

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

Verletzungen der Hornhaut gehören zu den häufigsten Verletzungen des menschlichen Auges. Hornhautschäden treten z.B. als Folge von Fremdkörperverletzungen oder durch spitze Traumata auf und sind mit erheblichen Schmerzen verbunden. Weiters können unvollständig abgeheilte Verletzungen oder Narbenbildung zu einer andauernden Sehbeeinträchtigung führen. Die Standardtherapie für diese oberflächlichen Hornhautschäden beinhaltet aufgetragene Vitamin A-haltige Salben, oft auch in Kombination mit Antibiotikasalben. Diese Augensalben bleiben jedoch nur kurz an der Augenoberfläche haften und können durch ihre Viskosität das Sehen beeinträchtigen.

Ziel der vorliegenden Studie ist es, die Wirkung eines neuen Biopolymers auf die Wundheilung von oberflächlichen Hornhautverletzungen zu untersuchen. Dazu wird die Wundheilung der Hornhaut am Tiermodell des Kaninchenauges mittels optischer Kohärenztomographie gemessen und der Heilungsverlauf untersucht. Es soll dabei die Hypothese getestet werden, dass das neue Biopolymer die Wundheilung fördert und es zu einer schnelleren und narbenfreien Heilung der verletzten Hornhaut kommt. Das verwendete Biopolymer ist sehr gut verträglich und Daten aus vorangegangenen Studien lassen einen positiven Effekt auf die Wundheilung erwarten.

24Kaninchen

Es steht derzeit kein ausreichend komplexes in vitro Ersatzmodell für die durchzuführenden Versuche zur Verfügung. Aufgrund der Invasivität des Versuchs (Induktion eines Hornhautepithelschadens an der Augenoberfläche ) kann der Versuch nicht am Menschen durchgeführt werden. Die zu applizierenden Versuchssubstanzen gelten auf Grund von in der Literatur beschriebenen Tests als unbedenklich. Basierend auf der verfügbaren Literatur wurde für den Hauptversuch eine Fallzahlberechnung zur Reduktion der benötigten Gruppengrößen bei gleichzeitigem Erhalt von aussagekräftigen Ergebnissen durchgeführt. Alle Haltungs- und Versuchsbedingungen sind standardisiert, um die Streuung der Versuchsergebnisse möglichst gering zu halten.

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

Eisenmangel ist der häufigste ernährungsbedingte Mangelzustand weltweit, welcher neben der Anämie auch mit erhöhter Blutplättchenanzahl assoziiert ist. Diese erhöhte Blutplättchenanzahl könnte ein erhöhtes Risiko zur Thrombose darstellen, und einige Studien deuten darauf hin. Patientinnen mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen (CED) leiden oft an Eisenmangel, da der entzündete Darm einen Blutverlust verursacht. In dieser Patientengruppe ist Thrombose eine häufige Komplikation. Eisentherapie normalisiert die Blutplättchenanzahl und Blutplättchenaktivität in Patienten mit CED und Eisenmangel. Dies unterstützt die These, dass Eisenmangel einen direkten Einfluss auf die Plättchenbildung hat.

Ziel der vorgeschlagenen Studie ist es, anhand eines Tiermodells den direkten Einfluss von Eisenmangel auf die Blutplättchen- und Thrombosebildung zu erforschen. Weiters wird der Einfluss von Eisentherapie auf die bereits erwähnten Ergebnisse untersucht.

Ein Zusammenhang zwischen Eisenmangel und thromboembolischen Ereignissen könnte die Grundlage eines neuen Therapiekonzepts darstellen, welches potentiell tödlichen thromboembolischen Komplikationen entgegenwirken könnte.

Für die Studie werden insgesamt 244 Ratten benötigt.

Da In-vitro-Versuche die Mechanismen der Blutplättchenbildung und folgende Thrombosebildung nicht widerspiegeln können, sind In-vivo-Untersuchungen unumgänglich. Die Tierzahl wurde mittels Fallzahlberechnung auf die Mindestzahl kalkuliert. Die Haltung der Tiere erfolgte nach den FELASA Richtlinien in einem „enriched environment“.

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

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

Prophylaxe und Therapie von Nahrungsmittelallergien

IgE-vermittelte Nahrungsmittelallergien stellen eine immer häufiger werdende immunologische Erkrankung besonders in industrialisierten Ländern dar. Spezifische Immuntherapie wird derzeit bei Nahrungsmittelallergien durch das große Risiko für anaphylaktische Nebenwirkungen nicht durchgeführt. Derzeit wird als Standardtherapie nur die konsequente Vermeidung der Allergie-auslösenden Lebensmittel empfohlen. Die Entwicklung von sicheren Allergieimpfstoffen ist daher ein wesentliches Ziel. Dabei spielt die Eliminierung der IgE Antikörper-Bindungsstellen auf den Allergenen eine wichtige Rolle. Dadurch können sie im Zuge der Allergieimpfung keine IgE-vermittelten allergischen Reaktionen mehr auslösen. Derartig veränderte Proteine liegen nun für 2 klinisch relevante Nahrungsmittelallergene vor, für Parvalbumin aus Fischen und für das Lipidtransferprotein aus dem Pfirsich. Beides sind äußerst stabile, hoch kreuzreaktive Allergene, die starke allergische Reaktionen in sensibilisierten Patienten auslösen. Es soll ausgetestet werden, ob diese veränderten Proteine einen vorbeugenden oder therapeutischen Schutz gegen diese beiden Nahrungsmittelallergene auslösen können.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

Es werden Tiere der Art *Mus musculus* beantragt: Als idealer background sind C3H/HeJ und Balb/c Mäuse gewählt, die ideal für die Allergieforschung sind.

Anzahl der benötigten Versuchstiere: 512 Mäuse

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

Im Vorfeld wird in *in vitro* Versuchen intensiv ausgetestet, welche Proteine die günstigsten Eigenschaften für einen Impfstoff haben, um die Zahl der Versuchsgruppen zu reduzieren. Die Testung der therapeutischen Wirkung erfolgt in einem bereits etablierten Mausmodell. Durch die Verwendung von Inzucht Stämmen kann die Anzahl der Tiere pro Gruppe niedrig gehalten werden, da geringe Messschwankungen zu erwarten sind. Zusätzlich wird durch die Standardisierung der Haltungs- und Versuchsbedingungen eine geringere Streuung der Versuchsergebnisse ermöglicht. Die Gruppengrößen sind daher so gewählt, dass sie noch eine aussagekräftige statistische Auswertung ermöglichen.

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

Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen Für Patienten mit fortgeschrittenem Leberzellkarzinom gab es bis zur Zulassung von Sorafenib, dem derzeitigen Referenzstandard, keine wirksame Therapie. Da die durch Sorafenib erreichte mediane Überlebensverlängerung von 2,8 Monaten eher bescheiden ist, muss weiter intensiv nach neuen Therapiestrategien geforscht werden. Kürzlich wurde berichtet, dass Tumorzellen unterschiedlich auf Glukosemangel reagieren. Tumorzellen, die am empfindlichsten auf Hypoglykämie reagieren haben einen Defekt in der Hypoglykämie-induzierten OXPHOS (oxidative Phosphorylierung) Hochregulation, verursacht durch mitochondriale DNA (mtDNA) Mutationen in Komplex I Genen oder durch gestörte Glukoseverwertung. Die Behandlung von Hypoglykämie-sensitiven Tumorzellen mit dem Biguanid Phenformin inhibierte die Zellproliferation in vitro und in vivo, hatte aber keinen Effekt auf das Wachstum von Zellen ohne mtDNA Mutationen im Komplex I oder ohne gestörter Glukoseverwertung. Folglich könnte eine gestörte OXPHOS Hochregulation als Biomarker dienen, um jene Krebspatienten zu identifizieren, welche am besten auf Biguanide ansprechen. Unser Ziel ist es, den Effekt von Biguaniden bei Leberkrebs mit bzw. ohne defekter Hypoglykämie-induzierter OXPHOS Hochregulation zu untersuchen. Der Nutzen dieses Projektes ist die mögliche Entwicklung einer neuen Therapiestrategie zur Behandlung des Leberzellkarzinoms.

Art und Anzahl der Tiere Es werden 144 weibliche BALB/c nude Mäuse verwendet.

Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung) Vermeidung: Das Biguanid Metformin wird in der Behandlung des Typ II Diabetes Mellitus eingesetzt und weist eine ausgesprochen gute Verträglichkeit auf. Es gibt Hinweise, dass Metformin auch positive Effekte im Bereich der Krebsprävention und -behandlung haben könnte. Welche Krebspatienten allerdings von dieser Therapie profitieren könnten, ist bis dato unklar. Um den AntiTumor-Effekt von Biguaniden bei Leberkrebs zu untersuchen und einen möglichen Biomarker für Therapieansprechen zu identifizieren, ist vor einer Anwendung im Rahmen einer klinischen Studie am Menschen ein Tierversuch unverzichtbar. Verminderung: Eine Standardisierung der Methodik sowie Tierhaltung helfen die Streuung der Ergebnisse deutlich zu vermindern. Die unter diesen Bedingungen beantragte minimale Tierzahl wurde durch eine Fallzahlberechnung ermittelt, um eine statistische Verwertbarkeit und somit die Beantwortung dieser klinisch und wissenschaftlich wichtigen Fragestellung mit der notwendigen Qualität zu gewährleisten. Verfeinerung: Die Belastung der Versuchstiere wird täglich überwacht und durch klar definierte Abbruchkriterien auf ein Minimum reduziert.

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

Nitroglycerin (Glyceroltrinitrat, GTN), ein Vertreter aus der Gruppe der organischen Nitrate wird als einem Arzneistoff seit mehr als 100 Jahren zur Therapie der Angina pectoris und anderer kardiovaskulärer Erkrankungen eingesetzt. Ein weitgehend ungelöstes Problem in der Nitroglycerin-Therapie ist der Wirkungsverlust bei chronischer Verabreichung der Substanz (Nitrattoleranz). Verschiedene Studien weisen auf eine zentrale Rolle des Enzyms Aldehyd-Dehydrogenase 2 (ALDH2) in der Verstoffwechslung von Nitroglycerin hin.

Im vorliegenden Projekt wird um die Zucht von genetisch veränderten Mäusen angesucht, welche kein ALDH2-Protein mehr in Körperzellen enthalten (ALDH2-Knockout). Mit Hilfe dieser Mäuse soll die Bioaktivierung von Nitroglycerin und von anderen organischen Nitraten, sowie Mechanismen, die zum Phänomen der Nitrattoleranz führen, aufgeklärt werden. Dazu sind verschiedene, gut etablierte biochemische Experimente, sowie Versuche an isolierten Organen vorgesehen.

ALDH2-Knockout Mäuse sind gesund, fruchtbar und zeigen keinerlei Veränderungen hinsichtlich Körpergröße, Gewicht, Lebenserwartung, Verhalten etc. Allerdings gelten die Tiere durch eine Schwanzspitzenbiopsie (Verlust von ca. 2 mm Schwanzspitze im Alter von ca. 3 Wochen) als gering belastet. Die Schwanzspitzenbiopsie mit nachfolgender Polymerase-Kettenreaktion (PCR) ist die gängigste und sicherste Methode für die eindeutige Zuordnung des Genotyps. Eine alternative Methode zur Gewinnung von Proben (Ohrstanze) für die Genotypisierung wird getestet.

Im Antrag wird um die Zucht von 300 Tieren über einen Zeitraum von 3 Jahren angesucht. Selbstverständlich versuchen wir die Zahl der Experimente auf ein statistisches Minimum zu beschränken und arbeiten ständig an der Verbesserung von Versuchsabläufen, um die Zahl der Mäuse weiter zu reduzieren. Leider sind derzeit noch keine adäquaten Alternativmethoden verfügbar, um die Rolle der ALDH2 in der Bioaktivierung und Toleranzentwicklung von Nitroglycerin zu erforschen.

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

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

Unsere Forschungsgruppe befasst sich mit der Entstehung der Leberzirrhose im Rahmen der nicht-alkoholischen Fettlebererkrankung (NAFLD) und medikamentös nicht behandelbaren Gallenwegserkrankungen wie der primär sklerosierenden Cholangitis (PSC). Ein typisches Merkmal der NAFLD ist die Akkumulation von Fett (vor allem von Neutralfetten/Triglyceriden). Im Gegensatz zum Fettgewebe weist die Leber eine limitierte Speicherkapazität für Fett auf wobei ein Fettüberschuss die Leberzellen schädigt. Ist diese Kapazität erschöpft entsteht aus einer vergleichsweise harmlosen Fettleber (Steatose) eine entzündliche Lebererkrankung (Steatohepatitis), welche in weiterer Folge zur Leberzirrhose und Krebs fortschreiten kann. Lipid-spaltende Enzyme (Lipasen und ihre Cofaktoren) sind für den dreistufigen Abbau von Triglyceriden zu freien Fettsäuren von großer Bedeutung. Freie Fettsäuren fungieren als Energieträger und Signalmoleküle, können aber im Überschuss ebenfalls zellschädigend wirken.

Neueste Erkenntnisse weisen darauf hin, dass die Lipasen nicht nur in den Leberzellen und dem Fettgewebe von Bedeutung sind, sondern auch für die Funktion der Gallenwege von großer Wichtigkeit sein könnten. Daher ist es Ziel dieser Studie die Rolle dieser Lipasen, ihrer Cofaktoren sowie der durch sie freigesetzten Lipidabbauprodukte, beispielsweise freie Fettsäuren, in der Entstehung der NAFLD und Gallenwegserkrankungen zu untersuchen.

Zu diesem Zweck werden transgene Mäuse die entweder spezifische Lipasen oder einen Coregulator nicht exprimieren gezüchtet und mit unterschiedlichen Hepatotoxinen bzw Endotoxinen stimuliert um die Rolle dieser Enzyme in der Progression der Fettlebererkrankung und Gallenwegserkrankung zu untersuchen.

Auf diese Weise soll untersucht werden ob sich die Inhibierung des Triglycerid-Abbaus positiv auf den Krankheitsverlauf auswirkt indem das Fortschreiten vom relativ ungefährlichen Stadium der Steatose über eine Steatohepatitis und Leberzirrhose bis hin zum Krebs deutlich verlangsamt wird.

### 2. Art und Anzahl der Tiere -Text hier eingeben

Gesamtzahl: 3456 Transgene Tiere: 864 homozygous; 1728 heterozygous Nicht transgene Tiere: 864

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

- Vermeidung: Da die Interaktionen zwischen den unterschiedlichen Leberzellen wie Hepatozyten, Entzündungszellen (und den von ihnen sezernierten Zytokinen und Chemokinen), Gallengangsepithelzellen (Cholangiozyten) und hepatischen Sternzellen (als zelluläre Quelle der Fibrose/Bindegewebsbildung in der Leber), sowie das Zusammenspiel mit extrahepatischem Gewebe (Fettgewebe/Adipocyten) in der Pathogenese der NAFLD eine essentielle Rolle spielen sind Tierversuche unumgänglich. Wir werden jedoch -um die Anzahl der Versuchstiere beziehungsweise der Tierexperimente so gering wie möglich zu halten -in vitro Versuche in kommerziell erhältlichen Zelllinien durchführen. In diesen Zelllinien wird durch sogenannte "knock down" Methoden die Expression des "Genes of Interest" verringert. Soweit möglich werden wir auch Cokulturen der unterschiedlichen (oben angeführten) Zellarten verwenden um den direkten mechanistischen Zusammenhang dieser verschiedenen Zellentypen untereinander feststellen zu können. Diese *in vitro* Modelle erlauben uns die Beantwortung spezifischer mechanistische Fragestellungen und tragen maßgeblich zur Einschränkung notwendiger Tierexperimente bei.

- Verminderung: Ein weiterer Punkt für eine Verminderung der Versuchstiere ist die serielle Durchführung der geplanten Experimente. Pilotstudien mit der minimal möglichen Anzahl an Tieren werden durchgeführt. Kann mit diesen Experimenten unsere Hypothese nicht bestätigt werden, werden keine weiteren Versuche durchgeführt.

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

Das Projekt dient der translationalen oder angewandten Forschung zur Entwicklung und Herstellung sowie Qualitäts-, Wirksamkeits- und Unbedenklichkeitsprüfung von Arzneimitteln. Das Arzneimittel soll der Vorbeugung oder Behandlung potentiell lebensbedrohlicher Erkrankungen dienen, weshalb die Verwendung von 5000 Mäusen gerechtfertigt ist.

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

Die maximale Belastung wird als „mittel“ eingestuft, es erfolgt keine rückblickende Bewertung (§30 Abs. 2 TVG 2012).



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

Die Erforschung der Intelligenz von Rabenvögeln wird seit geraumer Zeit sehr erfolgreich betrieben. Die meisten Untersuchungen wurden von der Forschergruppe an freilebenden Kolkkraben *Gorvus corax* in einem Wildpark durchgeführt; in den letzten Jahren wurde mit freilebenden Aaskrähen der Unterarten *Gorvus corone* und *G. cornix* in einem urbanen Stadtgebiet ein vergleichbares zweites Modellsystem etabliert. In beiden Fällen bezogen sich die Studien auf Beobachtungen zum Sozialleben von Nichtbrütern, speziell deren Freundschafts-, Verwandtschafts- und Partnerbeziehungen. Die bisherigen Ergebnisse belegen, dass soziale Beziehungen von Rabenvögeln mit jenen von Primaten vergleichbar sind.

Unter Freilandbedingungen fanden wir eine weitere soziale Ebene, die man als lose örtliche Gemeinschaft beschreiben kann, wo Mitglieder kommen und gehen können, sich aber individuell zu kennen scheinen. Offen ist jedoch, inwieweit Raben und Krähen solche Gemeinschaften aktiv bilden bzw. ein ‚Zugehörigkeitsgefühl‘ entwickeln. Um diesen Fragen nachzugehen, sind Studien geplant, die auf einer geringen Manipulation der Gruppenzusammensetzung durch *kurzfristige Entnahme* von bestimmten Vögeln bzw. deren *Rückführung* beruhen.

Die geplanten Entnahmen von je 10 männliche und 10 weibliche Tiere pro Altersklasse (juvenil, subadult, adult) und Art, insgesamt also 60 Kolkkraben und 60 Aaskrähen, simulieren eine temporäre Abwesenheit, wie sie unter natürlichen Umständen mehrmals am Tag (über mehrere Stunden) bzw. über mehrere Tage und Wochen vorkommen. Viele Raben bzw. Krähen suchen freiwillig und wiederholt die dazu aufgestellten Reusenfallen auf, was einen regelmäßigen Zugriff auf die Vögel erlaubt.

Die durchgehenden Verhaltensbeobachtungen ermöglichen uns einerseits eine individuellen Charakterisierung („Persönlichkeit“) von Vögeln *außerhalb* einer sozialen Gruppe unter standardisierten Bedingungen durchzuführen, andererseits den Fokus auf das Verhalten der Individuen bei ihrer Rückkehr in die Gruppe zu richten. Soweit wie möglich soll zudem auch auf die verbleibenden Gruppenmitgliedern während und nach der Entnahme geachtet werden. Ersteres betrifft die Fragen, wie gut Individuen mit unterschiedlicher Persönlichkeitsstruktur mit der kurzfristigen Abwesenheit von Artgenossen bzw. der Wiedereingliederung in die Gruppe umgehen können und inwieweit dies mit den gezeigten Mustern im Kommen und Gehen unter Alltagsbedingungen zusammenhängt; letzteres soll klären, inwieweit bestimmte Individuen bestimmte soziale Rollen einnehmen und wie schnell diese Rollen übernommen bzw. abgegeben werden.

Für die Zeit der Entnahme sollen durchgehend Verhaltensbeobachtungen (Explorations-, Komfortverhalten, Vokalisation) mittels installierter Videokameras und wiederholter Messung zum Hormonhaushalt (Metaboliten von Corticosteron und Testosteron) und zur Belastung mit Darmparasiten (Nematoden und Coccidien) durchgeführt werden. Beide Messungen erfolgen ausschließlich nicht-invasiv durch das Sammeln von Kotproben. Bei der Entlassung/Rückführung der entnommenen Vögel soll auf ein genaues Monitoring geachtet werden. Hierzu ist eine Besenderung der Tiere, je nach Fragestellung und Örtlichkeit mit Dataloggern, Radiotelemetrie- bzw. GPS-Sendern geplant. Derartige Sender werden regelmäßig beim Monitoring bedrohter Raubvögel eingesetzt. Sie wiegen weniger als 3% des Körpergewichts der Vögel und stellen daher keine Beeinträchtigung beim Fliegen dar. Zudem werden sie von uns regelmäßig auf ihre Funktion und Passung kontrolliert. Die Besenderung der Raben bzw. Krähen soll uns erlauben, die ersten Tage nach ihrer Freilassung lückenlos zu dokumentieren und vor allem Aufschluss geben, wo und mit wem sie sich bevorzugt aufhalten.

Die Fragestellungen der geplanten Studie ließen sich ohne die entsprechenden Manipulationen (kurzfristige Entnahme aus der Gruppe, Besenderung der Vögel) nicht erforschen. Eine gänzliche Vermeidung des Tierversuchs ist somit nicht möglich. Die genannte Stichprobengröße ist auf die Biologie der Vögel (mit ausgeprägten Unterschieden pro Altersklasse und z.T. Geschlecht) abgestimmt und bezieht sich auf das Minimum an Tieren, die für statistische Aussagen erforderlich sind.

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

Viele Patienten, deren Erkrankung durch krankmachende Antikörper hervorgerufen wird haben mit weiteren Problemen zu kämpfen. Zum einen können sie zusätzlich noch weitere Antikörper im Immunsystem haben, die ebenfalls mit körpereigenen Strukturen reagieren können, zum anderen können sie auch Botenstoffe im Serum haben, die die zerstörerischen Mechanismen von pathogenen Antikörpern unterstützen bzw. sogar verstärken. Leider können derartige Reaktionen nicht in Zell- und Gewebekultursystemen reproduziert werden, da sich T-Zellen beim physiologischen Durchwandern von Immunorganen und beim Durchqueren der Blut-Gewebs-Schranken im lebenden Organismus in ihren Eigenschaften deutlich von denen in Kultursystemen unterscheiden, und viele Auto-Antikörper im lebenden Organismus erst dann ihre krankmachenden Eigenschaften zeigen, wenn T-Zellen Entzündungsreaktionen im Gewebe starten. Deswegen kann zur Untersuchung dieser Prozesse nicht auf Tierexperimente verzichtet werden. Um die Zahl der für diese Experimente vorgesehenen Tiere so gering wie möglich zu halten, wurde die benötigte Tierzahl durch statistische Fallzahlberechnungen ermittelt. Desweiteren werden wir Lewisratten verwenden, da diese Tiere für die Untersuchung Organ-spezifischer Entzündungsherde hervorragend geeignet sind und wir daher nur mit sehr wenigen Ausfällen zu rechnen haben. Zur Verminderung der Krankheitssymptome und zur Verfeinerung der Experimente wird die Zahl der eingesetzten T-Zellen so gewählt, dass ein möglichst geringer Schweregrad klinischer Symptome zu erwarten sein wird. Insgesamt werden 1052 Lewisratten benötigt.

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

Die akute Leukämie ist die Folge einer fehlerhaften Regulierung von Transkriptionsfaktoren. CEBP und PU.1 sind zentrale Transkriptionsfaktoren für die Steuerung der Blutentwicklung. Geringe Störungen haben dramatische Konsequenzen, wie Stammzelldefekte, Differenzierungsdefekte und Entstehung von Leukämie und Lymphomen. Unser Projekt zielt darauf ab, die Bedeutung der CEBP-PU.1 Achse in der Entstehung von Leukämie zu verstehen. Diese Ergebnisse sind wichtig um eine zielgerichtete Leukämie-Therapie zu entwickeln. Um die funktionelle Wirkung von CEBP Faktoren auf PU.1 in der Blutentwicklung zu untersuchen, haben wir ein Mausmodell entwickelt in dem die CEBP Bindungsstellen in einem "Enhancer" des PU.1 Gens mutiert sind und dadurch die CEBP-PU.1 Achse spezifisch gestört ist.

Insgesamt werden 500 Mäuse unterschiedlichen Genotyps benötigt.

In sämtlichen Experimenten werden Schmerz-und Stresssituationen für die Tiere vermieden: Tiere werden täglich von geschultem Personal kontrolliert und bei Anzeichen einer Leukämieentwicklung (eingeschränktes Eß-, Trink-und Bewegungsverhalten = Abbruchkriterien) schmerzlos euthanasiert, die Leukämiezellen entnommen und in vitro untersucht. Es werden daher keine Experimente am lebenden Tier durchgeführt.

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

Angaben über die Projektziele, einschließlich des zu erwartenden Schadens und Nutzens  
Die verzögerte Thrombusauflösung wird als pathophysiologisches Korrelat der Chronisch Thromboembolischen Pulmonalen Hypertension (CTEPH) angesehen. Es konnte gezeigt werden, dass ein mit dem Bakterium Staphylokokkus aureus infizierter Thrombus eine verzögerte Thrombusauflösung zur Folge hat. Nun unterliegt die normale Wundheilung ähnlichen pathophysiologischen Prozessen wie die physiologische Thrombusauflösung. In einem Mausmodell der Wundheilung konnte gezeigt werden, dass das Extrazelluläre Adhärenzprotein (EAP) die Wundheilung maßgeblich verzögert. Daher wird postuliert, dass auch die Thrombusauflösung durch Eap verzögert werden kann. Dieser Effekt von EAP auf die Thrombusauflösung soll anhand eines bereits etablierten Modells an der Maus untersucht werden. Die Ergebnisse des geplanten Versuches sollen das Verständnis der fehlgeleiteten Thrombusauflösung verbessern und die Grundlage für weitere Versuche darstellen, um zukünftig die Therapie schwerer Erkrankungen, wie der CTEPH, verbessern zu können.

Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere  
60 Balb/c Mäuse.

Angaben über die Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung).  
Zur Beobachtung der Thrombusauflösung sind Ultraschall-Untersuchungen der Thrombenentwicklung über definierte Zeitpunkte an der lebenden Maus geplant, um die Veränderungen der Thromben an derselben Maus in-vivo verfolgen zu können. Hierdurch wird die Anzahl der sonst benötigten Mäuse pro Studiengruppe auf 25% reduziert. Durch eine standardisierte Haltung und Methodik wird die statistische Streuung deutlich reduziert und dadurch die benötigte Anzahl der Versuchstiere minimiert. Die Fragestellung des Tierversuches kann durch Ersatzmethoden nicht beantwortet werden.

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

Angaben über die Projektziele, einschließlich des zu erwartenden Schadens und Nutzens  
Das menschliche Immunsystem schützt uns vor Krankheitserregern und Fremdstoffen. Fehlreaktionen des Immunsystems die Ursachen vieler Erkrankungen, wie z.B. chronische entzündliche Erkrankungen oder Autoimmunerkrankungen, sind. Um die Ursachen von immunologischen Fehlreaktionen besser verstehen zu können, werden die grundlegenden Prozesse untersucht, die der Regulation der Immunantwort zugrunde liegen. Heutzutage ist es möglich, im Modellorganismus Maus, Gene, die diese Prozesse steuern, entweder auszuschalten oder zu überproduzieren. Dadurch soll es auch möglich sein, neue potentielle Therapieansätze aufzuzeigen. Für solche Fragestellungen werden daher mit Hilfe standardisierter Methoden transgene oder knock-out Mauslinien etabliert, in denen bestimmte Gene entweder über-exprimiert oder eliminiert bzw. mutiert werden. Der Antrag bezieht sich daher auf die Zucht dieser Mausstämmen.

Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere  
7347 Mäuse unterschiedlichen Genotyps

Angaben über die Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung).  
Zur Vermeidung von Tierversuchen werden die Untersuchungen und Experimente in Zellkultursystemen durchgeführt. Der wesentliche Teil der Studie erfolgt in-vitro, wofür jedoch lebendes Gewebe und Zellen von Mäusen unterschiedlichen Genotyps erforderlich sind. Die Ergebnisse dieser sogenannten "in vitro" Systeme bilden dann die Grundlagen für weitere experimentelle Fragestellungen. Diese müssen dann zum Teil auch in einem Tiermodell durchgeführt werden müssen, da der Immunantwort komplexe zelluläre Interaktionen zugrunde liegen, die nicht ausschließlich in Zellkulturmodellen untersucht werden können. Die Experimente zur Untersuchung von Immunreaktionen "in vivo" sind so geplant, dass ein mögliches Leiden der Tiere und die Anzahl an benötigten Tieren durch mehrere Maßnahmen reduziert werden:

(1)

Alle Tiere werden unter standardisierten Bedingungen (geregelter Lichtzyklus, Luftfeuchtigkeit, Temperatur) in einem sogenannten "enriched environment" (Papierrollen im Käfig um den Mäusen einen Unterschlupf zu ermöglichen, etc.) gehalten.

(2)

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

Die vorgesehenen Untersuchungen dienen der translationalen angewandten Forschung zur Vorbeugung und Behandlung von Krankheiten und deren Folgen bei Menschen und Tieren und sind dem Schweregrad schwer lt. TVG-12 §3 (1) zuzuordnen. Die zu untersuchenden Tiere sind 3700 CD-1 Mäuse. Die Versuchsbedingungen werden so gewählt, dass mittels potenter Narkose, Analgesie und Antibiose, die tägliche tierärztliche Inspektion aller operierten Tiere, die tägliche Betreuung durch den Tierpfleger und die Konditionierung aller Tiere Schmerzen, Leiden und Ängste möglichst verhindert werden. Eine rückblickende Bewertung gem. § 30 TVG 2012 wird jährlich am 1. August stattfinden.

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

Die Bypass Chirurgie ist ein etabliertes chirurgisches Verfahren zur Umgehung verschlossener oder kritisch stenosierter koronar-arterieller oder peripherer Gefäßabschnitte und stellt eine der möglichen medizinischen Interventionen dar, die das Leben des Patienten aktiv verlängern können. Allerdings versagen bereits 10% der Grafts innerhalb des ersten Monats post OP durch Okklusion und weitere 15% innerhalb des ersten Jahres durch neointimale Hyperplasie. Weitere 25% der Grafts versagen innerhalb der ersten Jahre postOP bedingt durch akzelerierte Atherosklerose mit einer Gesamtverschlussrate von 50% innerhalb der ersten 10 Jahre. Trotz verbesserter chirurgischer Verfahren und adjuvanter pharmakologischer Standardtherapie gemäß Guidelines (Thrombozyten-Aggregationsinhibitoren und Lipidsenkern mit CoA-reduktase Inhibitoren) hat sich an jener hohen Verschlussrate in den letzten 20 Jahren nur wenig geändert. Hieraus resultiert das Wiederauftreten von Angina pectoris Beschwerden bei 20% der Patienten im ersten Jahr postoperativ mit einer jährlichen Zuwachsrate von 4%. Zum einen stellt diese Tatsache ein Risiko für einen weiteren Myokardinfarkt und damit verbundenen lebensbedrohlichen Komplikationen dar, zum anderen kann ein Graft Verschluss die klinische Indikation zu einer Re-Operation darstellen, mit erheblichen Risiken für den Patienten.

Pathophysiologisches Korrelat ist der Ischämie-Reperfusionsschaden (IR injury) der sich aus der Wiederdurchblutung ischämischer Gefäßwandabschnitte ergibt. Daraus ergibt sich eine sogenannte vaskuläre Inflammation (neointimale Hyperplasie, früher Atherosklerose und chronische Abstoßung) die zusammen mit thrombotischen Ereignissen zum Verschluss der betreffenden Gefäße führt.

Es ist daher notwendig neue Strategien und Therapieansätze für Patienten nach Bypass Operation zu entwickeln und im Tierversuch zu testen. Das Ziel dieses Projektes ist es einen komplett neuen Therapieansatz für die Behandlung des Ischämie-Reperfusionsschadens zu testen und somit auf lange Sicht das Leben der Patienten nach Bypass Operation zu verbessern und die Inzidenz der Graft Okklusion zu reduzieren.

Als Versuchstiere werden 848 ApoE (-/-)Mäuse und 224 C57BL/6 littermates eingesetzt, sowie 20 C57BL/6 Mäuse zu Trainingszwecken um das Model zu etablieren (Gesamtzahl: 1092 Tiere).

*Replacement (Vermeidung):* Zelluläre *in vitro* Verfahren zur Untersuchung des Ischämie Reperfusionsschadens spiegeln nur individuelle Schritte einer komplexen Kaskade wieder. Um die Komplexität des Ischämie-Reperfusionsschadens zu untersuchen sind daher *in vivo* Verfahren notwendig. Das vorgesehene *in vivo* Gefäßinterponatmodell zur Induktion des Ischämie Reperfusionsschadens ermöglicht uns wertvolle Einblicke in die Pathophysiologie und die Testung neuer Therapieansätze.

*Reduction (Verminderung):* Um eine unnötig hohe Anzahl an Versuchstieren zu vermeiden, wurde eine Fallzahlberechnung durchgeführt. Die standardisierte Tierhaltung und Versuchsdurchführung trägt weiter zu einer Verminderung der Streuung der Ergebnisse bei.

*Refinement (Verfeinerung):* Das Gefäßinterponatmodell wird durch erfahrene Mikrochirurgen durchgeführt, um so unnötige Ausfälle zu vermeiden.

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

### 1. Bedeutung und Begründung des Projekts

Das kolorektale Karzinom ist die zweithäufigste Todesursache unter den Karzinom-Erkrankungen. Das Risiko ein Kolorektalkarzinom zu entwickeln ist insbesondere bei chronisch-entzündlichen Erkrankungen des Dickdarms und bei vererbaren Formen von Darmkrebs erhöht. Heutzutage ist viel über die molekularen Ereignisse, die zur Karzinomentstehung führen bekannt. Trotzdem gibt es im fortgeschrittenen Stadium sehr häufig keine Heilung. Die p21-aktivierte Kinase (PAK1) ist in vielen Krebsarten hochreguliert und spielt eine wichtige Rolle in der Entstehung von Darmkrebs. Die genaue Bedeutung ist jedoch unbekannt. Anhand vier verschiedener Krebsmausmodelle soll es uns gelingen zu neuen Erkenntnissen auf dem Gebiet von PAK1 zu kommen.

### 2. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere

Für die Versuche werden folgende Mäuse unterschiedlichen Genotyps verwendet: WT C57BL/6J (n=80), C57BL/6J-PAK1<sup>-/-</sup> (n=80), C57BL/6J-IL-10<sup>-/-</sup>/PAK1<sup>+1+</sup> (n=49), C57BL/6J-IL-10-IL-PAK1<sup>-/-</sup> (n=49), C57BL/6J-APCmin/PAK1<sup>+1+</sup> (n=24), C57BL/6J-APCmin/PAK1<sup>-/-</sup> (n=24), IL-10<sup>-/-</sup> (n=35), Msh2<sup>loxP/loxP</sup>, Vill-cre (n=35), IL-10<sup>-/-</sup>/Msh2<sup>loxP/loxP</sup>Vill-cre (n=210) Folglich werden wir mit insgesamt 586 Mäusen arbeiten.

### 3. Angaben zur Anwendung der „3R“

Soweit möglich, werden zur Beantwortung der Fragestellungen Zellkulturexperimente statt Tierversuche implementiert („Replacement“). In vitro Versuche, die die Effektivität der Substanzen untermauern, wurden durchgeführt, ebenso Experimente die Hinweise auf die involvierten Signalwege liefern. Im Weiteren sind in vivo Untersuchungen am Tier notwendig, da die besonderen Bedingungen im Darm hinsichtlich pH, Löslichkeit, bakterielle Flora und entzündlicher Zellen in vitro und die Komplexität der Prozesse, die zur Entstehung von entzündungs-assoziiertem Kolorektalkarzinom führen, nicht nachgeahmt werden können. Aus ethischen Gründen kann dies nicht an einem Patientenkollektiv durchgeführt werden. Durch Standardisierung der Tierhaltung und der Methodik, mit möglichst gleichem genetischen Hintergrund der transgenen Tiere zu arbeiten, wird die Streuung der Ergebnisse und somit die benötigte Tierzahl deutlich vermindert. Für eine statistisch gesicherte Aussage wurde die Gruppengröße durch die Fallzahlberechnung ermittelt. Auf eine Reduktion der Belastung der Tiere wurde durch Definition klarer Abbruchkriterien geachtet.



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

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

Non-Hodgkin Lymphome sind bösartige Lymphdrüsenkrankungen, welche durch unkontrollierte Vermehrung von Lymphozyten gekennzeichnet sind. Bestimmte Untergruppen der Non-Hodgkin Lymphome treten vor allem bei Kindern und Jugendlichen auf. 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 epigenetische aktiver Enzyme und zweier Inhibitoren dieser Enzyme in einem Mausmodell, welches das humane Lymphom 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.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

Für die geschilderte Studie werden für die Inhibitor-Behandlungen 320 und für die Knockout Studie 96 Mäuse insgesamt über drei Jahre benötigt. Für die Zucht werden zusätzlich 172 Mäuse beantragt.

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

Das Design dieser Studie fand unter Berücksichtigung der 3R Regeln (Replacement, Reduction, Refinement) statt. Die Anzahl der belasteten Tiere wird durch optimierte Zuchtplanung so gering wie möglich gehalten und die Anzahl der Tiere für die Knockout und Inhibitor-Studien wurde nach Berechnung der Stichprobengröße auf das erforderliche Minimum reduziert. Der Versuchszeitraum der Inhibitor-Studien wird auf das erforderliche Mindestmaß beschränkt. Stress als auch Schmerz der Mäuse werden während der Studien möglichst minimiert. Mäuse werden, sobald Abbruchkriterien gegeben sind, unter Narkose und Analgesie den Experimenten zugeführt. Ferner werden die Mäuse in Gruppen in angereicherten Käfigen (Papier, Papierrollen) gehalten und von ausgebildeten Tierpflegerinnen betreut und die Behandlungen werden von geschulten Projektmitarbeiterinnen durchgeführt und tierärztlich überwacht.

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

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

Onkolytische Viren stellen ein neues Behandlungskonzept für die Behandlung von Tumoren dar. Hierbei kann sich das Virus nur in Tumorzellen vermehren, wodurch diese spezifisch abgetötet werden. Gesunde Zellen werden verschont. Dieses neue Therapiekonzept wurde bereits in Zellkulturexperimenten erprobt, wobei die Tumorzellen *in vitro* sehr effizient abgetötet werden. In dem geplanten Experiment werden insgesamt maximal 8 Kaninchen in einem Zeitraum von 1 Jahr verwendet. Bei der Planung der Experimente wurden immer die „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung) berücksichtigt. Parallel zu den Tierexperimenten werden weitere Zellkulturexperimente durchgeführt, um die Tierzahlen so gering wie möglich zu halten. Alle Experimente sind so geplant, dass die Belastung für die Tiere möglichst gering ist. Alle Personen, die die Experimente durchführen sind entsprechend geschult. Durch Interaktion mit anderen Wissenschaftlern auf dem Gebiet wurden die Protokolle verfeinert, um die Belastung für die Tiere zu minimieren. Durch dieses Projekt wird es uns möglich sein, verlässliche Aussagen über die möglichen Gefahren bei einer Anwendung im menschlichen Patienten treffen. Die Ergebnisse dieses Projekts werden uns wichtige Informationen für die Weiterentwicklung unseres neuen Therapiekonzepts zur klinischen Anwendung hin geben.

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

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

Infektionen sind eine der häufigsten Todesursachen weltweit, und dies obwohl Antibiotika verfügbar sind. Die Ursache dieser schwierigen Situation beruht auf der Tatsache, dass die durch Bakterien und Viren ausgelöste Entzündungsreaktion in vielen Fällen zum Organversagen und somit zum Tode führen kann. Während die sofortige proinflammatorische Reaktion hilfreich bei bestimmten Pneumonien ist, kann es durch eine starke Entzündungsreaktion bei Infektionen durch andere Erreger zu verstärkter Gewebeschädigung kommen und somit von Nachteil sein. Dieses Projekt soll einen speziellen Aspekt dieser mitunter schädlichen Entzündungsreaktion genauer untersuchen. Auf Grund unserer bisherigen Ergebnisse wissen wir, dass während *Streptococcus pneumoniae* induzierter Pneumonie bestimmte Zytokine produziert werden, welche einen Einfluss auf die Abwehr dieser Infektionen haben könnte. Wir möchten in diesem Projekt dessen genaue Rolle definieren, da wir glauben, dass dies auf lange Sicht zu neuen Therapien bei Infektionen beitragen kann.

2. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere: 658 Mäuse unterschiedlichen Genotyps.

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

Zur Vermeidung der Tierversuche wurden soweit möglich Versuche mit Zellkulturen durchgeführt, diese ‚in vitro‘ Ergebnisse sind die Basis für alle weiterführenden Versuche. Die Infektionsstudien werden derart verfeinert und durchgeführt, dass Leiden durch folgende Maßnahmen vermindert wird: 1. Werden sämtliche Eingriffe unter Narkose durchgeführt; 2. Werden die Infektionen derart geplant, dass Krankheitssymptome so weit als möglich vermieden werden; 3. Wird zur Verminderung der Tierzahl bei sämtlichen Versuchen auf streng standardisierte Versuchsbedingungen Wert gelegt; 4. Werden Überlebensexperimente nur durchgeführt, wenn die Ergebnisse aus den vorherigen Versuchen, welche ohne maßgebliche Schmerzen oder Leiden durchgeführt werden können, mit einer an Sicherheit grenzenden Wahrscheinlichkeit zu einem Überlebensunterschied führen. Wenn dies nicht gegeben ist, werden keine Überlebensversuche durchgeführt.

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

Der Tierversuch gehört zur Gruppe der Translationalen oder angewandten Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten.

In dieser Studie soll ein neues Feldvirusisolat bei experimenteller Infektion von konventionellen Ferkeln untersucht werden um eine Bestandsvakzine herzustellen.

Die Ferkel stammen aus einem konventionellen, PRRSV freien Betrieb. Es werden 20 Tiere benötigt um eine repräsentative Aussage treffen zu können. Die Tiere werden in einem Kontumazstall in zwei getrennten Abteilungen in Gruppen zu je 10 Tieren aufgestellt. Die Fläche der Stallungen beträgt je Gruppe 8m<sup>2</sup> bei ad libitum Futter und Wasser. Die Abteilungen besitzen eigene Lüftungs- und Abwassersysteme, damit keine Kontamination bzw. Erregerübertragung stattfinden kann. Des Weiteren finden eine Personalzutrittskontrolle und ein Kleidungswechsel in einer Schleuße statt. Die Ferkel haben bei der Einstellung ein Körpergewicht von ca. 12 kg. Sie wurden 2x mit einem kommerziellen Impfstoff geimpft. Zum Nachweis der PRRSV-freiheit wird den Tieren am Tag -5 Blut entnommen. Nach einer 5 tägigen Eingewöhnungsphase erfolgt die Infektion mit dem Feldstamm intrakutan. Die Tiere werden täglich klinisch untersucht und an den Tagen 3, 7, 14 nach Infektion wird ihnen Blut entnommen. Das Auftreten von klinischen Symptomen und die Schwere der pathomorphologischen Läsionen nach der Infektion werden genauestens im Formular „Klinische Symptome“ dokumentiert und bewertet.

Ziel ist es die Immunantwort auf den Feldstamm zu verfolgen und die klinischen Symptome zu beurteilen. Nach Ende des Versuches erfolgt eine pathologische Untersuchung.

Die Gesundheit der Schweine wird täglich überprüft. Die Schweine haben ausreichend Bewegungsfreiheit. Die Tiere werden in der fünftägigen Eingewöhnungsphase handzahn gemacht, um die täglichen Reinigungsarbeiten im Stall stressfrei zu dulden. Die Reinigung der Stallungen erfolgt täglich. Den Schweinen wird Spielzeug zur Beschäftigung angeboten. Die Schweine werden ad libitum gefüttert und getränkt.

#### Replacement/Vermeidung

Das verfolgte Ziel des Tierversuches, kann nicht durch in vitro Verfahren erzielt werden, da eine komplexe Immunantwort auf einen neuen Impfstoff untersucht wird. Zellkultursysteme können den velseitigen Ablauf bei einer Immunantwort auf diesen Impfstoff nicht widerspiegeln.

Der Tierversuch kann auch nicht vermieden werden, da es bei einem Ausbruch der Krankheit zu hohen wirtschaftlichen Schäden kommen würde.

#### Reduction/Verminderung

Die Anzahl von 20 Schweinen basiert auf unseren derzeitigen Erfahrungen auf diesem Gebiet.

Wir werden von einem Biostatistiker bei der Durchführung der Untersuchungen beraten, um sicherzustellen, dass die minimale Anzahl von Tieren verwendet wird, um das gewünschte Ergebnis zu erzielen. Somit wird eine Wiederholung des Tierversuches vermieden.

#### Refinement/Verbesserung

Da eine Immunantwort auf einen Schweinevirusimpfstoff getestet wird, werden Schweine als Versuchstiere herangezogen. Die Tiere werden während des Versuches in Gruppen gehalten, wie es der Tierart entspricht, um soziale Kontakte zu ermöglichen. Es wird ihnen auch Beschäftigungsmaterial angeboten um das arttypische Verhalten zu fördern und Stress zu reduzieren. Die Manipulationen am Tier werden auf das Notwendigste reduziert. Dabei handelt es sich um 1x Injektion und 4x Blutabnahme. Sollte ein Tier leiden oder an einer Infektion erkranken, wird es vorzeitig schmerzfrei getötet.

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

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

Die wirksame Impfung mit modifizierten Toxinen würde einen enormen Fortschritt für die Volksgesundheit bedeuten. Obwohl die Virulenzfaktoren von Staphylokokken aus der Gruppe der Superantigenoxine zwar prinzipiell ähnliche Wirkungsweise zeigen, sind in den einzelnen Komponenten der Toxizität große qualitative aber noch größere quantitative Unterschiede feststellbar. Für einen protektiven multi-komponenten Impfstoff ist es wichtig, die Parameter der Toxizität in mehreren semi-quantitativen Systemen zu untersuchen. Wir haben diese in vitro Systeme etabliert und können aus dem Serum der Toxin-behandelten Kaninchen mit besonders empfindlichen Methoden wertvolle Hinweise erhalten. Im Rahmen der Impfstoffentwicklung sind diese Untersuchungen zur Entscheidungsfindung welche Impfantigene prioritär behandelt werden sollen, unerlässlich.

2. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere

48 Kaninchen

3. Angaben über die Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung). Die Untersuchungen der neu entwickelten Derivate finden zuerst in-vitro statt. Anschließend ist es aber notwendig die Toxizität und die Wirksamkeit der Substanzen in-vivo zu testen. Dafür werden die minimal erforderlichen Tierzahlen verwendet, die für ein aussagekräftiges Ergebnis notwendig sind. Die Studie erfolgt unter standardisierten, kontrollierten Bedingungen. Ein Ersatz der Versuche durch in-vitro Methoden ist nicht möglich.

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

Führt körperliche Aktivität der Mutter während der Schwangerschaft zu Adaptionen der Nachkommen über Veränderungen des Epigenoms?

Die Epigenetik, also der Einfluss der Umwelt im weitesten Sinne auf die Expression von Genen während der Entwicklung, ist in den letzten Jahren zu einem "hotspot" wissenschaftlicher Forschung geworden. So konnte z.B. gezeigt werden, dass die Ernährung einer Mutter das Krankheitsrisiko der Nachkommen stark beeinflusst. Schwangere Mäuse, die mit besonders hochwertigem Futter ernährt wurden, hatten gesünderen Nachwuchs als normal ernährte Mäusemütter. Ursache dafür sind epigenetische Mechanismen. Bestimmte Gene in den gesunden Nachkommen wurden durch Methylierungen aktiviert, während bei den kranken Nachkommen diese Regionen unmethyliert blieben und somit nicht exprimiert wurden.

Seit langem kennt man auch die Gesundheits-fördernden Effekte körperlicher Aktivität. So wurde z.B. gezeigt, dass körperlich aktive Personen im Vergleich zu körperlich inaktiven ein um 30 - 50% geringeres Risiko besitzen an Typ II Diabetes zu erkranken. Eine ähnliche Reduktion des Risikos zeigt sich auch für koronare Herzerkrankungen, Bluthochdruck und viele andere Erkrankungen.

Ebenso konnte gezeigt werden, dass regelmäßige körperliche Aktivität während der Schwangerschaft positive Auswirkungen auf die Mutter und die Kinder hat. Die körperlich aktivsten Frauen zeigen die geringste Häufigkeit Schwangerschaftsdiabetes zu entwickeln, und dies wiederum steht in Relation zu einer Verringerung der Inzidenz von Fettsucht und Typ II Diabetes sowohl der Mütter als auch der Kinder. Körperlich aktive Frauen neigen auch weniger zu Präeklampsie, die kardiovaskulären und Stoffwechsel-Funktionen sind verbessert, Gewichtszunahme und Bluthochdruck sind verringert, sowie auch postnatale depressive Symptome. Zu den positiven Auswirkungen auf den Fötus sind verbesserte Stresstoleranz und eine fortgeschrittene Reifung des neurologisch bedingten Verhaltens zu nennen. Auf welche Weise die körperliche Aktivität der Mutter die Gesundheit des Kindes beeinflusst, ist noch ungeklärt.

Die zelluläre Wirkung körperlicher Aktivität erfolgt durch die erhöhte Sauerstoffaufnahme. Die hohe Sauerstoffkonzentration führt aber auch zu oxidativem Stress, welcher über die vermehrte Bildung von Sauerstoffradikalen vermittelt wird. Als prominente zelluläre Antwort kommt es daher zur Hochregulierung des mitochondrialen Energiestoffwechsels, welcher wiederum zu vermehrtem oxidativen Stress führt.

Aus Versuchen weiß man, dass oxidativer Stress durch low-level Strahlung epigenetische Veränderungen hervorrufen kann, die über Einsatz von Antioxidantien inhibiert werden. Der beantragte Tierversuch dient daher der Prüfung zweier Hypothesen: (i) körperliche Aktivität schwangerer Mäuse führt zu epigenetischen Veränderungen in den Nachkommen und (ii) die epigenetischen Veränderungen werden durch oxidativen Stress verursacht. Als Untersuchungsobjekt dienen Kreuzungen aus homozygoten männlichen Agouti viable yellow ( $A^{vy}/A^{vy}$ ) Mäusen und homozygoten weiblichen  $a/a$  Mäusen. Während letztere durch Mutation des Agouti-Allels den Agouti Phänotyp nicht exprimieren können und eine schwarze Fellfarbe haben, sind die männlichen Tiere aufgrund der ektopischen Expression des Agouti-Allels gelb gefärbt. Da diese Färbung abhängig von der Methylierung des Retrotransposons ist, das die ektopische Expression steuert, führt die fehlende Methylierung zu einer gelben Fellfärbung und die Methylierung zu einer braunen. Je mehr Nachkommen eine braune Fellfärbung haben, desto höher ist also der Methylierungsgrad des Retrotransposons. Diese Tiere zeigen im Vergleich zu denen mit gelber Fellfärbung weniger Neigung zu Fettsucht, Diabetes und Krebs.

Die Mäuse werden in 3 Gruppen unterteilt. Eine Gruppe dient zur Kontrolle und muss kein Training am Laufband absolvieren, eine Gruppe muss am Laufband kontinuierlich 3 km bei normaler Laufgeschwindigkeit zurücklegen, und die 3. Gruppe erledigt dieses Pensum diskontinuierlich mit abwechselnder geringerer und höherer Laufgeschwindigkeit. Dieses Training beginnt 2 Wochen vor und erstreckt sich über die ganze Schwangerschaft. Sollte es durch die Behandlung zu einer

quantitativen Verschiebung zu Nachkommen mit brauner Fellfarbe kommen, würde dies bedeuten, dass körperliche Aktivität das Epigenom verändern kann.

Die Hypothese, dass oxidativer Stress verantwortlich für die epigenetischen Veränderungen ist, wird nicht an den Versuchstieren selbst, sondern an Hautfibroblasten-Kulturen, die von einem der euthanasierten heterozygoten  $A^{vy}/a$  Nachkommen der Kontrollgruppe angesetzt werden, untersucht. Einer der zentralen Aspekte der Wirkung oxidativen Stresses ist die Auslösung einer oxidativen Kettenreaktion in den Membranen der Zelle, die zur Bildung von reaktiven aldehydischen Abbauprodukten führt. Die bedeutendsten Abbauprodukte sind aufgrund ihrer biologischen Wirkung 4-Hydroxynonenal und 4-Hydroxyhexenal. Beide Substanzen werden *in vitro* auf das Potential, Veränderungen des Methylierungsmusters des Retrotransposons auszulösen, untersucht.

Da sich das vorgesehene Laufpensum der Mäuse an der natürlichen Aktivität orientiert, ist der Schweregrad des Eingriffs als sehr gering zu betrachten. Darüber hinaus wird ein zu untersuchender Aspekt zur Gänze *in vitro* bearbeitet. Zur Reduktion der Tiere wurde die Anzahl mittels Fallzahlplanung auf das erforderliche Minimum berechnet und beträgt 30 Weibchen und 5 Männchen in der Parentalgeneration, während die F1-Generation, an der die phänotypischen Veränderungen bestimmt werden, mit 150 bis 210 Tieren geschätzt wird (5 bis 7 Tiere pro Wurf).

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

Das Ziel dieser Studie ist es, neue DNA-Reparatur Mechanismen zu identifizieren, welche die Entwicklung des Immunsystems kontrollieren. Das Verständnis von Mechanismen, die die DNA-Reparatur in Zellen des Immunsystems übermitteln, ist notwendig, um pathologische Prozesse, welche Zellen des Immunsystems betreffen, zu verstehen, wie zum Beispiel Krebs und Entzündungen. Zusätzlich dazu kann das Entwirren der Funktionen des Immunsystems helfen, neue therapeutische Strategien und potentielle anti-Krebs- und entzündungshemmende Medikamente zu identifizieren. Konkret werden wir die Rolle eines Proteins mit dem Namen ATM untersuchen, das oft in menschlichem Krebs mutiert ist und dessen Mangel auch eine menschliche Krankheit namens Ataxia Telangiectasia (A-T) verursacht, welche durch Immundefizienzen, Krebsdisposition, neuronaler Degeneration und Radiosensitivität gekennzeichnet ist. ATM übt seine Funktion zusammen mit zwei weiteren Proteinen aus, NBS1 und ATMIN. Die Rolle dieser Proteine in Bezug auf das Immunsystem wird den Hauptfokus dieser Studie darstellen. Um die vorgeschlagene Studie durchzuführen würden wir bis zu 2100 Mäuse in einem Zeitrahmen von 3 Jahren benötigen. Die vorschriftsmäßige 3R Regel wird angewendet. Eine Fallzahlplanung sowie Standardisierung der Haltung und des methodischen Vorgehens helfen, um unnötige Experimente und Leiden der Tiere zu vermeiden. Die Nutzung von Mausmodellen ist notwendig, um die komplexen Mechanismen zu untersuchen, die an der Entwicklung des Immunsystems beteiligt sind. Wir haben vorläufige in vitro Daten, welche die Bedeutung der zuvor genannten Proteine andeuten, die wir nun in vivo testen werden. Im Moment ist es nicht möglich ein Mausmodell für die Entwicklung des Immunsystems, Entzündungen und das Fortschreiten von Krankheiten zu ersetzen. Es ist wichtig ein komplexes Bild dieser Prozesse zu erlangen, um die Rolle der DNA-Reparaturproteine zu verstehen und neue Strategien für die Behandlung von Immunsystemdefekten und Krebs zu entdecken.

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



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

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

Durch die Entschlüsselung des Genoms von Mensch und Maus wurden zahlreiche neue Gene bekannt, deren Funktion im Einzelnen oft noch nicht verstanden ist: Gene, die zum Beispiel das Wachstum, die Vermehrung und die Spezialisierung von Zellen kontrollieren, und Gene, die defekte Zellen durch programmierten Selbstmord eliminieren, sind auch an der Entstehung von Tumoren beteiligt. Um die Funktionen und Wechselwirkungen dieser Gene und ihren Beitrag zur Entartung zu verstehen, sind Analysen einzelner Zellen oder Gewebe nicht ausreichend. Für diese Fragestellungen sind Untersuchungen an intakten Organismen unersetzlich. Als Modell für die Verhältnisse beim Menschen werden deshalb Mäuse herangezogen, deren Erbgut so verändert ist, dass sie bestimmte Gene im Übermaß oder vermindert exprimieren. Die Schaffung dieser genetisch veränderten Mäuse (Spontanmutationen und Verfahren der Gentechnik) durch einschlägige Zuchtverfahren und deren Haltung ist Inhalt des vorliegenden Projektantrags. Die so gewonnenen genetisch veränderten Mäuse werden über lange Zeit beobachtet, ihr Erscheinungsbild und eventuelle krankhafte Veränderungen werden dokumentiert. Kreuzungen mit anderen genetisch veränderten Tieren geben Aufschluss über das Zusammenwirken mehrerer tumorrelevanter Gene. Da der Genotyp (der molekulare Aufbau der Erbsubstanz) und der Phänotyp (die äußere Erscheinungsform) der durch dieses Verfahren gentechnisch veränderten Tiere selber der Forschungsgegenstand sind, ist diese Methode unerlässlich und kann durch keine alternativen experimentellen Ansätze ersetzt werden. Die Verpaarung der Mäuse geschieht auf natürliche Weise und entspricht dem angeborenen Reproduktionsverhalten der Tiere. Da die Nachkommen sich von den Elterntieren genetisch unterscheiden und die Folgen dieser Veränderung nicht im Detail vorhersehbar sind, kann eine Beeinträchtigung der Jungtiere nicht ausgeschlossen, aber auch nicht präzise vorhergesagt werden.

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

Insgesamt werden 3120 Mäuse verwendet, die sich wie folgt ergeben: Zur Zucht werden 3000 weibliche Mäuse verwendet. Bei Annahme von durchschnittlich 5 Jungen pro Wurf und 10,4 Würfen pro Jahr werden 156 000 Tiere pro Jahr geboren. Von diesen sind erfahrungsgemäß etwa 2% belastet, das sind 3120 Tiere pro Jahr.

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

Wo immer es möglich und wissenschaftlich vertretbar ist, vermeiden wir Versuche an Tieren. Fragestellungen, die sich etwa mit Abläufen und Veränderungen innerhalb von Zellen befassen, werden an kultivierten Hefezellen, Säugetierzellen oder menschlichen (Krebs)zellen bearbeitet. Zur Aufklärung der Funktion und Wechselwirkung von Genen können jedoch nur intakte Organismen herangezogen werden. Die Gesetze der Vererbung und das spontane Element der Mutation bringen es mit sich, dass wir mit stochastischen Größen arbeiten müssen. Die gewünschten Eigenschaften finden sich nur bei einem Teil der Nachkommen. Durch unsere langjährige Expertise und die strikte Auswahl geeigneter Zuchtpartner können wir diese Unschärfe jedoch auf ein Minimum einschränken. Die Auswirkungen, welche die genetischen Veränderungen auf das Wohlbefinden der Tiere haben, sind nicht exakt vorhersehbar. Das Verhalten und die äußere Erscheinung der Tiere werden jedoch täglich kontrolliert. Mäuse, die nach genau definierten Kriterien klinisch krank sind, werden mittels erprobter, weitgehend schmerz- und stressfreier Standardverfahren getötet.

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

Das menschliche Gehirn verarbeitet unterschiedlichste Sinneseindrücke welche wiederum zu komplexen Verhaltensweisen führen. Diese Hauptaufgaben werden durch ganz grundlegende Gehirnfunktionen gesteuert: Das Lernen erlaubt uns Informationen im Großhirn zu speichern und zu einem späteren Zeitpunkt, bewusst oder unbewusst, wieder abzurufen. Die bewusste und unbewusste Wahrnehmung der Umwelt und des eigenen Seins erlaubt die Entstehung der ganzen Bandbreite von Emotionen und die Kontrolle unserer Motorik erfolgt im Kleinhirn. Alle diese Funktionen müssen gleichzeitig und koordiniert ablaufen. Diese Koordinationsaufgabe wird durch das Zusammenwirken der Grundbausteine des Gehirns, der Nervenzellen, ermöglicht. Die Nervenzellen stehen jeweils über zehntausende Zell-Zell-Kontakte, den sogenannten Synapsen, miteinander in Verbindung, kommunizieren so mittels elektrischer Signale miteinander und können damit die Gehirnfunktionen koordinieren. Ein Ungleichgewicht in den Verbindungen oder in der elektrischen Aktivierung von Nervenzellen führt häufig zu Erkrankungen wie Epilepsie, Autismus oder Depressionen und nachhaltige Schädigungen einzelner Nervenzellbereiche ist die Hauptursache für die Entwicklung von Parkinson oder Alzheimer. Der Gesundheitszustand des Gehirns ist daher untrennbar mit dem ordnungsgemäßen Funktionieren einzelner Nervenzellen verbunden. In so einer Zelle regulieren und koordinieren nun Millionen kleiner Bausteine, sogenannte Zelleiweiße, die zellulären Abläufe: Sie bestimmen zum Beispiel welche Gene wann gebraucht werden und verarbeiten Informationen über die Aufnahme und Abgabe zellulärer Botenstoffe.

In dem vorliegenden Projekt möchten wir nun die Funktionen einzelner Zelleiweiße, die an der Kontrolle und Verarbeitung zellulärer Botenstoffe beteiligt sind, aufklären. Schädigungen dieser Eiweiße, zum Beispiel bei genetischen Erkrankungen, Gehirnverletzungen, oder Sauerstoffmangel, führen sowohl beim Menschen als auch bei Mäusen zu Epilepsie, spastischen Lähmungen, Autismus und Depressionen. Ein besseres Verständnis der Aufgaben dieser Eiweiße wird daher zu einem effektiveren Einsatz bestehender Medikamente führen und kann dazu beitragen, neuartige Behandlungsformen mit geringeren Nebenwirkungen zu entwickeln.

Die Grundlage zur Untersuchung dieser Funktionen bilden im gegenständlichen Projekt fünf Mausstämme mit natürlich vorkommenden oder gentechnisch erzeugten Mutationen in diesen Zelleiweißen. Um die Ursache dieser Krankheiten zu untersuchen, müssen diese Mäuse nun gezüchtet werden. Dies geschieht durch die Verpaarung von gesunden Krankheitsträgern, bei denen jedes Elternteil sowohl ein gesundes als auch ein mutiertes Gen besitzt. Wenn bei den Nachkommen dieser Paare nun zwei kranke Gene zusammentreffen, kommt es zum Ausbruch der Krankheit. Zum Studium der Nervenzellen der betroffenen Mäuse, entnehmen wir eingeschläferten jungen Mäusen die Gehirne und züchten daraus die Nervenzellen in einer Zellkultur weiter. Die gezüchteten Nervenzellen können danach mittels Mikroskopie und physiologischen Experimenten untersucht werden. Dabei ist es uns zum Beispiel möglich einzelne Zell-Zell-Verbindungen darzustellen und zu messen, wie sich das Fehlen der jeweiligen Eiweiße auf die elektrische Signalweiterleitung auswirkt. Um die Auswirkungen der Erkrankungen auf die Entwicklung und Struktur des Gehirns zu untersuchen, müssen pro Mausstamm mehrere Mäuse über mehrere Wochen großgezogen werden. Diese Mäusen, sowie als Kontrolle deren gesunde Geschwister, werden im Alter von 1 bis 16 Wochen durch ein injiziertes Narkosemittels einschläfert, deren Gehirne konserviert und entnommen und in weitere Folge im Labor untersucht. Insgesamt werden dafür in den nächsten 5 Jahren maximal 174 Mäuse, von denen maximal 58 von der Krankheit betroffen sind, gezüchtet und untersucht. Zur Ermittlung des genetischen Status (gesunde oder mutierte Gene), der für diese Versuche benötigten Mäuse, muss in den nächsten 5 Jahren bei maximal 650 jungen Mäusen eine kleine Gewebeprobe der Schwanzspitze (1 mm) zur DNA-Analyse entnommen werden. Durch diese Vorgangsweise können alle Experimente an entnommenen Gehirnen oder an gezüchteten Nervenzellen durchgeführt werden, wodurch Versuche an lebenden Tieren weitestgehend vermieden werden. Die künstliche Züchtung von Nervenzellen erlaubt die Versuchsdurchführung an über hundert Zellen einer einzigen Maus, wodurch im Vergleich zu Versuchen an lebenden Mäusen die Gesamtzahl der benötigten Tiere deutlich vermindert wird. Die sorgfältige Handhabung und

Betreuung der Mäuse durch geschulte Mitarbeiter/innen, tägliche Kontrollen der Mauszuchten, die Gewebeentnahme an toten Tieren und die sachgemäße Verwendung von Narkoseverfahren sorgt zusätzlich für eine Verfeinerung der Abläufe und damit eine Reduktion des Stresses, dem die Mäuse ausgesetzt sind. Wir erwarten uns von diesen Untersuchungen neue Erkenntnisse über die Ursache und Entstehung von Gehirnerkrankungen wie Epilepsie, Autismus und Depressionen und über welchen zellulären Mechanismus die untersuchten Zelleiweiße an der Ausprägung dieser Erkrankungen beteiligt sind. Aus diesen Studien können sich daher zukünftig neue und an nebenwirkungsarme Strategien zur Behandlung von Gehirnerkrankungen beim Menschen entwickeln.

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

Es gibt viele Patienten mit Organ-spezifischen Autoimmunerkrankungen, bei denen Gewebeschaden durch die Wirkung von Autoantikörpern induziert wird. Bedauerlicherweise ist es jedoch vollkommen unklar, warum diese Autoantikörper entstehen. Es gibt jedoch kleine Proteinabschnitte (Peptide), z.B. aus Proteinen von Bakterien, die den Zielstrukturen pathogener Antikörper zum Verwechseln ähnlich sehen. Um zu klären, ob derartige Proteinabschnitte für die Ausbildung pathogener Antikörper verantwortlich sein können, muß das Immunsystem mit diesen Proteinabschnitten konfrontiert und die dadurch hervorgerufenen Antikörper sowohl *in vitro* als auch im Rahmen T-Zell-vermittelter Entzündungsreaktionen *in vivo* charakterisiert werden. Dies kann nur im Rahmen von Tierexperimenten erfolgen. Um die Zahl der für diese Experimente vorgesehenen Tiere so gering wie möglich zu halten, wurde die benötigte Tierzahl durch statistische Fallzahlberechnungen ermittelt. Desweiteren werden wir Lewisratten verwenden, da diese Tiere für die Untersuchung Organ-spezifischer Autoimmunerkrankungen hervorragend geeignet sind und wir daher nur mit sehr wenigen Ausfällen zu rechnen haben. Zur Verminderung der Krankheitssymptome und zur Verfeinerung der Experimente wird die Zahl der eingesetzten T-Zellen so gewählt, dass ein möglichst geringer Schweregrad klinischer Symptome zu erwarten sein wird. Insgesamt werden 334 Lewisratten benötigt.

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

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

Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen Allergien gehören zu den häufigsten chronischen Erkrankungen, so leiden zum Beispiel bis zu 30% der Bevölkerung unter einer allergischen Rhinitis (Heuschnupfen). Obwohl traditionellerweise das zentrale Nervensystem oft als weitgehend isoliert vom peripheren Immunsystem betrachtet wurde, gibt es immer mehr Hinweise darauf, dass das Gehirn stark durch systemische Immunreaktionen beeinflusst wird. Um zu untersuchen, wie sich akute und -vor allem -chronische allergische Reaktionen auf das ZNS auswirken, werden Mäuse gegen ein häufig vorkommendes Allergen sensibilisiert, und daraufhin eine allergische Immunantwort ausgelöst. Die erwartete Belastung für die Mäuse ist gering. Um dies sicherzustellen, werden die Mäuse während des Experiments täglich sorgfältig beobachtet, und der Versuch sofort abgebrochen, falls sichtbare Anzeichen für Schmerzen oder Leiden auftreten.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

Maximal 308 Mäuse.

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

Um die Anzahl der Tierexperimente bestmöglich zu verringern, wurden im Vorfeld extensive in vitro Versuche in der Zellkultur durchgeführt. Die Verwendung von Tierexperimenten ist für die oben beschriebene Fragestellung jedoch unumgänglich, da nur so die Auswirkungen einer peripheren Immunantwort auf die Struktur und Funktion des ZNS, gemeinsam mit ihrer Auswirkung auf das Verhalten untersucht werden kann. Es wird großer Wert darauf gelegt, die Anzahl der verwendeten Tiere auf ein Minimum zu reduzieren, so dass gerade noch statistische Signifikanz mit der erwarteten Effektgröße erreicht wird. Zusätzlich werden die Tiere über den gesamten Versuchsverlauf sorgfältig beobachtet (allgemeiner Eindruck, Gewicht, eventuelle Anzeichen von Schmerzen oder Leiden) und gegebenenfalls Gegenmaßnahmen eingeleitet.

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

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

Prostatakrebs, in der Medizin als Prostatakarzinom bezeichnet, ist eine bösartige Tumorerkrankung der Vorsteherdrüse (Prostata) des Mannes. Es ist die häufigste Krebserkrankung und die dritthäufigste Krebstodesursache bei Männern in Europa. Trotz umfangreicher Forschung sind die Ursachen für die Entstehung des Prostatakarzinoms und die Faktoren, die die Progression dieses Karzinoms vorantreiben, weitgehend unbekannt. Alter ist einer der wichtigsten Risikofaktoren, aber auch genetische Veranlagung und Lebensstil scheinen eine wichtige Rolle zu spielen. Ziel dieser Studie ist es, die Rolle eines Serinproteaseinhibitors auf die Entstehung und Progression von Prostatakrebs zu untersuchen und darüber hinaus mehr über die molekularen Mechanismen von Prostatakrebs zu erfahren um neue diagnostische und therapeutische Zielmoleküle zu identifizieren und Diagnose als auch Behandlung des Prostatakarzinoms zu verbessern. Von uns durchgeführte Zellkulturexperimente haben gezeigt, dass der Serinproteaseinhibitor einen negativen Einfluss auf die Invasivität von Prostatakrebszellen hat, daher soll in diesem Projekt der Einfluss auf die Prostatakrebsentstehung in vivo untersucht werden. Die Rolle von Serinproteaseinhibitoren auf die Invasivität und Motilität von Brust- und Lungenkrebszellen wurde bereits in Zellkulturexperimenten untersucht. Es gibt aber bisher keine in vivo Studien, welche die Rolle von Serinproteaseinhibitoren auf die Krebsentstehung analysieren. Da für die Entstehung von Prostatakrebs die Mikroumgebung und die dreidimensionale Gewebestruktur des Organs von wesentlicher Bedeutung sind und die komplexe Interaktion zwischen Basal- und Luminalzellen mit extrazellulärer Matrix und Immunsystem sich nicht in Zellkulturexperimenten darstellen lässt, erfordert es daher in vivo Experimente.

Wir erwarten uns neue Einblicke in die molekularen Mechanismen der Prostatakrebsentstehung zu gewinnen. Die Identifikation neuer diagnostischer und therapeutischer Zielmoleküle könnte die zukünftige Diagnose als auch Behandlung des Prostatakarzinoms verbessern.

*Art und Anzahl der Tiere*

Für die geschilderte Studie werden insgesamt 200 Mäuse unterschiedlichen Genotyps benötigt. Für die Zucht werden insgesamt 32 Mäuse beantragt.

*Erfüllung der "3R" (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)*

Das Design dieser Studie fand unter genauer Berücksichtigung der 3R Regeln statt, wobei hierbei auch besonderes Augenmerk darauf gelegt wird, die Anzahl der verwendeten Tiere durch verbesserte Zuchtplanung so gering wie möglich zu halten. Die Tierhaltung und methodisches Vorgehen erfolgen unter standardisierten Bedingungen, sodass die Streuung der Ergebnisse minimiert wird. Unter diesen Voraussetzungen wurde die Stichprobengröße berechnet, um die Anzahl der Tiere für die Studien auf das notwendige Minimum zu senken.

Die Anzahl der belasteten Tiere wird durch optimierte Zuchtplanung und klare Abbruchkriterien so gering wie möglich gehalten. Ferner werden die Mäuse in Gruppen in angereicherten Käfigen gehalten, von ausgebildeten Tierpflegerinnen betreut und die Behandlungen werden von geschulten Projektmitarbeiterinnen durchgeführt und tierärztlich überwacht.

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

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

In den letzten Jahren ist der Bedarf an Implantaten für Osteosynthesen in der Kindertraumatologie gestiegen und mit der Entwicklung von kinderspezifischen Versorgungstechniken von Frakturen, wie der elastisch stabilen Marknagelung (ESIN), konnten Komorbiditäten drastisch reduziert werden. Die Kinder profitieren durch minimal invasiven perkutanen Zugangsweg, verminderte Schädigung des umgebenden Weichteilmantels, früher Mobilisierung und verkürzten Krankenhausaufenthalt. Diese Entwicklung endet in der Maxime mit minimalstem Aufwand den größtmöglichen Erfolg zu gewähren. Bezogen auf die Kinder bedeutet dies; möglichst wenige Operationen respektive Anästhesien, eine möglichst geringe Störung der immer stattfindenden Heilung und eine höchstmögliche Reduzierung von Komplikationen. Dies alles führt letztendlich auch zu einem ökonomischen Benefit – kurzer stationärer Aufenthalt bzw. eine schnelle Wiedereingliederung in die alltägliche Betreuungslage, um den Arbeitsausfall für betreuende Mütter und Väter zu reduzieren.

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

In den letzten Jahren haben sich Magnesium-basierte Legierungen als vielversprechendes Material mit biodegradierenden Eigenschaften zur intramedullären Stabilisierung herausgestellt. Es ist gelungen erfolgreich eine Mg-Legierung herzustellen, die die notwendigen mechanischen Eigenschaften, die erforderliche Korrosionsresistenz erbringt und dabei ganz ohne die Beimischung von seltenen Erden auskommt - ein Durchbruch in der Materialentwicklung der letzten Jahre.

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

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

450 Sprague Dawley Ratten

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

Replace – In vitro Untersuchungen und Zelltestungen ohne Tierversuche wurden bereits mit den genannten Materialien durchgeführt. Die Ergebnisse zeigten, dass bei langsamer Degradation des Materials keine Zytotoxizität und gute Biokompatibilität vorhanden ist und das Material gut von den Zellen verstoffwechselt wird. Durch bereits erfolgte Versuche und stetige Weiterentwicklung der bestehenden Materialien konnten finale Implantatlegierungen gefunden werden, mit welchen letztendlich eine Zertifizierung angestrebt wird. Weitere Versuche zur Sicherstellung der gewünschten Materialeigenschaften sind daher unerlässlich.

Reduce - Zur Senkung der Tieranzahl auf ein Minimum, wurde angestrebt möglichst viele Versuche in vivo durchzuführen. Durch die nicht invasive und nicht destruktive Untersuchung mittels  $\mu$ CT und Fluoreszenz Tomographie bleibt ein Teil des Gesamtkollektivs der Versuchstiere bis zum Ende Studienlaufzeit erhalten und erlaubt eine möglichst geringe, statistisch relevante Anzahl an Tieren. Biomechanische Untersuchungen bzw. Organuntersuchungen und Histologie erfordern weiterhin zusätzliche Tiere.

Refine - Zur Vermeidung von zusätzlichem Stress wurden Blutabnahmen und Fluorophor Injektionen soweit möglich zum Zeitpunkt der  $\mu$ CT Untersuchungen festgelegt, da sich die Tiere hierfür bereits in Narkose befinden. Die Tiere werden außerdem beginnend von Ihrem Eintreffen an der Biomedizinischen Forschung bis zum Ende der Studie nach tierärztlichem Protokoll betreut.

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

1. Angaben über die Projektziele, einschließlich des zu erwartenden Schadens und Nutzens  
Diabetiker unter Insulinpumpentherapie können sich nur etwa zwei Tage zu hundert Prozent auf ihre Pumpe verlassen, bevor die Wirkung/Absorption des Insulins nachlässt oder komplett versagt. Der Versuch soll Aufschluss darüber geben, welche (Immun-)Reaktionen im subkutanen Fettgewebe für die beeinträchtigte Insulinabsorption verantwortlich sind. Dieses Wissen soll in Zukunft zur Entwicklung von geeigneten Alarmsystemen beitragen oder zur gezielten Therapie zur Unterbindung bestimmter Immunreaktionen in der Nähe der Nadelspitze. Da die Insulinwirkung in den ersten zwei Tagen unbeeinträchtigt scheint und erst am dritten Tag der kontinuierlichen Infusion eingeschränkt wird, ist es für die geplanten Versuche von immenser Bedeutung diese über mindestens drei Tage durchzuführen. Es kann eindeutig festgestellt werden, dass sich für die Patienten große Vorteile ergeben werden, die Tiere im Rahmen der Versuche jedoch keine Schmerzen, Leiden oder hohe Belastungen erfahren.

2. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere  
25 Hausschweine

3. Angaben über die Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verbesserung)  
Im Sinne der 3Rs - Replacement, Reduction and Refinement - zum Schutz der für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere, werden die Tiere für Untersuchungen mit mehreren Methoden und für unterschiedlichen Fragestellungen gleichzeitig verwendet. Dadurch kann der bestmögliche Nutzen aus den Tierversuchen erzielt und gleichzeitig die Anzahl der Versuchstiere gering gehalten werden. Am Menschen können diese Fragestellungen nicht untersucht werden, da einerseits ein sehr hoher Entwicklungsstand der Methoden notwendig ist, und alle Biokompatibilitätsfragen bereits geklärt sein müssen, um die Patientensicherheit zu gewährleisten. In vitro Laboruntersuchungen sind nicht zielführend, da in vitro weder die Insulinwirkung auf das lokale Gewebe an der Infusionsstelle noch die Immunreaktion auf einen Fremdkörper nachgestellt werden kann. Deshalb wird diese Untersuchung am Tier durchgeführt.

Die statistische Aussagekraft der Experimente wird gewährleistet, indem an unterschiedlichen Stellen am Versuchstier jede Methode in mehrfacher Ausführung parallel eingesetzt wird. Dadurch wird die Anzahl der notwendigen Tiere möglichst gering gehalten. Durch die aufwendigen Messungen wird angestrebt, den größtmöglichen Wissenszuwachs aus einer geringstmöglichen Anzahl an Versuchstieren zu gewinnen. Es wird die geringstmögliche Anzahl der Tiere verwendet, die für eine statistisch signifikante Aussagekraft der Ergebnisse notwendig ist. Sollten sich Signifikanzen bereits mit weniger als den geplanten Tierzahlen ergeben, wird die Anzahl der für das Versuchsprotokoll eingesetzten Tiere entsprechend reduziert.

Während der Eingewöhnungszeit der Tiere wird neben standardmäßiger fachkundiger Betreuung durch geschultes Tierpflegepersonal zusätzlich zum Wohl der Tiere eine Bereicherung („enrichment“) in Form von Bällen, Gummiringen etc. zur Verfügung gestellt. Des Weiteren werden die Tiere durch vermehrten Kontakt an die Tierpfleger und Projektmitarbeiter gewöhnt.



Das Projekt dient der translationalen oder angewandten Forschung zur Entwicklung und Herstellung sowie Qualitäts-, Wirksamkeits- und Unbedenklichkeitsprüfung von Arzneimitteln. Das Arzneimittel soll der Vorbeugung oder Behandlung potentiell lebensbedrohlicher Erkrankungen dienen, weshalb die Verwendung von 2500 Ratten gerechtfertigt ist.

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

Die maximale Belastung wird als „mittel“ eingestuft, es erfolgt keine rückblickende Bewertung (§30 Abs. 2 TVG 2012).

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

1. Angaben über die Projektziele, einschließlich des zu erwartenden Schadens und Nutzens: 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.

2. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere:  
1664 Mäuse unterschiedlichen Genotyps.

3. Angaben über die Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung). Zur Vermeidung der Tierversuche wurden soweit möglich Versuche mit Zellkulturen durchgeführt, diese ‚in vitro‘ Ergebnisse sind die Basis für alle weiterführenden Versuche. Die Infektionsstudien werden derart verfeinert und durchgeführt, dass Leiden durch folgende Maßnahmen vermindert wird: 1. Werden sämtliche Eingriffe unter Narkose durchgeführt; 2. Werden die Infektionen derart geplant, dass Krankheitssymptome so weit als möglich vermieden werden; 3. Wird zur Verminderung der Tierzahl bei sämtlichen Versuchen auf streng standardisierte Versuchsbedingungen Wert gelegt; 4. Werden Überlebensexperimente nur durchgeführt, wenn die vorherige Analyse der ohne maßgebliche Schmerzen oder Leiden verursachenden Versuche mit einer an Sicherheit grenzenden Wahrscheinlichkeit zu einem Überlebensunterschied führen. Wenn dies nicht gegeben ist, werden keine Überlebensversuche durchgeführt.

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

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

Chronische metabolische Lebererkrankungen (Fettleber, entzündliche Fettleber, Zirrhose, Leberkarzinom) stellen eine erhebliche Gesundheitsbelastung dar. Ein wesentlicher Faktor bei der Entstehung dieser Erkrankungen sind Veränderungen des Energiestoffwechsels der Leber, insbesondere hervorgerufen durch Veränderungen in der Funktion der Mitochondrien, der Regulation des Fettstoffwechsels und der Stressantwort. Es ist bekannt, dass Curcumin, ein Bestandteil vieler asiatischer Gewürze gute Wirkung gegen eine Vielzahl entzündlicher Erkrankungen, Krebs und auch metabolischer Erkrankungen, wie die entzündliche Fettleber, darstellt. Ein wesentlicher Vorteil von Curcumin ist dabei, dass es auch in sehr hoher Dosis (mehr als 5000 mg/kg/Tag bei Ratten) nicht toxisch wirkt. Bei der Untersuchung der Wirkung ist jedoch zu berücksichtigen, dass nur ein sehr geringer Teil resorbiert, und unverändert in das jeweilige Zielorgan transportiert wird. Der Umstand, dass für Curcumin auch selektive antibakterielle Wirkungen gezeigt wurden, lässt vermuten, dass ein wichtiger Teil des Wirkmechanismus im Einfluss auf die Darmflora besteht. Deren (pathologische) Veränderungen werden mittlerweile mit einer Vielzahl von Erkrankungen (Fettleibigkeit, chronische Entzündungen, metabolische (Leber-) Erkrankungen, und auch Krebs in Verbindung gebracht. Curcumin könnte damit direkt, als Stoffwechselprodukt oder über Normalisierung der Darmflora positiven Einfluss auf entzündliche Fettleber haben. Wir werden in unserem Mausmodell für diese Erkrankung daher untersuchen, ob sich mittels Curcumin die Leberschädigung unterdrücken, bzw. rückgängig machen lässt.

Für den hier durchgeführten Tierversuch werden 160 Mäuse verwendet.

Vermeidung: Ersatzmethoden für diese Studien sind nicht verfügbar, da es sich um Experimente handelt, die die Lebensdauer von primären Leberzellen in Kultur, die durch simple Organentnahme gewonnen werden könnten, bei weitem übersteigen. Kultivierte immortalisierte Zellen können für diese Experimente nicht verwendet werden, da die phänotypischen Veränderungen der entzündlichen Fettleber in keiner uns bekannten Leberzelllinie auftreten. Ebenso werden in solchen Linien viele charakteristische Gene nicht exprimiert, oder der Metabolismus der Zellen unterscheidet sich wesentlich von Hepatozyten in situ. Auch ist in reinen Zellkulturexperimenten der Kontext der Funktionsänderung im Gesamtorganismus nicht gegeben.

Verminderung: Die Tieranzahl im Experiment ist minimal bemessen, doch so dass bei den Ergebnissen statistische Signifikanz gegeben ist.

Verfeinerung: Für das Wohl der Tiere wird durch veterinärmedizinische Überwachung und erfahrenes Tierpflegepersonal Sorge getragen. Die Tiere werden in adäquater Umgebung in Gruppen gehalten, wobei durchgehender Zugang zu Trinkwasser und Futter gewährleistet ist.

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

### 1. Angaben über die Projektziele, einschließlich des zu erwartenden Schadens und Nutzens

Neben der gerichtsmedizinischen Begutachtung von Art und Schwere von Verletzungen, sind durch die Rechtsmedizin insbesondere Fragen zur Verletzungsentstehung, zum Zeitpunkt der Entstehung und zur Plausibilität von Zeugenangaben zu beantworten. Multiple Frakturen (Knochenbrüche) bei Minderjährigen kommen besonders oft bei häuslicher Gewalt und Misshandlungen vor. Aus diesem Grund ist eine genaue zeitliche Datierung der Entstehung einer Fraktur beziehungsweise die Feststellung einer allfälligen Mehrzeitigkeit von Frakturen entscheidend für die Klärung einer möglichen Täterschaft.

Ziel dieser Studie ist daher die Definition von MR-Charakteristika (d.h. Merkmale, die bei einer Magnetresonanztomographie (MRT) - Untersuchung von standardisierten Knochenbrüchen bei Schafen gefunden werden) und deren zeitliche Zuordnung während des Heilungsverlaufs von Frakturen (Knochenbrüchen) bei Schafen mittels MR-basierter Methoden, insbesondere der Identifizierung und Beschreibung radiologischer Veränderungen, Merkmale und quantitativer Parametern. Die zusätzlichen histologischen Kontrolluntersuchungen zu bestimmten Zeitpunkten nach dem Frakturereignis ermöglichen den Abgleich und das Verständnis der im MRT gefundenen Charakteristika.

Dieses Projekt legt die Grundbasis für das Verständnis weiterführender klinischer Studien bezüglich Frakturverlaufsdarstellungen in der MRT, und damit die Basis für die Entwicklung eines MRT Protokolls, welches im Rahmen oben beschriebener forensischer Fragestellungen verwendet werden kann. Aufbauend auf den Ergebnissen dieser Studie, sowohl bezüglich MRT-spezifischer Merkmale der Frakturheilungsstadien, als auch hinsichtlich der verwendeten MRT-Aufnahmesequenzen wird anschließend eine entsprechende Studie bei Erwachsenen und Kindern durchgeführt werden.

### 2. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere

Für die Durchführung der Versuche sind insgesamt 17 Hausschafe (Merino-Landschafe) geplant.

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

**Vermeidung und Verminderung:** Der Verlauf der Knochenheilung, sowie die Detektierung (Erkennung) von zeitlichen Merkmalen der Knochenheilung mittels MRT kann nur in vivo am Tiermodell untersucht werden. Zur Untersuchung der Anwendbarkeit eines spezifischen MRT-Protokolls ist eine Optimierung der MRT-Parameter in Anlehnung an eine histologische Untersuchung unerlässlich. Schafe kommen aufgrund ihrer Knochenheilungsverläufe den menschlichen Knochenheilungsverläufen sehr nahe und sind daher ein geeignetes Modell für die angestrebten Untersuchungen.

Da es sich allerdings um eine prospektive, deskriptive Pilotstudie handelt, kann von einer guten Aussagekraft bei einer geringen Fallzahl ausgegangen werden. Des Weiteren wurden vor der Planung der vorliegenden Studie alle technischen Details des Frakturmodells sowie anhängender histologischer und magnetresonanztomographischer Untersuchungen an toten Schafsvorderläufen erfolgreich getestet um die Tierzahlen weiter zu verringern und eine umfangreiche Risikoabschätzung vorgenommen, sofern dies mit diesen Methoden abgedeckt werden kann.

**Verfeinerung** Sämtliche Tiere stehen zu jeglichem Zeitpunkt unter tierärztlicher Beobachtung und bekommen ausreichend Zeit zur Akklimatisierung an neue örtliche Gegebenheiten. Des Weiteren wird zu jedem Zeitpunkt der Untersuchungen das Tier in adäquater Weise analgetisch und anästhesiologisch behandelt um unnötigen Schmerzen oder Leiden zu vermeiden, wobei die Schmerztherapie auch nach Fraktursetzung weiterverläuft. Hier wird auf eine möglichst kurze Belastung durch gut geplante und organisierte, kurze Versuchsabläufe geachtet. Der Schaden für die Tiere bleibt somit sehr gering im Vergleich zum Erkenntnisgewinn für die Humanmedizin.

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

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

In dieser Studie sollen neu entwickelte transgene MitoRats Ratten im Alter von 12 Monaten auf ihre allgemeine Gesundheit, Motorik und Kognition getestet werden. Durch die Charakterisierung soll es im Folgenden möglich sein diese Tiere für die Austestung von neuen Medikamenten gegen mitochondrial-bedingte Krankheiten einzusetzen. In den letzten Jahren konzentriert sich die Forschung im Bereich neurodegenerativer Erkrankungen vermehrt auf die Analyse von mitochondrialen Misregulationen, da nachgewiesen werden konnte, dass z.B. bei Alzheimer oder Parkinson Patienten die mitochondriale Funktion gestört ist. Das hier zu charakterisierende MitoRats Rattenmodell wird daher zur Grundlagenforschung als auch zur Austestung neuer Substanzen zur Behandlung von mitochondrialbedingten Krankheiten dienen und somit die Forschung in diesem Bereich erleichtern und beschleunigen. Die Forschung im Bereich mitochondrialer Erkrankungen ist noch sehr neu, die Anzahl der Veröffentlichungen zu diesem Thema ist jedoch in den letzten Jahren stetig steigend. Dies beweist wie wichtig dieser Forschungsbereich ist und dass schon bald neuartige Medikamente zur Behandlung der mitochondrialen Symptome im Tiermodell zu testen sein werden. Die hier zu charakterisierende transgene Ratte stellt daher ein gutes Modell dar um diese Medikamente zu testen.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

Für diese Studie werden 32 transgene MitoRats Ratten und 16 nicht transgene Geschwistertiere beantragt. Die Ratten überexprimieren eine RNAi gegen das mitochondriale Protein Cytochrome C. Die RNAi führt dazu, dass die Expression des Cytochrome C gehemmt wird und dadurch die Funktion der Mitochondrien gestört wird.

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

Um mitochondrial-bedingte Krankheiten 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. Nur durch die Charakterisierung von mitochondrial gestörten Ratten kann es möglich sein, neue und effiziente Medikamente gegen Mitochondrien-bedingte Erkrankungen zu testen.

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

Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen:

Das Mikrobiom im Allgemeinen bezeichnet die Gesamtheit aller den Organismus besiedelnden Mikroorganismen. Damit werden primär die Darmbakterien (Darmflora) in Verbindung gebracht, aber auch alle Mikroorganismen, die auf der Haut (Hautflora) leben. Jüngste Studien zeigten, dass das Mikrobiom der Haut in Interaktion mit der Abwehrlage (Immunstatus) des Organismus steht. Im vorliegenden Forschungsprojekt soll untersucht werden, inwieweit das Mikrobiom der Haut für die Ausbildung einer Immunantwort und deren Unterdrückung nach Einwirkung von ultravioletter (UV)Strahlung von Bedeutung ist. Die Reaktionsmuster normaler Mäuse werden mit denen von sog. germ-free (keimfreien) Mäusen verglichen werden. Ein besseres Verständnis der Wirkung von UV-Strahlung und dessen Interaktion mit dem Mikrobiom der Haut soll zur Entwicklung neuer Strategien in der Vorbeugung gegen Hautkrebs und Sonnenallergien beitragen.

Art und Anzahl der Tiere:

Die geplanten Fragestellungen sind nur durch Untersuchungen im Tiermodell zu beantworten, da das Zusammenwirken des körpereigenen Abwehrsystems (Immunsystems) mit dem Mikrobiom nach Einwirkung von UV-Strahlung für die Fragestellung von entscheidender Bedeutung ist. Die Untersuchungen sollen an insgesamt maximal 410 Versuchstieren eines bestimmten Mäusestamms erfolgen, der für solche Fragestellungen gewöhnlich als Modell verwendet wird.

Erfüllung der „3R“(Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung): Eine Vermeidung des beantragten Tierversuches ist nicht möglich, da die Fragestellungen nur in vivo (im Tierversuch) und nicht mit alternativen Methoden zu beantworten sind. Die Versuche erfolgen mit kleinstmöglichen Versuchsgruppengrößen und sequentiell, um u.a. durch die in der jeweiligen Versuchsetappe gewonnenen Daten die notwendige Versuchstierzahl der nächsten Etappe möglichst gering halten zu können. Auf nicht unbedingt notwendige Kontrollgruppen wird weitgehend verzichtet. Außerdem wird großer Wert darauf gelegt, die Projektversuche nur mit jener minimalen Anzahl an Versuchstieren durchzuführen, die statistisch notwendig ist, um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten. Gleichzeitig werden, wann immer möglich, mehrere Parameter (biochemische und funktionelle Parameter) bestimmt, um zusätzliche Versuche zu vermeiden und das vorhandene biologische Material optimal zu nutzen. Dies wird durch die genaue Planung des Versuchsablaufs und das optimale Ausnutzen aller Ressourcen erreicht. Die Zahl der verwendeten Versuchstiere beläuft sich auf die statistisch notwendige Anzahl pro Versuch und es werden keine Versuche unnötig ausgeführt oder wiederholt. Zusätzlich wird für eine möglichst angenehme und stressfreie Umgebung der Tiere gesorgt. Während des Behandlungszeitraums stehen die Tiere unter Beobachtung.

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

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

Eisen ist von kritischer Bedeutung für eine Reihe biochemischer Prozesse wie Replikation von DNA oder Energiegewinnung. In einem gesunden Organismus wird der Gehalt dieses wichtigen Mikroelements vor allem durch im Gewebe ansässigen Makrophagen reguliert, die für das Eisenrecycling zuständig sind. Die Makrophagen versorgen die metabolisch aktive Zellen in der Umgebung mit Eisen und speichern seinen Überschuss, der unter Umständen toxisch wirken kann. Laut der Fachliteratur ist die Anwesenheit der Makrophagen mit schlechter Überlebensprognose für die Brustkrebspatientin verbunden. Es wird auch vermutet, dass diese krebsfördernde Effekte der Tumormakrophagen in Zusammenhang mit ihrer Rolle in der Eisenverwertung stehen. In diesem Projekt soll geprüft werden, ob sich eine genetische und pharmakologische Interferenz des Eisenstoffwechsel in Tumormakrophagen auf das Tumorwachstum und die Metastasenbildung auswirkt. Des Weiteren werden klinisch relevante Tiermodelle und Eisenpräparate im Projekt eingesetzt, die eine Aussage über eventuelle therapeutische Anwendung der Eisenmodulation als Krebsarzneimittel ermöglicht.

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

Für die zeitaufwändige Erhaltungszucht und komplexe Experimente werden 2070 Mäuse in einem Zeitraum von 5 Jahren benötigt.

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

Die Belastung für das Tier ist in diesem Projekt vor allem auf die Tumorenbildung zurückzuführen. Die Experimente werden sofort beendet, wenn das Tumolvolumen eine kritische Größe überschreitet oder Zeichen eines Stress oder Belastung (z.B. Apathie, verminderte Futteraufnahme) bemerkt werden. Die Dosen der zu verabreichenden Substanzen werden in einem nicht-toxischen Bereich gehalten. Im Projekt sind keine chirurgischen Eingriffe geplant. Die Behandlung und anschließende, tägliche Kontrolle des Zustands der Tiere wird durch geschultes Personal durchgeführt.

Das Projekt hat zum Ziel eine Untersuchung komplexer Wechselwirkungen zwischen verschiedenen Zelltypen in Mammatumoren. Solche Interaktionen lassen sich in Zellkulturen nicht modellieren. Weiters sind die aus Tumorzellkulturen gewonnenen Ergebnisse nur sehr beschränkt auf den Menschen übertragbar. Im Laufe der Experimente wird eine detaillierte Aufzeichnung geführt, um eine möglichst große Informationsmenge aus jedem Versuch zu erhalten und um die nachfolgenden Projekte zu erleichtern.

Die Größen der Versuchsgruppen (10 -20 Tiere) wurden so gestaltet, dass eine statistisch relevante Aussage möglich ist und die Anzahl der Tiere so niedrig wie möglich gehalten wird.

Bedeutung des Projekts für Humanmedizin: Brustkrebs ist die häufigste Krebserkrankung bei Frauen. Trotz des Fortschritts in der Früherkennung und Therapie ist diese Krebsart noch mit einer hohen Rezidiv- und Sterberate verbunden. Die zu erwartenden Resultate des Projekts können in Zukunft zur Entwicklung der neuen, hochwirksamen Therapieprotokolle beitragen, die auf der Interferenz mit Eisenhomeostase beruhen.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 1. September 2019 vorgesehen.

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

1.) Projektziel

Das Neuroblastom ist eine kindliche Krebserkrankung, die zumeist im Säuglings- oder Kleinkindalter auftritt und je nach Stadium eine sehr schlechte Prognose hat. Bei Stadium IV der Erkrankung liegt das Überleben der kleinen Patienten trotz hoch dosierter Chemo- und Strahlentherapie bei nur etwa 60%. Zusätzlich steigt bei Kindern die mit hohen Chemotherapie- oder Strahlendosen behandelt werden, die Gefahr, dass sie, auch wenn sie von der ursprünglichen Krebserkrankung geheilt werden, später an einer durch die erste Therapie hervorgerufenen, weiteren Krebserkrankungen erkranken und daran versterben. Deshalb ist es besonders bei kindlichen Krebsformen äußerst wichtig, Behandlungsmöglichkeiten zu finden, mit denen die Dosis der Chemotherapie-Medikamente reduziert werden kann.

In umfangreichen biochemischen Analysen, Zellkulturexperimenten und in vivo Experimenten konnten wir mit einer neuen Kombinationstherapie aus nicht-DNA-schädigenden Substanzen bereits zeigen, dass eine besonders aggressive Form dieses Tumors (Stadium 4, 17q Amplifikation) besonders gut therapiert werden kann. Die so gewonnenen, sehr vielversprechenden Ergebnisse müssen nun im lebenden Tier untersucht werden, da die in vitro Möglichkeiten ausgeschöpft sind. Nur durch die entsprechenden Versuche im Tier können weitere Erkenntnisse gewonnen und dieser Therapieansatz für den Menschen weiterentwickelt werden.

Wir erwarten uns durch diese tierexperimentelle Studie eine klare Aussage über die Wirksamkeit dieser neuen Kombinationstherapie und hoffen durch diese Experimente die Chancen der an Neuroblastom erkrankten Kinder zu verbessern und gleichzeitig durch Reduktion der Chemotherapeutika-Dosis therapiebedingte Nebenwirkungen zu reduzieren.

2.) Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere

Maximal 24 Mäuse

3.) Angaben über die Erfüllung der „3R“

Das beantragte Tierexperiment baut auf umfangreichen Zellkulturexperimenten auf, mit denen die Möglichkeiten der in vitro Analyse weitgehend ausgeschöpft wurden. Allerdings können in Zellkulturexperimenten nicht sämtliche Effekte einer Behandlung erfasst werden, die im komplexen Organismus eines Tieres auftreten, sodass dieses Tierexperiment zur in vivo Verifizierung dieses Therapieansatzes und einem signifikanten Informationsgewinn unerlässlich ist. Für das Experiment wurde nur jene Anzahl an Tieren beantragt, die für eine statistische Analyse des Therapieerfolges minimal notwendig ist.

Mit diesen Experimenten soll eine klare Aussage über die Aktivität der untersuchten Wirkstoffe für die Therapie von Neuroblastomtumoren getroffen werden, um damit die Therapieoptionen der erkrankten Kinder deutlich zu verbessern.



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

1. Angaben über die Projektziele, einschließlich des zu erwartenden Schadens und Nutzens: Die Optionen zur Therapie chronischer Schmerzen sind derzeit sehr unbefriedigend und vor allem die Behandlung chronischer neuropathischer Schmerzen stellt für Schmerztherapeuten immer noch eine große Herausforderung dar, die häufig ohne Erfolg bleibt. Daher ist es wichtig, neue Strategien für die Behandlung chronisch neuropathischer Schmerzen zu entwickeln. Es wird erwartet, dass sich aus dem Projekt neue Strategien zur Therapie von chronischen neuropathischen Schmerzen ergeben.

2. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere: 270 Mäuse

3. Angaben über die Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung). Aufgrund der Komplexität des Schmerzentstehung kann die Untersuchung neuer Schmerztherapien nur in vivo erfolgen. Nach erfolgter Validierung in vivo unter Minimierung der Versuchstierzahlen, können alle weiteren Arbeiten an Tierversuchersatzmodellen durchgeführt werden.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31.01.2018 vorgesehen.

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

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

Ziel des Projektes ist die Überprüfung des Impfstoffes zum Schutz einer Pseudomonas aeruginosa Infektion. Pseudomonas aeruginosa ist ein gramm-negatives, klassisch opportunistisches Pathogen, das überwiegend immungeschwächte Menschen befällt. Besonders häufig tritt die Infektion bei immungeschwächten Patienten auf Intensivstationen auf. Die stetige Zunahme der Resistenzen gegen gängige Antibiotika erschweren die gezielte Therapie der Krankheit und stellen eine große Gefahr für die betroffenen Patienten da. Daher kommt der Entwicklung des Impfstoffes gegen Pseudomonas aeruginosa eine besonders hohe Bedeutung zu. Der Schaden der Tiere liegt erheblich unter dem Nutzen der zu erwartenden Testergebnisse.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

Die Wirksamkeitsstudien werden in einem gut etablierten Mausmodell (600 Tiere in zwei Jahren) unter Berücksichtigung aller Anforderungen der 3R durchgeführt.

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

Bei allen geplanten Experimenten ist die Belastung der Tiere als gering einzustufen. Für den Erhalt aussagekräftiger Resultate ist die Versuchstierzahl basierend auf langjähriger Erfahrung und einer statistischen Auswertbarkeit und Vergleichbarkeit so gering wie möglich kalkuliert.

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

Störungen des Eisenstoffwechsels sind ein häufiges Problem in vielen Bereichen der Medizin. Massive Eisenüberladung kann angeborene oder erworbene Ursachen haben. Angeborene Eisenüberladung ist die häufigste Erbkrankheit in Nord-, West- und Mitteleuropa. In diesen Regionen ist jeder Zwanzigste Träger eines erkrankten Gens (Allels). Auch viele hämatologische Erkrankungen oder die häufige Gabe von Blutkonserven führen zur Eisenüberladung, während Eisenüberladung bestimmter Abwehrzellen infolge chronischer Entzündung, Infektionen oder Tumorerkrankungen auftritt.

Die körpereigene Abwehr infektiöser Erreger beruht auf dem orchestrierten Zusammenspiel verschiedener Typen von Abwehrzellen, das durch direkten Kontakt oder durch lösliche Eiweißmoleküle gesteuert wird.

Eisen fördert einerseits die Vermehrung von infektiösen Erregern, und beeinflusst andererseits viele Aspekte der Immunantwort. Immunzellen benötigen ausreichende Mengen an Eisen für die Zellteilung und als Kofaktor für eine Reihe von antimikrobiellen Abwehrmechanismen. Andererseits hemmt ein Zuviel an Eisen bestimmte Abwehrmechanismen und verschiebt das Gleichgewicht von entzündungsfördernden und entzündungshemmenden zu Gunsten der letzteren, sodass die Elimination infektiöser Erreger verschlechtert wird.

Grundlegende Ergebnisse zum Wechselspiel von Eisenstoffwechsel und Immunantwort können in Zellkulturversuchen (in vitro) gewonnen werden und wurden für das beantragte Tierversuchsvorhaben bereits sorgsam und detailliert erhoben. Um aber auch das orchestrierte Zusammenspiel verschiedener Gruppen von Immunzellen im Falle einer Infektion eines eisenüberladenen Wirtsorganismus mit einem eisenabhängigen Erreger zu erforschen und zu verstehen, sind ergänzend auch in vivo Versuche mit Mäusen notwendig.

Unsere Mäuse werden von diplomierten Tierpflegern und einem Tierarzt fachgerecht betreut und täglich kontrolliert.

Im Rahmen des Projektes erhalten die Mäuse Futter mit unterschiedlichem Eisengehalt um normale Eisenzufuhr (und somit normalen Eisenstoffwechsel) und Eisenüberladung wie beim Menschen zu simulieren. Als Erreger wird eine genau definierte Zahl von Salmonellen verwendet.

Um möglichst wenig Mäuse in das Projekt einschließen zu müssen, aber auch gleichzeitig eine verwertbare statistische Aussage tätigen zu können, werden die Tierzahlen anhand anderer in diesem Wissenschaftsbereich bereits publizierter Projekte berechnet. Außerdem besitzt unsere Arbeitsgruppe auf diesem Gebiet eine langjährige Erfahrung um die Gruppen so klein wie möglich zu halten. Insgesamt sollen in mehreren Versuchsreihen 380 Mäuse (60 zur Zellisolation, 320 weitere für in vivo Versuche) in das Projekt eingeschlossen werden. Außerdem führen eine genaue Datenaufzeichnung und die Messung von möglichst vielen Parametern dazu, dass die Versuchsreihen nicht unnötigerweise wiederholt werden müssen. Die geplante genaue Datenaufzeichnung wird zu einer deutlichen Verbesserung der Planbarkeit ev. weiterer Projekte führen, was auch helfen soll, die verwendeten Tierzahlen weiter zu reduzieren.

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

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 28.02.2017 vorgesehen.

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

1. Projektziel Die Multisystematrophie (MSA) ist eine rasch fortschreitende Erkrankung des Nervensystems des Menschen. Die Ursachen dieser Erkrankung sind derzeit noch unklar. Im Schnitt kommt es innerhalb von 3-5 Jahren nach Krankheitsbeginn zum Verlust der Gehfähigkeit und die Patienten versterben durchschnittlich 8-10 Jahre nach Krankheitsbeginn. Mit Hilfe dieses Projektes wollen wir mögliche Ursachen dieser tödlichen Erkrankung im Tiermodell erforschen. Die für die Experimente verwendeten Mäuse weisen ähnliche Krankheitszeichen wie menschliche Patienten auf. Im Rahmen dieses Projektes sind Messungen der Nervenleitgeschwindigkeit geplant. Diese Methode hat bereits bei einer Reihe neurologischer Erkrankungen einen festen diagnostischen Stellenwert. Bei Patienten, welche an einer MSA leiden, gibt es diesbezüglich noch keine Daten. Die gewonnenen Daten könnten zur einer frühzeitigeren Diagnose beitragen und mögliche neue Behandlungskonzepte hervorbringen.
2. Art und Anzahl der Versuchstiere; Belastung für die Versuchstiere: 60 Mäuse für einen Zeitraum von 1 Jahr. Die Belastung für die Tiere wird als "mittelgradig" eingestuft.
3. Berücksichtigung der „3R“: nach rezenter Recherche handelt es sich bei dem beantragten Projekt um eine erstmalige Untersuchung eine Beantwortung der Fragestellung in vitro ist nicht möglich 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, ...)

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

Das aktuelle Forschungsprojekt beschäftigt sich mit der Analyse der Krankheitsmechanismen bei Mäusen die eine Gehirnkrankheit ähnlich wie der Mensch entwickeln. Wir wollen die Entwicklung einer neuen Therapiemöglichkeit für diese menschliche Gehirnkrankheit untersuchen.

Im aktuellen Projekt ist die Verwendung von 420 Mäusen über den Zeitraum von vier Jahren geplant.

Es wird während der gesamten Versuchsdauer großer Wert darauf gelegt, dass Stress und Leiden der Mäuse so gering wie möglich gehalten werden.

Alle Mäuse werden in Gruppen gehalten und täglich von geschulten TierpflegerInnen sorgfältig betreut und tierärztlich überwacht.

Wir hoffen durch unsere Erkenntnisse zukünftig die Therapie von Patienten verbessern zu können.

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

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

Ein transgener Mäusestamm, der im Skelettmuskel einen Kalziumkanal trägt, der -im Gegensatz zu wild-typ Mäusen- kein Kalzium leitet, soll dahingehend untersucht werden, ob dieser Ausfall der Kalziumleitung Einfluss auf die Muskelkraft und damit Gesundheit hat. Da der Kalziumeinstrom in den Skelettmuskel bei Säugetieren keinen direkten Einfluss auf seine Funktion in der Muskelbewegung zeigt, wird seit langem in Fachkreisen kontrovers diskutiert, was denn die physiologische Rolle dieses Einstroms sei. Bisher unerklärte degenerative Muskelkrankheiten könnten nach diesen Untersuchungen eine Erklärung und womöglich Behandlung finden.

Diese Versuche beinhalten Tests, wie das Klettern auf einem Gitter (mit Zeitmessung), die Kraftentwicklung beim Festhalten eines Gitters, oder das Laufen auf einem Laufband (mit Zeitmessung).

*2. Art und Anzahl der Tiere*

In dieser Untersuchung sollen 35 nicht-Kalzium-leitende Mäuse mit 35 normalen Mäusen in Muskelleistungstests verglichen werden.

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

Die geplanten Leistungstests werden mit der geringstmöglichen Anzahl von Tieren unter möglichst stress-und angstfreien Bedingungen (gedämpftes Licht, Vermeidung von schnellen Bewegungen und lauten Geräuschen, Akklimatisation an den Versuchsraum über Nacht, leichtes Vortraining an den Geräten und durch generell vorsichtiges Herangehen an die Tiere) durchgeführt. Die Verminderung der Anzahl von Versuchstieren wird durch die Verwendung derselben Kohorte von Tieren für die verschiedenen Versuche (nach mehrtägigen Ruhephasen zwischen den Experimenten) erreicht. Die Versuchsbedingungen werden der Leistungsfähigkeit der Tiere angepasst, und falls Ziele nicht erreicht werden, abgemildert.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 28. Februar 2017 vorgesehen.

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

Ziel dieses Projektes ist es, belastende Symptome von Patienten, welche an Epidermolysis bullosa (EB) leiden, zu mindern. EB ist eine Gruppe von heterogenen Hauterkrankungen, welche durch die zu geringe oder gänzlich fehlende Produktion eines Strukturproteins der Haut gekennzeichnet sind, was zu geminderte Stabilität in verschiedenen Bereichen der Haut führt. Dies bedingt, schon bei geringer mechanischer Belastung (zB. Berührung, Kleidung), schmerzhafte Blasenbildung, beeinträchtigte Wundheilung und ein erhöhtes Risiko für bestimmte Hautkrebsarten. Derzeit ist noch keine kausale Therapie verfügbar, die Behandlung besteht vor allem aus der Vermeidung von mechanischen Belastungen der Haut und ständiger Wundversorgung. Ein Forschungsansatz, welcher sich nicht nur mit der Versorgung auftretender Wunden beschäftigt, sondern den Gendefekt partiell repariert, ist die *ex vivo* Gentherapie. Dabei werden einem EB-Patienten Haut-Zellen entnommen, deren Genom im Labor korrigiert werden können, wodurch sie das, zu gering oder gar nicht exprimierte, Protein wieder produzieren. Mit Hilfe dieser Zellen kann dann ein funktionelles Hautäquivalent gezüchtet und dieses auf besonders beanspruchte Körperregionen eines Betroffenen transplantiert werden. Bei einem Patienten mit einer Nullmutation und somit gänzlich fehlender Proteinproduktion, besteht nach der Transplantation eines gentherapeutisch korrigierten Hautäquivalentes jedoch die große Wahrscheinlichkeit einer Abstoßung. Immunzellen mit hoher Affinität zu diesen Proteinen konnten während der Entwicklung des Immunsystems nicht entfernt werden, und würden auf das neu eingebrachte Protein reagieren. Dies gefährdet den Erfolg der Therapie und kann durch die systemische Entzündung, die bei einer Abstoßung des Transplantates auftreten kann, zu weitreichenden Nebenwirkungen führen. Unser Ziel ist daher, eine Therapiemethode zu entwickeln und zu testen, welche es ermöglicht, EB-Patienten mit Nullmutationen auf eine Transplantation vorzubereiten, deren Erfolg dauerhaft zu sichern und damit eine Verbesserung der Lebensqualität der Patienten und eine Verringerung des Krebsrisikos zu erreichen. Dazu soll das Immunsystem auf das neu eingebrachte Protein (=Antigen) vorbereitet werden. In den Versuchen werden daher Mausmodelle verwendet, die sich durch das Vorhandensein eines zusätzlichen/fremden Proteins (=Antigen) in der Haut kennzeichnen. Durch die Transplantation von Hautstücken dieser Spendertiere auf Tiere, denen dieses Antigen fehlt, wird also eine Transplantation in einem Patienten mit einer Nullmutation nachgeahmt. Es werden dann zwei Hypothesen getestet, welche beide auf die Verwendung von supprimierenden T-Zellen zur Transplantaterhaltung abzielen (diese sogenannten regulatorischen T-Zellen ( $T_{reg}$ ) haben die Fähigkeit, Immunreaktionen zu unterdrücken). Zum Ersten möchten wir die Generierung antigenspezifischer  $T_{reg}$  im Transplantatempfänger selbst vorantreiben um damit gezielt die Abstoßung der neu transplantierten Haut abzuwehren. Weiters soll überprüft werden, ob eine direkte Injektion von extern vermehrten Tregs in ein Transplantat die Abstoßung verhindern kann. Durch die Verwendung verschiedener Mausstämme haben wir außerdem die Möglichkeit, grundlegende Mechanismen der  $T_{reg}$  Entwicklung zu untersuchen. Dies kann zu neuen Ansätzen für die Behandlung weiterer Krankheiten (wie zb. Autoimmunerkrankungen) führen.

Anzahl beantragter Tiere: 3492

Replacement: Ziel dieses Projektes ist es, die Abstoßungsreaktionen von gentherapierten Hauttransplantaten zu untersuchen, um diese in weitere Folge verhindern zu können. Um dieses Ziel zu erreichen sind isolierte Organe ungeeignet, da bekannt ist, dass bei der Abstoßung eines Hauttransplantats eine Vielzahl von verschiedenen Immunzellen involviert sind. Es sind bisher noch keine *in vitro* Modelle vorhanden, welche die Gesamtheit des Immunsystems abbilden, daher ist die Erforschung der Immunreaktionen in Tierversuchen unumgänglich.

Refinement: 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, optimale Operationstechniken durch geschulte Experimentatoren und geeignete postoperative Betreuung (Schmerzbehandlung,

Reduction: Die Anzahl an benötigten Labortieren soll auf ein Mindestmaß reduziert werden. Die Anzahl an benötigten Tieren für den vorliegenden Tierversuch resultiert aus dem Studiendesign, der Gruppengröße und der Anzahl an benötigten Kontrollen.



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

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

Psoriasis ist eine immer häufiger auftretende chronisch entzündliche Hauterkrankung. Die durch das Immunsystem ausgelöste Erkrankung führt zu juckendem Hautausschlag und bei schwererem Verlauf zu Ekzemen. Die betroffenen Personen leiden unter der Erkrankung durch den auftretenden Juckreiz sowie im Falle der Lokalisation an einer exponierten Stelle an der psychischen Belastung, welche psychosomatische Erkrankungen mit sich bringen kann. Durch das Auftreten an Stellen welche bei Bewegung besonders in Anspruch genommen werden (Gelenksregionen, Achseln, Füße), tritt außerdem eine Einschränkung der Mobilität und eine daraus resultierende Verschlechterung der Lebensqualität auf. Entzündliche, von Immunzellen medierte, Prozesse sind Hauptverantwortlich in der Entstehung von Psoriasis und der damit einhergehenden Veränderung der Haut. Die Mediatorwirkung von kleinen Eiweißhormonen, den sogenannten Neuropeptiden, gewinnt in diesem Zusammenhang immer mehr an Bedeutung, da Immunzellen sowohl diverse Neuropeptide produzieren als auch Neuropeptidrezeptoren exprimieren. Der Einfluss von dem Neuropeptid Galanin auf entzündliche Prozesse konnte bereits in mehreren Studien gezeigt werden. Infolge dieser Erkenntnisse erstellen wir die Hypothese das Galanin und seine Rezeptoren (GAL1, GAL2, GAL3) auch während der Entstehung von Psoriasis und deren Verlauf eine wichtige Funktion haben. Das Ziel des Versuchsvorhabens ist es neue spezifische Funktionen und Angriffspunkte von Galanin auf den Verlauf der Psoriasis zu bestimmen und das therapeutische Potential zu evaluieren. Dabei wird ausschließlich das gut beschriebene und wenig belastende Model der Imiquimod induzierten Psoriasis verwendet, welches durch das Auftragen einer Creme auf den Rückenbereich der Tiere erfolgt. Weiters werden während der Behandlungsdauer die zu untersuchenden Wirkstoffe injiziert, dies erfolgt von entsprechend qualifiziertem Personal und ist für das Tier so gut wie schmerzlos. Die daraus resultierenden Ergebnisse sollen in weiterer Folge zur Entwicklung von Therapieoptionen in der Psoriasis mit stabilen Rezeptor selektiven Galanin Liganden beitragen. Während der gesamten Versuche ist die voraussichtliche Belastung der Versuchstiere durch Manipulationen, die mit Schmerzen und Leiden einhergehen oder Schäden hervorrufen, als gering einzuschätzen.

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

Mäuse (*Mus musculus*), 434 Tiere

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

Soweit als möglich wird im Zuge der vorliegenden Fragestellung auf in vitro Versuche an Zelllinien und isolierten Primärzellen zurückgegriffen. Aus diesen in vitro Versuchen haben wir bereits Hinweise sammeln können die auf ein Zusammenspiel diverser Zelltypen und diverser endogener Stoffe während der Entzündung hindeuten. Um hier genauere Effekte studieren zu können, muss ein in vivo Modell herangezogen werden. Um eine ausreichende statistische Analyse im Anschluss an die Experimente durchführen zu können, darf eine gewisse Anzahl an Versuchstieren nicht unterschritten werden. Nur dann kann:1 aus den Versuchsergebnissen eine fundierte Aussage über die erhobenen Daten getroffen werden. Aus diesem Grund planen wir 62-93 Tiere pro Versuchsanordnung. Zudem ist der Aufbau der Versuche so gewählt, dass die Ziele aufeinander aufbauen und der Versuch nur dann weitergeführt wird, sofern sich positive Effekte auf die Wundheilung zeigen. Sollte dies nicht der Fall sein, werden die Versuche unverzüglich eingestellt, um die Anzahl der Tiere für diese Fragestellung so gering wie möglich zu halten. Um die Belastung für die Versuchstiere so gering wie möglich zu halten verwenden wir eine Methode welche für das Tier keine Schmerzbelastung beinhaltet. Das Rasieren des Rückenbereiches erfolgt unter einer leichten Inhalationsnarkose. Die Injektionen der zu untersuchenden Wirkstoffe erfolgen ebenso durch qualifiziertes Personal und verursachen bei dem Tier nur einen leichten, einer Impfung beim Menschen gleichkommenden, Schmerz. Die Belastung der Tiere wird mit Hilfe eines Untersuchungsbogens beurteilt. Sollte ein Tier hier über 8 Punkte erreichen, wird das Tier unverzüglich schmerzfrei mittels CO<sub>2</sub> getötet. Die maximal geplante Versuchsdauer beträgt 20 Tage um eine effektive Behandlung mit den Galanin Liganden zu gewährleisten.

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

Das menschliche Gehirn verarbeitet unterschiedlichste Sinneseindrücke welche wiederum zu komplexen Verhaltensweisen führen. Diese Hauptaufgaben werden durch ganz grundlegende Gehirnfunktionen gesteuert: Das Lernen erlaubt uns Informationen im Großhirn zu speichern und zu einem späteren Zeitpunkt, bewusst oder unbewusst, wieder abzurufen. Die bewusste und unbewusste Wahrnehmung der Umwelt und des eigenen Seins erlaubt die Entstehung der ganzen Bandbreite von Emotionen und die Kontrolle unserer Motorik erfolgt im Kleinhirn. Alle diese Funktionen müssen gleichzeitig und koordiniert ablaufen. Diese Koordinationsaufgabe wird durch das Zusammenwirken der Grundbausteine des Gehirns, der Nervenzellen, ermöglicht. Die Nervenzellen stehen jeweils über zehntausende Zell-Zell-Kontakte, den sogenannten Synapsen, miteinander in Verbindung, kommunizieren so mittels elektrischer Signale miteinander und können damit die Gehirnfunktionen koordinieren. Ein Ungleichgewicht in den Verbindungen oder in der elektrischen Aktivierung von Nervenzellen führt häufig zu Erkrankungen wie Epilepsie, Autismus oder Depressionen und nachhaltige Schädigungen einzelner Nervenzellbereiche ist die Hauptursache für die Entwicklung von Parkinson oder Alzheimer. Der Gesundheitszustand des Gehirns ist daher untrennbar mit dem ordnungsgemäßen Funktionieren einzelner Nervenzellen verbunden. In so einer Zelle regulieren und koordinieren nun Millionen kleiner Bausteine, sogenannte Zelleiweiße, die zellulären Abläufe: Sie bestimmen zum Beispiel welche Gene wann gebraucht werden und verarbeiten Informationen über die Aufnahme und Abgabe zellulärer Botenstoffe.

In dem vorliegenden Projekt möchten wir nun die Funktionen einzelner Zelleiweiße, die an der Kontrolle und Verarbeitung zellulärer Botenstoffe beteiligt sind, aufklären. Schädigungen dieser Eiweiße, zum Beispiel bei genetischen Erkrankungen, Gehirnverletzungen, oder Sauerstoffmangel, führen sowohl beim Menschen als auch bei Mäusen zu Epilepsie, spastischen Lähmungen, Autismus und Depressionen. Ein besseres Verständnis der Aufgaben dieser Eiweiße wird daher zu einem effektiveren Einsatz bestehender Medikamente führen und kann dazu beitragen, neuartige Behandlungsformen mit geringeren Nebenwirkungen zu entwickeln.

Die Grundlage zur Untersuchung dieser Funktionen bilden im gegenständlichen Projekt drei Mausstämme mit gentechnisch erzeugten Mutationen in diesen Zelleiweißen. Um die Funktionen dieser Eiweiße zu untersuchen, müssen diese Mäuse nun gezüchtet werden. Dies geschieht durch die Verpaarung von gesunden Mutationsträgern, bei denen jedes Elternteil sowohl ein gesundes als auch ein mutiertes Gen besitzt. Wenn bei den Nachkommen dieser Paare nun zwei mutierte Gene zusammentreffen, kommt es zum Fehlen des betroffenen Zelleiweißes, ohne dass dadurch jedoch die Entwicklung und das Verhalten der Mäuse beeinträchtigt ist.

Um die Auswirkungen der Erkrankungen auf die Entwicklung und Struktur des Gehirns und der Muskulatur zu untersuchen, werden die betroffenen Mäuse, sowie als Kontrolle deren gesunde Geschwister, werden im Alter von 1 bis 16 Wochen durch ein injiziertes Narkosemittels einschläfert, deren Gehirne konserviert und entnommen und in weitere Folge im Labor untersucht. Insgesamt werden dafür in den nächsten 5 Jahren maximal 90 Mäuse untersucht. Durch diese Vorgangsweise können alle Experimente an entnommenen Gehirnen oder an gezüchteten Zellen durchgeführt werden, wodurch Versuche an lebenden Tieren weitestgehend vermieden werden. Die künstliche Züchtung von Zellen erlaubt die Versuchsdurchführung an über hundert Zellen einer einzigen Maus, wodurch im Vergleich zu Versuchen an lebenden Mäusen die Gesamtzahl der benötigten Tiere deutlich vermindert wird. Die sorgfältige Handhabung und Betreuung der Mäuse durch geschulte Mitarbeiter/innen, tägliche Kontrollen der Mauszuchten, die Gewebeentnahme an toten Tieren und die sachgemäße Verwendung von Narkoseverfahren sorgt zusätzlich für eine Verfeinerung der Abläufe und damit eine Reduktion des Stresses, dem die Mäuse ausgesetzt sind. Wir erwarten uns von diesen Untersuchungen neue Erkenntnisse über die Ursache und Entstehung von Gehirn- und Muskelerkrankungen wie Epilepsie, Autismus, Depressionen und Muskelschwäche und über welchen zellulären Mechanismus die untersuchten Zelleiweiße an der Ausprägung dieser Erkrankungen beteiligt sind. Aus diesen Studien können sich daher zukünftig neue und an nebenwirkungsarme Strategien zur Behandlung von Erkrankungen beim Menschen entwickeln.

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

Die Häufigkeit des Diabetes mellitus steigt dramatisch an, nicht nur in industrialisierten Ländern, für die derzeit eine Prävalenz von etwa 4% mit steigender Tendenz angegeben wird. Hauptursache hierfür ist Überernährung in Kombination mit nicht ausreichender Bewegung. Mit den angegebenen Mauslinien soll der Einfluss auf zahlreiche metabolische Kenngrößen in vivo an einem Säugetier studiert werden. Diese Untersuchungen können nicht durch wissenschaftliche aussagekräftige Ersatzmethoden erreicht werden, da komplexe Stoffwechselprozesse nur in lebenden Organismen vollständig entschlüsselt werden können. Die Anzahl der Tiere wird mit 4500 veranschlagt. Die Tierversuche werden ausführlich durch Zellkulturexperimente und Biochemische/Bioinformatische Experimente ergänzt. Standardisierte Tierhaltung, methodisches Vorgehen und angewandte Verfahren entsprechen den wissenschaftlichen Kriterien.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 29. Februar 2020 vorgesehen.

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

1.) Angaben über die Projektziele, einschließlich des zu erwartenden Schadens und Nutzens:

Ein für die Leistung entsprechender Energiegehalt in Mischfuttermitteln oder Einzelkomponenten ist für eine optimale Fütterung von Lebensmitteln liefernden Tieren sehr wichtig um eine effiziente und somit Ressourcen schonende Tierernährung betreiben zu können. Die Bestimmung der Verdaulichkeit der Rohnährstoffe ist die Basis für die energetische Futtermittelbewertung beim Wiederkäuer. Verschiedene Forschungsanstalten überprüfen regelmäßig den deklarierten Energiegehalt von im Handel befindlichen Milchleistungsfutter und Mastfutter für Rinder und Schafe ("energetische Futterwertprüfung"). Hierbei wird z.B. der Gehalt eines Milchleistungsfutters an NEL oder der Gehalt eines Mastfutters an ME auf der Grundlage der verdaulichen Rohnährstoffe berechnet. Aufgrund der Nährstoffveränderungen in den aktuellen Sorten von Gräsern, Leguminosen und Getreide, welche durch diverse Zuchtziele hervorgerufen werden, ist eine laufende Evaluierung der Rohnährstoffverdaulichkeiten unumgänglich.

Die Rationsgestaltung und Versuchsdurchführung erfolgt nach den Leitlinien für die Bestimmung der Verdaulichkeit von Rohnährstoffen an Wiederkäuern (1991). Hierfür sind die quantitative Erfassung der täglichen Futteraufnahme und die tägliche Sammlung der gesamten Kotsausscheidung notwendig. Diese werden im Differenzversuch ermittelt. Aus den verdaulichen Nährstoffen wird der Energiegehalt für das Prüffutter nach den Vorgaben der GfE (2001) berechnet.

Zur Akklimatisierung erhalten die Tiere herkömmliches Heu für die ersten zwei Tage in den Verdauungskäfigen. In den Verdauungskäfigen können sich die Tiere bewegen und haben Blickkontakt zueinander. Es folgt eine 12-tägige Vorperiode, in der kein Kot gesammelt wird, jedoch das Versuchsfutter vorgelegt wird. In der Vorperiode wird der Verdauungskanal von Bestandteilen früher aufgenommenen Futters befreit. Die eigentliche Versuchsperiode folgt mit einer 7-tägigen Hauptphase, in der für jedes einzelne Tier der gesamte Kot ohne Verunreinigung durch Harn gesammelt wird. In der Vorperiode und in der eigentlichen Versuchsperiode muss sichergestellt sein, dass das Tier keine Möglichkeiten hat, anderes Futter aufzunehmen. Die Kotsammlung in der Versuchsperiode erfolgt durch Kotbeutel, die an das Tier angebracht sind. Aufgrund der Ergonomie der Kotbeutel werden keine Einschränkungen in der Bewegungsfreiheit gewährleistet. Diese werden täglich mindestens zwei Mal entleert. Aufgrund der Dauer, welche die Tiere im Stoffwechsellkäfig verbringen, ist der Tierversuch mit dem Schweregrad "schwer" einzustufen. Nach dem Aufenthalt im Verdauungskäfig werden die Tiere wieder (nach einhergehender tierärztlicher Kontrolle) in einen Schafbestand eingegliedert.

2.) Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere: 12 Hammel

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

Die Forschungsfrage kann nicht über Ersatzmethoden beantwortet werden, da Ausscheidungs- und Leistungsprodukte eines intakten und gesunden Organismus untersucht werden müssen. Eine quantitative Sammlung der Exkremente ist unumgänglich um die Bilanzen der einzelnen Nährstoffe bzw. Fettsäuren berechnen zu können. Die Indikatorermethode zur Bestimmung der Verdaulichkeit kann somit nicht herangezogen werden. Eine Anzahl von 4 Tieren pro Versuchsgruppe, stellt die geringste Anzahl von Stichproben dar, die eine aussagekräftige statistische Auswertung zulassen. Eine geringere Tieranzahl als 24 (= 4 Tiere pro Versuchsgruppe und sechs Versuchsgruppen) sollte somit nicht in Betracht gezogen werden. Es werden keine dem Organismus belastende Stoffe verfüttert, wodurch es zu keiner zusätzlichen Form des Leidens der Tiere im Rahmen des Tierversuches kommt.

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

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

1) Angaben über die Projektziele, einschließlich des zu erwartenden Schadens und Nutzens:

Aus Sicht der Tierernährung und Futtermittelkunde wäre es wünschenswert, Maßnahmen zu entwickeln, die zur Verbesserung des Futterwertes von Körnermais beitragen. Diese resultieren in einer gesteigerten Futterverwertung und schonen somit die begrenzten pflanzlichen Ressourcen innerhalb der Produktion tierischer Lebensmittel. Daher soll die vorliegende Studie klären in wieweit eine hydrothermische Behandlung von Körnermais Einfluss auf Leistung (Legeleistung, Eimasse, Futterverwertung), Verdaulichkeit, Nährstoffbilanz und Eiqualität nimmt. Es stehen 24 Stoffwechsellkäfige (L=50 cm x B=50 cm x H=76 cm) für Legehennen mit angeschlossenen Legenest (L=42 cm x B=30 cm x H=40 cm) zur Verfügung. Jeder Käfig ist überdies mit einer erhöhten Sitzstange ausgestattet. Eine quantitative Sammlung der Exkremente und Eier ist unumgänglich um die Bilanzen der einzelnen Nährstoffe bzw. Fettsäuren berechnen zu können. Die Tiere haben während der Haltung im Käfig freien Blickkontakt zueinander und werden täglich individuell beobachtet. Während des ganzen Versuches haben die Tiere permanent freien Zugang zu Futter und Trinkwasser. Mit Versuchsbeginn werden 24 Tiere mit einem Alter von ca. 30 Lebenswochen für 21 Tage einzeln in die 24 Stoffwechsellkäfige eingesetzt. Die Kontroll- sowie die Versuchsrationen stellen herkömmliche bedarfsdeckende Rationen für Legehennen dar. Die Phase im Stoffwechselkäfig setzt sich aus einer 14 tägigen Adaptionsphase an das Futter und einer 7 tägigen Sammelphase zusammen. Über die gesamte Versuchsphase wird die tägliche individuelle Eimasse erhoben. Während der 7 tägigen Sammelphase wird zweimal pro Tag eine vollständige quantitative Sammlung der Exkremente durchgeführt. Die Exkremente werden in einer Gefrierzelle bei -20 °C aufbewahrt, bis sie einer Weenderanalyse und Mineralstoffanalyse nach den Methoden der unterzogen werden. Aufgrund der Dauer, welche die Tiere im Stoffwechselkäfig verbringen, ist der Tierversuch mit dem Schweregrad "schwer" einzustufen. Nach dem Aufenthalt im Stoffwechsellkäfig werden die Tiere wieder (nach einhergehender tierärztlicher Kontrolle) in einen Legehennenbestand eingegliedert.

2) Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere:

24 Legehennen der Rasse Lohmann BROWN-Classic

3) Angaben über die Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung): Die Forschungsfrage kann nicht über Ersatzmethoden beantwortet werden, da Ausscheidungs- und Leistungsprodukte eines intakten und gesunden Organismus untersucht werden müssen. Eine quantitative tierindividuelle Sammlung der Exkremente und Eier ist unumgänglich um die Bilanzen der einzelnen Nährstoffe bzw. Fettsäuren berechnen zu können. Die Indikatormethode zur Bestimmung der Verdaulichkeit kann somit nicht herangezogen werden. Eine Anzahl von 6 Tieren pro Versuchsgruppe, stellt die geringste Anzahl von Stichproben dar die eine aussagekräftige statistische Auswertung zulassen. Eine geringere Tieranzahl als 24 (= 6 Tiere pro Versuchsgruppe und vier Versuchsgruppen) kann somit nicht in Betracht gezogen werden.

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

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

Das Ziel des Projekts ist zu verstehen, wie Gruppen von Neuronen im Hippocampus, einer für das Gedächtnis wichtigen Gehirnregion, interagieren. Unsere Experimente untersuchen, wie die gemeinsame Aktivität von Neuronen im Hippocampus die Gedächtnisbildung ermöglicht. Der anatomische Aufbau und die physiologischen Eigenschaften der einzelnen Zellen im Hippocampus sind gut verstanden, allerdings ist mehr Arbeit nötig um zu zeigen, wie diese Zellen zusammenwirken um Information über das Verhalten zu kodieren, speichern und abzurufen. Ziel des Projekts ist daher zu verstehen, wie Neuronenpopulationen zusammenarbeiten und während des Lernens und der Gedächtnisbildung organisierte Netzwerk-Antworten erzeugen. Diese Arbeit liefert daher einige der fehlenden essentiellen Informationen für das Verständnis, die Modellbildung und die Behandlung neurologischer und psychiatrischer Erkrankungen des Menschen.

Um unsere Ziele zu erreichen, zeichnen wir die elektrische Aktivität vieler (mehr als 100) Neuronen gleichzeitig mit einer "Multikanal extrazellulären Aufnahme"-Technik auf, die die Gehirnaktivität vieler Aufnahme-Regionen im Gehirn misst. Über 5 Jahre werden 5970 Tiere (Ratten und Mäuse) für dieses Projekt verwendet. Für diese Experimente werden Mäuse und Ratten verwendet, da sie mit hochentwickelten räumlichen und anderen Verhaltensweisen ausgestattet sind.

Das Projekt untersucht die Gehirnwellen und das Verhaltenskodieren intakter neuronaler Netzwerke des Gehirns, dies bedingt die Verwendung von Tieren. Diese Art von Experimenten kann nicht in Zellkulturen, isoliertem Gewebe oder Gewebekulturen durchgeführt werden. Datenanalysen werden parallel zu den fortlaufenden Experimenten durchgeführt um zu gewährleisten, dass nur die minimal notwendige Anzahl an Tieren verwendet wird. Dabei ist zu beachten, dass die verwendete innovative Multikanal-Technik sicherstellt, dass von jedem Tier die maximale Datenmenge gesammelt und der Bedarf an Tieren für diese Studie minimal gehalten wird. Wir bleiben am laufenden Stand der Literatur und stehen in Kontakt mit anderen Forscherinnen auf diesem Gebiet, um die neuesten technischen Fortschritte in diesem Feld einzusetzen. Das wird die Verwendung der minimal notwendigen Anzahl an Tieren sicherstellen und weiter das Auftreten und die Höhe jeglicher Beschwerden reduzieren, die während des Ablaufs eintreten können. Regelmäßige Diskussionen mit unserem Veterinärmediziner gewährleisten die laufende Verfeinerung unserer Protokolle.

Unsere Experimente benötigen die Implantierung (Platzierung) von Aufzeichnungselektroden in Miniaturgröße im Gehirn und daher Hirnchirurgie. Diese wird unter tiefer Narkose durchgeführt um jegliche Schmerzen und Leiden während der Operation auszuschließen. Trotzdem kann, wie bei jeder Operation, das damit zusammenhängende Risiko von post-operativem Stress nicht ausgeschlossen werden. Dieses Risiko wird minimiert durch die Verwendung von Schmerzmitteln nach der Operation und der regulären Überprüfung des Tiers auf Anzeichen möglicher Schmerzen oder Stress. Wenn nötig werden Schmerzen durch zusätzliche Medikamente reduziert. Der Schweregrad dieser Experimente ist, wie in europäischen Direktiven definiert, höchstens mittelgradig.

Die geplanten Experimente werden neue Einblicke in die Funktion von neuronalen Netzwerken, vor allem im Hippocampus, bieten. Ultimativ kann dieses Wissen zu neuen Zugängen zur Behandlung von neurologischen und psychiatrischen Erkrankungen, darunter auch Gedächtnisstörungen wie die Alzheimerkrankheit, führen.

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

#### Grundlagenforschung

Durch das chaotische und exponentielle Wachstum von Krebszellen, bilden sich innerhalb eines Tumores Bereiche, die nur sehr schlecht mit Sauerstoff versorgt werden. Nach dem heutigen Kenntnisstand der Wissenschaft liegt ein Grund, warum viele Antikrebsmittel nicht helfen, darin begründet. In dieser Studie soll diese Theorie untersucht werden. Man bedient sich hier an Mäusen als Modellorganismus, denen Tumorzellen implantiert werden. Unterschiedlich zu der herkömmlichen Methode, einfach eine Zellsuspension von Tumoren zu implantieren, wird in diesem Ansatz aber ein dreidimensionales Modell angewendet, um die natürliche Tumorbildung imitieren zu können. Diese Modell wird mit den neuesten bildgebenden Methoden untersucht und die beiden Varianten der Tumorimplantation miteinander verglichen. Die dabei gewonnenen Erkenntnisse sollen auf langer Sicht helfen, Tumorerkrankungen besser zu behandeln und im besten Fall auch zu heilen.

### 2. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere:

100 Nacktmäuse

### 3. Angaben über die Erfüllung der "3R" (Replacement, Reduction, Refinement):

#### Replacement - Vermeidung:

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

#### Reduction - Verminderung:

Wie bei jedem Experiment, ist auch der Ausgang dieses Versuches unbekannt, obwohl im gewissen Rahmen vorhersagbar. Die Art der bildgebenden Untersuchungsmethode ist aber eine der Experimentalmethoden, die mit einer möglichst kleinen Tierzahl auskommt. Zusätzlich wird durch die beidseitige Implantation der Tumore die Tierzahl halbiert.

#### Refinement - Verfeinerung:

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

Für die Durchführung der Experimente selbst, ist langjährige Expertise vorhanden.

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

Angaben über die Projektziele, einschließlich des zu erwartenden Schadens und Nutzens  
Bei Milchkühen tritt nach der Kalbung durch die Diskrepanz zwischen Energiebedarf und Futteraufnahmekapazität fast ausnahmslos eine negative Energiebilanz auf. Dieses Energiedefizit wird versucht, durch die Mobilisierung körpereigener Reserven zu decken. Dies stellt zunächst einen physiologischen Mechanismus dar. Kommt es jedoch zu einer Überbeanspruchung dieser Mechanismen, treten eine Vielzahl von Erkrankungen und Leistungsminderungen auf. Diese pathologischen Prozesse und daraus folgende Erkrankungen können durch eine rechtzeitige Verbesserung der Futteraufnahme und die Anregung des Stoffwechsels vermindert oder gänzlich verhindert werden. In der geplanten Studie soll ein Ergänzungsfuttermittel getestet werden, das zur Unterstützung des Energie- und Mineralstoffwechsels empfohlen wird. Als Haupteffekt des auf pflanzlicher Basis hergestellten Präparates wird eine Steigerung der Futteraufnahme postuliert. Es werden dabei zwei Hypothesen getestet: 1. Die Anwendung des Präparates führt bei Kühen, die an einer Ketose leiden, zur Verbesserung der Futteraufnahme und zur Verbesserung Energie- und Mineralstoffwechsels der Tiere. 2. Das Präparat führt bei Kühen unmittelbar postpartum zur verbesserten und frühzeitiger zunehmenden Futteraufnahme und zur Stabilisierung des Energie- und Mineralstoffwechsels.

Das Präparat ist als Ergänzungsfuttermittel bereits zugelassen, daher ist durch die Gabe kein Schaden zu erwarten. Sollte die Verabreichung des Präparates positive Effekte auf den Stoffwechsel der Tiere haben, könnte dies ein Beitrag zur verbesserten Tiergesundheit darstellen. Die Gabe des Präparats ersetzt keine medizinische Behandlung klinisch erkrankter Tiere.

Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere

Die Studie wird in zwei Teilen mit jeweils 40 Milchkühen durchgeführt. In beiden Studienteilen erhält die Hälfte der Tiere das Präparat, die anderen Tiere dienen als Kontrollgruppe.

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

Der Einsatz des Futterergänzungsmittels erfolgt bisher basierend auf der empirisch gestützten Annahme der Wirksamkeit. Bisher liegen keine wissenschaftlichen Erkenntnisse zur Wirksamkeit vor. Die Studie zur Wirksamkeit muss an der Zieltierart Rind erfolgen, da keine Modelle vorliegen, die alternativ den Stoffwechsel komplex darstellen könnten.

Die Blutentnahme ist nur geringfügig mit Schmerzen verbunden und stellt für die Tiere kein Risiko dar. Es werden nur erwachsene Tiere eingesetzt. Das entnommene Volumen an Blut (ca. 30 mL) ist vernachlässigbar im Vergleich zum Gesamtblutvolumen des Organismus (>50 L). Die Entnahme erfolgt durch geschultes Personal.



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

Ziel der Studie ist es, zu untersuchen, ob Sucrose in Blut und Harn bei Kälbern mit Labmagenulzera auftritt und nachgewiesen werden kann. Das stellt den ersten Schritt zur Entwicklung einer genaueren Diagnostik und damit auch der Therapie dar.

Labmagengeschwüre treten bei Kälbern aber auch bei erwachsenen Rindern auf und sind schon seit langer Zeit bekannt. Die Symptome sind meist relativ unspezifisch; Labmagengeschwüre führen jedoch zu Schmerzen sowie Gesundheits- und Leistungsbeeinträchtigung bis hin zu Todesfällen. Die diagnostischen Mittel zur Detektion von Labmagenulzera sind begrenzt. Bildgebende oder labordiagnostische Verfahren liefern keine eindeutigen Ergebnisse, Daher muss leider davon ausgegangen werden, dass Labmagenulzera bei einem nicht unbedeutenden Anteil an Tieren nicht diagnostiziert und nachfolgend nicht behandelt werden können. Dieser Zustand wirft neben den ökonomischen Fragen natürlich vor allem Fragen des Tierschutzes auf, da auch beim Tier davon ausgegangen werden kann, dass Magengeschwüre sehr schmerzhaft sind.

Der Ansatz, Haushaltszucker zu verwenden, hat einige Vorteile: Zucker ist preiswert, nicht toxisch und kann beim lebensmittelliefernden Tier problemlos angewandt werden. Die orale Verabreichung ist nicht invasiv und auch das Probenmaterial, Blut und Harn, ist einfach zu gewinnen. Die Labormethoden sind schnell und kostengünstig durchführbar, was eine Anwendung in der Nutztiermedizin ermöglichen würde.

Der Goldstandard für die Diagnose von Labmagenulzera beim Rind ist bisher der pathologisch-anatomische Nachweis mittels Sektion. Für diese Studie ist es jedoch nicht nötig, die Kälber unnötigerweise zu euthanasieren. Es werden (1) Patienten mit infauster Prognose, die aus medizinischen Gründen euthanasiert und einer Sektion unterzogen werden und (2) Mastkälber kurz vor der Schlachtung genutzt. Somit kann Post mortem das Vorhandensein von Labmagenulzera verifiziert werden. Dadurch entsteht kein zusätzliches Leid für die Tiere. Die vorhergehenden Eingriffe (orale Verabreichung von Zuckerlösung, Gewinnung von Spontanharn und Blutentnahme) bedeuten verhältnismäßig wenig Stress für die Tiere.

Im ersten Teil der Studie werden zehn und im zweiten Abschnitt 150 Mastkälber kurz vor der Schlachtung untersucht.

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

Durch den enormen Anstieg an Neuerkrankungen in den letzten Jahrzehnten gehören Typ I Allergien in den Industrieländern inzwischen zu den häufigsten chronischen Erkrankungen. Während lange Zeit das zentrale Nervensystem als unabhängig vom peripheren Immunsystem galt, mehren sich in letzter Zeit die Hinweise darauf, dass systemische Entzündungen das zentrale Nervensystem beeinflussen und eventuell sogar zu neurodegenerativen Erkrankungen beitragen könnten. Botenstoffe wie etwa Eotaxin, die bei allergischen Immunantworten eine große Rolle spielen, sind im Blut von alten Mäusen erhöht, was sich negativ auf die kognitiven Fähigkeiten auswirkt. Im Humansystem konnte in einigen wenigen Studien ebenfalls ein Zusammenhang zwischen allergischen Reaktionen und kognitiven Fähigkeiten gezeigt werden. Da im Menschen über die Mechanismen, die zu Allergiebedingten Veränderungen des zentralen Nervensystems führen, nur indirekte Schlüsse gezogen werden können, ist es notwendig in geeigneten Tiermodellen den Zusammenhang zwischen allergischen Immunantworten und Neurodegeneration zu untersuchen.

In einem Partnerlabor ist bereits eine Studie geplant, in deren Rahmen Mäuse mit einem häufig vorkommenden Gräserpollenallergen sensibilisiert und die Auswirkungen akuter und chronischer Exposition mit diesem Allergen auf Neurogenese und kognitive Fähigkeiten untersucht werden. In diesem komplexen Modell kann der Einfluss sogenannter T-Helfer Zellen auf die Struktur und Funktion des zentralen Nervensystems nicht abgeschätzt werden, da eine Reihe anderer Zelltypen und Faktoren ebenfalls eine Rolle spielen. Daher soll zeitgleich in dem vorgelegten Projekt studiert werden, wie sich die Anwesenheit unterschiedlich polarisierter T-Zellen (T-Helfer 1, T-Helfer 2) während akuter und chronischer allergischer Inflammation auswirkt. Zu diesem Zweck werden definierte Zahlen an in vitro gereiften, unterschiedlich polarisierten T-Zellen in Mäuse transferiert, die anschließend durch wiederholte Gabe von aerosolisiertem Allergen über einen kurzen oder längeren Zeitraum sensibilisiert werden.

Die beschriebene Fragestellung ist nur durch Verwendung von Tiermodellen zu bearbeiten. Es wird großer Wert darauf gelegt, die Anzahl der verwendeten Tiere auf ein Minimum zu reduzieren, ohne die statistische Verwertbarkeit der Daten zu gefährden. Durch die Zusammenarbeit mit unserem Kooperationspartner können die Versuche komplementär durchgeführt werden, wodurch ein Mehrwert entsteht und Mausgruppen nicht unnötig dupliziert werden müssen. Die angegebene Zahl und Gruppengröße der Versuchstiere wurde unter Zuhilfenahme eines Statistikprogrammes zur Gruppengrößberechnung ermittelt und basiert auf bereits veröffentlichten Studien mit vergleichbaren experimentellen Ansätzen. Insgesamt erfordern die geplanten Versuche eine Zahl von 205 Versuchstieren. Dabei handelt es sich ausschließlich um Mäuse vom Stamm C57BL/6.

Sämtliche verwendete Methoden fallen in die geringste Schweregradkategorie. Um Stress zu vermeiden, erfolgt etwa die Gabe des Allergens bei der Provokation nicht intranasal, sondern als Aerosol in einer Kammer, da sich in früheren Experimenten gezeigt hat, dass für die Mäuse diese Methode schonender ist.

Die aus dem geplanten Projekt zu erwartenden Ergebnisse können erstmals Informationen über die Auswirkungen von akuten bzw. chronischen TH2-polarisierten Immunreaktionen im Vergleich zu TH1-polarisierten Immunantworten auf Neurogenese und Kognition liefern. Da sowohl Typ 1 Allergien als auch neurodegenerative Erkrankungen einen ständig steigenden Anteil der Bevölkerung betreffen, ist es auch aus gesundheitspolitischer Sicht wichtig zu untersuchen, wie allergische Reaktionen Funktionen des zentralen Nervensystems beeinflussen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung

Im Sinne einer nachhaltigen Agrarwirtschaft ist es zwingend notwendig, Wiederkäuer entsprechend ihrer physiologischen Ansprüche mit raufutterbasierten Rationen zu füttern. In diesem Projekt soll daher der Einsatz vom Heu mit einem erhöhten Anteil an Zuckern als eine kosteneffiziente, energiereiche und vor allem gesunde Fütterungsstrategie für Milchkühe in der Früh-laktation fundiert evaluiert werden. Unserer Hypothese zufolge führt die Verfütterung von zuckerreichem Grundfutter nicht zu einem schnellen Abfall des Pansen-pH-Wertes und stellt im Gegensatz zur Stärkefütterung somit ein geringeres Risiko für die Entstehung einer Pansenazidose dar. Folglich bietet die Verfütterung von zuckerreichem Grundfutter eine gesunde und nachhaltige Energiequelle für Milchkühe. Als Grundfutter wird ein qualitativ hochwertiges Heu mit einem erhöhten Zuckergehalt als Hauptfutterkomponente getestet. Im Projekt werden daher 32 Milchkühe und 8 trockenstehende Kühe, die eine permanente aus Silikon hergestellte Pansenkanüle besitzen, mit einbezogen. Es werden die Fütterungseffekte auf die Pansengesundheit, Stoffwechselgesundheit, Milchleistung und Milchqualität evaluiert werden. Der Schweregrad ist als mittel einzustufen.

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

*Verminderung:* Einige Kühe, die im Projekt herangezogen werden sollen, wurden bereits in einem vorhergehenden Forschungsprojekt eingesetzt und werden während des Versuches laufend tierärztlich betreut. Die Probenahme, vor allem die Entnahme von Blutproben, wird auf das absolut nötige Minimum begrenzt, um die Tiere keinen unnötigen Schmerzen, Leiden oder Schäden auszusetzen. Durch das Versuchsdesign als Lateinisches Quadrat (4 x4) und geeignete statistische Auswertungen ist es möglich, die Tierzahl auf ein Minimum zu reduzieren. Da eine Pansenkanüle auch langfristig von den Kühen gut toleriert wird, sehen wir keinen Anlass, für jeden Durchgang neue Tiere einem operativen Eingriff zu unterziehen und aus Milchproduktionskette zu entfernen.

*Verfeinerung:* Die Unterbringung der Tiere entspricht den bzw. übertrifft die eingeforderten Standards. Eine regelmäßige Kontrolle der Tiere durch ausgebildetes Pflegepersonal sowie Tierärztinnen/Tierärzte gewährleistet eine nahezu lückenlose Überwachung des Gesundheitszustandes der Tiere. Die Haltung der Tiere in Gruppen und die Verwendung von Stroh als Einstreu schafft eine Umgebung die den physiologischen Bedürfnissen der Tiere entspricht. Durchgehender Zugang zu Futter und sauberem Trinkwasser wird gewährleistet. Geeignete Abbruchkriterien wurden definiert, die ein unnötiges Leiden der Tiere bei einem etwaigen Auftreten von Komplikationen oder Erkrankungen während des Tierversuchs vermeiden sollen.

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

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

Hitzestress führt bei Schweinen zu Leistungseinbußen, Erhöhung der Körpertemperatur, sowie der Atemfrequenz und veränderten Blutwerten, bis hin zum Hitzeschock. Im Rahmen dieses Projektes wird der Einfluss von verschiedenen Futterzusatzstoffen unter Hitzestress auf die Leistungsparameter, Allgemeinzustand und die Darmdurchgängigkeit bei Ferkeln, im speziellen Hinblick auf die Endotoxin Freisetzung untersucht. Die Ferkel werden dazu in 2er Gruppen in Stoffwechsellkäfigen gehalten, während einer dreitägigen Phase wird jeweils für einen definierten Zeitraum die Temperatur erhöht um Hitzestress bei den Ferkeln zu simulieren. Während dieser Phase wird den Ferkeln wiederholt Blut abgenommen um relevante Parameter zu untersuchen. Am Ende der Hitzeperiode wird den Ferkeln oral eine Lactulose-Mannitol Lösung verabreicht und danach wird im Urin der Ferkel das Lactulose-Mannitol Verhältnis als Marker für die Darmdurchgängigkeit analysiert.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

24 Absatzferkel (Suis suis).

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

Aus der Literatur sind Studien im Grundlagenbereich des Hitzestresses bekannt, Untersuchungen zu präventiven Fütterungsstrategien fehlen bis dato aber. Auf Grund der Beobachtung der physiologischen Zusammenhänge unter Hitzestress ist auch eine in vitro Modellierung nicht möglich. Der Stress für die Tiere wird durch die immer wiederkehrende Absenkung der Temperatur und die kurze Aufenthaltsdauer der Tiere in den Stoffwechsellkäfigen reduziert. Weiters wird der Stress für die Tiere auch dadurch reduziert, da sie zu zweit in den Stoffwechsellkäfigen gehalten werden und dadurch ständiger Kontakt zu Artgenossen möglich ist. Auch die Anzahl von 8 Tieren pro Gruppe (4 Futterdaten pro Gruppe) ist die für statistische Auswertungen notwendige Mindestanzahl.

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

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

Ziel des Tierversuches ist die Produktion von polyklonalen Antikörpern zur Diagnose der viral bedingten PRRS-Erkrankung (Porzines Reproductives und Respriatorisches Syndrom). Der Erreger dieser Erkrankungen gehört zum Genus Arterivirus in der rein tierpathogenen Familie der Arteriviridae. Die produzierten Antikörper sollen Proteine aus dem Nichtstrukturbereich des Virus erkennen um anschließend eine umfassende serologische Diagnostik von PRRSV und epidemiologische Untersuchungen zu ermöglichen. Da für die diagnostischen Nachweisverfahren nur wenige kommerziell erhältliche Antikörper vorhanden sind, die vor allem gegen zellkulturadaptierte Virusisolate aus den 1990er Jahren gerichtet sind, müssen für eine gezielte Diagnostik der aktuellen Feldisolate (z.B. Hannover/613) geeignete Antikörper entwickelt und produziert werden. Es sollen insgesamt 12 verschiedene Antigene zur Immunisierung von Kaninchen genutzt werden. Da pro Antigen der Einsatz von 2 Kaninchen geplant ist, werden insgesamt 24 Kaninchen genutzt. Die Antikörperproduktion der Tiere wird nach Immunisierung mit den entsprechenden rekombinanten Antigenstrukturen per Blutentnahme untersucht. Nach erfolgreicher Immunisierung werden die Tiere getötet, um aus dem Serum die entsprechenden Antikörper zu isolieren. Der Belastungsgrad der Immunisierungen und Blutentnahme wird als mittlere Belastung eingestuft. Die Kaninchen werden in Gruppen zu maximal sechs Tieren in Bodenhaltung gehalten, mit Unterschlüpfen als Rückzugsmöglichkeiten und Stroh als Einstreu. Als Adjuvans wird Gerbu Adjuvans GA 100 verwendet, da dieses im Vergleich zu Freund's Adjuvans eine deutlich geringere Belastung der Tiere darstellt. Die Tiere werden am Injektionstag mehrmals, danach mindestens einmal täglich kontrolliert, bei eventuellen Schmerzsymptomen wird den Tieren Tramadolhydrochlorid als Analgetikum verabreicht. Die Tötung der Tiere erfolgt in Narkose.

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

Brustkrebs zählt zu den häufigsten und tödlichsten Krebserkrankungen in westlichen Gesellschaften. Statistisch gesehen ist jede achte Frau in Europa im Lauf ihres Lebens von dieser Krankheit betroffen. Mit dem Aufkommen der modernen Genomik wurden neue Kandidatengenen mit Brustkrebs assoziiert. Die große Herausforderung ist es nun, festzustellen, welche dieser Gene die grundlegenden molekularen Signalwege der Brustentwicklung, Krebs und Metastasen initiieren kodieren. Die experimentellen Protokolle, welche verwendet werden, sind hoch standardisiert. Ergänzt wird das Projekt mit Studien, u.a. Zellkultur, Proteomstudien, Next Gen Sequencing. Im Antrag für das Projekt sind Momentan 2800 Mäuse für einen Zeitraum von 5 Jahren hochgerechnet. Die Verwendung von Tieren erfolgt unter den höchsten ethischen Standards. Durch Arbeiten in einem wissenschaftlichen Netzwerk wird die Vergleichbarkeit und Validität erhöht, gleichzeitig die Zahl der Tiere signifikant reduziert.

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

In einem Cross-over-Versuch wird eine neue Diät für an Diabetes mellitus leidende Katzen hinsichtlich der postprandialen Glukose- und Insulinkurve mit einer im Handel befindlichen Diabetesdiät verglichen. Hypothese ist, dass die Testdiät einen günstigeren Effekt auf den postprandialen Glukosespiegel aufweist wie die im Handel befindliche Diät. Zur Ermittlung der Glukose- und Insulinkurve ist die Gewinnung von Blutproben notwendig, die einen geringen Belastungsgrad für die Tiere darstellen. 10 Katzen werden für dieses Projekt verwendet. Die Katzen sind an den Umgang mit Menschen gewöhnt und empfinden deren Anwesenheit positiv was mit wesentlich weniger Stress im Handling für die Tiere verbunden ist als wenn es sich um scheue Tiere handeln würde. Außerdem werden die Katzen frühzeitig an das Handling durch die Gabe von Leckerli gewöhnt und es wird versucht, Handlungen an ihnen -wie z.B. die Blutentnahme- positiv zu besetzen. Durch das Anbringen eines Venflows (Vena brachialis), wird ein mehrmaliges Stechen der Tiere vermieden. Insgesamt wird an 2 Tagen je Tier Blut entnommen. Die Anzahl von 10 Katzen wurde gewählt, da bereits in einem Versuch, in dem ähnliche Parameter erhoben wurden, mit 10 Katzen ausreichende Ergebnisse erzielt wurden.

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

In genetisch bedingten Hauterkrankungen, welche durch Erosionen an mechanisch exponierten Körperstellen charakterisiert werden, liegen meist molekularpathologische Mutationen in den für Strukturproteine der dermo-epidermalen Basalmembranzone, des Zytoskeletts basaler Keratinozyten und der epidermalen Zell-Zell-Adhäsion kodierenden Gene zugrunde. Im Rahmen dieses Projektes planen wir eine neue Therapiemöglichkeit bei Mäusen die Hauterkrankungen ähnlich wie der Mensch zu entwickeln. Dazu sollen der Effekt in Kurz- und Langzeitwirkungen nach Zelltransplantationen untersucht werden. Für das Projekt wurden 1250 Mäuse berechnet. Die Studien sind essentiell für die Evaluierung von Wirksamkeit und Sicherheit von Transplantationen. Das Design dieser für den medizinischen Fortschritt sehr wichtigen Studien fand unter den Einbezug der 3R statt. Entsprechende Vorversuche werden an unterschiedlichen Zelllinien durchgeführt. Internationale Versuchsmodelle und unsere Expertise lassen die Tierzahl auf das notwendige Minimum reduzieren. Die Tiere werden durch ausgebildete Tierpfleger versorgt und tierärztlich überwacht. Unsere Experimente sind so ausgelegt, dass ein Maximum an Erkenntnis aus der geringstmöglichen Anzahl von Tieren erreicht wird.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 29. Februar 2020 vorgesehen.



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

Es wird eine Überprüfung des Tumorigenitätspotentials für kontinuierliche Zelllinien gesetzlich gefordert. Dieser Test ist eine Unbedenklichkeitsüberprüfung für Zelllinien, die für die Herstellung von Impfstoffen in Verwendung sind. Für den Tumorigenitätstest werden diese Zellen in der entsprechend vorher festgelegten maximalen Passagierate der jeweiligen Linie bzw. jenseits dieser einmalig subkutan in das Tiermodell appliziert und die mögliche Entstehung von Tumoren über einen definierten Zeitraum beobachtet. Die Versuchstiere können somit im Laufe der Beobachtungszeitspanne Tumore entwickeln. Dem gegenüber stehen allerdings die Kontrolle der Sicherheit in der Produktion von Human-, und Veterinärimpfstoffen und somit auch eine Sicherstellung der menschlichen und tierischen Gesundheit. Es werden 468 athymische Mäuse beantragt. Tiere werden standardisiert in Gruppen gehalten und Käfige mit Enrichment ausgestattet. Die Applikation der Test Substanz wird unter leichter Inhalationsnarkose durchgeführt und Tiere auf ihren Gesundheitszustand täglich genauestens kontrolliert. Abbruchkriterien sind genau definiert und werden angewandt um unnötiges Leid zu verhindern.

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

Das Ziel des geplanten Experiments ist die Untersuchung der molekularen und strukturellen Funktion des Proteins p62/Sequestome-1 bei der Bildung von Lewy Körper in einem verbesserten Mausmodell für Parkinson. p62 ist ein multifunktionales Stressprotein, das als konstante Komponente von Lewy Körper bei Patienten mit Parkinson nachgewiesen wurde und darüber hinaus auch in typischen Proteinablagerungen anderer neurodegenerativer Erkrankungen, wie z.B. Alzheimer und Amyotrophe Lateralsklerose, nachzuweisen ist. Das spezielle Krankheitsbild der Lewy Körper konnte bisher noch nicht in Mausmodellen erzeugt werden. Grundlage des Experimentes sind zwei Mausmodelle, die das humane  $\alpha$ -Synuclein als primäre strukturelle Komponente der Lewy Körper im Hirn produzieren. Im Alter würden diese Tiere spontan eine dem Parkinson ähnliche Erkrankung entwickeln. Durch die lokale Zugabe des humanen p62 in die *Substantia Nigra* des Maushirns soll untersucht werden, ob es dadurch zur Bildung der für Parkinson typischen Lewy Körper Pathologie kommt. Die Übertragung des p62 Gens in das Maushirn erfolgt unter Vollnarkose. Die durch den Eingriff hervorgerufene kurzzeitige mittelgradige Belastung, wird durch die Gabe eines Schmerzmittels behandelt. Zur zeitversetzten histologischen Untersuchung werden die Tiere schmerzfrei getötet. Die Ausprägung eines Krankheitsbildes ist infolge der lokal eingeschränkten Aktivität von p62 und der frühzeitigen histologischen Aufarbeitung nicht zu erwarten.

Für die Untersuchung and den zwei geplanten Mausmodelle, einschließlich ihrer Kontrollen, werden 90 Labormäuse eingesetzt.

Sollte sich unsere Hypothese bestätigen, könnte das die Möglichkeit eröffnen ein Mausmodell herzustellen, das der Parkinsonerkrankung im Menschen sehr nahe kommt. Wichtiger wäre jedoch der Nachweis der notwendigen Beteiligung von p62 in den Proteinaggregaten der untergehenden Nervenzellen, woraus sich neue therapeutische Ansätze für verschiedene neurodegenerative Erkrankungen ergeben könnten. Die behandelten Tiere werden täglich kontrolliert (scoring) und im unerwarteten Fall einer Erkrankung sofort der histologischen Analyse zugeführt.

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

*Projektziel:*

Eine Behandlung von Saugferkeln mit Antibiotika hilft bei bakteriellen Infektionen, führt aber auch zu einer Verschiebung der physiologischen Darmflora zu einer durch Enterobacteriaceae dominierten Darmflora. Diese Tatsache hat massiven Einfluss auf die Verdauung und somit auch auf die Tageszunahmen und Mastleistung bzw. können die Tiere anfälliger für pathogene Darmbakterien werden und vermehrt an Durchfall erkranken. In diesem Projekt soll der Einfluss einer parenteralen antibiotischen Metaphylaxe bei Saugferkeln mit einem Cephalosporin der dritten Generation auf die aktive Immunitätsentwicklung gegen den fakultativ pathogenen Erreger *S. suis* und auf die Mikrobiota des Darmes evaluiert werden. Die gewonnenen Erkenntnisse sollen helfen, diese Veränderung in der Darmflora besser zu verstehen, um Antibiotikagaben in den ersten Lebensstagen kritischer zu hinterfragen und eventuell sinnvollere Vorbeugestrategien gegen Streptokokken zu entwickeln. Außerdem soll die immunologische Auswirkung des metaphylaktische Einsatz von Cephalosporinen in Problembetrieben beschrieben werden.

*Anzahl und Art der verwendeten Tiere*

Alle lebend geborenen Ferkel von maximal 60 Sauen der Rasse Deutsches Edelschwein

*Erfüllung der 3“R“*

*Vermeidung:*

Da es in dem vorliegenden Projekt um die Untersuchung der Auswirkung einer einmaligen Antibiotikagabe am ersten Lebenstag auf die Darmmikrobiota beim wachsenden Schwein geht und ein lebender Gesamtorganismus notwendig ist, findet der Ersatz durch eine versuchstierfreie Methode keine Anwendung. *In-vitro* Systeme können die Wachstums- und Entwicklungsphase des Darms sowie die Gewichtsentwicklung der Ferkel nicht simulieren. Außerdem müssen aufgrund der tierindividuellen Unterschiede in der Darmmikrobiota die Untersuchungen zu den Wirkmechanismen zwischen Darmmikrobiota und Antibiotika am Gesamtorganismus durchgeführt werden. Des Weiteren können durch die Kryokonservierung von gewonnenem Probenmaterial weitere Untersuchungsreihen für Fragestellungen zum Projektthema bearbeitet werden, ohne dass erneut Tierversuche durchgeführt werden müssen.

*Verminderung:*

Die Tierzahl wird durch eine sorgfältige Auswahl des Versuchsaufbaus und geeigneter statistischer Analysen gering, aber für statistische Signifikanzen ausreichend gehalten.

*Verfeinerung:*

Um den wachsenden Schweinen unnötiges Leid zu ersparen und den physiologischen Bedürfnissen der Tiere nachzukommen, werden alle erforderlichen Maßnahmen ergriffen, die zum allgemeinen Wohlbefinden der Tiere beitragen. Die Haltings- und Pflegebedingungen der Tiere entsprechen den eingeforderten Standards. Die Schweine werden in Gruppen, soweit wie möglich mit ihren Wurfgeschwistern bis zum Beenden des Versuchs gehalten. Das Futter ist bedarfsgerecht formuliert und die Schweine haben ständigen Zugang zu sauberem Trinkwasser und Futter. Der Gesundheitsstatus der Tiere wird täglich mehrere Male durch das pflegende Personal und regelmäßig tierärztlich kontrolliert. Über die geplanten Eingriffe hinaus werden den Tieren keine weiteren Leiden, Schäden oder Schmerzen zugefügt. Dadurch soll eine allgemeine Stressminderung erreicht werden, die zum allgemeinen Wohlbefinden der Tiere beiträgt.

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

Im Rahmen einer Studie soll die endoskopisch geleitete intratubale Besamung beim Rind entwickelt werden. Diese Methode existiert noch nicht und hat zum Ziel, Samen gezielt direkt an den Ort der Befruchtung, im Eileiter der Kuh, zu transferieren. Das Verbringen von Samen unmittelbar in die Eileiter würde eine direkte und damit bessere Beurteilung von männlichen Gameten hinsichtlich ihres Befruchtungsvermögens erlauben, da der Einfluss des pathophysiologische Zustands der Reproduktionsorgane der Kuh minimiert wird. Letztendlich soll diese Methode eine deutliche Reduktion der notwendigen Spermienzahl zur Besamung ermöglichen. Daher würde die intratubale Insemination auf Grund der geringeren notwendigen Samendosis für den praktischen Einsatz dort zur Verfügung stehen, wo eine geringen Menge und Qualität an Spermien zur Verfügung stehen wie z.B. bei der Anwendung von gesextem Sperma. Es werden 50 Rinder beantragt. Die geplante Versuchsdauer beträgt 3 Jahre. Die Eingriffe am Tier beinhalten die hormonelle Vorbereitung der Tiere zur Synchronisation und Superovulation, endoskopisch geleitete intratubale Besamung und Embryospülung. Da es sich hierbei um die Entwicklung einer Reproduktionstechnik am Rind handelt, lässt sich ein Einsatz von Tieren nicht vermeiden. Um die Tierzahl möglichst gering zu halten, sollen die Kalbinnen nach 6-wöchiger Pause zwei-bis dreimal am Versuch teilnehmen. Die endoskopische Besamung baut auf ein bereits etabliertes Verfahren auf und stellt eine minimal-invasive Belastung mit dem Belastungsgrad "gering" dar, deren Anwendung für die Praxis im weiteren zur Verfügung stehen soll.

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

Projektziel ist das Erlernen des klinischen Untersuchungsganges sowie praktischer Handgriffe und Tätigkeiten am Tier. Dies dient der Vorbereitung für den Praxisalltag und dem Erwerb praktischer Kenntnisse für die zukünftige Berufsausübung im Bereich der Pferdehaltung. In das Projekt werden 25 Pferde einbezogen. Die Anleitung zur Durchführung der Untersuchungsgänge und der praktischen Handgriffe werden nur unter Aufsicht eines erfahrenen Tierarztes durchgeführt, sodass dieser die getätigten Maßnahmen zum Wohl der Tiere sofort unterbrechen oder abbrechen kann. Alle Maßnahmen werden nach derzeitigem Wissensstand als "good clinical practice" durchgeführt sodass den Tieren unnötige Schmerzen und Leiden erspart bleiben. Durch die gewählte Anzahl an Tieren kann eine Mehrfachbelastung von Tiere vermieden bzw. minimiert werden.

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

Histomonose ist eine parasitäre Erkrankung des Geflügels, ausgelöst durch den Einzeller *Histomonas meleagridis*. Seit dem 2003 in Kraft getretenen Verbot aller gegen Histomonose wirksamer Therapeutika und Prophylaktika, kommt es vermehrt zu Ausbrüchen mit hohen Morbiditäts- und Mortalitätsraten in der Geflügelhaltung. Durch den akuten Therapienotstand führen Ausbrüche der Parasitose nicht nur zu hohen wirtschaftlichen Verlusten für Geflügelbetriebe, sondern stellen durch den oft schweren Krankheitsverlauf auch eine tierschutzrelevante Problematik dar. Eine wichtige Grundlage für die Forschung an *H. meleagridis* ist die Reisolierung des Erregers aus infizierten Tieren zur Stammkonservierung verschiedener Feldstämme. Ziel des beantragten Versuches ist es, Puten mit verschiedenen Feldstämmen zu infizieren. Dabei sollen verschiedene Techniken der Reisolierung und Kultivierung dieser Stämme getestet und verbessert werden. Eine Optimierung von Extraktions- und Reisolierungsmethoden von *H. meleagridis* wäre von großem Nutzen in der Forschung an diesem Parasiten und wäre auch für Tierversuche im Zuge der Vakzineentwicklung von großem Vorteil. Ein Tierversuch kann hierbei durch Alternativmethoden nicht ersetzt werden. Der Versuch ist jedoch so erstellt, dass eine minimale Anzahl von Tieren verwendet wird. Für diesen Versuch ist die Verwendung von 50 Puten geplant. Die Versuchstiere werden in kurzen, regelmäßigen Intervallen beobachtet und ihr Allgemeinbefinden evaluiert. Bei Auftreten einer starken klinischen Symptomatik wird das betroffene Tier euthanasiert und somit, wie gesetzlich vorgeschrieben, das Vermeiden von unnötigem Tierleid aufgrund der genau definierten Abbruchkriterien eingehalten.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31.12.2016 vorgesehen.

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

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

Ziel des Projektes ist die translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten oder anderen Anomalien oder deren Folgen bei Menschen, Tieren oder Pflanzen. Der Versuch bedingt keine Operationen. Die Belastung der 2200 eingesetzten Mäuse wird als „schwer“ eingestuft.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

2200 Mäuse

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

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

Eine rückblickende Bewertung findet gemäß § 30 Abs. 1 Z 3 TVG 2012 in jährlichen Abständen (2015, 2016, 2017) sowie nach Abschluss des Projektes (2018) statt.

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

Dengue Fieber ist eine virale Vektor-übertragene Infektion des Menschen, das durch einen der 4 Serotypen des Dengue Virus (DNFV) zu einer schweren Erkrankung mit teils tödlichem Ausgang, Dengue Hemolytic Fever (DHF) oder Dengue Schock Syndrome (DSS), führt. Geschätzte 50-100 Millionen Fälle von DENV-Infektion und 250,000-500,000 Fälle von DHF/DSS pro Jahr, bestätigen, dass mehr als 2.5 Milliarden Menschen in Risikogebieten leben. Es gibt bisher weder einen Impfstoff noch ein kausale Therapie für diese fast weltweit auftretende Flavivirus-Infektion. Die Problematik einer Dengue Vakzinierung liegt in der Selektion der schutzgebenden Antigene, da eine Infektion frühzeitig durch neutralisierende Antikörper gestoppt werden muss. Trotz vieler Forschungsansätze in den letzten Jahrzehnten konnte keine Immunprophylaxe entwickelt werden da DHF durch ein Überschießen der Antikörperproduktion bei einer Folgeinfektion und resultierend einer "antibodydependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC)", also einer Lyse der mit Dengue infizierten Zellen an die sich die Antikörper geheftet haben, führt. Die hat einerseits die Zerstörung des Endothels und die massive Ausschüttung von Entzündungsmediatoren zur Folge hat, was zur Exsudation und final zur Hämorrhagie führt.

In den letzten Jahren wurden einige Ansätze zur Immunprophylaxe des DNFV durchgeführt, und einige Versuche führten auch zur Bildung neutralisierender Antikörper. Die gewählten Antigene der verschiedenen Serotypen sollten neutralisierende Antikörper hervorrufen können.

Im Tierversuch soll gezeigt werden, dass die Applikation von DNFV EDIII Antigenen zu einer Immunisierung von Säugern führen kann, die auch Virusneutralisierend wirkt. Diese Studie soll zeigen, ob die jeweilig spezifischen Epitope der verschiedenen Serotypen, bzw. das alle 4 Serotypenantigene umfassende Expressionsprodukt neutralisierende Antikörper als Surrogat für Impfschutz erzeugen kann.

Als Versuchstiere werden weibliche Mäuse der BALB/c Maus, zwischen 8 und 10 Wochen eingesetzt. Insgesamt sind maximal 90 Tiere eingeplant.

Diese Studie wurde unter Einhaltung des „3R“ Prinzips geplant.

Da Antikörper nur von lebenden Organismen spezifisch gebildet werden können gibt es keine Alternative zu diesem Ansatz. Natürlich wurde bei der Versuchsplanung auch eine Risikoabschätzung gemacht und versucht die Anzahl der Tiere so gering wie möglich zu halten. Weniger große Tierzahlen als die geplanten würden die erwartbaren Antikörpertiter Schwankungen zu extrem werden lassen und deshalb die Aussagekraft der Experimente kompromittieren. Auch wurde immer beachtet das Leiden der Tiere so gering, wie möglich zu halten.



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

Dieses Projekt hat zum Ziel die wechselseitige Rolle von intraabdominalem Druck (d.h. Druck im Bauchraum) und Beatmungsdrücken hinsichtlich der Entstehung bzw. Vermeidung von Lungenkollaps besser zu verstehen. Für diese Untersuchungen werden Messungen bei bis zu 10 Ponys in wachem und anästhesiertem Zustand durchgeführt. Am anästhesierten Pony werden vor und nach Erhöhung des Bauchdruckes insbesondere die Beatmungsdrücke und Blutgase gemessen und die Lungendichte mittels computertomographischer Aufnahmen bestimmt. Um ein besseres Bild vom Einfluss des Bauchdruckes auf die Lunge zu bekommen wird dieser auf zwei verschiedenen Wegen erhöht. Zum einen über die Füllung des Magens, wie es auch bei dem Krankheitsbild des Kolikers u.a. zu beobachten ist, zum anderen direkt über die Bauchhöhle, ähnlich einer Bauchspiegelung (Laparoskopie). Die Tiere werden in Allgemeinanästhesie gelegt und beatmet, ohne chirurgische Eingriffe, und es wird erwartet, dass diese ohne nachträgliche Beeinträchtigung des Wohls aufwachen. Diese Kenntnisse sollen zu neuen effektiven (bessere Sauerstoffaufnahme) und lungenschonenderen (kein Lungenschaden mit Entzündung) Beatmungstechniken führen, die helfen, die hohe Komplikationsrate der Pferdeanästhesien zu senken.

Leider kann man die komplizierte Interaktion von verschiedenen Organsystemen die hier entstehen, unmöglich in vitro simulieren. Das Ausmaß dieser Problematik hängt vermutlich auch mit der typischen Anatomie des Pferdes zusammen, weshalb Versuche mit Ponys am besten zutreffen. Die Einbeziehung in der Planung von allen erhältlichen Informationen und bestehenden Messdaten von früheren Studien und die Verfeinerung der Messmethoden machen es voraussichtlich möglich, mit guten statistischen Methoden wissenschaftliche Aussagen mit einer Mindestanzahl von Tieren zu bekommen. Gewöhnung der Ponys an die experimentelle Umgebung, schmerzfrei katheterisieren, allgemeine mit ausführlicher Überwachung gesteuerter Allgemeinanästhesie durch Spezialistinnen, Handhabung von Abbruchkriterien und postanästhetischer klinischer Kontrolle tragen zu einer so gering wie möglichen Belastung der Tiere bei.

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

Projektziel ist das Erlernen des klinischen Untersuchungsganges sowie praktischer Handgriffe und Tätigkeiten am Tier. Dies dient der Vorbereitung für den Praxisalltag und dem Erwerb praktischer Kenntnisse für die zukünftige Berufsausübung im Bereich der Schweinehaltung. In das Projekt werden an die 600 Schweine verschiedener Altersgruppen einbezogen. Die Anleitung zur Durchführung der Untersuchungsgänge und der praktischen Handgriffe werden unter Aufsicht erfahrener Tierärzte durchgeführt, sodass diese die getätigten Maßnahmen zum Wohl der Tiere sofort unterbrechen oder abbrechen können. Alle Maßnahmen werden nach derzeitigem Wissensstand als „Good clinical practice“ durchgeführt sodass den Tieren unnötige Schmerzen und Leiden erspart bleiben. Es sind darüber hinaus keinerlei Schäden zu erwarten. Durch die große Anzahl an Tieren kann eine Mehrfachbelastung von Tieren vermieden bzw. minimiert werden. Der Belastungsgrad für die Tiere wird als mittelgradig eingestuft.

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

Das Ziel dieses Projektes ist die Bestimmung und nähere Beleuchtung der regulatorischen Mechanismen über welche Omega-6 und Omega-3 Fettsäuren (PUFA) Winterschlaf und Altern beeinflussen. Die Haupt-Fragestellung untergliedert sich in drei spezifische Ziele: 1.) die Bestimmung der Effekte von Linolsäure (bzw. des Verhältnisses von Omega-6 zu Omega-3 PUFA) auf die Herzfunktion sowie die Aktivität der im sarkoplasmatischen Retikulum lokalisierten Kalzium ATPase (SERCA2a) in der Aufwachphase aus dem Torpor; 2.) das Sammeln von Hinweisen die für oder gegen einen Trade-Off zwischen vorteilhaften Effekten eines hohen Membran-Anteils an Linolsäure und möglichen Kosten desselben sprechen, z.B. in Form von erhöhtem oxidativen Stress während des Winterschlafs; 3.) die Bestimmung des Effekts von über die Nahrung aufgenommenener Linolsäure auf Alterungsprozesse während des Winterschlafes anhand der Messung der relativen Telomerlängen (RTL). Dieses Projekt wird neue Erkenntnisse im Feld der Öko-Physiologie bzw. der physiologischen Vorgänge während des Winterschlafes liefern. Die Beantwortung der im Zuge dieses Projektes untersuchten Fragestellungen wird helfen die Rolle der PUFA in Bezug auf die Herzfunktion bei schwankender Körpertemperatur ( $T_b$ ) besser zu verstehen. Die gewonnenen Informationen sind nicht nur für Winterschläfer mit ihren großen  $T_b$ -Schwankungen von Relevanz, sondern auch für alle anderen Säuger und Vögel die weniger extreme  $T_b$ -Schwankungen aufweisen. In weiterer Folge kann dieses Projekt Erkenntnisse im Humanmedizinischen Bereich liefern, da bestimmte PUFA bereits für ihren positiven Effekt auf die kardiovaskuläre Funktion bekannt sind. Schlussendlich wird dieses Projekt ein erweitertes Verständnis von Winterschlaf als eine Anpassung zur Verlangsamung der Life-History die über die herkömmliche Energiespartaktik hinausgeht schaffen. Über die aus diesem Projekt gewonnenen Erkenntnisse sollen neue Forschungsrichtungen im Feld der Alterungsforschung entstehen. Es werden 120 Gartenschläfer (*Eliomys quercinus*) verwendet.

**"Replacement"**. Ziel der vorgeschlagenen Studie ist die Untersuchung der Physiologie von Nagern im Winterschlaf. Insbesondere sollen Fettsäurezusammensetzung, Winterschlafmuster, Herzfunktion sowie Alterungsprozesse bei niedriger  $T_b$  bestimmt werden. Daher ist es nicht möglich die Verwendung von Tieren durch nicht-tierische Modelle wie Zellkulturen oder Computermodelle zu ersetzen. **"Reduction"**. Mittels einer statistischen Power Analyse wurde eine Anzahl von zehn Tieren pro Messzeitpunkt (während des Winterschlafs und/oder der Aufwachphase) als ausreichend bestimmt um signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen in Bezug auf die zu untersuchenden Parameter detektieren zu können. Mit 40 Tieren pro Gruppe (4 Zeitpunkte) werden folglich 120 Tiere über das drei-jahres Experiment hinweg benötigt. **"Refinement"**. Die Implantation kleiner Temperatur-Transmitter ist etabliert. Diese Methode erlaubt es den Verlauf der inneren Körpertemperatur während des Winterschlafs in Echtzeit zu verfolgen. Dies ermöglicht eine punktgenaue Identifizierung der relevanten Zeitpunkte, wodurch sich die Anzahl der benötigten Tiere reduziert. Zudem können Tiere im Winterschlaf ohne unnötige Störung und Manipulation überwacht werden.

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

Im Rahmen einer Gesundheits/Vorsorgeuntersuchung soll die notwendige Tauglichkeit von 120 Hunden aus privater Tierhaltung vor der Teilnahme an einer Kognitionsstudie evaluiert werden. Die Tiere müssen klinisch, neurologisch und orthopädisch dazu in der Lage sein an den Kognitionsuntersuchungen teilnehmen zu können. Der Nutzen liegt in der Sicherstellung der bestehenden Gesundheit aller Teilnehmer für die gesamte Dauer des Projektes. Bei Auffälligkeiten können diese Tiere einer weiteren Untersuchung zugeführt und therapiert werden. Der maximale Schaden ist durch die Blutabnahme bedingt. Eine Vermeidung von lebenden Tieren im Bereich der Kognitionsforschung ist nicht möglich, da hierzu Tierverhalten evaluiert wird. Um die Belastung der studienteilnehmenden Hunde durch die Gesundheits/Vorsorgeuntersuchung zu minimieren, wurde diese auf 2x (zu Studienbeginn und 12 Monate danach, am Studienende) reduziert. Dies entspricht dem optimalen Vorsorgeuntersuchungsintervall bei Tieren mittleren bis hohen Alters. Die Anzahl der Probanden basiert auf vergleichbaren Studien und statistischen Fallzahlmethoden.

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

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

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

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

Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere  
40 Kaninchen

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

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

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

Angaben über die Projektziele, einschließlich des zu erwartenden Schadens und Nutzens

Es werden transgene Mäuse, die für die Erforschung der Rolle von speziellen Kalziumkanälen in der Entstehung von Herzinsuffizienz und Hypertrophie gezüchtet. Diese Kanalproteine stellen ein potentiell Ziel für die Prävention von Herzerkrankungen dar. Um die Rolle dieser Proteine in der Physiologie, sowie in der Pathophysiologie des Herzens bestimmen zu können, wird dieses spezifische Ionenkanal-Protein in der Maus ausgeschaltet. Somit ist es möglich neue Strategien der Prävention und/oder Therapie der Herzinsuffizienz und pathologischen Hypertrophie des Herzens zu entwickeln.

Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere

Es sollen 2000 Mäuse innerhalb von 5 Jahren gezüchtet werden.

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

Insuffizienz und pathologische Hypertrophie des Herzens sind komplexe Erkrankungen, an denen verschiedene Zelltypen beteiligt sind und in denen eine unterschiedliche Gewebsumgebung eine wesentliche Rolle spielt. Die unterschiedlichen Zelltypen interagieren untereinander nur im funktionierenden Organismus. Aus diesem Grund können Fragestellungen nicht in einem isolierten Organsystem oder einer Zellkultur adressiert werden. Abgeleitet aus in vitro Daten und Daten aus der Literatur wird versucht, die Anzahl der Mäuse in den Versuchsgruppen auf ein Minimum, welches noch eine statistische Signifikanz erlaubt, zu halten. Gleichzeitig sollen in allen Versuchen immer mehrere Parameter bestimmt werden, um zusätzliche Versuche zu vermeiden und das vorhandene biologische Material optimal auszunutzen. Dies wird durch genaue Planung des Versuchsablaufs erreicht. Die Zucht der Tiere wird so klein wie möglich gehalten, es wird danach getrachtet, dass so wenige Tiere wie möglich geboren werden, die nicht in Versuche fließen. Die Überschaubarkeit der Zucht ermöglicht auch eine bessere Kontrolle und Versorgung der Tiere. Die Tiere werden von geprüften Tierpflegern versorgt und in regelmäßigen Abständen tierärztlich überprüft. Für das Wohlbefinden der Tiere wird ihnen Enrichment in Form von Nestmaterial und Tunnel zur Verfügung gestellt.

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

Projektziel:

Multiple Sklerose ist die häufigste neurologische Erkrankung des jungen Erwachsenenalters. Die Erkrankung ist gekennzeichnet durch schubförmiges Auftreten neurologischer Symptome wie z.B. Lähmungen, Gefühls- oder Sehestörungen gefolgt von einer mehr oder weniger zufriedenstellenden Rückbildung. Über den Verlauf von Jahren kann es zu variablen, bleibenden Behinderungen kommen. Die Behandlung dieser Erkrankung ist leider, obwohl mittlerweile einige immunsuppressive bzw. immunmodulatorische Medikamente zur Verfügung stehen, schwierig und oftmals nicht zufriedenstellend und teils mit erheblichen Nebenwirkungen behaftet. Daher ist es unbedingt erforderlich neue pharmakologische Angriffspunkte zu finden und die bestehenden zu verbessern. Eine der erst relativ kurz am Markt befindliche Therapieoption zur Behandlung der schubförmigen Multiplen Sklerose ist das oral zu verabreichende Medikament. Fingolimod gehört zur Gruppe der Immunsuppressiva und senkt die Zahl der im Blut zirkulierenden Lymphozyten, die im Rahmen eines MS- Schubes in das Zentralnervensystem einwandern und dort die Nervenbahnen der Patienten schädigen können. Verschiedene Vorarbeiten legten aber die Vermutung nahe, daß Fingolimod zusätzlich dazu auch einen rein im Gehirn selbst wirkenden, das Nervengewebe schützenden Wirkmechanismus hat, der unabhängig von der peripheren Immunsuppression ist. Bisher konnte diese Fragestellung nicht endgültig beantwortet werden. Ziel unseres Projektes ist es, mittels eines implantierten Katheters eine einzelne, entzündlich-demyelinisierende Läsion im Großhirn von Ratten selektiv zu erzeugen. Mittels dieses Katheters erfolgt auch die direkte Gabe von Fingolimod in die Läsion selbst unter Umgehung des Blutkreislaufes und damit des peripheren Immunsystems. Der Therapieeffekt wird durch wiederholte MRT-Untersuchungen und histologische Untersuchung des Gehirngewebes der Ratten untersucht.

Der Nachweis einer zentral-neuroprotektiven Wirkung von Fingolimod hätte wesentliche Auswirkungen zum einen auf die Anwendung dieser Therapie selbst als auch in Bezug auf die Entwicklung weiterer Therapieoptionen zur Behandlung der Multiplen Sklerose.

Anzahl der zu verwendeten Tiere:

Es werden 110 Ratten vom DA Stamm für diese Versuche benötigt.

„3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung):

Leider kann eine Fragestellung, in wie fern sich eine Substanz als Therapeutikum für eine Erkrankung des Gehirns eignet, nur im Tierversuch beantwortet werden. Unser Versuchsansatz wurde durch verschiedene Vorarbeiten so konzipiert mit einer relativ geringen Tierzahl gute Aussagen zum Therapieeffekt einer Anwendung von Fingolimod direkt in einer entzündlich-demyelinisierenden Läsion treffen zu können. In diesen für den medizinischen Fortschritt sehr wichtigen Untersuchungen wird jedoch immer auf eine möglichst geringe Belastung der Versuchstiere geachtet, Außerdem wird großer Wert darauf gelegt, die Projektversuche nur mit jener minimalen Anzahl an Ratten durchzuführen, die statistisch notwendig ist um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten. Gleichzeitig werden, wann immer möglich, mehrere Parameter (Verhaltensparameter, biochemische und funktionelle Parameter) bestimmt, um zusätzliche Versuche zu vermeiden und das vorhandene biologische Material optimal zu nutzen. Dies wird durch die genaue Planung des Versuchsablaufs und das optimale Ausnutzen aller Ressourcen erreicht. Die Zahl der verwendeten Ratten beläuft sich auf die statistisch notwendige Anzahl pro Versuch und es werden keine Versuche unnötig ausgeführt oder wiederholt. Zusätzlich wird für eine möglichst angenehme und stressfreie Umgebung der Tiere gesorgt. Während des Behandlungszeitraums stehen die Tiere unter Beobachtung.

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

*1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen* In einem ersten Projekt werden männliche Mucopolysaccharidose IIIA (MPS IIIA, Sanfilippo-Syndrom) Mäuse und ihre wildtyp Geschwistertiere drei Mal longitudinal in verschiedenen Verhaltenstests untersucht. Die Tiere werden im Alter von 8, 16 und 24 Wochen im Irwin Test, Wire Hanging Test, Open Field Test und RotaRod Test untersucht. Zu jedem Zeitpunkt werden 5 Mäuse nach den Tests euthanasiert und die Gehirne und Plasma gesammelt. Die Gehirne werden für histologische und biochemische Analysen aufgearbeitet. In einem zweiten Projekt sollen MPS IIIA Mäuse ab einem Alter von 8 Wochen und für 10 Wochen wöchentlich intravenös mit einem Protein behandelt werden. Zusätzlich werden die Tiere subkutan mit Chlorphenamin vorbehandelt um anaphylaktische Reaktionen durch das Protein zu verhindern. Am Ende der Behandlung werden die Tiere euthanasiert und die Gehirne und Plasma für biochemische und histologische Analysen entnommen. Es wird erwartet, dass die Testsubstanz die pathologischen Merkmale der MPS IIIA Tiere verringert und somit den Verlauf der Krankheit aufhält oder verzögert.

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

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

Für diese Studie werden insgesamt 60 MPS IIIA und 30 wildtyp Geschwistertiere beantragt.

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

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



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

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

Im einem flussnahen Wasserwerk wird ufernahes Grundwasser gefördert und bei Erfordernis in das Wasserleitungsnetz eingespeist. Zur Früherkennung einer allfälligen Beeinträchtigung der Flusswasserqualität wurde eine Biomonitoringstation mit Testfischen errichtet. Zweck der Anlage ist die kontinuierliche Überwachung der Flusswasserqualität. Da bei Vorhandensein von toxischen Stoffen im Fluss in weiterer Folge auch eine Verunreinigung des Grundwasserstromes nicht ausgeschlossen werden kann, können rechtzeitig vorbeugende Maßnahmen im Bereich der Trinkwasserversorgung ergriffen werden. Der zu erwartende Schaden besteht darin, dass die in einem Testbecken befindliche Fische eventuell durch toxische Stoffe im Flusswasser Schäden davon tragen könnten.

*2. Art und Anzahl der Tiere*

Hierfür werden jährlich ca. 300 Goldorfen verwendet.

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

Grundsätzlich wird festgehalten, dass diese Tierversuchsanordnung im Zuge einer ca. 9-monatigen Testphase durch eine Fachfirma evaluiert und optimiert wurde. Die Aktualität der in der Testphase ermittelten Parameterwerte wird durch diese Firma in unregelmäßigen Zeitabständen (ca. jährlich) überprüft und gegebenenfalls angepasst.

Das Projekt unterliegt keiner rückblickenden Bewertung.

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

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

Das Ewing Sarkom in seiner metastasierten und rezidierten Form ist ein kindlicher Hochrisiko-Tumor mit seit 20 Jahren unverändert schlechter Prognose. Die Verabreichung von T-Zellen, welche mit Tumor-spezifischen chimären Antigenrezeptoren (CARs) ausgestattet sind, ist eine der vielversprechendsten Formen der Immuntherapie und stellt für kindliche Hochrisiko-Tumore eine äußerst attraktive neue komplementäre Therapiemöglichkeit dar. Wir haben daher eine solche CAR-basierte Strategie zur Behandlung kindlicher Hochrisiko-Tumore *in vitro* entwickelt und wollen nun – als unabdingbare Voraussetzung zur Durchführung einer klinischen Studie - diese Strategie in einem state-of-the-art Mausmodell auf Wirksamkeit testen und weiterentwickeln. Bei eindeutigem Nachweis eines Anti-Tumor-Effekts *in vivo* ist eine unmittelbare klinische Anwendung geplant. Dabei will man Patienten mit minimaler Resterkrankung nach Chemotherapie behandeln und bevorzugt T-Zellen mit nur vorübergehender Expression des chNKG2D einsetzen.

Der für die klinische Umsetzung erforderliche präklinische Wirkungsnachweis von zellulären Immuntherapien erfordert nach wie vor die Testung im Mausmodell. Aussagekräftige und anerkannte alternative experimentelle Strategien existieren nicht.

Bei den vorgesehenen Eingriffen kommt es nur zu geringen Belastungen, durch wiederholte Messungen und möglicherweise durch das Tumorstadium bzw. durch xeno-spezifische GVHD kommt es in einigen Versuchsgruppen zu mittleren Belastungen. Eine schwere Belastung wird, obwohl es sich um ein metastasierendes Tumormodell handelt, durch die genau definierten Abbruchkriterien, sowie durch Monitoring des Tumorstadiums mittels *in vivo* Imaging verhindert. Das bedeutet, wir werden bereits vor Auftreten von manifesten funktionellen Störungen durch das Tumorstadium die Versuche beenden und die Tiere durch Genickbruch töten. Ebenso im Fall von bereits gering ausgeprägter GVHD, da dies die Ergebnisse verfälschen würde und somit ein Ausschlußgrund ist.

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

Insgesamt sind für unser Projekt 764 NOD/SCID/IL2 $\gamma$ C $\alpha$ Null-Mäuse beantragt. Diese Zahl beinhaltet bereits die Mäuse, welche den zu erwartenden Ausfall kompensieren sollen, und kann sich reduzieren, falls im Zuge der Etablierung weniger Wiederholungen der Vorexperimente nötig sein sollten.

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

Bei der Planung der Experimente legten wir größten Wert darauf, die Anzahl der Versuchsgruppen so klein wie möglich zu halten. Außerdem erlaubt uns die Verwendung des hochsensitiven Biolumineszenz-Imagings das Tumorstadium in der lebenden Maus bereits sehr früh und exakt zu verfolgen und so die Belastungen der Tiere sowie Versuchswiederholungen zu vermeiden. Mit dieser Meßmethode können wir bei einem bestimmten Biolumineszenz-Schwellenwert bereits vor Auftreten von manifesten funktionellen Störungen den Versuch beenden und zusätzlich durch die hohe Meßgenauigkeit die Gruppengröße reduzieren. Eine optimale Planung und Durchführung der Versuche ist gewährleistet durch die Unterstützung unserer lokalen und internationalen Kooperationspartner in Deutschland und den USA, welche extensive Erfahrung mit adoptivem T-Zell-Transfer sowie der Behandlung mit dem Chemotherapeutikum Treosulfan in immundefizienten Mäusen besitzen.

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

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

Der drastische Anstieg an Neuerkrankungen in den letzten Jahrzehnten macht Allergien zu einem immer dringlicher werdenden Problem der heutigen Zeit. Deshalb sind neue, weiterführende Strategien in der Behandlung notwendig.

Im Zuge der allergischen Sensibilisierung müssen Allergene, wie z.B. das Birkenpollenallergen Bet v 1, über das Lungenepithel transportiert werden, um mit den Zellen des Immunsystems wechselwirken zu können. In unseren Studien konnten reproduzierbar verschiedenste Bakterienspezies auf frischen Birkenpollen identifiziert werden, die einen bedeutsamen Einfluss auf den transepithelialen Transport von Bet v 1 ausüben. Am Beispiel des Umweltkeims *Bacillus cereus* (*B. cereus*) wurde in *in vitro* Experimenten gezeigt, dass *B. cereus* den Transport von Bet v 1 über einen epithelialen Monolayer signifikant förderte, während andere Bakterienstämme (z.B. *Bacillus megaterium*) keinen Effekt auf die epitheliale Schutzbarriere ausübten.

Ziel des vorgelegten Projektes ist zu testen, ob die identifizierten Bakterienspezies *in vivo* die allergische Reaktion auf das Birkenpollenallergen Bet v 1 oder das Grasspollenallergen Phl p 5 verstärken können. Nachdem bereits die medizinische Relevanz der gastrointestinalen Mikrobiota in den letzten Jahren in den Vordergrund getreten ist, könnte die Beeinflussung der nasalen Mikrobiota ebenfalls eine neue potentiell unterstützende Strategie in der Behandlung von (Pollen)Allergien eröffnen. Dadurch könnte eine Verbesserung zukünftiger Therapeutika erzielt werden, die sich anschließend in einer Reduktion der Zahl und der Dauer der Behandlungen von Pollenallergien äußern würde. Geplant ist daher ein erstes Experiment in etablierten Mausmodellen, in dem die Versuchstiere zunächst mit Bet v 1 oder Phl p 5 und einer steigenden Dosis an *Bacillus cereus* oder *Bacillus megaterium* als Kontrolle nasal behandelt werden. Die Infektiosität von *Bacillus cereus* ist als gering einzustufen und *B. cereus*-induzierte Pneumonien sind ausschließlich in Einzelfällen in stark immunsupprimierten Patienten beschrieben worden. Es ist daher nur mit einer geringen Belastung der Versuchstiere bei möglichst hohem Wissenszuwachs zu gewährleisten. Die verwendeten Methoden fallen daher ausschließlich in die geringste Schweregradkategorie. Die erforderliche Zahl und Gruppengröße der benötigten Versuchstiere, um statistisch signifikante Ergebnisse zu erzielen, wurde auf Basis bereits veröffentlichter Studien mit vergleichbaren experimentellen Ansätzen unter Zuhilfenahme eines Statistikprogrammes zur Gruppenzahlberechnung ermittelt. Während im ursprünglichen Projekt eine Versuchstieranzahl von 70 Tieren geplant war und nur auf Bet v 1 getestet werden sollte, hat sich in einem ersten Pilotversuch gezeigt, dass die Verwendung eines weiteren Allergens (Phl p 5) sowie weiterer Kontrollgruppen erforderlich sind. Dadurch resultiert in der neuen Versuchsplanung eine Gesamtzahl von 135 Versuchstieren. Dabei handelt es sich ausschließlich um Mäuse vom Stamm BALB/c. Um die Zahl der Versuchstiere möglichst gering zu halten, wurden sämtliche Vorexperimente mit Hilfe von Zellkulturtechniken ausführlich getestet. Daher werden die *in vivo* Experimente nur mit dem ausgewählten Bakterienstamm *B. cereus* durchgeführt, der sich zuvor *in vitro* als besonders effizient sowohl bezüglich seiner Beeinflussung der epithelialen Schutzbarriere und des verstärkten Transports von Bet v 1 über das Epithel gezeigt hat.

Die aus dem vorgelegten Projekt zu erwartenden Ergebnisse können einerseits helfen, den möglichen Einfluss von Umweltbakterien auf die Ausprägung von Allergien zu zeigen und somit besser zu verstehen. Ebenfalls könnte in fortlaufenden Projekten die Beeinflussung der nasalen Mikrobiota auf Pollenallergien getestet werden, indem die nasale Mikrobiota von Allergikern und Nichtallergikern analysiert wird beziehungsweise probiotische Bakterienstämme zur unterstützenden Therapie von Pollenallergien eingesetzt werden.

Zusammenfassend kann erwartet werden, dass die im Rahmen des vorgelegten Projektes gewonnen Erkenntnisse zur Entwicklung neuer effizienter Therapeutika gegen allergische Erkrankungen beitragen können. Das würde zu einer Reduktion der in den letzten Jahren enorm gestiegenen Kosten, die unser Gesundheitssystem zur Linderung der Symptome von Allergien ausgeben muss, führen.

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

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

Um die tumorsuppressive Wirkung eines Transkriptionsfaktors bei aggressiven Lymphomen (=Lymphdrüsenkrebs) zu untersuchen, werden transgene Mäuse welche im Schnitt nach 12-16 Wochen aggressive Lymphome entwickeln mit der Knockoutmaus des zu untersuchenden Transkriptionsfaktors gekreuzt und phenotypisch charakterisiert.

Zu erwartender Nutzen: der Versuch dient der in vivo Charakterisierung eines bis dato unbekanntes Tumor-Suppressorgens das in weiterer Folge ggf. auch als neues molekulares „target“ therapeutisch verwendet werden kann. Die Versuchsanordnung wird unter Bedachtnahme des größtmöglichen Schutzes der Labortiere durchgeführt.

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

Hierfür werden insgesamt 860 transgene Mäuse (C57Bl/6) verwendet.

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

Im Rahme des Projektes werden vermehrt in vitro Ansätze verwendet, die dann auch ergänzend zu den in vivo Experimenten eingesetzt werden können. Die benötigte Tierzahl wurde so gering wie möglich kalkuliert, wobei eine weitere Verminderung durch begleitende statistische Analysen angestrebt wird. Eine analgetische Behandlung der Tiere erfolgt obligat, um die Belastung der Tiere maximal herabzusetzen.

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

Angaben über die Projektziele, einschließlich des zu erwartenden Schadens und Nutzens  
Der vorliegende Antrag betrifft die Erhaltungszucht und Zielzucht für in Beantragung befindliche Tierversuche von transgenen Mausstämmen.

Das beantragte Projekt wird die kardioprotektiven Effekte einer kurzfristigen und langfristigen Gabe von Spermidin untersuchen und die damit verknüpften Mechanismen des strukturellen und funktionellen Remodelings und der Herzfunktion während des Alterns aufdecken. Die Projektdauer beträgt 5 Jahre.

Das beantragte Projekt befürwortet das innovative Konzept einer Polyamin-reichen Ernährung (z.B. durch Nahrungsergänzung bzw. durch natürliche Lebensmittel mit hohem Spermidin-Gehalt). Dadurch könnte die alterungsbedingte kardiovaskuläre Dysfunktion verhindert bzw. die Manifestation einer Herzinsuffizienz im Alter zumindest hinauszögert werden.

### Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere

Für die Zielzucht werden insgesamt max. 7000 Mäuse gezüchtet, von denen nur ein geringer Anteil in die Versuche einfließt. Eine Erhaltungszucht wird mit einer kleinen Anzahl von Mäusen weitergeführt (2750 Mäuse, 5 Jahre). Die ursprüngliche Tierzahl des genehmigten Antrages beträgt insgesamt 5000 Mäuse für die Zielzucht und 2000 Mäuse für die Erhaltungszucht. Effekte von Spermidin auf das altersbedingte strukturelle und funktionelle myokardiale Remodeling werden in C57Bl/6J, kardiospezifischen AtgS-defizienten Mäusen und Mäusen mit einer kardiospezifischen Igfl Rezeptor Überexpression (Männchen) untersucht.

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

Vermeidung: Sowohl Alterungsprozesse als auch Herzinsuffizienz treten nur in vivo auf. Ein in vitro Modell für die dabei stattfindenden chronischen Veränderungen existiert nicht. Mäuse stellen das kleinstmögliche Säugetier dar, welches eine eingehende Untersuchung in vivo erlaubt. Daher ist für die Projektarbeit der Tierversuch unverzichtbar und er kann nicht ersetzt werden.

Verminderung: In den Experimenten, in denen die Funktion des AtgS und PI3-Kinase Proteins im Myokard unter physiologischen Bedingungen und nach Spermidingabe untersucht wird, wird auf eine möglichst geringe Belastung der Versuchstiere geachtet. Außerdem wird berücksichtigt, die Projektversuche nur mit jener minimalen Anzahl an Mäusen durchzuführen, die statistisch notwendig ist, um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten. Gleichzeitig werden mit State-of-the-Art Methoden (z. B. Ultraschall, Hämodynamik, Metabolomik, Proteomics) in allen Versuchen mehrere Parameter bestimmt, um zusätzliche Versuche zu vermeiden und das vorhandene biologische Material für analytische Zwecke optimal zu nutzen. Dies wird durch die genaue Planung des Versuchsablaufs und das optimale Ausnutzen aller Ressourcen erreicht. Die Zucht der Tiere wird so klein wie möglich gehalten, da die Überschaubarkeit der Zucht eine bessere Kontrolle und Pflege der Tiere ermöglicht.

Verfeinerung: Die Tiere werden von ausgebildeten Tierpflegern versorgt und in regelmäßigen Abständen tierärztlich überprüft. Um das Wohlbefinden der Tiere zu gewährleisten, werden ihnen Nestmaterial und Tunnels zur Verfügung gestellt.

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

### Angaben über die Projektziele, einschließlich des zu erwartenden Schadens und Nutzens

Eine Stimulierung des Immunsystems bei viralen und bakteriellen Infektionen löst ein Krankheitsgefühl aus, das mit Fieber, Abgeschlagenheit, Erschöpfung und dem Drang, sich zurückzuziehen, einhergeht. Diese Verhaltensänderungen werden von Immunbotenstoffen (Zytokinen) vermittelt, die vom Immunsystem als Reaktion auf die Infektionserreger gebildet werden. Es gibt aber auch vermehrt Hinweise dafür, dass eine Aktivierung des Immunsystems zu psychischen Störungen wie Angsterkrankungen und Depression führen kann. Der Zusammenhang zwischen Immunsystem und Gehirn erhält eine neue Dimension, wenn bedacht wird, dass im Magen-Darm-Trakt an die 100 Billionen Mikroben leben, die ständig Substanzen (Metaboliten) in das Blut abgeben, die auf das Immunsystem einwirken. Da eine Änderung in der Zusammensetzung des Darm-Mikrobioms (der Gesamtheit aller Darmmikroben) ebenfalls zu Änderungen der Gehirnfunktion führen kann, untersucht das vorliegende Projekt, welche Metaboliten von Darmmikroben das Verhalten und die Gehirnfunktion von Mäusen beeinflussen können und über welche Mechanismen diese Wirkungen zustande kommen.

In weiteren Experimenten wird der Frage nachgegangen, welche Auswirkungen eine durch Antibiotikabehandlung, fettreiche Ernährung oder Insulinresistenz hervorgerufene Störung des Darm-Mikrobioms ("Dysbiose") auf emotionale und kognitive Prozesse hat. Dem Einfluss des Darm-Mikrobioms und Immunsystems auf Gehirnfunktionen wird große medizinische Bedeutung bei der Erklärung psychischer Störungen zugemessen. Obwohl verschiedene Erkrankungen mit einer Änderung in der Zusammensetzung des Darm-Mikrobioms einhergehen, steht der Nachweis eines ursächlichen Zusammenhangs in vielen Fällen noch aus. Die beantragten Tierversuche zielen deshalb darauf ab, einen kausalen Zusammenhang zwischen mikrobiellen Faktoren und Änderungen der Gehirnfunktion nachzuweisen. In weiterer Folge wird angestrebt, neue Angriffspunkte mit therapeutischem Potential zu identifizieren, wobei insbesondere neue Probiotika untersucht werden, die gezielt krankheitsbedingte Defizite im Darm-Mikrobiom auszugleichen versuchen.

### Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere

Für den Tierversuch wurden ursprünglich 2311 genehmigt. Durch eine Änderung und Ergänzung des Versuchsplans erhöht sich die Zahl der benötigten Tiere um 170 Mäuse auf insgesamt 2481 Mäuse.

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

Bei der Thematik der beantragten Tierversuche geht es um die Erforschung des Zusammenhangs zwischen Darmmikroben, Magen-Darm-Trakt, Immunsystem und Gehirn und um die Frage, wie Signale der Darmmikroben und des Immunsystems auf das Gehirn einwirken und zu Störungen der Gehirnfunktion führen können. Die Wechselwirkung zwischen diesen komplexen Systemen kann nur im Tierversuch erforscht werden, weil ja geprüft werden muss, wie sich Änderungen in der Peripherie auf das vom Gehirn gesteuerte Verhalten auswirkt.

In diesen für den medizinischen Fortschritt sehr wichtigen Untersuchungen wird jedoch immer auf eine möglichst geringe Belastung der Versuchstiere geachtet. Außerdem wird großer Wert darauf gelegt, die Projektversuche nur mit jener minimalen Anzahl an Mäusen durchzuführen, die statistisch notwendig ist, um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten.

Gleichzeitig werden in allen Versuchen mehrere Parameter (Verhaltensparameter, biochemische und funktionelle Parameter) bestimmt, um zusätzliche Versuche zu vermeiden und das vorhandene biologische Material optimal zu nutzen. Dies wird durch die genaue Planung des Versuchsablaufs und das optimale Ausnutzen aller Ressourcen erreicht.

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

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

Dieses Projekt ist eine ergänzende Untersuchung eines bereits bewilligten Projektes, in welchem wir untersuchten warum ein körpereigener Stoff, welcher bei der Auflösung roter Blutkörperchen im Rahmen einer Entzündung frei wird, die Abwehrreaktion des Erkrankten negativ beeinflusst. Dieses Projekt war sehr erfolgreich und wir verstehen nun, warum diese körpereigenen Stoffe dazu führen, dass bestimmte Erreger weniger gut bekämpft werden können. Um diese Erkenntnis auch durch eine verbesserte Therapie angehen zu können, sind weiterführende Untersuchungen notwendig, wobei wir bereits mittels Laborversuchen Substanzen identifizieren konnten, die den negativen Effekt der körpereigenen Stoffe verhindern kann. Dies und die mögliche therapeutische Wirksamkeit soll nun in diesem neuen Projekt bestätigt werden.

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

496 Mäuse, **zusätzlich 106 Mäuse.**

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

Zur Vermeidung der Tierversuche wurden soweit möglich Versuche mit Zellkulturen durchgeführt, diese 'in vitro' Ergebnisse sind die Basis für alle weiterführenden Versuche. Die Infektionsstudien werden derart verfeinert und durchgeführt, dass Leiden durch folgende Maßnahmen vermindert wird: 1. Werden sämtliche Eingriffe unter Narkose durchgeführt; 2. Werden die Infektionen derart geplant, dass Krankheitssymptome so weit als möglich vermieden werden; 3. Wird zur Verminderung der Tierzahl bei sämtlichen Versuchen auf streng standardisierte Versuchsbedingungen Wert gelegt; 4. Werden Überlebensexperimente nur durchgeführt, wenn die vorherige Analyse der ohne maßgebliche Schmerzen oder Leiden verursachenden Versuche mit einer an Sicherheit grenzenden Wahrscheinlichkeit zu einem Überlebensunterschied führen. Wenn dies nicht gegeben ist, werden keine Überlebensversuche durchgeführt.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 28. Februar 2017 vorgesehen.

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

Ad 1: Das Fettgewebe spielt eine entscheidende Rolle bei der Regulation des Energiehaushalts eines Organismus und es ist die größte Energiereserve, welche z.B. im Krankheitsfall mobilisiert werden muss. Ein gestörter Fettzellstoffwechsel hat allerdings einen negativen Einfluss sowohl auf die Homöostase des Fettgewebes als auch auf den ganzen Organismus. Dies wird durch die metabolischen Konsequenzen deutlich, die bei Fettmangel (Lipodystrophie), Fettüberschuss (Adipositas), als auch aberranter Fettverteilung (abdominelle Adipositas) auftreten. Die hieraus resultierende Fehlfunktion des Fettgewebes zieht eine Verfettung anderer Organe nach sich und trägt damit zur Entstehung von Typ 2 Diabetes Mellitus und Organschäden bei. Die Homöostase und die Mobilisierung des Fettspeichers sind abhängig von der Nahrungsaufnahme und deren Verwertung und werden stark von endokrinen Signalen, wie der Kortikosteroid- und Wachstumshormonvermittelten Signaltransduktion, reguliert. Bislang sind die Mechanismen der Signalübertragung unklar, die letztendlich zu der Entstehung von oben genannten Stoffwechselerkrankungen führen. Die bisher durchgeführten Experimente haben gezeigt, dass eine ektope Umverteilung der Fette und eine hieraus resultierende Organverfettung in den Versuchstieren vermindert sind. Zudem konnte gezeigt werden, dass die genetisch modifizierten Mausmodelle eine höhere Insulinsensitivität besitzen als Wildtypmäuse und sich damit in einem metabolisch vorteilhafteren Zustand befinden. Für die weitere Charakterisierung der molekularen und zellulären Mechanismen der Kortikosteroid- und Wachstumshormonvermittelten Signaltransduktion in Fettgeweben werden Mäuse unterschiedlichen Genotyps in metabolischen Studien eingesetzt.

Ad 2: 760 (Originalantrag) +120 (Erweiterung) Mäuse unterschiedlichen Genotyps zusätzlich.

Ad 3: Für diese Fragestellung existieren keine alternativen Ersatzmethoden. Nur im Gesamtorganismus bestehen die komplexen zellulären und molekularen Signal-Netzwerke, die die Homöostase von Fettgeweben sowie den Energiestoffwechsel positiv bzw. negativ beeinflussen. Wo möglich, verwenden wir Zell-Kultursysteme, um die Effekte der untersuchten Moleküle auf zellulärer Ebene zu validieren. Hierbei kommen ex vivo kultivierte Primärzellen bzw. Experimente mit Explantaten von Fettgeweben oder in vitro Kulturen stabiler Zelllinien (z.B. 3T3-1 J Adipozytenzelllinie) zum Einsatz.