

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

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

Das Ziel des Projektes ist, unerwünschte Wirkungen eines Inhibitors des Ionenkanals Anoctamin-1 an Mäusen zu überprüfen, damit sie, unter der Voraussetzung, dass keine relevante Toxizität vorliegt, am Menschen getestet werden kann.

Der zu erwartende Nutzen ist, dass entweder (im Falle von Toxizität) Menschen vor unerwünschten Wirkungen geschützt werden, oder, dass (im Falle dass keine relevanten unerwünschten Wirkungen auftreten) die Substanz am Menschen getestet werden kann.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Der Schaden beschränkt sich auf die einmalige Injektion in die Haut und ggf. auf Nebenwirkungen.

2. Anzahl und Art der verwendeten Tiere:

55 C57BL/6 Mäuse.

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

Vermeidung: Es sind keine toxikologischen Daten für den Inhibitor des Ionenkanals Anoctamin-1 verfügbar, die eine Anwendung am Menschen rechtfertigen würden. Der Versuch ist daher vor dem Humanversuch unumgänglich.

Verminderung: Da die Studie von einem in dieser Thematik erfahrenen Team nach standardisierten Methoden durchgeführt wird, sowie der nach Goldstandard durchgeführten Tierhaltung, kann die Zahl der Tiere sowie die Varianz in den Ergebnissen klein gehalten werden, ohne Informationsverlust zu erleiden.

Verfeinerung: Injektionen und Analysemethoden werden nach internationalen Standards durchgeführt und sichern damit minimalen psychischen und physischen Stress für die Tiere.

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

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

Das Säugetiergehirn besteht aus etwa hundert Milliarden Neuronen, die über rund 1015 Synapsen miteinander verbunden sind. Die Prinzipien dieser Verknüpfung sind eine wichtige Determinante der Funktion neuronaler Netze. Es mehren sich die Hinweise darauf, dass diese Konnektivität nicht zufällig verläuft, sondern komplexen mikroskopischen und makroskopischen Regeln folgt. Ziel des vorliegenden Projekts ist die Bestimmung der funktionellen Konnektivitätsregeln zwischen den identifizierten Typen von Hauptneuronen und Interneuronen im entorhinalen Cortex-Gyrus dentatus-CA3-Pyramidalzellen-Netz des Hippocampus. Hierzu führen wir eine genetische Markierung von Neuronen durch und fertigen anschließend Patch-Clamp-Aufnahmen von verschiedenen Zellen in Schnittpräparaten an. Um Informationen über weiträumige Inputs zu erhalten, werden wir zusätzlich präsynaptische Endigungen entfernter Zellen mittels Optogenetik stimulieren.

Zu erwartender Nutzen: Eine Untersuchung dieser Regeln ist wesentlich für das Verständnis höherer Gehirnfunktionen und um realistische Modelle neuronaler Netze entwickeln zu können. Quantitative Informationen über die Konnektivität fehlen jedoch weitgehend. Im Idealfall könnten strukturelle Konnektivität und funktionelle Konnektivität parallel untersucht werden. Erst vor kurzem haben wir Techniken entwickelt, die es uns erlauben, Aufnahmen von mehreren Neuronen in Schnittpräparaten anzufertigen. Bisher wurden dazu herkömmliche Verfahren verwendet, wie beispielsweise gepaarte Aufnahmen. Dank dieser Strategie konnten wir eine wesentlich größere Anzahl potenzieller Verbindungen testen, wodurch präzisere Aussagen sowohl zur Verbindungswahrscheinlichkeit als auch zu den funktionellen Parametern möglich waren. Damit ist eine vollständige Beschreibung der funktionellen Verbindungsmechanik identifizierter Neuronen in neuronalen Verschaltungen in greifbare Nähe gerückt.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Wir nutzen eine neue Generation Treiber-Mauslinien für verschiedene Rekombinasen, einschließlich Cre-Rekombinase und Flp-Rekombinase. Die Kombination mit einer neuen Generation Reporter-Mauslinien bietet uns die Möglichkeit, die zur Erreichung unseres Projektziels erforderlichen Versuche durchzuführen. Die Verwendung dieser neuen Mausmodelle kombinieren wir mit teils sehr komplexen, aber auch sehr gut etablierten chirurgischen sowie einfachen, nicht chirurgischen Methoden, um unsere Zielregion entsprechend darstellen und erforschen zu können. Die chirurgischen Eingriffe werden jedoch ausschließlich unter Verwendung von erprobten Narkoseprotokollen, die dem aktuellen Stand der „Good Veterinary Practice“ entsprechen, durchgeführt. Hochmoderne Narkoseprotokolle werden, begleitet von einer der aktuellen medizinischen Praxis entsprechenden Schmerztherapie angewendet. Unnötig verursachter Schmerz würde sich für unseren Projekterfolg als besonders kontraproduktiv erweisen, einer zuverlässigen Schmerztherapie

wird daher besonderes Augenmerk geschenkt. Außerdem werden noch ein paar Linienkreuzungen benötigt und angelegt, bei denen ein milder Phänotyp, hervorgerufen durch die Zucht, nicht ausgeschlossen werden kann. Der höchste Belastungsgrad, dem die Tiere ausgesetzt werden könnten ist als „mittel“ zu bezeichnen.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Wir verwenden ausschließlich Labormäuse. Insgesamt werden 3850 Mäuse über einen Zeitraum von 5 Jahren für Analysen und Zuchten, mit eventuell auftretendem Phänotyp, verwendet.

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

**Vermeidung:** Bedauerlicherweise können wir zum aktuellen Zeitpunkt neue Erkenntnisse über die Funktionen des neuronalen Netzes im Hippocampus nicht allein durch Modellierung oder mit in-vitro-Methoden gewinnen. Wir arbeiten parallel zu unseren Versuchsaufbauten jedoch intensiv daran, die synaptische Übertragung bei Netzwerkaktivitäten zu modellieren. Auch wenn diese Modellentwicklung keine Tierversuche ersetzt, kann sie dennoch einen sehr konkreten hypothetischen Rahmen schaffen, der in biologischen Experimenten ausgetestet werden kann. Dies führt wiederum zu einem gesteigerten wissenschaftlichen Output des Projekts, gleichzeitig kann die Zahl der Tierversuche reduziert werden.

**Verminderung:** Unsere Gruppe bemüht sich nach Kräften, die Anzahl der für die vorgeschlagenen Versuche erforderlichen Tiere zu minimieren. Die große Erfahrung der Gruppe auf dem Fachgebiet der Elektrophysiologie spielt eine wichtige Rolle bei der Optimierung der Verfahren, was die Generierung von besonders hochwertigen Daten mit hervorragendem Signal-Rausch-Verhältnis, Stabilität und Zugangswiderstand bei physiologischen Aufnahmen ermöglicht. Dies erhöht wiederum die Stichhaltigkeit der Schlussfolgerungen, die aus diesen Daten gezogen werden können, und minimiert gleichzeitig den Einsatz von Versuchstieren. Wir überprüfen die Gruppengrößen und werden sie abhängig von den Versuchsbedingungen neu anpassen, entsprechend dem Ergebnis der ersten Versuchsreihen.

**Verfeinerung:** Die Überwachung der kardiovaskulären Parameter während der Operation wird uns viel früher als jedes klinische Anzeichen über negative Veränderungen im Wohlbefinden des Versuchstiers während der Operation informieren. So können wir reagieren, bevor das Tier einen kritischen Zustand erreicht. Wir versuchen außerdem, die Erholungszeit nach der Operation zu maximieren. Sämtliche aus den ersten Versuchsreihen gewonnenen Erkenntnisse werden genutzt, um die Gestaltung der nachfolgenden Versuche zu verfeinern und die Versuchsdurchführung zu optimieren. Die Gruppe verfügt über große Erfahrung mit biologischen Versuchen sowie eine große Anzahl von erfahrenen Mitarbeitern, die diese anspruchsvollen und komplizierten Operationen durchzuführen.

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

zu erwartender Nutzen: Die Behandlungsmethode/das Präparat soll der Vorbeugung oder Behandlung potentiell lebensbedrohlicher Erkrankungen des Menschen dienen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: mittelgradige Belastung bei der Applikation der Prüfsubstanzen, Blutabnahmen, Durchführung der Wirksamkeitsprüfungen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Mäuse: 6080

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

Vermeidung: Die Zielsetzung des vorliegenden Tierversuchsprojektes mit Aufgabenstellung, geplanten Tierarten und Tierzahlen kann nicht durch wissenschaftlich aussagenkräftige verfügbare und behördlich anerkannte Ersatzmethode erreicht werden. Es wird die geringstmögliche Anzahl an Tieren verwendet um eine statistisch relevante Aussagekraft zu erreichen. Im Vorfeld des Tierversuchsprojektes werden inVitro Methoden verwendet, um die Eignung der Testsubstanzen zu prüfen.

Verminderung: Regelmäßige Schulungen der Mitarbeiter (3R - sowie artgerechte Tierhaltung - Animal Welfare); Weiterbildung (z.B. Tagung und Seminare); Arbeiten mit geringer Tieranzahl, ohne die wissenschaftliche Aussagekraft zu vermindern (biostatistische Auswertung)

Verfeinerung: Die am geringsten belastende Blutabnahmetechnik wird verwendet. Bei Bedarf werden die Blutabnahmen unter Narkose von geschultem Personal durchgeführt. Tägliche Betreuung und regelmäßige tierärztliche Überwachung sowie umfassendes klinisches Monitoring während des Versuches werden durchgeführt und dokumentiert. Die Daten werden statistisch ausgewertet. Die Unterbringung, Haltung, Cage Enrichment (Einstreu, Nestbaumaterial, Heu etc .. ), Pflege und Verwendung von Tieren werden von geschultem Personal durchgeführt. Anwendung von „humane endpoints“. Regelmäßige Evaluierung geringstmöglicher Belastung für das Erlangen der notwendigen Kenntnisse. Die Beendigung des Tierversuches erfolgt durch geschulte Mitarbeiter mit der schonendsten Methode.

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 die Austestung eines selektiven Dopaminwiederaufnahmehemmers im transgenen ApoE3 und ApoE4 Mausmodell. Dafür werden 2 Teilprojekte durchgeführt. In der ersten Projektphase werden alle Tiere in 2 Verhaltenstests auf ihre Lern- und Gedächtnisleistung untersucht. Während dieser Phase werden die Tiere zusätzlich mit Vehikel behandelt damit sie sich an die Behandlungsprozedur gewöhnen. Am Ende dieser Phase werden die Tests umgehend ausgewertet. Weisen die ApoE4 Mäuse kognitive Defizite auf, werden sie in Projektphase 2 mit einer von drei Konzentrationen der Testsubstanz behandelt und anschließend erneut in 2 Verhaltenstests auf ihre Lern- und Gedächtnisleistung untersucht. Am Ende der Studie werden alle Tiere euthanasiert und Gewebe entnommen. Es wird erwartet, dass ApoE4 Mäuse statistisch signifikante kognitive Defizite aufweisen und die ApoE3 Mäuse als Negativkontrollen hierfür geeignet sind. Des Weiteren wird erwartet, dass die kognitiven Leistungen durch die Testsubstanz verbessert werden.

Schaden und Nutzenabklärung: Die Lieferung der Tiere stellt für die Tiere leichten Stress aber kein Schmerz oder Leid dar. Das Transgen ApoE3 oder E4 stellt für die Tiere keinen Stress, Schmerz oder Leiden dar. Selbst wenn die Tiere kognitive Defizite aufweisen, werden sie durch diese in ihrem Alltag nicht behindert. Die wiederholte intraperitoneale Behandlung erzeugt bei den Tieren nur kurzzeitig geringen Stress und geringen Schmerz aber kein Leid. Aufgrund der hohen Selektivität der Substanz werden keine Nebenwirkungen erwartet. Negative Effekte können jedoch nie zur Gänze ausgeschlossen werden. Der Morris Water Maze Test, Passive Avoidance Test und der Contextual Fear Conditioning Test können in den Tieren kurzzeitig geringen bis mittelgradigen Stress aber keinen Schmerz oder Leid auslösen.

Diese Studie ist ein wichtiger Schritt in der Weiterentwicklung dieser potenziellen zukünftigen Behandlungsmöglichkeit der Alzheimer Krankheit.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie werden insgesamt 60 ApoE3 und 60 ApoE4 transgene Mäuse beider Geschlechter im Alter von 10 Monaten beantragt.

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

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

**Verminderung:** In dieser Studie sollen pro Gruppe 15 Tiere verwendet werden. Diese Gruppengröße beruht auf Erfahrungswerten mit den verwendeten Verhaltenstests. Ersatztiere sind bereits inkludiert.

**Verfeinerung: Stressminimierung:** An dieser Stelle soll ausdrücklich festgehalten werden, dass der Tierversuch unter Vermeidung aller mit dem Versuchszweck nicht notwendig verbundenen Belastungen durchgeführt wird. Die Tiere werden bereits vor Beginn der Studie durch so genanntes „Handling“ mit den involvierten Personen vertraut gemacht, um unerwünschte, stressbedingte, falschpositive bzw. falschnegative Ergebnisse zu vermeiden.

Gleichgeschlechtliche Tiere werden zusammen im Käfig gehalten, soweit es die Tierzahl erlaubt. Dadurch verbleiben die Tiere in ihrem Familienverband und zusätzlicher psychischer Stress, z.B. von neuerlichen Revierkämpfen oder der Vereinzelung, wird vermieden.

**Gesundheitszustand:** Generell gilt, dass zur Durchführung des Tierversuchs nur Tiere verwendet werden, deren Gesundheitszustand einwandfrei ist.

Alle Tiere stehen unter ständiger Kontrolle. Erkrankte oder verletzte Tiere werden in einem Patientenblatt vermerkt. Abhängig vom Schweregrad der Symptome entscheidet der Tierarzt über die weitere Behandlung oder Euthanasie der Tiere.

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

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

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

Projektziele: Das Immunsystem schützt den menschlichen Körper gegen viele unterschiedliche Krankheitserreger. Die Krankheitserreger werden mittels unspezifischen und spezifischen Signalen (den Antigenen) von dem Immunsystem erkannt. In besonderen Fällen reagiert das Immunsystem auf ansonsten harmlose Umweltantigene, und es entsteht eine allergische Überempfindlichkeitsreaktion, die auf Grund von Umweltfaktoren und genetischer Prädisposition entsteht. Allergische Erkrankungen betreffen das Leben von mehr als eine Billion Menschen auf der ganzen Welt. Es gibt seit den letzten 60 Jahren eine rasante Zunahme an Neuerkrankungen, wodurch zu erwarten ist, dass die Anzahl der erkrankten Menschen auf bis zu 4 Billionen im Jahr 2050 ansteigt. Allergische Erkrankungen umfassen verschiedene Formen darunter auch das allergische Asthma. Aktuelle Therapien können die Symptome des allergischen Asthmas lindern, aber es gibt noch keine präventive oder kurative Behandlung. Deswegen ist die Erforschung von Faktoren, die für die Entstehung des allergischen Asthmas verantwortlich sind, von wesentlicher Bedeutung, und bildet die Basis für neue Therapeutische Ansätze. Diese betreffen vor allem die Allergen-spezifische Immuntherapie. Ziel der Immuntherapie ist es, das verlorene Gleichgewicht der Immunzellen wiederherzustellen. Daher ist es wichtig, die Prozesse aufzuklären, die zu einer fehlgeleitenden Immunantwort führen. In dem Projekt versuchen wir medizinisch relevante Gene zu identifizieren und zu charakterisieren. Durch ein besseres Verständnis der Funktion dieser Gene soll es schlussendlich auch möglich sein, neue potentielle Therapieansätze zu identifizieren.

Zu erwartender Nutzen: Die im Versuch durchgeführten Versuche werden verwendet, um zu testen, ob immunologische Veränderungen in Mäusen, die eine Genveränderung haben, zu einer Beeinträchtigung oder Verstärkung von allergischen Erkrankungen führt. Wir können daraus wichtige Erkenntnisse für die Entwicklung und das Fortbestehen der Erkrankung gewinnen. Wir erwarten uns damit auch, dass die Ergebnisse der Versuche die Funktion der untersuchten Gene aufzeigen und auch Hinweise geben, ob die untersuchten Gene geeignete „Zielstrukturen“ für therapeutische Ansätze sind, oder zu geeigneten „Zielstrukturen“ für therapeutische Ansätze führen.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: die geplanten Versuche gehören zu sehr gut charakterisierten Modellen, mit denen immunologische und entzündliche Krankheitsmechanismen untersucht werden können. Diese Modelle führen zur Ausbildung wesentlicher Kennzeichen von menschlichem Asthma. Die Tiere werden erst mit einem Allergen sensibilisiert. Dafür wird ihnen das Allergen gespritzt. Die Krankheit wird durch das Einatmen des Allergens provoziert. Die Belastung der Tiere kann dadurch am Anfang der Versuche als gering eingestuft werden. Im Laufe der Erkrankung kann diese Belastung bis zu mittel ansteigen. Die Tiere werden täglich kontrolliert und bei einem eventuellen Auftreten von vorab

definierten Abbruchkriterien aus dem Versuch entfernt. Die Erkrankung hinterlässt bei den Tieren keine Schäden, sie können falls sie nicht für Organentnahme euthanasiert werden, wieder vollkommen genesen.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Mäuse (*mus musculus*), 1834 Tiere unterschiedlichen Genotyps

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

**Vermeidung:** Mit unseren Studien haben wir uns zum Ziel gesetzt, mit Hilfe von Ansätzen, die mit genveränderten Tieren (transgene Mäuse) durchgeführt werden, die Funktionsweise wichtiger immunregulatorischer Moleküle zu identifizieren und dadurch grundlegende Einblicke in die Regulation des Immunsystems zu gewinnen. Diese komplexe Reaktionen können nicht ausschließlich in einem Zellkulturmodell untersucht werden, weil der Immunantwort komplexe zelluläre Interaktionen zugrunde liegen, die nur *in vivo* studiert werden können. Deshalb können diese (medizinisch relevanten) Fragestellungen nur unter Einbeziehung eines Tiermodells (d.h. transgener Mäuse und einem Krankheitsmodell) untersucht werden.

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

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

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

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

Das Projektziel besteht in der Erforschung der Rolle eines G Protein-gekoppelten Rezeptors (LPAR5; Q149R9) bei der Ausbildung von Lipopolysaccharid (LPS)-induzierter Neuroinflammation in LPAR5 knockout Mäusen, die zu diesem Zweck gezüchtet werden, und C57Bl/6J als Kontrollen.

zu erwartender Nutzen: Wesentliche Erkenntnisse über die Wirkung von LPAR5 auf die Schwere von LPS-induzierter Neuroinflammation zu gewinnen, um Informationen zur Entwicklung therapeutischer Ansätze zur Behandlung von neuroinflammatorischen Erkrankungen zu generieren.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Durch einmalige LPS Injektion i.p. wird eine akute Entzündung induziert. Die Injektion von niedrigen LPS Dosen führt zu einem initialem Anstieg der Entzündungsparameter in der Peripherie und im zentralen Nervensystem, erreichen jedoch nach einer Woche wieder Basislinien-Werte. Die Narkotisierung sowie die Tötung der Tiere und die sich daran anschließende Entnahme der Organe zur weiteren Präparation stellen weitestgehend schmerzfreie Eingriffe dar. Durch das Leiden der Tiere fällt diese unter den Schweregrad ‚mittel‘.

2. Art und Anzahl der Tiere

C57Bl/6: 63

Lpar5tm1Jch, lysophosphatidic acid receptor 5; targeted mutation 1: 63

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

Vermeidung: Für die Abklärung der Wirkung des LPAR5 Proteins bei der Ausbildung von neuroinflammatorischen Symptomen ist es unabdingbar, diese Versuche in einem Lebewesen durchzuführen. Unsere Arbeitsgruppe versucht derzeit induzierte pluripotente Stammzellen in Mikroglia zu differenzieren. Falls die Ergebnisse dieser Versuche mit den Resultaten aus den hier angesuchten Tierversuchen vergleichbar sind, wird diese neue Technik im besten Fall zu einer Vermeidung von zukünftigen Tierversuchen führen.

Verminderung: Bei der Erstellung des Versuchsplanes wurde darauf geachtet, dass die Versuche mit geringstmöglicher Belastung und kleinstmöglicher Anzahl von Versuchstieren durchgeführt werden. Durch genaue und reproduzierbare statistische Verfahren wird die Aussagekraft der Experimente erhöht und stetig überprüft, was zu einer weiteren Verringerung der nötigen Tierzahlen führt. Durch den Einsatz von CRISPR/Cas Technologie können Gene ‚abschaltet‘ werden. Falls dies auch in Primärzellen gelingt wird dies zu einer Verminderung von Tierversuchen mit knockout Tieren führen können.

Verfeinerung: Die Mäuse werden in Gruppenhaltung gehalten um den Zuchterfolg zu erhöhen. Nestbaumaterial wird als Enrichment zur Verfügung gestellt. Die Versorgung und Betreuung erfolgt durch geprüfte Tierpfleger und wird vom zuständigen Veterinär in regelmäßigen Abständen kontrolliert. Die Tiere werden einem regelmäßigen Handling unterzogen um sich an etwaige Manipulationen zu gewöhnen. Stabilitätsuntersuchungen zeigten dass die pharmakologischen Inhibitoren in ‚normal chow diet‘ über mehrere Tage stabil sind. Das würde bedeuten dass diese Substanzen in zukünftigen Versuchen mit dem Futter verabreicht werden können und so den Stress der Tiere weiter vermindert.

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 die Austestung der Injektionsrouten-abhängigen Wirkung einer Testsubstanz zur Behandlung der Niemann-Pick Typ C Krankheit. Dafür werden homozygote NPC1<sup>-/-</sup> Tiere sowie wildtyp Geschwistertiere ab einem Alter von 1 bzw. 3 Wochen für 8 bzw. 6 Wochen mit der Testsubstanz, Vehikel oder einer Referenzsubstanz intracerebroventrikulär, intraperitoneal oder subkutan behandelt. Während der Studie werden die Tiere 3 Mal wöchentlich gewogen sowie am Ende des Projekts Gewebe auf die krankheitstypischen Pathologien analysiert. Es wird erwartet, dass die Testsubstanz zu einer Verbesserung der klinisch nachweisbaren Beeinträchtigungen und zu einer Reduktion der pathologischen Veränderungen führt. Des Weiteren wird erwartet, dass der positive Effekt der Testsubstanz auf das Krankheitsbild größer ist als der der Positivsubstanz. Mit diesem Projekt wird die Weiterentwicklung der Testsubstanz gefördert, so dass sie in Zukunft potenziell als neue Behandlungsmöglichkeit der Niemann Pick Typ C Erkrankung eingesetzt werden kann und damit Patienten zugutekommt.

Schaden und Nutzenabklärung: NPC1<sup>-/-</sup> Mäuse entwickeln ab einem Alter von ca. 8-9 Wochen einen progressiv schlechter werdenden Phänotyp, der vor allem durch Gewichtsverlust und Tremor gekennzeichnet ist. Da die Tiere in dieser Studie bereits mit einem Alter von 8 Wochen für die Gewebeentnahme euthanasiert werden, wird nur eine geringe bis maximal mittelgradige Belastung durch den Genotyp erwartet. Bei den wildtyp Geschwistertieren entfällt diese Belastung. Das Absetzen im Alter von 19 oder 20 Tagen findet früher statt als in unserer Institution üblich. Mit diesem Alter ist eine Trennung der Jungtiere von der Mutter in der Regel schon möglich und es werden auch nur die Tiere verwendet, die bereits stark genug für die Trennung sind. Dennoch kann dies geringen Stress, aber keinen Schmerz oder Leid auslösen. Für die Implantation der Kanüle zur intracerebroventrikulären Behandlung werden die Tiere unter Narkose stereotaktisch behandelt. Nach der Operation müssen die Tiere einzeln gehalten werden, um eine gegenseitige Manipulation der Kanülen und vermehrte Aggressionen gegenüber schwächeren Tieren zu verhindern. Diese Einzelhaltung kann geringen Stress, aber keinen Schmerz oder Leiden auslösen. Die wiederholte ICV Behandlung beim wachen Tier löst bei den Tieren kurzzeitig geringen Stress aber keinen Schmerz oder Leid aus. Durch die Wiederholung der Behandlung stellt sich ein Gewöhnungseffekt ein, weshalb der Stresspegel der Tiere zusätzlich sinkt. In einer früheren Studie wurde jedoch eine erhöhte Anzahl von plötzlich versterbenden Tieren in der Gruppe mit ICV Kanüle der Survivalanalyse ab einem Alter von 6 bis 7 Wochen beobachtet. Die intraperitoneale oder subkutane Behandlung kann bei den Tieren kurzzeitig geringen Stress und Schmerz auslösen, jedoch kein Leid. Durch die regelmäßige Wiederholung der Behandlung gewöhnen sich die Tiere an die Prozedur und der Stresspegel kann gesenkt werden. Ein Auftreten erheblicher Nebenwirkungen durch die

Testsubstanz wird nicht erwartet. Mit der Testsubstanz wurde in unserer Institution bereits in einer Studie gearbeitet und es kam zu keinen nennenswerten Nebenwirkungen. Da die Tiere in der vorliegenden Studie jedoch länger mit der Substanz behandelt werden sollen, kann es zu anderen Effekten kommen. Die Behandlungen mit Cyclodextrin und Vehikel führen zu keinen Nebenwirkungen.

Dieses Projekt stellt einen wichtigen Schritt in der Weiterentwicklung dieser potenziellen Therapie zur Behandlung der Niemann-Pick Typ C Erkrankung dar, um schlussendlich Patienten zugutekommen zu können.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden insgesamt 50 homozygote NPC1-/- Mäuse und 10 wildtyp Geschwistertiere beider Geschlechter beantragt.

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

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

**Verminderung:** In dieser Studie sollen 10 Tiere pro Gruppe verwendet werden. Diese Gruppengröße ist notwendig, um genügend Gewebe für die geplanten Analysen zu gewinnen.

**Verfeinerung: Stressminimierung:** An dieser Stelle soll ausdrücklich festgehalten werden, dass der Tierversuch unter Vermeidung aller mit dem Versuchszweck nicht notwendig verbundenen Belastungen durchgeführt wird. Die Tiere werden bereits vor Beginn der Studie durch so genanntes „Handling“ mit den involvierten Personen vertraut gemacht, um unerwünschte, stressbedingte, falschpositive bzw. falschnegative Ergebnisse zu vermeiden.

Gleichgeschlechtliche Tiere werden zusammen im Käfig gehalten, soweit es die Tierzahl erlaubt. Dadurch verbleiben die Tiere in ihrem Familienverband und zusätzlicher psychischer Stress, z.B. von neuerlichen Revierkämpfen oder der Vereinzelung, wird vermieden.

**Gesundheitszustand:** Generell gilt, dass zur Durchführung des Tierversuchs nur Tiere verwendet werden, deren Gesundheitszustand einwandfrei ist.

Alle Tiere stehen unter ständiger Kontrolle. Erkrankte oder verletzte Tiere werden in einem Patientenblatt vermerkt. Abhängig vom Schweregrad der Symptome entscheidet der Tierarzt über die weitere Behandlung oder Euthanasie der Tiere.

**Schulungen:** Es soll festgehalten werden, dass die Versuche von den Personen erst nach Abschluss eines ausführlichen Trainings in den unterschiedlichen Techniken, Injektionen, Gesundheitskontrolle usw. durchgeführt werden dürfen. So soll gewährleistet werden, dass die

Methoden ordnungsgemäß durchgeführt werden und die Tiere keinem zusätzlichen Stress ausgesetzt sind.

Die rückblickende Bewertung des Projektes wird bis längstens 31. Mai 2023 stattfinden.

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 Fusarium Mykotoxine, sekundäre Stoffwechselprodukte von zahlreichen Gattungen der Fusarium Schimmelpilze, treten weltweit in Getreide und Tierfutter auf natürliche Weise auf und können bei Menschen und Tieren toxische Effekte auslösen. Aufgrund der negativen Effekte auf die Nutztiergesundheit und Produktivität sind Mykotoxine insbesondere für vieler Schweine- und Geflügelproduzenten von beträchtlichem Interesse.

In Asien sind bis zu 60% und weltweit bis zu 36% des Futters und Mischfutters mit dem Mykotoxin Zearalenon (ZEN) kontaminiert. ZEN verursacht weltweit bei nahezu allen Spezies diverse Krankheitserscheinungen und kann daher zu einem enormen wirtschaftlichen Schaden führen. Die negativen Effekte von ZEN im Geflügel sind beispielsweise das dosisabhängige Auftreten von zystischen Veränderungen der Ovarien sowie eine Gewichtszunahme des Eileiters bei weiblichen Tieren und eine Hodenatrophie (krankhaft verkleinerter Hoden) bei männlichen Tieren. Die Leistung, die Gesundheit und Fruchtbarkeit der Tiere kann durch ZEN eingeschränkt sein. Gleichzeitig wird das Wohlergehen der Tiere vermindert. Die Möglichkeit die Belastung von ZEN zu reduzieren, kann somit das Tierwohl und die Tiergesundheit steigern und die Nutztierproduktion effizienter gestalten.

ZEN ist hitzestabil und kann folglich nicht während des Futterherstellungs- oder Bearbeitungsprozesses eliminiert werden. Daher ist es notwendig, die Wirkungsweise von ZEN im Tier zu blockieren. Die biologische Entgiftung in Form von Enzymen stellt dabei eine vielversprechende Option dar, um die Belastung für das Tier zu reduzieren.

Ziel der Studie ist es, die enzymatische Entgiftungseffizienz neuer Enzymvarianten in einem Fütterungsversuch im Geflügel zu untersuchen. Die Wirksamkeit der Enzymvarianten soll mittels Analyse der Metabolite in Blut-, Magen-Darm-Trakt-, und Gewebeproben der Tiere sowie in Exkreta nachgewiesen werden.

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

zu erwartender Schaden für die Tiere: Basierend auf Literaturdaten sind keine klinischen Symptome bei diesem Tierversuch zu erwarten. Das wiederholte Fangen zur Wiegung der Tiere an drei, definierten Versuchstagen kann eine geringe Belastung der Tiere darstellen. Zur Messung der Wirksamkeit der Enzymvarianten werden drei Wochen nach experimenteller Fütterung je 2 Tiere pro Bucht (insgesamt 96 Tiere) und am Ende des Versuchs je 6 Tiere pro Bucht (insgesamt 288 Tiere) für die Probennahmen stress- und schmerzfrei euthanasiert.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

384 Küken

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

**Vermeidung:** Die Beantwortung der Fragestellung in diesem Projekt ist nur am intakten Organismus möglich, da neben Leistungsparametern auch Blut-, Gewebe-, Magen-Darminhalts- und Kotproben analysiert werden sollen, um die Effekte der Testsubstanz im intakten Organismus zu untersuchen. Es kann daher nicht auf eine in vitro Studie oder auf eine Ersatz- bzw. Ergänzungsstudie ausgewichen werden.

**Verminderung:** In diesem Versuch wird die geringstmögliche Anzahl an Tieren (96 Küken pro Gruppe für die Untersuchung der Performance und der Probennahmen) verwendet, um ein aussagekräftiges und statistisch auswertbares Ergebnis zu erhalten.

**Verfeinerung:** Die Tiere werden während der Versuchsdauer (Tag 0 bis Tag 37) in Buchten zu max. je acht Tieren gehalten und an drei definierten Tagen (Tage 0, 21 bzw. 23, und 35) gewogen. Drei Wochen nach experimenteller Fütterung (Tage 23 und 24) werden insgesamt 96 Tiere (24 Tiere pro Gruppe) und am Ende des Versuchs 288 Tiere (72 Tiere pro Gruppe) schmerz- und stressfrei euthanasiert, um Blut-, Gewebe-, Darminhalts- und Kotproben zu sammeln.

Die Tiere können sich in den Buchten frei bewegen, haben freien Zugang zu Wasser und gruppenspezifischem Futter. Während des Projektes werden Stress und Schmerzen der Broiler so gering wie möglich gehalten. Die Tiere werden zweimal täglich von geschulten Personen sorgfältig betreut. Sollten die Tiere Anzeichen von Schmerzen zeigen oder in irgendeiner Weise beeinträchtigt sein, werden sie vom Versuch ausgeschlossen und tierärztlich betreut.

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

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

Ziel dieser Studie ist die Charakterisierung des A53T-Sud Mausmodells. Dafür werden die Tiere in unterschiedlichen Altersstufen in verschiedenen Verhaltenstests auf ihre motorischen Fähigkeiten und potenzielle Verhaltensauffälligkeiten untersucht. Des Weiteren werden zu unterschiedlichen Zeitpunkten Gewebe entnommen und diese auf krankheitsspezifische pathologische Veränderungen untersucht. Es wird erwartet, dass sowohl in den Verhaltenstests als auch bei den Gewebeanalysen signifikante Veränderungen beobachtet werden können.

Schaden und Nutzenabklärung: Transgene A53T-Sud Mäuse entwickeln einen progressiven motorischen Phänotyp, der ab einem Alter von ca. 6 Monaten zu ersten klinisch sichtbaren motorischen Defiziten führt. Da die Tiere im vorliegenden Projekt nicht älter als 6 Monate werden, wird von einer höchstens mittelgradigen Belastung durch den Phänotyp ausgegangen. Bei den nicht-transgenen Geschwistertieren entfällt diese Belastung. Die Untersuchung der Tiere im Open Field Test und Wire Suspension Test kann jeweils geringen Stress, aber weder Schmerz noch Leid auslösen. Der Rota Rod Test und der Beam Walk Test können geringen Stress, aber weder Schmerz noch Leid bei den Tieren auslösen. Bei motorisch defizienten Tieren kann der Stresspegel allerdings leicht steigen. Durch den Contextual Fear Conditioning Test wird bei den Tieren mittelgradiger Stress ausgelöst. Da der elektrische Impuls die Tiere lediglich erschreckt, werden durch diesen Test allerdings weder Schmerz noch Leid erzeugt. Der Pasta Gnawing Test stellt für die Tiere keinen Stress, Schmerz oder Leid dar. Da die Tiere sehr gerne an der Spaghettinudel knabbern, kann er sogar als mildes Enrichment angesehen werden. Die intraperitoneale Injektion zur finalen Narkose erzeugt kurzzeitig geringen Stress und Schmerz, jedoch kein Leid.

Durch die Charakterisierung kann dieses Modell intern etabliert werden, um es in Zukunft für die Austestung neuer Medikamente zur Behandlung dieser unheilbaren Erkrankung einsetzen zu können.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie werden insgesamt 104 transgene A53T-Sud Mäuse und 104 nicht-transgene Geschwistertiere beider Geschlechter im Alter von 1, 2, 4 und 6 Monaten beantragt.

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

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

betreiben zu können, ist es unerlässlich die verwendeten Modelle zuvor genau zu charakterisieren und intern zu etablieren. Nur so ist es möglich einen weiteren Fortschritt in der Erforschung dieser Erkrankungen und neuer Therapiemöglichkeiten zu sichern.

Verminderung: In dieser Studie sollen 26 Tiere pro Gruppe verwendet werden. Diese Gruppengrößen beinhalten Tiere beider Geschlechter, weshalb die effektive Gruppengröße 13 Tiere beträgt. Ersatztiere sind bereits eingerechnet.

Verfeinerung: Stressminimierung: An dieser Stelle soll ausdrücklich festgehalten werden, dass der Tierversuch unter Vermeidung aller mit dem Versuchszweck nicht notwendig verbundenen Belastungen durchgeführt wird. Die Tiere werden bereits vor Beginn der Studie durch so genanntes „Handling“ mit den involvierten Personen vertraut gemacht, um unerwünschte, stressbedingte, falschpositive bzw. falschnegative Ergebnisse zu vermeiden.

Gleichgeschlechtliche Tiere werden zusammen im Käfig gehalten, soweit es die Tierzahl erlaubt. Dadurch verbleiben die Tiere in ihrem Familienverband und zusätzlicher psychischer Stress, z.B. von neuerlichen Revierkämpfen oder der Vereinzelung, wird vermieden.

Gesundheitszustand: Generell gilt, dass zur Durchführung des Tierversuchs nur Tiere verwendet werden, deren Gesundheitszustand einwandfrei ist.

Alle Tiere stehen unter ständiger Kontrolle. Erkrankte oder verletzte Tiere werden in einem Patientenblatt vermerkt. Abhängig vom Schweregrad der Symptome entscheidet der Tierarzt über die weitere Behandlung oder Euthanasie der Tiere.

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

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

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

Frühträchtigkeitsverluste spielen bei Stuten eine große Rolle, wobei eine unzureichende Plasmagestagenkonzentration als eine wesentliche Ursache diskutiert wird. Im geplanten Versuch soll untersucht werden, inwieweit reduzierte uterine Selbstreinigungsmechanismen, die bei älteren Stuten häufig vorkommen, sowie deren therapeutische Beeinflussung die Gelbkörperfunktion beeinträchtigen und damit indirekt zu Trächtigkeitsverlusten beitragen.

zu erwartender Nutzen: Es sollen der Zusammenhang zwischen einer therapeutischen Beeinflussung der Förderung der uterinen Clearance und der Gelbkörperfunktion bei Stuten untersucht und damit Voraussetzungen für eine Optimierung des Managements von Stuten bei der Besamung geschaffen werden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Nach medikamenteller Induktion einer verminderten oder vermehrten Selbstreinigung der Gebärmutter nach der Besamung wird die Gelbkörperfunktion durch Messung der Plasmagestagenkonzentration sowie mit Ultraschall untersucht. Außerdem werden Blutproben zur Bestimmung der Konzentration von Entzündungsmediatoren, die sich negativ auf die Anbildung des Gelbkörpers auswirken können, entnommen.

2. Art und Anzahl der Tiere

12 Pferde

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

Vermeidung: Die Untersuchung einer Entzündungsreaktion der Gebärmutterschleimhaut und der Gelbkörperfunktion in der Rosse und Gelbkörperphase ist nur an lebenden Tieren möglich.

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

Verfeinerung: Es kommen ausschließlich diagnostische Routineverfahren zur Anwendung, die bereits soweit optimiert sind, dass sie ambulant erfolgen 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

In diesem Projekt sollen homozygote Col4A3 ko/ko Mäuse und wildtyp Geschwistertiere beider Geschlechter mit unterschiedlichen Konzentrationen von fünf Testsubstanzen, positiv Kontrollsubstanz oder Vehikel für 4 Wochen behandelt werden. Im Verlauf der Studie wird zwei Mal Urin und Blut der Tiere genommen, um den Verlauf der Krankheitsentwicklung zu überprüfen. Von allen Tieren wird anschließend Gewebe entnommen und sowohl biochemisch als auch histologisch auf Alport-typische Pathologien untersucht. Es wird erwartet, dass die Testsubstanzen nicht nur das Fortschreiten der Symptome verzögern oder sogar verhindern, sondern auch die pathologischen Veränderungen des Gewebes reduzieren. Dabei wird ein stärkerer Effekt erwartet als der durch die Positivsubstanz

Schaden und Nutzenabklärung: Homozygote Col4A3 ko/ko Mäuse weisen einen starken progressiven Phänotyp auf, der jedoch zeitlich sehr robust und bereits genau beschrieben ist. Da die Tiere bereits im Alter von 8 Wochen euthanasiert werden, wird von einer mittleren bis schweren Belastung durch den Genotyp ausgegangen. Für die wildtyp Kontrolltiere entfällt diese Belastung. Die Behandlung mit Ramipril über das Trinkwasser erfordert keinerlei Manipulation der Tiere und erzeugt dadurch weder Stress noch Schmerz oder Leid. Schwere Nebenwirkungen durch Ramipril werden nicht erwartet. Die intraperitoneale oder per orale Injektion der Testsubstanzen stellt für die Tiere keinen oder nur geringen Schmerz und Stress aber kein Leid da. Die Behandlung mit den Testsubstanzen stellt für die Tiere keinen Stress, Schmerz oder Leid dar. Die zweimalige Blutentnahme erzeugt bei den Tieren kurzzeitig geringen Stress und Schmerz aber kein Leid. Durch die Wiederholung gewöhnen sich die Tiere an die Manipulation, wodurch der Stresspegel gesenkt werden kann. Die Uringewinnung führt bei den Tieren kurzzeitig zu geringem Stress aber weder zu Schmerz noch Leid. Auch hier stellt sich durch die Wiederholung ein Gewöhnungseffekt ein. Die intraperitoneale Injektion der finalen Narkose führt kurzzeitig zu geringem Stress und Schmerz, aber zu keinem Leid. Durch die Testsubstanzen soll das physiologische Gleichgewicht im Organismus wiederhergestellt werden. Es wird erwartet, dass dadurch sowohl die klinischen Symptome des Alport Syndroms als auch die pathologischen Veränderungen in der Niere vermindert werden. Damit stellt dieses Projekt einen wichtigen Schritt in der Weiterentwicklung dieser potenziellen zukünftigen Behandlungsmöglichkeit des Alport Syndroms dar. Da es derzeit noch keine zufriedenstellende Therapie dieser Erkrankung gibt, eröffnet die Entwicklung dieser Substanzen neue Wege, um Patienten mit Alport Syndrom zu helfen.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie werden insgesamt 120 homozygote Col4A3 ko/ko Mäuse und 10 wildtyp Geschwistertiere beider Geschlechter beantragt.

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

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

**Verminderung:** In dieser Studie sollen pro Gruppe 10 Tiere verwendet werden. Die Gruppengröße wurde mittels Power Analyse historischer Daten ermittelt.

**Verfeinerung: Stressminimierung:** An dieser Stelle soll ausdrücklich festgehalten werden, dass der Tierversuch unter Vermeidung aller mit dem Versuchszweck nicht notwendig verbundenen Belastungen durchgeführt wird. Die Tiere werden bereits vor Beginn der Studie durch so genanntes „Handling“ mit den involvierten Personen vertraut gemacht, um unerwünschte, stressbedingte, falschpositive bzw. falschnegative Ergebnisse zu vermeiden.

Gleichgeschlechtliche Tiere werden zusammen im Käfig gehalten, soweit es die Tierzahl erlaubt. Dadurch verbleiben sie in ihrem Familienverband und zusätzlicher psychischer Stress, z.B. von neuerlichen Revierkämpfen oder der Vereinzelung, wird vermieden.

**Gesundheitszustand:** Generell gilt, dass zur Durchführung des Tierversuchs nur Tiere verwendet werden, deren Gesundheitszustand einwandfrei ist.

Alle Tiere stehen unter ständiger Kontrolle. Erkrankte oder verletzte Tiere werden in einem Patientenblatt vermerkt. Abhängig vom Schweregrad der Symptome entscheidet der Tierarzt über die weitere Behandlung oder Euthanasie der Tiere.

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

Das Projekt wird bis längstens 31.08.2023 rückblickend bewertet.

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

Aufgrund der effizienzsteigernden Wirkung in der Landwirtschaft wurde Tierfutter über lange Zeit standardmäßig mit Antibiotika versetzt. Neben der Reduktion von Krankheiten und Mortalitätsraten konnten durch Einsatz von niedrig dosierten Mengen an Antibiotika auch positive Effekte auf Futterverwertung und Fleischqualität erzielt werden. Aufkommende Bedenken hinsichtlich Antibiotikaresistenzen bei Nutztieren haben allerdings zu weitreichenden Beschränkungen geführt. Mittlerweile wurde in Europa sowie in den Vereinigten Staaten von Amerika der Einsatz von antibiotischen Wachstumsförderern gänzlich verboten und auf die therapeutische Verwendung eingeschränkt. Daraus folgend wird in den letzten Jahren intensiv nach Alternativen gesucht um dennoch eine ähnliche Effizienz wie mit den antibiotischen Wachstumsförderer erzielen zu können. Dabei spielen neben verbesserten Hygienestandards auch ätherischer Öle und / oder Pflanzenextrakte als natürliche Futterzusatzstoffe eine wesentliche Rolle.

Ziel dieses Projektes ist es, die Wirksamkeit und Wirkungsweise unterschiedlicher Rohpflanzenextrakte und aufgereinigter Metaboliten (Phytochemikalien) auf Leistungs-, Gesundheits- und Stressparameter (insbesondere Marker zur Leberfunktion, Lipidstoffwechsel, möglicher Stressreduktion und Gewebsschädigung) in männlichen Broilern zu untersuchen.

zu erwartender Nutzen: Die Untersuchung der Effekte einzelner Phytochemikalien als Futtermittelzusatzstoffe auf Gesundheits-, Stress- und Leistungsparameter von Broilern kann wertvolles Wissen für die Mastgeflügel-Produktion liefern. Die gewonnenen Resultate leisten darüber hinaus einen Beitrag zur Verbesserung des Gesundheitsstatus beim Broiler.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Basierend auf vorangegangenen Studien sind keine klinischen Symptome bei diesem Tierversuch zu erwarten. Zur Evaluierung der Leistungsparameter, Leberfunktion und des Gewebeschutzes werden insgesamt 160 Tiere (50 bzw. 55 Tiere pro Gruppe, 5 Tiere pro Bucht) stress- und schmerzfrei euthanasiert, um Blutproben zu sammeln. Zusätzlich werden zur Metabolomanalyse bei 3 Tieren pro Bucht (insgesamt 96 Tiere der 160 Tiere) Darmproben entnommen, und ein Tier pro Bucht (insgesamt 32 Tiere der 160 Tiere) wird für Gewebestücke von Brustmuskel, Leber und Haut für die Analytik beprobt.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

320 Küken

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

**Vermeidung:** Die Beantwortung der Fragestellung in diesem Projekt ist nur am intakten Organismus möglich. Da neben Leistungsparametern, Kot-, Blut- und Gewebeproben analysiert werden sollen, um die Effekte der Phytochemikalien im intakten Organismus zu untersuchen. Die Beantwortung der Fragestellung ist daher nicht basierend auf einer in vitro Studie möglich und es kann nicht auf eine Ersatz- bzw. Ergänzungsstudie ausgewichen werden.

**Verminderung:** Es wird die geringstmögliche Anzahl an Tieren (100-110 Tiere pro Gruppe für Leistungsparameter, 30-33 Tiere pro Gruppe zur Metabolomanalyse und 10-11 Tiere pro Gruppe zur Gewebeuntersuchung) verwendet, um ein aussagekräftiges und statistisch auswertbares Ergebnis zu erhalten.

**Verfeinerung:** Die Tiere werden von Tag 0 bis Tag 39 in 32 Buchten gehalten. Die Tiere werden an den Versuchstagen 3, 17, 24, 31 sowie 38 gewogen; und an den Tagen 14 und 31 beringt bzw. neu beringt. Am Ende des Versuchs (Tage 38 und 39) werden insgesamt 160 Tiere (5 Tiere pro Bucht) schmerz- und stressfrei euthanasiert, um Blut- und Gewebeproben zu sammeln.

Die Tiere können sich während des gesamten Versuchszeitraumes in den Buchten frei bewegen, haben freien Zugang zu Wasser und werden 2-mal täglich (morgens und abends) mit frischem, gruppenspezifischem Futter versorgt. Während des Projektes werden Stress und Schmerzen der Broiler so gering wie möglich gehalten. Die Tiere werden zweimal täglich von geschulten Personen sorgfältig betreut. Sollten die Tiere Anzeichen von Schmerzen zeigen oder in irgendeiner Weise beeinträchtigt sein, werden sie vom Versuch ausgeschlossen und tierärztlich betreut. Basierend auf Abbruchkriterien (Gewichtsverlust, verringerte Futteraufnahme, abnormales Verhalten, erhöhtes Auftreten von Verletzungen und Mortalität) kann der Versuch vorzeitig beendet werden.

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

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

Darmkrebs ist eine der häufigsten Krebsarten weltweit und so auch in Österreich. Der größte Risikofaktor für Darmkrebs ist das Alter: im Durchschnitt sind Darmkrebspatienten 70 Jahre alt. Dennoch werden fast alle Tierstudien für Darmkrebs nur an sehr jungen Mäusen durchgeführt. In diesem Projekt wird bei 3 Monate und 18 Monate alten Mäusen (entspricht 20 und 70 Menschenjahren) chemisch Dickdarmkrebs induziert und die Effektivität einer antientzündlichen Therapie und einer Kalzium- und Vitamin D reichen Diät zur Vorbeugung der Krebsentstehung zwischen den Altersgruppen verglichen.

zu erwartender Nutzen: Diese Studie wird uns zeigen, ob die Verwendung von jungen Mäusen zur Erforschung neuer Medikamente tatsächlich geeignet ist oder neu überdacht werden sollte.

zu erwartender Schaden für die Tiere: In den von uns geplanten Versuchen induzieren wir chemisch in den Mäusen eine künstliche Darmentzündung und darauf aufbauend entzündungsassoziierten Dickdarmkrebs. Dieses Modell stellt eine mittlere Belastung für die Tiere dar. Die Tiere werden laufend kontrolliert und bei Anzeichen größeren (unerwarteten) Leidens sofort euthanasiert. Es wird erwartet, dass die Behandlung mit Kalzium- und Vitamin D reicher Nahrung oder Medikamenten die Symptome der Entzündung und dadurch Schaden für die Tiere weiter reduzieren. Es wird mehrmals Blut entnommen, was zu vorübergehendem Unbehagen bei den Mäusen führen könnte.

#### 2. Anzahl und Art der verwendeten Tiere:

Wir veranschlagen 270 Balb/C und 270 C57/Bl6, total 540, weibliche Mäuse für unsere Versuche.

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

Vermeidung: Das Zusammenspiel von Nährstoffen, Bakterien, Zelltypen, Aufbau der Darmwand, Metabolismus im Darm und Medikamenten bei der Tumorentstehung ist sehr komplex und kann durch reine Zell-Experimente nicht nachgebildet werden. Die Verwendung unseres Mausmodells scheint uns daher gerechtfertigt zu sein.

Verminderung: Alle Versuchsbedingungen werden standardisiert. Durch eine gewissenhafte statistische Fallzahlplanung haben wir die geringste Anzahl an Tieren gewählt, die zu einem statistisch aussagekräftigen Ergebnis unserer Studie führen wird. Da derartige systematische und geplante Kohorten von „alten“ Mäusen sehr wertvoll sind, werden wir nach der Euthanasie der Tiere alle Organe (und nicht nur den Dickdarm) entnehmen um so viele Ergebnisse bzw. Material wie möglich auch für zukünftige Fragestellungen die den Alterungsprozess betreffen zu erhalten.

Verfeinerung: Wir werden die Versuchsbedingungen an einer geringen Anzahl an Tieren in Vorversuche optimieren bevor wir die Hauptversuche beginnen. Dies erlaubt uns Versuchsbedingungen zu wählen welche Komplikationen im Hauptversuch vermeiden und das Wohlbefinden der Tiere nicht übermäßig beeinträchtigen, aber dennoch zu Entzündungen und Krebsentstehung im Darm führen. Alle Käfige sind artgerecht ausgestattet (u.a. mit einem Rückzugshäuschen, Nestbau- und Spielmaterialien) und werden regelmäßig gereinigt. Einmal pro Tag wird das Wohlbefinden der Mäuse durch eine Tierpflegerin beurteilt. Die Verabreichung der Medikamente sowie die Euthanasie der Tiere erfolgen durch in diesen Techniken speziell geschultem und sehr erfahrenem Personal. Wir verwenden ausschließlich weibliche Mäuse, da sich diese keine Revierkämpfe liefern und dadurch in größeren Gruppen friedlich gehalten werden 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

Projektziel ist die Durchführung von Wirksamkeitsprüfungen vor der Freigabe und zur Stabilitätsprüfung des von unserer Firma produzierten Impfstoffes zum Schutz vor einer SARS-CoV-2 Infektionen. Diese Prüfungen werden einerseits für die Testung der Sicherheit und Effektivität vor der Freigabe der jeweilig produzierten Impfstoff-Chargen benötigt. Diese Art an Wirksamkeitsprüfung wird generell von den Behörden als Freigabekriterium verlangt. Die Stabilitätstests andererseits sollen die Stabilität des produzierten Impfstoffmaterials nach einem vorgegebenen Schema prüfen.

Der zu erwartende Nutzen der geplanten Studien liegt weit über dem Schaden der Versuchstiere. Die Wirksamkeitsstudien des Impfstoffmaterials werden in einem gut etablierten Maus Modell durchgeführt, bevor der Impfstoff im Menschen eingesetzt werden kann, um diesen effektiv vor einer Erkrankung infolge einer SARS-CoV-2 Infektion zu schützen.

Die geplanten Experimente mit den Impfstoffkandidaten sind mit einer maximal mittleren Belastung der Versuchstiere (vorübergehend gering-gradige Schmerzen bzw. Stress infolge der Injektion bei den Immunisierungen oder der Anästhesie für die Blutentnahme) verbunden.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

Für die geplanten Wirksamkeitsprüfungen im Tiermodell werden weibliche Wildtypmäuse benötigt, deren Alter bei Versuchsbeginn mindestens 7 Lebenswochen beträgt. Die Anzahl der benötigten Versuchstiere beträgt innerhalb von 3 Jahren maximal 49.760 Mäuse.

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

Die optimale Haltung von Mäusen in den geplanten Versuchen wird durch die Verwendung von hochqualitativen, zertifizierten, tierschutzgerechten und hygienischen Materialien wie z.B. Käfigsysteme, Labortierfutter, Einstreu-, Nestbau- und Beschäftigungsmaterial sichergestellt. Regelmäßig wird neues Nestbau- und Beschäftigungsmaterial getestet, um das Wohlbefinden der Tiere in unserer Einrichtung zu verbessern. Die geplanten Wirksamkeitsprüfungen können derzeit nur im Tierversuch sinnvoll durchgeführt werden, da es um die Testung komplexer Abläufe in einem lebenden Organismus geht, welche nur im Kontext eines intakten Immunsystems in vivo eine relevante Beurteilung der Wirksamkeit für den Einsatz im Menschen erlauben, und es des Weiteren ermöglichen, allfällige Risiken und Nebenwirkungen für den Menschen möglichst gering zu halten. Wenn möglich werden Experimente kombiniert, um die Tierzahlen gesamt reduzieren zu können, und die Anzahl der benötigten Mäuse für die Studien mit dem nötigen Minimum durchzuführen. In den geplanten Studien werden in vitro Analysen zur Testung der Immunogenität bzw. Funktionalität des Impfstoffkandidaten

durchgeführt, um gezielt Experimente (Challenge-/Protektions-Modelle) in den Tieren zu ersetzen und somit die benötigten Tierzahlen für die Wirksamkeitstests gesamt zu reduzieren. Unter Voraussetzung der Erhaltung einer statistischen Auswertbarkeit und Vergleichbarkeit zur Gewährleistung aussagekräftiger Resultate, ist die Versuchstierzahl basierend auf unserer langjährigen Erfahrung mit Mausmodellen, so gering wie möglich kalkuliert.

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

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

Mykotoxine sind sekundäre Stoffwechselprodukte von zahlreichen Schimmelpilzen, die unter anderem von der Gattung *Fusarium* produziert werden. Die negativen Effekte von *Fusarium* Mykotoxinen wurden bereits vor acht Jahrzehnten dokumentiert und werden weiterhin intensiv untersucht. Die Gründe für das enorme Interesse sind einerseits die toxische Wirkung von Mykotoxinen bei Menschen und Tieren und andererseits deren weltweites Auftreten im Getreide und Tierfutter. Um den Einsatz von Medikamenten zu reduzieren und die Wirtschaftlichkeit zu erhöhen, sind tiefgreifende Kenntnisse zu den *Fusarium* Mykotoxinen und deren Entgiftung sowohl für Geflügel- als auch Schweineproduzenten relevant.

Innerhalb der *Fusarium* Toxine sind Fumonisine (FUM) häufige Pilzkontaminationen von Mais und anderen Getreidearten. Der häufigste Vertreter ist Fumonisin B1 (FB1). Frühere Untersuchungen zeigten, dass bereits zwischen 55 und 65% des weltweiten Futters und Mischfutters mit FUM kontaminiert sind. Hühner sind, vor allem hinsichtlich ihres Wachstums, gegenüber hohen Konzentrationen von FUM relativ tolerant und Konzentrationen von 75-100 mg FB/kg Futter zeigten keinen Effekt auf das Wachstum der Tiere. Untersuchungen zeigten allerdings, dass die Tiere bereits bei Konzentrationen unter dem Grenzwert für Fumonisine in der EU von 20 mg FB/kg Futter anfälliger gegenüber nekrotisierende Darmentzündungen und Kokzidiose sind. Das Wohlbefinden der Tiere kann dadurch wesentlich beeinträchtigt, der Einsatz von Medikamenten wie Antibiotika erhöht und der wirtschaftliche Schaden enorm sein.

Das nachfolgende Projekt zielt darauf ab, die Wirksamkeit einer Enzymvariante zur Entgiftung von FUM bei Masthähnchen mit einer ausreichend hohen Replikanzahl zu zeigen. Die Wirksamkeit des Enzyms wird in Blut, Kot, Darminhalt und Gewebeproben gezeigt.

zu erwartender Nutzen: Eine Reduzierung der Belastung der Tiere durch eine Blockierung der Wirkungsweise des Mykotoxin Fumonisin.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Basierend auf Literaturdaten sind keine klinischen Symptome bei diesem Tierversuch zu erwarten. Das wiederholte Fangen zur Wiegung der Tiere kann eine geringe Belastung der Tiere darstellen. Zur Messung der Gesundheitsparameter im Blut, Gewebe, Darminhalt und Kot werden insgesamt der Tiere (160 von 384 Tieren) an zwei Zeitpunkten des Tierversuchs (zu Beginn der zweiten Fütterungsphase sowie am Ende des 5-wöchigen Versuchs) stress- und schmerzfrei euthanasiert.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

384 Küken

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

**Vermeidung:** Die Beantwortung der Fragestellung in diesem Projekt ist nur am intakten Organismus möglich, da neben Leistungsparametern auch Blut-, Gewebe-, Darminhalts-, und Kotproben analysiert werden sollen, um die Effekte der Testsubstanz im intakten Organismus zu untersuchen. Es kann daher nicht auf eine in vitro Studie oder auf eine Ersatz- bzw. Ergänzungsstudie ausgewichen werden.

**Verminderung:** In diesem Versuch wird die geringstmögliche Anzahl an Tieren (n = 96 Küken pro Gruppe für die Untersuchung der Performance, und je n = 16 Broiler pro Gruppe am Zeitpunkt der Probennahmen an den Tagen 17/18 und bzw. n = 24 Broiler pro Gruppe am Zeitpunkt der Probennahme an den Tagen 35/36) verwendet, um ein aussagekräftiges und statistisch auswertbares Ergebnis zu erhalten.

**Verfeinerung:** Die Tiere werden während der Versuchsdauer (Tag 0 bis Tag 36) in Buchten zu je max. 12 Tieren gehalten und an den Tagen 0, 14, 28 und 35 gewogen. An den Tagen 17/18 und 35/36 werden insgesamt 160 Tiere (64 bzw. 96 Tiere pro Zeitpunkt) schmerz- und stressfrei euthanasiert, um Blut-, Gewebe-, Darminhalts- und Kotproben zu sammeln.

Die Tiere können sich in den Buchten frei bewegen, haben ständig freien Zugang zu Wasser und gruppenspezifischem Futter versorgt. Während des Projektes werden Stress und Schmerzen der Broiler so gering wie möglich gehalten. Die Tiere werden zweimal täglich von geschulten Personen sorgfältig betreut. Sollten die Tiere Anzeichen von Schmerzen zeigen oder in irgendeiner Weise beeinträchtigt sein, werden sie vom Versuch ausgeschlossen und tierärztlich betreut.

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

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

Die Lebertransplantation ist die Behandlung der Wahl bei akutem bzw. chronischem Leberversagens. Der limitierende Faktor, der es verhindert, dass alle Patienten auf der Warteliste transplantiert werden können ist der Mangel an verfügbaren Spenderorganen. Eine Möglichkeit mehr Organe für die Transplantation zu gewinnen besteht darin, das Organ, welches während der Zeit außerhalb des Körpers normalerweise auf Eis gelagert wird, stattdessen in einer Maschine mit warmem Blut zu durchspülen und so die Bedingungen im Körper zu simulieren. Diese neue Form der Lagerung bietet aber auch die Möglichkeit, Medikamente in den künstlichen Kreislauf zu mischen, um so die Leber während der Zeit der Lagerung pharmakologisch zu behandeln. In diesem Versuch möchten wir den Einfluss von Lidocain, einem Medikament das schon lange zur Behandlung von Herzrhythmusstörungen und als Lokalanästhetikum benutzt wird, auf die Leberfunktion feststellen.

zu erwartender Nutzen: Dieses Projekt soll den Einfluss von Lidocain auf die Leberfunktion während der Maschinenperfusion beschreiben und könnte in letzter Konsequenz dazu beitragen mehr Organe transplantierbar zu machen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Das Projekt wird ausschließlich an Tieren, die sich in tiefer Allgemeinnarkose befinden, durchgeführt. Am Ende der Versuchsanordnung werden die Versuchstiere schmerzfrei euthanasiert.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

Im aktuellen Projekt ist die Verwendung von 30 Hausschweinen geplant.

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

Vermeidung: Die Fragestellung des Tierversuchs kann durch Ersatzmethoden nicht beantwortet werden, da die Organfunktion als Ganzes und nicht nur einzelne Zellen untersucht werden.

Verminderung: Die Anzahl der Versuchstiere wurden durch eine Fallzahlberechnung auf die minimal erforderliche Anzahl reduziert.

Verfeinerung: Die Tiere werden durch erfahrenes Fachpersonal narkotisiert und verspüren während der gesamten Studie kein Schmerzen. Dienere versterben im Rahmen der Organentnahme schmerzfrei in tiefer Narkose.

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

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

Laut Angaben der Weltgesundheitsorganisation (WHO) wurde im Jahr 2018 weltweit bei 18,1 Millionen Menschen eine Krebserkrankung diagnostiziert, 9,6 Millionen Patienten starben an dieser Krankheit. Die WHO geht davon aus, dass bis zum Jahr 2030 die Zahl der jährlich neu diagnostizierten Krebsfälle auf 22 Millionen ansteigen wird. In Österreich wurde im Jahr 2016 bei 40.718 Menschen eine Krebsneuerkrankung dokumentiert, bei 20.060 Menschen führte eine Krebserkrankung zum Tod. Damit sind Krebserkrankungen für ein Viertel der jährlichen Todesfälle in Österreich verantwortlich und nach Herz-Kreislauf-Erkrankungen die zweithäufigste Todesursache. Übergeordnetes Ziel dieses Forschungsvorhabens ist es, auf Basis neuer wissenschaftlicher Erkenntnisse neue innovative Behandlungsansätze für Krebserkrankungen zu entwickeln, die zu einer Verlängerung des Lebens der Patienten und einer Verbesserung der Lebensqualität führen. Kombinationstherapien bieten einen vielversprechenden Ansatz zur Behandlung von Krebserkrankungen. Ziel ist es dabei, die für Krebszellen wichtigen zellulären Prozesse auf verschiedenen Wegen zu blockieren. Die Tierversuche haben zum Ziel, die Funktionen des menschlichen Körpers und der menschlichen Erkrankung in einem Gesamtorganismus zu simulieren, um nachfolgende klinische Studien mit Krebspatienten mit höchstmöglicher Sicherheit und hoher Wahrscheinlichkeit für Wirksamkeit durchführen zu können. Dieser Tierversuch wird gemäß §3 TVG 2012 mit dem Schweregrad „schwer“ eingestuft.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

Beantragt werden 10 820 Mäuse (*Mus musculus*) für das gesamte Projekt über einen Zeitraum von 3 Jahren.

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

**Vermeidung:** Im Tierversuch werden ausschließlich Wirkstoffe geprüft, die nach einem mehrstufigen Testverfahren auf Basis zahlreicher biochemischer, biophysikalischer und zellbiologischer in vitro Untersuchungen, insbesondere an Kulturen menschlicher Tumorzellen, als besonders erfolgsversprechend bewertet werden. Eine Vermeidung des beantragten Tierversuches ist nicht möglich, da die komplexen Zusammenhänge zwischen neuen Therapeutika und einem Tumor sich derzeit nur in einem Gesamtorganismus (in vivo) untersuchen lassen

**Verminderung:** Durch Standardisierung aller Haltungs- und Versuchsbedingungen, genaue Versuchsplanung und „State of the Art“ Analysemethoden wird eine geringe Streuung der Versuchsergebnisse ermöglicht. Somit und durch den sequentiellen Ablauf der Tierversuche wird die Anzahl der Versuchstiere und die Versuchsdauer so gering wie möglich gehalten. Für

die Fallzahlberechnungen steht ein Statistiker beratend zur Verfügung. Die angegebenen Tierzahlen sind Maximalzahlen, die sich im Verlauf des Versuches reduzieren können.

Verfeinerung: Die Belastung für das Versuchstier soll über den gesamten Versuchsverlauf auf das geringstmögliche Maß vermindert werden, und dies wird durch folgende Maßnahmen

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

Eine rückblickende Bewertung wird gemäß § 30 Abs. 1 Z 3 TVG 2012 nach Abschluss des Projektes erfolgen.

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

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

Ziel des beantragten Tierversuches ist es, ein umfangreiches Verständnis zur Pathogenese von *Histomonas meleagridis* Genotyp 2 in Puten zu bekommen. Darüber hinaus soll festgestellt werden, ob ein Impfstoff basierend auf Genotyp 1 einen Kreuzschutz vermittelt.

zu erwartender Nutzen: Die Entwicklung von neuen Vakzinen stellt einen bedeutenden Nutzen gegen eine nicht-behandelbare parasitäre Erkrankung dar.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Puten werden mit attenuierten Histomonaden cloacal geimpft und/oder mit virulenten Parasiten infiziert. Aufgrund des Versuchsdesigns können bei Tieren welche nicht geimpft oder geschützt sind Läsionen im Zäkum und der Leber auftreten, die zum Tod der Tiere führen können. Während der Versuchsdauer werden in regelmäßigen Abständen Blutproben und Kloakentupfer entnommen.

1. Art und Anzahl der Tiere

60 Puten

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

Vermeidung: Die Entwicklung und Testung einer neuen Vakzine gegen *H. meleagridis* kann nur durch Verwendung von lebenden Tieren der Zielspezies erreicht werden. Ein Ersatz des Tierversuchs durch alternative Methoden ist daher nicht möglich.

Verminderung: Durch eine entsprechende statistische Planung und Auswertung sowie durch die Berücksichtigung von Erfahrungswerten aus vorangegangenen Versuchen wird sichergestellt, dass nur jene Anzahl an Tieren verwendet wird, die unbedingt erforderlich ist, um statistisch signifikante Daten zu erhalten.

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

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 28. Februar 2023 vorgesehen.

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

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

Ziel dieser Studie ist die Austestung eines selektiven Dopaminwiederaufnahmehemmers im transgenen ApoE3 und ApoE4 Mausmodell. Dafür werden 2 Teilprojekte durchgeführt. In der ersten Projektphase werden alle Tiere in 2 Verhaltenstests auf ihre Lern- und Gedächtnisleistung untersucht. Während dieser Phase werden die Tiere zusätzlich mit Vehikel behandelt damit sie sich an die Behandlungsprozedur gewöhnen. Am Ende dieser Phase werden die Tests umgehend ausgewertet. Weisen die ApoE4 Mäuse kognitive Defizite auf, werden sie in Projektphase 2 mit einer von drei Konzentrationen der Testsubstanz behandelt und anschließend erneut in 2 Verhaltenstests auf ihre Lern- und Gedächtnisleistung untersucht. Am Ende der Studie werden alle Tiere euthanasiert und Gewebe entnommen. Es wird erwartet, dass ApoE4 Mäuse statistisch signifikante kognitive Defizite aufweisen und die ApoE3 Mäuse als Negativkontrollen hierfür geeignet sind. Des Weiteren wird erwartet, dass die kognitiven Leistungen durch die Testsubstanz verbessert werden.

Schaden und Nutzenabklärung: Die Lieferung der Tiere stellt für die Tiere leichten Stress aber kein Schmerz oder Leid dar. Das Transgen ApoE3 oder E4 stellt für die Tiere keinen Stress, Schmerz oder Leiden dar. Selbst wenn die Tiere kognitive Defizite aufweisen, werden sie durch diese in ihrem Alltag nicht behindert. Die wiederholte intraperitoneale Behandlung erzeugt bei den Tieren nur kurzzeitig geringen Stress und geringen Schmerz aber kein Leid. Aufgrund der hohen Selektivität der Substanz werden keine Nebenwirkungen erwartet. Negative Effekte können jedoch nie zur Gänze ausgeschlossen werden. Der Morris Water Maze Test, Passive Avoidance Test und der Contextual Fear Conditioning Test können in den Tieren kurzzeitig geringen bis mittelgradigen Stress aber keinen Schmerz oder Leid auslösen.

Diese Studie ist ein wichtiger Schritt in der Weiterentwicklung dieser potenziellen zukünftigen Behandlungsmöglichkeit der Alzheimer Krankheit.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie werden insgesamt 60 ApoE3 und 60 ApoE4 transgene Mäuse beider Geschlechter im Alter von 10 Monaten beantragt.

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

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

**Verminderung:** In dieser Studie sollen pro Gruppe 15 Tiere verwendet werden. Diese Gruppengröße beruht auf Erfahrungswerten mit den verwendeten Verhaltenstests. Ersatztiere sind bereits inkludiert.

**Verfeinerung: Stressminimierung:** An dieser Stelle soll ausdrücklich festgehalten werden, dass der Tierversuch unter Vermeidung aller mit dem Versuchszweck nicht notwendig verbundenen Belastungen durchgeführt wird. Die Tiere werden bereits vor Beginn der Studie durch so genanntes „Handling“ mit den involvierten Personen vertraut gemacht, um unerwünschte, stressbedingte, falschpositive bzw. falschnegative Ergebnisse zu vermeiden.

Gleichgeschlechtliche Tiere werden zusammen im Käfig gehalten, soweit es die Tierzahl erlaubt. Dadurch verbleiben die Tiere in ihrem Familienverband und zusätzlicher psychischer Stress, z.B. von neuerlichen Revierkämpfen oder der Vereinzelung, wird vermieden.

**Gesundheitszustand:** Generell gilt, dass zur Durchführung des Tierversuchs nur Tiere verwendet werden, deren Gesundheitszustand einwandfrei ist.

Alle Tiere stehen unter ständiger Kontrolle. Erkrankte oder verletzte Tiere werden in einem Patientenblatt vermerkt. Abhängig vom Schweregrad der Symptome entscheidet der Tierarzt über die weitere Behandlung oder Euthanasie der Tiere.

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

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

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

Mykotoxine sind sekundäre Metaboliten von zahlreichen Schimmelpilzen, die unter anderem von der Gattung *Fusarium* produziert werden. Innerhalb der Gruppe der *Fusarium*-Toxine spielt Deoxynivalenol (DON) eine wichtige Rolle. Untersuchungen legen nahe, dass bereits mehr als 55% des weltweiten Futters und Mischfutters mit DON kontaminiert sind. Hohe Niederschlagsmengen wie im Sommer 2014 führen außerdem zu einem erhöhten Fusarienbefall in Getreide, mit dem Resultat, dass nach der Ernte des Jahres 2014, 92% aller europäischen Getreideproben positiv auf DON getestet wurden, mit teilweise sehr hohen Konzentrationen (>10 mg DON/kg). DON kann zu massiven Einbußen in der Gesundheit von Menschen und Tieren führen, da es bei Nutztieren eine reduzierte Futteraufnahme, Wachstumsverluste, gastrointestinale Störungen, neuroendokrine und hepatologische Veränderungen sowie eine Beeinträchtigung des Immunsystems hervorrufen kann. Im Bereich der Ernährung von landwirtschaftlichen Nutztieren wird hier der Wirkmechanismus sowie Strategien zur Reduktion der negativen Effekte intensiv untersucht.

Das Ziel dieses Projektes ist es appetitanregende Substanzen zu finden, um die DON-induzierten Effekte im Ferkel zu entschärfen. Dazu werden venöse Blutabnahmen an drei definierten Tagen entnommen sowie laufend die Futteraufnahme und Gewichtszunahme digital dokumentiert.

zu erwartender Nutzen: Die gewonnenen Resultate zu den erwarteten Effekten, liefern wertvolle Erkenntnisse für die Schweineproduktion und lassen des Weiteren Schlussfolgerungen für den Menschen zu. Die Ergebnisse dienen dazu die negativen Effekte von DON im Tier zu entschärfen. Die Ergebnisse sollen im Rahmen einer wissenschaftlichen Publikation veröffentlicht werden.

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

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

72 Absetzferkel (Ferkel ÖHYB, 4 Wochen alt, ca. 7-10 kg)

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

Vermeidung: Die Beantwortung der Fragestellung in diesem Projekt ist nur am intakten Organismus möglich, da Blutproben analysiert werden sollen, um den Einfluss der Mykotoxine

auf verschiedene Stoffwechselwege zu untersuchen. Die Beantwortung der Fragestellung ist daher nicht basierend auf einer in vitro Studie möglich und es kann nicht auf eine Ersatz- bzw. Ergänzungsstudie ausgewichen werden.

Verminderung: Es wird die geringstmögliche Anzahl an Tieren (12 Tiere pro Gruppe) verwendet, um ein aussagekräftiges und statistisch auswertbares Ergebnis zu erhalten. Die tierindividuelle Beprobung sowie Aufzeichnung der Körpergewichtsentwicklung und des Futterverbrauchs erlaubt einen geringeren Einsatz von Tieren verglichen mit der Generierung von Poolproben aus einer Gruppe.

Verfeinerung: Die Tiere werden von Tag 0 bis Tag 46 in Buchten (3,02 m x 2,3 m) gehalten (12 Tiere/Bucht). An den Tagen 0 und 4 werden alle Tiere manuell gewogen danach erfolgt eine individuelle, kontinuierliche und digitale Erfassung des Gewichts und der Futteraufnahme der Tiere. An den Tagen 4, 11 und 20 werden zusätzlich venöse Blutproben aller Tiere entnommen.

Die Tiere können sich in den Buchten frei bewegen und sie haben ständig freien Zugang zu Wasser und gruppenspezifischem Futter (entsprechend altersbezogener Energie- und Nährstoffkonzentration). Die Tiere werden von geschultem Personal sorgfältig betreut und tierärztlich überwacht. Sollten die Tiere Anzeichen von Schmerzen zeigen oder in irgendeiner Weise beeinträchtigt sein, werden sie vom Versuch ausgeschlossen und tierärztlich versorgt.

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

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

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

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

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

2. Art und Anzahl der Tiere

Art: Rind, Kühe

Anzahl: mind. 35 je Kurs

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

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

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

Verfeinerung: Dieses Ziel wird durch die klinische und gynäkologische Eingangsuntersuchung der Übungstiere vor Kursbeginn, die Anleitung und die ständige Aufsicht/Überwachung aller

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

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

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

Versuchstiere mit gezielten genetischen Veränderungen stellen wertvolle Instrumente für die biomedizinische Forschung dar. Solange für einen konkreten Stamm diese Möglichkeit nicht durch systematische Untersuchungen ausgeschlossen werden kann, ist ihre Zucht und Haltung genehmigungspflichtig. Im gegenständlichen Projekt werden daher die Genehmigung für die Erhaltungszucht einer gentechnisch veränderten Maus beantragt, die in der Regenerationsforschung verwendet wird. Das Ziel des vorliegenden Projektes ist die Erhaltung der Mauslinie über die Projektdauer von 5 Jahren.

zu erwartender Nutzen: Die genetische Veränderung der Tiere bewirkt, dass in ihnen ein bestimmtes Gen entfernt ist. Dadurch können wir die genaue Funktion des Gens im Bewegungsapparat studieren.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Manche genetischen Veränderungen können bereits ohne experimentelle Eingriffe Gesundheit und Wohlbefinden der Versuchstiere beeinträchtigen. Aus der Literatur ist bekannt, dass die beantragte Mauslinie einen Katarakt, ein reduziertes Knochenvolumen, einen verminderten Kollagengehalt sowie ggf. Wundheilungsstörungen aufweisen kann.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

360 Mäuse

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

Vermeidung: Ziel des beantragten Projekts ist die Zucht und Haltung von Versuchstieren für wissenschaftliche Zwecke im Bereich der biomedizinischen Forschung. Die Nutzer der Einrichtung werden jedoch durch das Tierschutzgremium der lokalen Einrichtung dahingehend beraten, keine Stämme zu erhalten, die in absehbarer Zeit nicht für wissenschaftliche Projekte benötigt werden.

Verminderung: Nicht vermeidbare Erhaltungszuchten sollen auf das nötige Minimum an Individuen beiderlei Geschlechts beschränkt werden, und Nachfolgenerationen sollen in möglichst großen Zeitabständen gezüchtet werden, ohne jedoch den Verlust eines Stammes durch Überalterung zu riskieren. Der Großteil der hier beantragten Tiere wird in anderen wissenschaftlichen Projekten weiterverwendet werden.

Verfeinerung: Die Tiere erhalten zur Beschäftigung und für ein verbessertes Wohlbefinden Häuschen, Nistmaterial und auch Nagehölzer nach Verfügbarkeit. Sie werden von geschultem Personal täglich sorgfältig beobachtet und sollte der Eindruck bei einem Tier von Schmerzen oder Leid entstehen, werden sie fachgerecht untersucht und entsprechende Maßnahmen

(Therapie, Euthanasie) eingeleitet. Die genetischen Veränderungen der Tiere verursachen keine Schmerzen, die über die mit einem Nadelstich verursachten hinausgehen würden (entspricht Schweregrad gering).

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

1. Angaben über Projektziele, einschließlich Schaden und Nutzen

Bei Entzündungsvorgängen kommt es über verschiedene Mechanismen zur Freisetzung von Nukleotiden außerhalb von Zellen, welche das Immunsystem als Gefahrensignale erkennt. Durch die Aktivierung der Immunzellen durch die Nukleotide werden eine Vielzahl von zellulären Reaktionen ausgelöst, die zur Entzündung führen. In der Vergangenheit konnte bereits gezeigt werden, dass dem Nukleotid genannt ATP eine wichtige Rolle bei der Einleitung und Aufrechterhaltung der asthmatischen Entzündungsreaktion zukommt. Verschiedene Zelltypen, die bei bakteriellen Infektionserkrankungen der Lunge von essentieller Bedeutung sind, lassen sich durch Nukleotide auf vielfältiger Art und Weise beeinflussen. So locken diese beispielsweise bestimmte Immunzellen an den Ort der Entzündung und verlängern das Überleben der Immunzellen. Aufbauend auf diesen Ergebnissen soll nun die spezifische Beteiligung verschiedener Zelltypen an der Pathogenese des Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS) im Maus-Modell in vivo untersucht werden.

zu erwartender Nutzen: Der zu erwartende Nutzen dieses Projektes ist ein verbessertes Verständnis der Signalwege von Nukleotid-bindenden Rezeptoren in Bezug auf respiratorische Krankheiten. Des Weiteren soll Erkenntnis über die Rolle und Wirkung von Zelltyp-spezifischen P2Y2-Rezeptoren (ein bestimmter Nukleotid-bindender Rezeptor) bei der Pathogenese von ARDS gewonnen werden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Durch die Gabe eines bakteriellen Bestandteils wird eine moderate Entzündungsreaktion in der Lunge erwartet mit der Möglichkeit des Auftretens von Krankheitszeichen.

2. Anzahl und Art der verwendeten Tiere:

616 Mäuse (*Mus musculus*)

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

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

Verminderung: Zur Verminderung der Tierzahl wird bei sämtlichen Versuchen auf streng standardisierte Versuchsbedingungen Wert gelegt. Die Gesamtanzahl der Tiere ergibt sich aus statistischen Berechnungen. Die Infektionsstudien werden derart durchgeführt, dass Leiden durch folgende Maßnahmen vermindert wird: 1. Werden sämtliche Eingriffe ausschließlich unter Narkose durchgeführt und 2. Werden die Infektionen derart geplant, dass Krankheitssymptome so weit als möglich vermieden werden.

Verfeinerung: Während des gesamten Versuchs erfolgt eine tägliche Überprüfung auf Anzeichen einer Belastung der Versuchstiere. Bei Auftreten von Belastungen werden die erstellten Abbruchkriterien für den Versuch angewandt.

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

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

Laut Angaben der Weltgesundheitsorganisation (WHO) wurde im Jahr 2018 weltweit bei 18,1 Millionen Menschen eine Krebserkrankung diagnostiziert, 9,6 Millionen Patienten starben an dieser Krankheit. Die WHO geht davon aus, dass bis zum Jahr 2030 die Zahl der jährlich neu diagnostizierten Krebsfälle auf 22 Millionen ansteigen wird. In Österreich wurde im Jahr 2016 bei 40.718 Menschen eine Krebsneuerkrankung dokumentiert, bei 20.060 Menschen führte eine Krebserkrankung zum Tod. Damit sind Krebserkrankungen für ein Viertel der jährlichen Todesfälle in Österreich verantwortlich und nach Herz-Kreislauf-Erkrankungen die zweithäufigste Todesursache. Übergeordnetes Ziel dieses Forschungsvorhabens ist es, auf Basis neuer wissenschaftlicher Erkenntnisse neue innovative Behandlungsansätze für Krebserkrankungen zu entwickeln, die zu einer Verlängerung des Lebens der Patienten und einer Verbesserung der Lebensqualität führen. Im Rahmen dieses Projekts sollen, die für Krebszellen wichtigen zellulären Prozesse auf verschiedenen Wegen in Tumoren im Gehirn blockiert werden. Die Tierversuche haben zum Ziel, die Funktionen des menschlichen Körpers und der menschlichen Erkrankung in einem Gesamtorganismus zu simulieren, um nachfolgende klinische Studien mit Krebspatienten mit höchstmöglicher Sicherheit und hoher Wahrscheinlichkeit für Wirksamkeit durchführen zu können. Dieser Tierversuch wird gemäß §3 TVG 2012 mit dem Schweregrad „schwer“ eingestuft.

2. Art und Anzahl der Tiere

1 042 Mäuse (*Mus musculus*) für das gesamte Projekt über einen Zeitraum von 3 Jahren.

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

Vermeidung: Im Tierversuch werden ausschließlich Wirkstoffe geprüft, die nach einem mehrstufigen Testverfahren auf Basis zahlreicher biochemischer, biophysikalischer und zellbiologischer in vitro Untersuchungen, insbesondere an Kulturen menschlicher Tumorzellen, als besonders erfolgsversprechend bewertet werden. Eine Vermeidung des beantragten Tierversuches ist nicht möglich, da die komplexen Zusammenhänge zwischen neuen Therapeutika und einem Tumor sich derzeit nur in einem Gesamtorganismus (in vivo) untersuchen lassen.

Verminderung: Durch Standardisierung aller Haltungs- und Versuchsbedingungen, genauer Versuchsplanung und „State of the Art“ Analysemethoden wird eine geringe Streuung der Versuchsergebnisse ermöglicht. Es werden nur Substanzen getestet, deren Verträglichkeit und Wirksamkeit in subkutanen Modellen schon vorher geprüft wurde. Somit wird die Anzahl der Versuchstiere und die Versuchsdauer so gering wie möglich gehalten. Für die

Fallzahlberechnungen steht ein Statistiker beratend zur Verfügung. Die angegebenen Tierzahlen sind Maximalzahlen, die sich im Verlauf des Versuches reduzieren können.

Verfeinerung: Die Belastung für das Versuchstier soll über den gesamten Versuchsverlauf auf das geringstmögliche Maß vermindert werden, und dies wird durch folgende Maßnahmen

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

Eine rückblickende Bewertung wird gemäß § 30 Abs. 1 Z. 3 TVG 2012 idgF . nach Abschluss des Projektes (2023) erfolgen.

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

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

Ziel des eingereichten Tierversuchsantrages ist die präklinische in vivo Testung einer transdermalen nadellosen versus Nadelstich-Injektion am Kaninchen.

zu erwartender Nutzen: Wenn die Versuchsreihen erwartungsgemäß beendet werden, werden am getöteten Tier die behandelnden Hautstellen (linke und rechte Flankenregion insgesamt 6 Injektionen) entfernt, fotodokumentarisch sowie histologisch aufgearbeitet bzw. histodermatologisch evaluiert.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Der zu erwartende Schaden ist ein kurzfristig verspürter Schmerz, der einem Nadelstich bzw. einem Mückenstich ähnelt, am Ende der Beobachtungszeit folgt der sofortige Tod in tiefer Narkose. Nach festgelegten unterschiedlichen Beobachtungszeiten (7 Tage und 3 Monate) werden die Tiere in tiefer Narkose schmerzfrei getötet und die behandelnden Hautstellen entfernt und histologisch untersucht.

2. Art und Anzahl der Tiere

6 Kaninchen (weiblich, weiße Neuseeländer, ca. 3 kg schwer), sollen für die Versuche verwendet werden.

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

Vermeidung: Diese Studie kann nicht durch Alternativmethoden ersetzt werden, da die Vitalität von Gewebe und die Integration in einen lebenden Körper nicht anders nachgewiesen werden kann.

Verminderung: Die Anzahl der Kaninchen ist auf ein Minimum beschränkt, das unbedingt erforderlich ist, um einen proof of concept zu führen.

Verfeinerung: Die erforderlichen Injektionen werden unter fachgerechter Narkose durchgeführt. Die Eingriffe werden von einem mit der Materie betrauten Tierarzt durchgeführt. Die Durchführung der Tierversuche erfolgt in einer für Zucht, Unterbringung, Pflege und Verwendung von Tieren geeigneten Einrichtung. Auf artgerechte Haltung und Unterbringung wird besonderen Wert gelegt. Die behandelten Tiere werden täglich bezüglich des Allgemeinzustandes kontrolliert und ausschließlich durch geschultes Pflegepersonal betreut.

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

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

Ziel dieser Studie ist die Austestung von zwei neuen Testsubstanzen zur Behandlung der Gaucher und Parkinson Erkrankung, sowie der Lewy-Körper-Demenz. Dafür werden GBA D409V Mäuse ab einem Alter von 10-24 Wochen über die Dauer von 14 Tagen über das Trinkwasser mit den Testsubstanzen behandelt. Am Ende der Studie werden die Tiere zur Gewebeentnahme euthanasiert und die Gewebe auf krankheitsspezifische Pathologien untersucht. Es wird erwartet, dass die Substanz die Blut-Hirn-Schranke überwindet und es zu einer gleichmäßigen Konzentration und Verteilung im Gehirn kommt. Des Weiteren wird ein positiver Effekt auf die pathologischen Veränderungen der Mäuse erwartet.

Schaden und Nutzenabklärung: Weder bei homozygoten noch bei heterozygoten GBA D409V Mäusen ist ein belastender Phänotyp beschrieben. Die motorischen und kognitiven Defizite können nur in spezifischen Verhaltenstests festgestellt werden und beeinträchtigen die Tiere in ihrem Alltag nicht. Die Behandlung über das Trinkwasser stellt für die Tiere keinen Stress, Schmerz oder Leid dar, da dafür keinerlei Intervention notwendig ist. Es werden keine Nebenwirkungen durch die Testsubstanzen erwartet. Negative Effekte können allerdings nie mit absoluter Sicherheit ausgeschlossen werden. Die intraperitoneale Injektion zur finalen Narkose erzeugt kurzzeitig geringen Stress und Schmerz, aber kein Leid.

Durch diese Studie kann die Weiterentwicklung dieser potenziellen zukünftigen Therapiemöglichkeit der beiden Erkrankungen vorangetrieben werden, damit sie in Zukunft Patienten zugutekommen kann.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie werden 36 homozygote GBA D409V Mäuse, 36 heterozygote GBA D409V Mäuse und 36 wildtyp Geschwistertiere beider Geschlechter im Alter von 10-24 Wochen beantragt.

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

Vermeidung: Um Medikamente gegen die Gaucher Krankheit, Morbus Parkinson oder die Lewy-Körper-Demenz zu testen, ist es erforderlich auf Tiermodelle zurück zu greifen.

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

Verminderung: In dieser Studie sollen 12 Tiere pro Gruppe verwendet werden. Diese Gruppengröße wurde aufgrund der geplanten Gewebeanalysen gewählt und beinhaltet bereits Ersatztiere.

Verfeinerung: Stressminimierung: An dieser Stelle soll ausdrücklich festgehalten werden, dass der Tierversuch unter Vermeidung aller mit dem Versuchszweck nicht notwendig verbundenen Belastungen durchgeführt wird. Die Tiere werden bereits vor Beginn der Studie durch so genanntes „Handling“ mit den involvierten Personen vertraut gemacht, um unerwünschte, stressbedingte, falschpositive bzw. falschnegative Ergebnisse zu vermeiden.

Gleichgeschlechtliche Tiere werden zusammen im Käfig gehalten, soweit es die Tierzahl erlaubt. Dadurch verbleiben die Tiere in ihrem Familienverband und zusätzlicher psychischer Stress, z.B. von neuerlichen Revierkämpfen oder der Vereinzelung, wird vermieden.

Gesundheitszustand: Generell gilt, dass zur Durchführung des Tierversuchs nur Tiere verwendet werden, deren Gesundheitszustand einwandfrei ist.

Alle Tiere stehen unter ständiger Kontrolle. Erkrankte oder verletzte Tiere werden in einem Patientenblatt vermerkt. Abhängig vom Schweregrad der Symptome entscheidet der Tierarzt über die weitere Behandlung oder Euthanasie der Tiere.

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

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

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

Das Immunsystem, welches den Körper vor einer großen Anzahl an Infektionen schützen kann, ist in den meisten Fällen nicht in der Lage einen Tumor abzustößen. Deshalb ist es sehr wichtig die Interaktion von Tumoren mit dem Immunsystem zu untersuchen und das Immunsystem gezielt zu aktivieren, um es bei der Tumorerkennung und Abstoßung zu unterstützen. Diese Art der Krebstherapie stellt außerdem eine gezielte und damit weniger toxische Alternative zu Chemotherapie und Radiotherapie dar. Projektziele sind die Generierung und Charakterisierung von etablierten Tiermodellen zur Studie von Pathomechanismen maligner Tumorerkrankungen, die Identifizierung und Evaluierung neuer Kandidatengene im Tumor und im Tumorstroma, welche als neue therapeutische Targets dienen können, und die Evaluierung neuer kombinatorischer Ansätze zur effektiven Tumorthherapie.

zu erwartender Nutzen: Weiterer Erkenntnisgewinn zur Tumorbilogie und bei der Entwicklung wirksamer therapeutischer Ansätze.

zu erwartender Schaden: Belastung durch Primärtumoren und im Zuge der Metastasenbildung. Während des Tumorwachstums sind die Mäuse je nach Gruppenzugehörigkeit einer leichten bis mittleren Belastung ausgesetzt. Metastasen werden mit Belastungsgrad „schwer“ eingestuft.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden 7100 Mäuse beantragt.

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

Vermeidung: Die geplanten Tierversuche basieren auf Ergebnissen vorangegangener Tierversuche unter Verwendung von etablierten und international akzeptierten Mausmodellen. Das Projekt wurde im Hinblick auf Verwendung geringstmöglicher Tierzahl geprüft. Aus ethischen Gründen und Gründen des Tierschutzes werden Tierversuche soweit möglich vermieden und entsprechende Versuche in etablierten Zellkulturmodellen durchgeführt. Zusätzlich werden alternative Modelle, basierend auf Krebsgenomsequenzierungsdaten, analysiert und erforscht.

Verminderung: Jedes Experiment wird unter standardisierten und international anerkannten Versuchsbedingungen durchgeführt, um die experimentellen Schwankungen zu reduzieren. Außerdem wird großer Wert daraufgelegt, die Projektversuche bei gleichzeitiger Einhaltung der notwendigen wissenschaftlichen Sorgfalt nur mit jener minimalen Anzahl an Mäusen durchzuführen, die statistisch notwendig ist, um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten.

Verfeinerung: Tierhaltung und Methodik werden unter standardisierten Bedingungen und Hygienemanagement durchgeführt, so dass die biologische Variabilität der Ergebnisse auf ein

Minimum reduziert wird. Die Handhabung der Mause erfolgt in Übereinstimmung mit der bestehenden Standardlaborpraxis, sodass die Belastung für die Tiere auf ein Minimum reduziert wird. Der Zustand der Tiere unterliegt einer täglichen klinischen Kontrolle durch geschultes Personal und wird von Tierärzten/Tierärztinnen überwacht. Die Mitglieder der Arbeitsgruppe haben die erforderlichen Kenntnisse und Fähigkeiten zum tierschutzgerechten Umgang mit Versuchstieren.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. März 2026 vorgesehen.

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

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

Dysbiose ist eines der Hauptprobleme in der intensiven Tierproduktion, insbesondere seit dem Verbot antimikrobieller Leistungsförderer. Dysbiose charakterisiert einen Verlust nützlicher Mikroorganismen, ein übermäßiges Wachstum pathogener Organismen und einen Verlust der gesamten mikrobiellen Vielfalt im Darm. Diese Ereignisse können unabhängig voneinander aber auch gemeinsam auftreten. Dysbiose kann die Darmentwicklung und die Nährstoffaufnahme verringern, das Auftreten von Entzündungen erhöhen, sich negativ auf das Immunsystem auswirken und somit die Leistung, die Gesundheit und das Wohlbefinden der Tiere verringern.

Die Supplementierung des Futters mit Probiotika stellt eine Strategie dar, um die Darmgesundheit bei Nutztieren zu fördern. Probiotika sind lebende Bakterien, die widerstandsfähig genug sind, um den Verdauungsprozess im Magen und Dünndarm zu überstehen und in ausreichender Menge den Dickdarm zu erreichen.

Ziel dieses Projektes ist es, die Wirksamkeit eines neu entwickelten Mehrstamm-Probiotikums für den Einsatz in der Geflügelproduktion zu testen und Erkenntnisse über die genauen Wirkungsmechanismen zu gewinnen. Neben der Analyse von Leistungsparametern von Broilern, werden daher Gesundheitsparameter in Federn, Blut-, Gewebe-, Darminhalts-, sowie Kotproben untersucht.

zu erwartender Nutzen: Das Mehrstamm-Probiotikum soll zu einer Verbesserung des mikrobiellen Darmgleichgewichts und der Darmgesundheit führen. Dadurch soll der Schutz vor Infektionen mit pathogenen Keimen erhöht werden, welches zu einer Verbesserung der Gesundheit und der Leistung führt. Der Einsatz von Antibiotika in der Geflügelproduktion kann dadurch verringert und das Tierwohl verbessert werden. Die Studie zielt darauf ab, effiziente Lösungen zu entwickeln, um Dysbiose sowie den Einsatz von Antibiotika weiter zu reduzieren und gleichzeitig die Leistung bei Nutztieren zu steigern. Die gewonnenen Resultate liefern wertvolles Wissen für die Mastgeflügel-Produktion und leisten einen Beitrag zur Verbesserung des Gesundheitsstatus beim Broiler.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Basierend auf Literaturdaten sind keine klinischen Symptome bei diesem Tierversuch zu erwarten. Das wiederholte Fangen zur Wiegung der Tiere kann eine geringe Belastung der Tiere darstellen. Zur Messung der Gesundheitsparameter im Blut, Gewebe, Darminhalt und Kot werden allerdings insgesamt 33,3 % der Tiere (128 der 384 Tiere) an zwei Zeitpunkten des Tierversuchs (am Ende der ersten Fütterungsphase sowie am Ende des 5-wöchigen Versuchs) stress- und schmerzfrei euthanasiert.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

384 Küken

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

**Vermeidung:** Die Beantwortung der Fragestellung in diesem Projekt ist nur am intakten Organismus möglich, da neben Leistungsparametern auch Blut-, Gewebe-, Darminhalts-, und Kotproben sowie Federn analysiert werden sollen, um die Effekte der Testsubstanz im intakten Organismus zu untersuchen. Es kann daher nicht auf eine in vitro Studie oder auf eine Ersatz- bzw. Ergänzungsstudie ausgewichen werden.

**Verminderung:** In diesem Versuch wird die geringstmögliche Anzahl an Tieren (n = 192 Küken pro Gruppe für die Untersuchung der Performance, und je n = 32 Broiler pro Gruppe und Zeitpunkt der Probennahmen an den Tagen 14/15 und 35/36) verwendet, um ein aussagekräftiges und statistisch auswertbares Ergebnis zu erhalten.

**Verfeinerung:** Tiere werden während der Versuchsdauer (Tag 0 bis Tag 36) in Buchten zu je max. 12 Tieren gehalten und an den Tagen 0, 14 und 35 gewogen. An den Tagen 14/15 und 35/36 werden insgesamt je 64 Tiere (32 Tiere pro Gruppe) schmerz- und stressfrei euthanasiert, um Blut-, Gewebe, Darminhalts- und Kotproben sowie Federn zu sammeln.

Die Tiere können sich während des gesamten Versuchs in den Buchten frei bewegen, haben freien Zugang zu Wasser und werden 2-mal täglich (morgens und abends) mit frischem, gruppenspezifischem Futter versorgt (Futter ständig verfügbar). Während des Projektes werden Stress und Schmerzen der Broiler so gering wie möglich gehalten. Die Tiere werden zweimal täglich von geschulten Personen sorgfältig betreut und tierärztlich überwacht. Sollten die Tiere Anzeichen von Schmerzen zeigen oder in irgendeiner Weise beeinträchtigt sein, werden sie vom Versuch ausgeschlossen und tierärztlich betreut.

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

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

Das Ziel dieses Projektes ist es, zentrale Herausforderungen der zellbasierten Immuntherapie zu bewältigen und zugrundeliegende Mechanismen besser zu verstehen. Mit Hilfe von Tierversuchen soll die Funktion von genetisch modifizierten Immunzellen erforscht werden, um ein besseres Verständnis der Pathogenese und der zellbasierten Therapie von soliden Tumoren und von immuntherapieresistenten, hämatologischen Krebsformen zu erhalten. Die Verwendung verschiedener Mausmodelle ermöglicht die Analyse der komplexen Interaktion von Immunsystem und Krebswachstum im lebenden Organismus, sowie die Bewertung der Funktionalität von modifizierten, menschlichen Immunzellen. Schließlich werden die gewonnenen Erkenntnisse dazu verwendet, genetisch modifizierte Immunzellen zu verbessern, um sie dann als Vorbereitung für therapeutische Anwendungen in patientenspezifischen Xenograft-Mausmodellen zu testen.

Zu erwartender Nutzen: Die im Rahmen dieses Projektes gewonnenen Erkenntnisse werden ein neues Verständnis der Interaktion von Immun- und Krebszellen sowie neue molekulare Marker für die Überwachung und Personalisierung von Krebs-Immuntherapien etablieren. Dies wird positive Auswirkungen für die Entwicklung von neuen zellbasierten Therapiekonzepten und für die Optimierung von bestehenden Therapien haben. Die Verwendung von Mausmodellen, welche auch die Analyse von menschlichen Krebs- und Immunzellen mit einschließt, maximiert die Chancen für eine Übertragbarkeit der Erkenntnisse auf den Menschen und für einen konkreten Nutzen für bessere Krebstherapien.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Im Rahmen des Projektes ist es unumgänglich, Mausmodelle mit einer Induktion von Tumoren zu verwenden. Ein fortschreitender Verlauf dieser Krebserkrankungen ist zu erwarten, und klare Abbruchkriterien bestimmen den Tötungszeitpunkt, um unnötiges Leiden der Tiere zu vermeiden. Daher sind die Tiere, je nach Krankheitsverlauf und Erfolg der Immuntherapie, einer mittleren bis schweren Belastung ausgesetzt.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden 2910 Mäuse für eine Projektlaufzeit von 5 Jahren beantragt.

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

Vermeidung: Zellbasierte in vitro Systeme können wichtige Informationen darüber liefern wie bestimmte Medikamente oder genetische Veränderungen bestimmte Immunzellen beeinflussen (direkte Wirkung). Jedoch existieren derzeit keine adäquaten experimentellen in vitro Systeme, welche sowohl die systemische Erforschung der Interaktion von Immunsystem

und Krebswachstum, als auch eine umfassende Analyse der Krebsimmuntherapie ermöglichen. Folglich stellt sich der Tierversuch im Rahmen der Entwicklung zukünftiger zellbasierter Therapien als unvermeidbar dar.

Verminderung: Es werden Pilotversuche in kleinem Maßstab durchgeführt, um die erforderliche Stichprobengröße der nachgeschalteten Experimente datenbasiert zu bewerten und nach Möglichkeit zu reduzieren. Darüber hinaus kommt es im Rahmen des Projektes zu einer deutlichen Verfeinerung der geplanten Tumormodelle in Bezug auf die Charakterisierung von zellbasierten Immuntherapien, welche zu einer Reduktion der Verwendung zukünftiger Versuchstiere führen soll. Die Anzahl der in vivo zu testenden Kandidaten von modifizierten Immunzellen wird auf der Grundlage von Daten reduziert, die durch vorangegangene in vitro Hochdurchsatzexperimenten gewonnen werden. Wir planen, mehrere Kandidaten von manipulierten Immunzellen in einem in vivo Experiment zu testen, um die Anzahl der Kontrolltiere zu reduzieren. Eine gute Versuchsplanung sowie eine sorgfältige Datenerhebung und Datenanalyse ist gegeben und trägt zu einer Reduzierung der Anzahl der benötigten Versuchstiere bei. Die geplanten Versuche entsprechen dem aktuellen Stand der naturwissenschaftlichen und biomedizinischen Forschung. Weiterhin wird die zufällige Streuung der Ergebnisse durch Standardisierung der Haltungsbedingungen so gering wie möglich gehalten.

Verfeinerung: Alle Mäuse werden unter standardisierten, spezifisch pathogen-freien (SPF) Bedingungen gezüchtet und gehalten, um einerseits die Belastung für die Tiere soweit wie möglich zu reduzieren und andererseits die zufällige Streuung der Ergebnisse durch externe Faktoren so gering wie möglich zu halten. Alle Verfahren werden im Einklang mit nationalem und internationalem Recht stehen. Alle ProjektmitarbeiterInnen sind bereits mit den erforderlichen Techniken vertraut oder werden eine entsprechende Ausbildung erhalten. Darüber hinaus stehen die Mäuse unter kontinuierlicher Überwachung durch Fachpersonal (TierpflegerInnen, TierärztInnen).

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. März 2026 vorgesehen.

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

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

In dieser Studie wollen wir die Bedeutung früher Lernprozesse bei Wiedehopfnestlingen untersuchen. Typisch für den Wiedehopf (*Upupa epops*) ist, dass die Nestlinge einer Brut unterschiedlich alt sind. Ein Unterschied von 6 - 7 Tagen zwischen dem ältesten und dem jüngsten Nestling sind keine Seltenheit. Bis zu einem Alter von ca. 10 Tagen werden die Jungen nur von der Mutter betreut. Ab diesem Alter kommt der Vater dazu. Die Frage ist, wie schnell die Jungen die „neue Futterquelle“ kennenlernen und welche Rolle das Alter dabei spielt. Ziel dieses Projekts ist demnach zu erforschen, inwieweit individuelle Erkennung zwischen Nestlingen untereinander und im Hinblick auf die Eltern existiert und welche evolutiven Vorteile mit altersabhängig unterschiedlichen Lernleistungen der Nestlinge verbunden sein könnten.

zu erwartender Nutzen: Es gibt bei Singvögeln - wie auch bei anderen Tiergruppen-, kaum Information über die Bedeutung „früher Lernprozesse“ und individueller Erkennung. Die Untersuchung soll darüber Aufschluss geben und auch Hinweise darüber liefern, inwieweit es dabei individuelle (altersbedingte) Unterschiede gibt und welchen evolutiven Anpassungswert sie haben können.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Wiedehopfbruten in Nistkästen werden mit eingebauten Kameras ab einem Alter von 10 Tagen gefilmt. Eine Blutprobe wird bei älteren Jungen und der Mutter entnommen. An einigen Nestern sollen die Jungen kurzfristig ausgetauscht werden. Die durchgeführten Manipulationen an den Tieren können zu kurzfristigem Stress führen.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

110 Europ. Wiedehopfe (*Upupa epops*)

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

Vermeidung: Verhaltensbeobachtungen können nur an lebenden Tieren durchgeführt werden.

Verminderung: Durch die Anwendung moderner statistischer Methoden wird die Stichprobengröße auf jenes Minimum an Tieren reduziert, das zur Gewinnung aussagekräftiger Ergebnisse erforderlich ist.

Verfeinerung: Die verwendeten Tiere sind Vögel, die in ihrer natürlichen Umwelt leben. Der Stress, der durch direkte Beobachtungen auftreten würde, kann durch den Einsatz von Kameraaufzeichnungen reduziert werden. Um den Stress für das Einzeltier bei der Blutuntersuchung möglichst niedrig zu halten wird die Blutabnahme ausschließlich von einem erfahrenen Mitarbeiter durchgeführt.

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

Eines der Hauptprobleme in der intensiven Tierproduktion, insbesondere seit dem Verbot antimikrobieller Leistungsförderer, ist Dysbiose. Dysbiose charakterisiert einen Verlust nützlicher Mikroorganismen, ein übermäßiges Wachstum pathogener Organismen und einen Verlust der gesamten mikrobiellen Vielfalt im Darm. Diese Ereignisse können unabhängig voneinander oder auch gemeinsam auftreten. Dysbiose kann die Darmentwicklung und die Nährstoffaufnahme verringern, das Auftreten von Entzündungen erhöhen, sich negativ auf das Immunsystem auswirken und somit die Leistung, die Gesundheit und das Wohlbefinden der Tiere verringern.

Eine Strategie um die Darmgesundheit bei Nutztieren zu fördern, ist die Supplementierung von Futter mit lebenden Bakterien, die widerstandsfähig genug sind, um den Verdauungsprozess im Magen und Dünndarm lebend zu überstehen und in ausreichender Menge den Dickdarm zu erreichen, sogenannten Probiotika.

Ziel dieses Projektes ist es, die Wirksamkeit eines neu entwickelten Mehrstamm-Probiotikums für den Einsatz in der Geflügelproduktion zu testen und Erkenntnisse über die genauen Wirkungsmechanismen zu gewinnen. Neben der Analyse von Leistungsparametern von Broilern, werden daher Gesundheitsparameter in Blut-, Gewebe-, Darminhalts- und Kotproben untersucht.

zu erwartender Nutzen: Das Mehrstamm-Probiotikum soll zu einer Verbesserung des mikrobiellen Darmgleichgewichts und der Darmgesundheit führen. Dadurch soll der Schutz vor Infektionen mit pathogenen Keimen erhöht werden, welches zu einer Verbesserung der Gesundheit und der Leistung führt. Der Einsatz von Antibiotika in der Geflügelproduktion kann dadurch verringert und das Tierwohl verbessert werden. Die Studie zielt darauf ab, effiziente Lösungen zu entwickeln, um Dysbiose sowie den Einsatz von Antibiotika weiter zu reduzieren und gleichzeitig die Leistung bei Nutztieren zu steigern. Die gewonnenen Resultate liefern wertvolles Wissen für die Mastgeflügel-Produktion und leisten einen Beitrag zur Verbesserung des Gesundheitsstatus beim Broiler.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Basierend auf Literaturdaten sind keine klinischen Symptome bei diesem Tierversuch zu erwarten. Das wiederholte Fangen zur Wiegung der Tiere kann eine geringe Belastung der Tiere darstellen. Zur Messung der Gesundheitsparameter im Blut, Gewebe, Darminhalt und Kot werden allerdings insgesamt 26.7 % der Tiere (96 der 360 Tiere) an zwei Zeitpunkten des Tierversuchs (Tage 14 und 35) stress- und schmerzfrei euthanasiert.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

360 Küken

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

**Vermeidung:** Die Beantwortung der Fragestellung in diesem Projekt ist nur am intakten Organismus möglich, da neben Leistungsparametern auch Blut-, Gewebe-, Darminhalts-, und Kotproben analysiert werden sollen, um die Effekte der Testsubstanz im intakten Organismus zu untersuchen. Es kann daher nicht auf eine in vitro Studie oder auf eine Ersatz- bzw. Ergänzungsstudie ausgewichen werden.

**Verminderung:** In diesem Versuch wird die geringstmögliche Anzahl an Tieren (n = 180 Küken pro Gruppe für die Untersuchung der Performance, und je n = 24 Broiler pro Gruppe und Zeitpunkt der Probennahmen an den Tagen 14 und 35) verwendet, um ein aussagekräftiges und statistisch auswertbares Ergebnis zu erhalten.

**Verfeinerung:** Tiere werden während der Versuchsdauer (Tag 0 bis Tag 35) in Buchten zu je 15 Tieren gehalten und an den Tagen 0, 14 und 35 gewogen. An den Tagen 14 und 35 werden insgesamt je 48 Tiere (24 Tiere pro Gruppe) schmerz- und stressfrei euthanasiert, um Blut-, Gewebe-, Darminhalts- und Kotproben zu sammeln.

Die Tiere können sich in den Buchten frei bewegen, haben freien Zugang zu Wasser und werden 2-mal täglich (morgens und abends) mit frischem, gruppenspezifischem Futter versorgt (Futter ständig verfügbar). Während des Projektes werden Stress und Schmerzen der Broiler so gering wie möglich gehalten. Die Tiere werden zweimal täglich von geschulten Personen sorgfältig betreut und tierärztlich überwacht. Sollten die Tiere Anzeichen von Schmerzen zeigen oder in irgendeiner Weise beeinträchtigt sein, werden sie vom Versuch ausgeschlossen und tierärztlich betreut.

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

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

Ziel dieser Studie ist die Effizienzaustestung einer Testsubstanz im CBE-induzierten Mausmodell der Gaucher Krankheit. Dafür werden die Tiere zur Induktion täglich mit CBE oder Vehikel behandelt und gleichzeitig auch mit der Testsubstanz oder Vehikel. Am Ende der Behandlungsphase werden die Tiere zur Gewebeentnahme euthanasiert und diese auf typische pathologische Veränderungen der Gaucher Krankheit untersucht. Es wird erwartet, dass die Testsubstanz die Entwicklung der Gaucher Pathologie in diesem Mausmodell verringern, oder sogar gänzlich verhindern kann.

Schaden und Nutzenabklärung: Die Lieferung erzeugt bei den Tieren geringen Stress, aber weder Schmerz noch Leid. Durch die Behandlung mit CBE wird ein motorischer Phänotyp und Pathologien im Gehirn erwarten, die in den Tieren geringen Stress aber keinen Schmerz oder Leid auslösen kann. Bei den Tieren die Vehikel erhalten entfällt diese Belastung. Durch die intraperitoneale Injektion der Behandlung und der finalen Narkose werden die Tiere kurzzeitig geringem Stress und Schmerz ausgesetzt, aber keinem Leid. Da die Behandlung wiederholt für bis zu 14 Tage durchgeführt wird, kann der Stresspegel aufgrund der häufigen Wiederholung leicht steigen. Es werden keine schweren Nebenwirkungen durch die Testsubstanz erwartet. Generelle negative Effekte können allerdings nie mit Sicherheit ausgeschlossen werden.

Dieses Projekt stellt einen wichtigen Schritt in der Entwicklung dieser potenziellen zukünftigen Therapiemöglichkeit für Patienten mit Gaucher Erkrankung dar.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Für dieses Projekt werden insgesamt 80 männliche C57BL/6JRj Mäuse im Alter von 12 Wochen beantragt. Alle Tiere werden gekauft.

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

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

Verminderung: In dieser Studie sollen 10 Tiere pro Gruppe verwendet werden. Diese Gruppengrößen wurde gewählt, um alle geplanten Gewebeanalysen durchführen zu können und statistisch relevante Ergebnisse zu erzielen. Die Gruppengrößen beinhalten bereits Reservetiere.

Verfeinerung: Stressminimierung: An dieser Stelle soll ausdrücklich festgehalten werden, dass der Tierversuch unter Vermeidung aller mit dem Versuchszweck nicht notwendig verbundenen Belastungen durchgeführt wird. Die Tiere werden bereits vor Beginn der Studie durch so genanntes „Handling“ mit den involvierten Personen vertraut gemacht, um unerwünschte, stressbedingte, falschpositive bzw. falschnegative Ergebnisse zu vermeiden.

Gleichgeschlechtliche Tiere werden zusammen im Käfig gehalten so wie sie geliefert wurden, soweit es die Tierzahl erlaubt. Dadurch verbleiben die Tiere in ihrem Familienverband und zusätzlicher psychischer Stress, z.B. von neuerlichen Revierkämpfen oder der Vereinzelung, wird vermieden.

Gesundheitszustand: Generell gilt, dass zur Durchführung des Tierversuchs nur Tiere verwendet werden, deren Gesundheitszustand einwandfrei ist.

Alle Tiere stehen unter ständiger Kontrolle. Erkrankte oder verletzte Tiere werden in einem Patientenblatt vermerkt. Abhängig vom Schweregrad der Symptome entscheidet der Tierarzt über die weitere Behandlung oder Euthanasie der Tiere.

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

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

1. Angaben über Projektziele, einschließlich Schaden und Nutzen

Im Rahmen dieser Tierversuchsbewilligung soll vom Blut einer Linie der genetisch veränderten, transgenen Mäuse sowie Kontroll-Mäusen Proteomanalysen gemacht werden.

zu erwartender Nutzen: Erhaltung der neuen Kenntnisse über die Rolle des untersuchten Proteins im Bereich Physiologie und Pathophysiologie von humanen Erkrankungen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Diese Mauslinie ist durch die Zucht nicht belastet. Geringgradige Belastung der Mäuse durch Blutabnahme mittels Punktion der Schwanzvene.

2. Anzahl und Art der verwendeten Tiere:

Von maximal 40 transgene und 40 Kontroll-Mäuse soll jeweils eine Blutentnahme gemacht werden.

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

Vermeidung: Die angestrebten Versuchsziele können nicht durch andere Methoden und Verfahren (z.B. Zellkultur) erreicht werden, da nur in den angestrebten Modellen die komplexen Wechselwirkungen zwischen den verschiedenen Geweben und Zelltypen in natürlicher Weise vorhanden sind.

Verminderung: Die Anzahl der analysierten Tiere wird durch vorheriger Fallzahlberechnung und experimenteller Standardisierung so gering wie möglich gehalten. Um die unnötige Wiederholung der Experimente durch andere Arbeitsgruppen zu vermeiden, werden unsere Ergebnisse in internationalen Fachzeitschriften publiziert und auf Kongressen präsentiert.

Verfeinerung: Die Haltung der Tiere erfolgt nach den FELASA Richtlinien in einem „enriched environment“ und die Versuche werden von hochqualifiziertem Personal durchgeführt. Blutabnahme soll in kurzer Vollnarkose durchgeführt werden.

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 Schaden und Nutzen

Der beantragte Versuch soll die Wirksamkeit und Verträglichkeit der topischen Anwendung von Bevacizumab an der Augenoberfläche von Katzen mit kornealer Neovaskularisation (KNV) prüfen.

zu erwartender Nutzen: Durch die antiangiogenetische Wirkung von Bevacizumab ist zu erwarten, dass dessen topische Applikation bei Katzen mit Keratitis und kornealer Neovaskularisation (Gefäßeinsprossung in die Hornhaut; KNV) zu einer signifikanten Reduktion der vaskularisierten Hornhautoberfläche und der kornealen Gefäßdichte führen und somit zur Reduktion der Nebenwirkungen der KNV (Ödem, Ablagerung von Lipid, Pigmentierung der Hornhaut, Entzündung der Hornhaut bis hin zum Transparenzverlust) beitragen wird.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Den Katzen wird über einen Zeitraum von 28 Tagen Bevacizumab oder ein Placebo (NaCl 0,9%) täglich ins Auge getropft. Die erforderliche Fixierung der Katze und das Eintropfen kann zu kurzzeitigem Disstress führen. Es werden durch die Applikation des Medikaments keine lokalen Unverträglichkeiten erwartet.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

30 Katzen

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

Vermeidung: In einem in-vitro Vorversuch konnte die Interaktion von Bevacizumab mit felinem vaskulären endotheliale Wachstumsfaktor (VEGF) bereits nachgewiesen werden. Zur Untersuchung der Wirksamkeit und Verträglichkeit der topischen Anwendung von Bevacizumab am Auge von Katzen muss nun der Versuch an lebenden Tieren mit natürlich auftretender kornealer Neovaskularisation durchgeführt werden.

Verminderung: Die Fallzahlplanung wurde in Anlehnung an Publikationen so festgelegt, dass nur jene Anzahl an Tieren verwendet wird, die aussagekräftige Ergebnisse erwarten lassen.

Verfeinerung: Die klinischen Untersuchungen, die tierärztliche Betreuung im Rahmen des Projekts sowie regelmäßige Nachkontrollen werden von qualifizierten Tierärzten durchgeführt. Die Tiere werden während des gesamten Versuchs in ihrer gewohnten Umgebung belassen und die Studienmedikation erfolgt nach vorangegangener Anleitung durch den Katzenhalter selbst.

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 Studie ist die Austestung einer neuen Substanz auf ihre neuroprotektive Wirkung im 6-Hydroxydopamin (6-OHDA) Parkinson Mausmodell (hemiparkinsonsches Modell). Dafür werden die induzierten Tiere mit zwei Konzentrationen der Testsubstanz behandelt und je nach Gruppe zu unterschiedlichen Zeitpunkten Blut abgenommen. Die Gewebeentnahme findet ebenfalls zu verschiedenen Zeitpunkten statt. Somit können diese nicht nur auf die typischen pathologischen Veränderungen der Parkinson Krankheit untersucht werden sondern auch auf einen konzentrations- und zeitabhängigen positiven Effekt der Testsubstanz. Es wird erwartet, dass die Testsubstanz eine neuroprotektive Wirkung aufweist und somit zu einer Verbesserung der pathologischen Veränderung führt.

Schaden und Nutzenabklärung: Die Lieferung der Tiere kann geringen Stress, aber weder Schmerz noch Leid auslösen. Die intraperitonealen Injektionen erzeugen jeweils kurzzeitig geringen Stress und Schmerz, aber kein Leid. Die subkutane Applikation des Analgetikums führt zu kurzzeitigem leichten Stress und Schmerz, jedoch zu keinem Leid. Die Injektion von 6-OHDA in das dorsale Striatum wird unter Vollnarkose durchgeführt und kann postoperativ zu mittelgradigem Stress, geringen Schmerzen, aber zu keinem Leid führen. In weiterer Folge wird die Motorik der Tiere beeinträchtigt. Da die Läsion allerdings nur unilateral gesetzt wird, kann diese Beeinträchtigung von den Tieren im Alltag gut kompensiert werden. Für die Kontrolltiere entfällt diese Belastung. Nach der Operation müssen die Tiere einzeln gehalten werden, um aggressive Auseinandersetzungen und gegenseitige Manipulationen der Operationswunde zu vermeiden. Das erzeugt bei den Tieren geringen Stress, aber keine Schmerzen oder Leid. Desipramin und Pargylin, sind etablierte Substanzen mit langjährigen Erfahrungswerten sowohl international als auch teilweise in unserer Institution. Es werden daher keine Nebenwirkungen erwartet. Auch durch die Testsubstanz werden keine negativen Effekte erwartet. Nebenwirkungen können allerdings nie mit absoluter Sicherheit ausgeschlossen werden. Bei den Kontrolltieren entfällt diese Belastung. Die wiederholte Blutentnahme über die V. facialis bedeutet für die Tiere kurzzeitig geringen Stress und Schmerz, jedoch kein Leid.

Es wird erwartet, dass die pathologischen Eigenschaften der 6-OHDA Läsion durch die Behandlung reduziert wird, so dass weniger dopaminerge Zellen absterben. Die Austestung in einem Parkinson Mausmodell ist somit ein wichtiger Schritt, um die Weiterentwicklung dieser potenziellen zukünftigen Therapiemöglichkeit.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie werden insgesamt 80 männliche C57Bl/6JRj Mäuse im Alter von ca. 8 Wochen beantragt.

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

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

**Verminderung:** In dieser Studie sollen pro Gruppe 10-15 Tiere verwendet werden. Diese Gruppengröße ist notwendig um ausreichend Gewebe für die histologischen und biochemischen Analysen zur Verfügung zu haben. Nur so können wissenschaftlich signifikante Ergebnisse erzielt werden. Ersatztiere sind bereits mit einberechnet.

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

**Gesundheitszustand:** Generell gilt, dass zur Durchführung des Tierversuchs nur Tiere verwendet werden, deren Gesundheitszustand einwandfrei ist.

Alle Tiere stehen unter ständiger Kontrolle. Vor allem in der postoperativen Phase wird ein verstärktes Monitoring durchgeführt, um schnellstmöglich eingreifen zu können, sollte ein Tier während dieser Phase einen schlechten Gesundheitszustand entwickeln. Erkrankte oder verletzte Tiere werden in einem Patientenblatt vermerkt. Abhängig vom Schweregrad der Symptome entscheidet der Tierarzt über die weitere Behandlung oder Euthanasie der Tiere.

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

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

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

Projektziel ist das Üben grundlegender medizinischer Handgriffe und Techniken am Tier. Dies dient dem Erwerb sowie der Festigung praktischer Fertigkeiten und damit der Vorbereitung auf den Praxisalltag.

zu erwartender Nutzen: Die angeleiteten Personen werden auf die fachgerechte und tierschutzkonforme Ausübung beruflicher Tätigkeiten vorbereitet.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Es sind jene Belastungen zu erwarten, die mit der Durchführung von Ultraschalluntersuchungen und vaginaler Inspektion mittels Scheidenspekulums verbunden sind.

2. Art und Anzahl der Tiere

8 Hunde

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

Vermeidung: Die Handgriffe und Techniken werden zunächst an Modellen durchgeführt. Eine vollständige Vermeidung des Einsatzes von Tieren ist nicht möglich, da die Untersuchungen zur Erhebung physiologischer Befunde nur am lebenden Tier geübt werden kann.

Verminderung: Die Tierzahl orientiert sich an den auszubildenden Personen und wurde so gewählt, dass eine Mehrfachbelastung der einzelnen Tiere vermieden bzw. minimiert wird.

Verfeinerung: Die den Übungen am lebenden Tier vorangehenden theoretische Lehreinheiten sowie die Übung an Modellen verringert die Untersuchungszeit sowie die Belastung der Tiere und verbessert den Lernerfolg der teilnehmenden Personen. Die Durchführung erfolgt unter Aufsicht von beruflich erfahrenem Fachpersonal, sodass den Tieren keine unnötigen Schmerzen, Leiden oder Schäden zugefügt werden.

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

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

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

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

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

2. Art und Anzahl der Tiere

Art: Rind, Kühe

Anzahl: mind. 35 je Kurs

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

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

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

Verfeinerung: Dieses Ziel wird durch die klinische und gynäkologische Eingangsuntersuchung der Übungstiere vor Kursbeginn, die Anleitung und die ständige Aufsicht/Überwachung aller

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

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

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

Ziel dieses Projektes ist die Überprüfung der Immunogenität und der klinischen Wirksamkeit des rekombinanten Glykoproteins, das als Basis des Impfstoffes gegen *Haemonchus contortus*, den roten Magenwurm, beim Schaf eingesetzt werden soll. Dieser Parasit des Labmagens verursacht bei Schafen schwere, sogar tödlich verlaufende Erkrankungen.

Zu erwartender Schaden: Die Schafe werden subkutan vakziniert und anschließend experimentell oral mit Larven von *H. contortus* infiziert. Den Tieren werden zu unterschiedlichen Zeitpunkten Blut-, Speichel- und Kotproben entnommen. Da geringe Infektionsdosen verwendet werden, werden keine oder nur geringe Krankheitssymptome wie vorübergehende Appetitlosigkeit und Blässe erwartet. Am Ende des Versuchs werden die Schafe getötet.

Zu erwartender Nutzen: Derzeit werden die Proteine zur Impfstoffherstellung aus Schafen, die mit *Haemonchus contortus* infiziert wurden, geerntet. Rekombinant hergestellte Antigene mit vergleichbarer Wirksamkeit könnten als eine Alternative in der Herstellung der Antigene für den *Haemonchus contortus*-Impfstoff fungieren. Ein wirksamer Impfschutz kann wiederum die wiederholte Behandlung von Schafen mit Anthelmintika, die aufgrund der hohen Pathogenität des roten Magenwurms weltweit eingesetzt werden, ersetzen. Darüber hinaus können die Kenntnisse aus der Entwicklung dieser neuartigen Vakzineform auch für die Entwicklung von Impfstoffen gegen andere Krankheitserreger bei Tieren und Menschen verwendet werden.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

56 Schafe

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

Vermeidung: Es gibt derzeit keine alternativen Möglichkeiten (z.B. in-vitro Modelle), die Immunogenität und die klinische Wirksamkeit eines rekombinant hergestellten Antigens zu überprüfen. Die Immunogenität wird, soweit als möglich, vorab in-vitro (Nachweis spezifischer Antikörper) überprüft. Derzeit werden *Haemonchus contortus*-Antigene direkt aus experimentell infizierten Spenderschafen gewonnen. Langfristig kann die Herstellung des rekombinanten Antigens in Insektenzellen die Gewinnung von Antigen aus Schafen ersetzen.

Verminderung: Die Immunogenität und klinische Wirksamkeit sollen mit dem nativen Antigen vergleichbar sein. Die Anzahl an Schafen, welche für ein valides Ergebnis benötigt werden, wurde basierend auf einer umfangreichen Literaturrecherche berechnet. Durch den Studienaufbau werden klinische, parasitologische und immunologische Parameter gleichzeitig erfasst, um die Gesamtzahl notwendiger Studien für die Fragestellung auf ein Mindestmaß zu beschränken. So werden auch zunächst alle Isotypen des Antigens gleichzeitig getestet, um

nicht für jeden Isotyp einen eigenen Versuch durchführen zu müssen. Nur wenn bei diesem Versuch eine Wirksamkeit beobachtet wird, würde in späterer Folge eine nähere Betrachtung der Einzelkomponenten erfolgen.

Verfeinerung: Die Tiere werden in stabilen Kleingruppen auf einem ausreichenden Platzangebot gehalten. Die Infektionsdosen werden so gewählt, dass die Tiere nach dem aktuellen Wissensstand nicht erkranken oder nur milde Symptome zeigen. Alle Eingriffe an den Tieren werden ausschließlich von Fachpersonen durchgeführt.

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

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

Mykotoxine werden als natürliche, sekundäre Stoffwechselprodukte von Schimmelpilzen definiert, die bei Menschen und Tieren toxisch wirken können. Mykotoxine können von zahlreichen Schimmelpilzen, aber insbesondere der Gattung *Fusarium*, produziert werden. Weltweit befallen verschiedene Arten von Fusarienpilzen die Getreidebestände, mit der Folge, dass deren Mykotoxine die jeweiligen Ernteprodukte belasten. Aufgrund der toxischen Wirkung werden Mykotoxine im Bereich der Ernährung von landwirtschaftlichen Nutztieren besonders intensiv untersucht.

Durch die Entwicklung immer genauerer analytischer Methoden und die Erwärmung des Klimas kommt es seit Jahren zu einem Anstieg an weniger bekannten und zudem nicht regulierten *Fusarium*-Mykotoxine. Dazugehören unter anderem die zyklischen Depsipeptide Enniatin A, A1, B, B1 (ENNs) und Beauvericin (BEA), deren Vorkommen sowie Konzentration mit denen von Deoxynivalenol (DON) korreliert. DON führt bei Nutztieren, insbesondere beim Schwein, zu reduzierter Futteraufnahme und Wachstumsverlusten, gastrointestinalen Störungen, neuroendokrinen und hepatologischen Veränderungen sowie zur Beeinträchtigung des Immunsystems. Daher gibt es für diese Mykotoxine Grenzwerte, die in der Europäischen Union eingehalten werden müssen.

Dieses Projekt zielt darauf ab, die Effekte einer chronischen Zugabe von realistisch niedrigen Konzentrationen von den Mykotoxinen ENNs und BEA individuell als auch in Zusammenhang mit DON im Schwein durch die orale Aufnahme von kontaminiertem Futter zu untersuchen. Zur Messung von Entzündungsfaktoren bzw. Veränderungen der Leberenzyme werden während der Versuchsdauer insgesamt dreimal venöse Blutabnahmen durchgeführt. Zusätzlich werden Biomarker im Kot untersucht.

zu erwartender Nutzen: Die gewonnenen Resultate zu den erwarteten negativen Effekten der Toxine, liefern wertvolle Erkenntnisse für die Schweineproduktion und lassen des Weiteren Schlussfolgerungen für Effekte beim Menschen zu. Die Ergebnisse dienen außerdem den regulatorischen Behörden, das Risiko dieser Mykotoxine besser einzuschätzen und dementsprechende Grenzwerte zu definieren. Die Ergebnisse sollen im Rahmen einer wissenschaftlichen Publikation veröffentlicht werden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Aufgrund der Haltungsbedingungen sowie der Testsubstanzen werden keine klinischen Symptome bei diesem Tierversuch erwartet. Das wiederholte Fangen, Wiegen und Sammeln von Blut- und Kotproben an vordefinierten Tagen (5, 20 und 43) kann eine geringe Belastung der Tiere darstellen.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

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

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

**Vermeidung:** Die Beantwortung der Fragestellung in diesem Projekt ist nur am intakten Organismus möglich, da sowohl Blut- und Kotproben analysiert werden sollen, um den Einfluss der Mykotoxine auf verschiedene Stoffwechselwege zu untersuchen. Die Beantwortung der Fragestellung ist daher nicht basierend auf einer in vitro Studie möglich und es kann nicht auf eine Ersatz- bzw. Ergänzungsstudie ausgewichen werden.

**Verminderung:** Es wird die geringstmögliche Anzahl an Tieren ( $n = 12$ ) verwendet, um ein aussagekräftiges und statistisch auswertbares Ergebnis zu erzielen. Die tierindividuelle Beprobung erlaubt einen geringeren Einsatz von Tieren verglichen mit der Generierung von Poolproben aus einer Gruppe.

**Verfeinerung:** Die Tiere werden von Tag 0 bis Tag 43 in Buchten gehalten (6 Tiere/Bucht). An den Tagen 0, 5, 20 und 43 werden alle Tiere gewogen. An den Tagen 5, 20 und 43 werden zusätzlich tierindividuelle Blut- sowie Kotproben gesammelt.

Die Tiere können sich in den Buchten ( $3.47 \text{ m}^2$  pro Bucht) frei bewegen und sie haben ständig freien Zugang zu Wasser. Das gruppenspezifische Futter (entsprechend altersbezogener Energie- und Nährstoffkonzentration) wird in zwei Mahlzeiten pro Tag vorgelegt. Die Tiere werden von geschultem Personal sorgfältig betreut und tierärztlich überwacht. Sollten die Tiere Anzeichen von Schmerzen zeigen oder in irgendeiner Weise beeinträchtigt sein, werden sie vom Versuch ausgeschlossen und tierärztlich versorgt.

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

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

Erkrankungen des Nervensystems verbindet nicht nur eine tiefe Belastung der Betroffenen, Angehörigen und der Gesellschaft als Ganzes, sondern auch diverse gemeinsame Prozesse auf molekularer Ebene, die zur Entstehung und dem Verlauf jener Erkrankungen beitragen. Im Lichte der aktuellen demographischen Entwicklung stellen jene Erkrankungen sozioökonomische destabilisierende Faktoren dar. Neurologische und psychische Erkrankungen zählen zu den häufigsten Gründen für einen krankheitsbedingten Produktivitätsausfall und viele Patienten sprechen nicht auf die verfügbaren Behandlungen an. Dieser Verlust an Lebensqualität und Produktivität wird in einer alternden Gesellschaft verstärkt durch das hohe Vorkommen solcher Erkrankungen im Alter. Mit ihnen geht auch ein hohes Maß an Pflegebedürftigkeit und die damit verbundenen Kosten einher. Daher ist es nicht verwunderlich, dass intensive Forschungsbemühungen zur Aufklärung der Krankheitsentstehung und des Verlaufs dieser Erkrankungen forciert wurden. Im Zuge dessen wurden viele gemeinsame Faktoren, etwa in der Interaktion von Immun- Gefäß- und Nervensystem aufgeklärt. Diese beherbergen womöglich neue therapeutische Angriffsziele. Wie durch jüngste Forschung gezeigt werden konnte, ist es möglich jene entzündlichen, gefäß- und neurobiologischen Faktoren durch die Applikation von Immunzell- Botenstoffen zu beeinflussen. Ziel dieser Forschung ist es zur Aufklärung des Einflusses verschiedener Immunzell-Faktoren auf den Erhalt und das Wachstum von Nervengewebe beizutragen und die Möglichkeit der therapeutischen Administration von Immunzell-Faktoren im Kontext von neurologischen und psychiatrischen Erkrankungen im murinen Modell zu testen.

zu erwartender Nutzen: Ziel der Studie ist die Untersuchung des möglichen Einflusses zellfreier Immunzell-Faktoren auf entzündlich mitbedingte psychiatrische und neurologische Störungen. Die daraus gewonnen Erkenntnisse sollen in weiterer Folge der Ausarbeitung neuer Therapiekonzepte beim Menschen dienen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Für die Tierexperimente zur Aufklärung möglicher Effekte von Immunzell-Faktoren auf entzündlich mitbedingte Erkrankungen des Nervensystems werden den Versuchstieren geringe Dosen Lipopolysaccharids intra-peritoneal injiziert. Diese Intervention führt bei den Tieren zum Auftreten einer transienten (idR. maximal 12 Stunden andauernden) entzündlichen Reaktion, vergleichbar mit den Frühsymptomen eines milden grippalen Infekts bei Menschen. Diesem Zustand folgt transient (einige Stunden andauernd) das Auftreten depressionsähnlichen Verhaltens. Nach Aufzeichnung aller nötigen Verhaltensdaten endet der Tierversuch mit einer Vollnarkose. Im Rahmen dieser tiefen Narkose wird das nötige Gewebe für molekulare Gewebeuntersuchungen, international etablierten Protokollen folgend,

in einer vollständig schmerzfreien Art und Weise entnommen und das Versuchstier schmerzfrei eingeschläfert.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

537 Mäuse

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

**Vermeidung:** Der Tierversuch dient der Aufklärung des möglichen Einflusses zellfreier Immun-Faktoren auf entzündlich mitbedingte Erkrankungen des Nervensystems. Gegen eine reine in vitro Untersuchung sprechen die folgenden Gründe. Die Wirkung der zu applizierenden Faktoren ist stark multifaktoriell und abhängig von der Wechselwirkung verschiedener Zellpopulationen und dem sie umgebenden Milieu. Ferner ist die Erhebung von Verhaltensdaten ist nur am intakten Organismus möglich.

**Verminderung:** Der Planung der Stichprobengrößen wurde eine ausgiebige Literaturrecherche und statistische Poweranalyse zu Grunde gelegt. Ziel dieses Ansatzes war es die notwendige Anzahl an Versuchstieren auf ein Minimum zu reduzieren und dabei eine hinreichende Wahrscheinlichkeit zu wahren, einen tatsächlich vorhanden statistisch signifikanten Effekt festzustellen.

**Verfeinerung:** Für die Versuche ist eine mehrmalige intraperitoneale Injektion vorgesehen. Dabei wird der gleiche Zugang wiederverwendet und die Anzahl der Injektionen auf ein absolutes Minimum reduziert. Die Entnahme von Gewebe wird nur nach Anästhesie und schmerzfreier Tötung der Versuchstiere durchgeführt. Nach der Injektion von Lipopolysaccharids ist eine transiente milde Entzündungsreaktion zu erwarten. In diesem Zeitraum werden die Versuchstiere engmaschig überwacht. Es wird erwartet, dass die Tiere ein transientes mildes depressives Verhalten aufweisen werden. Die notwendigen Verhaltensdaten sollen schnell und nur von trainiertem und akkreditiertem Personal, anhand etablierter Tests erhoben werden. Der milde depressive Zustand wird zügig nach Ablauf dieser Experimente, maximal 28 Stunden nach Lipopolysaccharids-Injektion durch schmerzfreie Tötung in tiefer Narkose der Versuchstiere beendet.

Eine weitere rückblickende Bewertung ist bis spätestens 30. November 2024 vorgesehen.

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

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

Die vorgesehenen Untersuchungen dienen der chirurgischen Aus- und Weiterbildung zur Erhöhung der Patientensicherheit bei Menschen und Tieren und sind dem Schweregrad: keine Wiederherstellung der Lebensfunktion gemäß § 3 Abs. 1 Z. 1 TVG 2012 zuzuordnen. Ziel des Projektes ist durch bestmögliche Ausbildung der Chirurgen hinsichtlich Mikrochirurgie Training die Patientensicherheit zu garantieren. Die Versuchsbedingungen werden so gewählt, dass mittels potenter Narkose und präoperativer Analgesie und Flüssigkeitsversorgung, und durch die tägliche Inspektion prae operationem inklusive Konditionierung aller Tiere Schmerzen, Leiden und Ängste der Ratten möglichst verhindert werden. Der zu erwartende Schaden der Tiere ist der sofortige Tod am Ende des Versuchs.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden maximal 560 Ratten in 5 Jahren untersucht.

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

Die Erfüllung der „3 R“ ist im Sinne der Vermeidung: nicht möglich, der Verminderung: durch die Verwendung der geringstmöglichen Zahl von Tieren und der Verfeinerung: durch potente Analgesie dokumentiert.

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

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

Das Projekt untersucht den Mechanismus des dynamischen Farbwechsels basierend auf der Aktivität von Hormonen bei Schwarznarbenkröten. Wir testen die Rolle von Sexual- und Stresshormonen in der Aktivierung eines sexuell selektierten optischen Signals — dem dynamischen Farbwechsel oder dynamischer Dichromatismus — bei Schwarznarbenkröten (*Duttaphrynus melanostictus*). Bei einigen Amphibienarten wechseln die Männchen während der Paarungsperiode für kurze Zeit die Körperfarbe von einem unscheinbaren braun in ein helles, kräftiges gelb. Der auffällige Farbwechsel kommt häufig bei Arten mit sehr kurzer Paarungszeit (sogenannten Explosivlaichern) vor und ist bisher wenig erforscht. Bei Explosivlaichern ist die Paarungszeit sehr kurz, meist kämpfen viele Männchen um wenige Weibchen und nur etwa 5% der Männchen verpaaren sich erfolgreich. Wir vermuten, dass während der kurzen Paarungszeit und durch die starke Männchen-Männchen Konkurrenz Hormonkonzentrationen steigen und dadurch der Farbwechsel ausgelöst wird. Wir testen die Aktivierung der Pigmentzellen durch Sexualhormone (Testosteron und Östradiol) und/oder Stresshormone (Epinephrine, Norepinephrine oder Kortikosteron). Die Studie untersucht ob der rapide, dynamische Farbwechsel bei explosivlaichenden Schwarznarbenkröten durch Sexual- und/oder Stresshormone induziert wird. Männliche Schwarznarbenkröten — geteilt in unterschiedliche Behandlungsgruppen — erhalten mittels intraperitonealer Injektion Testosteron, Testosteron und Aromatase Inhibitor, Adrenalin, Noradrenalin, Kortikosteron oder Kochsalzlösung. Im Anschluss werden periodische Reflexionsmessungen der Körperhaut durchgeführt und weiterführend analysiert.

zu erwartender Nutzen: Das Projekt untersucht zugrundeliegende endokrine Mechanismen von dynamischen Kommunikationssignalen. Die Ergebnisse erlauben fortführende Schlüsse über die funktionelle Steuerung von dynamischen Farbsignalen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die zu testenden Individuen werden unter möglichst natürlichen Bedingungen in Terrarien mit Wasser und Futter gehalten. Abgesehen von der Injektion und periodischen Reflexionsmessung erfolgen keine weiteren Störungen durch den Versuch. Die Behandlungssubstanzen und deren Dosierung behindern weder die Gesundheit noch die weitere Entwicklung der Tiere, somit wird der zu erwartende Schaden als gering eingeschätzt.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Die Schwarznarbenkröten (*Duttaphrynus melanostictus*) werden regelmäßig nachgezogen, die Individuen zeigen das arttypische Verhalten. Die Tiere bewohnen Freigehege und Terrarien und werden sowohl vor, während als auch nach der Versuchsreihe dort versorgt und gehalten. Für

die Versuche werden 50 adulte, männliche Individuen verwendet, deren Gesundheitszustand nach Abschluss der Untersuchung mindestens 14 Tage beobachtet wird.

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

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

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

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

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

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

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

2. Art und Anzahl der Tiere

Art: Rind, Kühe

Anzahl: mind. 35 je Kurs

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

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

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

Verfeinerung: Dieses Ziel wird durch die klinische und gynäkologische Eingangsuntersuchung der Übungstiere vor Kursbeginn, die Anleitung und die ständige Aufsicht/Überwachung aller

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

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

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

Die zugelassenen mehrfach-Spaltimpfstoffe gegen humane Papillomviren enthalten Virus-ähnliche Partikel (VLP) bestehend aus dem Hauptkapsid-Protein L1, die nach Immunisierung eine langanhaltende Immunantwort hervorrufen, allerdings nur gegen die im Impfstoff enthaltenen Virustypen. Der moderne 9-fach Impfstoff schützt daher gegen die Infektionen mit 7 hoch-Risiko (hr) Typen, welche 90% der Gebärmutterhalskarzinome der Frau (und andere Genital- und Mundrachen-Karzinome bei beiden Geschlechtern) verursachen, und zusätzlich gegen die Typen HPV6/11, welche 90% der Genitalwarzen verursachen. Die Vakzinen schützen nicht gegen weitere hr-HPV, welche die restlichen 10% der Gebärmutterhalskarzinome verursachen, sowie gegen die große Anzahl existierender Haut-HPV-Typen. Letztere verursachen einerseits gutartige Hautwarzen vor allem in Kindern und Menschen mit vermindertem Immunsystem (immunsupprimierte Patienten). Andererseits verursacht eine weitere große Gruppe von Genus Beta-HPV Typen chronische Infektionen und Hautkarzinome in Patienten mit der seltenen erblich bedingten Hautkrankheit Epidermodysplasia verruciformis (EV). Weiters wird vermutet, dass Beta-HPV-Typen an der Entstehung des häufigen nicht-melanozytären (weißen) Hautkrebses in immunsupprimierten Patienten beteiligt sind.

Ein vielversprechender Ansatz, einen HPV-Impfstoff mit breiter Wirksamkeit gegen Haut-HPV zu generieren, basiert auf dem Nebenkapsid-Protein L2. Immunisierungen mit Proteinsequenzen (Epitopen) von L2 können Antikörper induzieren, welche einen breiten Impfschutz gegen eine Vielzahl verschiedener Haut-HPV-Typen bewirken. Durch die Einfügung eines L2 Epitops in eine Oberflächenschlaufe eines L1 VLP werden chimäre L1-L2 Partikel generiert, welche die Präsentation des Epitops und nachfolgend die Aktivierung des Immunsystem stark verbessern. In den vorgeschlagenen Tierversuchen wollen wir das Potential neu identifizierter Beta-Typ L2 Epitope auf ihre Kreuzneutralisation testen und neue chimäre VLP generieren. In Mausexperimenten werden die Impfstoffkandidaten auf ihre Wirksamkeit getestet, Papillomvirus-Infektionen und nachfolgend die Ausbildung von Tumoren zu verhindern. Zuletzt soll der Impfstoffkandidat durch Gefriertrocknung (Lyophilisierung) auch bei höheren Temperaturen stabilisiert werden. Das Wegfallen der Notwendigkeit einer Kühlkette kann dazu beitragen, HPV Impfstoffe insbesondere in Dritte-Welt Ländern anzuwenden, welche eine große Last an HPV-induzierten Karzinomen tragen.

zu erwartender Nutzen: Eine Breit-Spektrum HPV-Vakzine, welche speziell gegen HPV-Typen der Haut schützt, könnte vor allem für EV-Patienten und immunsupprimierte Patienten von großem Nutzen sein, da diese Patienten ein mehr als 100-fach erhöhtes Risiko für die Entwicklung von nicht-melanozytären Hautkrebs haben. Zusätzliche kann eine erhöhte

Thermostabilität die Abhängigkeit von einer Kühlkette umgehen und damit die mögliche globale Verbreitung des Impfstoffes erleichtern.

zu erwartender Schaden für die Tiere: gering- mittelgradig

## 2. Art und Anzahl der Tiere

insgesamt 2.126 Mäuse unterschiedlichen Genotyps

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

**Vermeidung:** Es wird angenommen, dass HPV Impfstoffe primär über die Induktion neutralisierender Antikörper schützen, allerdings ist der Mechanismus des Schutzes nicht genau bekannt. Um die Wirksamkeit der (lyophilisierten) experimentellen L1-L2 VLP HPV Vakzine zu analysieren, wird deshalb nach Immunisierung eine experimentelle Infektion (Challenge) mit sogenannten ‚Pseudoviren‘ (PsV) oder ‚Quasivirionen‘ (QV) erfolgen. Um die Breite der Wirksamkeit der L1-L2 VLP Vakzine gegen verschiedene HPV Typen im Menschen abschätzen zu können, ist die experimentelle Infektion mit einer limitierten Anzahl an PsV und QV Typen in der Maus unabdingbar.

**Verminderung:** Es werden kleine Gruppen von Mäusen immunisiert um genügend Immunsrum für in vitro Evaluierungen zu erhalten. In Experimenten zur Analyse der Impfstoffwirksamkeit wird eine Anzahl an Mäusen verwendet, welche uns ermöglicht, Unterschiede zwischen Gruppen zu beschreiben.

**Verfeinerung:** Das Maus-Modell der experimentellen Infektion mit PsV ist ein bereits etabliertes und in vielen Laboren durchgeführtes Modell. Durch Infektion mit QV kann ein Impfstoff-vermittelter Schutz gegen QV-verursachte Hautläsionen (klinischer Endpunkt) untersucht werden. Behandlungen, welche den Tieren kurzzeitig Schmerzen bereiten könnten, werden 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 Gallenwegskarzinom ist eine sehr heterogene Erkrankung, welche durch einen symptomarmen Verlauf erst sehr spät diagnostiziert wird, wenn kurative Behandlungen nicht mehr möglich sind. Die verfügbaren Therapien sind in diesem Stadium sehr limitiert. Die Standardtherapie in diesem Fall umfasst eine Kombinationstherapie aus Gemcitabine und Cisplatin, welche nur einen geringen Überlebensvorteil gewährt und mit starken Nebenwirkungen verbunden ist. Es ist dahervon größter Wichtigkeit neue Strategien für die Behandlung des Gallenwegskarzinoms zu untersuchen. Das Ziel des vorliegenden Projekts ist es, den vorteilhaften Effekt einer Dinaciclib Behandlung in Gallenwegskarzinom (biliary tract carcinoma BTC) Zellen in einem ectopischen in vivo Maus Model zu zeigen. Vorangegangene in vitro Untersuchungen konnten zeigen, dass Dinaciclib in einer breiten Auswahl an BTC Zellen einen starken zytotoxischen Effekt hat. Das vorliegende Projekt soll nun die bereits erhobenen sowie im Laufe des Projekts noch ausstehende in vitro Befunde auf den lebenden Organismus übertragen.

zu erwartender Nutzen: Ziel dieses Projekts ist es, den positiven Effekt von Dinaciclib auf das Wachstum von BTC Zellen auf den lebenden Organismus zu übertragen und so den Grundstein für eine neue Strategie in der BTC Therapie zu legen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Der zu erwartende Schaden für die Tiere wird während ihrer Lebenszeit auf ein Minimum reduziert. Tumorzellimplantation sowie Behandlungen mit den entsprechenden Substanzen beschränken sich auf Injektionen und stellen eine geringe Belastung für die Tiere da. Während der Dauer des Versuchs wird keine Entwicklung von Tumor-bedingten Schmerzen erwartet. Sollte sich der Zustand der Tiere widererwartend verschlechtern, kann ein Tierarzt konsultiert werden und entsprechende Maßnahmen ergriffen werden.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

Für dieses Projekt werden 24 Mäuse beantragt.

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

Vermeidung: Das vorliegende Projekt basiert auf umfangreichen ersten in vitro Versuchen, die zeigen konnten, dass eine Dinaciclib Behandlung ein sehr effektiver und reproduzierbarer Weg ist, das Wachstum von BTC Zellen signifikant zu verringern. Vor der Durchführung des Tierversuchs werden außerdem noch weitere in vitro Versuche durchgeführt, um den Effekt von Dinaciclib auf BTC Zellen weiter zu untermauern. Der geplante Tierversuch stellt also den Endpunkt einer sorgfältig ausgearbeiteten Versuchsreihe dar, mit dem Ziel die in vitro

Ergebnisse zu Dinaciclib in BTC Zellen in einem physiologischen Kontext zu bestätigen. Hierfür ist ein geeignetes Tiermodell unerlässlich.

Verminderung: In diesem Projekt wird ein sehr gut etabliertes und standardisiertes ektopisches BTC Tumor Model verwendet, welches bereits ausführlich in der Literatur beschrieben wurde. Dies erlaubt die Reduktion der benötigten Tier auf ein Minimum. Um jedoch die Variabilität zwischen den einzelnen Tieren zu berücksichtigen, beantragen wir eine Gruppengröße von 12 Tieren pro Gruppe um statistisch signifikante Ergebnisse generieren zu können.

Verfeinerung: Durch die Verwendung eines etablierten und standardisierten ektopischen BTC Tumor Models wird die Belastung der Mäuse möglichst gering gehalten. Die Tumorzellimplantation erfolgt durch eine subkutane Injektion der Tumorzellen, welche keine Narkose oder Schmerzmedikation erfordert. Nach der Tumorimplantation werden die Mäuse engmaschig überwacht und täglich auf potentielle Abbruchkriterien untersucht. Sollte sich der Allgemeinzustand der Mäuse durch Tumorlast oder Behandlung verschlechtern, so kann ein Tierarzt konsultiert werden. Um den Stress bei der Messung der Tumorlast mittels Biolumineszenz-Messung zu verringern, wurde die Anzahl der Messungen auf ein Minimum reduziert. Außerdem stehen die Mäuse während der Messung unter Narkose.

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

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

Mykotoxine sind sekundäre Stoffwechselprodukte von zahlreichen Schimmelpilzen, die unter anderem von der Gattung *Fusarium* produziert werden. Die negativen Effekte von Mykotoxinen wurden bereits vor acht Jahrzehnten dokumentiert und werden immer noch intensiv untersucht. Die Gründe für das enorme Interesse sind einerseits die toxische Wirkung von Mykotoxinen bei Menschen und Tieren und andererseits deren weltweites Auftreten im Getreide und Tierfutter. Mykotoxine können sowohl die Leistung, Gesundheit und Fruchtbarkeit von Tieren eingeschränken als auch deren Wohlergehen vermindern. Die Möglichkeit die durch Mykotoxine verursachte Belastung zu reduzieren, kann somit das Tierwohl und die Tiergesundheit steigern und die Nutztierproduktion effizienter gestalten.

Innerhalb der Mykotoxine sind Fumonisine (FUM) häufige Pilzkontaminationen von Mais und anderen Getreidearten, und deren häufigster Vertreter ist Fumonisin B1 (FB1). Frühere Untersuchungen zeigten, dass zwischen 55 und 65 % des weltweiten Futters und Mischfutters mit FUM kontaminiert sind. Da chemische und physikalische Entgiftungsmethoden von FUM im Futtermittel im Großmaßstab nach wie vor unzureichend sind, stellt die biologische Entgiftung in Form von Enzymen eine vielversprechende Möglichkeit dar, um die Belastung der Tiere zu reduzieren.

Dieses Projekt zielt darauf ab, die enzymatische Entgiftungseffizienz beim Schwein unter konventionellen Stallbedingungen zu untersuchen. Die Wirksamkeit des Enzyms soll mittels Analyse der Metabolite in Blut und Kot nachgewiesen werden.

zu erwartender Nutzen: Die gewonnenen Resultate zur Entgiftung von Fumonisin liefern wertvolle Erkenntnisse für die Schweineproduktion und dienen der Verbesserung des Wohlergehens der Schweine.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Basierend auf Literaturdaten sind keine klinischen Symptome bei diesem Tierversuch zu erwarten.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

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

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

Vermeidung: Die Beantwortung der Fragestellung in diesem Projekt ist nur im intakten Organismus möglich, da sowohl Blut- als auch Kotproben analysiert werden sollen, um den Einfluss der Testsubstanzen auf verschiedene Stoffwechselwege zu untersuchen. Die

Beantwortung der Fragestellung ist daher nicht basierend auf einer in vitro Studie möglich und es kann nicht auf eine Ersatz- bzw. Ergänzungsstudie ausgewichen werden.

Verminderung: Es wird die geringstmögliche Anzahl an Tieren (24 Tiere pro Gruppe) verwendet, um ein aussagekräftiges und statistisch auswertbares Ergebnis zu erhalten. Die tierindividuelle Beprobung erlaubt einen geringeren Einsatz von Tieren verglichen mit der Generierung von Poolproben aus einer Gruppe.

Verfeinerung: Die Tiere werden während der Versuchsdauer (57 Kalendertage) in Buchten (3,02 m x 2,3 m), zu je 12 Tieren gehalten. Am Tag der Ankunft sowie nach einer 14-tägigen Adaptionsperiode werden alle Tiere gewogen, danach erfolgt eine kontinuierliche, digitale Erfassung des tierindividuellen Gewichts und der tierindividuellen Futteraufnahme. An zwei definierten Tagen (Tag 43 und 56) werden Blutproben von allen Tieren entnommen sowie Kotproben gesammelt.

Die Tiere haben ständig freien Zugang zu Wasser und Futter. Jede Bucht ist mit Beschäftigungsmaterial für Schweine aus Holz ausgestattet. Sie werden von geschulten Personen sorgfältig betreut und tierärztlich überwacht. Während des Projektes wird großer Wert daraufgelegt, Stress und Schmerz der Ferkel so gering wie möglich zu halten. Sollten die Tiere Anzeichen von Schmerzen zeigen oder in irgendeiner Weise beeinträchtigt sein, werden sie vom Versuch ausgeschlossen und tierärztlich versorgt.

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

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

Das Ziel dieses Projekts ist es zu untersuchen, ob die Gabe von extrazellulären Vesikeln in der Akutphase eines traumatischen Blutungsschock die durch den Schock verursachten Organschäden und entzündungsfördernden Prozesse eindämmen und somit die Überlebenswahrscheinlichkeit verbessern kann. Die vorgesehenen Untersuchungen dienen der translationalen angewandten Forschung zur Vorbeugung und Behandlung von Krankheiten und deren Folgen bei Menschen und Tieren und sind gemäß § 3 Abs. 1 Z 4 TVG 2012 dem Schweregrad "schwer" zuzuordnen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden für den fünf Jahre dauernden Versuch insgesamt 125 Ratten verwendet.

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

Die Erfüllung der 3R im Sinne der Vermeidung ist nicht möglich.

Zur Verminderung wird die geringstmögliche Anzahl von Ratten basierend auf einer Fallzahlschätzung verwendet.

Zur Verbesserung werden die Versuchsbedingungen 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 der Tiere möglichst verhindert werden. Die Ratten werden nach dem Eingriff in den gewohnten Gruppen gehalten, um psychischen Stress zu minimieren und engmaschig klinisch untersucht, und um gegebenenfalls entsprechend reagieren zu können (wirksame Analgesie, Abbruch).

Eine rückblickende Bewertung des Versuchs wird gemäß § 30 Abs. 1 Z 3 TVG 2012 nach Abschluss des Projektes erfolgen.

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

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

Mit diesem Projekt sollen die Mechanismen der Thermoregulation von Tauben untersucht werden, nachdem die Tiere bei unterschiedlicher Luftfeuchtigkeit gehalten wurden. Die Ergebnisse dieser Studie sollen Hinweise darüber geben, wie sich Tiere Umweltbedingungen anpassen können.

zu erwartender Nutzen: Diese erwarteten Erkenntnisse sind wichtig, um die Ökologie und das Verhalten von Tieren im Zusammenhang mit den klimatischen Veränderungen zu verstehen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere werden für 20 Tage unter konstanter Temperatur und Luftfeuchtigkeit in Einzelkäfigen gehalten. Diese werden in einen Bereich von Temperaturen und Luftfeuchtigkeiten gehalten, die diese Art auch in der Natur erfahren kann. Den Tieren wird ein Transponder implantiert. Jedes Tier wird zweimal zu einem Respirometrie-Versuch herangezogen; zu diesem Zweck ist eine Fastenperiode von ungefähr 7 Stunden vorgesehen; während der Respirometrie sind die Tiere ca. 3 Stunden in einem engen Käfig untergebracht.

2. Art und Anzahl der Tiere

20 Lachtauben (*Streptopelia risoria*)

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

Vermeidung: Die Mechanismen der Thermoregulation können nur an lebenden Individuen erforscht werden.

Verminderung: Da es sich um einen Pilotversuch handelt, kann keine Poweranalyse zur Bestimmung der Stichprobe durchgeführt werden. zuführen. Wir halten deswegen die Stichprobe klein und basierend auf die existierende Literatur. Mit den aufgehobenen Daten wird eine Poweranalyse durchgeführt, die die Stichprobe für spätere Studien definieren soll.

Verfeinerung: Es werden Vögel verwendet, bereits in Gefangenschaft gehalten werden, sodass Stress bei den Manipulationen verringert wird. Die Messung der relevanten Variablen (Wasserverlust, Stoffwechselrate und Körpertemperatur) erfolgt mit etablierten Methoden. Die Dauer der Versuche wird auf den unbedingt erforderlichen Zeitraum beschränkt.

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

Futtermittelzusatzstoffe wie organische Säuren und deren Salze finden seit Jahrzehnten in kommerziellen Futtermitteln Anwendung, um die Effizienz in der Nutztierproduktion zu steigern. Allerdings können sich die Richtwerte zu der empfohlenen Höchstmenge einzelner Säuren weltweit stark unterscheiden. Diese Toleranzstudie soll evaluieren, ob eine Säure in der Dosierung von 80 mg/kg Futter sowie deren 11-fache Überdosierung die Gewichtszunahme und Futterverwertung von Absatzferkeln positiv beeinflusst. Weiters werden am Ende des Projektes mögliche Effekte der Säure auf die Tiergesundheit und des Tierwohls evaluiert. Dazu werden Blutproben auf standardmäßige Blutparameter und –enzyme (weißes und rotes Blutbild, Aspartat-Aminotransferase, Alanin-Aminotransferase, Glutamatdehydrogenase, Harnstoff, Gallensäure, Triglyceride, Calcium, Natrium, Kalium) untersucht.

zu erwartender Nutzen: Es soll validiert werden, dass die Zugabe der Säure in zwei verschiedenen Dosierungen zum Futter die Leistungsparameter und Tiergesundheit im Vergleich zu der Kontrollgruppe (ohne der zu testenden Säure) verbessert. Die daraus gewonnenen Resultate liefern wertvolles Wissen über die Wirkungsweise der Säure und dient dazu, die Unbedenklichkeit der Säure in den Dosierungen für die Tiergesundheit zu belegen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Basierend auf Literaturdaten sind keine klinischen Symptome durch die Verabreichung der Testsubstanz zu erwarten. Die tierindividuelle Blutprobennahme an einem definierten Zeitpunkt kann allerdings eine geringe Belastung für die Tiere darstellen.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

72 ÖHYB Absatzferkel (gemischtgeschlechtlich)

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

Vermeidung: Die Beantwortung der Fragestellung in diesem Projekt ist nur am intakten Organismus möglich. Da neben den Performanceparametern, insbesondere Blutproben analysiert werden sollen, um die Sicherheit der Testsubstanz in unterschiedlichen Dosierungen im intakten Organismus zu untersuchen, ist dies nicht basierend auf einer in vitro Studie möglich. Es kann daher nicht auf eine Ersatz- bzw. Ergänzungsstudie ausgewichen werden.

Verminderung: Es wird die geringstmögliche Anzahl an Tieren (n = 24 pro Gruppe) verwendet, um ein aussagekräftiges und statistisch auswertbares Ergebnis zu erhalten.

Verfeinerung: Die Tiere werden während der Versuchsdauer (57 Tage) in Buchten zu je 12 Tieren gehalten. Die Tiere haben ständig freien Zugang zu Wasser und dem Futter. Sie werden von geschulten Personen sorgfältig betreut und tierärztlich überwacht. Sollten die Tiere Anzeichen von Schmerzen zeigen oder in irgendeiner Weise beeinträchtigt sein, werden sie vom Versuch ausgeschlossen und tierärztlich versorgt. Während des Projektes wird großer Wert daraufgelegt, Stress und Schmerz der Ferkel so gering wie möglich zu halten.

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

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

Non-Hodgkin Lymphome sind bösartige Lymphdrüsenenerkrankungen, welche durch unkontrollierte Vermehrung von Lymphozyten gekennzeichnet sind. Bestimmte Untergruppen der Non-Hodgkin Lymphome treten vor allem bei Kindern und Jugendlichen auf und entstehen durch genetische Translokationen zwischen verschiedenen Chromosomen. Die Standard-Behandlung dieser aggressiven Lymphome besteht aus mehreren Zyklen zytostatischer Chemotherapie, doch können Resistenzen und Rezidive auch nach erfolgreicher Therapie bei einem Teil der Patienten auftreten. Ziel dieses Projekts ist es, die Funktion und Wirkweise epigenetischer aktiver Enzyme und zweier Inhibitoren dieser Enzyme in einem Mausmodell, welches das humane Lymphom durch Expression des humanen Onkogens in T Zellen simuliert, zu studieren. Epigenetische Therapien zielen darauf ab, nicht die DNA selbst, sondern DNA verändernde Enzyme zu inhibieren, und werden bei malignen Erkrankungen des lymphatischen Systems bereits in der Klinik angewendet.

In vitro Versuche haben vielversprechende Ergebnisse mit epigenetischen Therapien in Bezug auf eine Verlangsamung der Tumorzellteilung gezeigt. Allerdings demonstrierten kürzlich publizierte in vivo Studien, dass der Verlust von epigenetisch aktiven Enzymen in T-Zellen das Tumorstadium auch beschleunigen kann. Um diese Diskrepanz zwischen in vitro und in vivo Daten – auch auf Hinblick auf eine möglicherweise unerwartete und unerwünschte Nebenwirkung von Inhibitoren in vivo - zu klären, ist es unumgänglich, die Experimente auf Ebene des Mausmodells (Knock-Out und Inhibitor-Studien) anzusiedeln. Weiters zu beachten ist, dass der Einfluss von epigenetisch aktiven Enzymen und deren Inhibition auf die Tumorentwicklung sehr stark vom Differenzierungsgrad und dem Entwicklungsstadium der einzelnen Zelle abhängt, was mit in vitro durchgeführten Versuchen nicht ausreichend simuliert werden kann.

zu erwartender Nutzen: Das Projekt zielt darauf ab, die Funktion von epigenetischen Enzymen für die Entstehung von T Zell Lymphomen zu untersuchen. Obwohl es grundlegende wissenschaftliche Fragen behandelt, erwarten wir, dass unsere Ergebnisse auch wichtige Auswirkungen auf die Translation haben werden. Wir erhoffen uns neue Erkenntnisse über die biologischen Ursachen der Lymphomentstehung und mögliche negative Auswirkungen von epigenetischen Therapien besonders bei Kindern, bei denen die T Zell Entwicklung noch nicht abgeschlossen ist.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Durch die Expression eines humanen Onkogens wird in transgenen Mäusen ein Tumor im Thymus induziert. Verlust von epigenetischen Enzymen in diesem Modell führt zu einer früheren Tumorentstehung und Sterblichkeit. Erste Vorversuche zeigen, dass die Behandlung der Tiere mit epigenetischen Inhibitoren zu einer Verlangsamung des Tumorstadiums beiträgt.

## 2. Anzahl und Art der verwendeten Tiere:

Für die geschilderte Studie werden insgesamt 2700 Tiere über 5 Jahre verwendet. Davon werden 2292 leicht belastete Tiere für die Zucht benötigt, 96 leicht belastete und 312 schwer belastete Tiere werden als experimentelle Tiere benötigt.

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

**Vermeidung:** Erste Studien zur Wirkung der Inhibitoren auf NPM-ALK-positive Tumorzellen wurden bereits so weit wie möglich durch in vitro Experimente mit Zellkulturen ersetzt. Kürzlich veröffentlichte Studien und unsere eigenen vorläufigen Daten mit knockout Mäusen zeigen jedoch, dass das Wachstumsverhalten von Tumoren teilweise unterschiedliche Ergebnisse in Zellkulturen zeigt. Um diese Diskrepanz zwischen in vitro und in vivo Daten auch im Hinblick auf eine unerwünschte Nebenwirkung von Inhibitoren in vivo zu klären, ist es wichtig, die Experimente auf der Ebene des Mausmodells durchzuführen. Die in diesem Vorschlag geplanten Tierversuche sind unbedingt erforderlich, um die Rolle von epigenetischen Enzymen bei der Lymphomentwicklung in einem lebenden Organismus zu verstehen. Darüber hinaus werden Zelllinien aus Tumoren etabliert, sodass wir auch in Zukunft so viele Experimente wie möglich durch in vitro Studien ersetzen würden.

**Verminderung:** Die biologische Varianz der Versuchsergebnisse und die Anzahl der Versuchstiere wird aufgrund der Standardisierung der Tierhaltung und der Versuchsbedingungen auf ein absolutes Minimum beschränkt. Die Zuchtplanung wurde optimiert und die Anzahl der Tiere nach Berechnung der Stichprobengröße auf das erforderliche Minimum reduziert.

**Verfeinerung:** Die Analyse von Versuchstieren wird von gut ausgebildetem Personal durchgeführt, das über beträchtliche Erfahrung bei der Durchführung eines bestimmten Versuchs verfügt. Die sofortige Auswertung der Experimente garantiert eine professionelle Durchführung sowie schnell wachsendes Wissen. Die Tiere werden von geschulten und zertifizierten Tierpflegern betreut, bei Bedarf ist eine zusätzliche Überwachung durch TierärztInnen möglich.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. März 2026 vorgesehen.

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

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

Ziel dieser Studie ist die Austestung neuer small molecule pGlu A $\beta$  Inhibitoren im transgenen APP<sub>h</sub>QC Mausmodell. Dafür werden 3 Teilprojekte durchgeführt. In einem ersten Projekt sollen die Verteilung und Halbwertszeit der zwei Substanzen nach einer einmaligen oralen Behandlung in nicht-transgenen Mäusen untersucht werden. In einem darauffolgenden Projekt soll die Pharmakokinetik der beiden Testsubstanzen im transgenen APP<sub>h</sub>QC Mausmodell untersucht werden. Dafür werden die Tiere für 4 Monate über das Futter behandelt und im Anschluss die Gewebe auf krankheitsrelevante Pathologien untersucht. In einer letzten Studie soll im Anschluss der Effekt einer der beiden Substanzen auf die kognitiven Fähigkeiten von APP<sub>h</sub>QC Mäusen untersucht werden. Dafür werden die Tiere für 6 Monate über das Futter mit der Substanz behandelt und am Ende der Behandlungszeit in verschiedenen Verhaltenstests auf ihre Fähigkeiten untersucht. Das Ziel der gesamten Studie ist die Untersuchung der 2 Substanzen auf ihre Verteilung und Blut-Hirn-Schranken Durchlässigkeit in der Maus, die pharmakokinetischen Eigenschaften und ihr Effekt auf neuropathologische Veränderungen sowie der Effekt einer der Substanzen auf die kognitiven Fähigkeiten des Mausmodells. Es wird erwartet, dass zumindest eine der beiden Substanzen vielversprechende pharmakokinetische Eigenschaften aufweist und einen positiven Effekt auf die pathologischen Veränderungen und die kognitiven Defizite zeigt.

Schaden und Nutzenabklärung: Das doppelte Transgen APP<sub>h</sub>QC stellt für die Tiere keinen Stress oder Leiden dar. Erst ab ca. 6 Monaten können durch spezifische Tests kognitive Defizite in den Tieren festgestellt werden. Diese beeinträchtigen die Tiere in ihrem Alltag allerdings nicht. Die einmalige orale Behandlung führt kurzzeitig zu geringem Stress, aber weder zu Schmerz noch Leid. Die einmalige intraperitoneale Behandlung löst bei den Tieren kurzzeitig geringen Stress und Schmerz aus, aber kein Leid. Es werden keine Nebenwirkungen erwartet. Negative Effekte können allerdings nie mit absoluter Sicherheit ausgeschlossen werden.

Die Behandlung über das Futter stellt für die Tiere keinen Stress, Schmerz oder Leid dar, da sie dafür nicht aus dem Käfig genommen oder gehandelt werden müssen. Für eine kurze Dauer kann es zu einer Umgewöhnungsphase kommen, in der das neue Futter evtl. schlechter oder besser akzeptiert wird als das Standardfutter. Der Open Field Test erzeugt bei den Tieren geringen Stress, aber weder Schmerz noch Leid. Der Morris Water Maze Test und der Contextual Fear Conditioning Test können in den Tieren geringen bis mittelgradigen Stress, aber keinen Schmerz oder Leid auslösen.

Durch diese Studie wird die Entwicklung einer Substanz gegen die Alzheimer Krankheit relevant vorangetrieben, so dass diese zügig in erste klinische Studien auf ihre Wirksamkeit untersucht werden kann.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie werden insgesamt 98 weibliche transgene APPxhQC und 108 nicht-transgene Geschwistertiere beantragt.

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

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

**Verminderung:** In dieser Studie sollen pro Gruppe 10, 12 bzw. 16 Tiere verwendet werden. Diese Gruppengröße wurde mittels Power Analyse historischer Daten ermittelt und ist somit erforderlich um statistisch signifikante Ergebnisse zu erzielen.

**Verfeinerung: Stressminimierung:** An dieser Stelle soll ausdrücklich festgehalten werden, dass der Tierversuch unter Vermeidung aller mit dem Versuchszweck nicht notwendig verbundenen Belastungen durchgeführt wird. Die Tiere werden bereits vor Beginn der Studie durch so genanntes „Handling“ mit den involvierten Personen vertraut gemacht, um unerwünschte, stressbedingte, falschpositive bzw. falschnegative Ergebnisse zu vermeiden.

Gleichgeschlechtliche Tiere werden zusammen im Käfig gehalten, soweit es die Tierzahl erlaubt. Dadurch verbleiben die Tiere in ihrem Familienverband und zusätzlicher psychischer Stress, z.B. von neuerlichen Revierkämpfen oder der Vereinzelung, wird vermieden.

**Gesundheitszustand:** Generell gilt, dass zur Durchführung des Tierversuchs nur Tiere verwendet werden, deren Gesundheitszustand einwandfrei ist.

Alle Tiere stehen unter ständiger Kontrolle. Erkrankte oder verletzte Tiere werden in einem Patientenblatt vermerkt. Abhängig vom Schweregrad der Symptome entscheidet der Tierarzt über die weitere Behandlung oder Euthanasie der Tiere.

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

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

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

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

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

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

24 Hausschweine

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

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

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

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

Menschen gewöhnt werden. So ist sichergestellt, dass die Schweine an Berührungen und sonstiges Handling gewöhnt sind und der diesbezüglich empfundene Stress während der Experimente reduziert ist. Das Tierärzteteam kontrolliert die Tiere vor und während des gesamten Versuchszeitraums regelmäßig auf ihren Gesundheitszustand und etwaige Schmerzen.

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

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

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

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

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

2. Art und Anzahl der Tiere

Art: Rind, Kühe

Anzahl: mind. 35 je Kurs

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

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

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

Verfeinerung: Dieses Ziel wird durch die klinische und gynäkologische Eingangsuntersuchung der Übungstiere vor Kursbeginn, die Anleitung und die ständige Aufsicht/Überwachung aller

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

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

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

Herz-Kreislauf-Erkrankungen zählen zu den häufigsten Todesursachen in der westlichen Welt. Durch zu hohe Blutfette, Nikotin-Genuss oder Bluthochdruck entwickeln sich in den Gefäßen zunehmende Verkalkungen und damit einhergehend Verengungen der Blutstrombahn bis hin zum kompletten Gefäßverschluss. Sind die Herzkranzgefäße von einer Verkalkung betroffen, spricht man von einer koronaren Herzkrankheit (KHK). Betreffen die Verkalkungen die Gefäße der Extremitäten, spricht man von der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit (pAVK).

Bei der KHK leiden symptomatische Patienten unter anderem an einem Engegefühl in der Brust, Leistungsminderung oder Atemnot. Patienten, welche auf Grund einer pAVK symptomatisch sind, leiden durch die mangelnde Durchblutung an krampfartigen Schmerzen der Skelettmuskulatur (meist Oberschenkel und Unterschenkel), wodurch die körperliche Aktivität deutlich eingeschränkt ist. In schweren Fällen ist die Durchblutungsstörung so stark ausgebildet, dass ein Teil des Fußes nicht mehr ausreichend mit Sauerstoff versorgt wird und abgenommen werden muss. Meist können heutzutage diese Verengungen im Rahmen einer sogenannten Katheteruntersuchung behandelt werden. Leider eignen sich jedoch nicht alle Patienten für diesen Eingriff, weshalb aktuell verschiedene neue Therapieansätze untersucht werden, um dieser Gruppe von Patienten helfen zu können. Ein möglicher Therapieansatz wäre die Verabreichung von Substanzen, welche die Ausbildung neuer Gefäße am Herzen oder im Skelettmuskel fördern. Damit wäre eine bessere Versorgung des Herz- oder Skelettmuskels mit Sauerstoff und Nährstoffen möglich. Zellkulturversuche zeigen, dass das von uns untersuchte Molekül die Funktion von Gefäßzellen günstig beeinflusst und das Wachstum neuer Gefäße fördert. Eine Anwendung bei einem Modell der KHK oder pAVK wurde bislang nicht untersucht.

zu erwartender Nutzen: Sollte im Tiermodell durch die Verabreichung unserer Testsubstanz der Krankheitsverlauf günstig beeinflusst werden können, wäre die Entwicklung einer neuen Therapie-Option für viele Herz-Kreislauf-Patienten möglich.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die für die Experimente herbeigeführte Durchblutungsstörung am Herzen beziehungsweise am Skelettmuskel verursacht starke Schmerzen als auch eine eingeschränkte Mobilität der Tiere. An diesen Symptomen leiden auch Herz-Kreislauf-Patienten. Durch die Gabe starker Schmerzmittel, wie sie auch beim Menschen eingesetzt werden, kann jedoch ein schmerzfreier Zustand erzielt werden.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

Die Versuche werden an Mäusen durchgeführt. Die Anzahl der benötigten Versuchstiere beträgt maximal 536 für einen Zeitraum von 2 Jahren. Die Versuche werden an Wildtyp-Mäusen sowie an transgenen Mäusen durchgeführt.

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

**Vermeidung:** Nach rezenter Recherche handelt es sich bei dem beantragten Projekt um eine erstmalige Untersuchung. Der Tierversuchsantrag basiert auf zahlreichen in-vitro Ergebnissen. Dadurch ist eine gezielte Fragestellung möglich und die Anzahl der Versuchstiere kann reduziert werden.

**Verminderung:** Das Projekt ist stufenweise aufgebaut. Nur bei positiven Ergebnissen, d.h. Bestätigung der zuvor aufgestellten Hypothese wird der darauffolgende Schritt, sprich die Verwendung weiterer Tiere, durchgeführt. Damit soll vermieden werden, dass mit einem Mal eine hohe Tierzahl verwendet wird. Sämtliche relevanten Organe werden nach Versuchsende entnommen und konserviert. Sollten sich im Laufe des Projektes neue Fragen ergeben, könnten diese Gewebe-Proben hierfür verwendet werden (z.Bsp: RNA-Analysen, histolog. Färbungen, ...). Die beantragten Operations-Methoden sind in unserem Forschungslabor seit Jahren etabliert. Dadurch ist eine Streuung der Ergebnisse auf ein Minimum reduziert und es müssen keine Tiere zum Erlernen der Methode verwendet werden.

**Verfeinerung:** Für sämtliche Messungen sind modernste Analyseverfahren bzw. -geräte vorgesehen, sodass Effekte mit einer möglichst geringen Tierzahl detektiert werden können. Für die gesamte Dauer der Narkose werden die Tiere mittels einer Wärmeplatte gewärmt. Die Tiere werden täglich durch unsere Arbeitsgruppe visitiert und klinisch untersucht. Zudem werden die Tiere von fachkundigem Personal (TierpflegerInnen, VeterinärmedizinerInnen) betreut. Es sind klare Abbruchkriterien definiert.

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

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

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

In dieser Studie sollen drei Serotoninrezeptor spezifische Substanzen auf ihre pharmakokinetischen Eigenschaften untersucht werden. Dazu werden C57Bl/6Jrj Mäuse einmalig intraperitoneal mit einer der Substanzen behandelt und zu 6 verschiedenen Zeitpunkten nach der Injektion Blut und Gehirn von den Tieren gewonnen. Durch eine anschließende HPLC Analyse der Gewebe werden die Substanzkonzentrationen in den Geweben gemessen. Die Ergebnisse dieser Studie dienen zur Planung von Effizienzstudien mit den hier verwendeten Serotoninrezeptor Agonisten. Das Ziel dieser Studie ist daher die pharmakokinetischen Eigenschaften von drei neuen Serotoninrezeptor Agonisten zu bestimmen.

Schaden und Nutzenabklärung: Die einmalige intraperitoneale Behandlung stellt für die Tiere nur kurzzeitig geringen Stress und Schmerz dar, aber kein Leid. Da die Testsubstanzen bisher nicht in vivo verwendet wurden und Nebenwirkungen daher nicht ausgeschlossen werden können, können sie in den Tieren kurzzeitig Stress oder Schmerz, jedoch keine Leid auslösen. Bei Tieren die nur Vehikel erhalten entfällt diese Belastung. Die Inhalationsnarkose mit anschließender Dekapitation mittels Guillotine löst bei den Tieren kurzzeitig geringen Stress und Schmerz, aber kein Leid aus.

Mit der vorliegenden Studie sollen drei neue Serotoninrezeptor Agonisten auf ihre pharmakokinetischen Eigenschaften untersucht werden.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie werden insgesamt 60 männliche C57BL/6Jrj Mäuse im Alter von ca. 10 Wochen beantragt.

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

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

Verminderung: In dieser Studie sollen pro Gruppe 3 bzw 1 Tier verwendet werden. Diese Gruppengrößen sind für diese Studie ausreichend, da die Schwankung von Pharmakokinetikstudien generell gering ist.

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

Belastungen durchgeführt wird. Die Tiere werden bereits vor Beginn der Studie durch so genanntes „Handling“ mit den involvierten Personen vertraut gemacht, um unerwünschte, stressbedingte, falschpositive bzw. falschnegative Ergebnisse zu vermeiden.

Gleichgeschlechtliche Tiere werden zusammen im Käfig gehalten, soweit es die Tierzahl erlaubt. Dadurch verbleiben die Tiere in ihrem Familienverband und zusätzlicher psychischer Stress, z.B. von neuerlichen Revierkämpfen oder der Vereinzelung, wird vermieden.

Gesundheitszustand: Generell gilt, dass zur Durchführung des Tierversuchs nur Tiere verwendet werden, deren Gesundheitszustand einwandfrei ist.

Alle Tiere stehen unter ständiger Kontrolle. Erkrankte oder verletzte Tiere werden in einem Patientenblatt vermerkt. Abhängig vom Schweregrad der Symptome entscheidet der Tierarzt über die weitere Behandlung oder Euthanasie der Tiere.

Humane Endpunkte werden unter Punkt e genauer erläutert.

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

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

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

Mit diesem Experiment wird untersucht, in wie weit Thrombozyten zu physiologischen aber auch pathologischen Veränderungen (zum Beispiel im Gehirn) beitragen können. Dafür wird ein genetisch verändertes Thrombozyten Mausmodel verwendet (iDTR-PF4), indem die Produktion von Thrombozyten direkt blockiert werden kann. Dies ermöglicht es, dass Thrombozyten für einen längeren Zeitraum depletiert und gegebenenfalls mit pharmakologisch stimulierten Thrombozyten wieder ersetzt werden können. Mit Hilfe dieser Transfusion können mögliche direkte Effekte sowie die biologische Funktion von Thrombozyten in vivo gemessen und analysiert werden. In diesem Projekt wird in erster Linie die erfolgreiche Zucht und Erhaltung der genetisch veränderten Mauslinie durchgeführt und das Model hinsichtlich seiner Wirksamkeit und Durchführbarkeit validiert. Außerdem wird überprüft, ob Thrombozyten nach erfolgreicher Depletion auch wieder durch Transfusion ersetzt werden können. Diese Versuche sind essentiell, um die Biologische Aktivität und die physiologische beziehungsweise pathophysiologische Funktion von Thrombozyten aufzuklären.

2. Art und Anzahl der Tiere

895 Mäuse

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

Vermeidung: In vivo Analysen von Thrombozyten und deren Biologischer Funktion sind derzeit durch keine in vitro Versuche zu ersetzen, da die Interaktion von Thrombozyten mit dem Immun- und Blutgefäßsystem einen höchst komplexen, interaktiven Prozess darstellen. Die Nachstellung solcher komplexen Vorgänge in vitro ist derzeit nicht möglich und eine Analyse im Tiermodell daher unumgänglich und wichtiger Bestandteil derzeitiger Grundlagenforschung. Die bei der Zucht entstandenen transgenen negativen Tiere werden nicht euthanasiert sondern für dieses Projekt als Kontrolltiere verwendet.

Verminderung: Die Anzahl der zu züchtenden Tiere wird so gering wie möglich gehalten, jedoch so gewählt, um noch statistische Signifikanz zu gewährleisten.

Verfeinerung: Die Tiere werden sorgfältig beobachtet und sollte ein allgemein negativer Eindruck oder eventuelle Anzeichen von Schmerzen auftreten, werden mit Rücksprache der tierhaltungsinternen Tierärztin sofortige Gegenmaßnahmen eingeleitet. Wir sind unter anderem bemüht Stress und Schmerzen für die Tiere zu vermeiden. Die genetischen Veränderungen sowie deren Anwendung/Aktivierung verursacht den Tieren keine Schmerzen, die über einen Nadelstich hinausgehen.

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 Projektes ist, eine schonende Methode zur Injektion von Flüssigkeiten in den Blinddarm von Ratten mit Hilfe einer Darmspiegelung zu etablieren. Diese Methode kann später genutzt werden, um Tumorzellen genau an dem Ort zu implantieren, wo sie für die zielgerichtete Erprobung einer neuen Therapiemethode bei Dickdarmkrebs gebraucht werden. Bis dato mussten die Versuchstiere dafür einer Operation unterzogen werden.

zu erwartender Nutzen: Entwicklung einer schonenderen Methode zur Implantation von Tumorzellen im Rattenmodell

zu erwartender Schaden für die Tiere: mittel

2. Art und Anzahl der Tiere

40 erwachsene Ratten (Sprague Dawley)

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

Vermeidung: Der Tierversuch ist notwendig, da ein Tier-Modell für Darmspiegelung mit intramuraler Injektion nur auf diese Weise etabliert werden kann. Die in weiterer Folge geplanten Versuche zur Krebsentwicklung und Therapie erfordern ebenso den Tierversuch zur Übertragung von Erkenntnissen aus Zellkultur-Versuchen auf lebende Organismen.

Verminderung: Die Etablierung des Modells erfolgt durch Allgemeinchirurgen mit Erfahrung in Darmspiegelung bei Menschen, sowie einzelne Mitglieder der Arbeitsgruppe mit Erfahrung in Ratten-Koloskopie. Dadurch kann die Lernkurve verkürzt und die Anzahl der notwendigen Tiere auf ein Minimum reduziert werden.

Verfeinerung: Die Etablierung dieses Modells trägt wesentlich zur Verfeinerung bei, da diese Methode den Tieren eine Laparotomie (Eröffnung des gesamten Bauches mit Schnitt) erspart und damit eine schonendere Tumorimplantation möglich macht. Durch Verkürzung der Nüchternheitsintervalle und zusätzlichem Flüssignahrungsangebot wird die Belastung für die Tiere im Vergleich zu Vorstudien reduziert. Außerdem werden im Rahmen dieser Studie bis dato nicht untersuchte Daten zur Anatomie der Ratte erhoben, die zu einem Wissensgewinn für zukünftige, anderslautende Forschungsfragen führen können.

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

Neueste Literaturstudien deuten darauf hin, dass ein Enzym, das bereits in der Lebensmittelindustrie verwendet wird, die Tiergesundheit positiv beeinflussen kann. Die positive Wirkung bei Schweinen und Hühnern wird auf die Akkumulation von Wasserstoffperoxid zurückgeführt, das für krankheitserregende Darmbakterien schädlich sein kann und ihre Vermehrung bei gleichzeitiger Sauerstoffdezymierung im Darm hemmt. Durch die Supplementierung in Futtermitteln kann außerdem die Wachstumsleistung der Tiere (durchschnittliche Gewichtszunahme und Futtereffizienz) verbessert werden. Das zu testende Enzym hat dank seiner oxidierenden Wirkung mehrere kommerzielle Anwendungen in der Lebensmittelindustrie, z.B. die Verbesserung von Farbe, Geschmack und Haltbarkeit von Lebensmitteln, die Entfernung von Sauerstoff aus Fruchtsäften und Dosengetränken, die Entfernung von D-Glukose aus Eiweiß zur Verhinderung der Bräunung und die Hemmung des Wachstums von Krankheitserregern. Es gibt verschiedene Enzympräparate auf dem Markt, die meistens für Anwendungen in der Lebensmittelindustrie geeignet sind. Für den Einsatz als Futtermitteladditiv wird ein solches Enzym auf dem asiatischen Markt angeboten, in westlichen Ländern (e.g. Europa, USA) allerdings noch nicht. In Laborversuchen wurden Enzympräparate verschiedener Anbieter auf ihre Eignung als Futtermitteladditiv untersucht. Ziel dieses Projektes ist es, die positive Wirkung des Enzyms erstmals durch eine Analyse der Leistungsparameter und der Mikroben-Zusammensetzung im Darm von Broilern zu zeigen.

zu erwartender Nutzen: Der Einsatz des Enzyms als Futtermitteladditiv kann die Tiergesundheit aufgrund der oben genannten Wirkung positiv beeinflussen. Insbesondere ist mit einer gesünderen Mikroben-Zusammensetzung im Darm zu rechnen. Hierdurch wird eine gesteigerte Performance und somit eine effizientere landwirtschaftliche Produktion, insbesondere bei Hühnern und Schweinen, erwartet. Weiterhin kann die Supplementierung des Enzyms zu einer Reduktion von Antibiotika führen, da potentielle Krankheitserreger wie *Escherichia coli* oder *Salmonella*, in ihrem Wachstum gehemmt werden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Basierend auf vorangegangenen Studien sind keine klinischen Symptome bei diesem Tierversuch zu erwarten. Zur Evaluierung der Leistungsparameter und der Mikroben-Zusammensetzung werden allerdings insgesamt 20 % der Tiere (insgesamt 60 Tiere, nach zwei-wöchiger Fütterung und am Ende des Versuchs je 10 pro Gruppe, 1 Tier pro Bucht) stress- und schmerzfrei euthanasiert, um Blutproben zu sammeln.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

300 Küken

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

**Vermeidung:** Die Beantwortung der Fragestellung in diesem Projekt ist nur am intakten Organismus möglich. Da neben Leistungsparametern auch die Mikroben-Zusammensetzung im Darm analysiert werden sollen, um die Effekte der Testsubstanzen im intakten Organismus zu untersuchen, ist dies nicht basierend auf einer in vitro Studie möglich und es kann nicht auf eine Ersatz- bzw. Ergänzungsstudie ausgewichen werden.

**Verminderung:** Bei dem geplanten Versuchsvorhaben soll erstmals der Effekt der zu testenden Substanzen in männlichen Broilern analysiert werden. Es wird die geringstmögliche Anzahl an Tieren (100 Tiere pro Gruppe) verwendet, um ein aussagekräftiges und statistisch auswertbares Ergebnis zu erhalten

**Verfeinerung:** Die Tiere werden von Tag 0 bis Tag 36 in Buchten gehalten und an den Versuchstagen 0, 14/15, 28/29 sowie 35/36 gewogen; und an den Tagen 14/15 und 28/29 beringt bzw. neu beringt. Nach zwei-wöchiger Fütterung (Tag 14/15) sowie am Ende des Versuchs (Tag 35/36) werden jeweils insgesamt 30 Tiere (1 Tier pro Bucht und 10 Tiere pro Gruppe) schmerz- und stressfrei euthanasiert, um die Mikroben-Zusammensetzung im Darm zu analysieren.

Die Tiere können sich in den Buchten frei bewegen und haben ständig freien Zugang zu Wasser und Futter. Während des Projektes werden Stress und Schmerzen der Broiler so gering wie möglich gehalten. Die Tiere werden zweimal täglich von geschulten Personen sorgfältig betreut. Sollten die Tiere Anzeichen von Schmerzen zeigen oder in irgendeiner Weise beeinträchtigt sein, werden sie vom Versuch ausgeschlossen und tierärztlich betreut. Basierend auf Abbruchkriterien (Gewichtsverlust, verringerte Futteraufnahme, abnormales Verhalten, erhöhtes Auftreten von Verletzungen und Mortalität) kann der Versuch vorzeitig beendet werden.

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

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

In den ersten Wochen nach der Abkalbung befinden sich Milchkühe, je nach Milchleistung und Futteraufnahme, in einem Energiedefizit. Eine zunehmende negative Energiebilanz erhöht die Körperreservemobilisation, kann zu einer Stoffwechselbelastung führen und negative Effekte hinsichtlich Gesundheit, Langlebigkeit und Fruchtbarkeit verursachen. Im Versuch soll der Einfluss eines reduzierten Milchentzugs zu Laktationsbeginn - der an den natürlichen Milchentzug von Kälbern angelehnt ist - auf die Futteraufnahme, Nährstoffversorgung, Milchleistung sowie Tiergesundheitsparameter von Bio-Milchkühen untersucht werden.

zu erwartender Nutzen: Erkenntnisse zu den Effekt eines reduzierten Milchentzugs zu Laktationsbeginn auf die Futteraufnahme, Nährstoffversorgung, Milchleistung sowie die Tiergesundheit von Bio-Milchkühen. Beurteilung ob die zu prüfende Strategie zur Verbesserung des Wohlergehes von Kühen beitragen kann.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Versuchsfrage zielt auf eine Entlastung des Stoffwechsels von Milchkühen zu Laktationsbeginn ab, es werden daher keine Belastungen und Schäden für die Tiere erwartet. Die zur Beurteilung der Stoffwechselsituation regelmäßig zu ziehenden Blutproben stellen per se einen Eingriff mit geringem Schweregrad dar und die Blutprobenentnahmen an der Vena coccygea mediana entsprechen dem Stand der veterinärmedizinischen Technik. Vereinzelt könnten nach der Blutprobenentnahme Hämatome entstehen.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

26 Milchkühe (Rasse Fleckvieh bzw. Holstein Friesian aus der Bio-Lebensleistungszucht)

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

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

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

Verfeinerung: Die zu verwendende Tieranzahl konnte durch genaue Planung der Arbeiten so weit wie möglich reduziert werden. Die Belastung der Tiere wird auf das unvermeidbare Ausmaß reduziert, die Entnahmen der Blutproben stellen per se einen Eingriff mit geringem Schweregrad dar. Die Tiere werden entsprechend den strengen Bio-Richtlinien in einer Gruppe gehalten und bedarfsgerecht gefüttert. Sie werden regelmäßig von qualifiziertem Personal beobachtet und es wird dabei der Gesundheitszustand bestimmt. Sollten wider Erwarten Abweichungen vom normalen Verhalten oder Anzeichen von Schmerzen, Leiden, Ängsten oder dauerhaften Schäden festgestellt werden, erfolgt eine tierärztliche Nachkontrolle, um erforderlichenfalls sofort adäquate Gegenmaßnahmen einzuleiten.

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

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

Laut Angaben der Weltgesundheitsorganisation (WHO) wurde im Jahr 2018 weltweit bei 18,1 Millionen Menschen eine Krebserkrankung diagnostiziert, 9,6 Millionen Patienten starben an dieser Krankheit. Die WHO geht davon aus, dass bis zum Jahr 2030 die Zahl der jährlich neu diagnostizierten Krebsfälle auf 22 Millionen ansteigen wird. In Österreich wurde im Jahr 2017 bei 41.389 Menschen eine Krebsneuerkrankung dokumentiert, bei 20.148 Menschen führte eine Krebserkrankung zum Tod. Damit sind Krebserkrankungen für ein Viertel der jährlichen Todesfälle in Österreich verantwortlich und nach Herz-Kreislauf-Erkrankungen die zweithäufigste Todesursache. Übergeordnetes Ziel dieses Forschungsvorhabens ist es, auf Basis neuer wissenschaftlicher Erkenntnisse neue innovative Behandlungsansätze für Krebserkrankungen zu entwickeln, die zu einer Verlängerung des Lebens der Patienten und einer Verbesserung der Lebensqualität führen. Kombinationstherapien bieten einen vielversprechenden Ansatz zur Behandlung von Krebserkrankungen. Ziel ist es dabei, die für Krebszellen wichtigen zellulären Prozesse auf verschiedenen Wegen zu blockieren. Die Tierversuche haben zum Ziel, die Funktionen des menschlichen Körpers und der menschlichen Erkrankung in einem Gesamtorganismus zu simulieren, um nachfolgende klinische Studien mit Krebspatienten mit höchstmöglicher Sicherheit und hoher Wahrscheinlichkeit für Wirksamkeit durchführen zu können. Dieser Tierversuch wird gemäß §3 TVG 2012 mit dem Schweregrad „schwer“ eingestuft.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

Beantragt werden 44 986 Mäusen (*Mus musculus*) für das gesamte Projekt über einen Zeitraum von 3 Jahren.

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

**Vermeidung:** Im Tierversuch werden ausschließlich Wirkstoffe geprüft, die nach einem mehrstufigen Testverfahren auf Basis zahlreicher biochemischer, biophysikalischer und zellbiologischer in vitro Untersuchungen, insbesondere an Kulturen menschlicher Tumorzellen, als besonders erfolgsversprechend bewertet werden. Eine Vermeidung des beantragten Tierversuches ist nicht möglich, da die komplexen Zusammenhänge zwischen neuen Therapeutika und einem Tumor sich derzeit nur in einem Gesamtorganismus (in vivo) untersuchen lassen

**Verminderung:** Durch Standardisierung aller Haltungs- und Versuchsbedingungen, genaue Versuchsplanung und „State of the Art“ Analysemethoden wird eine geringe Streuung der Versuchsergebnisse ermöglicht. Somit und durch den sequentiellen Ablauf der Tierversuche wird die Anzahl der Versuchstiere und die Versuchsdauer so gering wie möglich gehalten. Für

die Fallzahlberechnungen steht ein Statistiker beratend zur Verfügung. Die angegebenen Tierzahlen sind Maximalzahlen, die sich im Verlauf des Versuches reduzieren können.

Verfeinerung: Die Belastung für das Versuchstier soll über den gesamten Versuchsverlauf auf das geringstmögliche Maß vermindert werden, und dies wird durch folgende Maßnahmen gewährleistet:

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

Eine rückblickende Bewertung ist nach gemäß § 30 Abs. 1 Z 3 TVG 2012 nach Abschluss des Projekts (2023) vorgesehen.

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

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

Die vorgesehenen Untersuchungen dienen der translationalen angewandten Forschung zur Vorbeugung und Behandlung von Krankheiten und deren Folgen bei Menschen und Tieren und sind dem Schweregrad mittel lt. TVG12 §3 (1) zuzuordnen.

zu erwartender Nutzen: Der Nutzen des geplanten Projekts ist die Verbesserung der Patientensicherheit bei chirurgischen Eingriffen insbesondere bei Eingriffe die mit Blutungsgefahr einhergehen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere werden in Vollnarkose operiert und untersucht. Sie können vorübergehend geringgradige Schmerzen (durch wirksame Schmerzmittel reduzierter Schmerz) nach der Operation erfahren. Die Tiere werden dann nach einer Beobachtungsperiode wieder in Vollnarkose gesetzt, untersucht und schmerzlos euthanisiert.

2. Art und Anzahl der Tiere

Bis maximal 238 Kaninchen.

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

Vermeidung: Die vorgesehenen chirurgischen Eingriffe und deren Folgen können weder in vitro noch in der humanen Forschung untersucht werden.

Verminderung: Die Anzahl der Tiere wird so gering wie möglich gehalten. Eine kleine Gruppengröße, die noch eine wissenschaftliche Aussage ermöglicht, wird verwendet.

Verfeinerung: Durch potente, wirksame Schmerztherapie, die tägliche Inspektion aller operierten Tiere und die tägliche tierpflegerische Betreuung aller Tiere werden Schmerzen, Leiden und Ängste der Tiere möglichst minimiert.

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

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

Ziel dieser Studie ist die interne Validierung und Ermittlung klinischer Endpunkte in Bezug auf geschlechtsspezifische Unterschiede im CMT-Rattenmodell. Dafür werden die Tiere ab einem Alter von 4 Wochen wiederholt in Verhaltenstests auf ihre motorischen Defizite und auf Nervenleitungsstörungen untersucht. Ab einem Alter von 6 Wochen werden die Tiere einmal täglich mit Vehikel behandelt, um die Bedingungen einer Studie zur Substanztestung zu simulieren. Es wird erwartet, dass ein potenzieller Geschlechtsunterschied bei den klinischen Endpunkten nachgewiesen werden kann, sollte es diesen geben.

Hemizygot CMT-Ratten weisen ab einem Alter von ca. 8 Wochen erste motorische Defizite auf, die sich im Weiteren aber kaum verändern und nicht in einer Paralyse enden. Im vorliegenden Projekt werden die Tiere im Alter von 18 Wochen euthanasiert. Daher wird ein geringer bis höchstens mittelgradiger Phänotyp erwartet, der die Tiere in ihrem alltäglichen Leben nicht merklich einschränkt. Bei den nicht-transgenen Geschwistertieren entfällt diese Belastung. Der Grip Strength Test erzeugt bei den Tieren geringen Stress, aber weder Schmerz noch Leid. Der Bar Test kann bei motorisch nicht-defizienten Tieren zu geringem Stress führen, aber weder zu Schmerz noch Leid. Bei motorisch defizienten Tieren kann der Stresspegel steigen. Schmerz oder Leid werden allerdings weiterhin nicht ausgelöst. Beim Hot Plate Test erfahren die Tiere geringen bis mittelgradigen Stress und Schmerz, aber kein Leid. Die 1x tägliche per orale Behandlung erzeugt bei den Tieren kurzzeitig geringen Stress, aber weder Schmerz noch Leid. Durch die Wiederholung gewöhnen sich die Tiere zudem an die Prozedur und der Stresslevel kann gesenkt werden. Da die Tiere ausschließlich mit PBS behandelt werden, wird keine Beeinträchtigung durch die Behandlung erwartet.

Dieses Projekt stellt eine Folgestudie eines bereits bewilligten Antrags dar. Bei Erreichen der Studienziele kann eine mögliche Folgestudie zur Substanztestung durchgeführt werden. Somit wird durch dieses Projekt die Entwicklung dieser potenziellen zukünftigen Therapiemöglichkeit der Charcot-Marie-Tooth Erkrankung Typ 1A gefördert, damit sie in Zukunft bei Patienten mit dieser unheilbaren Erkrankung eingesetzt werden kann.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden insgesamt 32 hemizygot CMT-Ratten beider Geschlechter und 32 nicht-transgenen Geschwistertiere beider Geschlechter ab einem Alter von ca. 4 Wochen beantragt.

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

Vermeidung: Um neue Medikamente gegen die Charcot-Marie-Tooth Erkrankung Typ 1A zu testen, ist es erforderlich auf Tiermodelle zurück zu greifen. Ersatzmethoden, wie z.B.

Zellkulturen können zwar Ansätze liefern, für weitere Schritte müssen jedoch Tiermodelle zum Einsatz kommen, um möglichst vergleichbare Resultate zum Menschen zu erzielen. Durch eine parallele Durchführung von Tierversuchen neben klinischen Studien, kann die Sicherheit für die Patienten erhöht werden und die Probandenzahlen und Belastungen der Betroffenen verringert werden.

**Verminderung:** In dieser Studie sollen pro Gruppe 16 Tiere verwendet werden. Diese Gruppengröße ist notwendig, um eine ausreichende interne Validierung der klinischen Endpunkte zu ermöglichen. Dabei wurden bereits Ersatztiere mit einberechnet. Die angegebene Gruppengröße von 16 Tieren pro Gruppe stellt somit eine Maximalgröße dar.

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

**Gesundheitszustand:** Generell gilt, dass zur Durchführung des Tierversuchs nur Tiere verwendet werden, deren Gesundheitszustand einwandfrei ist.

Alle Tiere stehen unter ständiger Kontrolle. Erkrankte oder verletzte Tiere werden in einem Patientenblatt vermerkt. Abhängig vom Schweregrad der Symptome entscheidet der Tierarzt über die weitere Behandlung oder Euthanasie der Tiere.

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

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

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

Die vorgesehenen Untersuchungen dienen der translationalen angewandten Forschung zur Vorbeugung und Behandlung von Krankheiten und deren Folgen bei Menschen und Tieren und sind gemäß § 3 Abs. 1 Z. 4 dem Schweregrad "schwer" zuzuordnen. Es werden neue Therapiemöglichkeiten für die Behandlung von ischämischer Wunden untersucht.

2. Art und Anzahl der Tiere

Die zu untersuchenden Tiere sind 739 Sprague Dawley Ratten im Zeitraum von 5 Jahren.

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

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

Eine rückblickende Bewertung wird gemäß § 30 Abs. 1 Z 3 TVG 2012 nach Projektabschluss erfolgen.

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

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

Sekundäre Stoffwechselprodukte von zahlreichen Gattungen der Fusarium Schimmelpilze, sogenannte Fusarium Mykotoxine, werden seit acht Jahrzehnten intensiv untersucht. Die Gründe für das enorme Interesse sind einerseits die toxische Wirkung von Mykotoxinen bei Menschen und Tieren und andererseits deren weltweites Auftreten im Getreide und Tierfutter. Besonders für Schweine- und Geflügelproduzenten sind die negativen Effekte von Mykotoxinen relevant.

Zearalenon (ZEN) ist eines der bedeutendsten Mykotoxine, welches in Asien in bis zu 60 % und weltweit in bis zu 36 % des Futters und Mischfutters auftritt. Das Schwein ist die sensitivste Spezies für ZEN, welches aufgrund seiner östrogenen Wirkung sowohl Reproduktions- als auch Fertilitätsstörungen verursachen kann. Da bei präpubertierenden Jungsauen (Geburt bis Alter von 150 Tagen) noch kein völlig entwickeltes reproduktives endokrines System vorhanden ist, sind diese besonders sensitiv gegenüber den östrogenen Effekten von ZEN. Außerdem kann ZEN zu Unfruchtbarkeit führen, da die normale Ovarienfunktion, die Follikelentwicklung und die Uterusfunktion beeinflusst und gestört werden.

Da ZEN hitzestabil ist und während des Futterherstellungs- oder Bearbeitungsprozesses nicht eliminiert werden kann, ist es notwendig, die Wirkungsweise von ZEN im Tier zu blockieren, um somit deren Belastung zu reduzieren. Dabei stellt die biologische Entgiftung in Form von Enzymen eine vielversprechende Option dar.

Ziel der Studie ist es, die Wirksamkeit des Enzyms bei geringer Dosierung und ebenso geringer, biologisch komplex zugänglicher Substratkonzentration zu untersuchen. Die Wirksamkeit der Enzymvariante soll mittels Analyse der Metabolite in Kot, Urin und Blut sowie die Unbedenklichkeit für den menschlichen Verzehr in Gewebeproben nachgewiesen werden.

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

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

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

48 ÖHYB Absatzferkel (gemischtgeschlechtlich)

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

Vermeidung: Die Beantwortung der Fragestellung in diesem Projekt ist nur am intakten Organismus möglich, da sowohl Blut-, Kot-, Gewebe- und Darminhaltsproben analysiert werden sollen, um die Metaboliten bzw. eine Unbedenklichkeit für den menschlichen Verzehr nachzuweisen. Es kann daher nicht auf eine in vitro, Ersatz- bzw. Ergänzungsstudie ausgewichen werden.

Verminderung: Es wird die geringstmögliche Anzahl an Tieren (16 Absetzferkel pro Gruppe) verwendet, um ein aussagekräftiges und statistisch auswertbares Ergebnis zu erhalten.

Verfeinerung: Um eine genaue Sammlung und Trennung der Kot- und Urinmenge zu gewährleisten werden die Tiere während der Versuchsdauer (Tag 0-20) zu zweit in Stoffwechselkäfigen (insgesamt 24 Stück) gehalten. Das Sammeln von Kot und Urin stellt einen nichtinvasiven Eingriff dar. Die Tiere können sich in den Stoffwechselkäfigen frei bewegen (2,25 m<sup>2</sup> pro Käfig), haben freien Zugang zu Wasser und werden 2-mal täglich (morgens und abends) mit Futter versorgt. An drei definierten Zeitpunkten (Tag 7, 13 und 19/20) werden zusätzlich tierindividuelle Blutproben gesammelt. Am Ende des Versuchs (Tag 19 und 20) werden die Tiere für die Probennahmen schmerzlos euthanasiert.

Als Enrichment wird den Tieren „Ferkelspielzeug“ angeboten. Während des Projektes werden Stress und Schmerzen der Ferkel so gering wie möglich gehalten. Die Tiere werden zweimal täglich von geschulten Personen sorgfältig betreut. Sollten die Tiere Anzeichen von Schmerzen zeigen oder in irgendeiner Weise beeinträchtigt sein, werden sie vom Versuch ausgeschlossen und tierärztlich betreut.

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

1. Angaben über Projektziele, einschließlich Schaden und Nutzen

Die Wolman-Krankheit, auch Wolman-Syndrom oder Morbus Wolman genannt, ist eine lysosomale Speicherkrankheit. Ein Defekt im Enzym lysosomale saure Lipase (LAL) führt bei den betroffenen Patienten zu einer Anreicherung von Cholesterinestern und Triglyzeriden und zum Tod innerhalb des ersten Lebensjahres. Bei der milder verlaufenden, ebenfalls äußerst seltenen, Cholesterinester Speicherkrankheit (CESD) ist noch eine Restaktivität des Enzyms LAL vorhanden. Da durch den Funktionsverlust der LAL keine Lipide aus dem Lysosom in das Zytoplasma gelangen können, ist der Regelkreis für die Regulation der intrazellulären Cholesterin-Konzentration unterbrochen. Die Symptome sind bereits in den ersten Lebenstagen vorhanden (gastrointestinale Beschwerden, geblähter Leib, Anämie, Hepatosplenomegalie). Es gibt derzeit keine spezifische Therapie für die Wolman-Krankheit. Die Behandlung erfolgt symptomatisch, beispielsweise durch die Gabe von Inhibitoren der Cholesterin- oder der Apolipoprotein-B-Synthese. Verschiedene Forschungsansätze haben in den letzten Jahren zur Entwicklung von Enzym-Ersatz-Therapien geführt, die allerdings so kostspielig sind, dass sie in vielen Ländern nicht verabreicht werden (z.B. UK). Matrix Metalloproteinase 12 (MMP12) ist ein von Makrophagen sekretiertes extrazelluläres Matrixprotein, welches speziell in LAL-D Patienten als pro-inflammatorischer Faktor charakterisiert wurde. Erhöhte MMP12 Konzentrationen wurden darüber hinaus auch in Patienten mit Herz-Kreislauferkrankungen gefunden. In diesem Projekt untersuchen wir die Hypothese, dass ein Fehlen von MMP12 zu verringerter Atherosklerose und kardiometabolischen Erkrankungen sowie zur Verbesserung von LAL Defizienz führt. Da die Aussagen von Zellkulturexperimenten begrenzt sind und nicht im Zusammenhang mit der Funktion von MMP12 im ganzen Organismus stehen bzw. die in vivo Situation darstellen, sind genetische Mausmodelle von entscheidender Bedeutung in der Aufklärung von Krankheiten und möglicher Therapieansätze.

zu erwartender Nutzen: die Mechanismen des Fehlens einer Lipase deutlich besser zu verstehen, was die Grundlage für Therapieansätze zur Verbesserung von metabolischen Erkrankungen sein könnte.

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

2. Art und Anzahl der Tiere

544 Mäuse

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

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

Verminderung: Bei der Erstellung des Versuchsplanes wurde darauf geachtet, dass die Versuche mit der geringstmöglichen Belastung und kleinstmöglichen Anzahl an Versuchstieren durchgeführt werden. Außerdem wird großer Wert daraufgelegt, die Projektversuche nur mit jener minimalen Anzahl an Mäusen durchzuführen, die statistisch notwendig ist, um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten. Neben Blut werden sämtliche Gewebe in standardisierter Weise entnommen und nach Vorkühlung in Methylbutan in flüssigem Stickstoff und nach Formalinfixierung in Paraffin bzw. bei - 80°C gelagert, um eventuell nötige Nachbestimmungen unter Minimierung des Tierbedarfs durchführen zu können. Neben der Isolierung von Peritonealmakrophagen werden wir Makrophagen aus dem Knochenmark (BMDM) isolieren. Für die Isolierung von BMDM ist keine Thioglykolatinjektion notwendig. Wir werden in Zukunft vermehrt BMDM isolieren bzw wann immer möglich (abhängig von der Fragestellung und den Anforderungen der Gutachter) nur BMDM für einzelne Experimente verwenden.

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

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. Jänner 2026 vorgesehen.

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

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

Ziel dieser Studie ist es in einem ersten Schritt ein induzierbares Mausmodell des Cryopyrin-assoziierten periodischen Syndroms (CAPS) intern zu etablieren, um es dann im zweiten Schritt zur Austestung einer neuen Testsubstanz in 3 unterschiedlichen Konzentrationen zu verwenden. Dafür werden die Tiere im 1. Projektteil zur Simulierung eines akuten CAPS Schubs für 3 Tage mit Tamoxifen oder Vehikel und anschließend mit LPS behandelt. Im Laufe des Projekts wird den Tieren des Weiteren zu unterschiedlichen Zeitpunkten in vivo Blut abgenommen. Im Anschluss werden die Tiere zur Gewebeentnahme euthanasiert und alle Gewebe auf die Ausprägung krankheitstypischer Veränderungen untersucht. Bei erfolgreicher Etablierung wird im 2. Projektteil der konzentrationsabhängige Effekt der Testsubstanz auf die pathologischen Veränderungen des akuten Krankheitsverlaufs im CAPS Mausmodell untersucht, indem die Tiere zusätzlich mit den unterschiedlichen Konzentrationen der Substanz behandelt werden. Es wird erwartet, dass dieses akute CAPS Mausmodells erfolgreich etabliert werden kann und die Testsubstanz einen positiven Effekt auf die pathologischen Veränderungen zeigt.

Schaden und Nutzenabklärung: Die Lieferung der Zuchttiere kann geringen Stress, aber weder Schmerz noch Leid auslösen. Bei den im Haus gezüchteten Studentieren entfällt diese Belastung. CAPS Mäuse entwickeln nach der Induktion einen inflammatorischen Phänotyp, der die Tiere voraussichtlich mittelgradig bis schwer belastet. Die wiederholte per orale Behandlung mittels Schlundsonde führt kurzzeitig zu geringem Stress, aber zu keinem Schmerz oder Leid. Die in vivo Blutentnahme über die V. facialis erzeugt bei den Tieren geringen Stress und Schmerz, aber kein Leid. Die wiederholte intraperitoneale Injektion löst geringen Stress und Schmerz aus, aber kein Leid. Die Verabreichung von LPS kann geringen bis mittelgradigen Stress und Schmerz auslösen, aber kein Leid. Da die Tiere bereits 3 Stunden nach der Applikation zur Gewebeentnahme euthanasiert werden, ist die Zeitspanne nach der LPS Injektion nur kurz und die Belastung kann zusätzlich zeitlich begrenzt werden. Es werden keine Nebenwirkungen durch die Testsubstanz, Positivsubstanz und Tamoxifen erwartet. Negative Effekte können allerdings nie mit absoluter Sicherheit ausgeschlossen werden.

Das vorliegende Projekt ist ein wichtiger Schritt in der Entwicklung dieser potenziellen zukünftigen Behandlungsmöglichkeit dieses autoinflammatorischen Krankheitskomplexes.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden insgesamt 20 homozygote  $Nlrp3^{ki/ki}$  Mäuse und 20 homozygote  $R26-CreERT2^{Tg/Tg}$  Mäuse beiden Geschlechts für die Zucht der Studentiere beantragt.

Für die Durchführung der Studie selbst werden insgesamt 112 Nlrp3<sup>ki/+</sup>::R26-CreERT2<sup>Tg/+</sup> Mäuse beiden Geschlechts im Alter von 5-6 Wochen beantragt.

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

**Vermeidung:** Um das Cryopyrin-assoziierten periodischen Syndrom erfolgreich zu behandeln, ist es erforderlich auf Tiermodelle zurück zu greifen. Ersatzmethoden, wie z.B. Zellkulturen können zwar Ansätze liefern, für weitere Schritte müssen jedoch Tiermodelle zum Einsatz kommen um möglichst vergleichbare Resultate zum Menschen zu erzielen. Vor der Verwendung eines Tiermodells zur Substanztestung muss dieses intern etabliert werden. Nur so können qualitativ hochwertige Forschung garantiert und vermeidbares Tierleid verhindert werden.

**Verminderung:** Im Etablierungsteil dieser Studie sollen 8 Tiere pro Gruppe verwendet werden. Diese Gruppengröße beinhaltet bereits Ersatztiere und ist daher als Maximalwert zu verstehen. Beim 2. Projektteil wurde die Gruppengröße mit 16 Tieren höher gewählt, da eine Erhöhung der Variabilität durch die Substanzbehandlung erwartet wird. Auch diese Anzahl beinhaltet Ersatztiere und ist somit ein absoluter Maximalwert.

**Verfeinerung: Stressminimierung:** An dieser Stelle soll ausdrücklich festgehalten werden, dass der Tierversuch unter Vermeidung aller mit dem Versuchszweck nicht notwendig verbundenen Belastungen durchgeführt wird. Die Tiere werden bereits vor Beginn der Studie durch so genanntes „Handling“ mit den involvierten Personen vertraut gemacht, um unerwünschte, stressbedingte, falschpositive bzw. falschnegative Ergebnisse zu vermeiden.

Gleichgeschlechtliche Tiere werden zusammen im Käfig gehalten, soweit es die Tierzahl erlaubt. Dadurch verbleiben die Tiere in ihrem Familienverband und zusätzlicher psychischer Stress, z.B. von neuerlichen Revierkämpfen oder der Vereinzelung, wird vermieden.

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

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

Eine rückblickende Bewertung des Projekts wird bis längstens 31.05.2025 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

Wie in § 19 Abs. 2 Tierversuchsgesetz 2012 festgehalten müssen Personen, die Tierversuche durchführen, entsprechend ausgebildet und geschult sein. Zum Erlernen und Üben des Umgangs mit Versuchstieren und von grundlegenden Methoden an Versuchstieren werden daher Aus- und Weiterbildungskurse durchgeführt, in deren Verlauf den TeilnehmerInnen neben theoretischen Kenntnissen auch die wichtigsten praktischen Fertigkeiten vermittelt werden.

Im Rahmen der praktischen Schulung erlernen die TeilnehmerInnen unter fachlicher Aufsicht und Überwachung in Kleingruppen den schonenden und verantwortungsvollen Umgang mit den Versuchstieren (Mäusen) und die praktische Anwendung grundlegender Methoden und Techniken.

Ziel des Projekts ist es, eine möglichst hohe und einheitliche Qualifikation der an den Tierversuchen im Rahmen von Projekten beteiligten Personen sicherzustellen. Der Versuch ist dem Schweregrad "gering" zuzuordnen.

Zu erwartender Nutzen: Als Nutzen ist das Erlernen bzw. die Verbesserung der Sachkunde und Kompetenz der Personen, die Tierversuche durchführen, anzuführen. Daraus resultieren ein schonender und verantwortungsvoller Umgang mit Versuchstieren im Rahmen von Projekten als wichtiger Beitrag zu den 3Rs und zum praktizierten Tierschutz.

Zu erwartender Schaden: Der Schaden für die Tiere in den Aus- und Weiterbildungskursen sind geringe Schmerzen durch subkutane, intraperitoneale und intravenöse Injektionen (isotone NaCl-Lösung oder Anästhetika) und orale Applikationen und durch Blutabnahmen. Die Tötung der Tiere erfolgt ausschließlich durch genehmigte Tötungsmethoden gemäß § 7 Tierversuchsgesetz 2012.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

Für einen Zeitraum von 5 Jahren werden maximal 1260 Mäuse beantragt (252/Jahr).

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

Vermeidung: Es werden die grundlegenden Maßnahmen und Methoden geschult und geübt, an den Tieren werden keine aufwändigen und schwer belastenden Eingriffe durchgeführt.

Verminderung: Es wird darauf geachtet, dass die geringstmögliche Anzahl an Tieren zum Einsatz kommt, die dennoch eine qualitativ hochwertige Ausbildung gewährleistet. Das Ausmaß der Belastung wird so gering wie möglich gehalten.

Verbesserung: Durch entsprechende Anleitung und unter Aufsicht von erfahrenen Personen wird die Lernkurve stetig verbessert und führt schließlich zum Lernziel, nämlich der sicheren Beherrschung der geübten Maßnahmen und Methoden.

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 dieser Effizienzstudie soll ein transgenes Mausmodell der Alzheimerkrankheit mit einer von 4 Substanzen behandelt werden. Während der Behandlungszeit soll den Tieren wiederholt Blut entnommen werden. Am Ende der Behandlungsdauer werden die Tiere zur Gewebeentnahme euthanasiert und auf die Ausprägung der krankheitsspezifischen Pathologien untersucht. Es wird erwartet, dass die Testsubstanzen zu einer Verbesserung der Pathologie führen und zusätzlich eine bessere Blut-Hirn-Schranken Permeabilität aufweisen.

Schaden und Nutzenabklärung: Das transgene Alzheimermodell entwickelt ab einem Alter von ca. 8 Monaten kognitive Defizite, die nur mit spezifischen Tests erkennbar sind. Motorische Defizite sind in dieser Linie nicht bekannt, jedoch entwickeln die Tiere ab einem Alter von ca. 7 Monaten Krampfanfälle, die durch den Wechsel des Käfig- und Nestmaterials begünstigt werden. Da die Tiere im vorliegenden Projekt bereits im Alter von 7,5 Monaten euthanasiert werden, und Maßnahmen getroffen werden, um die Anzahl an Krampfanfällen möglichst gering zu halten, wird davon ausgegangen, dass nur wenige Tiere durch Krampfanfälle versterben werden. Die Lieferung der Tiere kann geringen Stress, aber weder Schmerz noch Leid auslösen. Es wird nicht davon ausgegangen, dass die Testsubstanzen zu Nebenwirkungen führen. Solche können allerdings nie mit absoluter Sicherheit ausgeschlossen werden. Bei den Baseline Tieren entfällt diese Belastung. Die wiederholte Blutentnahme über die V. facialis bedeutet für die Tiere jeweils kurzzeitig geringen Stress und Schmerz, jedoch kein Leid. Durch die intravenöse Injektion der Testsubstanzen und der intraperitonealen Injektion der finalen Narkose können kurzzeitig geringer Stress und Schmerz ausgelöst werden, aber kein Leid.

Durch dieses Projekt wird die Weiterentwicklung dieser potenziellen zukünftigen Behandlungsmöglichkeit der Alzheimer Erkrankung gefördert.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie werden insgesamt 72 männliche transgene PS2APP Mäuse ab einem Alter von 4,5 Monaten beantragt.

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

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

**Verminderung:** In dieser Studie sollen pro Gruppe 12 Tiere verwendet werden. Diese Gruppengröße ist notwendig um ausreichend Gewebe für die histologischen und biochemischen Analysen zur Verfügung zu haben. Nur so können wissenschaftlich signifikante Ergebnisse erzielt werden. Ersatztiere sind bereits mit einberechnet.

**Verbesserung: Stressminimierung:** An dieser Stelle soll ausdrücklich festgehalten werden, dass der Tierversuch unter Vermeidung aller mit dem Versuchszweck nicht notwendig verbundenen Belastungen durchgeführt wird. Die Tiere werden bereits vor Beginn der Studie durch so genanntes „Handling“ mit den involvierten Personen vertraut gemacht, um unerwünschte, stressbedingte, falschpositive bzw. falschnegative Ergebnisse zu vermeiden. Da bei dieser Linie vermehrt aggressives Verhalten der männlichen Tiere beschrieben ist, werden die Studientiere einzeln gehalten. Dadurch können zusätzlicher psychischer Stress durch aggressive Auseinandersetzungen und Verletzungen vermieden werden.

**Gesundheitszustand:** Generell gilt, dass zur Durchführung des Tierversuchs nur Tiere verwendet werden, deren Gesundheitszustand einwandfrei ist.

Alle Tiere stehen unter ständiger Kontrolle. Erkrankte oder verletzte Tiere werden in einem Patientenblatt vermerkt. Abhängig vom Schweregrad der Symptome entscheidet der Tierarzt über die weitere Behandlung oder Euthanasie der Tiere.

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

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

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

Im letzten Jahrzehnt hat sich Dysbiose (ein gestörtes Gleichgewicht zwischen den Bakterienarten im Darm) bei Nutztieren als ein Hauptproblem bei der intensiven Tierproduktion erwiesen. Dysbiose kann die Darmentwicklung und die Nährstoffaufnahme verringern, das Auftreten von Entzündungen erhöhen, sich negativ auf das Immunsystem auswirken und somit die Leistung, die Gesundheit und das Wohlbefinden der Tiere verringern.

Eine Strategie um die Darmgesundheit bei Nutztieren zu fördern, ist der Einsatz von lebenden Bakterien, die widerstandsfähig genug sind, um den Verdauungsprozess im Magen und Dünndarm lebend zu überstehen und in ausreichender Menge den Dickdarm zu erreichen, sogenannten Probiotika.

Ziel dieses Projektes ist es, die Wirksamkeit der Applikation eines neu entwickelten Mehrstamm-Probiotikums über das Trinkwasser für den Einsatz in der Geflügelproduktion zu testen und Erkenntnisse über die genauen Wirkungsmechanismen zu gewinnen. Neben der Analyse von Leistungsparametern von Broilern, werden daher Gesundheitsparameter in Blut-, Gewebe-, Darminhalts- und Kotproben untersucht.

zu erwartender Nutzen: Das Mehrstamm-Probiotikum soll zu einer Verbesserung des mikrobiellen Darmgleichgewichts und der Darmgesundheit führen. Dadurch soll der Schutz vor Infektionen mit pathogenen Keimen erhöht werden, welches zu einer Verbesserung der Gesundheit und der Leistung führt. Der Einsatz von Antibiotika in der Geflügelproduktion kann dadurch verringert und das Tierwohl verbessert werden. Die Studie zielt darauf ab, effiziente Lösungen zu entwickeln, um Dysbiose sowie den Einsatz von Antibiotika weiter zu reduzieren und gleichzeitig die Leistung bei Nutztieren zu steigern. Die gewonnenen Resultate liefern wertvolles Wissen für die Mastgeflügel-Produktion und leisten einen Beitrag zur Verbesserung des Gesundheitsstatus beim Broiler.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Basierend auf Literaturdaten sind keine klinischen Symptome bei diesem Tierversuch zu erwarten. Das wiederholte Fangen zur Wiegung der Tiere kann eine geringe Belastung der Tiere darstellen. Zur Messung der Gesundheitsparameter im Blut, Gewebe, Darminhalt und Kot werden insgesamt 26.7 % der Tiere (96 der 360 Tiere) an zwei Zeitpunkten des Tierversuchs (Tage 14 und 35) stress- und schmerzfrei euthanasiert.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

360 Küken

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

**Vermeidung:** Die Beantwortung der Fragestellung in diesem Projekt ist nur am intakten Organismus möglich, da neben Leistungsparametern auch Blut-, Gewebe-, Darminhalts-, und Kotproben analysiert werden sollen, um die Effekte der Testsubstanz im intakten Organismus zu untersuchen. Es kann daher nicht auf eine in vitro Studie oder auf eine Ersatz- bzw. Ergänzungsstudie ausgewichen werden.

**Verminderung:** In diesem Versuch wird die geringstmögliche Anzahl an Tieren (n = 180 Küken pro Gruppe für die Untersuchung der Performance, und je n = 24 Broiler pro Gruppe und Zeitpunkt der Probennahmen an den Tagen 14 und 35) verwendet, um ein aussagekräftiges und statistisch auswertbares Ergebnis zu erhalten.

**Verfeinerung:** Tiere werden während der Versuchsdauer (Tag 0 bis Tag 35) in Buchten zu je 15 Tieren gehalten und an den Tagen 0, 14 und 35 gewogen. An den Tagen 14 und 35 werden insgesamt je 48 Tiere (24 Tiere pro Gruppe) schmerz- und stressfrei euthanasiert, um Blut-, Gewebe-, Darminhalts- und Kotproben zu entnehmen.

Die Tiere können sich in den Buchten frei bewegen, haben freien Zugang zu Wasser und werden 2-mal täglich (morgens und abends) mit frischem Futter versorgt (Futter ständig verfügbar). Während des Projektes werden weder stress- noch schmerzhaft Eingriffe durchgeführt. Die Tiere werden zweimal täglich von geschulten Personen sorgfältig betreut und tierärztlich überwacht. Sollten die Tiere Anzeichen von Schmerzen zeigen oder in irgendeiner Weise beeinträchtigt sein, werden sie vom Versuch ausgeschlossen und tierärztlich betreut.

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

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

Die Ziele des vorliegenden Projekts sind einerseits die Erhaltung der genetisch veränderten Mausstämmen und andererseits die nicht-invasive Erfassung, Dokumentation und Bewertung möglicher Beeinträchtigungen. Da auch ohne experimentelle Manipulation das Wohlbefinden von genetisch veränderten Versuchstieren beeinträchtigt sein kann, wird im hier vorliegenden Antrag die Genehmigung zur Zucht und Haltung von 2 genetisch veränderten Mauslinien beantragt. Diese Mauslinien sollen in Folge in Projekten zur tumor-immunologischen Forschung verwendet werden.

zu erwartender Nutzen: Der erwartete Nutzen dieses Projekts ist die Erhaltung der beantragten Mauslinien und deren Bereitstellung für folgende tumorimmunologische Forschungsprojekte.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die beantragten Mauslinien tragen genetische Veränderungen, welche hauptsächlich Defekte im Immunsystem verursachen. Diese genetischen Veränderungen bewirken bei einem Teil der beantragten Tiere Hautentzündungen einhergehend mit einer erhöhten Infektionsanfälligkeit und mit einer potenziell erhöhten Mortalität, sowie die Möglichkeit spontaner Ausbildung von Tumoren. Die getätigten Manipulationen für die Zucht und Haltung sind nicht-invasiv und stellen keine zusätzliche Belastung dar. Durch entsprechende Haltungsbedingungen und einer umfassenden Betreuung der Tiere soll das Leid der Tiere minimiert werden.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Maus, 540 Tiere für eine Projektdauer von 3 Jahren.

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

Vermeidung: Der hier vorliegende Antrag dient der Erhaltung von Mausstämmen bzw. -linien für Projekte und zur Evaluierung der Belastungen der Tiere und kann folglich nicht durch eine Ersatzmethode ersetzt werden. Linien, welche nicht zeitnah für ein experimentelles Projekt vorgesehen sind, werden aufgelassen, kryokonserviert oder neu importiert.

Verminderung: Wir versuchen die Anzahl der Mäuse durch folgendes Vorgehen so weit wie möglich zu reduzieren: 1) die zur Erfassung der Beeinträchtigungen geforderte Anzahl an beobachteten Tieren kann durch eine minimale Erhaltungszucht erfüllt werden; es werden somit keine zusätzlichen Tiere gezüchtet. 2) die möglichst genaue Planung von zukünftigen Projekten soll dahin führen nur wirklich benötigte Mausstämmen zu züchten und zu erhalten; nicht benötigte Stämme können entsprechend kryokonserviert werden.

Verfeinerung: In den geplanten Beobachtungen soll durch verstärkte Versorgung und Kontrolle der Tiere ein bestmögliches Wohlergehen gewährleistet werden. Für die Erhebung der, durch

die genetischen Veränderungen verursachen, Belastungen müssen keine zusätzlichen Tiere gezüchtet und gehalten werden.

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

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

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

Die Behandlung komplizierter Knochenbrüche mit Defekten, oder ein Nichtheilen nach Knochenbrüchen (=Pseudarthrose), ist eine große Herausforderung der heutigen Medizin und führt noch immer, in schweren Fällen, zur Amputation. Sogenannte gefäßgestielte Periostlappenplastiken sind an einigen spezialisierten Zentren zur Lösung dieses Problems bereits in Anwendung. Dennoch kommt es immer wieder zu Komplikationen oder einem Versagen der Therapie. Außerdem gibt es bisher nur klinische Anwenderberichte und Fallpräsentationen, der genaue Wirkmechanismus ist unklar. Daher ist es dringend notwendig, die Funktionsweise dieser Methode auch in einer systematischen Untersuchung zu beweisen, um die Erkenntnisse an betroffenen Patienten mit diesem Krankheitsbild umzusetzen. Ziel der beantragten Studie ist es somit, die Wirkung von Periostlappen auf normale Knochenheilung und Pseudarthrosen im Rattenmodell zu evaluieren.

zu erwartender Nutzen: Durch den Einsatz von Periostlappen kann möglicherweise die Durchbauung kritischer, segmentaler Knochendefekte beschleunigt bzw. ermöglicht werden. Die Motivation zur Untersuchung der Effektivität der Periostlappenplastik ist, neue chirurgische Ansatzpunkte in der Behandlung von Frakturen und Pseudarthrosen zu gewinnen. Das durch dieses Projekt gewonnene Wissen könnte die Wirkung der Periostlappenplastik für eine beschleunigte Frakturheilung und Pseudarthrosentherapie beweisen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere sind erfahrungsgemäß in Ihrer Bewegungsfreiheit nicht eingeschränkt und in der Lage das operierte Bein sofort voll zu belasten. Der operative Eingriff führt zu einer Schwellung des umgebenden Gewebes. Dies kann in einzelnen Fällen vorübergehend zu einer Schonhaltung bzw. einem veränderten Gangbild führen. Allerdings kann auch dieser Zustand als gering- bis mittel-belastend betrachtet werden und sollte sich erfahrungsgemäß innerhalb weniger Tage normalisieren. Die Versuchsdauer beträgt maximal 12 Wochen und die Tiere werden anschließend schmerzlos euthanasiert.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden 83 adulte, 3 Monate alte, männliche Wistar oder Sprague Dawley Ratten (*R. norvegicus*), bezogen und für diesen Versuch verwendet.

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

Vermeidung: Die Knochenheilung ist ein komplexer Prozess mit differenziertem Zusammenspiel multipler biologischer und biomechanischer Faktoren. Die multifaktoriellen Prozesse der Knochenheilung können jedoch nicht im theoretischen Modell oder in vitro in Ihrer Gesamtheit simuliert werden und können letztendlich nur im Tierversuch studiert werden. Im hier

beantragten Versuch haben die Durchblutung, das Immunsystem und das Einwandern von Stammzellen aus der Defektumgebung, sowie biomechanische Einwirkungen großen Einfluss auf den Heilungserfolg. Zudem wurde anhand von intensiven Literaturrecherchen sichergestellt, dass der beantragte Versuch in dieser Form noch nicht durchgeführt bzw. veröffentlicht wurde.

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

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

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 15. Jänner 2026 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

In dieser Studie soll der Effekt eines Small Molecules gegen ABL1 auf seine neuroprotektive Wirkung im MPTP Mausmodell untersucht werden. Dafür wird zuerst der zeitliche Verlauf der Pathologie in einem Pilotprojekt analysiert. In der anschließenden Hauptstudie werden MPTP-läsionierte Mäuse mit dem ABL1 Inhibitor behandelt. Zu definierten Zeitpunkten nach der Testsubstanzbehandlung wird den Tieren in vivo Blut abgenommen. Anschließend werden sie zu unterschiedlichen Zeitpunkten zur Gewebeentnahme euthanasiert und die Gewebe auf Parkinson Pathologien untersucht. Das Ziel dieser Studie ist es die pharmakokinetischen Eigenschaften und die neuroprotektive Wirkung einer neuen Testsubstanz im MPTP Mausmodell zu testen. Es wird erwartet, dass eine gleichmäßig verteilte Konzentration der Substanz im Gehirn erreicht werden kann und die pathologischen Veränderungen verringert werden.

Schaden und Nutzenabklärung: Die Lieferung kann bei den Tieren geringen Stress, aber keine Schmerzen oder Leid auslösen. Die Behandlung mit MPTP wird bei den Tieren mittelgradigen Stress und evtl. auch Schmerz, aber kein Leid auslösen. Durch die zusätzliche Gabe von P. zur Verstärkung der Wirkung der MPTP Läsion muss davon ausgegangen werden, dass die Tiere verstärkten Stress und evtl. auch Schmerz, aber kein Leid erfahren. Die wiederholte intraperitoneale Behandlung innerhalb eines Tages stellt für die Tiere jeweils kurzzeitig geringen Stress und Schmerz dar, aber kein Leid. Die einmalige per orale Behandlung erzeugt bei den Tieren kurzzeitig geringen Stress, aber weder Schmerz noch Leid. Die einmalige Blutentnahme bei einem Teil der Versuchstiere kann in diesen geringen Stress und Schmerz aber kein Leid auslösen. Die intraperitoneale Injektion der finalen Narkose löst bei den Tieren kurzzeitig geringen Stress und Schmerz, aber kein Leid aus. Durch die Testsubstanz werden keine Nebenwirkungen erwartet. Solche können allerdings nie mit absoluter Sicherheit ausgeschlossen werden.

Hier wird ein ABL1 Inhibitor auf seine neuroprotektive Wirksamkeit im MPTP Mausmodell der Parkinsonkrankheit untersucht werden, so dass dieser nach weiteren Untersuchungen Parkinsonpatienten zugutekommen kann.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie werden insgesamt 128 männliche C57BL/6J Mäuse im Alter von ca. 8 Wochen beantragt.

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

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

**Verminderung:** In dieser Studie sollen pro Gruppe 8 bzw. 10 Tiere verwendet werden. Diese Gruppengrößen sind für diese Studie erforderlich, da die Tiere nicht nur läsioniert, sondern auch behandelt werden, wodurch sich die Variabilität der Daten erhöht.

**Verfeinerung: Stressminimierung:** An dieser Stelle soll ausdrücklich festgehalten werden, dass der Tierversuch unter Vermeidung aller mit dem Versuchszweck nicht notwendig verbundenen Belastungen durchgeführt wird. Die Tiere werden bereits vor Beginn der Studie durch so genanntes „Handling“ mit den involvierten Personen vertraut gemacht, um unerwünschte, stressbedingte, falschpositive bzw. falschnegative Ergebnisse zu vermeiden.

Gleichgeschlechtliche Tiere werden zusammen im Käfig gehalten, soweit es die Tierzahl erlaubt. Dadurch verbleiben die Tiere in ihrem Familienverband und zusätzlicher psychischer Stress, z.B. von neuerlichen Revierkämpfen oder der Vereinzelung, wird vermieden.

**Gesundheitszustand:** Generell gilt, dass zur Durchführung des Tierversuchs nur Tiere verwendet werden, deren Gesundheitszustand einwandfrei ist.

Alle Tiere stehen unter ständiger Kontrolle. Erkrankte oder verletzte Tiere werden in einem Patientenblatt vermerkt. Abhängig vom Schweregrad der Symptome entscheidet der Tierarzt über die weitere Behandlung oder Euthanasie der Tiere.

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

Das Projekt wird bis längstens 30.06.2024 einer rückblickenden Bewertung unterzogen.

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 Parvovirus B19 gehört zur Familie der Parvoviridae, in der es den einzigen humanpathogenen Erreger darstellt. Bei Kindern verlaufen Infektionen im Allgemeinen problemlos und mild, und führen zu einer lebenslangen Immunität. In den letzten Jahren fand man heraus, dass Parvovirus B19-Infektionen jedoch auch mit schweren Erkrankungen wie Arthritiden und Arthralgien, Anämien, Thrombo- und Granulozytopenien, Hepatitiden und Myokarditiden einhergehen können und in jüngster Zeit häufen sich die Befunde, die auch in Kindern das Auftreten von Gelenkentzündungen mit der B19-Infektion assoziieren. Die Infektion löst eine vorübergehende Anämie aus, die bei immungeschwächten oder bereits anämischen Patienten zu Komplikationen bis hin zum Tod führen kann. In immunsupprimierten Patienten, die unter einer chronischen Infektion leiden, ist die einzige effektive Behandlungsmöglichkeit, Immunglobuline intravenös zu verabreichen, oftmals mit limitierter Wirksamkeit. Des Weiteren können Infektionen bei schwangeren Frauen zu Spontanaborten, Totgeburten oder Hydrops fetalis führen. Da durchschnittlich die Hälfte der Frauen im gebärfähigen Alter keinen Immunschutz besitzt, stellen Parvovirus-B19-Infektionen eine häufige viruskorrelierte Komplikation während der Schwangerschaft dar. Bisher gibt es noch kein wirksames oder spezifisches Medikament zur Behandlung bei einer Erkrankung. Schutzimpfungen sind nicht verfügbar.

Der vorliegende Antrag soll zur Testung der Immunogenität von Impfstoffkandidaten zur Prävention einer Infektion mit Parvovirus B19 dienen. Im Detail soll dabei das Potential der Kandidaten zur Induktion der Bildung von Antigen-spezifischen Antikörpern gegen Parvovirus B19 im Tiermodell der Maus untersucht bzw. nachgewiesen werden.

Der zu erwartende Nutzen der geplanten Studien liegt weit über dem Schaden der Versuchstiere, da derzeit noch kein Impfstoff zur Vorbeugung von Infektionen mit Parvovirus B19 beim Menschen verfügbar ist.

Die geplanten Experimente zur Immunogenitätsprüfung der Impfstoffkandidaten sind mit einer mittleren Belastung der Versuchstiere verbunden.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

Für die geplanten Immunogenitätsstudien werden weibliche Wildtypmäuse benötigt, deren Alter bei Versuchsbeginn mindestens 7 Lebenswochen beträgt. Die Anzahl der benötigten Versuchstiere beträgt innerhalb von 2 Jahren maximal 1440 Mäuse.

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

Die optimale Haltung von Mäusen in den geplanten Versuchen wird durch die Verwendung von hochqualitativen, zertifizierten, tierschutzgerechten und hygienischen Materialien wie z.B. Käfigsysteme, Labortierfutter, Einstreu-, Nestbau- und Beschäftigungsmaterial sichergestellt. Regelmäßig wird neues Nestbau- und Beschäftigungsmaterial getestet, um das Wohlbefinden der Tiere in unserer Einrichtung zu verbessern. In den geplanten Studien werden in vitro Analysen zur Testung der Immunogenität bzw. Effektivität des Impfstoffkandidaten durchgeführt, um gezielt Experimente in den Tieren, wie Challenge- und Protektionsstudien, zu ersetzen und zu reduzieren. Unter Voraussetzung der Erhaltung einer statistischen Auswertbarkeit und Vergleichbarkeit zur Gewährleistung aussagekräftiger Resultate, ist die Versuchstierzahl basierend auf unserer langjährigen Erfahrung mit Mausmodellen, 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 dieser Studie ist die Austestung einer neuen Testsubstanz zur Behandlung der Amyotrophen Lateralsklerose. Dafür werden transgene B6.SOD1 Mäuse ab einem Alter von 8 Wochen über die Dauer von 12 Wochen mit der Testsubstanz behandelt. Während der Studie wird den Tieren zu mehreren Zeitpunkten Blut abgenommen. Im Verlauf des Projekts werden die Tiere des Weiteren in unterschiedlichen Verhaltenstests auf motorische und kognitive Defizite untersucht und am Ende zur Gewebeentnahme euthanasiert. Die Gewebe werden mittels histologischer und biochemischer Methoden auf krankheitstypische Veränderungen untersucht. Zusätzlich wird mit einem Teil der Tiere eine Survival Analyse durchgeführt. Es wird erwartet, dass durch die Substanzbehandlung eine Besserung der Beeinträchtigungen in den Verhaltenstest erreicht wird. Des Weiteren wird ein positiver Effekt auf die pathologischen Veränderungen der Gewebe erwartet und eine Verlängerung der Überlebensdauer.

Schaden und Nutzenabklärung: B6.SOD1 Mäuse zeigen einen progressiven Phänotyp, der sich als fortschreitende Paralyse der Hinterbeine äußert. Ab einem Alter von ca. 17 Wochen treten dabei erste motorische Einschränkungen auf. Die Tiere des Gewebearms werden im Alter von 20 Wochen euthanasiert und die restlichen Tiere für eine Survival Analyse verwendet. Daher wird erwartet, dass alle Tiere eine starke Ausprägung ihres motorischen Phänotyps aufweisen. Durch die Lieferung sind die Tiere geringem Stress, aber keinem Schmerz oder Leid ausgesetzt. Die wiederholte intraperitoneale Behandlung erzeugt bei den Tieren kurzzeitig geringen Stress und Schmerz, aber kein Leid. Durch die Wiederholung der Injektion kann der Stresspegel zusätzlich reduziert werden. Es werden keine Nebenwirkungen durch die Substanzen erwartet. Negative Effekte können allerdings nie mit absoluter Sicherheit ausgeschlossen werden. Die wiederholte in vivo Blutentnahme führt bei den Tieren jeweils kurzzeitig zu geringem Stress und Schmerz, aber zu keinem Leid. Die Untersuchung der Tiere mittels Vercelli Scoring System führt bei den Tieren zu geringem Stress, aber weder zu Schmerz noch zu Leid. Der Wire Suspension Test und Beam Walk Test lösen bei motorisch nicht-defizienten Tieren geringen Stress, aber weder Schmerz noch Leid aus. Bei motorisch defizienten Tieren kann der Stresslevel aufgrund ihrer Beeinträchtigung leicht ansteigen. Die intraperitoneale Injektion zur finalen Narkose erzeugt kurzzeitig geringen Stress und Schmerz, aber kein Leid. Diese Studie ist ein wichtiger Schritt in der Entwicklung dieser potenziellen zukünftigen Behandlungsmöglichkeit, damit sie in Zukunft Patienten mit Amyotropher Lateralsklerose zugutekommen kann.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie werden insgesamt 68 weibliche hemizygot transgene B6.SOD1-G93A Mäuse ab einem Alter von 8 Wochen beantragt.

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

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

**Verminderung:** In dieser Studie sollen 34 Tiere pro Gruppe verwendet werden. Diese Gruppengröße ist notwendig, da die Tiere innerhalb der Gruppe nochmal in Gewebearm und Survivalarm unterteilt sind. Da bereits Ersatztiere mit einberechnet sind, stellen diese Tierzahlen einen absoluten Maximalwert dar.

**Verbesserung: Stressminimierung:** An dieser Stelle soll ausdrücklich festgehalten werden, dass der Tierversuch unter Vermeidung aller mit dem Versuchszweck nicht notwendig verbundenen Belastungen durchgeführt wird. Die Tiere werden bereits vor Beginn der Studie durch so genanntes „Handling“ mit den involvierten Personen vertraut gemacht, um unerwünschte, stressbedingte, falschpositive bzw. falschnegative Ergebnisse zu vermeiden.

Gleichgeschlechtliche Tiere werden zusammen im Käfig gehalten so wie sie geliefert wurden, soweit es die Tierzahl erlaubt. Dadurch verbleiben die Tiere in ihrem Familienverband und zusätzlicher psychischer Stress, z.B. von neuerlichen Revierkämpfen oder der Vereinzelung, wird vermieden.

**Gesundheitszustand:** Generell gilt, dass zur Durchführung des Tierversuchs nur Tiere verwendet werden, deren Gesundheitszustand einwandfrei ist.

Alle Tiere stehen unter ständiger Kontrolle. Erkrankte oder verletzte Tiere werden in einem Patientenblatt vermerkt. Abhängig vom Schweregrad der Symptome entscheidet der Tierarzt über die weitere Behandlung oder Euthanasie der Tiere.

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

Eine rückblickende Bewertung des Projektes wird bis längstens 31.05.2025 durchgeführt.

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

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

Die Ziele des vorliegenden Projekts sind einerseits die Erhaltung der genetisch veränderten Mausstämmen und andererseits die nicht-invasive Erfassung, Dokumentation und Bewertung möglicher Beeinträchtigungen. Da auch ohne experimentelle Manipulation das Wohlbefinden von genetisch veränderten Versuchstieren beeinträchtigt sein kann, wird im hier vorliegenden Antrag die Genehmigung zur Zucht und Haltung von 13 genetisch veränderten Mauslinien beantragt. Diese Mauslinien sollen in Folge in Projekten zur tumor-immunologischen Forschung verwendet werden.

zu erwartender Nutzen: Der erwartete Nutzen dieses Projekts ist die Erhaltung der beantragten Mauslinien und deren Bereitstellung für folgende tumorimmunologische Forschungsprojekte.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die beantragten Mauslinien tragen genetische Veränderungen, welche hauptsächlich Defekte im Immunsystem verursachen. Dadurch ergibt sich bei einem Teil der beantragten Tiere eine erhöhte Infektionsanfälligkeit mit einer potenziell erhöhten Mortalität, sowie die Möglichkeit spontaner Ausbildung von Tumoren. Die getätigten Manipulationen für die Zucht und Haltung sind nicht-invasiv und stellen keine zusätzliche Belastung dar. Durch entsprechende Haltungsbedingungen und einer umfassenden Betreuung der Tiere soll das Leid der Tiere minimiert werden.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Maus, 5100 Tiere für eine Projektdauer von 5 Jahren.

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

Vermeidung: Der hier vorliegende Antrag dient der Erhaltung von Mausstämmen bzw. -linien für Projekte und zur Evaluierung der Belastungen der Tiere und kann folglich nicht durch eine Ersatzmethode ersetzt werden. Linien, welche nicht zeitnah für ein experimentelles Projekt vorgesehen sind, werden aufgelassen, kryokonserviert oder neu importiert.

Verminderung: Wir versuchen die Anzahl der Mäuse durch folgendes Vorgehen so weit wie möglich zu reduzieren:

1) die zur Erfassung der Beeinträchtigungen geforderte Anzahl an beobachteten Tieren kann durch eine minimale Erhaltungszucht erfüllt werden; es werden somit keine zusätzlichen Tiere gezüchtet.

2) die möglichst genaue Planung von zukünftigen Projekten soll dahin führen nur wirklich benötigte Mausstämmen zu züchten und zu erhalten; nicht benötigte Stämme können entsprechend kryokonserviert werden.

Verfeinerung: In den geplanten Beobachtungen soll durch verstärkte Versorgung und Kontrolle der Tiere ein bestmögliches Wohlergehen gewährleistet werden. Für die Erhebung der, durch die genetischen Veränderungen verursachten, Belastungen müssen keine zusätzlichen Tiere gezüchtet und gehalten werden.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): 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 die Austestung eines monoklonalen Antikörpers gegen pyroglutamiertes A $\beta$  im transgenen APPxhQC Mausmodell. Dafür werden die Mäuse im Alter von 6-7 Monaten für 12 Wochen einmal wöchentlich intraperitoneal mit dem Antikörper oder Vehikel behandelt. Während der Behandlungszeit wird den Tieren mehrmals Blut entnommen und am Ende der Behandlungszeit werden die Tiere zur Gewebeentnahme euthanasiert. Die Gewebe werden anschließend biochemisch und histologisch auf krankheitsspezifische Pathologien untersucht. Mit dieser Studie wird es möglich sein zu untersuchen, ob der neue Antikörper die Konzentration des pyroglutamierten A $\beta$  im Gehirn reduzieren kann. Es wird erwartet, dass die pathologischen Veränderungen durch die Behandlung verringert werden können.

Schaden und Nutzenabklärung: Das doppelte Transgen APPxhQC stellt für die Tiere keinen Stress oder Leiden dar. Erst ab ca. 6 Monaten können durch spezifische Tests kognitive Defizite in den Tieren festgestellt werden. Diese beeinträchtigen die Tiere in ihrem Alltag allerdings nicht. Die über mehrere Wochen andauernde 1x wöchentliche intraperitoneale Behandlung der Tiere stellt für die Tiere nur geringen Stress und Schmerz, aber kein Leiden dar. Es werden keine Nebenwirkungen erwartet. Negative Effekte können allerdings nie mit absoluter Sicherheit ausgeschlossen werden. Die wiederholte Blutentnahme stellt für die Tiere kurzzeitig geringen Stress und Schmerz dar, jedoch kein Leid.

Durch die Verwendung eines monoklonalen Antikörpers gegen pyroglutamiertes A $\beta$  kann sehr spezifisch die Aggregation eines Großteils aller A $\beta$  Ablagerungen verhindert werden. Es wird erwartet, dass A $\beta$  dadurch verstärkt abgebaut und aus dem Gehirn entfernt wird. Diese Studie stellt somit einen wichtigen Schritt in der Entwicklung dieser potenziellen zukünftigen Therapiemöglichkeit der Alzheimer Krankheit dar.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie werden insgesamt 30 transgene APPxhQC Mäuse ab einem Alter von 6-7 Monaten beantragt.

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

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

**Verminderung:** In dieser Studie sollen pro Gruppe 15 Tiere verwendet werden. Diese Gruppengröße ist für diese Studie erforderlich, um genügend Gewebe für die geplanten histologischen Analysen gewinnen zu können.

**Verfeinerung: Stressminimierung:** An dieser Stelle soll ausdrücklich festgehalten werden, dass der Tierversuch unter Vermeidung aller mit dem Versuchszweck nicht notwendig verbundenen Belastungen durchgeführt wird. Die Tiere werden bereits vor Beginn der Studie durch so genanntes „Handling“ mit den involvierten Personen vertraut gemacht, um unerwünschte, stressbedingte, falschpositive bzw. falschnegative Ergebnisse zu vermeiden.

Gleichgeschlechtliche Tiere werden zusammen im Käfig gehalten, soweit es die Tierzahl erlaubt. Dadurch verbleiben die Tiere in ihrem Familienverband und zusätzlicher psychischer Stress, z.B. von neuerlichen Revierkämpfen oder der Vereinzelung, wird vermieden.

**Gesundheitszustand:** Generell gilt, dass zur Durchführung des Tierversuchs nur Tiere verwendet werden, deren Gesundheitszustand einwandfrei ist.

Alle Tiere stehen unter ständiger Kontrolle. Erkrankte oder verletzte Tiere werden in einem Patientenblatt vermerkt. Abhängig vom Schweregrad der Symptome entscheidet der Tierarzt über die weitere Behandlung oder Euthanasie der Tiere.

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

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

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

Ziel dieser Studie ist die Charakterisierung des GBA D409V knock-in Mausmodells. Dafür werden die Tiere in unterschiedlichen Altersstufen in verschiedenen Verhaltenstests auf ihre kognitiven und motorischen Fähigkeiten untersucht. Des Weiteren werden zu unterschiedlichen Zeitpunkten Gewebe entnommen und dieser auf krankheitsspezifische pathologische Veränderungen untersucht. Es wird erwartet, dass sowohl in den Verhaltenstests als auch bei den Gewebeanalysen signifikante Veränderungen beobachtet werden können.

Schaden und Nutzenabklärung:

Weder bei homozygoten noch bei heterozygoten GBA D409V Mäusen ist ein belastender Phänotyp beschrieben. Die motorischen und kognitiven Defizite können nur in spezifischen Verhaltenstests festgestellt werden und beeinträchtigen die Tiere in ihrem Alltag nicht. Die Untersuchung der Tiere im Open Field Test kann geringen Stress, aber weder Schmerz noch Leid auslösen. Der modifizierte Irwin Test mit inkludiertem Wire Suspension Test erzeugt kurzzeitig geringen Stress, aber keinen Schmerz oder Leid. Im Zuge des Beam Walk Tests sind die Tiere geringem Stress, aber weder Schmerz noch Leid ausgesetzt. Je nach Ausprägung der motorischen Defizite kann der Stresspegel der Tiere leicht steigen. Da bei dieser Linie nur leichte motorische Veränderungen beschrieben sind, wird allerdings erwartet, dass dieser Anstieg nur minimal ist. Der Morris Water Maze Test führt bei den Tieren zu mittelgradigem Stress, aber zu keinem Schmerz oder Leid. Die intraperitoneale Injektion zur finalen Narkose erzeugt kurzzeitig geringen Stress und Schmerz, jedoch kein Leid.

Durch die Charakterisierung kann dieses Modell intern etabliert werden, um es in Zukunft für die Austestung neuer Medikamente zur Behandlung dieser unheilbaren Erkrankung einsetzen zu können.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie werden insgesamt 68 homozygote GBA D409V Mäuse, 50 heterozygote GBA D409V Mäuse und 68 wildtyp Geschwistertiere beider Geschlechter im Alter von 4, 6, 8 und 12 Monaten beantragt.

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

Vermeidung: Um Medikamente gegen die Gaucher Krankheit, Morbus Parkinson und die Lewy-Körper-Demenz zu testen, ist es erforderlich auf Tiermodelle zurück zu greifen.

Ersatzmethoden, wie z.B. Zellkulturen können zwar Ansätze liefern, für weitere Schritte müssen jedoch Tiermodelle zum Einsatz kommen, um möglichst vergleichbare Resultate zum Menschen zu erzielen. Um qualitativ hochwertige Forschung betreiben zu können, ist es unerlässlich die

verwendeten Modelle zuvor genau zu charakterisieren und intern zu etablieren. Nur so ist es möglich einen weiteren Fortschritt in der Erforschung dieser Erkrankungen und neuer Therapiemöglichkeiten zu sichern.

Verminderung: In dieser Studie sollen 8 bzw. 26 Tiere pro Gruppe verwendet werden. Diese Gruppengrößen beinhalten Tiere beider Geschlechter und Ersatztiere.

Verfeinerung: Stressminimierung: An dieser Stelle soll ausdrücklich festgehalten werden, dass der Tierversuch unter Vermeidung aller mit dem Versuchszweck nicht notwendig verbundenen Belastungen durchgeführt wird. Die Tiere werden bereits vor Beginn der Studie durch so genanntes „Handling“ mit den involvierten Personen vertraut gemacht, um unerwünschte, stressbedingte, falschpositive bzw. falschnegative Ergebnisse zu vermeiden.

Gleichgeschlechtliche Tiere werden zusammen im Käfig gehalten, soweit es die Tierzahl erlaubt. Dadurch verbleiben die Tiere in ihrem Familienverband und zusätzlicher psychischer Stress, z.B. von neuerlichen Revierkämpfen oder der Vereinzelung, wird vermieden.

Gesundheitszustand: Generell gilt, dass zur Durchführung des Tierversuchs nur Tiere verwendet werden, deren Gesundheitszustand einwandfrei ist.

Alle Tiere stehen unter ständiger Kontrolle. Erkrankte oder verletzte Tiere werden in einem Patientenblatt vermerkt. Abhängig vom Schweregrad der Symptome entscheidet der Tierarzt über die weitere Behandlung oder Euthanasie der Tiere.

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

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

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

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

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

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

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

**Mäuse unterschiedlichen Genotyps: Gesamtzahl der Mäuse für experimentelle Studien für 5 + 4 Jahre Studiendauer:  $618 + 220 = 838$**

**Davon:**

**Versuchsmäuse aus eigener Zucht:  $528 + 220 = 748$**

**(Nicht belastete Zuchttiere:  $3440 + 660 = 4100$ )**

**Kommerziell erworbene Versuchstiere:  $90 + 0 = 90$**

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

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

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

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

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

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

Diabetes mellitus (umgangssprachlich die Zuckerkrankheit) stellt eine der größten Herausforderungen für die Gesundheitssysteme weltweit dar. Neben anderen Komplikationen, wie zum Beispiel der diabetischen Nephropathie (Nierenerkrankung) und der diabetischen Retinopathie (Netzhauterkrankung) kann Diabetes mellitus auch in der Abwesenheit anderer Herzerkrankungen zu einer verminderten Herzfunktion führen. Dieses Krankheitsbild, welches „diabetische Kardiomyopathie“ genannt wird, führt unbehandelt zu einer graduell schlechter werdenden Pumpfunktion des Herzens. Auf molekularer Ebene können eine langsame Vernarbung sowie eine krankheitsassoziierte Vergrößerung der Herzmuskelzellen beobachtet werden.

Ziel der Studie ist die Erforschung des Einflusses extrazellulärer Matrixproteine auf die Entstehung und Progression der diabetischen Kardiomyopathie. Dies soll in weiterer Folge der Erforschung neuer Therapien und der Entwicklung neuer Marker in der Diagnose dieser Erkrankung dienen.

zu erwartender Nutzen: Erforschung neuer potentieller Therapiestrategien sowie Marker für die Diagnose/Follow-up der diabetischen Kardiomyopathie

zu erwartender Schaden für die Tiere: Im Rahmen des Projekts entwickeln die Mäuse eine Zuckerkrankheit. Sämtliche geplanten Untersuchungen werden in tiefer Narkose vorgenommen.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

228 AJ Wildtype und TNC-KO Mäuse

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

Vermeidung: Derzeit gibt es keine Alternativen zu Tierversuchen in der Untersuchung des Einflusses von matrizellulären Proteinen auf die linksventrikuläre Funktion im Rahmen der diabetischen Kardiomyopathie.

Verminderung: Durch Standardisierung der Untersuchungsbedingungen, sowie durch eine exakte Fallzahlplanung konnte eine Verminderung der benötigten Tierzahl vorgenommen werden.

Verfeinerung: Durch Optimierung der Tierhaltung sowie durch häufig durchgeführte Kontrollen und die Verwendung lang erprobter standardisierter Anästhesieschemata wird versucht, ein Wohlbefinden der Versuchstiere zu garantieren.

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

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

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

Die Säugetier-Hirnrinde besteht aus einer außergewöhnlichen Anzahl und Vielfalt von Neuronen und Gliazellen. Doch wie die Hirnrinde, mit all ihren funktionalen neuronalen Schaltungen aus den neuronalen Stammzellen entsteht, ist eine fundamentale ungelöste Frage in den Neurowissenschaften. Unsere bisherigen Bemühungen lieferten Hinweise auf eine hochgeordnete und deterministische Art des neuronalen Stammzellverhaltens während der Hirnrindenentwicklung. Die zellulären und molekularen Mechanismen, welche die neuronale Stammzellentwicklung steuern und dadurch die Neurogenese und Gliogenese kontrollieren, bleiben im Wesentlichen jedoch unbekannt. Um endgültige Erkenntnisse in diesen grundlegenden Fragen zu erhalten, werden wir die neuronale Stammzellentwicklung mit Einzelzellauflösung mittels einzigartigen genetischen Technologien analysieren. Diese Methodik bietet vollkommen neuartige Möglichkeiten genetisch definierte Neuronen und Gliazellen gleichzeitig zu visualisieren und zu manipulieren. Im Rahmen unserer Forschungsschwerpunkte in den nächsten fünf Jahren, werden wir die Analyse auf verschiedene humanrelevante Gene konzentrieren. Das ultimative Ziel beinhaltet die Etablierung eines endgültigen, quantitativen und mechanistischen Modells der neuronalen Stammzellentwicklung. Um unsere Ziele zu erreichen, weiten wir die Technologie auf das gesamte Genom aus und etablieren eine außergewöhnliche Ressource, die uns die funktionelle Analyse von potentiell jedem einzelnen Kandidatengen ermöglicht. Hier fokussieren wir auf 24 hoch relevante Gene. Da unsere Forschung das Hauptziel beinhaltet die molekularen Mechanismen mittels genetischer Methoden in vivo zu studieren und kein geeignetes Zellkultur Modell existiert sind wir auf das Maus-Tiermodell angewiesen.

zu erwartender Nutzen: Wir erwarten uns fundamentale Erkenntnisse über die Mechanismen, die die neuronale Stammzellentwicklung steuern mit unserer einzigartigen Mosaikanalyse Technologie. Wir werden diese Technologie auch für die Erforschung der Entwicklung von bestimmten Tumorarten einsetzen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Der Hauptteil unseres Projektes besteht in der Zucht /Kreuzung von Mäusen mit gezielten genetischen Veränderungen, die aber per se keine Belastung für die Tiere mit sich bringen. Bei der überwiegenden Anzahl der Tiere in tiefer Narkose wird das Eigenblut durch ein Fixationsmittel ersetzt um im Anschluss Gewebeschnitte und Färbungen aus dem Gehirn anzufertigen. Dieser Vorgang ist aufgrund der mit Analgesie begleitenden Narkose für das Tier nicht schmerzhaft und die Tiere wachen auch nicht mehr auf. Nur bei einem geringen Teil der Tiere wird ein Kaiserschnitt während der Gravidität durchgeführt und die Jungtiere werden, in der Gebärmutter verbleibend, injiziert.

Anschließend, nach Abschluss der Tragezeit, werden die Tiere normal geboren („in utero electroporation“).

## 2. Art und Anzahl der Tiere

**Wir verwenden ausschließlich Labormäuse. Insgesamt werden 32723 Tiere über einen Zeitraum von 5 (+3) Jahren für Analysen verwendet.**

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

**Vermeidung:** Die Mosaikanalyse Technologie ist im Moment die einzige Technologie um schlüssig das Verhalten von Stammzellen in vivo zu untersuchen. Noch ist die Technologie nur in der Maus einsetzbar und zurzeit ist keinerlei Ersatzmethode verfügbar. In unserem Labor arbeiten wir aber bereits daran, die Technologie in humanen embryonalen Stammzellen zu etablieren. Sobald diese Methode einsatzbereit ist, werden wir viele grundlegende Fragestellungen in cerebralen „Organoiden“ analysieren können.

**Verminderung:** Der experimentelle Plan für Fragestellung zielt primär darauf ab, aussagekräftige Ergebnisse mit unserer Technologie zu erhalten. Daher denken wir nicht, dass wir mit weniger als den von uns geplanten Experimenten und dafür geplanten Tieren auskommen können. Unser „experimental design“ wurde allerdings in der Planungsphase optimiert um den geplanten Einsatz von Tiere schlüssig darstellen zu können.

**Verfeinerung:** Wir verwenden durchgängig etablierte Standardmethoden im Rahmen unserer Technologie. Nur erfahrene und mit den Methoden vertraute Personen werden mit der Durchführung betraut. Bei den geplanten chirurgischen Eingriffen wird ein, auf die Tiere abgestimmtes Analgesie Regime eingesetzt. Erfahrene Personen sind für die Beobachtung in der Postoperativen Phase eingesetzt.

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

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

Epidermolysis bullosa (EB) ist eine Gruppe von heterogenen Hauterkrankungen, welche durch geringe oder gänzlich fehlende Produktion eines bestimmten Strukturproteins der Haut ausgelöst werden. Durch die EB-bedingte Instabilität der Haut, führen schon geringe mechanische Belastungen (Kleidung, Berührung) zu schmerzhafter Blasenbildung, beeinträchtigter Wundheilung und zu einem erhöhten Hautkrebsrisiko. Eine vielversprechende kausative Behandlung dieser Hauterkrankungen sind die Gen- oder Proteintherapien mit dem Ziel, das fehlende Protein neu in den Körper einzubringen. Diese therapeutischen Behandlungen reichen von Injektion des Proteins unter/in die Haut bis zur Transplantation gen-korrigierter Haut. All diese Therapien bergen jedoch das Risiko von Immunreaktionen gegen das neue, "körperfremde" Protein, was zu einer Abstoßung der korrigierten Hautareale führen kann. Immunsuppressive Medikamente wie Glukokortikoide können die Abstoßung zwar meist verhindern, aber mit dieser Behandlung wird das gesamte Immunsystem unterdrückt und Infektionskrankheiten und/oder Krebserkrankungen können daraus resultieren. Die sogenannte antigenspezifische Immuntherapie ist eine vielversprechende Alternative um Abstoßungsreaktionen entgegenzuwirken, ohne das gesamte Immunsystem zu unterdrücken. Um diese Immuntherapie gezielt zu entwickeln und einzusetzen, müssen allerdings die Mechanismen aufgeklärt werden, die Immunantworten in der Haut steuern. Konkret studieren wir die Regulation von Abstoßungsreaktionen von gen-korrigierter Haut, aber auch Regulation der Haut Wundheilung sowie Immunreaktionen im Kontext von Hautkrebs (Plattenepithelkarzinom), welcher speziell aggressiv in Patienten mit Epidermolysis bullosa ist. Um diese Mechanismen zu erforschen, verwenden wir ein sogenanntes humanisiertes Mausmodell, welches uns erlaubt Reaktionen des Immunsystems eines Menschen in künstlich gezüchtetem, humanem Hautgewebe zu untersuchen. Wir verwenden in unseren Studien, künstliche Haut von gesunden Spendern, EB-Patienten und Zellen von Plattenepithelkarzinomen. Mit Hilfe unseres humanisierten Mausmodells möchten wir klären, welche Signale des Haut- oder Tumor-Gewebes die Funktion von Immunzellen der Haut regulieren.

zu erwartender Nutzen: Der erwartete Nutzen ist groß, da wir in einem vereinfachten Mausmodell arbeiten (Maus ohne eigenes Immunsystem, die ein menschliches Immunsystem und menschliche Hautgewebe/Tumorgewebe bekommt = humanisierte Maus), um komplexe immunologische Prozesse in der Haut zu untersuchen. Dazu gehören das Einwandern von humanen Immunzellen in die transplantierte Haut, Interaktionen zwischen unterschiedlichen Immunzellen im transplantierten Gewebe sowie die Produktion und Ausschüttung von entzündlichen Substanzen (Zytokinen). Die beobachteten Reaktionen und die Erkenntnisse daraus, können dann direkt auf den Menschen übertragen werden, was dabei hilft

Gegenstrategien zur Vermeidung von Abstoßungsreaktionen zu entwickeln, aber auch Strategien für die Krebstherapie zu finden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die für dieses Projekt relevanten Methoden, wie Haut-Transplantationen über eine sogenannte Transplantationskammer (grafting chamber) oder Haut-Equivalent-Transplantation, stellen für die betroffenen Tiere eine mäßige “mittlere” Belastung dar. Vor und nach der Transplantation erfolgt eine Schmerzbehandlung mittels Injektion sowie über das Trinkwasser der Tiere. Die Wundheilung wird von den Experimentatoren engmaschig (alle 2-3 Tage) kontrolliert und ohne Blitz fotografiert. Bei Tieren, die Tumor-Zellen erhalten wird das Wohlbefinden, das Körpergewicht und die Tumorgroße ebenfalls engmaschig (alle 2-3 Tage) kontrolliert, und Tiere die Zeichen von Stress zeigen, Gewicht verlieren oder Tumore von über 16 mm Durchmesser haben, werden aus dem Experiment genommen, euthanasiert und Gewebe-Proben zur Analyse genommen. Zusätzlich werden die Tiere von geschulten Tierpflegern täglich kontrolliert. Sollten die Tiere in den Tagen nach der Transplantation trotz Schmerzbehandlung Anzeichen von Leiden zeigen werden sie unverzüglich euthanasiert.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

**Für das Projekt werden insgesamt 4490 Mäuse benötigt, von denen 4490 aus gentechnisch veränderten Linien stammen.**

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

Vermeidung: Ziel dieses Projektes ist es, ein humanisiertes Mausmodell zu entwickeln, um die komplexen immunologischen Vorgänge, die während einer Immunreaktion in menschlicher Haut (bei der Transplantat Abstoßung sowie in Haut-Tumorgewebe) stattfinden, zu erforschen. Mit diesem Wissen können Strategien entwickelt werden, Gewebsabstoßungen entgegen zu wirken bzw. Immunreaktionen gegen Tumoren zu unterstützen. Um dieses Ziel zu erreichen sind isolierte Organe/Zellen ungeeignet, da eine Vielzahl von verschiedenen Immunzellen, die in ganz unterschiedlichen Geweben lokalisiert sind (z.B. Haut, Blut und Milz) interagieren und diese Abstoßungsreaktionen auslösen. Außerdem können wir in diesem Mausmodell Reaktionen, die in einem transplantierten Menschen nachahmen, da sowohl die Immunzellen als auch die transplantierte Haut vom Menschen (gesunde Spender sowie Patienten) stammen. Wir haben jedoch das Ziel, nur sehr aussichtsreiche Kandidaten-Gene/Signalwege in unserem Mausmodell zu untersuchen. Zur Vorselektion haben wir ein in vitro 3D Hautmodell entwickelt, in dem wir Vorstudien machen können, um in vivo Experimente nur dann zu starten, wo diese sinnvoll und aussichtsreich sind. Ersetzen kann dieses 3D Hautmodell die beantragten in vivo Versuche nicht, weil damit nur die Haut, nicht jedoch das Immunsystem mit seinen verschiedenen Organen abgebildet werden kann.

Verminderung: Durch statistische Fallzahlplanung wurde die minimal erforderliche Anzahl der Tiere berechnet, mit denen ein statistisch signifikantes Versuchsergebnis erwartet werden darf.

Verfeinerung: Die Belastung für das Labortier soll auf das unablässige Maß vermindert werden. Wir gewährleisten diese Forderung durch artgerechte und tierschutzkonforme Unterbringung der Tiere während der gesamten Dauer der Studie, die Sachkunde der beteiligten Personen, durch geschulte Experimentatoren und geeignete Betreuung nach den jeweiligen Manipulationen.

## 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 26 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 Bereitstellung solcher Tiere für biomedizinische Forschungsprojekte.

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

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

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Für die Erhaltung von 26 Mausstämmen, inklusive der Bereitstellung von Tieren, die in anderen Projekten weiter verwendet werden, über einen Zeitraum von 5 Jahren wird eine Anzahl von insgesamt 19325 Mäusen beantragt.

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

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

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

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

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

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

Mit dem vorgestellten Projekt sollen die Funktionen zweier Moleküle mit ähnlicher Funktion in einem Modell der sogenannten Glomerulonephritis genauer untersucht werden und Mäuse für diesen Zweck gezüchtet werden. In einem von uns seit langem verwendeten Mausmodell, welches der menschlichen Erkrankung sehr ähnlich ist, werden einerseits die Rollen der sog. kostimulatorischen Moleküle CD30 und OX40, sowie andererseits ihre Wirkung in Kombination untersucht. In der Immunologie bezeichnet der Begriff Kostimulation einen Prozess, der essentiell für eine effektive Immunantwort ist, und zusätzlich zur Signalweiterleitung durch den antigenspezifischen Rezeptor stattfindet. CD30 und OX40 sind zwei Rezeptoren, die auf T Zellen zu finden sind und unter anderem für das Überleben von sogenannten Th1 Zellen sorgen. Da Th1 Zellen im Krankheitsprozess der Glomerulonephritis eine wichtige Rolle spielen, CD30 und OX40 in weitere Prozesse involviert sind, und derzeit noch keine Daten über die Rolle von CD30 und OX40 in der Glomerulonephritis vorliegen, soll hier die Rolle von CD30 und OX40 in dieser Erkrankung untersucht werden. Dies geschieht einerseits mithilfe von sog. Ligandenantikörpern und andererseits kommen genetisch veränderte Mäuse zum Einsatz (im weiteren Doppelknock-out (DKO) genannt), in welchen die Ausprägung der Glomerulonephritis studiert und so herausgefunden werden soll, welche Bedeutung der entsprechende Rezeptor in dieser Erkrankung spielt, um so die Grundlage für eventuelle neue Therapien zu schaffen. Der atypische Chemokinrezeptor DARC fungiert als „scavenging“ Rezeptor, der Chemokine aus der Umgebung entfernt ohne dass dies zu downstream Effekten führt und daher Chemokingradienten erzeugt.

Vorpublizierte Daten zeigen, dass sich Neutrophile Granulozyten von DARC KO Mäusen anders im autoimmunen Setting verhalten im Vergleich zu Neutrophilen von WT Mäusen. Aus unseren bereits produzierten Daten lässt sich vermuten dass DARC in die Funktion von CD30 und OX40 involviert ist, vor allem über die Funktion auf spezielle Immunzellen, sogenannte neutrophile Granulozyten. DARC könnte daher eine kritische Rolle im komplexen Regelkreis der proinflammatorischen Wirkung von CD30 und OX40 in unserem Modell zukommen. Den Mäusen wird nach erfolgter Immunisierung ein vom Kaninchen gewonnenes Antiserum injiziert, was zur Ausbildung der Glomerulonephritis führt. Wildtyp Mäuse werden mit Antikörpern oder entsprechender Kontrollsubstanz behandelt und nach 1,2,4 und 8 Wochen getötet um die Erkrankung zu evaluieren. Weiters werden im Rahmen der Experimente mit genetisch veränderten Tieren DKO und Wildtyp Kontrollen 1,2,4 und 8 Wochen nach der Induktion der Erkrankung getötet und die Ausprägung der GN und die Verteilung diverser Immunzellen in Nieren, Milz und Lymphknoten und somit die Ursache etwaiger Unterschiede analysiert.

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

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

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Im Rahmen dieses Projektes werden transgene CD300X40 WT und KO Mäuse verwendet werden.

Außerdem werden wir DARC KO und DARC WT Mäuse in unseren Versuchen verwenden, weshalb insgesamt 1728 Mäuse im Rahmen dieses Projektes verwendet werden.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

### 2. Art und Anzahl der Tiere

284 Mäuse

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

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

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

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

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

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

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

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

Unsere Forschungsgruppe befasst sich mit der Entstehung und Behandlung chronisch entzündlicher Gallenwegserkrankungen wie der primär sclerosierenden Cholangitis (PSC) für die es bisher noch keine effektive Therapie (ausser Lebertransplantation) gibt. Ein charakteristisches Merkmal von Gallenwegserkrankungen wie der PSC ist die Anhäufung von Gallensäuren in der Leber und im Körper, welche Leberzellen zerstören und schwerwiegende Symptome wie den Juckreiz verursachen. Kürzlich wurde ein G-protein gekoppelter Rezeptor (GPCR) welcher durch Gallensäuren aktiviert wird und bei PSC Patientinnen Störungen aufweist. 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 erwartender Schaden für die Tiere: Zu diesem Zweck werden Mäuse in denen der Rezeptor entweder fehlt oder verstärkt vorhanden ist der Verlauf von entzündlichen Gallengangsschädigungen untersucht.

zu erwartender Nutzen: Dadurch soll gezeigt werden, dass dieser Rezeptor der Entzündung und Bindegewebsbildung bei chronisch entzündlichen Gallenwegserkrankungen vorbeugt. Da seit kurzem auch Medikamente verfügbar sind, welche diesen Rezeptor stimulieren, entstehen durch diese Untersuchungen auch neue Perspektiven für die medikamentöse Behandlung chronisch entzündlicher Gallenwegserkrankungen wie der PSC.

Mus musculus: 7760 (1136 transgene + 1664 nicht-transgene + 4960 für Züchtung)

### 2. Art und Anzahl der Tiere

7760 Mäuse

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

Vermeidung: Um die Anzahl der Versuchstiere beziehungsweise der Tierexperimente so gering wie möglich zu halten, werden in vitro Versuche in kommerziell erhältlichen Zelllinien durchgeführt. In diesen Zelllinien wird durch sogenannte „knock down“ Methoden die Expression des Schlüsselsgens verringert. Soweit möglich werden auch Ko-Kulturen der unterschiedlichen Zellarten verwendet, um den direkten mechanistischen Zusammenhang zwischen diesen verschiedenen Zelltypen feststellen zu können. Diese in vitro Modelle erlauben die Beantwortung spezifischer mechanistischer Fragestellungen und tragen maßgeblich zur Einschränkung notwendiger Tierexperimente bei.

Verminderung: Zur deutlichen Herabsetzung der Streuung der Ergebnisse erfolgen die Tierhaltung und das methodische Vorgehen unter standardisierten Bedingungen. Ein weiterer Punkt für eine Verminderung der Versuchstiere ist die serielle Durchführung der geplanten Experimente. Pilotstudien mit der minimal möglichen Anzahl an Tieren werden durchgeführt. Kann mit diesen Experimenten unsere Hypothese nicht bestätigt werden, werden keine weiteren Versuche durchgeführt.

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

**Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. Mai 2021 sowie bis spätestens 31. Mai 2024 vorgesehen.**

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

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

An Epilepsie erkranken zwischen 0.5 und 1% der Menschen irgendwann im Laufe ihres Lebens. Damit stellt Epilepsie eine der häufigsten neurologischen Erkrankungen dar. Das Risiko an Epilepsie zu erkranken ist dabei im ersten Lebensjahrzent relativ hoch, danach fällt es deutlich ab. Mit dem Alter, ab ca. 60 Jahren nimmt das Erkrankungsrisiko dann aber wieder beträchtlich zu, um im hohen Alter Maximalwerte zu erreichen. Im Alter überwiegt die sogenannte erworbene Epilepsie, die zumeist Folge einer Schädigung von Blutgefäßen im Gehirn ist (z.B. im Zusammenhang mit Schlaganfall, Traum, Gehirnblutung) sind. Bei diesen erworbenen Epilepsieformen treten die Anfälle typischerweise erst nach einer Latenzzeit auf. In dieser Phase kommt es offensichtlich zu den Epilepsie-auslösenden Veränderungen, die unter dem Begriff Epileptogenese zusammengefasst werden.

zu erwartender Nutzen: Die Latenzzeit bietet damit aber auch die Chance zur therapeutischen Intervention. Paroxysmale Depolarisationsschübe (PDS) werden in letzter Zeit als wesentliche epileptogene Ereignisse verstanden und deren Verhinderung könnte einen wesentlichen Ansatzpunkt für anti-epileptogene therapeutische Maßnahmen darstellen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: PDS können auch in neuronalen Zellkulturen experimentell in-vitro ausgelöst und deren Entstehung untersucht werden. Für diese in-vitro Untersuchungen werden Gehirnzellen von neugeborenen Mäusen zweier transgener Linien eingesetzt; diese Neugeborenen werden innerhalb von 24 Stunden nach der Geburt ohne weitere Manipulationen schmerzlos getötet. Aus dem Gehirn eines einzigen Tieres können Dutzende von Kulturschalen angelegt werden, die dann für mehrere Wochen für die Forschungsarbeit zur Verfügung stehen.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

3800 Mäuse

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

Vermeidung: Die Untersuchungen finden in neuronalen Zell/Gewebekulturen statt, es werden keine Tierversuche durchgeführt.

Verminderung: Die Anzahl der Zuchttiere wird auf die erforderliche Anzahl der benötigten Zell/Gewebekulturen abgestimmt.

Verfeinerung: Die Elterntiere werden unter standardisierten Bedingungen spezifisch pathogenfrei unter Verwendung einzelbelüfteter Käfige 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

Brustkrebs ist die häufigste Todesursache bei Frauen mit Krebserkrankungen. Obwohl eine chemotherapeutische Behandlung die derzeit wirksamste Therapie für streuende Tumore darstellt, stößt diese jedoch bereits an ihre Grenzen, was in der Entwicklung von Unempfindlichkeiten gegenüber medikamentöse Therapien begründet liegt. Dabei wird heute die wichtige Rolle arzneimittel-verträglicher Tumorzellen immer besser erkannt. Da bereits eine einzelne „erwachende“ Chemotherapie-überlebende Tumorzelle ausreicht, um ein Therapieversagen zu verursachen, besteht ein dringender Bedarf, die Schwachstellen dieses Fluchtmechanismus zu identifizieren und besser verstehen zu lernen. Unser Ziel ist es, kombinierte Therapien zu entwickeln, die einen erneuten Tumorausbruch und Streuung verhindern, bevor der Krebs unempfindlich gegenüber medikamentöser Therapie werden kann.

zu erwartender Nutzen: Dieses fachübergreifende und präzisions-medizinische Forschungsvorhaben ist in hohem Maße geeignet um vorklinische Forschungsergebnisse zu liefern, welche für die gezielte Entwicklung von neuen klinischen Studien zur Behandlung therapieresistenter Krebspatienten genutzt werden können.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Mäßige Belastung durch Tumorwachstum und das Anfangsstadium der Tumorstreuung.

2. Art und Anzahl der Tiere

8029 Mäuse unterschiedlichen Genotyps im Zeitraum von 5 Jahren.

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

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

Verminderung: Zur Verminderung der Tierzahl wird bei sämtlichen Versuchen auf streng standardisierte Versuchsbedingungen Wert gelegt, beispielsweise wird ein hochauflösendes bildgebendes Verfahren verwendet, um das Tumorwachstum und die Streuung des Tumors genau zu verfolgen. Die Anzahl der Tiere beruht auf statistischen Berechnungen und langjähriger, internationaler Erfahrung in der Forschung.

Verfeinerung: Die Tumorstudien werden derart verfeinert und durchgeführt, dass Leiden durch folgende Maßnahmen vermindert wird: 1. sämtliche Eingriffe werden unter Betäubung durchgeführt; 2. die Tumorversuche werden derart geplant, dass Krankheitserscheinungen so

weit als möglich vermieden werden; dazu trägt das verwendete hochauflösende bildgebende Verfahren zu einem großen Maß bei. 3. es wird zur Verminderung der Tierzahl bei sämtlichen Versuchen auf streng standardisierte Versuchsbedingungen Wert gelegt.

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

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

Neuronale Schaltkreise haben sich letztlich entwickelt, das Verhalten zu steuern. Doch die Art und Weise, in der diese Schaltkreise Verhaltensweisen verursachen, ist meistens unklar. Dieses Projekt soll die Funktion und die Architektur von Schaltkreisen untersuchen, die an der multisensorischen Verarbeitung, der sensomotorischen Integration, der visuellen Salienz und der Aufmerksamkeit beteiligt sind. Wir werden uns diesen Fragen durch die Untersuchung einer hoch konservierten Gehirnregion in Wirbeltieren, den Colliculi superiores (CS) nähern. Die CS empfangen visuelle Informationen in den oberflächlichen Schichten, kombinieren diese mit auditiven und somatosensorischen Informationen in den unteren Schichten und organisieren alle diese Sinnesmodalitäten in topographischen sensorischen Karten. Das Ziel des Projektes ist die Identifizierung und Beschreibung der neuronalen Transformationen von eingehenden sensorischen Signalen der sensorischen Peripherie in motorische Befehle, um die Grundprinzipien der sensorischen und motorischen Berechnungen zu erkunden.

zu erwartender Nutzen: Diese Arbeit wird nicht nur die Lücke zwischen Sinneswahrnehmung und motorischen Befehlen schließen, sondern auch grundlegende Kenntnisse über die Grundprinzipien der neuronalen Berechnungen liefern, die einen zentralen Aspekt der Untersuchung der Mechanismen der Gehirnfunktion im gesunden Körper und bei Krankheiten darstellen. Dieser Beitrag zur Grundlagenforschung ist dafür konzipiert, die Arbeitsmechanismen einer Gehirnregion, die dafür bekannt ist, an der Aufmerksamkeit beteiligt zu sein, zu entdecken. Weil die CS auch mit Aufmerksamkeitsstörungen in Verbindung gebracht worden sind, können diese Untersuchungen ein mechanistisches Verständnis der gesunden Schaltkreise bieten - eine Voraussetzung für die weitere Analyse der Pathophysiologie von neurologischen Krankheiten und für die Entwicklung zukünftiger Behandlungsmöglichkeiten für Menschen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Wesentlich für die Erreichung unserer Projektziele ist der Einsatz von teils sehr komplexen chirurgischen Eingriffen am Kopf der Tiere um unsere Zielregion entsprechend darstellen und erforschen zu können. Diese Eingriffe werden jedoch ausschließlich unter Verwendung von erprobten und hochmodernen Narkoseprotokollen begleitet von einer, der aktuellen medizinischen Praxis entsprechenden, Schmerztherapie. Unnötig verursachter Schmerz würde sich für unseren Projekterfolg als besonders kontraproduktiv erweisen und einer zuverlässigen Schmerztherapie wird daher besonderes Augenmerk geschenkt.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Wir verwenden ausschließlich Labormäuse. Insgesamt werden 2962 Tiere über einen Zeitraum von 5 Jahren für Analysen verwendet.

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

**Vermeidung:** Unser Projekt zielt darauf ab, die sensomotorische Integration physiologisch und verhaltensmäßig in den Colliculi superiores von Mäusen zu untersuchen. Daher können diese Experimente nicht durch Beobachtung in vitro ersetzt werden. Des Weiteren können diese Experimente nicht durch theoretische Analyse in Computermodellen ersetzt werden. Deshalb müssen wir einen In-vivo-Ansatz mit wachen Versuchstieren verfolgen, um die Komplexität der neuronalen Berechnungen und ihre Rolle bei der Steuerung des Verhaltens zu untersuchen. Wir können diese Strategie nicht durch eine andere Herangehensweise ersetzen. Allerdings werden mehrere Teile unseres Projekts mit Tieren durchgeführt, die für Untersuchungen von sowohl Verhalten als auch Physiologie verwendet werden, wodurch sich die Gesamtzahl der Tiere, die für diese Studie erforderlich sind, reduziert. Darüber hinaus minimieren wir die Anzahl der verwendeten Tiere durch sorgfältige Versuchsplanung unterstützt durch modellbasierte Hypothesenbildung.

**Verminderung:** Wir halten die Anzahl der verwendeten Tiere so niedrig wie möglich, indem wir das Projekt mit einer Reihe von Pilotversuchen starten. Je nach dem Ergebnis dieser Experimente wird die Anzahl der benötigten Tiere auf der Grundlage statistischer Regeln berechnet, die dabei behilflich sind, die erforderliche Anzahl für statistisch signifikante Schlussfolgerungen zu schätzen. Des Weiteren versuchen wir die Zahlen niedrig zu halten, indem wir

1. Mehrere Analysen in einer einzigen Maus durchführen (z. B. Testen der Expression von verschiedenen Proteinen mit unterschiedlichen Schichten von einer Maus.)

2. Unsere Möglichkeit nutzen, fixierte Organe für mehrere Monate aufzubewahren. Dies versetzt uns in die Lage, die neuesten und modernsten hochauflösenden Analysemethoden auf die zuvor gesammelten Proben anzuwenden, und die Proben erneut zu analysieren.

3. Eine ständig verbesserte Ausgabe von hochwertigen Aufnahmen wird in der Folge zu einer geringeren Anzahl der für das Projekt benötigten Tiere führen.

**Verfeinerung:** Alle an dem Projekt beteiligten Forscher sind in den in dem Projekt verwendeten Sektionsverfahren sehr erfahren. Der Projektleiter hat über 10 Jahre Erfahrung in der Versuchsarbeit. Auf der Grundlage der Fortschritte in diesem Bereich und unserer ersten Ergebnisse werden wir die Experimente noch weiter verfeinern, indem der Schwerpunkt auf die informativste Probe gelegt wird und die Forschungsansätze, die sich als weniger informativ erweisen, beendet 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

Die Cochleaimplantation (das chirurgische Einführen eines Hörimplantates in das Innenohr) ist eine wichtige Therapieoption bei Patienten mit ausgeprägtem Hörverlust oder Taubheit. Seit einigen Jahren können auch Patienten mit noch vorhandenem Gehör im Tieftonbereich implantiert werden. In dieser Patientengruppe ist es erstrebenswert, das bestehende Restgehör bei der Operation zu schonen und wenn möglich zu erhalten. Durch den operativen Eingriff können sowohl direkte mechanische Verletzungen als auch Spätschäden wie eine Entzündung oder Vernarbung um die Elektrode, knöcherne Umbauten in der Hörschnecke und Minderung von Nervenzellen auftreten. Ein weiterer Effekt der Entzündung ist die Reduktion der Verbindungen zwischen Nervenzellen und inneren Haarzellen. Mögliche wirksame Methoden zur Vermeidung dieser Spätschäden sind die Implantation mit Wirkstoff-überzogenen Elektroden und die präoperative Medikamentenapplikation. Diese Studie untersucht einen neuen Wirkstoff zur möglichen Verbesserung des Restgehörerhalts. Dieser besitzt entzündungshemmende und radikalfangende Effekte, wodurch die Haarsinneszellen und Nervenzellen geschützt werden sollen. Außerdem könnte der Wirkstoff eine mögliche Neubildung der zerstörten Verbindungen zwischen Nerven- und Haarzellen bewirken. In einer vorangegangenen Pilotstudie konnte der Wirkstoff bereits erste positive Effekte nach der Cochleaimplantation zeigen.

Das Ziel dieser Studie ist es, die Limitationen der einmaligen präoperativen Applikation und die Wirkung der beschichteten Implantate in der restgehörerhaltenden Cochleaimplantation über einen lang andauernden Zeitraum zu untersuchen.

zu erwartender Nutzen: Der zu erwartende Nutzen liegt in der Erkenntnis, ob dieser Wirkstoff einen andauernden restgehörerhaltenden Einfluss in der Cochleaimplantation zeigt, und ob der Wirkstoff einen positiven Effekt auf den Erhalt von Nervenzellen, von Haarzellen sowie deren Verbindungen besitzt.

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

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

90 mongolische Wüstenrennmäuse

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

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

**Verminderung:** Durch statistische Fallzahlplanung ist die Gruppengröße so groß wie nötig und so gering wie möglich gewählt, um einen tatsächlichen Unterschied der Interventionen aufzuzeigen. Wir hoffen durch die gewonnene Expertise in der Cochleaimplantation und späteren Interventionen die Variabilität der Resultate und damit die Anzahl der zu verwendenden Tiere weiter zu reduzieren.

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

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

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

zu erwartender Nutzen: Virale Infektionen stellen nach wie vor eine große medizinische Herausforderung dar und können sich in unterschiedlichen Krankheitsbilder manifestieren. In den letzten Jahren wurde festgestellt, dass die Aktivierung von Immunzellen von wichtigen Stoffwechselveränderungen abhängig ist. Gleichzeitig führen entzündliche Prozesse auch zu metabolischen Veränderungen im Organismus. In diesem Projekt versuchen wir fundamentale Mechanismen aufzuklären, wie virale Infektionen Änderungen im Stoffwechsel ihres Wirtes anstoßen und welche Rolle das Immunsystem dabei spielt.

Für die Erforschung solch komplexer Wechselwirkungen von Immunsystem, Stoffwechsel, unterschiedliche Organe und dem propagierenden Pathogen sind Tiermodelle unerlässlich. Nichtsdestotrotz sind wir, wo möglich, auch bestrebt, Zellkultursysteme, bestehende Datenbanken sowie Computerberechnungen einzusetzen.

Wir verwenden Virusinfektionsmodelle in der Maus, die in der Vergangenheit zu wesentlichen human-relevanten Erkenntnissen geführt haben. Durch die Untersuchung von Mausstämmen, denen definierte Teile des Genoms fehlen, planen wir die Rolle und Funktion einzelner Gene und deren Rolle in Metabolismus und Entzündungsgeschehen während viraler Hepatitis zu untersuchen.

Dieses Projekt zielt auf ein besseres Verständnis über die molekularen Prozesse der immunometabolischen Veränderungen während viraler Infektionen ab. **Dies betrifft auch die molekularen Verknüpfungen von der Infektion zu Verhaltensänderungen (sogenanntem sickness behavior), wie man sich klassisch von Infektionserkrankungen kennt.** Die zu erwartenden Erkenntnisse dieses Projektes könnten die Entwicklung neuer zielgerichteter Therapien gegen Entzündungs- und Infektionskrankheiten aufzeigen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Versuche gehen mit für einen Infektionsverlauf zu erwartenden Symptomen wie Apathie, Gewichtsverlust und erhöhte Entzündungsmarker einher. In der Regel klingen diese Symptome jedoch nach der ersten Woche ab und die Tiere zeigen in weiterer Folge wenig klinische Auffälligkeiten.

### 2. Anzahl und Art der verwendeten Tiere:

3180 Mäuse (Mus musculus)

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

Vermeidung: Zur Vermeidung verwenden wir Zellkultur Systeme wo möglich, um die zelluläre Antwort auf Infektionen zu untersuchen.

Verminderung: Zur Reduktion der Tierzahlen verwenden wir international anerkannte etablierte Infektionsmodelle mit standardisierten Haltungs- und Versuchsbedingungen, um die experimentelle Variabilität so gering wie möglich zu halten und damit die Tierzahl auf das notwendige Minimum zu reduzieren.

Verfeinerung: Zur Verfeinerung sind wir in kontinuierlicher Zusammenarbeit mit Klinikern, um die experimentellen Abläufe möglichst relevant für humane Erkrankungen zu gestalten und damit den Erkenntnisgewinn zu erhöhen. Darüber hinaus werden die Tiere täglich hinsichtlich Anzeichen von Schmerz und Krankheit beobachtet und es wurden Abbruchkriterien festgelegt. Weiters arbeiten wir mit erfahrenen Wissenschaftlern aus den jeweiligen Bereichen aus dem In- und Ausland zusammen, um die experimentellen Abläufe kontinuierlich zu verbessern und die Aussagekraft der Experimente zu verbessern.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 28. Februar 2026 vorgesehen.

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

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

Lungenfibrose stellt eine schwere chronische Lungenerkrankung dar. Es gibt nur sehr wenige Behandlungsoptionen und häufig ist eine Lungentransplantation das letzte Mittel.

Alveolarmakrophagen sind wichtige Immunzellen in der Lunge und erhalten die gesunde Lungenfunktion während externer Belastungen wie Infektionen oder wenn schädliche Substanzen eingeatmet werden. Alveolarmakrophagen selbst weisen ein großes funktionales Spektrum auf und können einerseits zur Entzündung beitragen und andererseits Entzündung reduzieren und Gewebeschaden reparieren. Bestimmte Signale aus der Umgebung regulieren das Verhalten der Alveolarmakrophagen während physiologischen Situationen, aber auch unter Krankheitsbedingungen. In diese, Projekt wollen wir einen bestimmten Signaltransduktionsweg in Alveolarmakrophagen und seine Auswirkung auf die Entwicklung von Lungenfibrose untersuchen. Lungenfibrose erzeugt keine Schmerzen, es wird daher maximal eine mittelgradige Belastung für die Tiere erwartet.

### 2. Anzahl und Art der verwendeten Tiere:

Maximal 2021 Mäuse unterschiedlichen Genotyps.

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

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

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

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

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

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

Die aktuelle SARS CoV-2 Pandemie breitet sich rapide aus und ist mit verheerenden Auswirkungen auf die Gesundheit der betroffenen Personen und auf das Gesundheitssystem verbunden. Während viele Infektionen mit milden Symptomen einhergehen, kommt es bei 15% der Infizierten zu schwerem Lungenversagen, und bei 1-2% zum tödlichen Ausgang. Ein Teil der schweren und fatalen Ausgänge entsteht in Verbindung mit einer den ganzen Organismus betreffenden, unkontrollierten Entzündungsreaktion. Die Gründe für das Entstehen dieser Reaktion sind unbekannt. In diesem Projekt versuchen wir, die Mechanismen hinter dieser überschießenden Entzündungsreaktion zu verstehen. Durch genaue Kenntnis dieser Mechanismen kann einerseits die Identifikation von Patienten, die ein hohes Risiko für einen schweren Verlauf der Erkrankung haben, erleichtert werden. Außerdem hoffen wir, durch gezieltes Eingreifen in diese Mechanismen neue Ansätze zur Behandlung der Erkrankung zu finden. Der Schaden für die Tiere besteht in der intranasalen Infektion (unter Anästhesie), sowie der gelegentlichen Verabreichung von Injektionen. Der zu erwartende Nutzen dieses Projektes ist ein verbessertes Verständnis Immunmechanismen zur Abwehr von SARS CoV2 Infektionen und soll dazu beitragen, neue therapeutische Ansätze zu entwickeln, um virale Infektionen besser zu behandeln.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Maximal 2229 Mäuse unterschiedlichen Genotyps.

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

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

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

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

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. August 2025 vorgesehen

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

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

Die erfolgreiche Behandlung von Knochenbrüchen bedarf häufig der Verwendung von körperfremden Materialien zur Stabilisierung. Nach erfolgter Heilung muss dieses aber oft wieder entfernt werden, wodurch eine Folge-Operation mit denselben Risiken wie bei der primären Operation und dem zusätzlichen Risiko einer Refraktur notwendig wird. Durch die Verwendung von Materialien, die der Körper mit der Zeit abbaut und durch körpereigene Substanz ersetzt, 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 diesbezüglich vielversprechende Eigenschaften besitzen. Ziel des beantragten Tierversuches ist es eine neu entwickelte Magnesiumlegierung auf ihre biologische Verträglichkeit, Abbau und ihren Einfluss auf die Frakturheilung zu testen.

Zu erwartender Nutzen: Dem Patienten bleiben Folgeoperationen, die mit Gesundheitsrisiken verbunden sein können, erspart.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Die neuartigen Materialien wurden zuerst in in-vitro-Versuchen untersucht. Aber bevor solche Materialien am Menschen eingesetzt werden können, müssen ihre Eigenschaften am Tier getestet werden, um etwaige lokale oder systemische negative Reaktionen auf den Körper auszuschließen. Der Abbau und die Verträglichkeit der verwendeten Materialien können nur im lebenden Organismus untersucht werden, da keine Ersatzmethoden zur Verfügung stehen und die Implantate noch nicht für den Einsatz am Menschen zugelassen sind. Um die Qualität der Versuche sicherzustellen erfolgt sowohl die Haltung der Tiere, als auch die Durchführung des Versuchs unter standardisierten Bedingungen. Alle operativen Eingriffe am Tier finden unter Vollnarkose unter Ausschaltung des Schmerzempfindens statt, in weiterer Folge erhalten die Tiere so lange wie nötig eine ausreichende Schmerzmedikation.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Erhöhung um 20 Ratten auf 20 Ratten und 40 Kaninchen, wobei von den 40 bereits genehmigten Kaninchen nur 7 verwendet wurden und keine weiteren Kaninchen verwendet werden.

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

Vermeidung: Die Fragestellung des Tierversuches kann durch Ersatzmethoden nicht beantwortet werden, da das Resorptionsverhalten des Magnesiumimplantates, sowie seine Eignung als Osteosynthesematerial in vitro nicht getestet werden kann. Bis dato gibt es kaum Untersuchungen, wie sich die neue Magnesiumlegierung im Knochen verhält und ob eine

Steigerung oder Rückgang der Resorption stattfindet. Um den intramedullären Abbau zu simulieren ist es somit unausweichlich, die Versuche in vivo im Tiermodell durchzuführen. Nur hier ist eine physiologische Umgebung zu schaffen, wie sie annäherungsweise im humanen Röhrenknochen zu finden ist.

Verminderung: Es wird die minimale Tieranzahl zur Erreichung eines aussagekräftigen statistischen Ergebnisses gewählt. Insgesamt werden 10 Tiere pro Gruppe gewählt. Pro Gruppe werden 7 Tiere zur biomechanischen Untersuchung der Femurfraktur, 2 Tiere zur histologischen Untersuchung mittels hartgewebshistologischen Techniken und ein Ersatztier verwendet. Die notwendige Mindestanzahl von 7 Tieren pro Untergruppe wurde für eine statistische Analyse mittels ANOVA für unabhängige Stichproben mit 2 Vergleichsgruppen bestimmt (biol.rel.Dif. 20%, Stddev. 10%).

Verfeinerung: Die Versuche finden unter kontrollierten und standardisierten Bedingungen statt. Das Modell ist bereits im Kadaverversuch getestet und verfeinert worden, um die Operationszeit zu verkürzen und die Operation möglichst gewebeschonend durchführen zu können.

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

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

Leberzellkarzinom ist weltweit die dritt-tödlichste Krebserkrankung. Die häufigsten Risikofaktoren sind Stoffwechselerkrankungen (wie z.B. Fettleber), Vergiftung (Aflatoxin, Alkohol), und Infektion mit dem Hepatitis Virus. Die Behandlung mit molekularen Therapien wird erst im Spätstadium der Krankheit eingesetzt und bewirkt, im Vergleich zu anderen Krebsarten, nur eine minimale Lebensverlängerung von wenigen Monaten. Es besteht also die Notwendigkeit neue Therapieansätze zu entwickeln, welche die Wirkung der Krebstherapie unterstützen und verstärken. Basierend auf den speziellen energetischen Bedürfnissen von Krebszellen, ist es plausibel mittels Ernährungsregimes in die Krebsentstehung einzugreifen. In diesem Zusammenhang wurde vermehrt gezeigt, dass mehrmaliges, intermittierendes Fasten in verschiedenen Krebsarten eine, die Krebstherapie unterstützende, Wirkung hat. Dies ergibt sich durch eine Fasten-induzierte Sensitivierung von Krebszellen gegenüber der Krebstherapie, während normale Zellen durch Nahrungsentzug vor der Wirkung des Krebstherapeutikums geschützt werden, ein Effekt der differentielle Stressresistenz genannt wurde. Zusätzlich zeigen aktuelle Studien, dass Fasten, oder eine Fasten-nachahmende Diät, positive Effekte auf das Immunsystem, die Regenerationsfähigkeit des Organismus und auf Stoffwechselprozesse hat. Die Mechanismen dieser positiven Effekte von Fasten sind aber weitgehend ungeklärt.

In Studien des Antragstellers wurde gezeigt, dass das p53 Protein (als Tumor-Suppressor-Gen bekannt) durch das Fasten in der Mausleber und in primären humanen Leberzellen stabilisiert und aktiviert wird. Diese Aktivierung reguliert den Aminosäuren- und Glukose-Haushalt während des Nahrungsentzugs. In Zelllinien, welche vom Leberzellkarzinom hergeleitet wurden, findet ebenso eine p53 Stabilisierung durch Nahrungsentzug statt. Somit unterstützen die Daten des Ansuchenden die Hypothese, dass die Regulation des Energiehaushaltes durch die fasten-induzierte p53 Aktivierung ein zugrunde liegender Mechanismus der differentiellen Stressresistenz im Kontext des Leberzellkarzinoms ist. Diese Hypothese soll in dieser vorklinischen Studie mit den bereits entwickelten Werkzeugen getestet werden. Mit den Ergebnissen dieser Studien sollten bislang unbekannte Mechanismen aufgeschlüsselt werden, deren Verständnis den Einsatz von therapeutischem Fasten als Unterstützung von Krebstherapie in der Behandlung von Leberzellkarzinom besser auf individuelle Patienten abstimmen lässt.

zu erwartender Nutzen: Mit den Ergebnissen dieser Studien sollten bislang unbekannte Mechanismen aufgeschlüsselt werden, deren Verständnis den Einsatz von therapeutischem Fasten als Unterstützung von molekularer Krebstherapie in der Behandlung von Leberzellkarzinom besser auf individuelle Patienten abstimmen lässt.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Da es sich vorwiegend um Kurzzeit-Experimente handelt und die nötigen Applikationen Standardprozeduren sind, sind kaum Schäden zu erwarten. Da das Fasten von Mäusen sehr gut vertragen wird, sind außer Hungergefühl keine Schäden zu erwarten.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

1125 Mäuse

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

Die Zucht und Haltung der Versuchstiere wie auch die Versuchsdurchführung und die Organentnahme halten sich streng an die Richtlinien der Gesellschaft für Versuchstierkunde und erfüllen somit die proklamierten „3Rs“ der tierexperimentellen Forschung (Reduction, Refinement, Replacement).

**Vermeidung:** Um die komplexen, physiologischen Zusammenhänge während der Fastenprotokolle (z.B. Interorgankommunikation) zu berücksichtigen, müssen die Untersuchungen in vivo Erfolge. Genauere mechanistische Details, werden im Folgenden ex vivo (Zelllinien, primäre Zellen, Explantate) untersucht Die verwendeten HepG2 Zellen werden umfangreich getestet (Invasion, Migration, Proliferation; Colony forming unit Assay) bevor sie den Tieren injiziert werden.

**Verminderung:** Bei der Wahl der Gruppengrößen, wurde großer Wert darauf gelegt, die Versuche mit jener minimalen Anzahl an Mäusen durchzuführen, die statistisch notwendig ist, um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten. Zusätzlich kann durch die Verwendung mehrerer Gewebe (Leber, Lunge, Lymphknoten usw.), sowie durch die Durchführung mehrere, verschiedener Analysenmethoden (Expressionsanalyse, Proteinanalyse (Western blot), Immunohistochemische Analyse), die Tierzahl gering gehalten werden. Speziell wurden Methoden etabliert, welche eine akkurate Aufteilung der Mausleber gewährleistet, um aus einer Mausleber mehrere Analysen zu ermöglichen und somit die notwendige Anzahl der Versuchstiere reduziert. Die Pilotversuche sind notwendig, um die Erfolgswahrscheinlichkeit der Hauptversuche zu erhöhen und somit die Gruppengröße minimal zu halten und Wiederholungen zu vermeiden.

**Verfeinerung:** Bei der Durchführung unserer Versuche sowie der Haltung der Mäuse gehen wir nach international üblichen Standards vor. In der Zucht werden die Tiere vorwiegend in Gruppen gehalten und um das Wohlbefinden zu steigern wird den Tieren „Enrichment“ in Form von Nistmaterial und Häuschen zur Verfügung gestellt. Durch das Handling von ausgebildeten Tierpflegern, die die Tiere versorgen, werden die Mäuse an den Umgang mit Menschen gewöhnt, und zusätzlicher Stress kann dadurch vermieden werden. Zusätzlich werden die Tiere regelmäßig von Tierärzten auf ihren Gesundheitszustand kontrolliert und nur gesunde Tiere werden der experimentellen Kohorte zugeordnet. Sollte ein Tier zu irgendeinem Zeitpunkt

Symptome von Stress und/ oder Schmerzen zeigen, entscheidet der Tierarzt über die weitere Vorgehensweise.

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

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

Ziel ist das Studium der Mechanismen der vollständigen Herzregeneration in neugeborenen bis zu einer Woche alten Mäusen. Die daraus gewonnenen Erkenntnisse werden anschließend an erwachsenen Mäusen getestet. langfristiges Ziel ist es Herzregeneration in erwachsenen Mäusen zu erreichen und somit ein Therapiekonzept bzw. einen Therapiemechanismus für die Krankheit der ischämischen Kardiomyopathie („Herzschwäche“) nach Herzinfarkt im Menschen zu etablieren.

zu erwartender Nutzen: langfristig: Neue Konzepte in der Herzinfarkt- und Herzinsuffizienztherapie. Kurzfristig: Neue Erkenntnisse über die Mechanismen, welche es neugeborenen Mäusen ermöglichen ihr Herz nach einem Herzinfarkt wieder vollständig wiederherzustellen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Kurzfristige Stresssituation (in Summe 5 Minuten) wenn die Tiere von der Mutter entfernt werden und im Anschluss narkotisiert werden. Während der Intervention befinden sich die Tiere in Narkose. Sie werden außerdem schon vor der Behandlung und auch danach mit einem starken Schmerzmittel therapiert, um ein Leiden so bestmöglich verhindern zu können

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Für dieses Projekt werden Mäuse (*Mus musculus*) verwendet. Insgesamt wird eine Anzahl von 2400 Mäusen für einen Zeitraum von 5+3 Jahren beantragt.

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

Vermeidung: Grundlagenkonzepte werden zeitgleich in vitro und in silico (Computermodelle) getestet. Zur Entwicklung neuer Therapien für komplexe Vorgänge wie dem Herzinfarkt und der Herzregeneration sind jedoch Tierexperimente unumgänglich.

Verminderung: Die tierexperimentellen Operationen werden ausschließlich von sehr erfahrenen WissenschaftlerInnen durchgeführt, wodurch gewährleistet wird, dass nur die geringstmögliche Anzahl an Tieren verwendet werden muss. Alle verwendeten Methoden sind auf dem letzten Stand der Wissenschaft und wurden von den durchführenden WissenschaftlerInnen stetig weiterentwickelt. Zudem kooperieren wir international mit Forschungsgruppen die an ähnlichen Fragestellungen arbeiten. Der kontinuierliche Austausch ermöglicht die Anpassung und Optimierung der Versuche je nach bereits vorhandenen Experimenten.

Verfeinerung: Die Versuche werden von erfahrenen WissenschaftlerInnen durchgeführt, dadurch ist die geringstmögliche Belastung der Versuchstiere garantiert . Durch den Einsatz von hochpotenter Schmerzmittel und Narkosemedikamenten, welche auch in der Humanmedizin angewendet werden, ist eine optimale (Schmerz-)Therapie der Tiere gewährleistet.

Ultraschalluntersuchungen spielen eine große Rolle in den geplanten Experimenten. Diese sind schmerzlos, um Stress und Leiden für die Tiere noch weiter zu reduzieren führen wir jedoch auch diese während einer kurzen Inhalationsnarkose mit Isofluran (Narkosegas) durch.

**Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 30. September 2022 sowie bis spätestens 30. November 2025 vorgesehen.**

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

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

Im Rahmen dieses Projekts planen wir die biologische Rolle von Proteinen zu untersuchen welchen eine bestätigte Rolle bei der zellulären Antwort auf fehlerhafte Zellteilung haben und somit Tumorbildung unterdrücken sollten. Bei den geplanten Analysen sollen genetisch modifizierte Mäuse verwendet werden, um den Einfluss veränderter Proteinniveaus auf die Funktionalität der Tumorsuppression nach fehlerhafter Zellteilung und einer Anhäufung von Zentrosomen zu untersuchen. Mit diesen Versuchen können eine Reihe neuer Erkenntnisse, besonders was die Rolle dieser Gene bei Darm-, Bindegewebs- und Blutkrebs angeht gewonnen werden. Dieses Wissen soll verwendet werden, um die Behandlung bösartiger Tumorerkrankungen beim Menschen zu verbessern und somit den Schaden der am Tier durch Blutabnahme aus der Wange, Ohrmarkierung (mittels Lochstanze) und Tumorwachstum im Darm, Bindegewebe oder Blutsystem entsteht (z.B. Gewichtsverlust und Durchfall) rechtfertigen.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Maus; bis zu **2813** Tiere

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

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

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

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

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

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

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

Die Häufigkeit von Herz-Kreislauf-Erkrankungen nimmt in den Industrieländern immer mehr zu und stellt die Gesundheitssysteme weltweit vor große Herausforderungen. Entstehung und Verlauf der Erkrankung sind hochkomplex und von vielen noch kaum bekannten Einflussgrößen abhängig. Erkrankungshäufigkeit und Sterblichkeit sind trotz guter medizinischer Versorgung konstant hoch. Es ist daher dringend erforderlich, die komplexen molekularen Mechanismen, die diesem Krankheitsbild zugrunde liegen, genauer zu untersuchen, um in Zukunft eine frühere Diagnose und wirksamere Behandlung zu ermöglichen. Kürzlich konnte gezeigt werden, dass eine Korrelation zwischen dem Hormon Fgf23 und wichtigen Parametern der Herzfunktion besteht und Fgf23 eine eigenständige Rolle bei der Entstehung und Pathogenese von Herz-Kreislauf-Erkrankungen spielen könnte. Daher soll im vorliegenden Projekt die Rolle von Fgf23 bei der Entstehung von Entzündungsprozessen im Herzgewebe untersucht werden. Ziel des vorliegenden Projektes ist es, genaueren Einblick in die molekularen Mechanismen zu gewinnen, über die Fgf23 möglicherweise pathologische Prozesse am Herzen beeinflusst.

zu erwartender Schaden für die Tiere: An einem Teil der Tiere muss durch einen operativen Eingriff eine Herzerkrankung induziert werden. Vorliegende Daten aus vergleichbaren Versuchsvorhaben zeigen, dass die Sterblichkeit bei Mäusen bei der geplanten Vorgehensweise gering ist.

zu erwartender Nutzen: Die Studie lässt neue Erkenntnisse über die Entstehungsmechanismen von Herz-Kreislauf-Erkrankungen erwarten, die in weiterer Folge dazu beitragen können, Prävention und Therapie zu verbessern.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Insgesamt sollen maximal 1382 Mäuse in Versuch genommen werden. Für die Bereitstellung dieser Tiere müssen aus zuchttechnischen Gründen insgesamt bis zu 11554 Mäuse erzeugt werden.

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

Vermeidung: Da sich die Fragestellung auf systemische regulatorische Mechanismen im lebenden Organismus bezieht, kann sie nur mit Hilfe eines Tiermodells untersucht werden. Ergänzend zu den Versuchen werden verschiedene in-vitro- Methoden (aus Probenmaterial von den Versuchstieren) angewandt.

Verminderung: Alle Eingriffe werden von sachkundigen und erfahrenen Personen durchgeführt, so dass OP-bedingte Verluste minimiert werden. Die Zucht der Tiere läuft parallel zu den

Versuchen und orientiert sich am gerade bestehenden Bedarf, sodass die Zahl nicht benötigter Tiere niedrig gehalten werden kann. Für dieses Projekt wird die kleinste Anzahl an Tieren verwendet, die nötig ist, um statistisch relevante Ergebnisse zu erhalten.

Verfeinerung: Alle Tiere werden in Gruppen gehalten. Männchen, die operiert werden sollen, werden schon vorher mit einem alten weiblichen Tier ("retired breeder") zusammengesetzt, das für die gesamte Dauer des Versuchs bei seinem Partner bleibt. Als Enrichment werden Lagenzellstoff und Papprollen zur Verfügung gestellt. Anästhesie, Analgesie und OP-Technik wurden im Rahmen bereits durchgeführter vergleichbarer Versuche im Hinblick auf eine möglichst geringe Belastung der Tiere optimiert. Alle Tiere werden tierärztlich überwacht und engmaschig kontrolliert. Beim Auftreten klinischer Symptome werden die Tiere schmerzlos getötet.

**Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 30. September 2021 sowie bis spätestens 30. September 2022 vorgesehen.**

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

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

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

zu erwartender Nutzen: Das Verständnis über die Ausbildung des Gedächtnisses im Gehirn ist von entscheidender Bedeutung für die effektive Behandlung von PatientInnen mit neurologischen Erkrankungen, wie Demenz und mentaler Retardierung/Entwicklungsstörung. Die im Zuge des Projekts durchzuführenden Versuche an Nagetieren dienen der Identifizierung der neuronalen Pfade, die bei der Bildung unterschiedlicher Gedächtnissysteme eine zentrale Rolle spielen, und der Untersuchung der synaptischen Mechanismen, die zu dauerhaften Veränderungen der Neurotransmission in diesen Nervenbahnen führen. Des Weiteren werden die Unterschiede in der synaptischen Struktur und der Distribution der Schlüsselmoleküle zwischen der linken und rechten Hemisphäre der Nagetiere analysiert. Mäuse und Ratten werden als Tiermodelle für die Gedächtnisbildung und Links-Rechts-Asymmetrie unter Einbindung von Verhaltensparadigmen und neurochirurgischen Eingriffen am Gehirn herangezogen, einschließlich der Injektion von Markierungssubstanzen, chemischen Fixierungsverfahren und Proteinprobenvorbereitungen, die potentielle Belastungen und Dezimierungen unter der Versuchspopulation hervorrufen können.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Wir verwenden hauptsächlich kurz dauernde, sehr gut etablierte Operationsmethoden, des Weiteren Organentnahmen um histologische Schnitte anzufertigen. Eine der angewandten Methoden ist außerdem der Blutentzug in tiefer Narkose - die Tiere wachen nicht mehr auf, das Blut wird dabei durch ein Fixationsmittel ersetzt. Ein Schwerpunkt der Methodik sind außerdem noch einige gute etablierte Verhaltensanalysen die nicht invasiv sind und daher keinerlei Schmerzen für die Tiere verursachen.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Ratten: 535

Mäuse 24755

Höchster zu erwartender Schweregrad: mittel

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

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

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

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

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

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

Um die tumorsuppressive Wirkung von zwei Transkriptionsfaktoren bei aggressiven Lymphomen (=Lymphdrüsenkrebs) zu untersuchen, werden transgene Mäuse, welche im Schnitt nach 12-16 Wochen Lymphdrüsentumore entwickeln, mit der Knockoutmaus des zu untersuchenden Transkriptionsfaktoren gekreuzt und phänotypisch charakterisiert.

Zu erwartender Schaden: Die Mäuse entwickeln ohne Manipulation zu 90% innerhalb des ersten Lebensjahres ein aggressives B-Zelllymphom, welches meist asymptomatisch wie beim Menschen verläuft. Sobald das Lymphom sich entwickelt hat, wird das kranke Tier mittels zervikale Dislokation unter Narkose euthanisiert, um Schmerzen zu vermeiden.

Zu erwartender Nutzen: Der Versuch dient zur in vivo Charakterisierung bis dato unbekannter Tumor Suppressorgene, die in weiterer Folge ggf. auch als neue molekulare „Targets“ therapeutisch verwendet werden können. Die Versuchsanordnung wird unter Bedachtnahme des größtmöglichen Schutzes der Labortiere durchgeführt.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Hierfür werden insgesamt 3093 transgene Mäuse (C57Bl/6) verwendet.

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

Vermeidung: Im Rahme des Projektes werden vermehrt in vitro Ansätze verwendet, die somit ergänzend zu den in vivo Experimenten eingesetzt werden.

Verminderung: Die benötigte Anzahl der Tiere wurde so gering wie möglich kalkuliert, wobei eine weitere Verminderung durch begleitende statistische Analysen angestrebt wird.

Verfeinerung: Eine analgetische Behandlung der Tiere erfolgt obligat, um die Belastung der Tiere maximal herabzusetzen. Es werden Nestbaumaterial und/oder Häuschen als Enrichment zur Verfügung gestellt. Die Tierhaltung wird in regelmäßigen Abständen von den TierpflegerInnen und vom zuständigen Veterinär kontrolliert. Die Tiere werden einem regelmäßigen Handling unterzogen, um sich an etwaige Manipulationen zu gewöhnen und zusätzlichen Stress zu vermeiden.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 28. Februar 2021 und bis spätestens 31. Dezember 2023 vorgesehen.

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

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

Der Erforschung von Neuroentwicklungsstörungen wie Autismus Spektrum Störungen (ASS), Epilepsie und Mikrozephalie wurde in den vergangenen Jahren vermehrt Aufmerksamkeit zu teil. Interessanterweise treten die eben genannten Defekte sehr häufig als gegenseitige Begleiterkrankungen in Patienten auf. Leider, trotz des vermehrten Interesses an der Erforschung dieser Störungen, ist immer noch sehr wenig über die Ursachen dieser Erkrankungen und mögliche Behandlungsstrategien bekannt. Vergangene Studien unserer Forschungsgruppe konnten aufzeigen dass große neutrale Aminosäuren per se oder damit assoziierte Signalwege einen essentiellen Einfluss auf die Entwicklung dieser Störungen haben. Durch das Erforschen dieser Signalwege und ihren unterliegenden molekularen Mechanismen könnten sich neue Wege zu potentiellen Behandlungsstrategien eröffnen.

Ziel des ersten Teilprojekts dieses Antrags ist es einen Zusammenhang zwischen einer Misregulation der Homeostase von großen neutralen Aminosäuren im Gehirn und Defekten in der Hirnentwicklung zu zeigen. In vorangehenden Untersuchungen konnten wir aufzeigen, dass eine homozygote Mutation in einem bestimmten (nun bekannten) Aminosäuretransporter und der damit einhergehende Mangel an verzweigtkettigen Aminosäuren im Gehirn zur Ausprägung von Autismus und Motordefiziten in Patienten führt. Primär gilt es nun zu untersuchen ob das Fehlen eben dieses Aminosäuretransporters ebenfalls zu der beim Patienten diagnostizierten Mikrozephalie führt. Um diese Frage zu lösen werden wir hauptsächlich knock-out Mausmodelle verwenden, welche uns durch eine hirnspezifische Deletion des bekannten Gens die Möglichkeit geben werden die molekularen Mechanismen der zugrundeliegenden Mikrozephalie genauer zu studieren.

zu erwartender Nutzen: Unser Projekt basiert hauptsächlich auf der Verwendung von Mäusen als Modellorganismus, da diese - biologisch betrachtet - dem Menschen bezüglich Hirnentwicklung sehr ähneln und daher verwendet werden um menschliche Neuroentwicklungsstörungen (ASS, Mikrozephalie und Epilepsie) abzubilden. Ein besonders wichtiger Aspekt ist, dass wir auf diese Weise, im Gegensatz zu anderen Modellen (z. B.: Zellkultur, C. elegans), die Symptome die sich teils in bestimmten Verhaltensmustern manifestieren (gestörte soziale Interaktion, Kommunikationsdefizite und repetitive Verhaltensweisen, Krampfanfälle, Motordefizite) besser in die Untersuchungen mit einbeziehen können. Ein weiterer Vorteil der Verwendungen von Mäusen als Modellorganismus ist, dass das Genom direkt manipuliert werden kann, um einen menschlichen Zustand zu möglichst genau abzubilden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Um die eben beschriebenen Fragen zu beantworten, werden wir vor allem von histologischen und molekularbiologischen Methoden sowie von

Verhaltensanalyse an Mäusen, Primärzellkultur und in utero Elektroporation (chirurgischer Eingriff) Gebrauch machen. Basierend auf der klinischen Präsentation der Patienten, welche Mutationen in dem untersuchten Gen aufweisen, können wir davon ausgehen dass heterozygote Mäuse keinerlei oder nur sehr milde neurologische Defekte aufweisen werden. Sollten stärkere Ausprägungen des Phenotypes in Mäusen auffallen, wird der zuständige Wissenschaftler umgänglich den Tierarzt vor Ort am Campus kontaktieren um mögliche Strategien zur Vermeidung zusätzlichen Leidens zu festzulegen. Die Mehrzahl der Methoden umfaßt verschiedene, für die Tiere mit sehr geringen Belastungen einhergehende, Verhaltenstests. Chirurgische Eingriffe werden jedoch ausschließlich unter Verwendung von erprobten Narkoseprotokollen, die dem aktuellen Stand der „Good Veterinary Practice“ entsprechen, durchgeführt. Moderne Narkoseprotokolle werden, begleitet von einer, der aktuellen medizinischen Praxis entsprechenden, Schmerztherapie angewendet. Unnötig verursachter Schmerz würde sich für unseren Projekterfolg - gerade im Hinblick auf unsere Verhaltenstests - besonders kontraproduktiv erweisen. Einer zuverlässigen Schmerztherapie wird daher besonderes Augenmerk geschenkt. Der höchste Belastungsgrad, dem die Tiere während einer gesamten Testreihe ausgesetzt sein können, ist als „mittel“ zu bezeichnen.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Wir verwenden ausschließlich Mäuse. Insgesamt werden 12156 Mäuse über einen Zeitraum von 5 Jahren für Analysen verwendet.

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

Vermeidung: Autismus-Spektrum-Störungen, Mikrozephalie und Epilepsie sind komplexe neurologische Entwicklungsstörungen. Während in vitro Techniken (d. h. Zellkulturen) verwendet werden, um spezifische Fragen zu beantworten, erfordert die hohe Komplexität dieser Erkrankungen eine Analyse der Gehirnentwicklung in vivo. Dies kann nicht dupliziert oder in einfacheren Systemen als bei Tieren mit einem deutlich erkennbaren Sozialverhalten modelliert werden.

Verminderung: Wir nutzen die kleinstmögliche Anzahl an Mäusen, um statistische Unterschiede zwischen Kontroll- und Versuchsbedingungen darzustellen. Allerdings sind aufgrund der unabhängigen Variablen und der Variabilität der untersuchten Phänotypen größere Probenmengen für statistisch gültige Proben nötig. Eine gute Versuchsplanung sowie eine ordnungsgemäße Datenerhebung und -analyse werden die Anzahl der benötigten Versuchstiere minimieren. Falls ein spezielles Verfahren wiederholt im Labor eingesetzt werden sollte, wird es eine historische Kontrollaufzeichnung für dieses Verfahren geben. Im Rahmen des Möglichen werden wir keinen vollständigen Kontrollsatz durchführen, sondern stattdessen nur eine sehr geringe Anzahl von Kontrollen vornehmen und zeigen, dass sie in die historischen Kontrollgrenzen fallen.

Verfeinerung: Alle Verfahren werden von geschulten, mit den Techniken vertrauten Personen durchgeführt. Injektionen werden mit den kleinstmöglichen Nadeln ausgeführt und die verwendeten Mengen und Dosen entsprechen den Empfehlungen. Generell achten wir besonders darauf, daß alle chirurgischen Eingriffe mit optimierten Analgesieprotokollen durchgeführt werden. Auch ausreichende Erholungsphasen nach chirurgischen Eingriffen werden eingeplant. Für Teilbereiche unseres Projekts kommen Pilotstudien zum Einsatz um den experimentellen Aufbau zu optimieren hinsichtlich einer geringen Belastung der Versuchstiere und einer Verringerung der eingesetzten Versuchstiere.

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 Schaden und Nutzen

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

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

zu erwartender Schaden für die Tiere: An den Tieren werden tierexperimentelle Manipulationen, wie beispielsweise Injektionen, durch ungeübte Personen durchgeführt. Des Weiteren wird an einigen wenigen Tieren die Durchführung chirurgischer Eingriffe erlernt. In diesem Fall werden die Tiere nach Abschluss des Eingriffs aber aufrechter Narkose schmerzlos getötet.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

4440 Mäuse und 516 Ratten über einen Zeitraum von 3 Jahren

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

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

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

Verfeinerung: Die Teilnahme am praktischen Training ist nur für Personen möglich, die zuvor eine theoretische Prüfung über die Themen Recht, Ethik, Biologie, Tierpflege und Tiergesundheit, Schmerzerkennung und Schmerzbehandlung, Projektdesign, Prinzipien der humanen Tötung von Tieren, Anästhesie und tierexperimentelle Methoden erfolgreich abgelegt

haben. Im praktischen Training wird in Kleingruppen von maximal 4 Personen pro Trainer gearbeitet. Bei manchen Methoden, wie der intravenösen Injektion, wird lediglich in Einzeltrainings gearbeitet.

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

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

Das Hepatoblastom ist ein häufiger bösartiger Lebertumor im Kindesalter. Mithilfe der Forschung und der dadurch verbesserten Therapiemethoden konnte eine Verbesserung der Überlebensrate erzielt werden. Insbesondere der „Wettstreit“ um die Nährstoffe zwischen Krebszellen und dem Patienten hat sich in den letzten Jahren zu einem wichtigen Forschungsfeld entwickelt. Neueste Erkenntnisse der sogenannten Tumorkachexie haben gezeigt, dass verschiedenste bösartige Tumore in die zentralen Stoffwechselwege eingreifen. Es konnte gezeigt werden, dass es im Rahmen der Tumorkachexie zu einer Veränderung der Keimbiosiedlung im Darm und dadurch zu einem Anstieg entzündlicher Botenstoffe kommt. Diese Botenstoffe vermitteln über verschiedene Signalwege einen Abbau von Fett- und Muskelgewebe. Die Zusammensetzung der menschlichen Darmbakterien ist durch mehrere Faktoren beeinflussbar. In diesem Zusammenhang wurde eine mögliche Verbindung zwischen Lebergesundheit, Gallensäurenkonzentration im Stuhl und Darmbakterien festgestellt. Ziel dieses Projektes war es, mögliche Veränderungen der Darmbakterien als auch des Gallensäurenprofils in einem experimentellen Versuch des Hepatoblastoms zu bewerten. Durch die gewonnenen Daten konnte ein erster Schritt in Richtung supportiver Krebstherapie gemacht werden.

Schaden: Hepatoblastom Zellen wurden in Mäuse transplantiert und somit ein Tumor herangezüchtet. Die Veränderung in der Stoffwechsellage, dem Entzündungssystem, des Gallensäurenprofils und der Darmbakterien wurden im weiteren Verlauf untersucht. Die Versuchstiere standen unter ständiger Beobachtung, einerseits durch geschultes Tierpflegepersonal und andererseits durch die vor Ort anwesenden zuständigen Tiermediziner. In keinem der Fälle kam es zu offensichtlichem Leiden der Versuchstiere. Die Versuche wurden ohne Wiederherstellung der Lebensfunktion durchgeführt.

Nutzen: Für das Versuchstier selbst hatte der Eingriff keinen Vorteil. Jedoch sind die Erkenntnisse, die aus diesem Tierversuch gewonnen wurden, von großer Bedeutung für den Menschen. Die gewonnenen Ergebnisse werden in internationalen Journalen und als Fachbeiträge bei wissenschaftlichen Veranstaltungen veröffentlicht.

### 2. Art und Anzahl der Tiere:

Bewilligt wurden 30 Versuchstiere (Mäuse); Kontrollgruppe (n=15) und Tumorguppe (n=15); Zur Verwendung kamen 20 Versuchstiere; 10 Kontrollgruppe und 10 Tumorguppe;

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

Vermeidung: Die Untersuchung der Dauereffekte von Tumorkachexie auf Stoffwechsel, Entzündungssystem und Darmbakterien ist an ein Lebdntiermodell gebunden. Eine Durchführung von Tierversuchen in diesem Falle ist unumgänglich. Auch in der Zwischenzeit haben sich auf diesem Feld keine Simulationsmodelle ergeben.

Verfeinerung: Die Mäuse wurden einzeln gehalten, um schon in bisherigen Versuchen beobachtete Kämpfe zwischen den Tieren vorzubeugen. Es wurden Nestbaumaterial und/oder Häuschen zur Verfügung gestellt. Die Tierhaltung wurde in regelmäßigen Abständen vom zuständigen Tierarzt kontrolliert. Aus diesem Versuch konnten Erkenntnisse zur Verfeinerung zukünftiger Versuche gewonnen werden.

Verminderung: Es wurden so wenig wie möglich aber so viele Tiere wie nötig eingeschlossen, um für die Statistik aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten. Die statistisch erforderliche Gruppengröße beträgt 8. Um eventuelle Ausfälle zu kompensieren wurden im Projekt von 10 Tieren pro Gruppe (Untersuchungsgruppe und Versuchsreihe) verwendet. Eine weitere Reduktion der Gruppengröße erscheint aus derzeitiger Sicht nicht sinnvoll.

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

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

Ziel: Zucht und Haltung genetisch veränderter Labormäuse

Nutzen: Im Rahmen des Projektes wurden Labormäuse gezüchtet, die eine spontan entstandene oder gentechnisch induzierte Mutation in ihrem Erbgut trugen. Diese genetisch veränderten Tiere werden den Forschenden als wichtige Modelle zur Beantwortung zahlreicher Fragestellungen der biomedizinischen Grundlagenforschung zur Verfügung gestellt.

Schaden für die Tiere: Spezifische gentechnische Veränderungen des Erbmaterials können zu Belastungen der Versuchstiere führen, daher wurden diese Tiere engmaschig kontrolliert. Unter den in diesem Projekt angewandten Bedingungen kam es zu keiner erkennbaren Beeinträchtigung Allgemeinverhaltens und Wohlbefindens der Tiere. Tatsächlich beobachteter Schaden (Schweregrade) für die Tiere: Alle 1714 Tiere waren aufgrund ihrer Immundefizienz maximal geringgradig belastet.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

1714 Labormäuse (*Mus musculus*)

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

Vermeidung: Wechselwirkungen und das komplexe Zusammenspiel von Immun- und Tumorzellen einerseits und Organen andererseits können nur in einem Gesamtorganismus, d.h. in einem lebenden Tier, untersucht werden können.

Verminderung: Die Anzahl der zu züchtenden Versuchstiere erfolgte in enger Abstimmung mit den ProjektleiterInnen der spezifischen Forschungsprojekte. Es wurde daher nur jene Anzahl an Tieren gezüchtet, die für die Durchführung der einzelnen Forschungsprojekte unter dem Aspekt der Reduktion erforderlich sind.

Verfeinerung: Genotypische und altersabhängige phänotypische Veränderungen werden bei der Zucht und in der Haltung der Tiere berücksichtigt, indem bestimmte Genotypen nicht verpaart bzw. Altersgrenzen nicht überschritten werden. Die Tiere werden möglichst in Gruppen in angereicherter Umgebung (mit Nistmaterial und Häuschen/Rollen) gehalten sowie engmaschig kontrolliert. Invasive Methoden zur individuellen Kennzeichnung und Genotypisierung werden auf die unbedingt erforderliche Anzahl reduziert.

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

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

Die ischämische Herzerkrankung ist eine der führenden Todesursachen weltweit. Im akuten Herzinfarkt kommt es zur Rekrutierung von Entzündungszellen in das ischämische Herzmuskelgewebe. Diese Entzündungszellen erfüllen wichtige Funktionen in der akuten Wundheilungsreaktion nach einem Herzinfarkt aber auch in den später stattfindenden Adaptationsvorgängen des Herzens. Seit Jahrzehnten wird versucht durch eine Beeinflussung von Entzündungsreaktionen die ischämische Herzerkrankung positiv zu beeinflussen. Bis dato ohne Erfolg. Eine mögliche Ursache ist die breite und unselektive Beeinflussung vieler verschiedener Zelltypen durch Medikamente, die in der Vergangenheit untersucht wurden. Im jetzigen Projekt wurde die Auswirkung einer selektiv in die Signaltransduktion der Immunantwort eingreifenden Substanz (small molecule inhibitor) untersucht. Diese Substanz zeigt in Zellkultur Studien eine potente Suppression von Zellen der Immunantwort.

Nutzen: Eine Beeinflussung von Inflammation beim akutem Herzinfarkt zeigte bisher nur in präklinischen Studien Erfolge. Zumeist unter Einsatz genetisch definierter Mutationen in Modellorganismen. Im jetzigen Projekt wird versucht mittels eines selektiv wirkenden Inhibitors eine nicht-genetische, pharmakologische positive Beeinflussung des Heilungsprozesses nach Herzinfarkt zu erreichen. Diese Versuche sind eine Voraussetzung für eine spätere Translation und weitere klinische Erforschung der Inhibition von Entzündung im ischämischen Herzbau. Des Weiteren werden die Resultate dieses Projektes dazu beitragen, die Rolle einzelner Entzündungszelltypen in unterschiedlichen Phasen des Herzinfarkts besser zu verstehen und können somit zur zukünftigen Entwicklung weiterer Therapieansätze beitragen. Die Resultate der Studie zeigten keinen Überlebensvorteil nach Myokardinfarkt aber eine deutliche Reduktion der Erkrankungsschwere. Es kam zu einer Verbesserung der Kontraktionskraft des Herzens und Reduktion von Narbenbildung. Substanzen, welche diesen oder ähnliche Signalwege beeinflussen, werden bereits bei nicht-kardiologischen PatientInnen in Rahmen von klinischen Studien untersucht. Eine rasche Translation dieser Ergebnisse erscheint also möglich.

Schaden für die Tiere: Die Tiere erlitten einen experimentellen akuten Herzinfarkt, welcher schmerzhaft ist und mit einer post-operativen infarktbezogenen Mortalität assoziiert ist. Am Ende des Versuches wurden die Tiere getötet um das Gewebe analysieren zu können. Sämtliche Experimente werden unter potenter Schmerztherapie und unter Einsatz von Narkose durchgeführt. Die Tiere werden unter Aufsicht von ausgebildeten Tierpflegern, Tierärzten, und sachkundigen Wissenschaftlern gehalten. Bei einer nicht tolerierbaren Verschlechterung des Gesundheitszustandes oder Schmerzen wurden die Tiere in Narkose getötet.

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

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

Das Ziel dieser Studie war es, die Wirkung einer neuen Enzyersatztherapie gegen die Gaucher Krankheit im Mausmodell zu testen. Dabei wurde das Enzym durch ein Virus transduziert, das den Tieren intraventrikulär oder intracerebral injiziert wurde, um neuronal-bedingte Pathologien präventiv zu behandeln. Dadurch sollte der neuronale Phänotyp der Tiere verhindert werden. Dies war eine Folgestudie eines bereits bewilligten Antrags.

4L/PS-NA Mäuse weisen einen starken progressiven motorischen Phänotyp auf, der jedoch sehr robust und daher gut vorhersehbar ist. Bis zum Studienende im Alter von 18 Wochen entwickelten die Tiere wie erwartet einen mittelgradigen bis starken Tremor. Für die intraventrikuläre Behandlung mit den Viruspartikeln wurden die Tiere unter Allgemeinanästhesie stereotaktisch behandelt. Dadurch waren die Tiere mittelgradigem Stress und geringem Schmerz ausgesetzt, aber keinem Leid. Die Behandlung mit den Viruspartikeln wurde gut vertragen und es wurden keine Nebenwirkungen beobachtet. Sowohl die subkutane Injektion des Analgetikums als auch die intraperitoneale Injektion der finalen Narkose lösten bei den Tieren jeweils kurzzeitig geringen Stress und Schmerz, aber kein Leid aus. Mäuse die noch keine, oder nur leichte motorische Defizite hatten und wildtyp Geschwistertiere erfuhren durch den Wire Hanging Test, Rota Rod Test und Beam Walk Test geringen Stress, aber weder Schmerz noch Leid. Bei den älteren 4L/PS-NA Mäuse die bereits motorische Defizite aufwiesen, war der Stresspegel erhöht. Dadurch wurden diese Tiere mittelgradigem Stress, aber weder Schmerz noch Leid ausgesetzt. Nach der Operation mussten die Tiere einzeln gehalten werden, da die Gefahr aggressiver Auseinandersetzungen und von Manipulationen an den OP-Wunden zu groß war. Diese Einzelhaltung löste geringen Stress, aber weder Schmerz noch Leid aus und war für die Gesundheit der Tiere notwendig.

Durch diese Studie konnte untersucht werden, ob diese neue Substanz die neuronalen Symptome und Pathologien der Gaucher Krankheit verhindern oder aufhalten können. Sie stellte somit einen wichtigen Schritt in der Weiterentwicklung dieser potenziellen zukünftigen Therapiemöglichkeit dar.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie wurden insgesamt 120 4L/PS-NA Mäuse und 30 wildtyp Geschwistertiere beiden Geschlechts beantragt.

Diese Tierzahlen wurden gewählt, da eine erhöhte Variabilität durch die Substanzbehandlung erwartet wurde. Da diese geringer ausfiel als erwartet, konnte das Projekt rückblickend mit 81 4L/PS-NA Mäusen und 20 wildtyp Geschwistertieren durchgeführt werden.

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

**Vermeidung:** Um neue Substanzen gegen die Gaucher Krankheit zu testen ist es erforderlich, Tiermodelle für die Austestung neuer Testsubstanzen zu verwenden. Ersatzmethoden, wie z.B. Zellkulturen können zwar Ansätze liefern, für weitere Schritte müssen jedoch Tiermodelle zum Einsatz kommen, um möglichst vergleichbare Resultate zum Menschen zu erzielen.

**Verminderung:** In dieser Studie sollten pro Gruppe 15 Tiere verwendet werden. Diese Gruppengröße war im Vorfeld erforderlich, um statistisch signifikante Ergebnisse zu erzielen, da sich die Variabilität durch die intraventrikuläre Injektion und die Verhaltenstests erhöhen hätte können. Des Weiteren waren Reservetiere bei dieser Anzahl bereits inkludiert. Rückblickend konnten die Tierzahlen reduziert werden, da die Variabilität geringer ausfiel als angenommen.

**Verfeinerung: Stressminimierung:** An dieser Stelle soll ausdrücklich festgehalten werden, dass der Tierversuch unter Vermeidung aller mit dem Versuchszweck nicht notwendig verbundenen Belastungen durchgeführt wurde. Die Tiere wurden bereits vor Beginn der Studie durch so genanntes „Handling“ mit den involvierten Personen vertraut gemacht, um unerwünschte, stressbedingte, falschpositive bzw. falschnegative Ergebnisse zu vermeiden.

Gleichgeschlechtliche Tiere wurden bis zur Operation zusammen im Käfig gehalten, soweit es die Tierzahl erlaubte. Durch die Einzelhaltung nach der Operation konnten zusätzlicher psychischer Stress und Schmerzen durch Verletzungen der Operationswunden vermieden werden.

**Gesundheitszustand:** Generell gilt, dass zur Durchführung des Tierversuchs nur Tiere verwendet wurden, deren Gesundheitszustand einwandfrei war.

Alle Tiere standen unter ständiger Kontrolle. Erkrankte oder verletzte Tiere wurden in einem Patientenblatt vermerkt. Abhängig vom Schweregrad der Symptome entschied der Tierarzt über die weitere Behandlung oder Euthanasie der Tiere.

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

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

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

Infektionen der Lunge sind die häufigsten Infektionen mit tödlichem Ausgang. Die Lunge ist ein Organ, welches einerseits Krankheitserregern in der Atemluft ausgesetzt ist, andererseits aufgrund seiner feinen Beschaffenheit besonders empfindlich auf Entzündungen reagiert. Viele verschiedene Mechanismen spielen in der Abwehr von potentiell gefährlichen Krankheitserregern eine Rolle. Eine in der Lunge besonders häufige vorkommende Art von Immunzellen sind B-Zellen. Diese Zellen können Antikörper produzieren und nehmen deshalb eine Schlüsselrolle im Immunsystem ein. Trotzdem ist die Funktion von B-Zellen in der Lunge im Gesunden wie auch im kranken Zustand noch unzureichend erforscht.

Nutzen: Neue Erkenntnisse über die Abwehr von Bakterien durch das Immunsystem werden erwartet. Diese Erkenntnisse können sowohl für diagnostische als auch therapeutische Interventionen von Bedeutung sein.

Schaden für die Tiere: Einige der Tiere werden mit Bakterien infiziert, was zu einer Lungenentzündung führt, die im fortgeschrittenen Stadium zu Krankheitssymptomen führt und im schlimmsten Fall tödlich sein kann. Es traten rückblickend keine Todesfälle oder schwerwiegende Symptome auf.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

484 Mäuse.

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

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

Verminderung: Es wird zur Verminderung der Tierzahl bei sämtlichen Versuchen auf streng standardisierte Versuchsbedingungen Wert gelegt.

Verfeinerung: Sämtliche Eingriffe werden unter Narkose durchgeführt. Die Infektionen werden derart geplant, dass Krankheitssymptome so weit als möglich vermieden werden. Überlebensexperimente werden nur durchgeführt, wenn die vorherige Analyse der ohne maßgebliche Schmerzen oder Leiden verursachenden Versuche mit einer an Sicherheit grenzenden Wahrscheinlichkeit zu einem Überlebensunterschied führen. Da dies nicht gegeben war, wurden keine Überlebensversuche durchgeführt.

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

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

Pathogene Bakterien, die gegen Antibiotika resistent sind, stellen ein ernstzunehmendes weltweites Gesundheitsrisiko dar. Jedes Jahr sterben tausende Menschen an Infektionen mit solchen Antibiotikaresistenten Bakterien. Momentan gibt es keine wirksame Impfung gegen diese Bakterien. Dieses Projekt konnte einen Beitrag von bisher nicht berücksichtigten Komponenten der natürlichen Immunabwehr gegen krankheitserregende Bakterien enthüllen.

Nutzen: Die Erkenntnisse dieser Studie konnten das Verständnis der körpereigenen Abwehrmechanismen gegen Infektionen mit pathogenen Bakterien erhöhen. Letzten Endes können die Ergebnisse eine wichtige Grundlage für neue Strategien zur Vorbeugung oder Behandlung von bakteriellen Infektionen und inflammatorischen Erkrankungen beim Menschen darstellen.

Schaden für die Tiere: Infektionen mit gelegentlichem Auftreten von Krankheitszeichen. Die Belastung der Tiere wurde als „mittel“ eingestuft.

### 2. Art und Anzahl der verwendeten Tiere

1135 Mäuse unterschiedlichen Genotyps.

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

Vermeidung: Zur Vermeidung der Tierversuche wurden soweit möglich Versuche mit Zellkulturen durchgeführt, diese „in vitro“ Ergebnisse waren die Basis für alle weiterführenden Versuche. Des weiteren wurden zusätzliche Zellkulturversuche für zur Klärung detaillierter Mechanismen durchgeführt.

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

Verfeinerung: Die Infektionsstudien wurden derart verfeinert und durchgeführt, dass Leiden durch folgende Maßnahmen vermindert wurden: 1. sämtliche Eingriffe wurden unter Narkose durchgeführt; 2. die Infektionen und Endpunkte wurden so gewählt, dass Krankheitssymptome weitestgehend vermieden wurden; 3. zur Verminderung der Tierzahl wurde bei sämtlichen Versuchen auf streng standardisierte Versuchsbedingungen Wert gelegt; 4. Überlebensexperimente wurden auf Grund der aus Endpunktexperimenten erhaltenen Information als nicht notwendig erachtet und nicht durchgeführt.

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

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

#### Hintergrund

Blutplättchen können direkt mit Viren interagieren und dadurch Immunreaktionen verändern. Unsere präliminären Daten zeigten, dass thrombozytäre IgGs eine Rolle bei der Eindämmung von viralen Infektion spielen. Diese neue Erkenntnis deutete auf eine Art angeborenen Immunmechanismus von Blutplättchen, bei dem diese ihr serologisches Gedächtnis direkt an Orten der Infektion freisetzen.

Unsere Hypothese lautete daher, dass Blutplättchen und ihre Aktivierung eine wichtige Komponente für die angeborene Regulation der primären und Gedächtnis-Ig Reaktion bei viralen Infektionen darstellen.

#### Ziel der Tierversuche

Um die in vivo Relevanz unserer in vitro Daten zu evaluieren, planten wir eine Reihe von Mausexperimenten. Diese Experimente stellten einen bedeutenden Teil unseres Forschungsprojekts dar und sollten dazu beitragen die Auswirkung unserer Erkenntnisse und somit das Potential von Thrombozyten als neue Behandlungsmöglichkeit bei Infektionen zu evaluieren.

Spezifisch wurden im vorliegenden Tierversuchsantrag vier Subprojekte formuliert:

1. Die Rolle von Thrombozyten in viralen Infektionen
2. Die Rolle von Thrombozyten in Autoimmunerkrankungen
3. Die Rolle von Thrombozyten als IgG Speicher in viralen Infektionen
4. Die Rolle von FcRn in Megakaryozyten/Thrombozyten in viralen Infektionen

#### Ergebnisse

Unsere Ergebnisse zeigen, dass thrombozytäre Antikörper einen relevanten neuen Aspekt der humoralen Immunität darstellen und die Entstehung bzw. Entwicklung von viralen Infektionen reduzieren können. Thrombozytär freigesetzte IgGs haben dabei größere antivirale Wirkung als äquivalente Mengen von Plasma-IgGs, was auf eine lokale Freisetzung direkt am Ort der Infektion hindeuten könnte.

Schaden für die Tiere: Der größte Teil der Versuchsmäuse wurde keinen Belastungen ausgesetzt (Zucht, Organspende). Auch eine virale Infektion stellt nur eine leichte bis mittlere Belastung für die Mäuse dar. 21 Mäuse wurden einer Kollagen-induzierten Arthritis ausgesetzt, welche als schwer klassifiziert ist. Der Versuch wurde jedoch vorzeitig nach 3 Wochen beendet, bevor Arthritis-typische Symptome auftreten konnten wie z.B. Gelenkschwellungen oder Verlust der Greifstärke. Der tatsächlich aufgetretene Schweregrad betrug daher nur leicht.

Nutzen: Unsere Ergebnisse zeigen, dass thrombozytäre Antikörper einen relevanten neuen Aspekt der humoralen Immunität darstellen und die Entstehung bzw. Entwicklung von viralen Infektionen reduzieren können. Diese Ergebnisse wurden bereits publiziert. Unsere Ergebnisse könnten weiterreichende Implikationen haben. So könnten zukünftige Studien untersuchen, ob Thrombozyten als Transporteur für Antikörper oder andere Medikamente zum Ort der Infektion deren Wirksamkeit verstärken.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Es wurden 662 Mäuse des Stamms C57BL/6 verwendet; davon waren 462 unbelastet bis leicht belastet (Zucht, Organspende), 179 mittel belastet und 21 Mäuse schwer belastet.

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

Die den Experimenten zugrundeliegenden Hypothesen können nach dem derzeitigen Stand der Wissenschaft nur unter Verwendung von Versuchstieren geprüft werden. Es wurde die minimale Anzahl an Tieren, mit der aussagekräftige Ergebnisse erzielt werden konnten, verwendet. Schmerz- und Stresssituationen für die Tiere wurden bestmöglich vermieden: die Tiere erhielten schmerzstillende Mittel und wurden täglich von geschultem Personal kontrolliert. Bei Auftreten von Krankheitszeichen (eingeschränktes Ess-, Trink- und Bewegungsverhalten = Abbruchkriterien) wurden sie schmerzfrei euthanasiert.

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

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

Unsere Forschungsgruppe befasst sich mit der Entstehung und Behandlung chronisch entzündlicher Gallenwegserkrankungen wie der primär sclerosierenden Cholangitis (PSC) für die es bisher noch keine effektive Therapie (außer der Lebertransplantation) gibt. Ein charakteristisches Merkmal von Gallenwegserkrankungen wie der PSC ist die Anhäufung von Gallensäuren im Körper, insbesondere in der Leber, die Leberzellen zerstört und schwerwiegende Symptome wie den Juckreiz verursacht. Gallensäuren aktivieren unter anderem einen nuklearen Rezeptor und einen Membran Rezeptor. Diese Rezeptoren regulieren die Gallensäure-Homöostase und haben eine wichtige hemmende Wirkung auf Entzündungen sowie der Bindegewebsbildung in der Leber. Außerdem weist der Membranrezeptor bei PSC PatientInnen Mutationen auf. Daher haben wir uns zum Ziel gesetzt die Rolle beider Rezeptoren, insbesondere des Membranrezeptors in der Entwicklung von Gallengangsentzündungen im Mausmodell zu untersuchen.

Zu diesem Zweck wurde der Verlauf von entzündlichen Gallengangsschädigungen in verschiedenen Mausmodellen, die mit Gallensäurerezeptor aktivierenden Substanzen behandelt wurden oder in Mäusen, die den Membranrezeptor vermindert beziehungsweise verstärkt bilden, untersucht. Dadurch konnte gezeigt werden, dass die Aktivierung dieser Rezeptoren bei chronisch entzündlichen Gallenwegserkrankungen der Entzündung und Bindegewebsbildung mit daraus folgender Vernarbung des Lebergewebes vorbeugt.

Nachdem seit kurzem auch Medikamente verfügbar sind, welche diese Rezeptoren stimulieren, entstehen durch diese Untersuchungen auch neue Perspektiven für die medikamentöse Behandlung chronisch entzündlicher Gallenwegserkrankungen wie der PSC.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Für diesen rückblickenden Teil des Projektes wurden 672 Mäuse (*Mus musculus*) beantragt. Davon wurden bisher 173 transgene Mäuse eingesetzt. 92% der Mäuse waren einem geringen Schweregrad und 8% einem mittelgradigen Schweregrad ausgesetzt.

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

Vermeidung: Die Experimente wurden zunächst in einem gut etablierten Mausmodell für chronische entzündliche Gallengangsschädigungen durchgeführt. Es wurden keine weiteren Versuche in anderen Krankheitsmodellen durchgeführt, wenn die Hypothese mit den ersten Experimenten nicht bestätigt wurde. Außerdem wurden Experimente in einem Modell für akute Gallengangsentzündungen, das mit einem höheren Schweregrad an Schaden verbunden ist,

nicht durchgeführt, wenn ein therapeutischer Effekt der eingesetzten Substanzen im zuvor untersuchten Modell für chronische entzündliche Gallenwegserkrankungen gezeigt wurde.

Verminderung: Die Tierhaltung und das methodische Vorgehen unter standardisierten Bedingungen führen zur deutlichen Herabsetzung der Streuung der Ergebnisse. Ein weiterer Punkt für eine Verminderung der Versuchstiere ist die serielle Durchführung der geplanten Experimente. Konnte mit diesen Experimenten die Hypothese nicht bestätigt werden, werden keine weiteren Versuche durchgeführt.

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

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

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

Infektionen der Lunge durch Bakterien und Viren gehören zu den häufigsten und gefährlichsten Infektionskrankheiten weltweit. Um diese krankheitsauslösenden Keime wirksam zu entfernen, und anschließend eine Regenerierung des Gewebes zu erzielen, sind fein abgestimmte Prozesse notwendig. Diese beinhalten die Produktion von entzündungsfördernden aber auch entzündungshemmenden Mediatoren. Wir vermuten, dass Epithelzellen und Immunzellen in der Lunge eine wichtige regulierende Rolle in der Modulation der Immunabwehr von Influenza- und sekundären bakteriellen Infektionen spielt. Verschiedene Studien konnten bis jetzt zeigen, dass Immunzellpopulationen nach einer Influenza Infektion in ihrer Funktion gehemmt sind, dadurch Entzündungsreaktionen unterdrückt werden und somit die Anfälligkeit für bakterielle Infektionen erhöht wird. Diese Mechanismen sollen in diesem Projekt nun genauer analysiert werden. Ebenso wird überprüft, ob durch die Zugabe von entzündungshemmenden Mediatoren die Immunantwort so verändert werden kann, um neue Möglichkeiten der Therapie zu entwickeln. Die von uns durchgeführten Experimente identifizierten ein körpereigenes Molekül, das überschießende Entzündungsreaktionen während der Influenzainfektion dämpft und therapeutischen Nutzen haben könnte.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

1687 Mäuse (von 3022 bewilligten) wurden verwendet, hiervon waren 399 Tiere mit geringem, 1225 mit mittlerem und 63 Tiere mit schwerem Schweregrad.

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

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

**Verminderung:** Es wurde zur Verminderung der Tierzahl bei sämtlichen Versuchen auf streng standardisierte Versuchsbedingungen Wert gelegt.

**Verfeinerung:** Sämtliche Eingriffe wurden unter Narkose durchgeführt. Die Infektionen waren derart geplant, dass Krankheitssymptome so weit als möglich vermieden werden konnten. Überlebensexperimente wurden nur durchgeführt, wenn die vorherige Analyse der ohne maßgebliche Schmerzen oder Leiden verursachenden Versuche mit einer an Sicherheit grenzenden Wahrscheinlichkeit zu einem Überlebensunterschied führte. Wenn dies nicht gegeben war, wurden keine Überlebensversuche 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 Schaden und Nutzen

Das Bakterium *Staphylococcus (S.) aureus* ist ein Teil der normalen Bakterienflora des Menschen und besiedelt vor allem die Haut und die oberen Atemwege von 10-30% aller Menschen. Es kann aber auch schwere Infektionen verursachen, die zu Wundinfektionen und lebensbedrohenden Zuständen, wie etwa nekrotisierender Pneumonie, Sepsis und Toxic Shock Syndrome (TSS) führen können. Das TSS schädigt mehrere Organe schwer und verursacht unter anderem hohes Fieber und Blutdruckabfall. Durch die stark zunehmende Antibiotika-Resistenz von *S. aureus* stellen dessen Infektionen ein immer bedrohlicher werdendes Gesundheitsproblem dar. Besonders in Kliniken (z.B. auf Intensivstationen) kommt es nach Operationen und/oder durch eine geschwächte Immunabwehr zu Staphylokokken Infektionen mit schwerwiegenden Folgen. Die wirksame Impfung mit modifizierten Toxinen würde einen enormen Fortschritt für die Volksgesundheit bedeuten. Im Rahmen der Entwicklung von Staphylokokkenimpfstoffen müssen die für die Pathogenese verantwortlichen Virulenzfaktoren einzeln geprüft werden. In diesem Projekt soll nun die Wirksamkeit eines Kandidatimpfstoffes untersucht werden.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

12 Kaninchen - mittel

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

Die Untersuchungen der neu entwickelten Derivate finden zuerst in-vitro statt. Anschließend ist es aber notwendig die Toxizität und die Wirksamkeit der Substanzen in-vivo zu testen. Auf Grund regulatorischer Vorschriften, muss erwiesen werden, dass die Impfungen mit dem gut verträglichen nicht-toxischem Impfstoff von den schweren Folgen der toxischen Erkrankung schützen können. Dafür werden die minimal erforderlichen Tierzahlen verwendet, die für ein aussagekräftiges Ergebnis notwendig sind. Diese Kaninchen beweisen auch, dass dieser sicherer, unschädlicher Impfstoff gegen die toxische Erkrankung, die auch beim Menschen auftritt, schützt. Die Studie erfolgt unter standardisierten, kontrollierten Bedingungen. Die Tiere werden laufend beobachtet und die im Ansuchen genau vorgegebene Medikation zur Verminderung der toxischen Wirkung verabreicht. Ein Ersatz der Versuche durch in-vitro Methoden ist 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 Schaden und Nutzen

Das Ziel dieser Studie war die Untersuchung der akuten und chronischen Wirkung neuer Testsubstanzen gegen die Alzheimer Krankheit im Tiermodell. Durch diese Untersuchung war es möglich die Pharmakokinetik und –dynamik der Testsubstanzen zu untersuchen aber auch die Wirksamkeit der Substanzen auf die Pathologie der Alzheimer Krankheit zu testen.

Da die Substanzen zuvor noch nicht im Tier verwendet wurden, konnten unerwartete Nebenwirkungen im Vorfeld nicht ausgeschlossen werden. Rückblickend wurden die Substanzen gut vertragen und es kam zu keinen Nebenwirkungen. Durch die Implantation der Minipumpe wurden die Tiere aufgrund der Operation unter Allgemeinanästhesie mittelgradigem Stress, geringen Schmerzen, aber keinem Leid ausgesetzt. Die subkutane Injektion des Analgetikums und die intraperitoneale Injektion der finalen Narkose führten jeweils kurzzeitig zu geringem Stress und Schmerz, aber zu keinem Leid. Die Schwanzspitzenbiopsie zur Genotypisierung führte ebenfalls zu kurzzeitigem geringem Stress und Schmerz, allerdings zu keinem Leid. Nach der Operation mussten die Tiere einzeln gehalten werden, um eine gegenseitige Manipulation der Operationswunde zu verhindern. Diese Einzelhaltung löste geringen Stress, aber weder Schmerz noch Leid aus und war für die Gesundheit der Tiere notwendig. Die Blutentnahme erzeugte kurzzeitig geringen Stress und Schmerz, aber kein Leid. Es kam zu keinen Nebenwirkungen durch das Transgen und die Tiere wurden in ihrem Alltag nicht durch ihre genetische Veränderung beeinträchtigt.

Die endolysosomalen Proteasen Cathepsin B und C sind im Gehirn von Alzheimerpatienten stark erhöht und somit geeignet, um medikamentös reduziert zu werden, um das lysosomale System ins Gleichgewicht zu bringen. Hier wurden daher 5 Cathepsin D Inhibitoren auf ihre Aktivität und Wirksamkeit gegen die Pathologie der Alzheimer Krankheit untersucht.

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

Es wurden 330 5xFAD Mäuse und 80 nicht-transgene Geschwistertiere beider Geschlechter beantragt.

Aufgrund des allgemeinen Narkose- und Operationsrisikos enthielten diese Tierzahlen bereits Ersatztiere. Da die Implantation der Minipumpe allerdings sehr gut vertragen wurde konnte die Studie rückblickend mit nur 296 5xFAD Mäusen und 67 nicht-transgenen Geschwistertieren durchgeführt werden.

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

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

**Verminderung:** In dieser Studie sollten pro Gruppe bis zu 15 Tiere verwendet werden. Diese Gruppengrößen war im Vorfeld erforderlich, da eine große Anzahl an biochemischen und histologischen Untersuchungen vom Auftraggeber durchgeführt wurden und aufgrund des potenziellen Narkose- und Operationsrisikos Ersatztiere berücksichtigt werden mussten. Rückblickend konnten die Tierzahlen reduziert werden, da die Operation gut vertragen wurde.

**Verfeinerung: Stressminimierung:** An dieser Stelle soll ausdrücklich festgehalten werden, dass der Tierversuch unter Vermeidung aller mit dem Versuchszweck nicht notwendig verbundenen Belastungen durchgeführt wurde. Die Tiere wurden bereits vor Beginn der Studie durch so genanntes „Handling“ mit den involvierten Personen vertraut gemacht, um unerwünschte, stressbedingte, falschpositive bzw. falschnegative Ergebnisse zu vermeiden.

Gleichgeschlechtliche Tiere wurden bis zur Operation zusammen im Käfig gehalten, soweit es die Tierzahl erlaubte. Durch die Einzelhaltung nach der Operation konnten zusätzlicher psychischer Stress und Schmerzen durch Verletzungen der Operationswunden vermieden werden.

**Gesundheitszustand:** Generell gilt, dass zur Durchführung des Tierversuchs nur Tiere verwendet wurden, deren Gesundheitszustand einwandfrei war.

Alle Tiere standen unter ständiger Kontrolle. Erkrankte oder verletzte Tiere wurden in einem Patientenblatt vermerkt. Abhängig vom Schweregrad der Symptome entschied der Tierarzt über die weitere Behandlung oder Euthanasie der Tiere.

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

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

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

Patienten mit chronisch entzündlichen Gallenwegserkrankungen wie primäre biliäre Zirrhose und primäre sklerosierende Cholangitis leiden an einer Zerstörung der Gallenwege und der damit resultierenden Ansammlung an toxischer Galle in der Leber. Es kommt zur Leberfibrose und Zirrhose, das dann schlussendlich auch zu Leberkrebs führen kann. Aufgrund der Schwere dieser Erkrankungen und der unzureichend wirksamen Medikamenten ist oft eine Lebertransplantation die einzige wirkliche Therapie. Die Ursachen für die Entstehung dieser Erkrankungen sind bis dato unklar. Jedoch weiß man, dass Entzündungsprozesse eine wesentliche Rolle für den Krankheitsverlauf spielen. Heme oxygenase-1 (HO-1) scheint als ein Enzym, das während Entzündungen und durch andere Stressfaktoren hoch reguliert wird, eine schützende Funktion in der Leber innezuhaben. Zudem dürfte es in der Zusammensetzung der Galle sowie deren Fluss beeinflussen. Dennoch ist die physiologische als auch die pathologische Bedeutung dieses Enzyms noch unklar. Daher wollen wir molekulare Mechanismen von HO-1 studieren. Zu diesem Zweck verwenden wir transgene Mausmodelle, die entweder dieses Enzym vermehrt oder gar nicht besitzen. Diese Studie trägt zum Verständnis der molekularen Mechanismen in der Entstehung und des Fortschreitens von cholestatischen Leberkrankheiten bei. Das Wissen über die molekularen Mechanismen von cholestatischen Leberkrankheiten ist ein Grundstein für die Entwicklung neuer und effektiver Therapieansätze.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Mus Musculus

Anzahl: 640

davon verwendet: 0 (Projekt wurde eingestellt)

### 3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung) – Text hier eingeben

Vermeidung: Zur Verringerung beziehungsweise Vermeidung der Tierexperimente werden in vitro Experimente durchgeführt. In diesen Zellkultur-Experimenten werden wir die Überexpression von normalen und mutierten Lipasen (in der Zellkultur) studieren. Aufgrund dessen ist die Verabreichung dieser Komponenten an Tiere nicht notwendig.

Verminderung: Um die minimal notwendige Anzahl an Tieren zu gewährleisten werden die Experimente sequentiell durchgeführt. Falls die erste Pilotstudie unsere Hypothese nicht belegt, werden keine weiteren Versuche durchgeführt.

Verfeinerung: Alle angeführten experimentellen Techniken wurden in unserem Labor optimiert und werden von erfahrenen Wissenschaftern durchgeführt um best mögliches Wohlergehen der Versuchstiere zu gewährleisten.

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

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

Das Bronchuskarzinom ist eine der häufigsten Todesursachen in Europa und eine effiziente Therapie im metastasierten Stadium der Erkrankung existiert nicht. Der vorliegende Tierversuch hatte daher das Ziel, die Effekte einer Hemmung oder Überexpression von ANGPTL4, eines im Tumor vorkommenden Faktors, zu untersuchen, um dessen Auswirkungen auf das Tumorstadium und das Metastasierungsverhalten des Bronchuskarzinoms zu untersuchen. In den Versuchen sollte das Tumorstadium von Bronchuskarzinomzellen und von einer aus der Maus isolierten, metastatischen Zelllinie in Nacktmäusen etabliert werden. In weiterer Folge sollte das Potential dieser Zellen hinsichtlich des primären Tumorstadiums und der Metastasierungsrate untersucht werden. Zusätzlich sollte der Einfluss von ANGPTL4 auf das Tumorstadium untersucht werden. Nach den Tierversuchen wurde das Tumorgewicht bestimmt und es wurden RNA/Proteinanalysen und immunhistochemische Untersuchungen des Tumorgewebes durchgeführt. Zur Beurteilung der Metastasenbildung sollten zudem die Organe (Lymphknoten, Lunge, Leber, Niere und Hirn) entnommen und immunhistochemisch bzw. zellbiologisch auf Metastasen untersucht werden.

Die zu erwartenden Resultate sollten das Wissen um die bis dato unklare Rolle von ANGPTL4 bei Wachstum und Metastasierung des Bronchuskarzinoms erweitern und idealerweise neue therapeutische Möglichkeiten bei der Behandlung des Bronchuskarzinoms aufzeigen.

### 2. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere

Im vorliegenden Tierversuch sind 234 athymische Nacktmäuse beantragt worden. Es wurden insgesamt 48 athymische Nacktmäuse verwendet. Das Primärtumorstadium von Bronchuskarzinomzelllinien nach der Behandlung mit ANGPTL4-Protein wurde in diesen Mäusen untersucht. Damit wurde ein wesentliches Projektziel erreicht. ANGPTL4 hat einen signifikanten Effekt auf das Tumorstadium gezeigt. Der dabei höchste tatsächlich aufgetretene Schweregrad war mittel (0 Mäuse gering belastet, 48 Mäuse mittel belastet, 0 Mäuse schwer belastet).

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

Im Sinne der „3R“ werden die Tiere für Untersuchungen für mehrere Fragestellungen gleichzeitig verwendet. Es werden die Auswirkungen auf das Primärtumorstadium des Tumors untersucht. Molekularbiologisch wurden auch Metastasierungsparameter im Gewebe des Primärtumors untersucht, die für die Tumorstadiumprogression entscheidend sein könnten. Dadurch konnte 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, konnte die Zahl der Tiere zusätzlich gering gehalten werden, da die bereits erhobenen Daten für den vorliegenden Versuch genutzt werden konnten. Zusätzlich wurde die benötigte Anzahl an Tieren, die für gute Ergebnisse nötig ist (statistische Fallzahlberechnung und Aufbau der Experimente) auf ein Minimum reduziert. Auf der Grundlage der durchgeführten Experimente wird zukünftig die Konzeption eines optimierten Versuchsdesign mit einer geringeren Tierzahl ermöglicht.

Verfeinerung: Auf eine allgemein gute Pflege und Behandlung durch erfahrenes Personal wurde geachtet. Die individuelle Streuung wurde durch standardisierte Versuchsbedingungen auf ein Minimum gesenkt, der Stress der Versuchstiere wurde minimal gehalten. Zusätzlich wurden die Tiere über den gesamten Versuchsverlauf von mit der Durchführung des Experimentes beauftragten erfahrenem Personal sorgfältig beobachtet (allgemeiner Eindruck, Gewicht, eventuelle Anzeichen von Schmerzen oder Leiden,

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

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

Ziel des beantragten Tierversuches war es, ein umfangreiches Verständnis der Immunantwort (Zytokinproduktion von T-Zell-Subtypen) nach protektiver Vakzinierung und Infektion mit *H. meleagridis* bei Hühnern und Puten zu gewinnen.

Nutzen: Die Identifizierung der Zusammenhänge des Immunschutzes stellte neben dem allgemeinen Erkenntnisgewinn über Mechanismen und Funktion des Immunsystems einen bedeutenden Nutzen im Zusammenhang mit der Entwicklung von Vakzinen gegen parasitäre Erkrankungen dar.

Schaden für die Tiere: Die Tiere wurden mittels Kropfsonde mit virulenten bzw. attenuierten Histomonaden von Hühnern und Puten infiziert und geimpft. Die Infektion führte bei 3 Puten zu einem leicht beeinträchtigtem Allgemeinverhalten an 2 aufeinanderfolgenden Tagen, während sämtliche andere Tiere keine klinischen Symptome zeigten. Der tatsächlich beobachtete Belastungsgrad für die verwendeten 36 Hühner und 78 Puten war daher geringgradig.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

36 Hühner und 78 Puten

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

Vermeidung: Ein detailliertes Verständnis der durch *H. meleagridis* ausgelösten T-Zellgesteuerten Immunantwort beim Geflügel konnte nur durch Verwendung von lebenden Tieren der Zielspezies erreicht werden. Ein Ersatz des Tierversuchs war daher nicht möglich.

Verminderung: Die Tierzahl wurde aufgrund statistischer Berechnungen so weit wie möglich vermindert, ohne den wahrscheinlichen Erfolg des Tierversuchs zu gefährden.

Verfeinerung: Aufgrund genau definierter Abbruchkriterien wurde unnötiges Tierleid vermieden.

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

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

All-trans Retinsäure (atRA) ist eine körpereigene, von Vitamin A abgeleitete Substanz, die unter anderem die Vermehrung und Ausreifung von Blutzellen reguliert. Aufgrund dieser Eigenschaft wird atRA mit großem Erfolg und geringen Nebenwirkungen in der Behandlung einer bestimmten Form der akuten myeloischen Leukämie (AML), nämlich der akuten Promyelozytenleukämie (APL), eingesetzt. Im Gegensatz dazu waren bisherige klinische Studien von atRA in anderen Formen von AML - einer aggressiven, oft tödlich verlaufenden Erkrankung, die durch eine Vielzahl verschiedener molekularer Veränderungen hervorgerufen werden kann - kaum oder gar nicht erfolgreich.

Aufgrund von Erkenntnissen der letzten Jahre wird davon ausgegangen, dass bei der Behandlung von Leukämien nur durch das Abtöten einer bestimmten Subpopulation der Leukämiezellen, nämlich der sog. leukämischen Stammzellen, ein Wiederauftreten der Erkrankung verhindert werden kann. Die Wirkung von atRA auf leukämische Stammzellen war zuvor nur unzureichend erforscht worden, und wurde daher im Rahmen des gegenständlichen Projekts untersucht. Da Stammzeleigenschaften unter im Labor zur Erhaltung und Vermehrung von Zellen verwendeten Bedingungen nur für sehr kurze Zeit erhalten werden können, waren dazu Tierversuche notwendig.

Schaden für die Tiere: Die Versuchsmäuse erkrankten an Leukämie. Um ihr Leiden zu minimieren, wurden ihnen im Trinkwasser Schmerzmittel verabreicht, und sie wurden bei Krankheitsmanifestation schmerzfrei euthanasiert.

Ergebnisse: Die Untersuchungen zeigten, dass der Effekt von atRA auf AML-Stammzellen von der Identität der die AML verursachenden molekularen Veränderungen abhängig ist. atRA kann - je nach molekularen Gegebenheiten - sowohl negative (leukämie-hemmende) als auch positive (leukämie-fördernde) Auswirkungen auf AML Stammzellen haben. Vor allem das letztere Ergebnis ist neu und völlig unerwartet; ebenso die Tatsache, dass atRA je nach molekularem Hintergrund diametral entgegengesetzte Wirkungen auf AML-Stammzellen hat. Auch wenn weitere Forschungsarbeiten vonnöten sind, könnten diese Ergebnisse einen ersten Schritt in Richtung einer maßgeschneiderten Anwendung von atRA und verwandten Substanzen in der Therapie der AML darstellen ("Präzisionsmedizin").

#### 2. Art und Anzahl der Tiere

Es wurden 516 Mäuse des Stamms C57BL/6 verwendet; davon waren 20 unbelastet, der Rest entwickelte AML und war somit schwer belastet.

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

Die den geplanten Experimenten zugrundeliegende Hypothese kann nach dem derzeitigen Stand der Wissenschaft nur unter Verwendung von Versuchstieren geprüft werden. Es wurde die minimale Anzahl an Tieren, mit der aussagekräftige Ergebnisse erzielt werden konnten, verwendet. In sämtlichen Experimenten wurden Schmerz- und Stresssituationen für die Tiere vermieden: Tiere wurden täglich von geschultem Personal kontrolliert und bei Anzeichen einer Leukämieentwicklung (eingeschränktes Ess-, Trink- und Bewegungsverhalten = Abbruchkriterien) schmerzlos euthanasiert.

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

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

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

Infektionen der Lunge sind die häufigsten Infektionen mit tödlichem Ausgang. Die Lunge ist ein Organ, welches einerseits Krankheitserregern in der Atemluft ausgesetzt ist, andererseits aufgrund seiner feinen Beschaffenheit besonders empfindlich auf Entzündungen reagiert. Viele verschiedene Mechanismen spielen in der Abwehr von potentiell gefährlichen Krankheitserregern eine Rolle. Eine in der Lunge besonders häufige vorkommende Art von Immunzellen sind B-Zellen. Diese Zellen können Antikörper produzieren und nehmen deshalb eine Schlüsselrolle im Immunsystem ein. Trotzdem ist die Funktion von B-Zellen in der Lunge im Gesunden wie auch im kranken Zustand noch unzureichend erforscht.

Nutzen: Neue Erkenntnisse über die Abwehr von Bakterien durch das Immunsystem werden erwartet. Diese Erkenntnisse können sowohl für diagnostische als auch therapeutische Interventionen von Bedeutung sein.

Schaden für die Tiere: Einige der Tiere werden mit Bakterien infiziert, was zu einer Lungenentzündung führt, die im fortgeschrittenen Stadium zu Krankheitssymptomen führt und im schlimmsten Fall tödlich sein kann. Es traten rückblickend keine Todesfälle oder schwerwiegende Symptome auf.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

484 Mäuse.

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

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

Verminderung: Es wird zur Verminderung der Tierzahl bei sämtlichen Versuchen auf streng standardisierte Versuchsbedingungen Wert gelegt.

Verfeinerung: Sämtliche Eingriffe werden unter Narkose durchgeführt. Die Infektionen werden derart geplant, dass Krankheitssymptome so weit als möglich vermieden werden. Überlebensexperimente werden nur durchgeführt, wenn die vorherige Analyse der ohne maßgebliche Schmerzen oder Leiden verursachenden Versuche mit einer an Sicherheit grenzenden Wahrscheinlichkeit zu einem Überlebensunterschied führen. Da dies nicht gegeben war, wurden keine Überlebensversuche durchgeführt.

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

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

Im vorliegenden Versuch sollte die Wirkung zweier phytogener Zusatzstoffe auf die Aufzuchtleistung von 192 Ferkeln (8-30 kg) bzw. eines phytoenen Stoffes auf die Mast- und Schlachtleistungsparameter von 60 Mastschweinen (32-115 kg) untersucht werden. Unter österreichischen Bedingungen mit Mais-basierenden Futterrationen sollten die phytoenen Futterzusatzstoffe in der Ferkelaufzucht gegen eine Positivkontrolle getestet werden. In der Schweinemast wurde neben den Effekten des Phytobiotikums in einer Ration mit handelsüblichem Proteinlevel auch die Eignung in einer proteinreduzierten Ration untersucht. Um mögliche geschlechtsspezifische Unterschiede in der Wirkung phytoener Stoffe herausarbeiten zu können wurden sowohl weibliche Tiere als auch Kastraten verwendet.

Die Ziele des Ferkelversuches konnten nicht erreicht werden, da aufgrund des Auftretens von starkem Durchfall und daraus resultierend acht Tieraussfällen der Versuch vorzeitig abgebrochen wurde. Es wurden 64 der geplanten 192 Ferkeln verwendet.

Die Ziele des Mastschweineversuches konnten erreicht werden. Es wurden alle 60 geplanten Tiere verwendet.

Nutzen: Viskositätserhöhende oder prooxidative Futterbestandteile können den tierischen Organismus beeinträchtigen, was schlimmstenfalls die Leistung vermindert. Bevor sich diese Veränderungen jedoch in der tierischen Leistung widerspiegeln, kann die Darmfunktionalität oder die Qualität der tierischen Lebensmittel betroffen sein. Durch den Einsatz von phytoenen Zusatzstoffen im Schweinefutter soll daher der Wirkmechanismus auf die oxidative Stabilität im Verdauungstrakt sowie im Schweinefleisch einerseits aber auch die entzündungshemmenden Effekte im Organismus andererseits, beleuchtet werden. Es soll untersucht werden, durch welche dieser physiologischen Parameter die erwartete Leistungsverbesserung durch den phytoenen Zusatz am stärksten beeinflusst wird. Dazu werden zusätzlich nicht-invasive Techniken etabliert, um Veränderungen der Darmgesundheit bereits während der Aufzucht- und Mastphase der Schweine vorhersagen zu können.

Schaden für die Tiere: Zweimalige Blutprobenahme (Tag 1 und 6) bei Absetzferkel (bei 8kg bzw 8,5kg Lebendmasse) Erwarteter Schweregrad „gering“, tatsächlicher Schweregrad durch Auftreten von Durchfall und Tieraussfällen „schwer“.

Zweimalige Blutprobenahme bei Mastschweinen (bei 32kg und bei ~70kg Lebendmasse) Erwarteter Schweregrad „mittel“, tatsächlicher Schweregrad: „mittel“

## 2. Art und tatsächliche Anzahl der Tiere

64 Ferkel + 60 Mastschweine

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

**Vermeidung:** Die Forschungsfrage kann nicht über Ersatzmethoden beantwortet werden, da Ausscheidungsprodukte, Verdaulichkeiten, Darmfunktionalität, resultierende Fleischqualität eines intakten und gesunden Organismus untersucht werden müssen.

**Verminderung:** Bei beiden Experimenten sollten Blutproben der Tiere zu Beginn, in der Mitte des Versuchs sowie zu Versuchsende gezogen werden. Zur Minimierung des Schmerzes, Leidens und Ängste sollte beim Ferkelversuch die Probenahme „Mitte“ und „Ende“ sowie beim Mastschweineversuch die Probenahme „Ende“ während dem Ausbluten der Tiere im Rahmen der Schlachtung genommen werden. Damit reduzierte sich der Bedarf an Blutprobenahmen am lebenden Tier auf den Versuchsbeginn (tatsächlich 64 der beantragten 192 Ferkel und 60 Mastschweine), Versuchstag 6 (tatsächlich 64 der beantragten 192 Ferkel), sowie zur Mitte des Versuchs (60 Mastschweine).

**Verfeinerung:** Es wurden Kot und Blutproben von Ferkeln und Mastschweinen gezogen. Die Analyse verschiedener Markersubstanzen in diesen biologischen Proben soll – eine Korrelation mit den Leistungsdaten der Tiere vorausgesetzt – in Zukunft herangezogen werden können, um mittels nicht- bzw. wenig-invasiven Methoden den Gesundheits- und Leistungszustand der Nutztiere bereits während der Aufzucht bzw. Mastphase verfolgen zu können. Tiere hatten Eisenketten mit daran befestigtem Weichholz zum Erkunden. Die Blutprobenahme wurde von erfahrenen Tierärzten durchgeführt.

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

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

Die gesunde Harnblasenfunktion bedarf einer fein abgestimmten Koordination zwischen der Harnblase und dem Harnröhrensphinkter. Die Komplexität der neuronalen Steuerungskreise macht die Harnblasenfunktion angreifbar für eine Reihe von Verletzungen und Erkrankungen, vor allem durch jene die das periphere oder zentrale Nervensystem betreffen, zum Beispiel eine Querschnittsverletzung. Nach einer kompletten Querschnittsverletzung kommt es zur Entstehung einer neurogenen Harnblasendysfunktion. Besonders schwerwiegend ist dabei die Detrusor-Sphinkter Dyssynergie, bei der die neuronale Dyskoordination dazu führt, dass der Harnblasenmuskel, der Detrusor, kontrahiert, während gleichzeitig eine Relaxation des Harnblasensphinkters unterbunden wird. Hohe Blasendrucke sind die Folge. Diese führen über einen längeren Zeitraum neben der Schädigung des unteren Harntraktes auch zu Schäden des oberen Harntraktes, die bis zur Nierenschädigung und final zu einem irreversiblen Nierenversagen führen können. Mittels einer Harnblasenmessstation für Kleintiere, in der die Harnblasen- und Harnröhrensphinkter-funktion in wachen Ratten gemessen werden kann, können verschiedene Therapieansätze auf ihre Wirkung auf die Harnblase getestet werden. Um die Effektivität und Sicherheit eines Arzneistoffes für die Therapie der neurogenen Harnblasendysfunktion bei Querschnittspatienten zu ermitteln, muss sowohl die Harnblasenfunktion als auch die Harnröhrensphinkterfunktion gemessen werden. Es gibt derzeit zwei pharmakologische Therapieansätze, die bei einer neurogenen Harnblasendysfunktion angewendet werden können, um Verbesserungen der Funktion und damit der Lebensqualität herbeizuführen. In diesem Projekt soll nun ein bekannter Arzneistoff auf seine Effektivität für neurogene Harnblasendysfunktionen bei querschnittgelähmten Ratten während eines geeigneten Therapiezeitfensters beobachtet werden. Die Ergebnisse dieser Studie belegen, dass der getestete Arzneistoff einen positiven Einfluss auf die Harnblasenfunktion der querschnittsgelähmten Ratte hat. In der Kontrollgruppe der nicht-behandelten querschnittsgelähmten Ratten kam es, wie erwartet, nach der initialen, zweiwöchigen akontraktilen Phase zur Entwicklung einer neurogenen überaktiven Harnblase mit Detrusor-Sphinkter Dyssynergie im Verlauf der vier Wochen Follow up nach Läsion. Im Gegensatz dazu kam es in der behandelten Gruppe querschnittsgelähmter Ratten zu einer Rückkehr der physiologischen Speicher- und Entleerungsfunktion mit einer deutlichen Reduktion der neurogenen Detrusorüberaktivität sowie einer Verbesserung der Entleerungsfunktion mit Verminderung der Inkontinenzhäufigkeit sowie einer physiologischen entleerten Urinmenge. Der Harnröhrensphinkter war ebenfalls weniger neurogen. Zusammenfassend zeigt diese Studie, dass eine früh beginnende Therapie mit diesem Arzneistoff zum Zeitpunkt der kompletten Querschnittsläsion die Harnblasenfunktion wieder in Richtung einer physiologischen Speicher- und Entleerungsfunktion verschieben kann. Eine

Entstehung der Detrusor-Sphinkter Dyssynergie kann gänzlich vermieden werden und dies wiederum schützt den oberen Harntrakt und verbessert über einen längeren Zeitraum die Lebensqualität.

Nutzen: Im Rattenmodell mit zugrundeliegender kompletter Querschnittsläsion konnte eine Verbesserung der Harnblasenfunktion während der vierwöchigen Nachverfolgungszeit aufgezeigt werden. Eine Klinikstudie ist nun in Planung.

Schaden für die Tiere: Der angegebene und tatsächliche Schweregrad „schwer“ stimmten überein. Aufgrund der Schwere der Querschnittsläsion sowie der Tatsache, dass in einem Drittel der Tiere Abbruchkriterien vorzeitig erreicht wurden, war der Schweregrad „schwer“ gerechtfertigt. Im Verlauf des Follow up's verbessert sich der Gesundheitszustand der Ratten merklich, jedoch ist der höchste erreichte Schweregrad während des gesamten Projektes schwer. Die Implantation des Blasenverweilkatheters sowie der Elektroden hat keinen Einfluss auf die Gesundheit der Ratten und muss aufgrund des Eingriffs in Vollnarkose mit mittel bewertet werden. Während des Follow up's bewerten wir den Schweregrad der Kontrolltiere ohne Querschnittsläsion mit gering.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Es wurden 62 Ratten (Stamm Lewis, weiblich, 12 Wochen alt bei Einschluss) in die Studie eingeschlossen.

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

Vermeidung: Um Erkenntnisse über eine Therapie zur Behandlung der neurogenen Harnblasendysfunktion zu erlangen, ist die Kommunikation zwischen dem Endorgan Harnblase und dem Nervensystem unerlässlich. Die pathologischen Veränderungen des unteren Harntraktes nach einer kompletten Querschnittsläsion in Tiermodell Ratte und dem Menschen sind vergleichbar und daher können Therapieergebnisse in Ratten schnell in die Klinik übersetzt werden.

Verminderung: Aufgrund des implantierten Blasenverweilkatheters sowie Elektroden kann jedes Tier als eigene Kontrolle herangezogen werden. Dies führt zu einer deutlichen Reduktion der Tieranzahl, die benötigt wird, um auf eine statistisch verwertbare Anzahl an Tieren zu kommen.

Verfeinerung: Die allgemeine Narkose gemäß den Richtlinien für Nagetiere wird sorgfältig überwacht. Durch die analgetischen Maßnahmen bis zum fünften Tag postoperativ und einer antibiotischen Abschirmung während der gesamten Follow up Zeit, sollen Schmerzen und Infektionen (insbesondere Wundinfektionen bei der Katheteraustrittsstelle sowie an der Rückenmarksverletzung) vermieden werden. Eine tägliche mehrfache Kontrolle durch Projektmitarbeiter zur Überprüfung des Gesundheitszustandes wurde durchgeführt. Dabei

wurden die Tiere eingehend auf jegliche Anzeichen von Schmerzen, Infekten oder Verletzungen überprüft. Die Unterbringung der querschnittsverletzten Tiere wird an ihre Bedürfnisse angepasst (weiche Einstreu, Futterversorgung, Trinkwasserzugang, Käfigreinigungshäufigkeit).

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

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

Da nahezu alle Schweine mit dem Erreger *Actinobacillus pleuropneumoniae* (A.pp.) besiedelt sind und es unter dem Einfluss von bestimmten Triggerfaktoren, wie z.B. klimatischem Stress oder Koinfektionen, zu Krankheitsausbrüchen kommt, sollte der Status der persistenten Infektion in Hinblick auf Zytokinexpression und zelluläre Immunität in unterschiedlichen Lokalisationen des Respirationstraktes untersucht werden. Das Projektziel war zu zeigen, ob die Zytokinexpression in der chronischen Krankheitsphase ein anti-inflammatorisches Milieu widerspiegelt, das die Erregerpersistenz begünstigt. Die Bedeutung von oligo-funktionalen Effektor T-Zellen sowie IL17A-produzierenden inflammatorischen T-Zellen für die Protektion sollte untersucht werden. Das Projektziel wurde erreicht, da die Beteiligung einer Subpopulation von für Kapselextrakt von A.pp.-spezifischen IL-17 produzierenden T-Zellen (CD4+CD8dim IL-17A), die vermutlich Th17 Zellen darstellen, am Krankheitsgeschehen gezeigt werden konnte. Außerdem konnte gezeigt werden, dass sich die Immunreaktionen an verschiedenen Lokalisationen im Respirationstrakt unterscheiden. In den Tonsillen, dem Ort der Erregerpersistenz bei gesunden Tieren, konnte ein anti-inflammatorisches Milieu durch eine erhöhte IL-10-Expression dargestellt werden.

Nutzen: Detaillierte Kenntnisse über die Immunantwort gegen A.pp. sowie über immune-escape Mechanismen des Erregers können künftig hilfreich bei der Bekämpfung von A.pp. sein. Langfristig wird die Entwicklung von hochwirksamen Impfstoffen angestrebt, die eine persistente Infektion mit allen daraus resultierenden negativen Folgen für das Schwein verhindern. Die Ergebnisse dieser Studie liefern Grundlagen für die Bewertung von zukünftigen Impfstoffen in Bezug auf die zelluläre Immunitätsentwicklung.

Schaden für die Tiere: Durch die experimentelle A.pp. Infektion kam es vorübergehend zu einem Anstieg der inneren Körpertemperatur, leichter Atemnot und Husten. Bei 22 Schweinen wurde durch die Blutprobenentnahmen eine geringgradige Belastung, bei 6 Schweinen bedingt durch vorübergehende Erhöhung der Körpertemperatur und stärkerem Husten eine mittelgradige Belastung und bei zwei Tieren eine schwere Belastung beobachtet.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

30 Schweine

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

Vermeidung: Es stehen bis dato keine adäquaten Ersatzmethoden zur Verfügung, um die komplexen Erreger-Wirt-Interaktionen, z.B. die spezifischen immunologischen Reaktionen in

den verschiedenen Lokalisationen des Atemtraktes, während der Persistenzphase der Infektion zu untersuchen.

Verminderung: Durch aufwendige Laboranalysen wurde die Anzahl der verwendeten Tiere auf das statistisch erforderliche Minimum beschränkt. Es wurde zu allen Probenahmezeitpunkten ausreichend Material gewonnen, um neben ex-vivo Analysen auch Probenmaterial für spätere Versuche zu kryokonservieren um diese zu einem späteren Zeitpunkt zu untersuchen und weitere Tierversuche verringern zu können.

Verfeinerung: Während des gesamten Tierversuchs wurde auf die physiologischen Bedürfnisse des Schweins Rücksicht genommen. Die Schweine wurden in Kleingruppen aufgestellt und hatten ständig Zugang zu frischem Wasser und Futter.

Die Einhaltung einer einwöchigen Adaptationsphase ermöglichte den Tieren die Gewöhnung an die neue Umgebung. Beschäftigungsmaterial in Form von Ketten, Beißkugeln und -ringen wurde zur Verfügung gestellt. Das Wohlergehen der Tiere wurde täglich durch geeignetes Personal überprüft. Probennahmen wurden auf das erforderliche Minimum beschränkt. Bei Auftreten von Schmerzen und Leiden wurden die Tiere umgehend mit geeigneten Analgetika und Antibiotika behandelt. Kriterien zum Abbruch des Versuchs waren definiert worden, mussten jedoch aufgrund der milden Krankheitsverläufe nicht angewendet werden.

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

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

Futterzusatzstoffe werden immer häufiger eingesetzt, u.a. weil sie das Immunsystem der Fische stimulieren. Ziel des Projekts war es, die Auswirkungen dieser Immunstimulation auf die Impfstrategie von Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*) gegen den Erreger der Rotmaulkrankheit (*Yersinia ruckeri*) zu untersuchen.

Nutzen: Der Nutzen dieses Versuchs bestand darin, die Effektivität von Impfungen zu steigern und dadurch den Schutz der Fische vor einer mit schweren Symptomen verbundenen Erkrankung zu verbessern.

Schaden für die Tiere: Ein Teil der Tiere war den mit der Infektion verbundenen Belastungen ausgesetzt; an allen Tieren wurden Blutentnahmen durchgeführt. Die infizierten und ungeimpften Fische (60 Tiere) zeigten die für die Rotmaulseuche typischen Krankheitsanzeichen (z.B. Hämorrhagien an den Flossen, im Maul- und Afterbereich, Exophthalmus, Hypertrophie von Milz und Niere), wobei die Ausprägung der Symptome zwischen den verschiedenen Fütterungsgruppen variierte. Geimpfte Fische (120 Tiere) haben keine Anzeichen der Rotmaulseuche gezeigt.

#### 2. Art und Anzahl der verwendeten Tiere:

360 Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*)

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

Vermeidung: Da die komplexe Interaktion zwischen dem Immunsystem der Regenbogenforellen, dem Futterzusatzstoff und dem Pathogen untersucht wurde, war die Verwendung lebender Tiere unerlässlich.

Verminderung: Die Anzahl der Versuchstiere wurde auf Grundlage der Erfahrungen mit der Untersuchung anderer Futterzusätze festgelegt und auf jene Anzahl beschränkt, die zur Erzielung eines statistisch aussagekräftigen Ergebnisses erforderlich war.

Verfeinerung: Jegliches Handling der Fische wurde auf das unbedingt erforderliche Ausmaß reduziert, um Disstress zu minimieren. Um die Wasserqualität zu sichern, wurden die Fische in einem Durchflusssystem mit adäquater Sauerstoffversorgung

gehalten. Eine Kontrolle der Tiere erfolgte mindestens dreimal täglich, ab dem Zeitpunkt der Infektion jedoch in 2-Stunden-Intervallen. Um Anzeichen einer Infektion objektiv erfassen zu

können, wurden Score Sheets verwendet. Fische, die Anzeichen einer Infektion zeigten, wurden unverzüglich fachgerecht euthanasiert.

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 Schaden und Nutzen

Verschiedene, früher terminale Krankheiten werden heute mittels Organtransplantation therapiert. Entscheidend dafür waren große Fortschritte in der immunsuppressiven Therapie, die Abstoßungsreaktionen gegen das transplantierte Organ verhindert. Trotz aller Erfolge ist diese Therapie nicht frei von Nebenwirkungen, da das Risiko einer Infektion bedeutend grösser ist als im immunologisch kompetenten Patienten und bei immunsupprimierten Patienten vermehrt maligne Prozesse sowie metabolische Störungen auftreten. Eines der Ziele in diesem Projekt war es, ein Transplantationsmodell mit SA-1 Zellen bei Mäusen zu etablieren. Dieses Modell basiert auf der Suppression der adaptiven Immunantwort und verwendet Cyclosporin A als Vergleichssubstanz. Mit diesem Tiermodell sollte MAM-08.101 und zwei seiner Derivate auf seine immunsuppressive Wirkung getestet werden. Es war aber nicht möglich, dieses Modell anhand publizierter Angaben einer Forschergruppe zu etablieren, da es nicht gelang, die für die Testung der immunsuppressiven Substanzen erforderlichen Tumore zu induzieren bzw. das Wachstum zu erhalten.

Nutzen: Gelingt es, immunmodulatorische bzw. immunsuppressive Medikamente mit einem möglichst kleinen Spektrum an Nebenwirkungen zu entwickeln, so würde dies die Behandlung bzw. die Lebensqualität und Lebenserwartung von Transplantationspatienten deutlich verbessern. In vitro-Experimente haben gezeigt, dass MAM-08.101 und seine Derivate Erfolg versprechende Kandidaten für die Entwicklung eines solchen Medikaments sein könnten, da gezeigt werden konnte, dass diese Substanz in der Lage ist, T Zellen (Jurkat T Zellen, eine humane T-Zell Leukämiezelllinie), selektiv zu inhibieren, ohne die Degranulation von Mastzellen und die Stimulation von dendritischen Zellen zu beeinflussen. Das Projekt musste aufgrund fehlender Tumorinduktion frühzeitig abgebrochen werden.

Schaden für die Tiere: Durch die subcutane Implantation der SA-1 Zellen sollte ein Tumor induziert werden. Die Zellen sind bei den meisten Mäusen anfänglich gut angewachsen und haben auch solide, mit der Schublehre gut messbare Tumoren gebildet. Nach ca. 10 Tagen haben sich die Tumoren aber verkleinert und bei manchen Tieren auch vollständig zurückgebildet. Dadurch war die Belastung der Tiere deutlich niedriger als erwartet. Die Mäuse zeigten weder ein beeinträchtigtes Allgemeinbefinden noch eine Gewichtsabnahme.

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

106 Mäuse

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

**Vermeidung:** Vor der Planung des Tierversuchs waren alle in vitro-Methoden ausgeschöpft worden.

**Verminderung:** Die Anzahl der Tiere wurde im Rahmen der Versuchsplanung durch eine Risikoabschätzung so gering wie möglich gehalten. Für den Versuch war jene Anzahl an Tieren vorgesehen, die bei planmäßiger Durchführung des Versuchs unbedingt erforderlich gewesen wäre, um statistisch aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten.

**Verfeinerung:** Die Mäuse wurden in Gruppen von 10 Tieren in TYP III-Käfigen gehalten. Den Mäusen stand pelletiertes Standardfutter sowie Wasser ad libitum zur Verfügung. Als Enrichment-Maßnahmen erhielten die Tiere Nestbaumaterial und Papier. Zusätzlich wurden ihnen Kartonrollen und Häuschen bereitgestellt, um weitere Rückzugsmöglichkeiten zu bieten. Die Haltung der Tiere entsprach hinsichtlich Einstreu, Temperatur, Luftfeuchtigkeit, Lichtprogramm und Raumbelüftung den artspezifischen Bedürfnissen der Tiere. Die Adaptionszeit für das neue Umfeld und Neugruppierungen betrug ca. eine Woche.

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

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

Projektziel: Studienziel der Pilotstudie war festzustellen, ob sich die Menge an Urinproteinen, den sogenannten “major urinary proteins” oder “MUPs” im Urin von männlichen Hausmäusen in Abhängigkeit ihres Gesundheitszustands verändert und daher für Paarungspartner (Weibchen) bzw. Rivalen eine zuverlässige Vorhersage über Männchenqualität und -kondition liefert. Durch eine experimentelle Infektion sollten kausale Zusammenhänge ergründet werden.

Nutzen der Studie: Die Pilotstudie sollte wichtige neue Ergebnisse über die Funktion von MUPs liefern. Abweichend von der Strichcodehypothese, die u.a. davon ausgeht dass MUPs eine hohe Variation zwischen Individuen aufweisen und somit zur Verwandtenerkennung und Inzuchtvermeidung verwendet werden kann, deuten andere Ergebnisse darauf hin, dass MUPs zuverlässige Hinweise auf den Gesundheitszustand und die allgemeine Verfassung von männlichen Tieren liefern können. So wurde zum Beispiel gefunden, dass die Produktion von MUPs während einer parasitären Infektion absinkt. Bisher waren Studienergebnisse zu diesem Zusammenhang jedoch korrelativ, sodass experimentelle Studien wie die vorgelegte dringend genaue Aufklärung liefern müssen. Die Pilotstudie lieferte außerdem Daten, über die mittels Power Analyse die nötige Stichprobengröße für mögliche weitere, größere Studien ermittelt werden konnte. Schaden für die Tiere während der Studie: Um das Projektziel zu erreichen, wurden männliche Mäuse zunächst gegen den Salmonellen-Erreger geimpft und später eine sekundäre Infektion mit einem avirulenten *Salmonella enterica* Stamm durchgeführt (bzw. schein-durchgeführt in der Kontrollgruppe). Durch die Impfung hatte die experimentelle Infektion keine schädlichen Auswirkungen auf das Wohlergehen der Tiere.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

15 *Mus musculus musculus*

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

Vermeidung: Experimentelle Studien sind notwendig, um bisher gefundene, aber rein korrelative Zusammenhänge zwischen der MUP Produktion bzw. -regulation und dem Gesundheitszustand der Tiere zu ergründen und die Kausalitäten zu erfassen.

Verminderung: Die Pilotstudie wurde mit nur 15 Individuen durchgeführt, davon 10 in der Testgruppe und 5 in der Kontrollgruppe. Diese Vorgehensweise wurde gewählt, um sowohl die Anzahl der verwendeten Tiere so gering wie möglich zu halten als auch eine möglicherweise nötige Wiederholung der Pilotstudie aufgrund von zu kleiner Stichprobengröße und daraus resultierend statistisch nicht verwertbaren Daten zu vermeiden.

Verfeinerung: Die am Versuch teilnehmenden Mäuse wurden vor der experimentellen Infektion gegen den Erreger geimpft, sodass bei der sekundären Infektion das Immunsystem zwar moduliert werden musste, jedoch die allgemeine Gesundheit der Tiere nicht gefährdet war. Die Versuchstiere wurden während der Versuchsdauer räumlich separiert, verblieben aber in ihrem gewohnten Käfig, sodass die Umwelt der Mäuse sich während des Experiments nicht veränderte und kein zusätzlicher Stress entstand. Die Mäuse wurden täglich auf ihr Wohlergehen kontrolliert (optische Kontrolle der Maus im Käfig). Die Urinsammlung, die vor,

während und nach der experimentellen Periode durchgeführt wurde, erfolgte nicht invasiv in „metabolischen Käfigen“. Diese können mit wenigen, einfachen Schritten und ohne direkten Kontakt zwischen Mensch und Maus und somit stressreduziert betrieben werden. Die Mäuse bzw. gesammelte Urinmenge wurden während des Verbleibs der Tiere im metabolischen Käfig durchgehend beobachtet und dadurch die Aufenthaltsdauer auf das nötigste Minimum reduziert.

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

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

**Projektziel:** Nach Austestung und Optimierung verschiedener Einflussfaktoren (Dosis, Applikationshäufigkeit, Lang- und Kurzzeitversuche) konnte das Hauptziel, eine Verbesserung der Anämie, erreicht werden. Dank einer detaillierten Aufarbeitung der gewonnen Proben, wurde außerdem ein besseres Verständnis für die Wirkung des neuen Therapeutikums erreicht. Bis dato sind alternative Therapien zu EPO zur Behandlung der Anämie der chronischen Erkrankung weiterhin rar. Aufgrund der ungewünschten Nebenwirkungen von EPO sind neue Therapiestrategien dringend von Nöten.

**Nutzen:** Mit Hilfe dieser Experimente konnte eine Basis für weitere Schritte, die letztendlich zum Einsatz dieses Therapeutikums bei der chronischen Anämie im Menschen führen sollen, geschaffen werden. Außerdem planen wir die Erkenntnisse aus diesen Experimenten in nächster Zeit in einem Fachjournal zu publizieren, sodass die gewonnenen Erkenntnisse der Öffentlichkeit zur Verfügung stehen.

**Schaden für die Tiere:** In weiblichen Lewis Ratten wurde mittels Applikation einer Substanz (PG-APS) eine chronische Gelenkentzündung ausgelöst. Es wurde im Zuge dieser Experimente insg. 215 weibliche Lewis Ratten verwendet. In 68 % dieser Tiere kam es zum Auftreten des höchsten Schweregrades. Unter laufender tierärztlicher Überwachung konnten wir aber dokumentieren, dass aufgrund der von Beginn an laufender Schmerztherapie die Ratten keine Anzeichen von Schmerz oder Stress zeigten.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Es wurde im Zuge dieser Experimente insg. 215 weibliche Lewis Ratten verwendet

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

Vorab konnten wir die potentielle Wirksamkeit des Therapeutikums in Zellkulturversuchen zeigen. Diese Zellkulturexperimente dienten dazu, die nötigen Tierzahlen für die Dosisfindungsexperimente zu reduzieren. Weitreichendere Aussagen zur Wirkung auf die Blutbildung sind aber im Zellversuch leider limitiert, sodass das oben beschriebene Tierversuchsmodell zum Einsatz kam. Die Datenaufzeichnung erfolgte genau so, wie im Antrag beschrieben wurde, sodass eine optimale Strukturierung und Durchführung der Versuche gewährleistet werden konnte. Die Ratten wurden fachgerecht gehalten und von ausgebildeten Tierpflegern betreut und täglich beurteilt. Ebenso kümmerte sich ein Tierarzt um das Wohl der Tiere. Am Ende des Versuchs wurden die Ratten tief narkotisiert.

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

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

**Projektziel und Nutzen:** Die Projektziele wurden erreicht. Es wurden wichtige Erkenntnisse zu Nervenzellen (bzw. Klassen von Nervenzellen), die, wenn ihre Funktion beeinträchtigt ist, zur Entstehung von Epilepsie führen können gewonnen. Es konnte nachgewiesen werden, dass die Entstehung von Epilepsie unabhängig von Nervenzellverlusten ist (es genügt eine Beeinträchtigung der Funktion einzelner Zellen).

**Schaden für die Tiere:** Die Belastung der Mäuse bestand in einer einmaligen stereotaktischen Injektion eines viralen Vektors in das Gehirn der narkotisierten Mäuse sowie bei einigen Tieren zusätzlich in der Setzung eines kabellosen Transmitters zur Erfassung der Gehirnaktivität (EEG). In weiterer Folge wurde das EEG der Mäuse ununterbrochen bis zu 6 Wochen lang aufgezeichnet. In diesem Zeitraum entwickelten etwas 2/3 der Mäuse kurze (ca. 30 Sekunden) epileptische Anfälle (1-2 Anfälle pro Woche). Die Anfälle wurden von den Mäusen gut vertragen und kurz nach Anfallsende zeigten die Mäuse wieder ihr normales Verhalten.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Insgesamt wurden für die Versuche 109 Mäuse verwendet. Der maximal aufgetretene Schweregrad der Belastung der Mäuse war mit „mittel“ einzustufen.

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

**Vermeidung:** Es wurde ein Teil der Versuche an Hirnschnitten durchgeführt. Die an jeder Maus post mortem durchgeführten neurochemischen Untersuchungen liefern wertvolle zusätzliche Erkenntnisse ohne zusätzliche Belastungen. Unser nächster Projektantrag baut diesen Ansatz aus.

**Verminderung:** Es konnte auf die Pilocarpinexperimente verzichtet werden. Durch die Möglichkeit eines Langzeit-Monitorings an frei beweglichen Mäusen konnte die Zahl der eingesetzten Tiere verringert werden.

**Verfeinerung:** Die chirurgischen Methoden wie auch die Auswertungen wurden laufend überprüft, mit denen anderer Labors verglichen und verbessert.

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

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

Bakterien, die Infektionen auslösen, können oft die Abwehrreaktion im Körper des Erkrankten beeinflussen- nicht nur der Erkrankte wehrt sich gegen das Bakterium, sondern das Bakterium wehrt sich auch gegen den Angriff des Immunsystems. Bei einigen Krankheiten kommt es etwa dazu, dass die Bakterien rote Blutkörperchen auflösen. Wir vermuteten, dass ein körpereigener Stoff, welcher bei dieser Auflösung frei wird, die Abwehrreaktion des Erkrankten negativ beeinflusst, so dass die Erreger weniger gut bekämpft werden können. Dieser Mechanismus soll in diesem Projekt sichergestellt werden. Ebenso wird überprüft, ob sich dieser Stoff wieder aus dem Erkrankten abfangen lässt, und so der negative Effekt auf das Immunsystem verhindert werden kann, was neue Möglichkeiten der Therapie bieten würde.

Nutzen: Diese Untersuchungen haben unser Verständnis der Immunantwort verbessert und uns erlaubt den bisher unbekannten Mechanismus der Hämolyse-assoziierten Infektionsgefahr zu entdecken. Dieses Wissen wird es erlauben neue Therapieansätze zu entwickeln, wir konnten auch einen prinzipiellen Beweis dafür liefern.

Schaden für die Tiere: Infektionen mit systemischer Entzündungsreaktion sind mit Krankheitszeichen verbunden, und können in schweren Fällen tödlich verlaufen.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Es wurden hierfür sogenannte C57Bl/6 Mäuse unterschiedlichen Genotyps verwendet, wobei einem Teil der Tiere bestimmte Moleküle, die bei der Abwehr von Infektion maßgeblich beeinflussen, fehlten. In Summe wurden von 1074 für diese Experimente eingeplanten Tiere 420 bisher verwendet. Tatsächlicher Schweregrad: gering (-), mittel (322 Tiere), schwer (98 Tiere).

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

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

Verminderung: Zur Verminderung der Tierzahl wurde bei sämtlichen Versuchen auf streng standardisierte Haltungs- und Versuchsbedingungen Wert gelegt;

Verfeinerung: Die Infektionsstudien wurden derart verfeinert und durchgeführt, dass Leiden durch folgende Maßnahmen vermindert wurde: 1. Wurden sämtliche Eingriffe unter Narkose durchgeführt; 2. Wurden die Infektionen derart geplant, dass Krankheitssymptome so weit als möglich vermieden wurden; 3. Wurde zur Verminderung der Tierzahl bei sämtlichen Versuchen

auf streng standardisierte Versuchsbedingungen Wert gelegt; 4. Wurden Überlebensexperimente nur durchgeführt, wenn die vorherige Analyse der ohne maßgebliche Schmerzen oder Leiden verursachenden Versuche mit einer an Sicherheit grenzenden Wahrscheinlichkeit zu einem Überlebensunterschied führten. Wenn dies nicht gegeben war, wurden keine Überlebensversuche durchgeführt.

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

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

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

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

Schaden für die Tiere: Den Tieren werden Zellen injiziert, welche zur Bildung von soliden Tumoren führen. Sollte es zu einer deutlichen Beeinträchtigung der Mobilität oder des Allgemeinzustandes des jeweiligen Tieres kommen, stellt dies ein Abbruchkriterium für den Versuch dar. Der Schweregrad der durchgeführten Versuche hat „mittel“ nicht überschritten. Die Tiere zeigten keine Auffälligkeiten wie reduzierte Futteraufnahme, Gewichtsverlust oder veränderte Mimik während der gesamten Versuchsdauer. Oft war nur geringes, bzw. kein Tumorwachstum zu beobachten. Die tatsächlichen Belastungen waren demnach zum Teil wesentlich geringer als erwartet.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden insgesamt 920 Mäuse für 3 Jahre benötigt. Davon wurden 137 verwendet (mittel=56, gering=81).

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

Vermeidung: Bei den geplanten Experimenten wird die Auswirkung des Fehlens oder das vermehrte Vorhandensein eines Proteins im Organismus untersucht. Aus diesem Grund ist es nicht möglich, Erkenntnisse durch alternative Methoden wie Zellkultur zu gewinnen. In diesen,

für den medizinischen Fortschritt wichtigen Untersuchungen, wird jedoch immer auf eine möglichst geringe Belastung der Versuchstiere geachtet.

Verminderung: Es wird großer Wert darauf gelegt, die Projektversuche nur mit jener minimalen Anzahl an Mäusen durchzuführen, die statistisch notwendig ist, um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten.

Verfeinerung: Die Tiere werden unter Standardbedingungen in Gruppen gehalten und von ausgebildetem Personal gepflegt. Um das Wohlbefinden zu steigern und den Zuchterfolg zu erhöhen wird den Tieren Enrichment in Form von Nistmaterial und Häuschen zur Verfügung gestellt.

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

### 1. Angaben über die Projektziele, einschließlich Schaden und Nutzen

Das Projektziel bestand darin, Erkenntnisse über die natürliche Regeneration von Knorpeln und Sehnen in fetalem und adultem Gewebe zu gewinnen, um die Regenerationsprozesse in fetalem Gewebe für die Entwicklung neuer Therapieformen für Sehnen- und Knorpeldefekte nutzbar machen zu können.

Nutzen: Die Erkenntnis über fetale Regenerationsprozesse sollen die Entwicklung neuer Therapien für Sehnen- und Knorpelverletzungen ermöglichen.

Schaden für die Tiere: An den Versuchstieren wurden minimal-invasive, chirurgische Eingriffe zur Erzeugung von Knorpel- und Sehndefekten sowie Kaiserschnitte vorgenommen. Bei allen in den Versuch inkludierten Tieren war der tatsächlich aufgetretene Schweregrad als „mittel belastet“ einzustufen.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

59 Schafe

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

Vermeidung: Die Fragestellung konnte nur am lebenden Gesamtorganismus untersucht werden, sodass die Anwendung von Ersatzmethoden nicht möglich war. Verminderung: Die für den Versuch nötige Tierzahl wurde statistisch berechnet und auf jene Anzahl beschränkt, die für statistisch signifikante Ergebnisse erforderlich war. Durch die laufende Auswertung der Daten konnte der Versuch mit einer geringeren Anzahl an Tieren beendet werden als ursprünglich vorgesehen, da signifikante Ergebnisse bereits zu einem früheren Zeitpunkt nachweisbar waren.

Verfeinerung: Um Stress und Schmerzen für die Tiere zu reduzieren wurden Anästhetika, Analgetika und Antibiotika eingesetzt und die am wenigsten belastenden chirurgischen Methoden gewählt. Die Tiere waren intensiven Kontakt mit Menschen gewöhnt und wurden während der ganzen Projektdauer in stabilen Kleingruppen gehalten, um haltungsbedingten Stress zu minimieren.

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

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

Das Projektziel wurde teilweise erreicht. Wir konnten ein Parkinson-Frühstadium Mausmodell entwickeln dass ein gestörtes angeborenes Angst-/Risikoverhalten aufweist. Störungen in gelerntem Angstverhalten werden durch das Modell jedoch nicht reflektiert. Nichtsdestotrotz kann das Modell für weiter Untersuchungen hinsichtlich Medikamentstudien und Risikofaktor-Entstehung für pathologische Angst herangezogen werden. Die Belastung der Mäuse bestand aus einer stereotaktischen Injektion des Neurotoxins 6-Hydroxydopamine in eine selektive Hirnregion und aus milden Elektroschocks obwohl nur bei einem Teil der Tiere. In diesem Projekt haben wir die Bedingungen der Furchtkonditionierung optimiert um die Belastung der Tiere zu minimieren. Deswegen halten wir die Belastung der Tiere als „mittel“ statt „schwer“ zu sein. Insgesamt wurden 289 von 300 bewilligten Mäusen für diese Studie verwendet.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Insgesamt wurden 289 von 300 bewilligten Mäusen für diese Studie verwendet.

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

Replace (Vermeiden): Eine Vermeidung der Verwendung von Tieren ist in dieser Art von Experimenten zu dieser Zeit nicht möglich, da komplexe Verhalten die durch die Interaktion mehrerer Hirnregionen zustande kommen momentan weder vorhergesagt noch in Menschen in dieser Art untersucht werden können.

Reduce (Verringern): Wir verringerten die Anzahl an benötigten Tieren soweit wie möglich durch das Anwenden von Verhaltensbatterien. Dadurch konnten wir mehr Daten von einem einzelnen Tier gewinnen ohne es zu überfordern.

Refine (Verbessern): Während dieses Projekts optimierten wir die Bedingungen der Furchtkonditionierung um die Belastung der Tiere zu minimieren. Zusätzlich wurden nach Ende der Datensammlung für dieses Projekt kleinere Glaskanülen für die Injektionen in selektive Hirnregionen etabliert die nun die größeren Metalkanülen langfristig ersetzen. Die chirurgischen Methoden wie auch die Auswertung und Sammlung der Daten werden laufend überprüft, mit anderen Labors verglichen und gegebenenfalls verbessert.

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

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

Das Projektziel lag in der Aufklärung molekularer Mechanismen, die zur Entstehung von Leukämien in Mensch und Tier beitragen um neue therapeutische Targets oder molekulare Marker dieser Erkrankungen zu identifizieren. Diesbezüglich wurde besonders die Rolle von programmiertem Zelltod (Apoptose) hinterfragt. Dies geschah in der Regel in verschiedenen Experimenten in Zellkultur, wobei primäre Zellen aus Mausstämmen mit Zelltod-Defekten und veränderter Tumorneigung isoliert wurden. Im Besonderen sollte hier die Rolle eines zelltodhemmenden Proteins untersucht werden. Es war geplant Knochenmark aus Spendertieren nach Euthanasie zu entnehmen und durch einbringen von Onkogenen zu verändern und in immunsupprimierte Empfänger Tiere transplantieren. Diese Versuche wurden aufgrund negativer Daten in Zellkultursystemen ausgesetzt. Alternativ dazu sollten Neugeborene Mäuse mit viralen Partikeln inokuliert werden, um Tumorentstehung auszulösen. Von 11 verschiedenen Mausstämmen, die für diese und andere geplanten Untersuchungen gezüchtet wurden, kamen nur zwei Linien in Pilotstudien zum Einsatz. Danach wurde der Versuch abgebrochen, da sich auch im Versuchstier kein Unterschied zwischen den beiden Gruppen nachweisen ließ. Die Arbeitshypothese wurde somit falsifiziert. Die Belastung und der Schaden am Tiere im Experiment war jedoch durchwegs als „schwer“ einzustufen.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Es wurden dabei 18 Mäuse verwendet.

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

Vermeidung: Die Verwendung alternativer Methoden ist gegenwärtig nur beschränkt möglich. Krebserkrankungen sind multifaktorielle Pathologien, die in Zellkultur nur in äußerst limitiertem Masse abgebildet werden können. Der Großteil der geplanten Untersuchungen nutzt jedoch Zellmaterial aus den erwähnten Mauslinien vor Entstehung der eigentlichen Pathologie.

Verminderung: Die Versuchsreihe wurde nach Falsifizierung der Arbeitshypothese in einem Pilotexperiment abgebrochen.

Verbesserung: Die Tiere wurden in Gruppen zu je 4-7 Tieren gehalten (soziale Tiere) und hatten in jedem Käfig Einstreu, Stroh als auch ein Häuschen als Rückzugsmöglichkeit. Männchen wurden nach Bedarf auch einzeln gehalten, um Verletzungen durch Revierkämpfe zu vermeiden. Eine engmaschige Überwachung der Tiere im Versuch erfolgte dreimal Wöchentlich und nach Eintreten erster Symptome täglich durch zwei fachkundige und betraute Personen. Dies erlaubte jedoch ein rasches Erkennen der definierten Abbruchkriterien. Nach Erreichen eines dieser Kriterien wurden die Tiere rasch für die Analyse mittels Genickbruch getötet.