxon-Sporen.

B) Expositionsversuche von SPF Regenbogenforellen mit Triactinomyxon-Sporen, ausgeschieden von siRNA behandelten *T. tubifex* um die Ausschaltung der Zielgene zu überprüfen. Die Fische werden klinisch hinsichtlich der Entwicklung der Drehkrankheit beobachtet und anschließend auf die Infektion mit *M. cerebralis* histologisch und mittels spezifischer PCR untersucht.

Die Ergebnisse werden mit den Ergebnissen der Kontrolle, bei denen die *T. tubifex* nicht mit siRNA behandelt wurden, verglichen.

Der erwartete Nutzen besteht in der Erhaltung von Informationen über Genfunktionen und eine Möglichkeit zur Kontrolle der Drehkrankheit der Salmoniden via siRNA. Der erwartete Schaden betrifft die Versuchsfische, die durch die Infektion stark belastet werden.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

240 Regenbogenforellen Brütlinge, *Oncorhynchus mykiss*.

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

Zu Versuchsbeginn werden die Fische eine Größe von ca. 4-5 cm (Forellenbrütlinge) aufweisen. Jeweils 10 Fische werden in einem 100 l Aquarium bei 16°C im Durchflusssystem gehalten. Die Fische werden mit kommerziellem Forellenfutter ad libitum gefüttert.

**Vermeidung:** es gibt bisher kein In Vitro Model für die *Myxobolus cerebralis*, da man bis dato die Vermehrung des Erregers im Zellkultur nicht möglich ist.

**Verminderung:** Die Fische (4-5 cm) werden je 10 Fische in 100 l Aquarien gehalten, um Stress zu vermeiden, außerdem werden sie entfernt sobald einer der beiden klinische Anzechnung (Drehung oder Schwarzverfärbung des kaudalen Bereiches) erkannt wird.

**Verfeinerung:** Die Fische werden mindestens zweimal täglich kontrolliert. Fische, die Anzeichen von Krankheit (Drehung oder Schwarzverfärbung des kaudalen Bereiches) zeigen werden sie aus dem Aquarium entfernt. Um Stress für die Fische möglichst gering zu halten, werden alle Interaktionen

mit den Fischen auf ein Minimum reduziert. Es wird erwartet, dass sich Krankheitssymptome in einem Zeitraum von 3-4 Monaten entwickeln. Die Probenahme erfolgt ausschließlich am mit einer Überdosis MS 222 euthanasierten Fisch.

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

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

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

Invasive Pilzinfektionen sind sehr gefährliche Erkrankungen, die von verschiedenen Pilzarten verursacht werden können. Sie treten vor allem bei Patienten mit geschwächtem Immunsystem (Krebspatienten, Organtransplantationen, Verbrennungsoffer, HIV-Infektion...) auf und enden trotz großer Fortschritte in der medikamentösen Therapie in vielen Fällen tödlich. Aus diesem Grund ist es wichtig, die Vorgänge im Immunsystem während der Erkrankung genauer zu erforschen.

Neben zahlreichen Experimenten, die "im Reagenzglas" und in Zellkulturen durchgeführt werden, sind zur Erforschung des Krankheitsgeschehens auch Tierversuche unerlässlich. In diesem Projekt sollen im Maus-Modell die Reaktionen bestimmter Bestandteile des Immunsystems (zum Beispiel Blutplättchen, das sogenannte Komplement-System und Fresszellen) auf Infektionen mit zwei wichtigen Pilz-Krankheitserregern untersucht werden. Dadurch soll geklärt werden, wie es bei diesen Erkrankungen zu gefährlichen Komplikationen im Körper kommt, die oft fatal enden. Dazu zählen Thrombosen (Blutgerinnsel), schwere Entzündungen oder Blutplättchen-Mangel.

Dem Schaden, der den Versuchstieren zugefügt wird, steht der sehr große Nutzen der Studie gegenüber, genauere Kenntnisse des Krankheitsgeschehens im Körper zu erlangen. Diese sind unerlässlich zur Entwicklung zukünftiger Strategien, mit denen die Therapie ergänzt und verbessert werden kann. Wir hoffen, dadurch zu einer Senkung der hohen Sterblichkeit bei diesen Pilzkrankungen beizutragen.

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

162 Mäuse

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

*Vermeidung:* Zahlreiche Experimente, die zur Klärung der oben genannten Fragestellungen beitragen können, werden in unseren Forschungsarbeiten in vitro, d.h. "im Reagenzglas", durchgeführt. Die Pilze werden dabei mit Zellen aus dem Blut freiwilliger Spender zusammengebracht. Auch komplexere Zellkultur-Modelle kommen zur Anwendung. Zur Überprüfung, ob die gefundenen Ergebnisse und Mechanismen auch im lebenden Körper (in vivo) auftreten, sind wir jedoch auf das Tiermodell angewiesen, da bisher keine alternativen Methoden dafür bekannt sind.

*Verminderung:* durch eine Fallzahl-Kalkulation verwenden wir gerade so viele Tiere wie unbedingt nötig, um statistisch aussagekräftige Ergebnisse gewinnen zu können. Die Fragestellungen für mehrere Projekte wurden so kombiniert, dass möglichst wenige Tiere benötigt werden. Die gewonnenen Daten der unbehandelten Kontrolltiere können für mehrere Versuche verwendet werden.

*Verbesserung:* Da Mäuse soziale Tiere sind, werden sie in Gruppen gehalten und haben in jedem Käfig ein Häuschen als Rückzugsmöglichkeit. Sie werden vor dem Versuch zuerst an ihre neue Umgebung gewöhnt und dabei jeden Tag einmal aus dem Käfig genommen, auf der Hand (mit Handschuhen) gehalten, gestreichelt und "angesprochen", um sie an die den Versuch durchführenden Menschen zu gewöhnen ("Konditionierung") und so Angst und Stress bei der späteren Durchführung des Versuchs zu vermindern. Für die Versuche selbst gelten strenge Abbruchkriterien, bei deren Eintreten die Tiere unter Betäubung getötet werden, um ihnen weitere Leiden und Ängste zu ersparen.

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

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

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

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

*2. Art und Anzahl der Tiere*

Die zu untersuchenden 240 Tiere sind Spargue Dawley Ratten und RNU Ratten.

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

Die Versuchsbedingungen werden so gewählt, dass mittels potenter Narkose und Analgesie, der täglichen tierärztlichen Inspektion aller operierten Tiere und der täglichen tierpflegerischen Betreuung und Konditionierung aller Tiere Schmerzen, Leiden und Ängste möglichst verhindert werden.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. Dezember 2015 vorgesehen.

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

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

Um das zentrale Nervensystem vor Viren, Bakterien, Fremdproteinen, Zellen des Immunsystems oder Entgleisungen des Elektrolythaushalts im Blut zu schützen, bedient sich der Organismus effizienter Schutzmechanismen: der Blut-Hirn-Schranke (BHS) und der Blut-Liquor-Schranke. Die Kapillaren der Blut-Hirn-Schranke werden von Endothelzellen hermetisch durch sog. Tight Junctions abgedichtet und gewährleisten so das spezialisierte Mikromilieu des Gehirns. Viel häufiger als genetische Defekte sind Erkrankungen, bei denen eine Störung der BHS eine wichtige Rolle spielt. Unter diesen Erkrankungen nehmen Diabetes mellitus, verschiedene Krebserkrankungen, neurodegenerative Erkrankungen wie Morbus Alzheimer oder Erkrankungen mit einer neuroinflammatorischen Komponente (Multiple Sklerose) eine wichtige Rolle ein. Bei Patienten mit Multipler Sklerose führen Entzündungsbotenstoffe wie Zytokine zur Expression hoch spezifischer Adhäsionsmoleküle auf den Endothelzellen der BHS an die Leukozyten aus der Peripherie binden und die Barriere para- und transzellulär passieren. Im Gehirn angelangt, greifen sie Myelinscheiden an. Die Folge sind Entzündungsherde im Gehirn und Rückenmark. Bei diesen Vorgängen scheinen Peroxidasen eine wichtige Rolle zu spielen. Deshalb wird in diesem Projekt die Rolle von Peroxidasen beim Transfer von peripheren Entzündungen ins Zentralnervensystem untersucht. Um die Funktion eines Genproduktes im Rahmen der in vivo Situation zu untersuchen werden Studien mit knockout Mausmodellen durchgeführt.

*zu erwartender Nutzen:* Im Idealfall führt dieser Versuchsansatz zur Öffnung von neuen therapeutischen Möglichkeiten.

*zu erwartender Schaden:* In vereinzelten Fällen kann es zu leichter Übelkeit und Lethargie (sickness behavior) kommen.

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

360 Mäuse

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

*Vermeidung:* Eine Vermeidung des beantragten Tierversuchs ist nicht möglich, da eine Dysfunktion der BHS durch verschiedene Faktoren beeinflusst wird, und daher nur in vivo untersucht werden kann.

*Verminderung:* Allerdings können wir eine Reduktion der benötigten Versuchstiere erreichen: Durch das Vorscreening von pharmakologischen Antagonisten in Kulturen von primären Zellkulturen, die aus Schweinehirnen (die Schlachthausabfall darstellen) isoliert werden, können vielversprechende pharmakologische Kandidaten in den Tierversuch aufgenommen werden, während weniger wirksame Verbindungen von einer in vivo Anwendung ausgeschlossen werden. Diese Vorgangsweise hat eine signifikante Reduktion von benötigten Versuchstieren zur Folge. Bei der Erstellung des Versuchsplans wurde auch darauf geachtet, dass alle Versuche mit der geringstmöglichen Belastung und der geringsten Versuchstieranzahl durchgeführt werden um statistisch aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten.

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

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

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

Störungen des Eisenstoffwechsels sind ein häufiges Problem in vielen Bereichen der Medizin. Massive Eisenüberladung kann angeborene oder erworbene Ursachen haben. So führen beispielsweise viele hämatologische Erkrankungen oder die häufige Gabe von Blutkonserven zur systemischen Eisenüberladung, während Eisenüberladung bestimmter Abwehrzellen infolge chronischer Entzündung, Infektionen oder Tumorerkrankungen auftritt. Die körpereigene Abwehr infektiöser Erreger beruht auf dem aufeinander abgestimmten Zusammenspiel verschiedener Typen von Abwehrzellen, das durch direkten Kontakt oder durch lösliche Eiweißmoleküle gesteuert wird. Eisen fördert einerseits die Vermehrung von infektiösen Erregern, und beeinflusst andererseits viele Aspekte der Immunantwort. Immunzellen benötigen ausreichende Mengen an Eisen für die Zellteilung und als Hilfsstoff für eine Reihe von antimikrobiellen Abwehrmechanismen. Andererseits hemmt ein Zuviel an Eisen bestimmte Abwehrmechanismen und verschiebt das Gleichgewicht von entzündungsfördernden und entzündungshemmenden zu Gunsten der letzteren, sodass die Elimination infektiöser Erreger verschlechtert wird.

*zu erwartender Nutzen:* Zusammenfassend soll dieses Projekt helfen, die wechselseitigen Einflüsse von Immunantwort und Eisenstoffwechsel zu erforschen. Die Ergebnisse sind für die Behandlung von Millionen von Menschen mit erblichen Formen der Eisenüberladung, hämatologischen Erkrankungen, regelmäßigem Bedarf an Blutkonserven, chronisch-entzündlichen Erkrankungen, Infektionen oder Tumoren von hoher Relevanz.

*zu erwartender Schaden:* Im Rahmen des Projektes wird eine Infektion mit einem intrazellulären Erreger nachgeahmt. Die Konfrontation mit einem infektiösen Erreger kann im Rahmen der Immunantwort zur Grippe-ähnlichen Symptomen sowie einer kurzfristigen Reduktion der Trinkwasser- und Nahrungsaufnahme der Versuchstiere führen. Jedoch werden unsere Mäuse von geprüften Tierpflegern/Tierpflegerinnen und einem Tierarzt/einer Tierärztin fachgerecht betreut sowie Allgemeinzustand, Trinkwasser- und Nahrungsverbrauch täglich mehrmals kontrolliert.

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

Insgesamt sollen in einem Zeitrahmen von drei Jahren 385 Mäuse in das Projekt eingeschlossen werden.

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

Grundlegende Ergebnisse zum Wechselspiel von Eisenstoffwechsel und Immunantwort können in Zellkulturversuchen (in vitro) gewonnen werden und wurden für das beantragte Tierversuchsvorhaben bereits im Vorfeld sorgsam und detailliert erhoben. Um aber auch das aufeinander abgestimmte Zusammenspiel verschiedener Gruppen von Immunzellen im Falle einer Infektion eines eisenüberladenen Wirtsorganismus mit einem eisenabhängigen Erreger zu erforschen und zu verstehen, sind ergänzend auch in vivo Versuche mit Mäusen notwendig. Um möglichst wenige Mäuse in das Projekt einschließen zu müssen, aber auch gleichzeitig eine verwertbare statistische Aussage tätigen zu können, werden die Tierzahlen anhand ähnlicher Projekte berechnet. Außerdem führen eine genaue Datenaufzeichnung und die Messung von möglichst vielen Parametern dazu, dass die Versuche nicht unnötigerweise wiederholt werden müssen.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. März 2018 vorgesehen.

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

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

Die Alzheimer Erkrankung ist durch Ablagerung von beta-Amyloid (A $\beta$ ) Plaques im Gehirn gekennzeichnet. Es wird vermutet, dass eine reduzierte Elimination von A $\beta$  aus dem Gehirn zur Ablagerung dieser Plaques beiträgt. Es wurde gezeigt, dass Adenosine triphosphate-binding cassette (ABC) Transporter, welche in Endothelzellen der Blut-Hirn Schranke exprimiert sind, A $\beta$  vom Gehirn ins Blut transportieren können. Eine Reihe von Studien lässt vermuten, dass die Aktivität des ABC Transporters P-glykoprotein (ABCB1) an der Blut-Hirn Schranke von Alzheimer Patienten herabgesetzt ist. ABCB1 kooperiert mit einem zweiten ABC Transporter an der Blut-Hirn Schranke, dem Breast Cancer Resistance Protein (ABCG2), indem es gemeinsame Substrate aus dem Gehirn transportiert. Angesichts dieser Kooperation zwischen ABCB1 und ABCG2, sowie weiterer Daten die darauf hinweisen dass ABCG2 an der Blut-Hirn Schranke von Alzheimer Patienten als mögliche Kompensation für eine verminderte ABCB1 Expression hinaufreguliert ist, ist es von großem Interesse die Rolle von ABCG2 in der Alzheimer Erkrankung zu untersuchen. In vorliegendem Projekt wollen wir das nicht-invasive bildgebende Verfahren der Positronen-Emissions-Tomographie (PET) dazu verwenden um erstmals in vivo die Funktion von ABCG2 an der Blut-Hirn Schranke von einem Alzheimer Maus Modell (5xFAD) und gleichaltrigen Kontrolltieren zu untersuchen. Zusätzlich werden wir in vitro die Expression von ABCG2, ABCB1 und A $\beta$  im Mausgehirn bestimmen. Dieses Projekt wird dazu beitragen die Rolle von ABCG2 in der Pathophysiologie der Alzheimer Erkrankung aufzuklären und die Kooperation zwischen ABCB1 und ABCG2 in der Elimination von A $\beta$  aus dem Alzheimer Gehirn besser zu verstehen. Die aus diesem Projekt hervorgehenden Resultate werden dazu beitragen ABCG2 als Biomarker für eine frühzeitige Diagnose der Alzheimer Erkrankung und als möglichen neuen Angriffspunkt zur Therapie der Alzheimer Erkrankung zu etablieren.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

140 Mäuse, zum Großteil gentechnisch verändert.

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

*Replacement-Vermeidung:* Ein Drittel der Studie wird mittels in vitro Methoden durchgeführt.

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

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Beurteilung, Erkennung, Regulierung oder Veränderung physiologischer Zustände bei Menschen, Tieren oder Pflanzen

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

Adenosin spielt eine zentrale Rolle im Energiehaushalt des menschlichen Körpers. Dabei wirkt es im Gesunden über vier verschiedene Rezeptoren. Jedoch wird speziell der Adenosin-3 Rezeptor (A3R) auch oft von verschiedensten Tumoren (Melanom, Dickdarm-, Brust-, Kleinzelliges Lungen- und Pankreaskarzinom, Lymphknotenmetastasen) vermehrt ausgebildet. Deshalb stellt dieser Rezeptor eine vielversprechende Zielstruktur für die Diagnose mit Bildgebung von Krebserkrankungen dar. Hierzu wurde bereits ein passender Ligand für den A3R beschrieben. Dieser Ligand FE@SUPPY bindet mit hoher Bindungsstärke am menschlichen A3R, wohingegen er an den anderen Rezeptoren nicht bindet. FE@SUPPY stellt daher einen vielversprechenden Kandidaten dar, um radioaktiv markiert als Tracer für die Positronen-Emissions-Tomographie (PET) eingesetzt zu werden. PET ist ein spezielles bildgebendes Verfahren, das zurzeit zur Diagnostik von Tumorerkrankungen sowie zur Metastasensuche angewandt wird. Da sich der humane A3R deutlich vom A3R in Nagetieren unterscheidet und FE@SUPPY nur am humanen A3R bindet, ist es von äußerster Wichtigkeit in einem "xenograft"-Modell zu arbeiten. Deshalb sollen im geplanten Tierversuch immundefizienten SCID Mäusen humane Tumorzellen transplantiert werden. Wenn die Tumorzellen einen Tumor ausbilden, ist die diagnostische Bildgebung mittels PET/CT zur anatomischen Ko-Registrierung geplant.

*zu erwartender Nutzen:* Entwicklung eines neuartigen PET-Tracers zur spezifischen Bildgebung von Tumoren in der Humanmedizin.

*zu erwartender Schaden:* Die Konzentration des Radiopharmakons (trägerfreie Zubereitung) ist so gering, dass keine pharmakologischen oder toxikologischen Wirkungen zu erwarten sind (nanomolare Stoffmenge).

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

48 Mäuse

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

Zur Vermeidung wurden vorab intensiv moderne und dem aktuellen Kenntnisstand der Wissenschaft entsprechende *in vitro* Versuche durchgeführt. Die nun vorgestellten *in vivo* Versuche sind vor einer erstmaligen Applikation im Menschen unerlässlich. Zur Verminderung jeglichen Leidens von der Geburt bis zum Tod werden, wie in der Versuchsplanung beschrieben, die modernsten experimentellen Methoden eingesetzt. Durch die Standardisierung sämtlicher Einflussgrößen wie Hygiene, Versuchstierhaltung und aller Versuchsbedingungen wird die Variabilität vermindert, weshalb geringere Tierzahlen benötigt werden. Zur Verfeinerung der Versuche werden angemessene Methoden zur Anästhesie, Analgesie und Schmerzlinderung angewandt. Weiters wird streng darauf geachtet, Tiere, die nicht vollkommen gesund sind, von jeglichen Experimenten auszuschließen: so wird jede Maus vor Experimenten genau auf Hinweise etwaiger gesundheitlicher Probleme untersucht (Körpergewicht, Porphyrinflecken im Augen-, Mund- und Nasenbereich, Zeichen von Diarrhoe). Nur augenscheinlich vollkommen gesunde Mäuse werden dann für die Experimente herangezogen.

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

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

Ziel des Projekts ist es, mittels 3D-Druck Schädelimplantate direkt im Operationssaal herzustellen. So ist eine präzise und schnelle Fertigung der Implantate möglich, die direkt auf den jeweiligen Patienten zugeschnitten werden können. Zusätzlich dazu sollen neue Materialien entwickelt werden, die ebenfalls mittels 3D-Druck zu Implantaten gemacht werden können. Um diese neu gedruckten Implantate mit bereits kommerziell erhältlichen Implantaten vergleichen zu können, müssen sie vor dem Einsatz im Patienten mittels Tierversuch ausgetestet werden.

*zu erwartender Nutzen:* Mit Hilfe dieses Tierversuchs wird es möglich sein, kommerziell erhältliche mit 3D-gedruckten Implantaten zu vergleichen. Aussagen über Inflammationsparameter oder Immunantwort des Körpers werden möglich sein. Bei einem positiven Ergebnis können die Implantate in klinischen Studien am Patienten getestet werden.

*zu erwartender Schaden:* Im Normalfall sollte für die Versuchstiere kein bleibender Schaden entstehen. Die Operation und der Einsatz der Implantate erfolgt unter Anästhesie durch einen Biologen, der bereits langjährige Erfahrung mit Tierversuchen, im Speziellen mit Operationen am Schädelknochen hat. Die weiteren Untersuchungen während der Lebenszeit der Tiere erfolgen mit bereits etablierten Methoden, die das Tierleid auf ein Minimum begrenzen. Zusätzlich dazu werden die Tiere mit Antibiotika und Schmerzmitteln behandelt.

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

Die geplante Fragestellung ist nur im Tiermodell mittels Sprague-Dawley Ratten zu etablieren. Insgesamt werden für dieses Projekt 235 Ratten benötigt.

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

*Vermeidung:* Eine Vermeidung des beantragten Tierversuchs ist nicht möglich, da die Fragestellung nur in vivo zu beantworten ist. Die neu entwickelten Implantate müssen auf Inflammationsparameter und Immunantwort des Körpers zuerst im Tier ausgetestet werden, bevor sie in einer klinischen Studie am Patienten zum Einsatz kommen können.

*Verminderung:* Es wird großer Wert darauf gelegt, die Versuche nur mit jener minimalen Anzahl an Ratten durchzuführen, die statistisch notwendig ist, um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten. Gleichzeitig werden, wann immer möglich, mehrere Parameter bestimmt, um zusätzliche Versuche zu vermeiden und das vorhandene biologische Material optimal zu nützen. Dies wird durch die genaue Planung des Versuchsablaufs und das optimale Ausnutzen aller Ressourcen erreicht.

*Verfeinerung:* In diesem Antrag geht es um die Austestung von 3D-gedruckten Implantaten für den Schädelbereich. Dafür werden die Tiere operiert, um ihnen ein Implantat in die Schädeldecke einzusetzen. Die Operationen werden von erfahrenen Biologen durchgeführt, durch die Gabe von Antibiotika und Schmerzmitteln werden eventuell auftretende Schmerzen und Infektionen verhindert. Die Versorgung der Tiere erfolgt durch ausgebildete Tierpfleger und die Tiere werden 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*

In den letzten Jahren hat der Konsum der sogenannten "Energy drinks", welche Zusätze von Taurin und Koffein enthalten, weltweit stark zugenommen. Obwohl der Aufnahme von Taurin und Koffein enthaltenden Lebensmittel zahlreiche positive Effekte, wie erhöhte Aufmerksamkeit, zugeschrieben werden, gibt es auch Besorgnis über mögliche schädliche Auswirkungen auf die menschliche Gesundheit. Ein direkter Zusammenhang konnte bisher, mangels verfügbarer experimenteller Studien, jedoch noch nicht nachgewiesen werden.

Ziel dieser Studie ist es die Langzeitfolgen des anhaltenden Verzehr von Taurin und Koffein auf gezielte Verhaltensparameter, wie u.a. Angstverhalten und Motorkoordination, im Mausmodell zu untersuchen.

*zu erwartender Nutzen:* Aus den Ergebnissen dieser Studie könnten erstmals Hinweise auf möglicherweise beeinträchtigenden Effekte des wiederholten Konsums einer sehr beliebten Art von Getränken auf entscheidende, für die psychische und physische Gesundheit relevante, Funktionen des menschlichen Gehirns gewonnen werden.

*zu erwartender Schaden:* Da sich Verhaltensbeurteilungen nur in einem lebenden Organismus erfolgen können, muss eine kohärente Batterie an Verhaltenstests mit unterschiedlichem Belastungsgrad, an Mäusen durchgeführt werden.

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

70 Wildtyp Mäuse

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

*Vermeidung:* Wissenschaftliche Untersuchungen zu den Auswirkungen spezifischer Substanzen auf das Verhalten und die Charakterisierung des entsprechenden Phänotyps können, *per definitionem*, nur am lebenden Tiere erfolgen. Es handelte sich also, im Einklang mit dem Anspruch des TV-Gesetzes um die Beurteilung von, für die menschliche Gesundheit relevanter Fragen, die im tiermedizinischen Experiment untersucht werden, welche sich nicht durch Ersatzmethoden überprüfen lassen.

*Verminderung:* Die Anzahl der verwendeten Tiere wird möglichst gering gehalten, da Tiere aus einem homogenen genetischen Background stammen und unter standardisierten Bedingungen gehalten werden. Gleiches gilt für den Ablauf der Experimente, die unter ebenfalls standardisierten Bedingungen durchgeführt und ausgewertet werden. Weiters ermöglicht eine *a priori* Fallzahlberechnung, die niedrigstmögliche Zahl an Tieren einzusetzen, welche es noch ermöglicht, aussagekräftige Ergebnisse mit statistischer Relevanz liefern zu können.

*Verfeinerung:* Die oben beschriebenen Tests zur Verhaltensuntersuchung stellen weithin etablierte Methoden dar, die in unserem Labor mit langer Erfahrung und ausgewiesener Expertise nach international anerkannten Protokollen durchgeführt werden.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. Mai 2018 vorgesehen.

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

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

Ziel der vorliegenden Studie ist es, ein Mikrodialysemodell zur kontinuierlichen Probenahme im Kaninchenauge einzusetzen, um Substanzen testen zu können, die die Aufnahme von Medikamenten in das Patientenaug verbessern.

Pharmakologische Messungen von Substanzkonzentrationen in der Vorderkammer und im Glaskörper des Auges gestalten sich wegen der besonderen Anatomie und Physiologie dieses Organs schwierig. Die Messung eines verabreichten Wirkstoffs im Blut lässt nur bedingt Rückschlüsse auf die Konzentration im Inneren des Auges zu. Dies macht eine Probenahme direkt am Wirkort notwendig. Da das Kaninchenauge dem des Menschen ähnlich ist, wird meist diese Tierart für Untersuchungen am Auge herangezogen. Im Rahmen von präklinischen Studien zur Untersuchung der Sicherheit und Wirksamkeit einer Substanz wird bei der konventionellen Datenerhebung von zeitlichen Konzentrationsverläufen im Auge eine große Anzahl an Versuchstieren benötigt, um die zur Erstellung eines Wirkstoffprofils benötigten Daten zu erhalten. Der Einsatz der Mikrodialyse bringt eine deutliche Reduktion der verwendeten Versuchstiere bei gleichzeitiger Steigerung der gewonnenen Datenmenge.

*zu erwartender Nutzen:* Die in diesem Projekt gesammelten Daten zu Änderungen der Arzneimittelaufnahme in das Auge können verwendet werden, um die Behandlung von Augenerkrankungen zu verbessern.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Die invasive chirurgische Prozedur der Implantation der Mikrodialysesonden sowie die kontinuierliche Probenahme erfolgen unter Vollnarkose und Analgesie. Die lange Narkosedauer wird von den Versuchstieren im Allgemeinen gut toleriert, mit fortschreitender Narkosedauer kommt es jedoch erfahrungsgemäß zu einem Abfall der Herzfrequenz und des Blutdrucks.

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

84 weibliche Kaninchen (New Zealand White)

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

*Vermeidung:* Es steht derzeit kein ausreichend komplexes in vitro Ersatzmodell für pharmakologische Messungen im Kammerwasser und dem Vitreus zur Verfügung, um durch die kontinuierliche Messung im Zielorgan einen kompletten zeitlichen Konzentrationsverlauf eines Individuums zu erstellen.

*Verminderung:* Eine Fallzahlberechnung zur Reduktion der benötigten Gruppengrößen bei gleichzeitigem Erhalt von aussagekräftigen Ergebnissen wurde durchgeführt. Die angewandte Methode ermöglicht eine deutliche Verminderung der notwendigen Tierzahlen im Vergleich zu konventionell eingesetzten Probenahmeverfahren.

*Verfeinerung:* Die zu applizierenden Versuchssubstanzen gelten auf Grund von in der Literatur beschriebenen Tests als unbedenklich. Alle Haltungs- und Versuchsbedingungen sind standardisiert, um die Streuung der Versuchsergebnisse möglichst gering zu halten. Die Projektmitarbeiter sind im Umgang mit den Tieren und in der Durchführung der Eingriffe geschult und geübt.

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

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

Ziel des Projektes ist gemäß § 5 des TVG 2012 die translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten oder anderen Anomalien oder deren Folgen bei Menschen, Tieren oder Pflanzen. Der Versuch bedingt keine Operationen. Die Belastung der 620 eingesetzten Mäuse wird als „gering“ eingestuft.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

620 Mäuse

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

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

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

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

Jedes Jahr erleiden in Österreich nahezu ein Prozent aller Neugeborenen eine Hirnschädigung unterschiedlichen Schweregrads. Durch Fortschritte in der intensivmedizinischen Versorgung konnten die Überlebensraten der betroffenen Kinder in den letzten Jahrzehnten erheblich verbessert werden, das Risiko für Folgeschäden mit zum Teil lebenslangen Behinderungen ist jedoch nach wie vor hoch. Bislang existiert keine wirksame medikamentöse Behandlung, um diese Folgeschäden zu verhindern.

Unsere Arbeitsgruppe beschäftigt sich mit der Entwicklung von Therapiestrategien zur Verhinderung bzw. Verminderung der Hirnschädigung bei Neu- und Frühgeborenen, wobei besonderes Augenmerk auf eine rasche Anwendbarkeit in der Klinik gelegt wird. Bevor jedoch Studien an Neugeborenen durchgeführt werden können, ist eine eingehende Untersuchung der vielversprechenden Substanzen im Zellkultur- und Tierversuch unerlässlich. Im vorliegenden Projekt soll in einem Mausmodell untersucht werden, ob durch die Gabe zweier körpereigener Substanzen das Ausmaß der Schädigung im unreifen Gehirn verringert werden kann.

*zu erwartender Nutzen:* Das vorliegende Projekt bringt einen Erkenntnisgewinn und stellt einen wesentlichen Schritt in Richtung der Entwicklung von wirksamen Therapiemöglichkeiten zur Verringerung von Hirnschädigungen bei Neugeborenen dar.

*zu erwartender Schaden:* Es erfolgt ein operativer Eingriff an den Versuchstieren unter Narkose mit zusätzlicher lokaler Betäubung.

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

Die maximal erforderliche Zahl beläuft sich auf 420 Mäuse.

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

*Vermeidung:* Beide im Rahmen des Projektes zum Einsatz kommenden Substanzen wurden in unserem Labor bereits eingehend in der Zellkultur untersucht. Hierbei erbrachten sie äußerst vielversprechende Ergebnisse. Der Beweis eines günstigen Effektes am lebendigen Objekt ist jedoch noch ausständig und vor einem Einsatz in der Klinik unerlässlich.

*Verminderung:* Um die Anzahl der erforderlichen Versuchstiere so gering wie möglich zu halten, erfolgt ein schrittweises Vorgehen. Weiterführende Untersuchungen werden nur durchgeführt, wenn die Voruntersuchungen vielversprechende Ergebnisse erbringen. Zudem werden zwei Substanzen zeitgleich in verschiedenen Dosierungen untersucht, um Folgestudien zu verhindern und die Anzahl an Kontrolltieren so gering wie möglich zu halten.

*Verfeinerung:* Während der gesamten Projektdauer werden umfassende Maßnahmen ergriffen, um die Belastung für die Versuchstiere so gering wie möglich zu halten. Die Tiere werden unter artgerechten Bedingungen gemeinsam mit dem Muttertier gehalten. Es erfolgen regelmäßige Kontrollen durch eigens ausgebildete Tierpfleger. Die Dauer der Eingriffe wird so kurz wie möglich gehalten. Während sämtlicher Eingriffe erfolgt ein entsprechendes Wärmemanagement; alle Eingriffe werden nur nach vorhergehender lokaler Betäubung unter Narkose durchgeführt.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): 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 die Detektion von Biomarkern für melanozytäre Tumore im Blut von Hunden und Katzen und dadurch die Möglichkeit einer minimalst invasiven Diagnosemöglichkeit dieser Tumore. Des Weiteren ist es das Ziel dieser Studie diese Biomarker für einen Diagnostest dann zu Nutzen zu machen.

*zu erwartender Nutzen:* Krebs ist auch in der Veterinärmedizin einer der häufigsten Todesursachen beim Patienten. Jeden Tag stehen Veterinärmediziner vor dem Problem, dass der Tumor zu spät entdeckt wurde und eine Therapie dadurch aussichtslos wird. Das feline diffuse Irismelanom stellt hier den Veterinärmediziner vor ein noch größeres Dilemma: eine einfache Feinnadelbiopsie ist hier nicht möglich, d.h. selbst wenn dieser maligne Tumor frühzeitig entdeckt wird, ist eine fundierte Diagnose dessen unmöglich. Die einzige Therapiemöglichkeit bei dieser Art von Tumor ist die Enukleation des betroffenen Auges. Ohne die Möglichkeit einer fundierten Diagnose, ist eine Enukleation immer ein Wagnis. Ob es sich tatsächlich um einen Tumor gehandelt hat, lässt sich dementsprechend erst nach einer erfolgten Enukleation durch eine pathohistologische Untersuchung beantworten. Eine häufig sehr früh einsetzende Metastasierung des feline diffusen Irismelanoms führt zu Metastasen selbst 1-3 Jahre nach erfolgter Enukleation. Deswegen ist es das Ziel dieses Projekts, Biomarker für melanozytäre Tumore bei Hunden und Katzen, insbesondere für das feline diffuse Irismelanom, im Blutkreislauf des Patienten zu detektieren und diese für eine minimalinvasive Möglichkeit der Diagnosestellung nutzen zu können. Des Weiteren können diese Biomarker auch zur Diagnose möglicher Metastasen und für das Therapiemanagement genutzt werden. Ergebnisse dieser Studie kommen direkt dem Patienten und seinem Wohlbefinden zu Gute.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Der zu erwartende Schaden ist für die Tiere sehr gering. Lediglich die möglichen Komplikationen bei und nach einer Blutabnahme, wie Blutungen, Hämatome sowie eine mögliche Vaskulitis kommen dabei in Frage.

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

Für die Studie werden 105 Hunde und 105 Katzen beprobt.

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

*Vermeidung:* Es werden lediglich Blutproben von den Tieren unter größtmöglicher Stressvermeidung entnommen. Muss bei den Tieren eine therapeutisch indizierte Operation durchgeführt werden, wird die Blutabnahme nach dem Setzen eines Verweilkatheters entnommen um dadurch eine zusätzliche Belastung beim Tier zu vermeiden.

*Verminderung:* Durch eine genaue Planung des Projekts wird die Anzahl der Tiere auf ein Minimum reduziert.

*Verfeinerung:* Mit den erarbeiteten Protokollen wird dafür gesorgt, dass eine einmalige oder ggf. zweimalige Blutabnahme ausreichend ist für unsere Studie.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Forschung zur Artenerhaltung

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

*zu erwartender Nutzen:* Das Birkhuhn (*Tetrao tetrix*) steht auf der roten Liste für bedrohte Tierarten. Versuche bedrohte Populationen durch Auswilderung von in menschlicher Obhut gezüchteten Tieren zu stützen sind bisher zu wenig erfolgreich. In diesem Versuch soll das Verhalten und der Energiehaushalt von Birkhühnern nach der Auswilderung mittels Telemetrie überwacht werden, um den Auswilderungsprozess durch wissenschaftliche Erkenntnisse zu optimieren. Dazu wird ein erprobtes System zur Erfassung von Herzschlagrate, Körpertemperatur, Bewegungen und Aufenthaltsort von Tieren angewendet. Die Birkhühner werden mit diesen Geräten ausgestattet um zu erforschen, wie sich der Aufenthalt in verschiedenen Lebensraumtypen und anthropogene Störungen auf die Physiologie der Tiere und damit auf die Überlebenschancen im Winter und auf den Bruterfolg auswirken. Die angestrebten Erkenntnisse werden es ermöglichen das Auswilderungsprozedere und begleitende Maßnahmen zur Lebensraumverbesserung so anzupassen, dass maximaler Erfolg erreicht werden kann.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Das Einfangen der Tiere in den Zuchtvolieren und der Transport zum Auswilderungsort stellen eine geringe, zeitlich begrenzte Stressbelastung dar. Anästhesie und Implantation eines Senders stellen eine mittlere Belastung dar. Der Rucksack und dessen Befestigung stellen eine geringe Belastung dar.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

20 zur Auswilderung gezüchtete Birkhühner (*Tetrao tetrix*). Die Tiere wurden weder vor noch während des Versuchs in anderen Tierversuchen verwendet, dementsprechend besteht keine Wiederverwendung von Tieren. Alle Tiere verbleiben nach Abschluss des Versuches in freier Wildbahn.

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

*Vermeidung:* Der Versuch kann durch alternative Methoden oder Verfahren ohne Einsatz lebender Tiere nicht durchgeführt werden, da das Ziel des Versuches ist, den Schutz der Art zu optimieren. Dazu ist es erforderlich, genau diese Art zu untersuchen und den tierischen Organismus als ganzes in die Untersuchung einzubeziehen und nicht lediglich einzelne Gewebeteile oder Organsysteme.

*Verminderung:* Die beantragten 20 Tiere sind notwendig und ausreichend um alle wissenschaftlichen Fragestellungen im Hinblick auf den Auswilderungserfolg sowie physiologische Parameter des Energiehaushaltes in Abhängigkeit des Habitates und von Störungen beantworten zu können.

*Verfeinerung:* Die verwendeten Methoden zur Erfassung von Herzschlagrate, Körpertemperatur, Bewegungen und Aufenthaltsort von Tieren ermöglichen die detaillierte Evaluierung der Raumnutzung und des Energiehaushaltes. Sie sind in wissenschaftlichen Studien etabliert und stellen ein vielfach erprobtes System dar. Die Erfassung dieser Parameter und somit die wissenschaftliche Überwachung des Auswilderungsprozesses dieser Tierart stellt eine essentielle Grundlage dar, die bisher unbefriedigenden Auswilderungserfolge zu verbessern.

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

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

Ziel des Projektes ist es den Zusammenhang zwischen Schädelhirntrauma, Vitamin B (Thiamin) und Funktionsstörungen der Mitochondrien herauszufinden. Denn es ist bereits bekannt, dass ein nicht-Funktionieren der Mitochondrien oft eine Folge eines Schädelhirntraumas ist. Weiters ist jedoch auch bereits bekannt, dass bei Schädelhirntraumata ein Vitamin B Defizit die Folge ist. Aus diesem Grund soll in dieser Studie untersucht werden, ob eine einmalige Vitamin B Injektion nach Schädelhirntrauma einer Funktionsstörung der Mitochondrien entgegen wirken kann.

*zu erwartender Nutzen:* Dieser Tierversuch wird einen ersten Schritt für einen eventuellen neuen Therapieansatz zur Behandlung von Schädelhirntraumata darstellen. Sollten die ersten Versuche mit Vitamin B die gewünschte Wirkung zeigen, könnte ein weiteres Austesten im Rahmen einer klinischen Studie erfolgen.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Den Versuchstieren wird ein schweres Schädelhirntrauma gesetzt. Da wir jedoch bereits zahlreiche Versuche mit experimentellem Trauma durchgeführt haben, wissen wir aus Erfahrung, dass sich die Tiere bei korrekter Gabe von Schmerzmitteln und Antibiotika wieder vollständig regenerieren können. Sollten trotzdem Schmerzen oder andere unerwartete Probleme auftauchen, werden die Tiere sofort durch fachkundiges Personal euthanasiert, um ihnen jegliches Leid zu ersparen. Durch die Injektion des Vitamin B selbst wird für die Tiere kein Schaden entstehen.

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

Die geplante Fragestellung kann nur im Tiermodell etabliert werden. Zum Einsatz kommen männliche Sprague-Dawley Ratten. Insgesamt werden für dieses Projekt 68 Tiere benötigt.

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

*Vermeidung:* Eine Vermeidung des beantragten Tierversuchs ist nicht möglich, da die Fragestellung nur in vivo zu beantworten ist. Mögliche positive Auswirkungen einer Vitamin B Injektion auf die Funktionalität der Mitochondrien müssen zuerst im Tier ausgetestet werden, bevor sie eventuell in einer klinischen Studie als neuer Therapieansatz im Patienten zum Einsatz kommen.

*Verminderung:* Es wird großer Wert darauf gelegt, die Versuche nur mit der minimalsten, statistisch notwendigen Anzahl von Tieren durchzuführen. In diesem Projekt erfolgt eine einmalige Operation und Traumainduktion, die Opferung und nachfolgenden Analysen werden nur an zwei Zeitpunkten durchgeführt. Auf diese Weise kann die Tierzahl nochmals gering gehalten werden.

*Verfeinerung:* Die Tiere werden von ausgebildeten Tierpflegern versorgt und in regelmäßigen Abständen tierärztlich überprüft. Während der Eingewöhnungszeit der Tiere werden neben standardmäßiger fachkundiger Betreuung durch geschultes Personal zusätzlich zum Wohl der Tiere Enrichment in Form von Nestbaumaterial zur Verfügung gestellt. Weiters werden die Tiere durch vermehrten Kontakt an die Tierpflegerinnen und Projektmitarbeiterinnen gewöhnt, um zusätzlichen Stress zu vermeiden.

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

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

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

Die Bluthirnschranke schützt das Gehirn sehr effektiv vor gesundheitsschädlichen Stoffen. Leider trifft dieser Schutzeffekt auch auf viele Medikamente zu, die daher bei bestimmten Erkrankungen, wie zum Beispiel Epilepsie oder Alzheimer Erkrankung, nicht helfen können. Der Grund liegt entweder darin, dass sie einerseits nicht ins Gehirn gelangen oder aber sehr rasch wieder heraus transportiert werden. Unter anderem dafür verantwortlich ist ein spezielles Protein namens „breast cancer resistance protein“ (BCRP, Gen: ABCG2). Wenn man schon möglichst früh in der Entwicklung eines Medikamentes abschätzen könnte, wie sehr seine Verweildauer im Gehirn von BCRP beeinflusst wird, könnte man sehr viel Zeit, Geld, aber auch Tierleid einsparen. Gegenwärtig wird dies durch Studien an Mäusen und Ratten durchgeführt, wobei in den Versuchstieren, entweder das Bcrp-Gen molekularbiologisch verändert wurde, sodass kein Transporterprotein mehr gebildet werden kann, oder aber die Funktion des Proteins wurde chemisch inhibiert. Leider bestehen hier aber empfindliche Speziesunterschiede hinsichtlich Affinität zu Substanzen und Proteindichte an der Bluthirnschranke zwischen humanen und Maus BCRP. Deshalb wird hier versucht, ein neues Mausmodell, das ein menschliches Gen für BCRP trägt, zu charakterisieren. Verwendet werden neueste bildgebende Methoden, die eine enorme Datenmenge pro Versuchstier liefern, was es erlaubt den Versuch mit einer drastisch reduzierten Anzahl an Versuchstieren durchzuführen. Das Ziel ist es, so dem Zustand, so wie wir ihn beim Menschen finden, möglichst nahe zu kommen, was für alle Beteiligten – erkrankte Personen, behandelnden Ärzten und aber auch den Versuchstieren – große Vorteile bringen soll.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

50 Mäuse, die Hälfte gentechnisch verändert.

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

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

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

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

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

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

Brustkrebs ist in Ländern der industrialisierten Welt die mit Abstand häufigste Krebserkrankung bei Frauen und das Bronchuskarzinom ist eine der häufigsten Todesursachen in Europa und eine effiziente Therapie im metastasierten Stadium der Erkrankung existiert nicht. Für dieses Projekt wurden verschiedene Fusionspeptide entwickelt, die an Rezeptoren auf den Tumorzellen, nicht aber an normale Zellen, binden. Diese Peptide wurden in der Zellkultur ausgetestet und sie haben die Tumorzellen sehr effizient abgetötet, jedoch nicht die normalen Zellen. Der vorliegende Tierversuch hat das Ziel, die Auswirkungen von diesen lytischen Fusionspeptiden und von lytischen Peptid-Fc-Fusionskonstrukten *in vivo* auf das Tumorstadium und die Natürliche Killerzell (NK)-Rekrutierung des Mammakarzinoms und Bronchuskarzinoms zu untersuchen. In einem Pilotversuch soll das Tumorstadium einer Mammakarzinomzelllinie in Nacktmäusen etabliert werden. In weiterer Folge soll diese Zelllinie, als auch eine andere Mammakarzinomzelllinie und drei Bronchuskarzinomzelllinien in der im Pilotversuch bzw. in früheren Versuchen ermittelten Zellzahl in die Flanke von Nacktmäusen verabreicht werden. Nach der Etablierung eines palpablen Tumors sollen die Fusionspeptide und die Peptid-Fc-Fusionskonstrukte i.v. jeden 3. Tag (7 Injektionen) verabreicht werden.

*zu erwartender Nutzen:* Die erwarteten Resultate sollen die Wirkung von lytischen Fusionspeptiden und von lytischen Peptid-Fc-Fusionskonstrukten auf Wachstum des Mammakarzinoms und Bronchuskarzinoms aufklären.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Die Belastung der Tiere ist als mittelgradig einzustufen, wird aber durch klare Abbruchkriterien minimiert.

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

Im vorliegenden Tierversuch werden 282 athymische Nacktmäuse verwendet.

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

Im Sinne der „3R“ werden die Tiere sowohl auf das Tumorstadium als auch auf die NK-Rekrutierung des Tumors untersucht. Dadurch kann der Erkenntnisgewinn aus dem Tierversuch maximiert werden und gleichzeitig die Anzahl der Versuchstiere reduziert werden.

*Vermeidung:* Eine Vermeidung des beantragten Tierversuchs ist nicht möglich, da die Fragestellungen nur *in vivo* zu beantworten sind.

*Verminderung:* Das verwendete Tiermodell ist ein gut etabliertes und akzeptiertes Tumormodell, das Versuche unter standardisierten Bedingungen ermöglicht, die zu einer Verminderung der Streuung der Ergebnisse führen und somit die Zahl der notwendigen Tiere reduziert. Durch die Vorkenntnisse aus mehreren anderen Tierversuchen, kann die Zahl der Tiere zusätzlich gering gehalten werden, da die bereits erhobenen Daten für den vorliegenden Versuch genutzt werden können.

*Verfeinerung:* Auf eine allgemein gute Pflege und Behandlung wird geachtet. Die individuelle Streuung wird durch standardisierte Versuchsbedingungen auf ein Minimum gesenkt, der Stress der Versuchstiere wird minimal gehalten.

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

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

Die Messung der Pharmakokinetik (Weg eines Medikamentes ins Zielgewebe) und der Pharmakodynamik (Wirkung des Medikamentes im Gewebe) wird für das Gehirn bis jetzt mit aufwändigen Methoden und einem hohen Einsatz an Versuchstieren durchgeführt. Eine Alternativmethode soll in diesem Tierversuch angewandt und etabliert werden, welche die Anzahl der benötigten Tiere radikal verringern wird.

*zu erwartender Nutzen:* Ziel der beantragten Studie ist es diese Alternativmethodik als Messmethode bei der Entwicklung von Medikamenten zur Behandlung neurologischer Krankheiten einzusetzen. Vorteil gegenüber etablierten Methoden ist die höhere Qualität der Messungen und eine wesentlich niedrigere Anzahl von benötigten Versuchstieren.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Alle Eingriffe werden von erfahrenem Personal durchgeführt - auftretende Schmerzen werden behandelt und das Wohlbefinden der Tiere wird engmaschig überwacht. Das Töten der Tiere wird ausschließlich von geschultem Personal durchgeführt. Versuche und Tötungen werden nicht in Gegenwart anderer wacher Tiere durchgeführt.

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

540 Ratten und 180 Mäuse

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

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

*Vermeidung:* Das Versuchsziel kann nicht mit anderen Methoden als mit einem Tierversuch erreicht werden weil die zu untersuchenden Parameter (PK ins Gehirn und PD im Gehirn) nur in vivo getestet werden können, weil:

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

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

*Verfeinerung:* Das Handling der Tiere wird ausschließlich von geschultem Personal durchgeführt um den Stress, dem die Tiere ausgesetzt sind, gering zu halten. Die Tiere werden während des gesamten Versuchszeitraums engmaschig überwacht und routinemäßig von Tierärzten auf ihren Gesundheitszustand kontrolliert. Die Tiere haben nachdem sie geliefert werden eine Eingewöhnungszeit von einer Woche, bevor mit dem Versuch begonnen wird. Als Enrichment wird Nestbaumaterial angeboten.

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*

Invasive Pilzinfektionen sind sehr gefährliche Erkrankungen, die von verschiedenen Pilzarten verursacht werden können. Sie treten vor allem bei Patienten mit geschwächtem Immunsystem (Krebspatienten, Organtransplantationen, Verbrennungsoffer, HIV-Infektion ...) auf und enden trotz großer Fortschritte in der medikamentösen Therapie in vielen Fällen tödlich. Für die Behandlung ist es von größter Bedeutung, eine Pilzinfektion möglichst früh zu erkennen und zu diagnostizieren. Je nachdem, um welchen Pilz es sich handelt, kommen unterschiedliche Medikamente zum Einsatz. Wenn die Diagnose falsch ist, kann eine Behandlung mit dem falschen Medikament fatale Folgen haben. Es hat sich gezeigt, dass ein häufig zur Diagnose verwendeter Test möglicherweise nur unzureichend zwischen zwei der gefährlichsten Verursacher von Pilzkrankheiten unterscheiden kann. In der beantragten Studie soll ein neuer Antikörper getestet werden, mit dem diese Unterscheidung verlässlich getroffen werden kann. Der den Tieren zugefügte Schaden besteht darin, dass sie an einer Pilzinfektion erkranken. Dem gegenüber steht der sehr große zukünftige Nutzen einer frühzeitigen und zuverlässigen Diagnose. Wir hoffen, dadurch wesentlich zu einer Senkung der hohen Sterblichkeit bei diesen Pilzerkrankungen beizutragen.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

9 Mäuse

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

*Vermeidung:* Die meisten Experimente für die Studie wurden und werden in vitro, d.h. "im Reagenzglas", durchgeführt (Anzucht der Pilze im Labor, verschiedene Tests mit dem neuen Antikörpers in Pilzkultur-Überständen und an Pilzfäden). Eine völlige Vermeidung von Tierversuchen ist jedoch nicht möglich. Zur Überprüfung, ob der neue Antikörper auch zum Nachweis der Pilze im Gewebe geeignet ist und auch dort zwischen den zwei Pilzen unterscheiden kann, werden Organproben von infizierten Tieren benötigt.

*Verminderung:* Wir beschränken uns in den Versuchen auf das absolute Minimum von 1 oder 2 Mäusen pro Pilzart. Auf die Verwendung mehrerer Tiere pro Bedingung wird bewusst verzichtet. Es werden keine nicht infizierten Kontrolltiere verwendet, sondern konservierte Organe aus früheren Versuchen.

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

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 30. September 2016 vorgesehen.

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

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

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

*2. Art und Anzahl der Tiere*

Die zu untersuchenden Tiere sind 334 Spargue Dawley Ratten im Zeitraum von drei Jahren.

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

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

Eine rückblickende Bewertung ist jährlich, jeweils im Dezember, vorgesehen.

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

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

Diese Studie untersucht die Biodistribution eines neuen Vektors, der zur Impfstoffherstellung entwickelt wird. Dieser Vektor ist basierend auf einem genetisch modifizierten Virus, welches sich im Körper des Impflings nicht vermehren/ausbreiten kann. Um die Sicherheit und Effektivität des Vektors zu untersuchen wird er einmalig i.m. in das Tier appliziert und zu vorher festgelegten Zeitpunkten die Verteilung und Persistenz des Vektors in Organsystemen und im Blut festgestellt.

*Zu erwartender Nutzen:* Erkenntnisse zur Verteilung des Vektors in vivo. Sicherheit in der Entwicklung von Humanimpfstoffen und somit auch eine Sicherstellung der menschlichen Gesundheit.

*Zu erwartender Schaden für das Tier:* Den narkotisierten Tieren wird der Vektor einmalig intramuskulär verabreicht. Aufgrund der intramuskulären Applikation des Vektors wird der Belastungsgrad als mittel eingestuft.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

Es werden 80 Mäuse beantragt.

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

*Vermeidung:* Eine Untersuchung zur Biodistribution in vivo ist im Zuge der Entwicklung von Impfstoffen unerlässlich.

*Verminderung:* Da es noch keine Informationen zur Verteilung und Langzeit-Persistenz des Vektors gibt wurde die Anzahl der Tiere basierend auf Erfahrungen aus früheren, ähnlichen Untersuchungen gewählt.

*Verfeinerung:* Tiere werden standardisiert in Gruppen gehalten und Käfige mit Enrichment ausgestattet. Die Applikation des Untersuchungsmaterials wird unter Inhalationsnarkose durchgeführt und Tiere auf ihren Gesundheitszustand täglich genauestens kontrolliert. Abbruchkriterien sind definiert und werden angewandt um unnötiges Leid zu verhindern.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 29. Februar 2016 vorgesehen.

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

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

Dickdarmkrebs ist eine der häufigsten Krebserkrankungen in Österreich, sowohl bei Männern als auch bei Frauen. Lebensstil und Ernährung gehören zu den Risikofaktoren. Um den Effekt von der Ernährung gab es in den letzten Jahren viele Diskussionen wegen widersprüchliche Ergebnisse großer Beobachtungsstudien. Während einige Studien einen Zusammenhang zwischen Ernährungsfaktoren und Darmkrebs zeigten, sahen andere keine Assoziation. Bei einigen Ernährungsbestandteilen ist man inzwischen sicher, dass sie einen Effekt auf das Darmkrebsrisiko haben. So empfehlen Fachleute eine ballaststoffreiche, fettarme Ernährung. Unsere Studie sollte zeigen ob ungesunde Ernährung (hoher Fettgehalt, wenige Ballaststoffe, niedriger Kalzium-und Vitamin D-Anteil) Dickdarmkrebs Entstehung fördert und ob eine Umstellung auf eine gesunde Diät diesen Prozess verlangsamen könnte.

*zu erwartender Nutzen:* Beweise für die Gefahren der ungesunden westlichen Ernährung zu liefern und bessere Argumente für die Vorteile einer Umstellung der Ernährung zu bekommen.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Das chemische Kanzerogen verursacht eine Entzündung des Darmes, die mit Durchfall und Gewichtsverlust einhergehen kann.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

50 weibliche Balb/c Mäuse.

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

*Vermeidung:* Das Zusammenspiel von Nährstoffen im Darm ist sehr vielfältig und kann durch Experimente in vitro nur unzureichend nachgeahmt werden, die Verwendung unseres Mausmodells scheint uns daher gerechtfertigt zu sein.

*Verminderung:* Durch eine gewissenhafte Standardisierung wird die Streuung der Ergebnisse vermindert und daher eine geringere Anzahl an Tieren benötigt. Es werden gleichaltrige, weibliche und genetisch identische Mäuse eingesetzt. Zur mikrobiellen Standardisierung werden nur gesunde, wurm-und parasitenfreie Tiere verwendet. Um möglichst viel Information aus diesem Experiment zu bekommen, werden wir nicht nur die Auswirkung der Behandlung auf den Darm, sondern auch auf andere Organe (Niere, Pankreas, Leber, Dünndarm) analysieren.

*Verfeinerung:* Da wir an einer geringen Anzahl an Tieren die benötigte Karzinogen-Konzentration bestimmen, welche das Wohlbefinden der Tiere nicht beeinträchtigt, aber dennoch zu prämaligen Läsionen im Darm führt, können wir spätere Komplikationen im Hauptversuch vermeiden. Die maximale Anzahl an Tieren pro Käfig beträgt 8, es ist mit einem Rückzugshäuschen ausgestattet und Nestbau-und Spieltrieb wird durch die Zugabe von adäquatem Nestmaterial befriedigt. Einmal pro Tag wird das Wohlbefinden der Mäuse durch eine Tierpflegerin beurteilt. Die Kontrollgruppe (ohne Karzinogenbehandlung) wird keinerlei Beeinträchtigung haben.

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

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

Unsere Forschungsgruppe befasst sich mit der Entstehung der bisher medikamentös nicht ausreichend behandelbaren Gallenwegserkrankungen wie der primär sklerosierenden Cholangitis (PSC). Ein typisches Merkmal der PSC ist 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. Auf diese Weise soll gezeigt werden, dass die Verringerung des Gallensäuretransportes durch die Leber in den Gallengang, die Entstehung von Gallenwegserkrankungen deutlich verlangsamt bzw. möglicherweise verhindert.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

5120 Mäuse

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

*Vermeidung:* Um die Anzahl der Versuchstiere beziehungsweise der Tierexperimente so gering wie möglich zu halten, werden in vitro Versuche in kommerziell erhältlichen Zelllinien durchgeführt. In diesen Zelllinien wird durch sogenannte „knock down“ Methoden die Expression des 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:* Ein weiterer Punkt für eine Verminderung der Versuchstiere ist die serielle Durchführung der geplanten Experimente. Pilotstudien mit der minimal möglichen Anzahl an Tieren werden durchgeführt. Kann mit diesen Experimenten unsere Hypothese nicht bestätigt werden, werden keine weiteren Versuche durchgeführt.

*Verfeinerung:* Alle angeführten experimentellen Techniken sind in unserem Labor optimiert und werden von erfahrenen Wissenschaftlern durchgeführt, damit das bestmögliche Wohlbefinden für die Versuchstiere gewährleistet werden kann.

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

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

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

Das Projekt dient der translationalen oder angewandten Forschung zur Entwicklung und Herstellung sowie Qualitäts-, Wirksamkeits- und Unbedenklichkeitsprüfung von Arzneimitteln. Die Tiere (Maus, Meerschweinchen, Ratten) werden subcutan, intramuskulär, intraperitoneal oder intravenös immunisiert und geboostert. Blutabnahmen werden, in Abhängigkeit der Tierart, unter Inhalationsnarkose (Maus und Ratte) oder Injektionsnarkose (Meerschweinchen) durchgeführt. Die Arzneimittel sollen der Vorbeugung oder Behandlung potentiell lebensbedrohlicher Erkrankungen dienen, weshalb die Verwendung von 36250 Tieren (35000 Mäuse, 1000 Meerschweinchen, 250 Ratten) im Zeitraum von 5 Jahren gerechtfertigt ist. Das Projekt dient der Gewinnung von Antikörpern für weitere serologische Testungen, wie ELISA und NT. Darüber hinaus dient es der Entwicklung und Etablierung einer FSME Wirksamkeitsprüfung ohne Challenge der Tiere mit Lebendvirus um die Belastung der Tiere und die Risiken für die Operatoren künftig zu reduzieren.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

36250 Tieren (35000 Mäuse, 1000 Meerschweinchen, 250 Ratten) im Zeitraum von 5 Jahren

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

Das Projekt wurde im Hinblick auf Verminderung (Verwendung geringstmöglicher Tierzahlen bei aussagekräftigen Ergebnissen), Verbesserung (in Tierhaltung und Verwendung) geprüft. Das Projekt unterliegt keiner rückblickenden Bewertung, da die Belastung als gering eingestuft wurde.

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

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

Beschreibung von Vertebralosteophyten im Hinblick auf radiologische Charakteristika

Um knöchernen Zubildungen an der Wirbelsäule von Hunden und eine etwaige Beteiligung benachbarter Strukturen radiologisch charakterisieren zu können, muss ein Datenpool gesammelt werden.

*zu erwartender Nutzen:* Um diese Veränderungen besser charakterisieren zu können, wäre zusätzlich zu Röntgenaufnahmen der Einsatz von Schnittbildverfahren für eine komplexere Darstellungsform nutzbringend. Mittels Computertomographie (CT) können Knochenzubildungen morphologisch genauer beschrieben werden. Die Magnetresonanztomographie (MRT) ermöglicht auch entzündliche Veränderungen insbesondere der Gelenke und die Beteiligung der nervalen Strukturen zu detektieren. Das Ausmaß dieser Veränderungen könnte somit gesamtheitlicher erfasst werden und eine genauere prognostische Aussage über die klinische Relevanz von Knochenzubildungen entlang der Wirbelsäule erlauben.

*zu erwartender Schaden:* Es handelt sich um Untersuchungen, welche bei einer erweiterten Diagnostik zu erwarten wären und minimalinvasiv sind. Für diese Untersuchungen ist eine Allgemeinanästhesie sowie eine Blutentnahme notwendig.

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

Es werden 20 Hunde im Zeitraum von zwei Jahren auf Knochenzubildungen entlang der Wirbelsäule mit bildgebenden Verfahren (Röntgen, Computertomographie, Magnetresonanztomographie) untersucht.

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

*Vermeidung:* Falls im Zuge einer diagnostischen Abklärung ein Wirbelsäulenabschnitt abgebildet ist (z.B. Brustwirbelsäule bei Thoraxröntgenaufnahmen, Lendenwirbelsäule bei Abdomenröntgenaufnahmen) wird das Einverständnis des Patientenbesitzers erfragt, diese Aufnahmen verwenden zu dürfen und nicht mehr wiederholt, um doppelte Untersuchungen zu vermeiden.

*Verminderung:* Wenn ein solcher in Frage kommender Patient in geplanter Anästhesie für diagnostische radiologische Untersuchungen bzw. für andere Maßnahmen, welche eine Anästhesie benötigen, vorstellig wird, wird zudem das Einverständnis des Patientenbesitzers bzw. des Anästhesisten für eine Anästhesieverlängerung für die zusätzlichen radiologischen Aufnahmen eingeholt, wodurch eine Neuvorstellung für diese radiologischen Untersuchung nicht mehr nötig wäre.

*Verfeinerung:* Die, wie unter dem Punkt "Verminderung", durchgeführte Anästhesie ermöglicht einem nervösen Tier den individuell empfundenen Stress durch die manuellen Lagerungsmaßnahmen, welche bei der Anfertigung von Röntgenaufnahmen nötig sind, nicht ausgesetzt zu sein.

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

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

Unsere Forschungsgruppe befasst sich mit Entstehung und Behandlung chronisch entzündlicher Gallenwegserkrankungen wie der primär sclerosierenden Cholangitis (PSC) für die es bisher noch keine effektive Therapie (außer der Lebertransplantation) gibt. Ein charakteristisches Merkmal von Gallenwegserkrankungen wie der PSC ist die Anhäufung von Gallensäuren in der Leber und im Körper, welche die Leberzellen zerstören und schwerwiegende Symptome wie den Juckreiz verursachen. Kürzlich wurde ein G-protein gekoppelter Rezeptor (GPCR) welcher durch Gallensäuren aktiviert wird und bei PSC PatientInnen Störungen aufweist entdeckt. Da dieser GPCR auch eine wichtige hemmende Wirkung auf Entzündung und Bindegewebsbildung in der Leber hat, haben wir uns zum Ziel gesetzt seine Rolle in der Entwicklung von Gallengangsentzündungen im Mausmodell zu untersuchen.

Zu diesem Zweck wird in Mäusen in denen der Rezeptor entweder fehlt oder verstärkt vorhanden ist der Verlauf von entzündlichen Gallengangsschädigungen untersucht. Dadurch soll gezeigt werden dass dieser Rezeptor der Entzündung und Bindegewebsbildung bei chronisch entzündlichen Gallenwegserkrankungen vorbeugt. Da seit kurzem auch Medikamente verfügbar sind, welche diesen Rezeptor stimulieren, entstehen durch diese Untersuchungen auch neue Perspektiven für die medikamentöse Behandlung chronisch entzündlicher Gallenwegs Erkrankungen wie der PSC.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

Transgene Tiere: 280

Nicht transgene Tiere: 280

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

*Vermeidung:* Um die Anzahl der Versuchstiere bzw. der Tierexperimente so gering wie möglich zu halten werden wir in vitro Versuche in kommerziell erhältlichen Zelllinien durchführen. In diesen Zelllinien wird durch sogenannte „knock down“ Methoden die Expression des „Genes of Interest“ verringert. Spezifische mechanistische Fragestellungen können mit diesem Zellkulturmodell beantwortet werden.

*Verminderung:* Ein weiterer Punkt für eine Verminderung der Experimentaltiere ist die serielle Durchführung der geplanten Experimente. Kann im ersten Experiment unsere Hypothese nicht bestätigt werden, werden die zusätzlich angeführten Versuche nicht durchgeführt.

*Verfeinerung:* Alle angeführten experimentellen Techniken sind in unserem Labor etabliert und werden von erfahrenen Wissenschaftlern durchgeführt. Die Versuchstiere werden unter regelmäßiger Beobachtung stehen und falls es Anzeichen für schlechte körperliche Verfassung bzw. Schmerzen gibt werden sie umgehend euthanasiert.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. Mai 2018 vorgesehen.

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

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

Dieser Test überprüft die Reinheit (das Freisein von spezifischen, biologischen Kontaminationen) von diploiden Zelllinien, die für die Herstellung von Human-, und Veterinärarzneien verwendet werden. Dabei wird eine definierte Menge an Untersuchungsmaterial in das Tier appliziert und diese anschließend über einen bestimmten Beobachtungszeitraum auf ihre Gesundheit überwacht.

*zu erwartender Nutzen:* Sicherheit in der Produktion von Human-, und Veterinärarzneimitteln/ Impfstoffen und somit auch eine Sicherstellung der menschlichen und tierischen Gesundheit.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Das Untersuchungsmaterial wird über maximal zwei Injektionsrouten einmalig ins Versuchstier appliziert. Es besteht die Möglichkeit, dass Tiere eine Infektion durchlaufen. Der Belastungsgrad wird als gering eingestuft.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

Es werden 936 Mäuse beantragt.

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

*Vermeidung:* Die Gesetzgebung schreibt die Überprüfung von biopharmazeutischen Produkten vor, es werden nur die Untersuchungen durchgeführt, die erforderlich sind.

*Verminderung:* Die Gruppengrößen sind nach der Pharmakopöe definiert. Es werden nur die erforderlichen Tiere für den Test eingesetzt.

*Verfeinerung:* Tiere werden standardisiert in Gruppen gehalten und Käfige mit Enrichment ausgestattet. Abbruchkriterien sind definiert und werden angewandt um unnötiges Leid 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*

Das Projektziel ist die Erforschung, Entwicklung und Evaluierung von neuartigen Impfstoffkandidaten zur Behandlung von (nosokomialen) Infektionskrankheiten in Patienten unterschiedlichen Alters, da weltweit auftretende, oft multi-resistente „Superkeime“ diesbezüglich ein schwerwiegendes Problem darstellen. Der Vergleich der humanen Krankheitsverläufe in jungen und älteren Patienten erlaubt den Schluss, dass gerade in älteren Menschen diese Infektionen in großem Ausmaß letal enden. Dies als auch die limitierten Behandlungsmöglichkeiten bedeuten eine signifikante Belastung für das bestehende Gesundheitssystem.

Das humane, klinische Bild dieser Erkrankungen kann wesentlich durch Verwendung von vernünftig aufgesetzten Tiermodellen, welche die Impfstoffentwicklung erst ermöglichen, repliziert werden. Aus diesem Grund liegt der zu bemessende Schaden in Bezug auf die Versuchstiere wesentlich unter dem zu erwartenden Nutzen der zu erwartenden Versuchsergebnisse sowie dem Wohl der Patienten. Die zur Anwendung kommenden Mausmodelle repräsentieren sehr gut etablierte Testsysteme, die weltweit für Wirksamkeitsstudien herangezogen werden.

Bei den geplanten Experimenten ist die voraussichtliche Belastung der Versuchstiere im Fall von subletalen Modellen als „leicht“ bis „mittel“ beziehungsweise im Fall letaler Modelle als „schwer“ zu bemessen.

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

In der Studienzeit von 2 Jahren werden maximal 1.920 Mäuse (wildtyp) verwendet, deren Alter zu Versuchsbeginn in etwa zwischen dem 3. und 24. Lebensmonat liegt.

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

Die geplanten Versuche konnten aufgrund international anerkannter Methoden und hoch-moderner Optimierungen sowie aus Ergebnissen vorangegangener Tierversuche auf ein notwendiges Minimum an einzusetzenden Versuchstieren reduziert werden. Im Rahmen dieser Versuche wird allen Anforderungen Rechnung getragen, die zur Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung der Tiermodelle im Sinne der „3R“ beitragen.“

Eine rückblickende Bewertung ist jährlich, jeweils im Dezember, vorgesehen.

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

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

Die Alzheimersche Erkrankung ist eine schwere neurodegenerative Erkrankung des Gehirns, einhergehend mit massivem Verlust der Wahrnehmung, der Erinnerung und des Gedächtnisses. Der größte Risikofaktor ist das Alter (>60 Jahre) und mehr als 95% aller Alzheimererkrankungen sind erworben (sporadisch), sodass die Zahl der Patienten in den nächsten 50 Jahren dramatisch zunehmen wird. Pathologisch ist diese Krankheit charakterisiert durch Beta-Amyloid Ablagerungen im Gehirn (Plaques), neuronale Einschlüsse von Tau (Tangles), Entzündungen, Schäden von Gefäßen und Nervenzelltod (Azetylcholin). Es gibt zwar Tiermodelle für die Alzheimersche Erkrankung, aber diese sind entweder massiv invasiv oder transgen. Kein einziges dieser Modelle weist jedoch die gesamte Alzheimer Pathologie auf. Weiters ist das transgene Alzheimer Mausmodell ein genetisches "artifizielles" Modell und entspricht keinesfalls der erworbenen (sporadischen) Alzheimer Erkrankung.

In diesem folgenden Projekt sollen Mäuse multiplen chronischen milden Stimuli langfristig ausgesetzt werden, die in Summe eine gesamte Alzheimerpathologie erzeugen sollen. Diese Stimuli wurden so gewählt, dass diese über den gesamten Versuchszeitraum von 2 Jahren eine Alzheimerähnliche Pathologie in der Maus erzeugen.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

Es werden für diesen Versuch 160 Mäuse (C57BL/6N) über einen Zeitraum von 5 Jahren verwendet.

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

Im Sinne der 3Rs wird darauf verzichtet, Einzelstimuli zu testen, da dies die Anzahl der verwendeten Mäuse dramatisch erhöhen würde. Weiters wird alles unternommen, um die Belastung der Tiere zu minimieren (Gruppenhaltung, Käfige mit Rückzugsplätzen, Schokocreme Motivation beim Verhalten). Dieser Tierversuch ist als mittelschwer einzustufen, es werden 80 Mäuse als Kontrollen verwendet und 80 Mäuse chronisch milden Stimuli ausgesetzt. Dadurch soll ein neues Tiermodell mit einer Alzheimer-ähnlichen Pathologie erzeugt werden, welches sowohl in diagnostischen oder therapeutischen Grundlagenversuchen angewandt werden kann, aber auch andere massiv belastende Tiermodelle ersetzen kann.

Das Ziel dieses Projektes ist es, ein sporadisches (erworbenes) Alzheimer Mausemodell zu entwickeln, welches alle Alzheimer Pathologien enthält. Dies soll eine Basis sein, um die Prozesse zu verstehen die zur Alzheimerdemenz führen, und um damit bessere therapeutische Anwendungen am Menschen entwickeln 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 erfolgreiche Behandlung knöchernen bzw. knöchern-ligamentärer Verletzungen bedarf häufig der Verwendung von körperfremden Materialien, ob als Osteosynthesematerial, oder in Form von Interferenzschrauben oder Fadenankern. Nach erfolgter Heilung ergibt sich häufig die Indikation zur Entfernung des Osteosynthesematerials, wodurch eine Folge-Operation mit denselben Risiken wie bei der primären Operation und dem zusätzlichen Risikos einer Re-Fraktur notwendig wird. Durch die Verwendung von bioresorbierbaren Materialien könnte das Risiko und die Belastung der Folgeoperation, bzw. das Risiko durch das Verbleiben des Materials im Körper minimiert werden. Magnesiumlegierungen stehen im Fokus der Forschung, da sie vielversprechende Eigenschaften diesbezüglich besitzen.

*zu erwartender Nutzen:* Bevor solche Materialien am Menschen eingesetzt werden können müssen ihre Eigenschaften ausführlich am Tier getestet werden, wobei Resorption und Biokompatibilität der verwendeten Materialien nur in-vivo untersucht werden können.

*zu erwartender Schaden:* Ziel des beantragten Tierversuches ist die vielversprechende neue Legierung in zukünftiger Verwendung als Interferenzschrauben bei Kreuzbandersatz oder als Osteosynthesematerial zu testen. An Schafen wird eine Kreuzbandersatz-Operation durchgeführt und bioresorbierbare Interferenzschrauben aus der neuen Legierung zur Befestigung des Sehnentransplantates verwendet. Des Weiteren wird das Resorptionsverhalten bioresorbierbarer Platten ohne weitere Belastung der Versuchstiere getestet, um einen größtmöglichen Erkenntnisgewinn zu erzielen.

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

40 Schafe

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

*Vermeidung:* Die entwickelten Materialien wurden ausführlich in in-vitro-Versuchen untersucht. Die Fragestellung dieser Studie kann durch Ersatzmethoden nicht beantwortet werden, da etwaige lokale oder systemische negative Reaktionen auf den Körper bzw. das Resorptionsverhalten nur in vivo untersucht werden können.

*Verminderung und Verfeinerung:* Die Versuche finden unter kontrollierten und standardisierten Bedingungen statt. Sämtliche Eingriffe werden von erfahrenen Chirurgen durchgeführt und erfolgen in Vollnarkose mit anschließender Schmerztherapie.

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

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

Ziel dieses Projektes ist die Etablierung einer minimal-invasiven Methode zur Gewinnung und Analyse von Proteinen aus der Eileiterflüssigkeit. Bis dato wurde Eileiterflüssigkeit entweder *post mortem* oder auf sehr invasive Art und Weise mittels chirurgischer Katheterisierung gewonnen. In dieser Studie soll demnach eine neue, weniger invasive Methode geprüft werden, in der Bestandteile der Eileiterflüssigkeit mittels Mikrovehikel gebunden und so der *in vitro* Analyse zugänglich gemacht werden sollen. Diese Mikrovehikel werden mittels transvaginaler Endoskopie im Eileiter abgesetzt und wieder herausgespült.

*zu erwartender Nutzen:* Im Gegensatz zur Gewinnung der Eileiterflüssigkeit wird durch diese Methode die Reizung des Eileiters vermindert, folglich sollte die Qualität und Quantität der Eileiterflüssigkeit möglichst wenig beeinflusst werden um sie in ihrer physiologischen Form analysieren zu können.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Bei der hormonellen Zyklussynchronisation und der transvaginalen Endoskopie handelt es sich um etablierte, minimal-invasive Verfahren, die mit geringem Belastungsgrad für die Tiere beurteilt werden.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

Es werden 60 Rinder beprobt.

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

*Vermeidung:* Ein Tierversuch ist zur *in vivo* Gewinnung und Analyse der Proteine in der Eileiterflüssigkeit des Rindes unabdingbar. Im Vorfeld wurden *in vitro* bereits zahlreiche Untersuchungen durchgeführt.

*Verminderung:* Bei diesem Pilotexperiment wird sequentiell vorgegangen (zuerst Etablierung der technischen Machbarkeit und besten Methode, danach ein Experiment um die biologische Variabilität zu ermitteln). Die Fallzahl wurde so gewählt, damit die Zahl der belasteten Versuchstiere gering bleibt und trotzdem die Aussagekraft nicht kompromittiert wird.

*Verfeinerung:* Es wird erstmals eine minimal-invasive Methode verwendet, um sich Zugang zum Eileiter für die Analyse der Eileiterflüssigkeit zu verschaffen. Die transvaginale Endoskopie stellt eine deutliche Entlastung der Tiere dar. Es entfällt der operative Eingriff über die Flanke oder Mediane und die damit verbundene Anästhesie und postoperative Belastung. Dank der Verwendung von Mikrovehikeln kann erstmals auf die gewebereizende Gewinnung der Eileiterflüssigkeit *per se* verzichtet werden.

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

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

Ziel dieser Studie ist es, bei Rindern einen neu entwickelten oral zu verabreichenden Azidose Bolus, bestehend aus Calciumhydroxid und Dicalciumphosphat auf seine Schleimhautverträglichkeit hin zu überprüfen. Dazu stehen die klinische Untersuchung, die endoskopische Untersuchung und die histologische Untersuchung einer Gewebsprobe aus dem Ösophagus zur Verfügung.

*zu erwartender Nutzen:* Werden im Rahmen dieser Versuchsreihe keine Schäden der Ösophaguswand sowohl klinisch, endoskopisch und histologisch festgestellt, so kann künftig mit diesem Bolus eine Pansenazidose bei adulten Rindern auf einfache Weise therapeutisch begleitet werden. Da die Pansenazidose beim Rind eine ernsthafte Erkrankung darstellt und auch für zahlreiche Folgeschäden verantwortlich ist, ist eine wirkungsvolle Therapie nicht nur von medizinischer sondern auch von wirtschaftlicher Bedeutung.

*zu erwartender Schaden:* Das Risiko einer auftretenden Schädigung der Ösophaguswand durch den Bolus wird aufgrund der chemischen Zusammensetzung des Bolus und seiner Wirkungsweise als sehr gering eingeschätzt.

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

Diese Pilotstudie wird an 10 adulten, klinisch gesunden, nicht trächtigen Rindern, geboren in Österreich, durchgeführt. Als adulte Tiere werden Rinder ab einem Lebensalter von 2 Jahren angesprochen.

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

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

*Verminderung:* Die Anzahl der Tiere (n =10) ist so gering wie möglich gewählt, um ein statistisch abgesichertes und aussagekräftiges Ergebnis im Rahmen dieser Pilotstudie zu erhalten.

*Verfeinerung:* Es wurden die derzeit zur Verfügung stehenden modernsten und praktisch möglichen Untersuchungsverfahren gewählt, die es ermöglichen diese Fragestellung auch zu beantworten. Die Endoskopie stellt hier als nicht invasives bzw. minimal invasives (Biopsie unter Sicht) bildgebendes Verfahren eine optimale diagnostische Untersuchungsmethode dar. Die Untersuchungszeitpunkte (endoskopische Untersuchung) wurde so gewählt, dass die Erkennung von pathologischen Veränderungen möglich ist, aber gleichzeitig auch die Belastung für das Tier am geringsten ist.

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

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

Das Projekt dient der translationalen oder angewandten Forschung zur Entwicklung und Herstellung sowie Qualitäts-, Wirksamkeits- und Unbedenklichkeitsprüfung von Arzneimitteln. Die Behandlungen am Tier sind Immunisierungen subcutan oder intramuskulär, Blutabnahmen in Inhalationsnarkose und eine Virusbelastung (Challenge ) intraperitoneal. Daraufhin werden die Mäuse drei Wochen auf Anzeichen von Krankheiten beobachtet. Erkrankten die Tiere wird entsprechend der SOP "Humane endpoints" euthanasiert. Darüber hinaus wird der Test in Hinblick auf einen möglichen Ersatz der derzeitigen in vivo Methode durch einen in vitro Test evaluiert. Das Arzneimittel soll der Vorbeugung oder Behandlung potentiell lebensbedrohlicher Erkrankungen dienen, weshalb die Verwendung von 25 000 Tieren (Mäusen) im Zeitraum von 5 Jahren gerechtfertigt ist.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

25 000 Tieren (Mäuse) im Zeitraum von 5 Jahren

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

Das Projekt wurde im Hinblick auf Verminderung (Verwendung geringstmöglicher Tierzahlen bei aussagekräftigen Ergebnissen), Verbesserung (in Tierhaltung und –verwendung) geprüft. Die komplette Vermeidung ist aufgrund der Komplexität der Erkrankung und Therapie nicht möglich. Das Projekt unterliegt keiner rückblickenden Bewertung, da die Belastung als mittel eingestuft wurde.

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

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

Temporallappenepilepsie ist die häufigste und am schwierigsten zu behandelnde fokale Epilepsie beim Menschen und betrifft ca. 30% aller Epilepsiepatienten. Sie wird meist durch einen initialen Insult (früh-kindlicher Fieberanfall, Schädel-Hirn-Trauma, Tumor, Status epilepticus) induziert, manifestiert sich aber oft erst nach vielen Jahren. Bei einem hohen Prozentsatz (30 -40%) der betroffenen Patienten wirken Antiepileptika nicht oder nur unzureichend. Eine chirurgische Entfernung des epileptischen Herdes ist nur für einen Teil der betroffenen Patienten eine Option und führt meist zu einem Ansprechen der Patienten auf die nachfolgende pharmakologische Therapie. Die Ursachen und die Mechanismen, die zur Entstehung der Temporallappenepilepsie führen sind nur unzureichend untersucht. Eine nähere Kenntnis dieser Mechanismen würde fundamental zur Etablierung von medikamentösen Therapien während der Epileptogenese (also vor Ausbrechen der Epilepsie), als auch für die manifeste Temporallappenepilepsie beitragen.

*zu erwartender Nutzen:* Das Projektziel ist nähere Kenntnisse der Mechanismen der Epileptogenese und damit neue Konzepte zur antiepileptischen Therapie zu erhalten.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Die Belastung der Mäuse besteht in einer einmaligen stereotaktischen Injektion des viralen Vektors und Setzung eines telemetrischen Transmitters. Anschließend wird das EEG in den Mäusen bis zu 28 Tage aufgezeichnet. Es werden ca. ein bis sieben kurze Anfälle (Dauer: 10 sec) pro Woche erwartet.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

Insgesamt werden für die auf 3 Jahre angelegten Versuchsreihen maximal 256 Mäuse verwendet.

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

Die Experimente sind stufenweise geplant. Zwischen jedem Schritt wird die Zahl der im nächsten Versuch zu verwendenden Tiere evaluiert (Vermeidung, Verminderung). Nach den Operationen und während der EEG-Aufzeichnungen werden die Tiere täglich visitiert und auf ihren Gesundheitszustand untersucht. Zeigen sie einen Gewichtsverlust oder motorische Beeinträchtigung werden sie sofort aus dem Versuch genommen. Es werden elektrophysiologische Untersuchungen an Hirnschnitten durchgeführt, die die EEG.Ableitungen zum Teil ersetzen (Verfeinerung, bzw. Vermeidung).

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 28. Februar 2018 vorgesehen.

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

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

Das Kurzdarmsyndrom beschreibt eine Erkrankung, bei der aus verschiedensten Gründen zu wenig Darm für eine regelrechte Verdauung und Entwicklung vorhanden ist. Kinder und Erwachsene mit Kurzdarmsyndrom leiden sehr häufig an schweren Infektionen (Sepsis), die in vielen Fällen auch tödlich enden kann. Es ist bisher nicht bekannt, ob die Zusammensetzung der Bakterien in den verschiedenen Abschnitten des Verdauungstraktes von Patienten mit Kurzdarmsyndrom Unterschiede zu gesunden Individuen aufweist. Weiters bleibt unbekannt wie die Mikrozirkulation des Dünndarmes bei Patienten mit Kurzdarmsyndrom verändert ist. Ziel dieser Versuche ist es daher, Veränderungen der bakteriellen Zusammensetzung verschiedener Abschnitte des Verdauungstraktes im Rahmen von Kurzdarmsyndrom zu untersuchen und zu erforschen, ob die veränderte Zusammensetzung einen Einfluss auf die Mikrozirkulation des Dünndarms im Rahmen von Sepsis und Kurzdarmsyndrom hat.

*zu erwartender Nutzen:* Die Resultate aus diesen Versuchen werden dazu beitragen, das Kurzdarmsyndrom in Zukunft besser zu verstehen und damit behandeln zu können.

*zu erwartender Schaden:* Zur Untersuchung der oben genannten Parameter wird an den Tieren ein Kurzdarmsyndrom ausgelöst. Die Tiere werden danach flüssig ernährt, dennoch aber an Gewicht verlieren. Die darauffolgenden Versuche vier Wochen nach dieser Operation werden ohne Wiederherstellung der Lebensfunktion durchgeführt.

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

Für diese Untersuchungen werden 490 Mäuse verwendet.

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

*Vermeidung:* Da die *in vivo* Durchblutung der Organe nur an lebenden Mäusen untersucht werden kann, ist eine Durchführung von Tierversuchen in diesem Falle unumgänglich.

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

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

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

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

Der Waldrapp *Geronticus eremita* gehört zur der Familie der Ibisvögel (Threskiornithidae) und ist eine vom Aussterben bedrohte Vogelart. Im Freiland existiert nur noch eine Gruppe von ca. 400 Vögeln in einem recht eng begrenzten Gebiet in Marokko. Dieser Bestand ist geschützt und hält sich vorwiegend im Sous Massa Nationalpark auf und wird durch regelmäßiges Monitoring überprüft. Eine halb-wilde Kolonie von ca. 120 Vögeln besteht noch in der Türkei, die allerdings halbjährig in einer Voliere gehalten wird. In europäischen Tiergärten werden ca. 1200 Vögel gehalten, die Abkömmling von Importen aus den 1950er Jahren sind. Seit ca. 1980 wird in vielen Tiergärten erfolgreich nachgezüchtet. Allerdings wurden in den Anfangsjahren kaum die Brutpaare notiert, sodass eine genaue Herkunft der Vögel, der Elterntiere oder erfolgreicher Zuchtlinien an Hand der Tierkarteien nicht mehr eruierbar ist. Deshalb wird die Zoopopulation durch populationsgenetische Methoden untersucht, um einerseits den aktuellen Zustand der genetischen Diversität von Zoo- und Wildpopulationen zu bestimmen, andererseits mit Hilfe von DNA Sequenzierung die Herkunft der Zoo-Tiere zu überprüfen und letztlich durch Untersuchung von Kandidaten-Genen zu testen, ob es eine Anpassung an die Haltungsbedingungen erfolgte. Die Ergebnisse werden wesentliche Beiträge für das Erhaltungszuchtprogramm als auch für die Wiederansiedlung dieser Art zu leisten. Für die Analyse muss den Tieren nur einmalig wenige Tropfen Blut entnommen werden.

*zu erwartender Nutzen:* Es soll ein genetischer Fingerabdruck jedes Individuums erstellt werden und eine Klärung der Verwandtschaftsverhältnisse ermöglicht werden.

*zu erwartender Schaden:* Es ist nicht zu erwarten, dass die Tiere Schaden nehmen.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

Der Eingriff wird an insgesamt 26 Individuen der Gattung Waldrapp *Geronticus eremita* durchgeführt.

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

*Vermeidung:* Nicht möglich, weil Blut für die detaillierte Analyse benötigt wird.

*Verminderung:* Einmalige Aktion, geringe Blutmenge notwendig.

*Verfeinerung:* Vögel werden am Fangort geblutet und umgehend in die Kolonie zurückgesetzt, kein Abtransport.

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 Literatur gibt Hinweise, dass Sonic Hedgehog und Idian Hedgehog eine wichtige Rolle in der Skeletogenese spielen. Diese Studien sind zum größten Teil in vitro Studien, bis dato gibt es kaum in vivo Untersuchungen. Durch die Resultate dieser Arbeit erhoffen wir die Knochenbruchheilung zu beschleunigen und zu optimieren. Die aus dieser Studie gewonnen Erkenntnisse sollen neue Ansatzpunkte in der Therapie von Pseudoarthrosen und der Knochenbrüchen beim Menschen ermöglichen. In der geplanten prospektiven Tierstudie wird an Mäusen die Wirkung der beiden Substanzen auf Knochendefekte bei sonst fachgerechter medizinischer Versorgung und Schmerzbehandlung untersucht. Im weiteren Verlauf werden Röntgenaufnahmen und Computer Tomographie (CT) zur Kontrolle durchgeführt. Letztlich werden die Tiere eingeschläfert und biomechanische und biochemische Untersuchungen durchgeführt.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

120 erwachsene weibliche Mäuse (C57Bl6)

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

*Vermeidung:* Die Literatur gibt uns Hinweise dass Sonic Hedgehog und Idian Hedgehog eine wichtige Rolle in der Skeletogenese spielen. Zur konkreten Frage der Wirkung dieser Substanzen bei Knochenbrüchen gibt es bis dato keine klaren in vivo Untersuchungen. Diese Studie soll diese Lücke schließen.

*Verminderung:* Die Operation sowie sämtliche Nachuntersuchungen werden nach einem standardisierten Protokoll durchgeführt. Die Anzahl / Fallzahlplanung der dafür notwendigen Tiere wurde im Vorhinein durch statistische Berechnungen festgelegt.

*Verfeinerung:* Das Projekt verwendet ein etabliertes international akzeptiertes Mausmodell und berücksichtigt alle Anforderungen zur Vermeidung, Verminderung und Verbesserung der Untersuchungen. Der Projektleiter sowie die projektbeteiligten Personen sind erfahrene Chirurgen und haben Erfahrung mit tierexperimentellen Studien. Sämtliche Eingriffe erfolgen unter Vollnarkose und Analgesie. Die postoperative Behandlung erfolgt nach einem standardisierten Regime.

Eine rückblickende Bewertung ist bis 30. September 2018 vorgesehen.

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

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

Bei Stuten kommt es zu einer hohen Rate von Frühträchtigkeitsverlusten. Diese sind zumindest teilweise auf eine reduzierte Toleranz des mütterlichen Immunsystems gegenüber paternalen, d.h. vom Hengst stammenden Antigenen zurückzuführen. In der geplanten Studie soll daher eine Beteiligung regulatorischer T-Lymphozyten (Tregs) am Erwerb der maternalen Toleranz der Frühträchtigkeit beim Pferd untersucht werden. Zu diesem Zweck werden Tregs im Blut und dem Uterussektret von Stuten nach der Besamung entweder mit Nativsamen oder mit spermienfreiem Seminalplasma gewonnen, quantifiziert und charakterisiert. Außerdem werden Tregs in der Gebärmutter Schleimhaut von Stuten nach der Besamung sowie in der Frühträchtigkeit charakterisiert, lokalisiert und quantifiziert.

*zu erwartender Nutzen:* Es werden die Voraussetzungen für eine therapeutische Stimulierung der maternalen Toleranz gegenüber dem Konzeptus durch eine Exposition zu Seminalplasma geschaffen.

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

*2. Art und Anzahl der Tiere*

Pferde (n=15)

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

*Vermeidung:* Die Untersuchung und Charakterisierung von regulatorischen T-Lymphozyten aus Uterussekreten bzw. Endometriumsbiopsaten nach "Insemination" in wiederholten Sexualzyklen sowie bei tragenden Stuten ist nur an lebenden Tieren (Stuten) möglich.

*Verminderung:* Durch die Verwendung derselben Pferde in wiederholten Zyklen bzw. zu verschiedenen Zeiten der Trächtigkeit kann die interindividuelle Variabilität herausgerechnet werden und dadurch die Anzahl der Pferde reduziert werden.

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

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

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

Das Projekt dient dem wissenschaftlichen Erkenntnisgewinn in der biomedizinischen Grundlagenforschung. Ziel ist es, diejenigen Gene und Mechanismen zu identifizieren, die für die neuronale Migration verantwortlich sind. Neuronale Migration, also die gerichtete Wanderung von Nervenzellen, ist ein Phänomen, das der Organisation des Säugetier-Gehirns zugrunde liegt. Das Verständnis der Mechanismen, die diese Wanderung regeln, ist sehr wichtig, weil eine Störung in diesem Vorgang beim Menschen zu gravierenden Schädigungen des Gehirns führen kann.

Genetisch veränderte Mäuse sind in idealer Weise dazu geeignet, die Entwicklung des Gehirns und die neuronale Migration zu studieren. Wegen der Ähnlichkeit zum menschlichen Gehirn können nur Säugetiere für diese Untersuchungen herangezogen werden. Die betroffenen, genetisch veränderten Tiere zeigen leichte Koordinationsstörungen bei der Bewegung und eine verminderte Kognition. Sie sind dadurch mittelgradig beeinträchtigt.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

Im Rahmen des Projekts werden Untersuchungen an 6750 Mäusen während der Versuchsdauer von fünf Jahren durchgeführt.

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

Die dem Projekt zugrundeliegende Fragestellungen betreffen die Entwicklung und Organisation des Säugetier-Gehirns. Da dies eine äußerst komplexe Struktur ist, deren Funktion vom zeitlich und räumlich korrekten Zusammenspiel vieler unterschiedlicher Zellarten abhängt, kann das Studium isolierter Zellen oder Gewebe keine Antworten auf diese Fragen liefern. Nur im intakten tierischen Organismus herrschen die Bedingungen, die den Verhältnissen beim Menschen möglichst nahe kommen. Die Zahl der benötigten Tiere und die unangenehmen Empfindungen, denen sie ausgesetzt sind, werden so gering wie möglich gehalten. Wenn Tiere getötet werden müssen, so geschieht dies unter Narkose nach erprobten, weitgehend schmerz- und stressfreien Standardverfahren, wie zum Beispiel der Überdosis eines Betäubungsmittels. Diejenigen Tiere, die durch die Versuche keine langfristigen Schäden davontragen, werden für die weitere Zucht eingesetzt.“

Eine rückblickende Bewertung ist jährlich, jeweils im Dezember, vorgesehen.

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

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

Das Projekt dient der translationalen oder angewandten Forschung zur Entwicklung und Herstellung sowie Qualitäts-, Wirksamkeits- und Unbedenklichkeitsprüfung von Arzneimitteln. Blutabnahmen bei Mäusen, Ratten, Meerschweinchen und Kaninchen.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

Das Arzneimittel soll der Vorbeugung oder Behandlung potentiell lebensbedrohlicher Erkrankungen dienen, weshalb die Verwendung von max. 400 Tieren (100 Mäuse, 100 Ratten, 100 Meerschweinchen und 100 Kaninchen) für 5 Jahre gerechtfertigt ist.

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

Das Projekt wurde im Hinblick auf Verminderung (Verwendung geringstmöglicher Tierzahlen bei aussagekräftigen Ergebnissen), Verbesserung (in Tierhaltung und –Verwendung) geprüft; die komplette Vermeidung ist aufgrund der Komplexheit der Erkrankung und Therapie nicht möglich. Die Zielsetzung des vorliegenden Tierversuchsprojektes mit Aufgabenstellung, geplanten Tierarten und Tierzahlen kann nicht durch wissenschaftlich aussagenkräftige verfügbare und behördlich anerkannte Ersatzmethode erreicht werden.

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

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

*Ziel:* Untersuchung der Schutzfunktion rekombinanter Fiberproteine aviärer Adenoviren.

*zu erwartender Nutzen:* Im vorliegenden Versuch werden Kenntnisse über die Schutzwirkung rekombinanter Kapsidproteine ermittelt. Die Einschlusskörperchenhepatitis der Hühner ist eine verlustreiche Erkrankung, die insbesondere bei Jungtieren zu hohen Verlusten führen kann. Gleichzeitig gibt es Schäden durch subklinische Infektionen, die mit einer Immunsuppression in Verbindung gebracht werden. Die Entwicklung einer Bekämpfungsstrategie hätte erhebliche Auswirkungen, um Impfstoffe für eine Krankheit zu entwickeln, die bis dato nicht prophylaktisch bekämpft werden kann.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Bei nicht geschützten Tieren und Kontrolltieren kann es zu einer Leberschädigung kommen, in deren Verlauf die Tiere sterben können.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

151 spezifiziert pathogenfreie (SPF) Hühner

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

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

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

*Verfeinerung:* Die Tiere werden ihrer Art entsprechend untergebracht und angemessen ernährt. Regelmäßige Beobachtungen, klinische Untersuchungen, Überprüfen des Gesundheitsstatus der Tiere sowie die Festsetzung von Abbruchkriterien sollen protrahiertes Tierleid verhindern bzw. verringern. Treten schwerwiegende klinische Erscheinungen oder die Verweigerung der Futter- und Wasseraufnahme über mehr als 12 Stunden auf, wird das betroffene Tier tierschutzgerecht euthanasiert.

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

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

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

Durch die Verwendung der verschiedenen Diäten (Alkohol-Diät und MCD-Diät), wird eine alkoholische bzw. nicht-alkoholische Lebererkrankung ausgelöst. Aus Erfahrung von früheren Versuchen, können wir davon ausgehen, dass die Wildtyp-Mäuse durch die beiden Diäten keine Schmerzen erleiden. Lediglich durch die von uns gesetzten Eingriffe (Blutabnahme bzw. Gavagen), muss mit milden Schmerzen gerechnet werden.

In Anbetracht von steigender Morbidität und Mortalität in der westlichen Bevölkerung durch, Bluthochdruck, kardiovaskuläre Ereignisse, metabolische Erkrankungen und langjährigen Alkoholabusus ist die von uns geplante Versuchsreihe zum Erkenntnisgewinn der Pathogenese und möglicher Therapieoptionen aus unserer Sicht ethisch vertretbar.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

180 *Mus musculus* für einen Zeitraum von 2 Jahren; die komplette Durchführung der Versuchsreihe erfolgt nur falls die ersten Versuche positiv (d.h. einen Erkenntnisgewinn liefern) verlaufen.

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

*Vermeidung:* Die Entstehung einer (nicht)-alkoholischen Lebererkrankung setzt eine komplexe Interaktion zwischen Mikrobiota, Darmepithel und leberspezifischen Zellen voraus. Es ist zum derzeitigen Zeitpunkt nicht möglich, dieses verflochtene System durch ein in vitro System zu ersetzen.

*Verminderung:* Es 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 Tiere werden in Gruppen gehalten, der Krankheitsverlauf wird beobachtet und klare Abbruchkriterien sind definiert, bei Eingriffen werden die Tiere entsprechend narkotisiert und analgisiert und die Versuche werden zum frühestmöglichen 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*

Die Diagnostik mittels Hornhaut- und Bindehautzytologie ist ein beim Pferd häufig angewandtes Verfahren, das routinemäßig im Rahmen der Augenuntersuchung durchgeführt wird. Die so gewonnenen Proben enthalten eine Vielzahl an intakten Zellen, jedoch wird für gewöhnlich das Zellgefüge zerstört und eine relative Quantifizierung der Zellen im Labor ist schwierig. Ziel der Studie ist die derzeitige invasive Untersuchungsmethode durch ein weniger belastendes, verbessertes diagnostisches Verfahren zu ersetzen.

*zu erwartender Nutzen:* Die zu untersuchende Methode könnte in Zukunft die derzeit verwendete invasivere Routineuntersuchung ersetzen.

*zu erwartender Schaden:* Es werden keine bis geringe Belastungen erwartet. Ein unangenehmes Gefühl nach Nachlassen der Wirkung des Lokalanästhetikums kann nicht ausgeschlossen werden.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

Fünf Pferde.

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

*Vermeidung:* Die Anwendung des diagnostischen Verfahrens kann nur sinnvoll am lebenden Pferd geprüft werden.

*Verminderung:* Die herkömmliche invasive Untersuchungsmethode, mit der die neue Methode verglichen wird, kann gering belastend sein. Die zu erwartenden Unterschiede zwischen den Methoden sind relativ gering. Durch die Verwendung eines gepaarten Testdesigns (statistische Einheit: Auge) wird die interindividuelle Variabilität ausgeschaltet, sodass die statistische Planung deshalb fünf Pferden vorsieht.

*Verfeinerung:* Vermeidung von Stress: Die Pferde werden zur Probenentnahme in ihrer gewohnten Umgebung belassen und nicht von ihren Artgenossen getrennt. Schmerzen werden durch Anwendung eines Lokalanästhetikums vermieden. Manipulationen am Auge werden nur von qualifizierten Expertinnen durchgeführt, um eine zusätzliche Belastung durch ungeübte Personen 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*

*zu erwartender Nutzen:* Ziel des Projektes ist es, in einem Xeno-Transplantations-Modell, in welchem primäre humane Leukämiezellen in immundefizienten Mäuse injiziert werden, eine neue hochwirksame (potentiell kurative) Kombination von anti-leukämischen Medikamenten zu identifizieren. Speziell handelt es sich um die Chronisch Myeloische Leukämie (CML) und neue spezifische Stammzellinhibitoren. Eine neue Kombinationstherapie soll das Anwachsen der transplantierten humanen Leukämiezellen im Knochenmark der Mäuse verringern und durch die spezifische Stammzellwirkung zu einer anhaltenden Unterdrückung der Erkrankung führen.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Die notwendige Belastung der Tiere beschränkt sich auf eine intravenöse Injektion der humanen Leukämiezellen und der Verabreichung der Medikamente durch intraperitoneale Injektion. Am Versuchsende werden die Tiere euthanasiert und das Ausmaß des Anwachsens der humanen Leukämiezellen in den blutbildenden Organen (Knochenmark, Milz) untersucht. Die erwartete Belastung entspricht maximal dem Grad "mittel".

*2. Art und Anzahl der Tiere*

Für die Untersuchung werden 90 adulte Mäuse eingesetzt.

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

*Vermeidung:* Die Unterdrückung der Besiedlung des Knochenmarks durch die transplantierten Leukämiezellen kann nur im intakten Organismus getestet werden. Ein in vitro Testverfahren steht nicht zur Verfügung.

*Verminderung:* Der Versuch wird mit Zellen von drei Patienten durchgeführt. Pro Behandlungsgruppe werden 5 Tiere eingesetzt, was dem absoluten Minimum entspricht.

*Verfeinerung:* Alle geplanten Behandlungen sind soweit verfeinert, dass nur ein Teil der Tiere über einen längeren Zeitraum täglich eine Injektion bekommt, was einer mittelgradigen Belastung entspricht.

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

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

Das Myelo-Dysplastische Syndrom (MDS) ist eine Blutkrebserkrankung die durch eine absolute Zellarmut im peripheren Blut, durch eine Ansammlung von dysplastischen Vorläuferzellen im Knochenmark, sowie durch eine hohe Wahrscheinlichkeit in eine Akute Myeloische Leukämie (AML) zu transformieren gekennzeichnet ist. Unsere deskriptiven Untersuchungen von Gesunden und MDS Patienten sowie funktionelle Studien in Zelllinien suggerieren eine funktionelle Bedeutung des CAR Gens um MDS Entstehung zu verhindern. Um nun die in vivo Bedeutung von CAR hinsichtlich MDS zu klären, wollen wir ein Mausmodell verwenden, in dem CAR exklusiv und induzierbar im Knochenmark von erwachsenen Tieren ausgeschaltet werden kann (genetischer knockout).

*zu erwartender Nutzen:* Mit diesem Model wollen wir die Entstehung des Myelo-Dysplastischen Syndroms (MDS) erforschen, um auch mögliche neue Wege der Therapie zu eröffnen.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Die Tiere entwickeln genetisch bedingt im unterschiedlichen Ausmaß MDS/Leukämie. Nach definierten Abbruchkriterien werden die schmerzlos getötet, die eigentlichen Untersuchungen erfolgen postmortal in-vitro.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

Insgesamt 500 Mäuse unterschiedlichen Genotyps

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

Die Tiere werden unter standardisierten SPF-Bedingungen gehalten, somit werden die Streuung der Ergebnisse und notwendige Anzahl der Tiere deutlich vermindert. 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, die MDS-/Leukämiezellen entnommen und in vitro untersucht. Es werden daher keine Experimente am lebenden Tier durchgeführt.

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

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

Das Projekt dient der translationalen oder angewandten Forschung zur Entwicklung und Herstellung sowie Qualitäts-, Wirksamkeits- und Unbedenklichkeitsprüfung von Arzneimitteln. Das Projekt dient der Gewinnung von nativen Seren für die Etablierung von Nullwerten und dem Monitoring des Gesundheitsstatus der Tiere in einem Tierraum, weshalb die Verwendung von 500 Tieren (Mäusen) gerechtfertigt ist. Die Tiere (Mäuse) werden ein- bis mehrmaligen Blutabnahmen unter Inhalationsnarkose unterzogen.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

500 Mäuse

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

Das Projekt wurde im Hinblick auf Verminderung (Verwendung geringstmöglicher Tierzahlen bei aussagekräftigen Ergebnissen), Verbesserung (in Tierhaltung und –verwendung) geprüft. Die Belastung ist als gering eingestuft und unterliegt keiner rückblickenden Bewertung.

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

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

*Ziel:* Untersuchung der Schutzfunktion rekombinanter Fiberproteine aviärer Adenoviren.

*zu erwartender Nutzen:* Im vorliegenden Versuch werden Kenntnisse über einen möglichen genetischen Einfluss der Versuchstiere auf eine Adenovirusinfektion untersucht. Die Ergebnisse dienen primär dazu, die Pathogenese der Erkrankung in einem verlässlichen Tiermodell zu überprüfen. Untersuchungen über den möglichen genetischen Einfluss des Wirtes auf die Infektion sind von höchster Bedeutung, für die Reproduktion der Erkrankung und zur Entwicklung von Bekämpfungsstrategien.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Bei nicht geschützten Tieren und Kontrolltieren kann es zu einer Leberschädigung kommen, in deren Verlauf die Tiere sterben können.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

160 spezifiziert pathogen-freie (SPF) Hühner

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

*Vermeidung:* Ein Tierversuch ist in diesem Fall unerlässlich, da die Auswirkung eines genetischen Einflusses der Tiere auf die Infektion untersucht werden sollen. Dieses Ziel ist mit Alternativmethoden nicht zu erreichen.

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

*Verfeinerung:* Die Tiere werden ihrer Art entsprechend untergebracht und angemessen ernährt. Regelmäßige Beobachtungen, klinische Untersuchungen, Überprüfen des Gesundheitsstatus der Tiere sowie die Festsetzung von Abbruchkriterien sollen protrahiertes Tierleid verhindern bzw. verringern. Treten schwerwiegende klinische Erscheinungen oder die Verweigerung der Futter- und Wasseraufnahme über mehr als 12 Stunden auf, wird das betroffene Tier tierschutzgerecht euthanasiert.

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

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

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

Neuartige Blutpumpen mit einem neuen Konzept der Herz-Kreislaufunterstützung, welche minimal invasiv bei Patienten mit Herzschwäche eingesetzt werden sollen, müssen nicht nur auf ihre hämodynamische Effizienz, sondern auch auf eine mögliche Blutschädigung untersucht werden. Das Ziel dieses Versuchsantrages ist es, die Blutschädigung in einem künstlichen Kreislauf unter kontrollierbaren Bedingungen zu prüfen. Dafür soll Blut von Rindern abgenommen werden und im künstlichen Kreislauf untersucht werden.

*zu erwartender Nutzen:* Das Design der Pumpen, besonders des "Blutantriebs" kann so getestet und modifiziert werden, bevor es in einem Tierversuch getestet und für den klinischen Einsatz am Menschen optimiert wird.

*zu erwartender Schaden:* Die Belastung der Tiere (Rind) während und nach der Blutabnahme ist als gering einzustufen. Die Blutabnahmen werden durch qualifiziertes Personal durchgeführt. Die entnommene Blutmenge ist so gewählt, dass für die Tiere kein Schaden entsteht. Jedes Tier wird maximal zweimal pro Jahr zur Blutentnahme herangezogen, um eine ausreichende Blutbildung zu gewährleisten

*2. Art und Anzahl der Tiere*

9 adulte Rinder

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

*Vermeidung:* Durch diese in-vitro Untersuchungen am Kreislaufmodell wird die notwendige Anzahl von Studien an Versuchstieren deutlich vermindert, sodass Studien am Versuchstier erst nach Optimierung der Pumpen in Frage kommen.

*Verminderung:* Durch die gewählte Anzahl der Tiere soll eine zweimalige Blutentnahme/Jahr am Einzeltier vermieden werden.

*Verfeinerung:* Stress und Schmerzen der Kühe werden während der Blutentnahmen so gering wie möglich gehalten und durch die gewählte Tierzahl sollen die Tiere möglichst nicht zweimal im Jahr für diese Blutentnahme herangezogen werden.

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

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

In der geplanten Studie sollen bei Stuten mesenchymale Stammzellen aus endometrialen Biopaten gewonnen werden. Zu diesem Zweck werden endometriale Biopsien zu unterschiedlichen Zeitpunkten des ovariellen Zyklus entnommen und daraus endometriale mesenchymale Stammzellen nach bereits etablierten Verfahren gewonnen. Die Zellen werden *in vitro* kultiviert und mittels verschiedener Techniken im Hinblick auf eine mögliche therapeutische Anwendung bei Stuten mit endometrialen Veränderungen charakterisiert

*zu erwartender Nutzen:* Es werden die Voraussetzungen für eine therapeutische Verwendung endometrialer mesenchymaler Stammzellen bei Stuten mit degenerativen und entzündlichen Erkrankungen der Gebärmutter Schleimhaut geschaffen.

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

*2. Art und Anzahl der Tiere*

Pferde (n=16)

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

*Vermeidung:* Die Untersuchung und Charakterisierung der gewonnenen Zellen der endometrialen SVF zu unterschiedlichen Zeitpunkten des ovariellen Zyklus von Stuten ist nur an lebenden Tieren möglich.

*Verminderung:* Durch die Verwendung derselben Pferde zu unterschiedlichen Zeitpunkten im Zyklus kann die interindividuelle Variabilität herausgerechnet werden und dadurch die Anzahl der Pferde reduziert werden.

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

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

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

Das Projekt dient der translationalen oder angewandten Forschung zur Entwicklung und Herstellung sowie Qualitäts-, Wirksamkeits- und Unbedenklichkeitsprüfung von Arzneimitteln. Das Arzneimittel soll der Vorbeugung oder Behandlung potentiell lebensbedrohlicher Erkrankungen dienen, weshalb die Verwendung von 10000 Mäusen, 2000 Ratten und 500 Kaninchen gerechtfertigt ist. Die maximale Belastung wird als „mittel“ eingestuft, es erfolgt keine rückblickende Bewertung.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

10000 Mäusen, 2000 Ratten und 500 Kaninchen

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

Das Projekt wurde im Hinblick auf Verminderung (Verwendung geringstmöglicher Tierzahlen bei aussagekräftigen Ergebnissen), Verbesserung (in Tierhaltung und –verwendung) geprüft; die komplette Vermeidung ist aufgrund der Komplexität der Erkrankung und Therapie nicht möglich.

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

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

*zu erwartender Nutzen:* Das aktuelle Forschungsprojekt beschäftigt sich mit der Analyse der Krankheitsmechanismen bei Mäusen die eine progressive Gehirnkrankheit ähnlich wie der Mensch entwickeln. Wir wollen die Entwicklung neuen Therapiemöglichkeiten für diese unheilbare menschliche Gehirnkrankheit untersuchen. Wir hoffen durch unsere Erkenntnisse zukünftig die Therapie von Patienten ermöglichen zu können.

*zu erwartender Schaden:* Um die neuen Behandlungen bei Mäusen zu ermöglichen, werden ganz kleine minipumpen unter dem Haut implantiert. Die notwendigen operativen Eingriffe werden unter Narkose durchgeführt, gefolgt von der Gabe von Schmerzmittel, damit die Mäuse unter keine Schmerzen leiden. Die geplanten Blutabnahmen um Blutwerte zu kontrollieren, werden maximal 2 Tropfen Blut monatlich innerhalb 12 Monate pro Maus in Anspruch nehmen.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

Im aktuellen Projekt ist die Verwendung von bis zu 580 Mäusen über den Zeitraum von vier Jahren geplant.

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

Alle Experimente sind nach dem 3R-Prinzip (Replacement (Vermeidung), Refinement (Verfeinerung), Reduction (Verringerung)) geplant und durchgeführt. Es wird während der gesamten Versuchsdauer großer Wert darauf gelegt, dass Stress und Leiden der Mäuse so gering wie möglich gehalten werden. Alle Mäuse werden in Gruppen gehalten und täglich von geschulten TierpflegerInnen sorgfältig betreut und tierärztlich überwacht.

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

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

*zu erwartender Nutzen:* Genetisch veränderte Labortiere werden als wichtige Modelle in vielen Bereichen der biomedizinischen Forschung benötigt. Im Rahmen des Projektes sollen Labormäuse gezüchtet werden, die sich dadurch auszeichnen, dass sie eine spontan entstandene oder gentechnisch induzierte Mutation in ihrem Erbgut tragen die das Immunsystem der Tiere beeinflusst. Die genetisch veränderten Tiere dienen als Modelle in verschiedenen Bereichen der biomedizinischen Forschung.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Die genetischen Veränderungen in Erbfaktoren des Immunsystems können die Immunantwort im Fall einer Infektion herabsetzen oder ausschalten. Unter speziellen hygienischen Haltungsbedingungen erfahren die betroffenen Tiere jedoch keine Belastung und benötigen keine speziellen Behandlungen.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

Es werden 1220 Mäuse pro Jahr über einen Zeitraum von 5 Jahren eingesetzt, was einer Gesamtzahl von 6100 Labormäusen (*Mus musculus*) entspricht. Der prognostizierte Belastungsgrad „gering“ trifft nur für den hypothetischen Fall einer unbeabsichtigten Infektion zu.

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

*Vermeidung:* Die Zucht kann nicht durch Ersatzmethoden vermieden werden.

*Verminderung:* Die Zucht und Betreuung der Tiere erfolgt durch erfahrenes Personal. Zuchtziele und Tierzahlen werden so festgelegt, dass möglichst nur die gewünschten Genotypen in entsprechender Menge produziert werden.

*Verfeinerung:* Einer Ausprägung des immunologischen Phänotypes wird durch die Aufstallung in einer SOPF-Barrierhaltung in IVC-Käfigen vorgebeugt. Methoden zur individuellen Kennzeichnung werden dem Zweck entsprechend und wenig belastend durchgeführt.

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

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

*zu erwartender Nutzen:* Die Kurse dienen dem Ausbildungstraining von Chirurgen in minimal-invasiv herzchirurgischen Techniken. An narkotisierten Schweinen werden verschiedene Routineoperationen von jungen Chirurgen durchgeführt um entsprechende Fertigkeiten für die Eingriffe an humanen Patienten am Tiermodell zu erlernen. Der Nutzen für den Patienten ist groß, da technische Operationskomplikationen durch die Ausbildung der Chirurgen am Tier reduziert werden und auch die Operationszeiten reduziert werden.

*zu erwartender Schaden:* Die Tiere werden in Vollnarkose operiert (Akutversuche) und noch in Narkose eingeschlafert, somit mit einer sehr geringen Belastung der Tiere einhergehend.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

Schweine, n=102 in 3 Jahren

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

*Vermeidung:* Die chirurgischen Techniken werden zuvor an Ersatzmodellen trainiert.

*Verminderung:* Es ist aber anschließend notwendig die Operationen am lebenden Organismus durchzuführen. Es wird die minimale Anzahl an Tieren verwendet. Mehrere Chirurgen bilden ein Operationsteam und können die Eingriffe an einem Tier trainieren.

*Verfeinerung:* Die Versuche finden unter standardisierten 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*

Die Verwendung von dentalen Implantaten zur oralen Rehabilitation nach Zahnverlust ist ein etabliertes Verfahren in der Zahnheilkunde. Häufig kommt es aber nach Zahnextraktionen zur Atrophie des Kieferkammes wodurch die Anwendung der Implantate erschwert wird. Durch einen Knochenaufbau mit Knochenersatzmaterialien kann die Implantatinsertion erleichtert werden. Häufig müssen aber bei größeren Defekten neben dem Knochenersatzmaterial zusätzlich noch körpereigene Knochentransplantate aus anderen Kieferregionen oder aus dem Beckenknochen verwendet werden. Dies bedeutet für den Patienten einen zweiten Eingriff, der mit zusätzlichen Komplikationen und Schmerzen verbunden sein kann. In diesem Projekt soll modifiziertes Knochenersatzmaterial untersucht werden. Mit diesem soll einerseits eine schnellere Verknöcherung des Defektes erzielt werden, andererseits sollen auch größere Defekte ohne die Verwendung von körpereigenen Knochen aufgebaut werden können. Die Operation wird ähnlich wie beim Menschen in Vollnarkose mit anschließender Schmerzbekämpfung durchgeführt.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

13 Schafe

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

Die Selektion von Knochenersatzmaterialien findet in-vitro statt. Anschließend müssen die Materialien im Tierversuch getestet werden bevor sie am Menschen angewendet werden können. Die Studie wird mit der geringstmöglichen Anzahl von Tieren durchgeführt, die eine aussagekräftige, statistische Bewertung erlaubt. Durch standardisierte Versuchsbedingungen und eine entsprechende chirurgische Expertise sind die Durchführungsbedingungen in dieser Studie höchstmöglich verfeinert.

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

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

Projektziel ist die Evaluierung neuer Impfstoffkandidaten im etablierten Mausmodell. Generierte Hyperimmunseren der Vakzin-Kandidaten werden in *in vitro* Tests verwendet, um deren Immunogenität sowie *in vitro* Funktionalität aufzuzeigen. Der Anzahl der Kandidaten, die in einem Challenge Model getestet werden, wird dadurch reduziert. Zusätzlich werden bekannte Proteine, deren Antikörper eine schützende Wirkung in *in vitro* assays besitzen, als positive Kontrolle für das Austesten neu gewonnener Hyperimmune Seren verwendet und zur Charakterisierung von jeweiligen Proteinen herangezogen. In den Experimenten werden nur klinisch gesunde Tiere beurteilt bzw. im jeweiligen Tierversuch belassen. Aus diesen Gründen kann bei allen geplanten Experimenten die Belastung der Versuchstiere als gering eingestuft werden.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

Maximal 4000 Mäuse werden innerhalb von 5 Jahren eingesetzt. Alle Studien werden in unterschiedlichen Stämmen von weiblichen Wildtypmäusen durchgeführt, deren Alter bei Versuchsbeginn mindestens 6 Lebenswochen beträgt.

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

Die geplanten Tierversuche basieren auf Ergebnissen vorangegangener Tierversuche unter Verwendung eines gut etablierten und international akzeptierten Mausmodells und es werden alle Anforderungen zur Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung berücksichtigt. Für die Erhaltung von aussagekräftigen Resultaten ist die Versuchstierzahl basierend auf langjähriger Erfahrung und einer statistischen Auswertbarkeit und Vergleichbarkeit so gering wie möglich kalkuliert.

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

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

Ziel des Versuchsvorhabens ist es, die Anwendung des Cardiac Micro Current Systems (C-MIC System) zur Behandlung der chronischen Herzinsuffizienz (CHF, chronic heart failure) im Schafmodell medizintechnisch zu testen und Messungen durchzuführen, die für eine spätere erfolgreiche Anwendung des Systems am Menschen unerlässlich sind.

*zu erwartender Nutzen:* Ziel ist es zu evaluieren, wie die Elektroden zum optimalen Stromfluss ans/ins Herz an/eingebracht werden sollen.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Die operativen Eingriffe erfolgen in entsprechender, tiefer Narkose. Nach Durchführung der beschriebenen Untersuchungen werden die Tiere eingeschläfert.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

Bei dem Versuch handelt es sich um Akutversuche an bis zu 8 Schafen (Alter ca. 2 Jahre), bei dem die Belastung so weit wie möglich auf ein Minimum für das Tier herabgesetzt wird.

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

*Vermeidung:* Zur Vermeidung von Tierversuchen wurde vorab mit Computer gestützten Modellen gearbeitet, weiterhin erfolgten in-vitro Vorversuche an Zellkulturen und mit Organen von geschlachteten Tieren.

*Verminderung:* Zur Verminderung von Tierversuchen wurden die Versuche so geplant, dass ein Optimum an Information aus jedem Versuch gewonnen werden kann.

*Verfeinerung:* Die Belastung der Versuchstiere während des operativen Eingriffes und während der durchzuführenden Untersuchungen entspricht den vergleichbaren Eingriffen am Menschen und erfolgt in entsprechender Narkose.

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

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

Ziel dieses Projekts ist es, den Langzeiteffekt einer fehlenden Genfunktion zu untersuchen.

*zu erwartender Nutzen:* Wir erwarten einen Erkenntnisgewinn über die Auswirkung des Fehlens der Funktion eines Gens. Da dieses Gen bei pathologischen Zuständen im Menschen oft dereguliert ist, hat es eventuell für die Krankheitsentstehung und Krankheitsentwicklung eine Bedeutung.

*zu erwartender Schaden:* Die Tiere zeigen eine normale Lebensqualität und Lebenserwartung. Sie werden zu Lebzeiten keinen Experimenten unterzogen, außer der Genotypisierung.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

Es werden 400 Mäuse pro Jahr benötigt bei einer Projektdauer von 2 Jahren.

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

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

*Verminderung:* Es wird großer Wert darauf gelegt, die Projektversuche nur mit jener minimalen Anzahl an Mäusen durchzuführen, die statistisch notwendig ist, um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten.

*Verfeinerung:* Die Tiere werden unter Standardbedingungen in Gruppen gehalten und von ausgebildetem Personal gepflegt. Um das Wohlbefinden zu steigern und den Zuchterfolg zu erhöhen wird den Tieren Enrichment in Form von Nistmaterial und Häuschen zur Verfügung gestellt.

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

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

Das Sjögren Syndrom ist eine Autoimmunerkrankung, welche die Speichel- und Tränendrüsen betrifft. Die entzündlichen Veränderungen in diesen Organen führen zu einem Versiegen des Tränen- und Speichelflusses. Die seltenere Beteiligung der Niere oder Lunge kann lebensbedrohlich verlaufen. Die Ursache der Erkrankung ist bisher unklar. Daher sollen in diesem Projekt Mäuse gezüchtet werden die als Modell der Erkrankung dienen.

*zu erwartender Nutzen:* Die gewonnenen Erkenntnisse könnten letztlich positive Auswirkungen auf die Diagnose, Prognoseabschätzung und Therapie von Patientinnen mit Sjögren Syndrom haben.

*zu erwartender Schaden:* Die Tiere leiden, wie menschliche Patientinnen, unter Mund- und Augentrockenheit.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

1000 Mäuse

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

*Vermeidung:* Die Verwendung von Mausmodellen ist zur Erforschung des Immunsystems in vivo notwendig, da die mannigfachen Interaktionen des Immunsystems im Reagenzglas nur unzureichend simuliert werden können.

*Verminderung:* Durch die Verwendung von mischerbigen Tieren als Kontrollen, fällt die Anzahl der zu züchtenden Tiere wesentlich geringer aus.

*Verfeinerung:* Die Tiere werden von Beginn an in Gruppen und artgerecht gehalten. Den Tieren wird eine anregende Umgebung zur Verfügung gestellt um das Wohlbefinden zu verbessern. Die Tiere werden nur bis zum 12. Lebensmonat, also vor dem Auftreten eventueller Folgeerkrankungen der Mund- und Augentrockenheit, gehalten.

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

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

Zweck der beantragten Versuche ist es, die Grundlage für neue therapeutische Strategien zur Behandlung von neurodegenerativen Erkrankungen nach Hirntraumata zu schaffen. Diese Erkrankungen sind ein massives gesundheitspolitisches Problem. Was uns zur gezielten Behandlung derzeit noch fehlt, ist ein genaues Verständnis der funktionellen Zusammenhänge zwischen Trauma und Erkrankung. Um dies abzuklären, sollen in diesem Projekt funktionale Aspekte der Energieversorgung von Neuronen untersucht werden. Die Belastung der Tiere besteht zum einen durch einen operativen Eingriff (bei einigen Tieren) sowie durch traumatische neuronale Schäden, die sich jedoch zu den relativ kurzen Zeitpunkten nicht messbar auf das körperliche Wohlbefinden auswirken.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

Es werden 67 Mäuse in insgesamt 3 Jahren untersucht.

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

Da es sich bei diesen Veränderungen um sehr komplexes Verhalten handelt, können diese Experimente nur an lebenden Tieren durchgeführt werden. Durch den Einsatz statistischer Poweranalyse wurde die Anzahl der Versuchstiere auf ein absolutes Minimum reduziert. Durch die Narkose und Schmerzbehandlung wird die Belastung der Tiere so gering wie möglich gehalten. Parallel zu diesen Untersuchungen laufen Experimente an Zellkulturen um Unterschiede zwischen glialen und neuronalen Zellen ohne tierische Gewebeproben zu untersuchen.

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 die Therapie der allergischen Bronchitis (RAO: Recurrent airway obstruction) sind zu wenig Medikamente fürs Pferd auf dem Markt erhältlich. Projektziel ist herauszufinden ob eine geringe Dosis einer Petasites (Petasin)-Lösung vernebelt werden kann, ob diese in den Luftwegen toleriert wird und dabei auch noch einen therapeutischen Effekt auf die Entzündung der Bronchien bewirken kann. Petasin kann bei Mensch und Hund allergische Entzündungen lindern und dürfte auch beim Pferd Erleichterung bei Atemnot bewirken können. Es liegt bis dato keine andere Studie vor, die die lokale Wirkung von Petasin beim Pferd dokumentiert.

*zu erwartender Nutzen:* Dieser Pilotversuch soll zur Planung einer größeren klinischen Studie dienen.

*zu erwartender Schaden:* geringe zusätzliche Belastung durch die Behandlung.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

Sieben Pferde, davon zwei Reservepferde.

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

*Vermeidung/Replace:* Dieser Versuch kann nur am lebenden Pferd durchgeführt werden.

*Verminderung/Reduce:* Die vorgesehenen fünf Pferde (plus zwei Reservepferde) stellen das Mindestmaß für aussagekräftige Ergebnisse selbst bei Pilotexperimenten dar.

*Verfeinerung/Refine:* Bei schlechter Toleranz des Petasin-Aerosols wird zum Wohl der Tiere der Versuch sofort abgebrochen und notwendige therapeutische Maßnahmen durchgeführt. Alle Maßnahmen werden nach derzeitigem Wissensstand als „good clinical practice“ durchgeführt, sodass einerseits den Tieren unnötige Schmerzen und Leiden erspart bleiben, andererseits möglichst genau gemessen wird um aussagekräftige Daten zu erhalten.

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

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

Cochlea-Implantate werden immer häufiger auch zur Versorgung von schwerhörigen Patienten mit einem gewissen Restgehör eingesetzt. Dabei wird versucht das Restgehör zu erhalten. Zusätzlich zu atraumatischen Elektroden und Operationstechniken kann die Verwendung von Medikamenten das Ergebnis für diese Patientengruppe verbessern. Das Ziel dieser Studie ist daher, den Langzeit-Effekt von Glucocorticoiden auf die Hörergebnisse sowie die Leitungs-Eigenschaften der Elektroden zu testen.

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

*zu erwartender Schaden:* Der für die Tiere zu erwartende Schaden liegt in einer Operation (einseitige Cochlea-Implantation mit bzw. ohne Glucocorticoid) unter Vollnarkose, sowie in wiederholten Narkosen zur Durchführung der Hörmessungen über einem Zeitraum von einem Jahr.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

26 Meerschweinchen (m & f)

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

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

*Verminderung:* Die Anzahl der Tiere wird durch Power-Analysen im Rahmen der Studienplanung möglichst gering gehalten. Zusätzlich wird ständig an Verfeinerungen der Operationsmethoden gearbeitet, um die statistische Streuung und damit die benötigte Tieranzahl weiter zu reduzieren.

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

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

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

Die Pathogenese der rheumatoiden Arthritis (RA), der häufigsten und schwersten der entzündlich rheumatischen Erkrankungen, ist noch nicht vollständig geklärt. Es konnte aber in den letzten Jahren gezeigt werden, dass körpereigene Moleküle eine wichtige Rolle bei der Entstehung dieser Erkrankung spielen. Insbesondere scheinen die sog. Toll-like Rezeptoren (TLR) dabei eine wichtige Rolle zu spielen, die im Gelenk von RA Patienten stark exprimiert sind. Die Aktivierung der TLR führt zur Expression einer Vielzahl von Botenstoffen (Zytokinen) die sowohl entzündungsfördernd als auch entzündungshemmend wirken können. Aus diesem Grund wird die Rolle der TLR in der Pathogenese der RA und anderer entzündlicher Erkrankungen nicht völlig verstanden. Insbesondere ist die Funktion von TLR2, TLR7 und TLR9 im Zusammenhang mit dem entzündlichen Knochenverlust in der RA noch weitgehend unbekannt. Die Ergebnisse aus den bisher durchgeführten Versuchen haben gezeigt, dass Stimulierung von TLR7 eine Verschlimmerung der Arthritis bewirkt, während Inhibition von TLR9 zu einer deutlichen Verbesserung führt.

*zu erwartender Nutzen:* Die Beteiligung und Wechselwirkung der beiden TLR soll nun in weiterführenden Versuchen näher analysiert werden. Parallel dazu sollen Experimente mit Fibroblasten durchgeführt werden, die aus den Gelenken arthritischer Tiere isoliert und in vitro kultiviert werden. Diese Experimente sollen das Wissen über die Beteiligung von TLR2, TLR7 und TLR9 bei entzündlichen und degenerativen Gelenkerkrankungen weiter vertiefen, sowie das therapeutische Potential von TLR Agonisten und Antagonisten erhellen.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Im Rahmen des vorliegenden Projekts soll der Einfluss von TLR Stimulatoren auf den entzündlichen Knochenabbau (Knochenerosion) an Hand zweier Rattenmodelle der RA untersucht werden. Die Tiere werden analgetisch versorgt, durch definierte Abbruchkriterien wird eine maximal bis zu mittelgradig gehende Belastung garantiert.

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

Für die geplanten Versuche werden zu den 100 Ratten **zusätzlich maximal 94 Ratten** eingesetzt.

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

Die geplanten Versuche basieren auf Ergebnissen, die einerseits in vorangegangenen Tierversuchen, andererseits in Zellkulturexperimenten erhalten wurden. Durch geeignete statistische Verfahren wurde für die klinischen Versuche eine Mindestgruppengröße von 7 Tieren errechnet, die auch in vorangegangenen Experimenten ausreichend waren. Für die Isolierung der Fibroblasten sind jeweils 8 Tiere pro Gruppe erforderlich, um eine ausreichende Zahl an Zellen zu gewinnen.

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

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

Die erfolgreiche Behandlung knöchernen bzw. knöchern-ligamentärer Verletzungen bedarf häufig der Verwendung von körperfremden Materialien. Die Entwicklung degradierbarer Osteosynthesematerialien ist von großem Interesse da dadurch die Kosten und Risiken einer Folgeoperation (die die Entfernung des Materials) vermieden werden könnten. Das vorrangige Ziel der geplanten Tierstudie ist herauszufinden, wie sich die neue niedriglegierten MgZnCa-Legierung ohne seltene Erden und ohne Aluminium im Vergleich zur schon oft getesteten WE43-Legierung in Bezug auf Degradation, Einheilverhalten und Biokompatibilität in vivo verhält. Weiters soll der Einfluss einer speziellen biokompatiblen Magnesiumoxid-Beschichtung auf das Degradationsverhalten studiert werden. Ein weiteres wichtiges Ziel ist es, erstmals beide Legierungen, WE43 und die neue niedriglegierte MgZnCa-Legierung bis zur vollständigen Degradation in vivo zu verfolgen. Des Weiteren soll im Kurz- und Langzeitversuch der Einfluss von Material und Beschichtung auf den (Knochen)-Stoffwechsel mittels  $\mu$ PET-CT untersucht werden.

*zu erwartender Nutzen:* Die neue biodegradierbare Magnesiumlegierung weist gute mechanische Eigenschaften auf und ist ferner nicht-toxisch, da sie ausschließlich aus Komponenten besteht, die im Organismus physiologisch vorkommen. Daher ist das Material und seine Abbauprodukte für den klinischen Einsatz unbedenklich und ein exzellenter Kandidat für biodegradierbare Osteosynthesematerialien. Diese weisen ein hohes gesundheitspolitisches Potential auf, führen, durch die Ersparnis der Folgeoperation, zu einer erwarteten Risikoreduktion nach Osteosynthese für den einzelnen Patienten. Durch die erweiterte Untersuchung durch  $\mu$ PET-CT erwarten wir zusätzliche Informationen bezüglich ablaufender Stoffwechselprozesse in der Umgebung des Implantates.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Der erwartete Schaden ist für die Tiere als mittelgradig einzuschätzen. Die bisherigen Versuche haben gezeigt, dass bereits am 1. postoperativen Tag ein artgerechtes Bewegungsmuster wiederaufgenommen wurde. Die Tiere zeigten nach Absetzen der postoperativen Schmerztherapie am Tag 3 keine Anzeichen für eine Beeinträchtigung durch die Operation. Perioperativ verstarben 2 Tiere an Narkosezwischenfällen. Die regelmäßigen Röntgen- und  $\mu$ CT Kontrollen unter (inhalativer) Kurznarkose wurden gut vertragen. Der erwartete Schaden durch die **zusätzlich beantragte  $\mu$ PET-Untersuchung** ist als mittelgradig einzuschätzen. Die Tracergabe erfolgt intravenös in die Schwanzvene unter inhalativer Kurznarkose. Die Tiere werden direkt nach der geplanten  $\mu$ CT-Untersuchung ohne Unterbrechung der inhalativen Kurznarkose im PET-Scan untersucht. Nach Ablauf der Untersuchung werden die Tiere für etwa 24 h (bis zum Abklingen der Traceraktivität) in Quarantäne gehalten und werden vor der Rückführung auf Restaktivität gescannt.

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

Es wurden im Versuch 50 Sprague Dawley Ratten untersucht. Durch die Abänderung werden **weitere 25 Tiere** benötigt wodurch die Gesamtanzahl nun 75 Tiere beträgt.

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

Eine komplette Vermeidung des Einsatzes von Tieren ist nicht möglich, da die Implantate zuerst in biologischen Testsystemen entwickelt und überprüft werden müssen bevor sie im Menschen eingesetzt werden können. Die Auswahl und Verfeinerung der Materialien erfolgte bereits in vitro in Testsystemen und mittels Zellkultur damit nur gut verträgliche und vielversprechendste Materialien im Tierversuch eingesetzt werden. Die Tierzahl wurde mittels Fallzahlberechnung ermittelt und kann aufgrund zur Erreichung eines aussagekräftigen statistischen Ergebnisses nicht 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 dieser Projektstudie ist es, die funktionelle Beeinträchtigung der Gelenke anhand videogestützter Ganganalysen in Arthritis Tiermodellen näher zu untersuchen. Es soll der direkte Einfluss der synovialen Entzündung, der Knochenerosionen und der Knorpelschädigung unter Ausschluss von Schmerzen durch die Behandlung mit einem Analgetikum auf das Gangprofil analysiert werden. Durch die Verabreichung von Zytokin Blockern oder anti-erosiven Bisphosphonaten soll eine Verbesserung der Gangparameter am Ende des Therapiezeitraumes im Vergleich zu Therapiebeginn untersucht werden. Weiters soll der Einfluss der Entzündungsprozesse sowie der Einfluss der reduzierten körperlichen Aktivität auf den Verlust der Muskelmasse und die Muskelfunktion untersucht werden. Die Ergebnisse dieser Studie sollen aufzeigen, welche pathologischen Komponenten der Arthritis irreversible funktionelle Einschränkungen der Gelenke hervorrufen und Aufschluss für zukünftige Therapieoptionen geben. Diese Untersuchungen sollen neue Erkenntnisse in der Pathogenese und der Behandlung der chronischen Polyarthritiden erzielen.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

In diesem 2013 bewilligten Projekt wird mit insgesamt 181 Mäusen gearbeitet: DBA/IJ (65 Tiere), C57BL/6 (50 Tiere), human Tumor Nekrose Faktor transgene Tiere (C57BL/6 Hintergrund; 66 Tiere). Aus den bisherigen Ergebnissen hat sich eine weitere Fragestellung ergeben, für die wir **weitere 30 Mäuse benötigen**: C57BL/6 (10 Tiere), human Tumor Nekrose Faktor transgene Tiere (C57BL/6 Hintergrund; 20 Tiere).

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

Im Rahmen dieses Projektes wird die Zahl der Tiere entsprechend der Fallzahlberechnung so gering wie möglich gehalten. Außerdem tragen die standardisierten Versuchsbedingungen zur Verringerung der Tieranzahl bei. An der Verbesserung der Durchführung wird stetig weitergearbeitet. Die gestellten Projektziele können nicht durch Ersatzmethoden wie in vitro Versuche ersetzt werden und dienen unmittelbar neuer klinischer Erkenntnisse.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens **31. Jänner 2017** vorgesehen.

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

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

Ziel der vorliegenden Studie ist es, ein Mikrodialysemodell zur kontinuierlichen Probenahme im Kaninchenauge zu etablieren, um in weiterer Folge Substanzen testen zu können, die die Aufnahme von Medikamenten in das Patientenaugum verbessern. Pharmakologische Messungen von Substanzkonzentrationen in der Vorderkammer und im Glaskörper des Auges gestalten sich wegen der besonderen Anatomie und Physiologie dieses Organs schwierig. Die Messung eines verabreichten Wirkstoffs im Blut lässt nur bedingt Rückschlüsse auf die Konzentration im Inneren des Auges zu. Dies macht eine Probenahme direkt am Wirkort notwendig. Da das Kaninchenauge dem des Menschen ähnlich ist, wird meist diese Tierart für Untersuchungen am Auge herangezogen. Im Rahmen von präklinischen Studien zur Untersuchung der Sicherheit und Wirksamkeit einer Substanz wird bei der konventionellen Datenerhebung von zeitlichen Konzentrationsverläufen im Auge eine große Anzahl an Versuchstieren benötigt, um die zur Erstellung eines Wirkstoffprofils benötigten Daten zu erhalten. **Die mittels Mikrodialyse gemessene Konzentration in den Abschnitten des Auges stellt den freien, nicht an Protein gebundenen Anteil dar. Auf Grund der unterschiedlichen Zusammensetzung des Kammerwassers und des Glaskörpers verglichen mit der von Blut bzw. Plasma ist es nicht ohne weiteres möglich, die Proteinbindung aus den in der Literatur publizierten Daten abzuleiten, weshalb diese gesondert ermittelt werden muss.**

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

52 weibliche Kaninchen (New Zealand White)

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

Das vorliegende Projekt hat zum Ziel, eine international anerkannte Probenahmetechnik am Auge mittels Mikrodialyse zu etablieren und zu nutzen und berücksichtigt alle Anforderungen zur Vermeidung, Verminderung und Verbesserung der anzuwendenden Methode. Es steht derzeit kein ausreichend komplexes in vitro Ersatzmodell für pharmakologische Messungen im Kammerwasser und dem Vitreus zur Verfügung, um durch die kontinuierliche Messung im Zielorgan einen kompletten zeitlichen Konzentrationsverlauf eines Individuums zu erstellen. Dies stellt eine deutliche Verminderung der notwendigen Tierzahl bei punktuellen Messungen dar. Die zu applizierenden Versuchssubstanzen gelten auf Grund von in der Literatur beschriebenen Tests als unbedenklich. Eine Fallzahlberechnung zur Reduktion der benötigten Gruppengrößen bei gleichzeitigem Erhalt von aussagekräftigen Ergebnissen wurde durchgeführt. Alle Haltungs- und Versuchsbedingungen sind standardisiert, um die Streuung der Versuchsergebnisse möglichst gering zu halten.

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

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

Entzündungen gehören zu den häufigsten Erkrankungen des Magen-Darm-Trakts, welcher ständig einer Bedrohung durch krank machende Mikroorganismen und giftige Substanzen in der Nahrung ausgesetzt ist. Jüngst wurde postuliert, dass eine krankhaft erhöhte Durchlässigkeit der Darmschleimhaut im Zuge von chronischen Darmentzündungen wie Morbus Crohn und Colitis ulcerosa zur Entwicklung von Angsterkrankungen und Depressionen beiträgt. Umgekehrt liegt Depression häufig in Zusammenhang mit dem Reizdarmsyndrom vor und geht oft mit einer Aktivierung des Immunsystems und einer geringgradigen Entzündung im Darm einher. Beide Befunde sprechen für einen intensiven Informationsaustausch entlang der Darm-Gehirn-Achse. Obwohl diese Krankheitsprozesse eine große sozioökonomische Bedeutung haben und die betroffenen Patienten stark belasten, sind die zugrundeliegenden Mechanismen nur unzureichend erforscht.

*zu erwartender Nutzen:* Der Antragsteller hat schon in vorangegangenen Projekten wichtige Beiträge zur Thematik der Darm-Gehirn-Kommunikation erarbeitet und will im vorliegenden Projekt neue kausale Zusammenhänge der Wechselwirkung zwischen Darm und Gehirn aufdecken. Hierzu wird untersucht, welche Entzündungsmediatoren im Rahmen einer chronischen viszeralen Entzündung gebildet werden und wie diese auf das Gehirn einwirken und damit Verhalten und/oder neurobiologische Prozesse verändern. Dabei interessiert auch, wie Neuropeptide einerseits die Darmentzündung und andererseits die damit zusammenhängenden Veränderungen in der Gehirnfunktion steuern. Weitere Experimente gehen der Frage nach, wie Umweltfaktoren das Gehirn beeinflussen, und suchen nach Möglichkeiten, die Belastung der Versuchstiere bei Depressionstests zu verringern. Außerdem soll der Effekt mikrobieller Metaboliten auf das emotional-affektive Verhalten und die zugrundeliegenden Mechanismen aufgeklärt werden. All diese grundlegenden pathophysiologischen Untersuchungen sind notwendig, um die Basis zur Entwicklung neuer Therapiestrategien für chronisch entzündliche Darmerkrankungen und die damit zusammenhängenden psychischen Veränderungen zu legen.

*zu erwartender Schaden:* Für diese Untersuchung werden sowohl Wildtyp als auch transgene Tiere herangezogen. Aus der Literatur und aus eigenen Beobachtungen sind kaum bis geringe Beeinträchtigungen der Vitalität dieser transgenen Tiere bekannt. Die während der Lebenszeit der Tiere geplanten Untersuchungen erfolgen mit bereits etablierten Methoden, die in dieser Form in unserer Einrichtung bereits angewandt werden und das Tierleid auf ein absolutes Minimum begrenzen.

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

Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere: Für 29 verschiedene Versuchsreihen werden **1305 Mäuse** benötigt.

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

*Vermeidung:* Bei der Thematik der beantragten Tierversuche geht es um die Erforschung des Zusammenhangs zwischen Magen-Darm-Trakt, Gehirn und psychologischem Stress sowie um die Frage, wie Signale aus dem entzündeten Darm auf das Gehirn einwirken und zu Störungen der Gehirnfunktion führen können. Die Wechselwirkung zwischen diesen komplexen Systemen kann nur im Tierversuch erforscht werden, weil ja geprüft werden muss, wie sich Änderungen in der Peripherie auf das vom Gehirn gesteuerte Verhalten auswirken.

*Verminderung:* In diesen für den medizinischen Fortschritt sehr wichtigen Untersuchungen wird jedoch immer auf eine möglichst geringe Belastung der Versuchstiere geachtet. Es wird großer Wert darauf gelegt, die Projektversuche nur mit jener minimalen Anzahl an Mäusen durchzuführen, die statistisch notwendig ist, um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten. Außerdem werden in den Versuchen, wann immer möglich, mehrere Parameter (verhaltensmäßige, biochemische und funktionelle Parameter) bestimmt, um zusätzliche Versuche zu vermeiden und das vorhandene biologische Material optimal zu nutzen.

*Verfeinerung:* Die Mäuse werden in Gruppen gehalten und als Enrichment wird ihnen Nestbaumaterial, Maushäuschen und Tunnels zur Verfügung gestellt. Die Tiere werden von erfahrenen Tierpflegern einem regelmäßigen Handling unterzogen um sich an etwaige Manipulationen zu gewöhnen und zusätzlichen Stress zu vermeiden. Die Tierhaltung wird in regelmäßigen Abständen vom zuständigen Veterinär kontrolliert.

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

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

Entzündliche Fettleber (Steatohepatitis), eine Manifestation des metabolischen Syndroms ist eine der Hauptursachen chronischer Leberschäden, und kann in der Folge zu Leberzirrhose und Leberkrebs führen. Das Risiko, die Erkrankung zu entwickeln ist aber individuell sehr unterschiedlich. Mausmodelle für solche Lebererkrankungen zeigen ebenfalls, in Abhängigkeit vom verwendeten Mausstamm, unterschiedliche Prävalenz für Steatohepatitis. Damit können Mausmodelle auch dazu eingesetzt werden, Risikogene für Steatohepatitis zu identifizieren.

Die Mauslinie C57BL/6 weist zwei Varianten auf, die sich in ihrer Suszeptibilität für toxisch induzierte Steatohepatitis deutlich unterscheiden. In jener Variante, die den Steatohepatitis-Phänotyp nur gering ausbildet ist das Enzym NNT (Nikotinamid-nukleotid-transhydrogenase) ausgefallen, was sich auf den anabolen und Energiestoffwechsel auswirkt. Dies könnte die Effektivität der Kompensationsreaktion bei gestörter Mitochondrienfunktion beeinflussen, sodass zwar chronischer Leberschaden auftritt, aber die Kompensationsreaktion eine andere ist.

Wir wollen daher die Linien mit funktioneller und dysfunktioneller NNT hinsichtlich der Art der metabolischen Veränderungen und der Kompensation der mitochondrialen Dysfunktion vergleichen um Aufschluss über den Einfluss der Störung dieser Vorgänge auf die Entwicklung des Steatohepatitis-Phänotyps zu bekommen.

Gleichzeitig soll die NNT-Baseline+/- Mauslinie durch Zucht weiter erhalten werden (je 9 Zuchttiere plus temporär je 50 Tiere aus denen weitere Zuchttiere selektiert werden).

Der Schweregrad der Experimente wird als gering eingestuft.

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

Im Experiment werden 45 Tiere, für die Erhaltungszucht 250 Tiere für 30 Monate benötigt.

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

*Vermeidung:* Ersatzmethoden für diese Studien sind nicht verfügbar, da es sich um Experimente handelt, die die Lebensdauer von primären Leberzellen in Kultur, die durch simple Organentnahme gewonnen werden könnten, bei weitem übersteigen. Kultivierte immortalisierte Zellen können für diese Experimente nicht verwendet werden, da die phänotypischen Veränderungen der Steatohepatitis in keiner uns bekannten Leberzelllinie auftreten. Ebenso werden in solchen Linien viele charakteristische Gene nicht exprimiert, oder der Metabolismus der Zellen unterscheidet sich wesentlich von Hepatozyten in situ. Auch ist in reinen Zellkulturexperimenten der Kontext der Funktionsänderung im Gesamtorganismus nicht gegeben.

*Verminderung:* Die Tieranzahl im Experiment ist minimal bemessen, doch so dass bei den Ergebnissen statistische Signifikanz gegeben ist.

*Verfeinerung:* Für das Wohl der Tiere wird durch veterinärmedizinische Überwachung und erfahrenes Tierpflegepersonal Sorge getragen.

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

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

Das Projektziel ist es zu untersuchen, ob sich die Anwendung des Tyrosinkinaseinhibitors Imatinib gefahrlos als Therapie von entzündlich-demyelinisierenden Erkrankungen des zentralen Nervensystems wie der Multiplen Sklerose eignet. Imatinib wird derzeit erfolgreich zur Behandlung der chronisch myeloischen Leukämie eingesetzt. Multiple Sklerose ist die häufigste neurologische Erkrankung des jungen Erwachsenenalters; das mittlere Erkrankungsalter liegt bei etwa 27 Jahren. Die Erkrankung ist gekennzeichnet durch schubförmiges Auftreten neurologischer Symptome wie z.B. Lähmungen, Gefühls- oder Sehstörungen gefolgt von einer mehr oder weniger zufriedenstellenden Rückbildung. Über den Verlauf von Jahren kann es zu variablen, bleibenden Behinderungen kommen. Die Behandlung dieser Erkrankung ist leider, obwohl mittlerweile einige immunsuppressive bzw. immunmodulatorische Medikamente zur Verfügung stehen, schwierig und oftmals nicht zufriedenstellend. Daher ist es unbedingt erforderlich neue pharmakologische Angriffspunkte zu finden. Eine kürzlich publizierte Studie konnte zeigen, dass in Versuchsratten mit einer Modellerkrankung der Multiplen Sklerose eine orale Behandlung mit Imatinib die Erkrankung durch periphere Immunsuppression abmildert; die tatsächliche Wirkung und eventuelle Nebenwirkungen der Substanz am Gehirn selbst wurde allerdings bisher noch nicht untersucht. Vor einer eventuellen Versuchsreihe am Menschen ist es daher von äußerster Wichtigkeit diesen Wirkstoff in einem geeigneten Tiermodell systematisch zu überprüfen.

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

Es werden 110 Ratten vom DA Stamm für diese Versuche benötigt.

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

Leider kann eine Fragestellung, in wie fern sich eine Substanz als sicheres Therapeutikum für eine Erkrankung des Gehirns eignet, nur im Tierversuch beantwortet werden. Unser Versuchsansatz wurde durch verschiedene Vorarbeiten so konzipiert mit einer relativ geringen Tierzahl gute Aussagen zu den Risiken einer Anwendung von Imatinib treffen zu können. In diesen für den medizinischen Fortschritt sehr wichtigen Untersuchungen wird jedoch immer auf eine möglichst geringe Belastung der Versuchstiere geachtet. Außerdem wird großer Wert darauf gelegt, die Projektversuche nur mit jener minimalen Anzahl an Ratten durchzuführen, die statistisch notwendig ist, um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten. Gleichzeitig werden, wann immer möglich, mehrere Parameter (Verhaltensparameter, biochemische und funktionelle Parameter) bestimmt, um zusätzliche Versuche zu vermeiden und das vorhandene biologische Material optimal zu nutzen. Dies wird durch die genaue Planung des Versuchsablaufs und das optimale Ausnutzen aller Ressourcen erreicht. Die Zahl der verwendeten Ratten beläuft sich auf die statistisch notwendige Anzahl pro Versuch und es werden keine Versuche unnötig ausgeführt oder wiederholt. Zusätzlich wird für eine möglichst angenehme und stressfreie Umgebung der Tiere gesorgt. Während des Behandlungszeitraums stehen die Tiere unter Beobachtung.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens **31. Oktober 2019** vorgesehen.

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

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

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

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

Insgesamt sind **300 Ratten** in diesem über 2 Jahre laufenden Projekt vorgesehen. (Erhöhung um 150 Ratten)

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

Auch wird die geplante genaue Datenaufzeichnung zu einer deutlichen Verbesserung der Planbarkeit bei ev. weiterer Projekte führen, was dazu beitragen wird, die verwendeten Tierzahlen weiter zu reduzieren. Die Ratten werden fachgerecht gehalten und von ausgebildeten Tierpflegern betreut und täglich beurteilt. Ebenso kümmert sich ein Tierarzt um das Wohl der Tiere. Im Rahmen des Projektes erhalten verschiedene Rattengruppen jeden Tag über den oralen Weg das neue Therapeutikum bzw. eine Kontrolle verabreicht. Diese Tiere werden dann miteinander verglichen um ein besseres Verständnis für die Wirkung des neuen Therapeutikums zu erhalten.

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

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

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

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

Die aktuell einzige Therapiemöglichkeit gegen allergische Erkrankungen ist die Allergenspezifische Immuntherapie. Diese wird jedoch von vielen Patienten vorzeitig abgebrochen, da sich die Behandlungsdauer über mehrere Jahre erstreckt, bis zu 100 Injektionen erforderlich sind, lokale sowie systemische Nebenwirkungen auftreten können, und sich Therapieerfolge in der Regel erst im Folgejahr nach Abschluss der Therapie zeigen. In einer bereits veröffentlichten Studie konnte gezeigt werden, dass spezifische Immuntherapie über Mikroporen in der Haut eine effiziente und schmerzfreie alternative Methode darstellt, die auf eine erhöhte Akzeptanz bei allergischen Patienten hoffen lässt. Ziel des vorgelegten Projektes ist es, verbesserte Therapeutika hinsichtlich ihrer Anwendbarkeit in der spezifischen Immuntherapie über die Haut zu entwickeln. Dabei handelt es sich um Mikro- und Nano-Partikelformulierungen, die auf Grund ihrer Eigenschaften bevorzugt von Antigenpräsentierenden Zellen aufgenommen werden, und in der Folge zu verstärkten antiallergischen Immunreaktionen führen sollen. Das Auftreten von unerwünschten Nebenwirkungen durch die Therapie könnte durch die speziellen Eigenschaften dieser Formulierungen verhindert werden. Durch eine Steigerung der Effizienz zukünftiger Therapeutika wäre eine Reduktion der Zahl der Behandlungen möglich, wodurch die Therapiedauer verkürzt und die Abbruchrate reduziert werden könnte. Geplant sind sowohl präventive als auch therapeutische Ansätze in etablierten Mausmodellen. Für den präventiven Ansatz werden die Versuchstiere zunächst mit dem jeweiligen Wirkstoff über Mikroporen in der Haut immunisiert und anschließend einer allergischen Sensibilisierung unterzogen. Im therapeutischen Ansatz werden bereits sensibilisierte Mäuse mit dem jeweiligen Therapeutikum behandelt. Die verwendeten Methoden fallen daher fast ausschließlich in die geringste Schweregradkategorie. Die aus dem vorgelegten Projekt zu erwartenden Ergebnisse können einerseits helfen, die Allergen-spezifische Immuntherapie über die Haut als schmerzfreie alternative Methode zur Injektion zu etablieren. Andererseits können die im Rahmen des Projektes evaluierten Mikro- und Nanopartikelformulierungen auf längere Sicht gesehen die momentan zur spezifischen Immuntherapie verwendeten Allergen-Extrakte ersetzen. Diese sind nur unzureichend charakterisiert und bergen das Risiko, Patienten durch die Therapie gegen Bestandteile neu zu sensibilisieren. Zusammenfassend kann erwartet werden, dass die im Rahmen des vorgelegten Projektes gewonnen Erkenntnisse zur Entwicklung neuer effizienter Therapeutika gegen allergische Erkrankungen und zum Einsatz verfeinerter Applikationsmethoden beitragen können. Dadurch ist eine gesteigerte Akzeptanz der Allergen-spezifischen Immuntherapie durch die Patienten und eine Reduktion der in den letzten Jahren enorm gestiegenen Kosten, die unser Gesundheitssystem zur Linderung der Symptome von Allergien ausgeben muss, zu erwarten.

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

Insgesamt erfordern die geplanten Versuche eine Zahl von **758 Mäusen**. Dabei handelt es sich hauptsächlich um Mäuse vom Stamm BALB/c. Darüber hinaus werden auch transgene Mäuse verwendet, in denen bestimmte Subtypen von dendritischen Zellen selektiv ablatiert werden können.

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

Bei der Entwicklung dieser Methoden und der zeitlichen Abläufe wurde besonders darauf geachtet, eine möglichst geringe Belastung der Versuchstiere bei möglichst hohem Wissenszuwachs zu gewährleisten. Die Zahl der benötigten Versuchstiere, die pro Gruppe erforderlich ist, um statistisch signifikante Ergebnisse zu erzielen, wurde auf Basis bereits veröffentlichter Studien mit vergleichbaren experimentellen Ansätzen unter Zuhilfenahme eines Statistikprogrammes zur Gruppenzahlberechnung ermittelt. Um die Zahl der Versuchstiere möglichst gering zu halten, werden sämtliche unterschiedlichen Formulierungen im Vorfeld mit Hilfe von Zellkultur-Techniken ausführlich getestet. Daher werden in vivo Experimente nur mit den ausgewählten Formulierungen durchgeführt, die sich zuvor in vitro als besonders effizient sowohl bezüglich ihrer Aufnahme durch Antigen-präsentierende Zellen, als auch hinsichtlich ihrer Kapazität, Immunreaktionen vom anti-allergischen T-Helfer 1 oder einem regulatorischen T-Helfer Typ zu induzieren, gezeigt haben.

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*

Neue Therapien gegen Autoimmunerkrankungen sind wegen der Nebenwirkungen der heute gebräuchlichen Medikamente sinnvoll und notwendig. Ein solches neues immunsuppressives Medikament könnte diese hier zu testende, neuartige Substanz und seine Derivate werden. In den Zellkultur-versuchen stellte sich heraus, dass diese Substanz in der sehr geringen Konzentration von 10 µM selektiv die Reaktionsbereitschaft von speziellen weißen Blutkörperchen zu unterdrücken scheint (T-Zellen) und dabei weder die bei Allergien wichtigen Mastzellen noch die Fremdstoffe präsentierenden dendritischen Zellen angeregt werden.

*zu erwartender Nutzen:* Ein solcherart immunsuppressiv wirkendes Medikament würde gegen eine Vielzahl von „Fehl-Reaktionen“ unseres Immunsystems nützlich sein, angefangen von Allergien bis hin zu chronischen Erkrankungen wie Schuppenflechte

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Die Tiere werden in diesen Experimenten mittelgradig belastet, da ihnen künstlich eine Allergie induziert wird, die mit Hautschwellungen einhergehen. Um die Hautschwellung leicht und ohne großen Stress für die Tier messen zu können wird diese Allergie am Ohr ausgelöst und die Ohrdicke gemessen, wobei das Tier kurzzeitig in Narkose liegt. Die experimentellen Medikamente werden bei diesen Versuchen in die Bauchhöhle injiziert bzw. über das Futter verabreicht.

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

Als Versuchstiere werden weibliche Mäuse der Stämme BALB/c Maus, und C57Bl/6 Maus im Alter von 10 bis 12 Wochen eingesetzt. Die Gesamtzahl der Tiere in den Versuchen wird maximal 690 betragen. Die Anzahl wird wegen der bisherigen guten Ergebnisse um **zusätzliche 450 Tiere** auf 690 erhöht.

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

*Vermeidung:* Es wurde für diese Zielsetzung nach Alternativmethoden in Datenbanken gesucht, aber keine entsprechenden Methoden zur Testung der Substanzen ohne Tiermodell gefunden, da wir alle in vitro Methoden schon ausgeschöpft haben.

*Verminderung:* Natürlich wurde bei der Versuchsplanung auch eine Risikoabschätzung gemacht und dabei darauf geachtet die Anzahl der Tiere so gering wie möglich zu halten. Weniger große Tierzahlen pro Experiment als die von uns geplanten würden die erwartete Trennschärfe der Messungen und deshalb die Aussagekraft der Experimente kompromittieren.

*Verfeinerung:* Durch den Aufbau unserer Experimente versuchen wir das Leiden der Tiere so gering, wie möglich zu halten.

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

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

Das Ziel des vorliegenden Projekts ist es, die Ursache der sogenannten „Immunmedierten Keratitis“ (IMMK) beim Pferd herausfinden, die bis dato ungeklärt ist. Dabei handelt es sich um eine Erkrankung, bei der betroffene Pferde Trübungen des Auges sowie Schmerzhaftigkeit zeigen. Eine immun mediierte Pathogenese wird vermutet. Um das Versuchsziel zu erreichen, wird von Pferden, die an dieser Erkrankung leiden, sowie von gesunden Vergleichspferden jeweils eine Blutprobe genommen. Damit wird ein Autoantikörperscreening durchgeführt.

*zu erwartender Nutzen:* Die Ursache der Immun mediierten Keratitis wird erforscht.

*zu erwartender Schaden:* Eine Venenpunktion stellt beim Pferd eine Routineprozedur dar, die nur zu kurzer und geringer Beeinträchtigung des Wohlbefindens führt.

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

**Pferde, insgesamt 70 (35 gesunde Tiere, 35 mit IMMK)**

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

*Vermeidung:* Diese Untersuchung kann nur am lebenden Pferd durchgeführt werden.

*Verminderung:* Die Blutproben werden im Rahmen der Augenuntersuchung genommen, für die in der Regel eine Sedation des Tieres nötig ist. Die Blutprobe kann vor der Applikation des Sedativums gewonnen werden, so dass eine erneute Venenpunktion nicht nötig ist. Anderenfalls wird die Blutprobe durch Venenpunktion entnommen.

*Verfeinerung:* Die Blutabnahme wird nur von qualifizierten Tierärzten durchgeführt, um eine Belastung durch ungeübte Personen zu vermeiden.

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

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

In dieser Studie sollen anhand von natürlich alternden Mäusen verschiedene, der menschlichen Ernährung nachempfundene Diäten auf ihre Auswirkungen auf Langlebigkeit bzw. Lebensspanne, sowie unterschiedliche physiologische Parameter wie Insulinresistenz (typischer Marker für Diabetes), Fettleibigkeit, kardiologische Parameter und chronische Entzündungsmarker beim Altern getestet werden. Dafür wird der Anteil verschiedener Nahrungsbestandteile (zum Beispiel bestimmte Kohlehydrate) im Futter der Tiere verändert und die Auswirkungen dieser Ernährung überwacht. Einerseits sollen Diäten getestet werden, bei denen Diabetes-ähnliche Symptome sowie eine möglicherweise verkürzte Lebensdauer erwartet werden.

*zu erwartender Schaden:* Es wird erwartet, dass diese Ernährungsweisen den Tieren nur in sehr begrenztem Maße (z. B. leichte Beeinträchtigung der Beweglichkeit durch Fettleibigkeit) zusätzliches Leid verursacht und nicht wesentlich über das Maß von natürlichen Altersschwächen hinausgeht bzw. diese höchstens etwas beschleunigt. Andererseits werden gesundheitsfördernde Ernährungsweisen getestet, bei denen eine positive Wirkung auf den Allgemeinzustand wie auch auf die Lebensspanne erwartet wird. Diese potentiell gesundheitsfördernden Ernährungsweisen umfassen lediglich die Zugabe und damit eine Anreicherung von Substanzen, die bereits ein natürlicher Bestandteil von normalem Mausfutter sind. Diese Substanzen werden in Mengen zugesetzt, die im Prinzip durch Variation einer natürlichen und ausgewogenen Ernährung erreichbar wären. In einer Folgestudie sollen durch Kombination vorgenannter Ernährungsweisen die durch oben genannte Kohlenhydrat-reiche Ernährung auftretenden negativen Effekte vermindert werden und der allgemeine Gesundheitszustand verbessert werden.

*zu erwartender Nutzen:* Da die verabreichten Diäten Ernährungsweisen unserer Gesellschaft nachempfunden sind, kann diese Studie wertvolle Einblicke in die Folgen von sogenannter "ungesunder" Ernährung bieten und mögliche natürliche Alternativen zu medikamentöser Behandlung von Zivilisationskrankheiten wie Diabetes oder Fettleibigkeit aufzeigen.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Insgesamt wird die Studie maximal **528 Wildtyp-Mäuse** umfassen.

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

*Vermeidung:* Die oben angesprochenen Diätformen wurden bereits in niederen Modellorganismen (z. B. Würmern und Fliegen) soweit wie möglich getestet. Auf Grund vielversprechender Ergebnisse in diesen Modellen ist nun der Schritt zum höheren Tiermodell unabdingbar, um eine mögliche positive Wirkung auf den Menschen abzuschätzen. Da die gemessenen Parameter (Diabetesmarker, chronische Entzündungsmarker, Parameter für Herzinsuffizienz etc.) sich aus dem Zusammenspiel verschiedener Organe eines alternden Organismus ergeben, gibt es für sogenannte multisystemische Studien, wie die hier vorgestellte, keine bekannten Alternativmodelle.

*Verminderung:* Die Anzahl der Tiere schon im Vorhinein streng limitiert wurde und ein Teil dieser Tiere als Kontrollen dienen, die keinem Tierversuch im eigentlichen Sinne unterzogen werden. Eine weitere Reduktion der Tierzahlen wird erreicht, in dem von den maximal veranschlagten Tierzahlen nur so viele Tiere tatsächlich für einen Versuch (z.B. Glukose- und Insulintoleranztest) verwendet werden, wie nötig sind, um statistisch signifikante Ergebnisse zu erreichen und damit wissenschaftlich fundierte Erkenntnisse zu gewinnen.

*Verfeinerung:* Weiters werden nur wissenschaftlich erprobte Testverfahren, nach international anerkannten Protokollen, angewendet und die Dauer eines Testes durch Abbruch der Messungen bei Erreichen einer Aussage minimiert. Dabei wird selbstverständlich so gearbeitet, dass Stress und Schmerzen für die Tiere auf ein Minimum reduziert werden. So wird beispielsweise auch auf den Einsatz von transgenen Tieren, die von Geburt an Defizite in ihrem Fett- und Kohlehydratstoffwechsel aufweisen und daher unter physiologischen Beeinträchtigungen leiden, verzichtet. Darüber hinaus werden alle Versuche ausschließlich von sachkundigem und bestens geschultem Personal durchgeführt.

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

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

Chronische virale Infektionen und metabolische Lebererkrankungen wie entzündliche Fettleber (Steatohepatitis) sind die Hauptursachen für chronische Leberschäden in der westlichen Welt. Sie können bei einer maßgeblichen Zahl der Patienten in der Folge zu Leberzirrhose und später zu Leberkrebs (hepatozelluläres Karzinom) führen. Die morphologischen Veränderungen bei Steatohepatitis betreffen insbesondere das Keratin-Zytoskelett. Keratin-Knockout Mäuse erlauben daher die Rolle der Keratine (Keratin 8 und 18) bei der Entstehung von Steatohepatitis zu untersuchen. Dies ist umso wichtiger als Keratin 18-Knockout Mäuse ohne weitere Intervention nach etwa einem Jahr spontan den Steatohepatitis-Phänotyp entwickeln, der sich in der Folge zu Leberkrebs weiterentwickelt, was dem Ablauf der menschlichen Erkrankung sehr nahe kommt. Demgegenüber zeigen Keratin 8-Knockout Mäuse Leberschäden ohne die Steatohepatitis-typischen Veränderungen. Wir wollen an diesen Tieren den Einfluss von Keratinen auf den Energiemetabolismus, die mitochondriale Funktion und Autophagie/Mitophagie untersuchen, die sich in früheren Untersuchungen als wichtige Faktoren bei der Entstehung der Steatohepatitis gezeigt haben.

Der Schweregrad wird als gering eingestuft.

Gleichzeitig sollen die homozygoten Wildtyp- und Knockout-Mauslinien durch Zucht weiter erhalten werden (je 9 Zuchttiere plus temporär je 50 Tiere aus denen weitere Zuchttiere selektiert werden).

*2. Art und Anzahl der Tiere*

Im Experiment werden insgesamt 80 Tiere, für die Erhaltungszucht 1200 Tiere für **36 Monate** geplant.

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

*Vermeidung:* Ersatzmethoden für diese Studien sind nicht verfügbar, da es sich um Experimente handelt, die die Lebensdauer von primären Leberzellen in Kultur, die durch simple Organentnahme gewonnen werden könnten, bei weitem übersteigen. Kultivierte immortalisierte Zellen können für diese Experimente nicht verwendet werden, da die phänotypischen Veränderungen der Steatohepatitis in keiner uns bekannten Leberzelllinie auftreten. Ebenso werden in solchen Linien viele charakteristische Gene nicht exprimiert, oder der Metabolismus der Zellen unterscheidet sich wesentlich von Hepatozyten in situ. Auch ist in reinen Zellkulturexperimenten der Kontext der Funktionsänderung im Gesamtorganismus nicht gegeben. Der Umstand, dass Keratin 18 Knockout-Mäuse ohne weitere Intervention die Krankheitsbilder Steatohepatitis und Leberkrebs entwickeln, vermindert die Belastung im Tierversuch und erlaubt gezieltere Untersuchung der Krankheitsmechanismen in Hinblick auf die Rolle der Keratine.

*Verminderung:* Die Tieranzahl im Experiment ist minimal bemessen, doch so dass bei den Ergebnissen statistische Signifikanz gegeben ist.

*Verfeinerung:* Für das Wohl der Tiere wird durch veterinärmedizinische Überwachung und erfahrenes Tierpflegepersonal Sorge getragen.

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

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

Die chronische Herzschwäche ist mit einem erheblichen Leidensdruck, Sterblichkeit (50% in 5 Jahren) und gesellschaftlichen Kosten verbunden. Hämodynamisch ist sie definiert als die Unfähigkeit des linken Ventrikels, ein adäquates Herzzeitvolumen bei physiologischem Füllungsdruck zu gewährleisten. Sie kommt in zwei prototypischen Ausprägungen vor (1) mit Dilatation und Wandverdünnung des linken Ventrikels (HFREF, heart failure with reduced ejection fraction) und (2) mit Lumenverlust, konzentrischer Hypertrophie und Versteifung des linken Ventrikels (HFPEF, heart failure with preserved ejection fraction). HFREF ist typischerweise eine männliche Erkrankung infolge der kardialen Risikofaktoren Rauchen, Diabetes, Bluthochdruck, hoher Blutfette und Übergewicht. Dem gegenüber ist HFPEF assoziiert mit dem weiblichen Geschlecht, Alter, Vorhofflimmern und der Akkumulation kardiovaskulärer Risikofaktoren über die Zeit bei gleichzeitigem Mangel an körperlicher Bewegung. Während der akute Myokardinfarkt als Hauptursache des HFREF mittlerweile sehr gut behandelt werden kann, nimmt die Prävalenz des HFPEF in der alternden Bevölkerung insbesondere bei Frauen immer weiter zu.

Für das HFREF stehen zahlreiche etablierte Behandlungsstrategien zur Verfügung ( $\beta$ -Blocker, ACE-Hemmer, AT1-Blocker, Aldosteronrezeptorantagonisten, biventrikuläre Schrittmacher und Defibrillatoren, Herztransplantation, Kunstherzen). Hingegen existiert für HFPEF bislang keine einzige fundierte Behandlung. Dieser Missstand beruht auf einem mangelnden Verständnis der Signalwege, die zu einer Versteifung des linken Ventrikels bei HFPEF führen.

Experimentelle Befunde bei isolierten Herzmuskelpräparaten zeigen, dass bestimmte Substanzen (Stickstoffmonoxid, natriuretische Peptide) die Elastizität des Herzgewebes verbessern können – dies wäre ein entscheidender Schritt zur Behandlung des HFPEF. Es ist aber bislang unklar, ob sich diese Effekte auch am schlagenden Herzen im Gesamtorganismus reproduzieren lassen. Ziel des beantragten Projektes ist daher die Testung der Wirksamkeit dieser Substanzen beim Hausschwein.

Die Stimulation bestimmter Signalwege (lösliche und partikuläre Guanylatzyklase) vermag bei isolierten Herzmuskelpräparaten die Steifheit der Herzmuskelzellen zu vermindern. Die hier beantragten Experimente sollen überprüfen, ob diese Befunde auch auf das schlagende Herz im Gesamtorganismus übertragbar sind. Diese Validierung erfordert eine komplexe Instrumentierung mit verschiedenen Kathetern und kann daher nur bei Großtieren erfolgen, gleichzeitig sind diese Versuche unabdingbar, bevor der molekulare Therapieansatz in Richtung Einsatz bei Patienten entwickelt werden kann. Ein positiver Befund wäre ein maßgeblicher Schritt hin zu einer erstmals wirksamen Therapie des HFPEF.

Sämtliche schmerzhaften Eingriffe bei den Versuchstieren inklusive der Tötung erfolgen in adäquater Sedierung oder Narkose, die Tiere werden am Ende der Experimente in fortlaufender Narkose getötet. Alle Verfahren sind technisch in der Arbeitsgruppe etabliert. In bisherigen Versuchsreihen ergab sich kein Anhalt für Schmerzen, Leiden oder Angst der Tiere. Angesichts der Hinfälligkeit und Sterblichkeit von Patienten mit Herzinsuffizienz halten wir die mit dem Projekt verbundene Belastung der Tiere für vertretbar.

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

Weibliche Hausschweine. Erhöhen der Anzahl der Tiere um **zusätzlich 16 Tiere auf insgesamt 48 Tiere.**

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

*Vermeidung:* Eine Vermeidung des beantragten Tierversuches ist nicht möglich, da pharmakologische Therapieansätze, die in Zellkulturen vielversprechend sind, vor der Übertragung auf den Menschen erst in einem intakten Herz-Kreislaufsystem validiert werden müssen. Da die Messungen u.a. eine Katheterisierung der Herzkranzgefäße umfassen, ist ein Großtiermodell erforderlich. Für die Spezies Schwein spricht die dem Menschen sehr ähnliche Anatomie des Herzkreislaufsystems.

*Verminderung:* Es wird die geringst mögliche Anzahl an Tieren verwendet, die für eine statistisch signifikante Aussagekraft der Ergebnisse notwendig sind. Sollten sich Signifikanzen bereits mit weniger als den geplanten Tierzahlen ergeben, wird die Anzahl der für das Versuchsprotokoll eingesetzten Tiere entsprechend reduziert werden.

*Verfeinerung:* Während der Eingewöhnungszeit der Tiere werden neben standardmäßiger fachkundiger Betreuung durch geschultes TierpflegerInnenpersonal zusätzlich zum Wohl der Tiere Enrichment in Form von Bällen, Gummiringe etc. zur Verfügung gestellt. Weiters werden die Tiere durch vermehrten Kontakt an die Tierpflegerinnen und Projektmitarbeiterinnen gewöhnt, um die Messungen nicht durch vorangegangenen Stress zu verfälschen.

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

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

Das kolorektale Karzinom ist die zweithäufigste Todesursache unter den Karzinom-Erkrankungen. Das Risiko ein Kolorektalkarzinom zu entwickeln ist insbesondere bei chronisch-entzündlichen Erkrankungen des Dickdarms und bei vererbbaaren Formen von Darmkrebs erhöht. Heutzutage ist viel über die molekularen Ereignisse, die zur Karzinomentstehung führen bekannt. Trotzdem gibt es im fortgeschrittenen Stadium sehr häufig keine Heilung. Die p21-aktivierte Kinase (PAK1) ist in vielen Krebsarten hochreguliert und spielt eine wichtige Rolle in der Entstehung von Darmkrebs. Die genaue Bedeutung ist jedoch unbekannt. Da PAK1 auch eine wichtige Rolle in entzündlichen Prozessen spielt, wollen wir untersuchen, wie sich das Fehlen von PAK1 auf eine akute Darmentzündung auswirkt.

*zu erwartender Nutzen:* Anhand vier verschiedener Krebsmausmodelle soll es uns gelingen zu neuen Erkenntnissen auf dem Gebiet von PAK1 zu kommen und somit neue Möglichkeiten zur therapeutischen Intervention zu entwickeln. In den bisher durchgeführten und genehmigten Versuchen konnte festgestellt werden, dass in humanen und murinen Darmtumoren PAK1 hochreguliert ist. In einem Tumor-Mausmodell (APCMin) zeigte sich, dass in Mäusen, die kein PAK1 besitzen, die Anzahl der Darmtumoren reduziert ist.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Die Tiere unterschiedlichen Genotyps entwickeln in Folge einer Darmentzündung im unterschiedlichen Ausmaß Darmtumoren. Durch klare Abbruchkriterien und engmaschige Überwachung werden Schmerzen und Leiden der Tiere vorgebeugt.

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

Der Antrag stellt eine zeitliche Verlängerung eines bereits genehmigten Protokolls mit 586 Mäusen unterschiedlichen Genotyps dar. Zur Abklärung einer weiteren speziellen Detailfrage werden **weitere 32 Mäuse** benötigt. Insgesamt werden daher maximal 618 Mäuse für diese Untersuchungen benötigt.

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

Soweit möglich, werden zur Beantwortung der Fragestellungen Zellkulturexperimente statt Tierversuche implementiert ("Replacement"). *In vitro* Versuche, die die Effektivität der Substanzen untermauern, wurden durchgeführt, ebenso Experimente die Hinweise auf die involvierten Signalwege liefern. Im Weiteren sind *in vivo* Untersuchungen am Tier notwendig, da die besonderen Bedingungen im Darm hinsichtlich pH, Löslichkeit, bakterielle Flora und entzündlicher Zellen *in vitro* und die Komplexität der Prozesse, die zur Entstehung von entzündungs-assoziiertem Kolorektalkarzinom führen, nicht nachgeahmt werden können. Aus ethischen Gründen kann dies nicht an einem Patientenkollektiv durchgeführt werden. Durch Standardisierung der Tierhaltung und der Methodik, mit möglichst gleichem genetischen Hintergrund der transgenen Tiere zu arbeiten, wird die Streuung der Ergebnisse und somit die benötigte Tierzahl deutlich vermindert. Für eine statistisch gesicherte Aussage wurde die Gruppengröße durch die Fallzahlberechnung ermittelt. Auf eine Reduktion der Belastung der Tiere wurde durch Definition klarer Abbruchkriterien geachtet.

