

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

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

Ziel der Untersuchung ist es, einen Bolus zu entwickeln, der Rinder langfristig mit Spurenelementen versorgt. Dadurch soll es möglich sein, im Rahmen der tierärztlichen Präventionsarbeit gezielter zur Erhaltung der Gesundheit und des Wohlbefindens von Rindern beizutragen.

Zu erwartender Schaden: Die Maßnahmen an den Tieren (Blutentnahme an der *V.jugularis*, Entnahme und Eingabe eines Bolus) werden von ausgebildetem Personal (Veterinär) durchgeführt und sind mit einer geringen Belastung verbunden.

zu erwartender Nutzen: Durch die Eingabe eines Langzeit-Spurenelement-Bolus soll das Niveau an Spurenelementen im Blut über einen längeren Zeitraum (90 Tage) konstant gehalten werden. Dadurch kann Mangelerscheinungen wirksam vorgebeugt werden.

2. Art und Anzahl der Tiere

2 adulte Rinder

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

Vermeidung: Untersuchungen im Rahmen von klinisch-angewandten Studien müssen an der Zieltierart erfolgen, ein Ersatz steht nicht zur Verfügung. Es sind dahingehend auch keine entsprechenden Modelle verfügbar. Eine Vermeidung ist demnach nicht möglich. Der Versuch muss an der Zieltierart durchgeführt werden.

Verminderung: Die Untersuchung wird an der kleinstmöglichen Anzahl an Versuchstieren durchgeführt.

Verfeinerung: Die Kühe sind bereits mit Pansenfisteln versehen. Sie verbleiben im Haltungsbetrieb und damit in gewohnter Umgebung und werden am Tag der Studie vor der ersten Probenahme (t0) klinisch untersucht. Nicht gesund erscheinende Tiere werden von der Studie ausgeschlossen. Es werden nur gering belastende Routinemaßnahmen durchgeführt. Sollten bei einem Tiere klinisch sichtbare Veränderungen bzw. Beeinträchtigung auftreten, wird der Versuch entweder adaptiert oder sofort gestoppt. Die zur Anwendung gelangende Methode hat keine Auswirkungen auf das weitere Leben der Tiere.

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

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

Mykotoxine, sekundäre Metabolite von Schimmelpilzen, können bei Mensch und Tier toxische Effekte hervorrufen. Zearalenon (ZEN), eines der bedeutendsten Mykotoxine, kann in Schweinen sowohl Reproduktions-, als auch Fertilitätsstörungen verursachen. ZEN ist nämlich imstande eine östrogene Wirkung zu entfalten, welche sich klinisch als Hyperöstrogenismus äußert. ZEN konkurriert dabei mit dem natürlich produzierten Hormon 17- β -Östradiol um die Bindungsstellen (Östradiol – Rezeptoren) in verschiedenen Organen im Körper von sowohl männlichen als auch weiblichen Tieren. Jüngste Untersuchungen zeigten, dass bereits 36% des weltweiten Futters und Mischfutters mit ZEN kontaminiert sind, in Asien bereits bis zu 60%. Das Toxin ist hitzestabil und kann folglich nicht während des Futterherstellungs- oder Bearbeitungsprozesses eliminiert werden. Aus diesem Grund ist es notwendig die Wirkungsweise des ZEN im Tier zu blockieren und die Belastung dadurch für das Tier zu reduzieren.

zu erwartender Nutzen: Ziel dieses Projektes ist es potentielle Biomarker für die Effekte von ZEN (hauptsächlich östrogene Effekte) zu finden. Im Gegensatz zu anderen Mykotoxinen gibt es bis dato keine zuverlässigen und exakten Biomarker für ZEN. Es werden sowohl invasive als auch nichtinvasive Methoden getestet, sowie auch drei verschiedene ansteigende Konzentrationen von ZEN im Futter. Dies erlaubt dann eine Schlussfolgerung auf die Sensitivität und die Dosis-Wirkungs-Effekt der Biomarker. Ein weiteres Ziel ist es, die östrogenen Effekte von HZEN und DHZEN mit denen von ZEN zu vergleichen. HZEN und DHZEN entstehen durch Umformung von ZEN durch enzymatische Behandlung und könnten im Rahmen der Fütterung von Futtermittelzusatzstoffen zur ZEN Entgiftung im Tier gebildet werden.

zu erwartender Schaden: Es werden sechs weibliche Absetzferkel pro Gruppe (insgesamt sechs Gruppen somit insgesamt 36 Tiere) für den Versuch verwendet. Den Tieren wird während der 28 tägigen Projektphase wöchentlich Blut abgenommen, sowie Urin und Kot auf Metaboliten untersucht. Am Ende des Projektes werden die Ferkel euthanasiert und die Reproduktionsorgane für weitere auch histologische Untersuchungen entnommen.

2. Art und Anzahl der Tiere

36 Ferkel

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

Replacement: Da die Abklärung des Metabolismus des Mykotoxins ZEN und seinen Metaboliten und der Nachweis von Biomarkern nur in einer *in vivo* Studie erfolgen kann, ist es nicht möglich auf eine Ersatz-, bzw. Ergänzungsmethode (*in vitro*, etc.) auszuweichen.

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

Refinement: Es wird während des Projektes großer Wert darauf gelegt, dass Stress und Schmerz der Ferkel so gering wie möglich gehalten werden. Alle Ferkel werden in Buchten mit 6 Ferkel pro Bucht gehalten. Alle Ferkel werden mit ständigem Zugang zu Futter und Wasser gehalten und täglich von geschultem Personen sorgfältig betreut und tierärztlich überwacht. Sollten die Tiere Anzeichen von Schmerzen zeigen oder in irgendeiner Weise beeinträchtigt sein, werden sie vom Versuch ausgeschlossen und tierärztlich betreut.

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

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

Neugeborene Babys können während der Geburt Schäden am Armnervengeflecht erleiden (Plexusparese). Manche dieser Patienten benötigen als Folge eine rasche chirurgische Wiederherstellung, damit die Muskelfunktionen während der kindlichen Entwicklung richtig erlernt werden können. Bei der chirurgischen Wiederherstellung werden Nerven neu verschaltet, ähnlich dem Prinzip der "selektiven Nerventransfers", um die körpereigene Regeneration zu ermöglichen. In dieser Studie untersuchen wir die Langzeiteffekte auf die Nerv-Muskel-Interaktion zur Optimierung dieser Therapieoption. Zur Untersuchung dieser Effekte wird in neugeborenen Ratten ein "selektiver Nerventransfer" unternommen und die Langzeiteffekte auf den Muskel untersucht.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere werden in Narkose operiert und weisen danach Defizite in der Ellbogenbeugung auf.

2. Art und Anzahl der Tiere

67 Ratten werden verwendet, die speziell an ihren peripheren Nerven fluoreszierende Proteine entwickeln, welche mit Fluoreszenzlampen nachgewiesen werden können.

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

Die Untersuchung der motorischen Einheit, ist aufgrund ihrer Komplexität nur im lebenden Organismus möglich. Für die Evaluation der einzelnen Levels der motorischen Einheit, müssen Untersuchungen in mehreren Gruppen mit verschiedenen Techniken angewandt werden. Um die spinalen Effekte dieser Nerventransfers exakt untersuchen zu können, sind spezifische Nervenfärbungen erforderlich. Diese können nur am lebenden Organismus durchgeführt werden, da die Farbstoffe durch aktive Stoffwechselprozesse entlang der Nervenenden/-stümpfen zum Rückenmark transportiert werden müssen.

Vermeidung: Die einzelnen Gruppen wurden auf die minimal erforderliche Tieranzahl reduziert, bei gleichzeitig akzeptabler Standard-Abweichung {Power-Analysis}.

Verminderung: Standardisierte Tierhaltung und Versuchsbedingungen sollen die Streuung minimalisieren. Die operativen Eingriffe werden durch einen erfahrenen Operateur durchgeführt und erfolgen unter Vollnarkose mit postoperativer Analgesie. Die Tiere werden engmaschig auf Zeichen von Stress, Schmerz und Wundinfektion kontrolliert, um Krankheitszeichen, Schmerzen und jegliche Verschlechterungen des Allgemeinzustandes der Tiere frühzeitig erkennen und ggf. behandeln zu können.

Verfeinerung: Sämtliche Prozeduren wurden im Vorfeld mit anerkannten Experten auf dem Feld der Neurowissenschaften evaluiert und verfeinert.

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

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

zu erwartender Nutzen: In der heutigen Zeit stellt die Alzheimer'sche Erkrankung (AD) die häufigste altersbedingte Demenz in den Industrieländern dar. Bei dieser Form der Neurodegeneration kommt es zu einem erheblichen Verlust an Hirngewebe und zu Veränderungen im Großhirn, die zu Gedächtnis- und Orientierungsverlust führen. Im Frühstadium ist die Erkrankung nicht erkennbar, so dass auch keine effektiven Möglichkeiten der Diagnose oder Therapie zur Verfügung stehen. Zu den klassischen histomorphologischen Merkmalen der Alzheimer'schen Erkrankung zählen extrazelluläre Aggregate, so genannte senile Plaques und Alzheimer-Fibrillen, die sich in der Großhirnrinde und im Hippokampus anhäufen. Während die neurofibrillären Bündel hauptsächlich aus dem Protein TAU bestehen, sind die Plaques zu einem Großteil aus Beta-Amyloid-Protein aufgebaut. Die Plaques enthalten degenerierte Axone und Dendriten und sind außerdem umgeben von aktivierter Mikroglia und Astrozyten, was auf einen entzündlichen Prozess während der Neurodegeneration hinweist. Die extrazellulären Amyloidablagerungen in Form diffuser oder distinkter seniler Plaques und die intrazellulären neurofibrillären Tangles (NFT) bei der Alzheimer'schen Erkrankung, sowie die anormale Aggregation des synaptischen Proteins α -Synuclein bei der Alzheimer'schen und auch bei der Parkinson'schen Krankheit, dürften eine zentrale Rolle in der Entstehung von Synapsenverlust und anschließendem neuronalem Zelltod spielen. Die hier Anwendung findende intrazerebroventrikuläre Injektion des A β 42 ist in der Literatur eine häufig verwendete Methode zur in vivo Induktion von AD typischen Pathologien.

zu erwartender Schaden: In dieser Studie sollen Sprague Dawley Ratten für 20 Tage oral mit einer Testsubstanz oder einer Positivkontrolle behandelt werden. 6 Tage nach Behandlungsstart werden die Tiere intrazerebroventrikulär mit A β 42 behandelt. Ab dem 11. Tag werden die Tiere im Morris Water Maze und ab dem 17. Tag im Passive Avoidance Test untersucht. Die Ratten werden am 20. Tag euthanasiert und Gehirne, Blut und CSF entnommen und biochemisch und histologisch untersucht.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie werden 108 männliche ca. 250g schwere Sprague Dawley Ratten verwendet.

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

Um die Alzheimererkrankung 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.

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

366 Millionen Menschen weltweit leiden an Diabetes mellitus, in Österreich sind es ca. 8% der Bevölkerung und die Zahl steigt stetig weiter. Diabetiker haben unter anderem einen beeinträchtigten Knochenstoffwechsel, was das Risiko von Knochenbrüchen steigert und die Knochenregeneration verschlechtert. Diese Situation führt im klinischen Alltag immer häufiger zu Problemen, was zur Erforschung und Entwicklung von knochen-anabolen Wirkstoffen geführt hat.

Viele knochenanabole Osteoporose-Therapien, die bei gesunden Patienten gute Erfolge erzielen konnten, konnten diese Wirkung bei Diabetikern nicht entfalten. Daher ist es wesentlich, die Wirkung einer Therapie auch im hyperglykämischen Zustand zu untersuchen.

Der Erfolg eines festsitzenden, implantat-getragenen Zahnersatzes hängt wesentlich von der Einheilung dentaler Implantate in den Kieferknochen ab. Diabetiker mit beeinträchtigtem Knochenstoffwechsel zeigen als Folge ihrer Erkrankung eine verschlechterte Einheilung von Implantaten.

Das körpereigene Glykoprotein Sklerostin verhindert die Bildung von Osteoblasten (knochenaufbauenden Zellen). Ein Antikörper gegen Sklerostin neutralisiert dessen Wirkung und führt dazu, dass mehr Knochen aufgebaut wird, also der Knochen an Masse und Stabilität zunimmt.

zu erwartender Nutzen: Es soll die Frage geklärt werden, ob Sklerostin-Antikörper auch die Implantateinheilung bei Diabetikern verbessern kann. Ziel ist es, die Knocheneinheilung von Minischrauben in einem diabetischen Rattenmodell mit und ohne Gabe eines Sklerostin-Antikörpers zu untersuchen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Es wird darauf geachtet, durch gewohnte Umgebung und fürsorgliche Pflege den Stress der Tiere so gering wie möglich zu halten. Die Diabetes-Induktion sowie die Insertion der Minischrauben erfolgt unter Vollnarkose mit postoperativer Schmerzbehandlung. Insgesamt stellt der Versuch eine mittlere Belastung für die Tiere dar. Die Tiere werden nach 21 Tagen schmerzlos eingeschlüfert und die Proben für weitergehende Untersuchungen entnommen.

2. Art und Anzahl der Tiere

48 Sprague Dawley –Ratten

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

Sklerostin-Antikörper hat bereits viele in vitro-Studien durchlaufen und steht kurz vor der Zulassung in der Osteoporose-Therapie. Der Effekt von Sklerostin-Antikörper unter diabetischen Bedingungen kann nicht in Zell- oder Gewebekulturen untersucht werden. Daher bedarf es einer in vivo-Studie um die Wirkung dieser vielversprechenden Therapie unter solchen Bedingungen zu verifizieren. Die Anzahl der Tiere wurde unter Berücksichtigung der statistischen Versuchsplanung so gering wie möglich gehalten um dennoch aussagekräftige Werte zu erhalten. Durch Standardisierung der Versuchsanordnung kommt es zu einer geringeren Streuung und Verminderung der Anzahl an Versuchstieren. Auf gute Pflege und Behandlung wird geachtet. Die Operationen erfolgen in Vollnarkose mit anschließender Schmerzbekämpfung. Die Implantation der Minischrauben wurde in dieser Form bereits in mehreren Studien durchgeführt und ist somit nicht nur ein sicheres, erprobtes Vorgehen, sondern auch eine optimierte Methode im Sinne der Verfeinerung.

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

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

Eine gute Darmgesundheit ist wichtig für ein gesundes Wachstum von jungen Hühnchen, welche durch die Darmmikrobiota maßgeblich bestimmt wird. Die Besiedlung des Darmtrakts mit Mikroben nach dem Schlupf des Küken hat einen Einfluss auf die mikrobielle Gemeinschaft im Darm. Zum anderen können Unterschiede in der Futterraufnahme zu Unterschieden in der Darmmikrobiota und –funktion führen. Daher sind die Ziele dieses Projektes, den Einfluss der Futterraufnahme auf die mikrobielle Besiedlung und Darmfunktion zu untersuchen. Das zweite Ziel dieses Projektes ist es, die Darmmikrobiota der Küken nach dem Schlupf zu beeinflussen. Dafür wird eine sogenannte „Konkurrenzausschlusskultur“ verwendet, die aus Bakterien, die im Darm vorkommen, besteht und wie ein Probiotikum funktioniert. Es wird angenommen, dass über diese Maßnahme die Darmmikrobiota und Darmfunktion moduliert werden können.

Der *zu erwartende Nutzen* sind Erkenntnisgewinne über die Wechselwirkungen zwischen der Darmmikrobiota und des Wirtstieres und wie diese Wechselwirkungen beeinflusst werden können, welches bei der Formulierung von Darmgesundheit-fördernden Futterrationen einfließen wird. Eine Optimierung der Wechselwirkungen zwischen Darmmikrobiota und Wirtstier hilft ebenfalls, den ökologischen Fußabdruck von Hühnchen zu verringern.

Die *zu erwartenden Schäden für die Tiere* sind als mittel einzustufen: Die Hühnchen werden bis zum 7. Lebenstag in Kleingruppen von 4 Küken gehalten. Ab dem 7. Lebenstag werden die Küken einzeln gehalten, ansonsten aber unter artgerechten und den TV-Gesetz 2012 entsprechenden Haltungsbedingungen (Lichtprogramm, Temperatur-, sowie Raumluftkontrolle) in umgebauten Flat-Decks gehalten. Die Hühnchen sind durch ein mit Weichplastik überzogenes Gitter getrennt, können aber durch das Gitter hindurch schnäbeln und aneinander kuscheln. Die Hühnchen erhalten freien Zugang zu Wasser. Die Futtermenge wird in einer Versuchsgruppe zur Bestimmung des Einflusses des Futterraufnahmeniveaus 90-95% der ad libitum Fütterung ab dem 7. Lebenstag entsprechen, während die Kontrollgruppe freien Zugang zum Futter hat. Um einen Einfluss der Futterraufnahme bei der Verabreichung der „Konkurrenzausschlusskultur“ zu vermeiden, werden die Hühnchen ab dem 7. Lebenstag 90-95% der ad libitum Fütterung gefüttert. Bis zum 7. Lebenstag haben alle Küken freien Zugang (*ad libitum*) zu Futter. Die Verabreichung der Konkurrenzausschlusskultur wird mithilfe einer kleinen Spritze durchgeführt und die Kultur wird auf das Zungenende getropft. Um Verletzungen der Tiere zu vermeiden, werden sie dafür kurzfristig fachgerecht vom Betreuungspersonal fixiert. Nach der Euthanasierung werden den Tieren verschiedene Proben (Blutproben, Organen, Kotproben) für die Analysen im Labor entnommen. Aufgrund der Einzelhaltung in umgebauten Flat-decks, durch die kurze Fixierung bei der Verabreichung der Konkurrenzausschlusskultur, sowie durch die 90-95% ad libitum Fütterung kommt den Tieren eine mittelgradige Belastung zu.

2. Art und Anzahl der Tiere

224 Mastküken

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

Vermeidung: Das Ziel des vorliegenden Projektvorschlags ist es, die Darmmikrobiota und Darmfunktion nach dem Schlupf der Küken zu beeinflussen. Der Ersatz durch eine versuchstierfreie Methode kann in diesem Fall keine Anwendung finden, da die zu untersuchenden Parameter, wie Futterraufnahme, Gewichtszunahme, Darmmikrobiota, Darmfunktion und –struktur, Genexpression der Leber/Pankreas, in alternativen Ansätzen (Zellkultur, künstliche Systeme) nicht zusammenhängend untersucht werden können. Da mehr Proben genommen und kryokonserviert werden, wird es können weitere Fragestellungen zu einem späteren Zeitpunkt untersucht werden. Statistische Verfahren wurden angewendet, um die minimale Tieranzahl zu bestimmen.

Verminderung: Die Anzahl der Tiere, die für diese Studien verwendet werden soll, wird durch eine sorgfältige Auswahl des Versuchsaufbaus und geeigneter statistischer Analysen, gering aber ausreichend gehalten. So wurde eine statistische Power-Test-Analyse durchgeführt, um die Tierzahl

zu bestimmen, die notwendig ist, um statistische „Power“ zu erhalten. Am Ende des Versuchs werden jeweils die Tiere mit den größten Unterschieden in Futteraufnahme und Wachstum innerhalb einer Versuchsgruppe ermittelt und beprobt. Ebenfalls werden durchschnittliche Tiere beprobt. Die Power-Analyse zeigte, dass ein Minimum von 100 Tieren benötigt wird, um ein Minimum von 8 Beobachtungen pro Gruppe zu ermitteln. Die Kryokonservierung von Proben ermöglicht es außerdem zu einem späteren Zeitpunkt weitere Fragestellungen im Projekt zu bearbeiten, ohne dass ein weiterer Tierversuch notwendig wird.

Verfeinerung: Der Versuch wird in einem generalsanierten und modernen Tierstall und mit neuester Stalltechnik durchgeführt. Das Pflegepersonal ist qualifiziert und die Betreuung und Überwachung der Tiere durch ausgebildete Tierärztinnen/Tierärzte gewährleistet. Durch die Verwendung von marktüblichen Küken mit bereits vorhandenen Erfahrungen aus früheren Fütterungsstudien wird Stress während der Aufzucht und Haltung vermieden. Verschiedene Maßnahmen werden durchgeführt, die dabei helfen sollen, den Masthühnern unnötiges Leid zu ersparen und den physiologischen Bedürfnissen der Tiere nachzukommen und ein Beitrag zum allgemeinen Wohlbefinden der Tiere geleistet werden. Die Hühnchen werden während des Versuchszeitraums in einem Versuchsraum mit ausreichender Belüftung und Beleuchtung gehalten. Ebenso findet eine Abschirmung von äußeren Lärmeinflüssen statt. Dies trägt zum allgemeinen Wohlbefinden der Tiere während des Versuches bei. Eine optimale Umgebungstemperatur für die Küken wird durch Wärmeplatten in den Käfigen gewährleistet und mehrmals täglich überprüft. Eine Reinigung der Käfige, Tränken und Futternäpfe wird täglich durchgeführt. Das handelsübliche Futter ist bedarfsgerecht formuliert und die Masthühner haben ständigen Zugang zu sauberem Trinkwasser. Eine Überwachung des Gesundheitszustandes der Tiere findet täglich durch das pflegende Personal sowie in regelmäßigen Abständen tierärztlich statt. Zur Gewinnung der Darmproben werden die Masthühner am Versuchsende fachgerecht euthanasiert.

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

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

Um feststellen zu können wie weit sich der Fortpflanzungserfolg weiblicher Feldhamster auf den Winterschlaf in der folgenden Saison auswirkt ist es nötig Temperaturdaten von Weibchen über den Winter aufzuzeichnen von denen Daten über Auftauchdatum und Gewicht, Alter, sowie Anzahl der Würfe, Wurfgrößen, Geburtsdaten der Würfe, Gewicht der Jungen beim Auftauchen aus dem Wurfbau und der Zustand des Weibchens nach Entwöhnung des letzten Wurfs vorliegen. Weiters können fakultative Winterschläfer, wie Feldhamster bei ausreichenden Nahrungsvorräten ihre Hibernationsphase reduzieren. Mittels gezieltem Angebot energiereicher Nahrung an ausgewählte weibliche Fokustiere vor Winterschlafbeginn soll festgestellt werden ob Torporphasen reduziert oder eventuell gar nicht auftreten. Die Winterschlafmuster dieser Weibchen werden mit denen von nicht zugefütterten Tieren verglichen.

zu erwartender Nutzen: Die Daten würden einen wichtigen Beitrag zum Verständnis einerseits der Zusammenhänge zwischen Fortpflanzung und Überwinterungsstrategien bei Feldhamstern aber auch die Bedeutung von Wintervorräten liefern. Diese Informationen sind für sinnvolle Schutzmaßnahmen von bedrohten Beständen sowie für Planung und Management von Wiederansiedlungsprogrammen sehr hilfreich. Gleichzeitig würde die grundlegende Frage beleuchtet ob die Hibernation bei fakultativen Winterschläfern eine "Notmaßnahme" ist, oder auch bei guter Nahrungsverfügbarkeit als genützt wird um Energie für die kommende Saison zu sparen und diese mit entsprechend besserer Kondition zu beginnen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die ausgewählten Fokustiere werden in den frühen Morgenstunden bei ihren Bauten mit Lebendfallen gefangen und anschließend in der abgedeckten Falle in die Tierarztpraxis transportiert (Fahrzeit ca. 15min). Unsere Erfahrung mit den Lebendfallen hat gezeigt, dass sich die Tiere darin ruhig verhalten. In der Tierarztpraxis werden die Hamster aus den Fallen in Fangsäcke entlassen. An der Spitze befindet sich eine Öffnung über die eine Narkosemaske gestülpt wird und eine Inhalationsnarkose (Isoflouran) kann eingeleitet werden. Die Narkose erwies sich bei allen bisherigen Versuchstieren als problemlos. Die Tiere waren wenige Minuten nach Entfernen der Maske wieder wach. Zur Gewährleistung einer ausreichenden Analgesie wird Metacam (0,2mg/kg Körpergewicht) präemptiv subkutan injiziert. Im Nackenbereich wird nach Desinfektion ein kleiner Hautschnitt (ca. 1,5cm) durchgeführt und der i-button (mit Elvax-Paraffin ummantelt und gassterilisiert) subkutan eingeschoben. Die Nackenhaut kann auch bei adulten Tieren weit angehoben werden, sodass keine Spannung im Implantationsbereich zu erwarten ist. Der Hautschnitt wird anschließend mit resorbierbarem Nahtmaterial verschlossen und mit Betaisodona-Spray desinfiziert. Der Eingriff dauert pro Tier etwa 10 Minuten. Die Hamster werden unmittelbar danach wieder ins Freiland gebracht und nach dem Ende der Narkosewirkung bei ihren Bauten freigelassen. Die Hamster werden bis etwa 2 Wochen nach dem Eingriff täglich beobachtet und nachkontrolliert. Die Baue der Hamster werden während ihrer Abwesenheit verschlossen um ein Eindringen von Artgenossen zu verhindern. Keiner der bisher implantierten Hamster zeigte Anzeichen von Entzündungen oder anderen gesundheitlichen Problemen, wie etwa Gewichtsverlust. Alle Tiere konnten spätestens eine Stunde nach dem Freilassen wieder beim Nahrung sammeln beobachtet werden.

Die Winterschlafbauten werden täglich kontrolliert um den Beginn des Winterschlafs und das Auftauchen der Tiere im nächsten Frühjahr möglichst genau feststellen zu können. Das Entfernen der i-buttons erfolgt mit derselben Operationstechnik wie die Implantation. Die i-buttons sind unter der Haut gut tastbar. Auch nach diesem Eingriff werden die Tiere wieder bei ihren Bauten freigelassen und ihr Gesundheitszustand regelmäßig kontrolliert. Sollte es wider Erwarten zu einer Gewichtsabnahme kommen, kann gezielt bei den individuellen Bauten zugefüttert werden. Allfällige medizinische Maßnahmen können entweder vor Ort oder in der Tierarztpraxis durchgeführt werden. Es ist kein nachhaltiger Schaden für die Tiere zu erwarten, frühere Untersuchungen zeigen keine Auswirkungen auf Überlebensraten, Körperzustand und Fortpflanzungserfolg in der folgenden Saison.

2. Art und Anzahl der Tiere

20 Feldhamster

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

Vermeidung: Untersuchungen von Glucocorticoidmetaboliten im Kot der Tiere haben gezeigt, dass durch die Fang-Wiederfang-Methode keine Stressbelastung festzustellen ist. Ein weiteres Indiz dafür ist die Tatsache, dass die Hamster über die gesamte Saison keinerlei Vermeidung der Fallen zeigen. Der geplante Eingriff dauert nur wenige Minuten und wird unter Narkose und zusätzlicher Analgesie durchgeführt. Um zusätzlichen Stress zu vermeiden werden die Tiere nach Abklingen der Narkosewirkung wieder bei ihren Bauten freigelassen. In früheren Studien zeigte kein Tier Anzeichen von Entzündungen oder anderen gesundheitlichen Problemen, wie etwa Gewichtsverlust. Alle Tiere konnten spätestens eine Stunde nach dem Freilassen wieder beim Nahrung sammeln beobachtet werden.

Verminderung: Der Versuch wird über zwei Saisonen geplant um die Zahl der Tiere so gering wie möglich zu halten. Bei hoher Wiederfangrate in der ersten Saison wird die Zahl in der zweiten Saison entsprechend verringert. Die Planung über zwei Saisonen erleichtert auch eine sehr sorgfältige Auswahl der Fokustiere, da bei einer geringeren Anzahl in der ersten Saison, die Stichprobe in der zweiten Saison ergänzt werden kann.

Verfeinerung: Die Hamster werden nach dem Eingriff täglich beobachtet und entsprechend nachkontrolliert. Die Baue der Fokustiere werden während ihrer Abwesenheit verschlossen um ein Eindringen von Artgenossen zu verhindern. Die Winterschlafbauten werden häufig kontrolliert um den Beginn des Winterschlafs und das Auftauchen der Tiere im nächsten Frühjahr möglichst genau feststellen zu können.

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

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

Osteoarthritis (OA) ist die weltweit häufigste Gelenkerkrankung und sowohl in der Veterinär- als auch in der Humanmedizin von großer Bedeutung. 5 -15% der Menschen im Alter von 35 -74 Jahren leiden an Kniegelenks-OA, wobei die Häufigkeit der Erkrankung mit dem Alter zunimmt. Durch eine steigende Lebenserwartung wird der OA in der Medizin eine noch größere Bedeutung zukommen. Zahlreiche bekannte Auslöser für OA, wie zum Beispiel genetische Disposition, starke Traumen oder serielle Mikrotraumen, induzierenden mechanische und chemische Faktoren, welche in die fein justierte Balance zwischen Knorpel- und -abbau eingreifen. Folglich kommt es zu Aufrauung, Fibrillation und Degeneration des betroffenen Knorpels bis hin zum Knorpelverlust. Die körpereigenen Regenerationsmechanismen sind limitiert und nicht in der Lage, neues Gewebe mit identischen morphologischen, biochemischen und mechanischen Eigenschaften von gesundem Knorpel wiederaufzubauen. Auch die derzeit verfügbare, medikamentöse Behandlung kann in den Pathomechanismus der Gelenksdestruktion nur geringfügig eingreifen und eine Progredienz der Erkrankung nicht aufhalten. Derzeit liegt das Hauptziel in der Schmerztherapie und einer Verbesserung der Lebensqualität, wobei die letzte therapeutische Möglichkeit das Implantieren künstlicher Hüft- und Kniegelenke darstellt, ein schwerwiegender Eingriff, der oft auf schlechte Patientenakzeptanz trifft. OA-initiiierende molekulare Faktoren sind bis dato noch weitgehend unbekannt, welche allerdings für eine Früherkennung von großer Bedeutung für Medizin und Wirtschaft sein könnten. Ein denkbarer Ansatz wäre, dass der kontinuierliche Abbau von Knorpelgewebe, verursacht durch den Abbau der extrazellulären Matrix und minimaler Regenerationsfähigkeit, die Freisetzung von fragmentierten Molekülen begünstigt, welche wiederum eine Entzündungsreaktion auslösen und ein Fortschreiten der OA begünstigen. Eines dieser Moleküle könnte Kollagen XXII sein, welches möglicherweise mehr und mehr von der Gelenksoberfläche während einer sich entwickelnden Osteoarthritis freigesetzt wird. Das Ziel dieses Tierversuchs ist die Phänotypisierung des Skelettsystems einer Kollagen XXII-defizienten Mauslinie und deren Einfluss auf die Entstehung einer OA.

zu erwartender Nutzen: Die Phänotypisierung dieser neu generierten Mauslinie könnte dazu beitragen, die Funktion des Kollagen XXII Proteins *in vivo* aufzuklären. Mit Hilfe dieser Kollagen XXII-defizienten Mauslinie könnten Erkenntnisse über die Entwicklung des Skelettsystems im Allgemeinen, aber auch speziell über die Entstehung und den Pathomechanismus von Osteoarthritis gewonnen werden. Diese Erkenntnisse könnten dazu beitragen, Entstehung und Verlauf einer OA beim Patienten in Zukunft in wesentlichem Ausmaß positiv zu beeinflussen.

zu erwartender Schaden: Alle bei der Zucht entstehenden Genotypvarianten sind aus aktueller Sicht phänotypisch und hinsichtlich Verhalten und Habitus in ihrer normalen Käfigumgebung nicht voneinander unterscheidbar, so dass alle Tiere genotypisiert werden müssen (derzeit mittels Gewebe aus Schwanzspitzenbiopsie). Größtenteils werden Tests nur an Gewebeproben von schmerzlos getöteten Mäusen vorgenommen. Bei den Tieren, an denen Tierversuche (maximal mittlerer Schweregrad) durchgeführt werden sollen, können wir durch unsere langjähriger Expertise, gut ausgebildetes Personal und die vorhandene optimale Infrastruktur die Belastung der Tiere so niedrig wie möglich halten.

2. Art und Anzahl der Tiere

In Rahmen dieses Tierversuchs sollen insgesamt 2000 Mäuse eines genetisch veränderten Stammes verwendet werden. Die hohe Tierzahl ergibt sich aus der Notwendigkeit (gemäß s.o.) alle produzierten Tiere mittels Schwanzspitzenbiopsie zu genotypisieren. Die Anzahl tatsächlich verwendeter Tiere wird deutlich niedriger sein.

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

Vermeidung: Um die exakte Funktion von Kollagen XXII im Skelettsystem zu analysieren, muss ein Kollagen XXII defizientes Tiermodell herangezogen werden, da nur so der Einfluss dieses Proteins auf die zu untersuchenden Gewebssysteme, aber auch auf den gesamten Organismus geklärt werden

kann. Da solche ganzheitlichen Erkenntnisse nicht mit *in vitro*-bzw. *ex vivo* Studien erzielt werden können, kann auf die Arbeit mit lebenden Tieren nicht verzichtet werden.

Verminderung: Um zunächst den möglichen Phänotyp dieser neu generierten Linie beschreiben zu können, müssen alle Genotypvarianten in einer (statistisch erforderlichen) Mindestzahl von Tieren pro Variante untersucht werden. Unsere Planung sieht vor, im Rahmen dieser Tierzahl, die nicht unterschritten werden kann, bereits möglichst umfassende Daten zu gewinnen, sodass die Tierproduktion so niedrig wie möglich gehalten werden kann.

Verfeinerung: Alle Tiere werden in Gruppen gehalten. Als Enrichment steht allen Mäusen Lagenzellstoff zum Nestbau zur Verfügung sowie zusätzliches Material (Papprollen, Klettermaterial aus Holz oder Kunststoffhäuschen), wo die Gruppenstruktur das sinnvoll erscheinen lässt. Alle Tiere im Versuch erhalten *prä-und post operationem* schmerzstillende Mittel und werden während des gesamten weiteren Versuchs im Hinblick auf das Vorliegen definierter Abbruchkriterien (Allgemeinbefinden, Gewichtsverlust, etc.) tiermedizinisch genau überwacht.

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

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

Feldhamster (*Cricetus cricetus*) zeigen in ihrem Jahreszyklus verglichen mit anderen Winterschläfern erstaunlich viele fakultative Aspekte. Dies betrifft einerseits die Fortpflanzung, die in Bezug auf Anzahl der Würfe und Nachkommen pro Jahr individuell sehr stark variiert. Aber auch in ihren Überwinterungsstrategien scheinen Feldhamster äußerst flexibel zu sein, allerdings ist bisher wenig darüber bekannt welche Faktoren für diese Unterschiede maßgeblich sind. Für die geplante Studie werden 24 weibliche, aus kontrollierter Zucht stammende, Feldhamster (12 Tiere pro Gruppe) verwendet. Den Tieren werden in geräumigen Käfigen mit künstlichen Bauten ausgestattet mit mehreren Kammern gehalten, die sich bei früheren Überwinterungen bereits bestens bewährt haben. Die Kammern sind durch ein Röhrensystem verbunden und verfügen über Dachkonstruktionen die leicht geöffnet werden können um Vorräte oder auch die Hamster selbst zu kontrollieren. Vor Beginn der Winterschlafphase werden einer Gruppe fettreiche Vorräte zum Einlagern in eine der Kammern angeboten, eine zweite Gruppe erhält Standardfutter als Vorräte. Alle Tiere hätten also genügend externe Reserven, um ohne den energiesparenden Winterschlaf auszukommen. Die Frage die in diesem Versuch beantwortet werden soll ist, ob unter diesen Umständen Winterschlaf vermieden wird, oder ob trotz der günstigen Vorratssituation eine Hibernationsphase gezeigt wird. Letzteres könnte den Tieren ermöglichen, aufgrund der geringeren energetischen Kosten während des Winters, die Vorräte im Frühjahr effizienter nutzen zu können. Zeigen die Tiere jedoch Winterschlaf, sollten fettreiche Vorräte einen früheren Beginn der Hibernationsphase ermöglichen, da es zu einem rascheren Aufbau von Körperfettdepots kommt.

zu erwartender Nutzen: Die Daten würden einen wichtigen Beitrag zum Verständnis der Bedeutung von Wintervorräten in Bezug auf Qualität und Quantität liefern. Diese Informationen sind für sinnvolle Schutzmaßnahmen von bedrohten Beständen sowie für Planung und Management von Wiederansiedlungsprogrammen sehr hilfreich. Gleichzeitig würde die grundlegende Frage beleuchtet ob die Hibernation bei fakultativen Winterschläfern eine "Notmaßnahme" ist, oder auch bei guter Nahrungsverfügbarkeit genutzt wird um Energie für die kommende Saison zu sparen und diese mit entsprechend besserer Kondition zu beginnen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Hamster werden in den Lebendfallen in die Tierarztpraxis transportiert (Fahrzeit ca. 20min). Frühere Erfahrungen haben gezeigt, dass sich die Tiere dabei völlig ruhig verhalten und sogar bereitgestellte Nahrung aufnehmen. Die Fallen werden mit Tüchern abgedeckt um eine dunkle Umgebung zu gewährleisten.

In der Tierarztpraxis werden die Hamster aus den Fallen in die bewährten Fangsäcke entlassen. An der Spitze befindet sich eine Atemöffnung über die eine Narkosemaske gestülpt wird und eine Inhalationsnarkose kann eingeleitet werden. Vor der Operation wird zusätzlich ein schmerzstillendes Medikament verabreicht. Ein sterilisierter Temperatur-Datalogger wird im Nackenbereich subkutan implantiert. Feldhamster zeigen keine sehr ausgeprägte Auffettungsphase, die Haut ist leicht verschieblich und bietet ausreichend Platz zum Einschieben des i-buttons. Jedes Tier wird mit einem Transponder im Lendenbereich markiert. Der Transponder wird mittels Lesegerät überprüft und anschließend mit dem entsprechenden Applikator subkutan injiziert. Der Eingriff dauert pro Tier etwa 10 Minuten. Die Hamster werden unmittelbar danach wieder in ihre Haltungskäfige gebracht und bleiben unter ständiger Kontrolle bis die Narkosewirkung nachgelassen hat. Während der gesamten Versuchsdauer werden die Tiere täglich beobachtet und der Nahrungsverbrauch registriert. Die Tiere werden erst in die Klimakammern transferiert wenn die Nahtstelle vollständig verheilt ist.

Es ist kein nachhaltiger Schaden für die Tiere zu erwarten. Keines der in diesem Versuch verwendeten Tiere wird für weitere Versuche verwendet oder getötet.

2. Art und Anzahl der Tiere

24 Feldhamster (*Cricetus cricetus*)

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

Vermeidung: Die gewählte Methode zur Körpertemperaturaufzeichnung ist die am wenigsten invasive, da die Implantation subkutan erfolgt. Der kurze Eingriff wird unter Narkose und Injektion eines Analgetikums durchgeführt. In früheren Studien zeigte kein Tier Anzeichen von Entzündungen oder anderen gesundheitlichen Problemen, wie etwa Gewichtsverlust.

Verminderung: Die Zahl der Tiere konnte von ursprünglich 30 auf 24 verringert werden, da nach Erfahrungen von früheren Untersuchungen keine gesundheitlichen Probleme zu erwarten sind. Selbst wenn vereinzelt Tiere aus gesundheitlichen Gründen aus dem Versuch genommen werden müssen, würde die Zahl pro Gruppe für eine statistische Auswertung ausreichen.

Verfeinerung: Nach dem Eingriff werden die Tiere täglich kontrolliert, was aufgrund der Konstruktion der Bauten möglich ist ohne die Tiere fangen zu müssen. Die Nahtstelle im Nacken ist gut sichtbar und wird bis zum vollständigen Abheilen täglich kontrolliert. Der Gesundheitszustand der Tiere wird laufend kontrolliert. Falls ein Tier gesundheitliche Probleme haben sollte, wird es aus dem Versuch genommen, bei 20°C gehalten und entsprechend medizinisch versorgt.

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

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

Osteoporose zählt heutzutage bereits zu den so genannten Volkskrankheiten. Die Weltgesundheitsorganisation führt Osteoporose unter den zehn häufigsten Erkrankungen weltweit. Durch die prognostizierten demographischen Veränderungen -der Anteil der über 60-Jährigen an der Gesamtbevölkerung der Europäischen Union wird sich bis 2050 verdoppeln, der Anteil der über 80-Jährigen etwa verdreifachen, wird Osteoporose eine der wesentlichsten Herausforderungen für die Gesundheitssysteme der Europäischen Union werden. Osteoporose wird durch den zunehmenden Anteil älterer Menschen an der Gesamtbevölkerung zu einem der größten medizinischen Probleme der Zukunft. Osteoporotische Frakturen werden neben dem menschlichen Leid überproportional hohe Kosten im Gesundheitssystem verursachen.

zu erwartender Nutzen: Abhängig von der Art und Lokalisation der osteoporotischen Fraktur kann es notwendig sein, das Implantat nach abgeschlossener Frakturheilung wieder zu entfernen. Bezogen auf die Patienten bedeutet dies weitere Operationen respektive Anästhesien mit möglichen damit verbundenen Komplikationen. Durch Verwendung eines bioresorbierbaren Implantates könnte eine erneute stationäre oder ambulante Operation zur Metallentfernung entfallen, was nicht nur Vorteile für den Patienten, sondern auch für das Gesundheitssystem aufgrund reduzierter Kosten bringen würde. In den letzten Jahren haben sich Magnesium-basierte Legierungen als vielversprechendstes Material mit biodegradierenden Eigenschaften zur Frakturversorgung herausgestellt. Es konnte erfolgreich eine Mg-Legierung hergestellt werden, die die notwendigen mechanischen Eigenschaften und die erforderliche Korrosionsresistenz erbringt und dabei ganz ohne die Beimischung von seltenen Erden auskommt -ein Durchbruch in der Materialentwicklung der letzten Jahre. Eine therapeutische Wirkung von biodegradierbaren Magnesium-Implantaten im osteoporotischen Knochen könnte möglicherweise einen weiteren Vorteil für den Einsatz dieser Materialien bedeuten. Durch osteokonduktive bzw. osteoinduktive Eigenschaften der eingesetzten Mg Legierung könnte eine Verbesserung/Verstärkung des Knochens herbeigeführt werden. Yang et al. (2011) haben reines Magnesium in diabetische Ratten implantiert. Ihre Ergebnisse zeigten, dass die Implantation von Magnesium-Implantate neu es Knochenwachstum stimulieren und einen anti-osteoporotischen Effekt haben könnte. Studien mit osteoporotischen (ovarietomierten) Ratten sind bisher jedoch nicht publiziert worden.

zu erwartender Schaden: 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

300 weibliche 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 μ CT 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: Nach Eintreffen der Tiere, haben diese eine Eingewöhnungszeit von mindestens einer Woche bevor der Versuch startet, um sich an die neue Umgebung zu gewöhnen und sich von etwaigem transportbedingtem Stresszuständen zu erholen. Durch das tägliche Handling von ausgebildeten Tierpflegern, die die Ratten versorgen, wird zusätzlicher Stress vermieden. Zur Vermeidung von zusätzlichem Stress wurden Blutabnahmen und Fluorophor Injektionen soweit möglich zum Zeitpunkt der μ CT Untersuchungen festgelegt, da sich die Tiere hierfür bereits in Narkose befinden. Die Tiere werden außerdem beginnend von Ihrem Eintreffen bis zum Ende der Studie 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 Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Angststörungen sind in Europa und auch weltweit die häufigsten mentalen Erkrankungen. Angstpatientinnen stellen deshalb neben dem individuellen Leid ein erhebliches gesundheitspolitisches Problem dar. Selbst nach pharmako-und/oder psychotherapeutischen Interventionen bleibt eine signifikante Anzahl von Patientinnen symptomatisch bzw. sind Angstsymptome nach kurzfristiger Linderung oft rezidiv. Die Entwicklung von verbesserten Therapien und Maßnahmen zur Vorbeugung sind deshalb von herausragender Bedeutung. Ziel ist es mithilfe der geplanten und beantragten Versuche, die in vielen Angstpatienten beeinträchtigte Extinktion erlernter Angst (der Expositionstherapien zugrunde liegender Hauptprozess; "Verlernen" der Angst) langfristig zu verbessern. Basierend auf unseren ersten translationalen Studien in Maus und Mensch wollen wir die Beteiligung dysfunktioneller, u.a. epigenetischer Mechanismen weiter im Detail charakterisieren sowie extinktionsstörende Kausalität demonstrieren. Dies ist die Grundlage für die Entwicklung und Testung dringend benötigter Extinktionsverbessernder Substanzen sowie potentieller Biomarker für eine erfolgreiche und langanhaltende Expositionstherapie. Alle Experimente sind im Rahmen sorgfältig konzipierter, international geprüfter wissenschaftlicher Projekte auf der Basis bereits publizierter (und von unabhängigen Experten begutachteter) Studien aufgebaut.

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

2. Art und Anzahl der Tiere

Für die Bearbeitung aller Projektziele werden 992 Mäuse für einen Zeitraum von 4 Jahren veranschlagt. Aufgrund ausgeprägter neurochemischer, morphologischer und neuroanatomischer Homologien sind Mäuse international anerkannte Modellorganismen zur Untersuchung bestimmter humaner Störungen des Zentralnervensystems. Dies gilt in hohem Masse für Angsterkrankungen, da die furchtsamen Reaktionen und ihren Störungen zugrundeliegenden Hirnnetzwerke und Mechanismen stammesgeschichtlich besonders gut konserviert sind.

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

Vermeidung: Die Komplexität der an der Extinktion beteiligten Hirngebiete und zentralen Regulationen zum Auslösen entsprechender emotionalen Antwort, Verhaltensabläufe und kognitiver Prozesse schließt *in-vitro* Studien aus. Eine Vermeidung von Tierversuchen ist daher nicht möglich. Jedoch werden Kriterien implementiert, anhand welcher allzeit entschieden werden kann, ob mit den bereits gewonnenen Daten weiterführende Tierexperimente wissenschaftlich gerechtfertigt sind oder ob diese vermieden werden können.

Verminderung: Entsprechend der Europäischen Richtlinie wird jeweils die Minimalanzahl an Tieren zur Erfassung signifikanter Erkenntnisse erfasst. Es wird allzeit darauf geachtet, dass durch Verwendung modernster Techniken und Geräte immer die geringste Anzahl an Tieren in einem kollektiven Ansatz zur Bestimmung gleich mehrerer verhaltensrelevanter, biochemischer und funktioneller Parameter herangezogen werden, um zusätzliche Versuche zu vermeiden und das vorhandene biologische Material optimal zu nutzen. Biochemische Untersuchung beteiligter Signalwege wird grundsätzlich zunächst *in vitro* durchgeführt (z.B. funktionelle zellbiologische Assays wie Luciferase-Reporterassay etc), um die benötigte Tierzahl zu verringern.

Verfeinerung: Es wird auf eine möglichst geringe Belastung der Versuchstiere vor, während und nach den Versuchen geachtet. Die Tiere sind in einem modernen Tierhaus in sozialen Gruppen unter

medizinischer Aufsicht eines Veterinärs untergebracht. Sie werden regelmäßig sowohl von den wissenschaftlichen Mitarbeiterinnen als auch von ausgebildeten Tierpflegerinnen auf ihr Wohlbefinden überwacht. Bei Anzeichen von Schmerz werden analgetisch wirkende Medikamente verabreicht bzw. im Fall unnötigen Leids werden die Tiere sofort durch Anwendung einer zugelassenen Methode getötet. Die Tiere werden über mehrere Tage an die Experimentatorinnen und die Versuchsbedingungen gewöhnt, um unspezifische Stressreaktionen zu reduzieren.

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

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

Sepsis ist eine schwerwiegende und häufige Erkrankung mit hoher Sterblichkeitsrate, welche in der Regel durch eine überschießende Entzündungsreaktion ausgelöst wird. Die häufigste und gefährlichste Konsequenz der Sepsis ist die Ausbreitung der Entzündung im gesamten Körper, gefolgt von Multiorganversagen, das wiederum zum Tod des Patienten führen kann. Um diese überschießende Entzündungsreaktion zu vermeiden, ist die effektive Kontrolle der durch Makrophagen ausgelösten Entzündung von zentraler Bedeutung.

Ziel dieses Tierversuchs ist es wesentliche Erkenntnisse zu gewinnen, um die Therapie dieser klinisch so bedeutsamen Erkrankung zu verbessern. Kürzlich wurde ein Protein mit entzündungshemmenden Eigenschaften beschrieben. Die Regulation dieses Proteins erlaubt es den Zellen eine entzündungsfördernde Immunantwort auszuführen. Die konservierte Regulation dieses Proteins konnte auch *in vivo* in Maus und Mensch nachgewiesen werden. Um die biologische Bedeutung des Proteins im Rahmen der Entzündung im Organismus zu studieren, verwenden wir transgene Mäuse, die erhöhte Spiegel des Proteins aufweisen. Im vorgelegten Tierversuch planen wir die physiologischen Auswirkungen der erhöhten Protein-Spiegel in einem Entzündungsmodell zu studieren.

zu erwartender Nutzen: Aus den gewonnen Informationen erwarten wir uns ein besseres Verständnis über die Rolle des Proteins und dessen Interventionspotential im Kontext der Entzündungsreaktion. Die Ergebnisse dienen der Grundlagenforschung sowie der möglichen Entwicklung neuer anti-inflammatorischer Medikamente.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Im Zuge des Tierversuchs werden die Versuchstiere auf ein Minimum reduziert und durch die Injektion der entzündungsinduzierender Substanz einer Belastung ausgesetzt, die als gering bis mittelgradig einzustufen ist.

2. Art und Anzahl der Tiere

Als Versuchstiere werden insgesamt maximal 288 männliche Mäuse mit dem C57BL/6N genetischen Hintergrund eingesetzt, von denen die eine Hälfte genetisch manipulierte Tiere darstellt, welche das Protein überexprimieren, während die andere Hälfte Wildtyp-Geschwistermäuse sind.

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

Vermeidung: Ziel der Studie ist es, die entzündungshemmenden Eigenschaften des Proteins in einem Entzündungsmodell zu studieren. Im Tierreich ist dieses Protein nur in Wirbeltieren zu finden. Zellkulturen können das Mausmodell nicht ersetzen, da die komplexen Signalwege der systematischen Entzündung nur in einem intakten Wirbeltierorganismus untersucht werden können. Daher existieren für den vorgelegten Tierversuch keine alternativen experimentellen Ansätze.

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

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

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

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

Die meisten Untersuchungen zu Infektionskrankheiten bei Tieren legen ihren Schwerpunkt auf Einzelinfektionen mit ausgewählten wirtsspezifischen Erregern, jedoch findet man in der Natur oft eine gleichzeitige Infektionen mit mehreren Organismen.

In dieser Studie wird daher eine Co-Infektion von *Myxobolus cerebralis* und *Tetracapsuloides bryosalmonae* bei Regenbogenforellen unter laborkontrollierten Bedingungen untersucht, um Erkenntnisse über die verschiedenen Pathogenesen zu erlangen. Durch den Vergleich der jeweiligen Einzelinfektionen soll die Hypothese bestätigt werden, dass Myxozoa-Parasiten die Fähigkeit des sog. „Smokescreen-Antigens“ besitzen, wodurch die IFN- γ Antwort gedämpft und so das Immunsystem des Wirtstieres verwirrt wird.

Im Weiteren soll die Aktivierung von SOCS-Genen und post-Rezeptor-Signalen während einer Co-Infektion mit *Myxobolus cerebralis* und *Tetracapsuloides bryosalmonae* in Regenbogenforellen untersucht werden.

Der zu erwartende Nutzen dieser *in vivo* Studie ist es, Hinweise darauf zu erhalten, dass durch die Infektion mit einem Parasiten eine Immunmodulation erfolgt, die bei einer Infektion mit einem zweiten Parasiten eine stärkere Empfänglichkeit oder Resistenz der Fische bewirkt.

Der erwartete Schaden besteht in der Infektion der Fische und ihrer Tötung nach definierten Abbruchkriterien.

2. Art und Anzahl der Tiere

326 Regenbogenforellen, *Oncorhynchus mykiss*

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

Vermeidung: Diese *in vivo* Studie untersucht die Wechselwirkungen zwischen zwei pathogenen Organismen und die Reaktion des Immunsystems bei Fischen. Es existiert kein *in vitro*-Modell, das eine adäquate Imitation dieser Wirtsantwort leisten kann. Ein Ersatz durch ein *in vitro* Modell ist daher nicht möglich.

Verminderung: Es wird die kleinste Anzahl an Fischen verwendet, die nötig ist, um statistisch relevante Ergebnisse zu erhalten.

Verfeinerung: Die Fische werden im Durchflusssystem gehalten, um Stress zu vermeiden. Bei Anzeichen einer Erkrankung erfolgt die fachgerechte Euthanasie der Fische.

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

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

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

Allergische Erkrankungen sind Reaktionen des körpereigenen Abwehrsystems gegen an sich harmlose Substanzen, wie Gräserpollen, Hausstaub oder Tierhaare. Die Folgen dieser fehlgeleiteten Immunreaktionen können von milden Symptomen wie Juckreiz oder Schnupfen bis hin zu lebensbedrohlichen Ereignissen, z.B. schweren Asthmaanfällen oder Schockzuständen reichen.

Die Entstehungsmechanismen von Allergien sind komplex und, trotz beträchtlicher Fortschritte in den letzten Jahren, in wichtigen Bereichen weitgehend unverstanden. Aus immunologischer Sicht sind Allergien Immunreaktionen, die durch die Aktivierung sogenannter Th2-Lymphozyten hervorgerufen wird. Th2-Zellen schütten lösliche Substanzen aus, die wiederum auf weitere Immunzellen und andere Körperzellen wirken, was einerseits die Empfindlichkeit gegen das entsprechende Allergen weiter erhöht und andererseits die klinischen Symptome hervorruft. Einer dieser Faktoren ist das erst vor kurzem entdeckte Zytokin Interleukin-31, das spezifisch von Th2-Zellen gebildet wird. Bisherige Untersuchungen an klinischem Material bestätigen, dass IL31 in Allergiepateinten erhöht ist, und an Zellkulturmodellen konnte gezeigt werden, dass IL31 die Ausschüttung verschiedener Entzündungsmediatoren fördert. Über seine Rolle in Entstehung und Verlauf von Allergien liegen jedoch nur spärliche Informationen vor.

Ziel des vorliegenden Projektes ist daher, die Rolle von IL31 in allergischen Reaktionen im Kontext des Gesamtorganismus zu untersuchen. Dazu soll in Mäusen eine allergische Reaktion gegen klinisch relevante Allergene hervorgerufen werden und diese in genetisch unveränderten Tieren, in Mäusen denen der IL31-Rezeptor fehlt oder solchen, die IL31 unabhängig von allergischen Reaktionen produzieren, verglichen werden.

zu erwartender Nutzen: Die derzeit zur Verfügung stehenden Therapieformen für allergische Erkrankungen sind vorwiegend Methoden zur Symptomlinderung. Therapien, die auf Eingriffe in das ursächliche immunologische Geschehen abzielen, sind zumeist langwierig, oft mit unangenehmen Nebenwirkungen verbunden und von unbefriedigender Effizienz. Ein besseres Verständnis der dem Krankheitsgeschehen zugrundeliegenden Mechanismen verbessert auch die Möglichkeit zur Entwicklung effizienter Therapien.

zu erwartender Schaden für die Tiere: In manchen der geplanten Experimente könnten die Tiere Juckreiz oder entzündliche Hautstellen entwickeln. Transgene Mäuse, die IL31 fortwährend produzieren, entwickeln im fortschreitendem Alter Symptome, die denen bei Patienten mit atopischer Dermatitis ähneln. Die experimentellen Verfahren am lebenden Tier beschränken sich auf wenige Blutabnahmen sowie Injektionen oder nicht-invasive Applikationen von Allergenen. Mäuse eignen sich deshalb gut für die geplanten Experimente, weil sie einerseits für die Allergien typischen immunologischen Reaktionen ausprägen, klinische Symptome aber zumeist mild verlaufen. Der Schweregrad der zu erwartenden Belastung für die Versuchstiere wird daher als gering eingestuft.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für das geplante Projekt werden insgesamt 960 Mäuse benötigt.

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

Vermeidung: Wichtige Vorarbeiten zum vorliegenden Projekt wurden an Patientenmaterial, an Blutzellen von freiwilligen Spendern und an Zellkulturmodellen geleistet und stellen die Grundlage für die hier geplanten Arbeiten dar. Diese erfordern jedoch den Kontext des Gesamtorganismus, weshalb Tierversuche nicht gänzlich vermieden werden können.

Verminderung: Die Anzahl der verwendeten Tiere wird durch statistische Planung auf das für aussagekräftige Ergebnisse erforderliche Minimum reduziert. Die Zucht wird so geplant, dass möglichst wenige für Versuche ungeeignete Tiere daraus hervorgehen.

Verfeinerung: Injektionsvolumina werden auf das erforderliche Minimum beschränkt, das für eine hinreichend präzise Dosierung erforderlich ist. Bei Blutabnahmen werden nur die für die geplanten Untersuchungen erforderlichen Mengen entnommen. Die Tierzucht wird so gestaltet, dass zur Bestimmung des Genotyps Gewebebiopsien nur in Ausnahmefällen erforderlich sind. Tiere, bei denen aufgrund des Genotyps oder der experimentellen Eingriffe klinische Symptome auftreten könnten, werden mit besonderer Aufmerksamkeit täglich untersucht.

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

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

Die Verunreinigung von Futtermitteln mit Pilzen ist problematisch, da viele Pilze Toxine als Nebenprodukt ihres Stoffwechsels produzieren. Unterschiedliche Pilzarten bilden verschiedene Mykotoxine mit unterschiedlichen Effekten. Eine Spezies kann mehrere verschiedene Mykotoxine als Stoffwechselprodukte bilden. Die FAO schätzt, dass ca. 25 % der Welt-Nahrungsproduktion Mykotoxine enthalten. Auch in Europa werden wegen des Klimawandels die Durchschnittstemperaturen und -Niederschläge zunehmen. Das könnte zu einem Anstieg in der Häufigkeit von Mykotoxinen wie Aflatoxin und Deoxynivalenol (DON) führen, weil die witterungsspezifischen Ansprüche der toxinbildenden Pilze optimiert werden.

DON, auch genannt Vomitoxin, wird vor allem von *Fusarium graminearum* und *Fusarium culmorum*, bedeutende Toxinbildner bei Mais und Getreide, produziert. DON ist das häufigste Mykotoxin in Nord- und Mitteleuropa und in vielen anderen Teilen der Welt. Dieses Mykotoxin hat neurologische Auswirkungen und reizt die Magenschleimhaut, was zu einer verringerten Futtermittelaufnahme und reduzierter Wachstumsleistung bei Tieren, die kontaminierte Futtermittel zu sich nehmen, führt. Weiterhin wurde kürzlich gezeigt, dass DON immunsuppressive Effekte bei Fischen hat. Es gibt noch keine verfügbaren Behandlungen für Mykotoxikose.

Das Ziel dieser Studie ist die Untersuchung der Auswirkung von Mykotoxin-Kontamination auf die Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*), insbesondere ihrer Wirkung auf das Immunsystem und die Anfälligkeit der Fische gegen bakterielle Infektionen. Hierfür werden die Fische mit dem Bakterium *Yersinia ruckeri* infiziert. Darüber hinaus soll die Wirkungsweise und Wirksamkeit eines Futterzusatzes zur Neutralisierung von DON untersucht werden.

Der *erwartete Nutzen des Projekts* ist es, den Einfluss von DON und die Effizienz eines Ergänzungsfutters zur Neutralisierung von DON zu untersuchen. Damit soll dem Fischzüchter ein Produkt zur Verfügung gestellt werden, welches die negativen Auswirkungen von Mykotoxinen in pilzkontaminierten Futtermitteln neutralisiert.

Die *zu erwartenden Nachteile* sind die Auswirkungen der Infektion auf die Fische, welche die Fische schwer belasten können. Klassische Symptome der Yersiniose sind Septikämie, Hämorrhagien des Mauls und der Bauchorgane, Nekrose von hämatopoetischem Gewebe und Exophthalmus. Um dies zu minimieren, werden die Fische genau überwacht und Fische, die Anzeichen einer Krankheit zeigen, werden sofort euthanasiert.

2. Art und Anzahl der Tiere

400 Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*)

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

Vermeidung: Das Ziel dieser Studie ist es, die komplexe Interaktion zwischen dem Pathogen, dem Mykotoxin und dem Immunsystem, aber auch der allgemeinen Gesundheit der Fische zu studieren. Da dies nicht in vitro simuliert werden kann, ist eine Substitution nicht möglich und ein solcher Tierversuch unentbehrlich.

Verminderung: Die Studie ist auf Grundlage unserer Erfahrungen mit anderen Futterzusätzen konzipiert. Es wird ein zweistufiges experimentelles Design verwendet, um die Anzahl der infizierten Fische möglichst gering zu halten.

Verfeinerung: Die Fische werden im Durchflusssystem gehalten, um Stress zu vermeiden. Die Fische werden ad libitum gefüttert und mindestens zweimal täglich kontrolliert. Sollten klinische Erscheinungen (Hämorrhagien im Maulbereich oder an der Basis der Flossen) auftreten, werden die Fische fachgerecht euthanasiert. Um Stress für die Fische möglichst gering zu halten, werden alle Interaktionen mit den Fischen auf ein Minimum reduziert.

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

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

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

Die Fähigkeit, das Magnetfeld der Erde wahrzunehmen (auch als Magnetorezeption bezeichnet), ist bei einer Reihe von Tierarten nachgewiesen worden. Besonders eindrucksvoll ist in dieser Hinsicht die Orientierungsfähigkeit von Vögeln, die sich bei ihren langen Flügen davon leiten lassen. Die genauen Mechanismen des rätselhaften Magnetsinns sind allerdings nach wie vor nicht bekannt. Das Ziel des Projektes ist, den Magnetsinn von Tauben zu erforschen. Es soll die Möglichkeit untersucht werden, dass Tauben einen aus Eisen bestehenden Kompass benützen, der entweder im Schnabel oder im Innenohr lokalisiert ist.

zu erwartender Nutzen: Die geplanten Experimente sollen Neuronen identifizieren, die durch einen Magnetreiz aktiviert werden.

zu erwartender Schaden: Dazu werden die Tiere Magnetfeldern unterschiedlicher Stärke ausgesetzt und anschließend untersucht. Es sind auch Verhaltensexperimente geplant, bei denen speziell trainierte Tauben auf Magnetfelder unterschiedlicher Ausrichtung und Stärke reagieren. Bei einem Teil dieser Tiere ist eine Fixierung des Kopfes für diese Experimente notwendig.

2. Art und Anzahl der Tiere

Im Rahmen dieses fünfjährigen, dem Schweregrad „schwer“ zuzuordnenden Projekt werden maximal 385 Tauben benötigt.

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

Wann immer möglich, werden mathematische und physikalische Modelle angewendet, um die Magnetorezeption zu studieren. Dadurch kann die benötigte Anzahl an Vögeln verringert werden. Durch die Verwendung von Tauben kann der Einsatz von vor dem Aussterben bedrohten Tierarten, wie zum Beispiel Meeresschildkröten, und das Einfangen von in freier Natur lebenden Vögeln vermieden werden. Die Erfahrung des geschulten Personals sowie die Fachkompetenz der WissenschaftlerInnen garantieren dafür, dass die Zahl der Tiere, das Ausmaß der Schmerzen und der Ängste so gering wie möglich gehalten werden. Die Handhabung der Tauben erfolgt in Übereinstimmung mit der bestehenden Standardlaborpraxis, so dass jede Belastung für die Vögel so gering wie möglich gehalten wird. Die Tiere werden laufend von Tierpflegern und Tierärzten überwacht und behandelt.

Eine rückblickende Bewertung ist erstmals nach Verbrauch von 10 der für die Untersuchung „zur neuronalen Aktivierung, Entfernung der Haarzellen“ vorgesehenen Tiere sowie nach Abschluss des Projektes, bis spätestens 31. Dezember 2020, vorgesehen.

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

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

Statistisch gesehen erkrankt mehr als jede dritte Frau und jeder zweite Mann im Laufe des Lebens an Krebs. Trotz beachtlicher Fortschritte der letzten Jahre im Bereich der multimodalen Krebstherapie sterben weltweit jährlich mehr als 8 Millionen Menschen an malignen Erkrankungen, Tendenz steigend. Die Entwicklung besserer Therapien im Kampf gegen Krebs stellt somit eine zentrale Herausforderung für die biomedizinische Forschung des 21. Jahrhunderts dar.

zu erwartender Nutzen: In der anwendungsorientierten, molekular-onkologischen Grundlagenforschung haben wir zum Ziel, medizinisch relevante Erkenntnisse zu gewinnen, die zu neuen und vor allem effizienteren therapeutischen Ansätzen führen können. Onkogene Signalwege spielen eine zentrale Rolle in der Krebsentstehung und dem Voranschreiten der malignen Erkrankung. Basierend auf zahlreichen detaillierten *in vitro* Vorstudien mit sehr vielversprechenden Ergebnissen, sollen in diesem Projekt ausgewählte Krebs auslösende molekulare Schalter in unterschiedlichen Kombinationen medikamentös gehemmt und in pathophysiologisch relevanten *in-vivo* Bedingungen, die mit *in vitro* Ersatzmethoden nicht nachstellbar sind, hinsichtlich ihrer möglichen therapeutischen Wirkung beim Menschen untersucht und evaluiert werden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Der durch die Versuchsmethoden zu erwartende Schaden für die Versuchstiere wird möglichst gering gehalten, beinhaltet jedoch:

- Gewinnung genomischer DNA mittels Schwanzbiopsie bei bis zu 4 Wochen alten Mäusen
- Orale, subkutane oder intravenöse Verabreichung von Substanzen (beispielsweise Tamoxifen)
- Vermessung von Tumorzellvolumina (Fixierung für wenige Sekunden, dadurch Vermeidung einer Narkose)
- Bis zu 2 mm große Biopsien im dorsalen, behaarten Hautbereich
- Subkutane, orthotope oder intravenöse Implantation von Tumorzellen (gegebenenfalls unter Narkose)

2. Art und Anzahl der Tiere

Im Rahmen dieser fünfjährigen Studie mit zuvor erwähnten Projektzielen sollen 1126 Mäuse (*Mus musculus*) verwendet werden.

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

Vermeidung: Die in diesem Antrag geplanten Mausmodelle sind essentiell, um bestimmte Tumorentitäten wie das bislang unheilbare Pankreaskarzinom unter Bedingungen zu studieren, die relevant für die Humanpathologie sind und Vorhersagen über die Wirkung der getesteten Medikation beim Menschen erlauben. Dies ist nach heutigem Stand der Technik mit *in vitro* Ersatzmodellen nur sehr eingeschränkt möglich (z.B. komplexe Interaktionen zwischen Krebszellen und Krebsstammzellen und der Mikroumgebung bzw. der Stammzellnische; ausgewählte Schritte der Metastasierung in Zielorgane, Tumor-Initiation durch Krebsstammzellen etc.). Derzeit laufen intensive Bemühungen, um Ersatzmethoden wie zum Beispiel organoide Kulturen zu etablieren und dadurch ausgewählte *in vivo* Versuche zu vermeiden. Neben den eigenen Anstrengungen in diese Richtung, beobachtet man weltweit die aktuellen Entwicklungen von Ersatzmethoden sehr genau, um bei Verfügbarkeit geeigneter Technologien diese schnellstmöglich für die oben genannten Studien als Ersatzmethoden zu etablieren und anzuwenden.

Verminderung: Um die Anzahl der benötigten Versuchstiere auf ein Minimum zu reduzieren werden nur Tumorzellen verwendet, die zuvor in geeigneten *in vitro* Modellen ausgiebig charakterisiert worden sind und ein verändertes Tumorwachstum erwarten lassen. Zusätzlich wird durch statistische Fallzahlplanung die minimale Anzahl der Tiere berechnet, mit der signifikante Versuchsergebnisse erwartet werden können. Optimierte Zuchtstrategien sorgen dafür, dass die Anzahl der für Versuche nicht benötigten Tiere möglichst gering ausfällt.

Verfeinerung: Um eine möglichst geringe Belastung für die verwendeten Versuchstiere sicherzustellen werden sämtliche Eingriffe ausschließlich von dafür geschultem Personal durchgeführt. Da es die Räumlichkeiten ermöglichen werden Eingriffe direkt in den Tierräumen durchgeführt und somit zusätzlicher Transportstress vermieden.

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

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

Patienten, die im Rahmen einer Krebstherapie bestrahlt werden, haben mit sehr unangenehmen Nebenwirkungen am Herzen zu rechnen. Eine der häufigsten Nebenwirkungen ist eine fortschreitende verkalkende Verengung der Aortenklappe. Sie verhindert den regulären Blutfluss während der Kontraktion des Herzens. Dies führt zu in einer vermehrten Arbeitsleistung für die linke Herzkammer. Eine Progression der Erkrankung kann in einem Herzversagen resultieren. Die einzige Therapiemöglichkeit besteht momentan in einer offenen Herzoperation mit all ihren Risiken.

Es bleibt völlig unverständlich, wieso Strahlentherapie zu dieser schwerwiegenden Komplikation führt. Ein besseres Verständnis des Erkrankungsprozesses könnte neue Ziele für die Früherkennung und für die therapeutische Intervention aufdecken. In anderen Organen konnte gezeigt werden, dass das angeborene Immunsystem nach Bestrahlung beschädigte Zellstrukturen erkennt und eine massive Entzündungsreaktion auslöst, die in weiterer Folge zur Schädigung des Organs führt. Ob dieser Mechanismus auch für Aortenklappenerkrankungen nach Bestrahlung verantwortlich ist, bleibt unbekannt. Deswegen wird in diesem Projekt untersucht (1) wodurch die Aortenklappenerkrankung nach Bestrahlung zustande kommt (2) ob durch die Beeinflussung verschiedener Rezeptoren diese vermieden werden kann. Dabei wird die Herzklappenfunktion mittels der humanmedizinischen Standardverfahren Magnetresonanztomographie (MRI) und Computertomographie (CT) gemessen. Bei jeglichem Anzeichen von Leiden werden die Tiere schmerzfrei getötet.

Eine der häufigsten Nebenwirkungen einer Strahlentherapie ist eine fortschreitende verkalkende Verengung der Aortenklappe. Das Endstadium der Erkrankung, die hochgradige Aortenklappenstenose, kann in Herzversagen inklusive all seiner Begleitererkrankungen resultieren und erfordert daher einen umgehenden chirurgischen Herzklappenersatz. Diese Operation findet am offenen Herzen statt und ist daher sehr belastend. Der Mechanismus der Entstehung der Aortenklappenstenose nach Bestrahlung ist bis dato unbekannt. Therapeutische Alternativen, die die Entstehung verhindern könnten würden daher vielen Menschen eine sehr belastende Herzoperation inklusive aller ihrer Komplikationen ersparen und sind daher von höchster klinischer Relevanz. Obwohl der Versuch mit einer Belastung der Versuchstiere einhergeht, könnten die daraus erworbenen Kenntnisse zur Vermeidung belastender Herzoperationen führen und die Lebensqualität erkrankter Menschen erheblich verbessern. Die lokale Bestrahlung der Herzklappen bedeutet für die Tiere keine unmittelbare Belastung.

2. Art und Anzahl der Tiere

Insgesamt werden in einem Zeitraum von 3 Jahren bis zu 200 Mäuse verwendet.

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

Vermeidung: Für alle Detailfragestellungen, die in Zellkulturexperimenten und Gewebekulturen beantwortbar sind, werden Tierversuche unterlassen. Wir verwenden beispielsweise zur detaillierteren Erkundung der Verkalkungsvorgänge einen Verkalkungsassay als auch einen alkalische Phosphatase Aktivitätsassay, beide in der Zellkultur.

Verminderung: Das Projekt ist stufenweise aufgebaut. Nur bei positiven Ergebnissen, d.h. Bestätigung der zuvor aufgestellten Hypothese wird der darauffolgende Schritt und daher die Verwendung weiterer Tiere durchgeführt. Damit soll vermieden werden, dass mit einem Mal eine hohe Tierzahl verwendet wird.

Verfeinerung: Für sämtliche Messungen sind modernste Analyseverfahren bzw. -geräte vorgesehen, sodass Effekte mit einer möglichst geringen Tierzahl detektiert werden können. Für die gesamte Dauer der Narkose werden die Tiere mittels einer Wärmeplatte gewärmt. Die Haltung der Tiere erfolgt in Gruppenhaltung mit environmental enrichment. Die Tiere werden täglich visitiert und regelmäßig klinisch untersucht.

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

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

Trotz Kenntnis der Symptomatik und Funktionsstörungen von Parkinson sind die Krankheitsmechanismen, die zum neuronalen Zelltod führen, noch weitgehend unverstanden. Daher ist es nicht möglich, den Ausbruch der Krankheit zu verhindern oder den Zelltod deutlich zu verlangsamen bzw. zu stoppen. Die Behandlungen sind bisher rein symptomatisch. Die Suche nach neuen Arzneimitteln, die in der Bekämpfung der Parkinson Erkrankung Einsatz finden könnten, ist daher ein vorrangiges Ziel von uns und von vielen Pharmaunternehmen.

zu erwartender Nutzen: α -Syn transgene TNWT Mäuse exprimieren humanes α -Syn unter Kontrolle des Neuronen spezifischen Thy-1 Promotors. In diesem Projekt sollen neue Nanobodies auf ihre Wirksamkeit gegen das Alpha-Synuclein Protein im Tier untersucht werden. Da diese neue Antikörperklasse besonders klein ist, kann es an Proteinbereiche binden die für klassische Antikörper nicht erreichbar sind. Somit stellen Nanobodies eine neue Chance für die Behandlung von Parkinsonpatienten dar.

zu erwartender Schaden: Diese Studie ist in zwei Projekte unterteilt wobei der Unterschied zwischen diesen Projekten ausschließlich in der Behandlungsdauer von 5 bzw. 9 Wochen liegt. Es werden insgesamt 480 transgene Line61 Mäuse und 180 nicht transgene Geschwistertiere beiderlei Geschlechts mit je 15 Tieren pro Gruppe mit 3 verschiedenen Konzentrationen der Testsubstanz NbSyn2 oder NbSyn87 für 5 bzw. 9 Wochen mittels Schlundsonde oral behandelt. Am Ende der Behandlung werden die Tiere im Irwin Test, Open Field Test, RotaRod und Beam Walk Test auf ihre allgemeine Gesundheit, Aktivität und motorischen Fähigkeiten getestet. Im Anschluss werden die Tiere euthanasiert und das Gehirn, Zerebrospinalflüssigkeit und Blut für biochemische und histologische Analysen entnommen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie werden insgesamt 480 transgene alpha-synuclein Mäuse und 180 nicht transgene Geschwistertiere beantragt.

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

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

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 1: Charakterisierung der nicht-spezifischen Immunantwort in der Haut von naiven Tieren, hervorgerufen durch mechanische Irritation.

Ziel 2: Nachweis der Induktion von Hautabstoßung als Folge eines mechanischen, standardisierten Reizes im Extremitätentransplantationsmodell in der Ratte.

Ziel 3: Untersuchung des immunologischen Mechanismus, welcher zur Hautabstoßung nach mechanischer Reizung im Extremitätentransplantationsmodell in der Ratte führt.

Ziel 4: Differenzierung zwischen Hautabstoßung ausgelöst durch mechanische Reizung und "konventioneller" Abstoßung als Folge einer alloimmunen Antwort eines Empfängers auf ein Spendertransplantat im Extremitätentransplantationsmodell in der Ratte.

zu erwartender Nutzen: Die vaskularisierte Gewebstransplantation ist ein relativ junges, aber stark expandierendes Feld im Bereich der Transplantation. Kliniker und Wissenschaftler haben begonnen, die Hautabstoßung, welche die häufigste Komplikation nach Hand- und Gesichtstransplantation darstellt, näher zu untersuchen, ohne jedoch die zugrundeliegenden Mechanismen und die Dynamik hinreichend zu entschlüsseln. Die vorliegende Studie soll das Phänomen der durch mechanische Stimulation hervorgerufenen Hautabstoßung näher untersuchen und entschlüsseln. Diese spezielle Art der Abstoßung in handtransplantierten Patienten kann nicht nur die Funktion und das ästhetische Ergebnis kritisch beeinflussen und vermindern, sondern in schweren Fällen auch zum Verlust des Transplantates führen. Ein besseres Verständnis der zugrundeliegenden Mechanismen soll letztendlich zur Entwicklung spezifischer Therapien dieser Abstoßungsart führen.

zu erwartender Schaden: In unserer Studie führen wir Hinterlauftransplantationen im Rattenmodell durch. Je nach Studiengruppe erfolgt in einem weiteren Schritt die "konventionelle" Abstoßung des Hinterlauftransplantates oder eine durch eine mechanische Reizung hervorgerufene Abstoßung unter immunsuppressiver Therapie. Die in unserem Modell durchgeführte Hinterlauftransplantation wird nach einem streng standardisierten, seit Jahren etablierten Protokoll durchgeführt, welche ausreichende Anästhesie und Analgesie auf höchstem Standard beinhalten, um Belastung und Schmerz postoperativ und während der Observation zu minimieren.

2. Art und Anzahl der Tiere

93 Ratten in einem Zeitraum von 2 Jahren.

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

Vermeidung: Klinische Beobachtungen in handtransplantierten Patienten haben dazu geführt, das Problem der Abstoßung im Detail im Labor unter standardisierten Bedingungen im Tierexperiment zu untersuchen und zu beleuchten. Dazu besteht dringender Bedarf, um einerseits solche Abstoßungsreaktionen zu vermeiden, andererseits diese bestmöglich zu therapieren. Leider kann solch ein Phänomen nicht in einem *in vitro* Versuch oder Modell nachgestellt und untersucht werden. Wir haben in unserem Ansatz jedoch die Anzahl Tiere und Gruppen auf ein Minimum reduziert (siehe nächster Punkt), mit welchem wir aussagekräftige und signifikante Resultate erzielen werden.

Verminderung: In einer Pilotstudie konnte bereits die optimalen Stimulationsbedingungen (Druck und Dauer des mechanischen Reizes) im Extremitätentransplantationsmodell in der Ratte evaluiert und festgehalten werden. Daher ist es uns möglich, in der beantragten Studie die Anzahl der Tiere und Gruppen auf ein Minimum zu reduzieren (andernfalls müsst das optimale Setting erst getestet und angepasst werden, was eine höhere Gruppenanzahl mit sich bringen würde). Alle sieben beantragten Gruppen sind unerlässlich für ein aussagekräftiges Resultat, und um unspezifische Ergebnisse auszuschließen. Sieben Tiere pro Gruppe sind notwendig, um ein statistisch signifikantes Resultat zu erlangen.

Verfeinerung: Alle Ratten werden erst nach einer Eingewöhnungsphase von mindestens einer Woche operiert, damit mögliche Belastungen während des Transportes keine negativen Einflüsse auf die Versuchsbedingungen haben. Die Tiere werden in Gruppen von maximal fünf Tieren pro Typ IV Käfig mit artgerechtem Einstreu und Unterschlupf entsprechend ihrem Sozialverhalten gehalten. Postoperativ werden die Tiere einzeln gehalten um eine Verletzung durch nicht operierte Versuchstiere zu vermeiden. Während der Versuchsdurchführung wird auf eine adäquate Betäubung, Schmerzmedikation, Flüssigkeitsersatz und Temperaturkontrolle geachtet. Um das Leiden der Versuchstiere zu verringern wurden humane Endpunkte gewählt.

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

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

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

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

2. Art und Anzahl der Tiere

Das Arzneimittel soll der Vorbeugung oder Behandlung potentiell lebensbedrohlicher Erkrankungen dienen, weshalb die Verwendung von max. 7500 Tieren (max. 2500 nicht-transgene Maus, max. 2500 transgene Maus und max. 2500 Immundefektmäuse) für 5 Jahre gerechtfertigt ist.

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

Das Projekt wurde im Hinblick auf Verminderung (Verwendung geringstmöglicher Tierzahlen bei aussagekräftigen Ergebnissen), Verbesserung (in Tierhaltung und –Verwendung) geprüft; die komplette Vermeidung ist aufgrund der Komplexheit der Erkrankung und Therapie nicht möglich. Das Projekt wird keiner rückblickenden Bewertung (gem. §30 TVRÄG) unterzogen.

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

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

Unsere Forschungsgruppe untersucht die Entstehung und Behandlung von verschiedenen Lebererkrankungen. Neben Alkohol, fettreicher Ernährung, Viren, Toxinen und Medikamenten können auch genetische Veränderungen wie Erbkrankheiten Auslöser für eine Lebererkrankung sein. Die Leber ist ein zentrales Stoffwechselorgan des Körpers und spielt eine wichtige Rolle im Zucker- und Fetthaushalt, Bildung von Galle, Abbau und Ausscheidung von Giftstoffen aber auch für die Blutgerinnung. Genetische Erkrankungen der Leber wirken sich schon oft früh in der Embryonalentwicklung aus, sodass die Leber nicht richtig ausgebildet und/oder in ihrer Funktion gestört wird. Diese Defekte sind meist bereits im Kindesalter tödlich und sind mit einem großen Leidensdruck verbunden. Es konnte bereits mehrfach gezeigt werden, dass Gene, die für die embryonale Entwicklung verantwortlich sind, oft nach der Geburt weniger oder gar nicht mehr gebraucht werden und daher ruhig gestellt werden. Wenn diese Gene fälschlicherweise im Erwachsenen aktiv bleiben oder aktiviert werden, können sie Tumore verursachen aber auch vor der Entstehung von Krebs schützen. Wir wollen ein Mausmodell entwickeln, bei dem über die Geburt hinaus eines der wichtigsten embryonal aktiven Gene dauerhaft in Leberzellen aktiv ist, da sein Protein nicht abgebaut werden kann. Mit Hilfe dieser Tiere wollen wir den Einfluss des Proteins auf die Leberentwicklung beobachten. Außerdem sollen diese Mäuse auch in ein vielfach verwendetes Lebertumormodell gekreuzt werden, um die Funktion dieses Proteins in einer tumorfördernden Umgebung zu untersuchen.

zu erwartender Nutzen: Wir glauben, dass unsere Experimente neue Erkenntnisse über die Rolle eines entwicklungsbiologisch wichtigen Gens in der Leberfunktion und im Stoffwechsel liefern. Weiters hoffen wir mit Hilfe unseres Mausmodells die Rolle dieses Gens bei der Tumorentstehung bzw. Tumoprävention zu erforschen. Diese Erkenntnisse sollen die Grundlage für neue Behandlungsstrategien bilden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Im Rahmen des Versuches soll ein neues Mausmodell etabliert und charakterisiert werden. Alle Tiere werden daher von Geburt an engmaschig auf Schmerzäußerung, Verweigerung der Nahrungsaufnahme und Verhaltensstörungen durch geschultes Personal kontrolliert. Im Bedarfsfall wird das Experiment sofort abgebrochen. Da alle Tiere per Schwanzbiopsie genotypisiert werden, gelten die Mäuse als geringfügig belastet. Die maximale Belastung der verwendeten Tiere im Laufe des Experiments ist als mittelgradig einzustufen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden insgesamt 190 Mäuse unterschiedlichen Genotyps verwendet.

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

Vermeidung: Der Projektplanung ist eine ausgiebige Literaturrecherche vorangegangen um eine Wiederholung von Experimenten zu vermeiden, die Fragestellung zu präzisieren und ein geeignetes Mausmodell auswählen zu können.

Verminderung: Falls kein definitives Krankheitsbild bzw. keine statistische Relevanz der untersuchten Parameter zwischen genetisch veränderten Tieren und der Kontrollgruppe im ersten Versuch erreicht wird, wird das gesamte Experiment abgebrochen. Die benötigte Tierzahl wurde mittels Fallzahlberechnung so gering wie möglich kalkuliert. Des Weiteren ist eine Verminderung der Anzahl der im Versuch verwendeten Tiere durch standardisierte Arbeits- und Analysemethoden gewährleistet.

Verfeinerung: Die Haltung der Tiere erfolgt nach den FELASA Richtlinien in einem "enriched environment". Zuchtpaare haben zusätzlich ein Nisthäuschen im Käfig.

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

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

Die körpereigene Abwehr infektiöser Erreger beruht auf dem aufeinander abgestimmten Zusammenspiel verschiedener Typen von Abwehrzellen, das durch direkten Kontakt oder durch lösliche Eiweißmoleküle gesteuert wird. Eisen fördert einerseits die Vermehrung von infektiösen Erregern, und beeinflusst andererseits viele Aspekte der Immunantwort. Immunzellen benötigen ausreichende Mengen an Eisen für die Zellteilung und als Hilfsstoff für eine Reihe von antimikrobiellen Abwehrmechanismen. Da Eisen somit für eindringende Pathogene als auch für Zellen der Immunabwehr wichtig ist, existieren auf beiden Seiten Regulationsmechanismen um Eisen für die jeweils eigenen Zwecke nützen zu können. Erste, grundlegende Ergebnisse zur Infektionsabwehr durch die Umverteilung von Eisen konnten schon erbracht werden und wurden auch in Zellkulturversuchen gewonnen. Um ein genaueres Verständnis dieser Abwehrmechanismen zu gewinnen ist es jedoch notwendig, Versuche *in vivo* durchzuführen.

zu erwartender Nutzen: Dieses Projekt soll helfen, die wechselseitigen Einflüsse von Immunantwort und Eisenstoffwechsel zu erforschen. Die Ergebnisse sollen dazu beitragen durch ein besseres Verständnis der Interaktion von Eisen, infektiösen Erregern und Immunabwehr neue, verbesserte Therapiemöglichkeiten für Infektionskrankheiten zu entwickeln, die unabhängig von etablierten Antibiotika wirken.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Konfrontation mit einem infektiösen Erreger kann im Rahmen der Immunantwort zur Grippe-ähnlichen Symptomen sowie einer kurzfristigen Reduktion der Trinkwasser- und Nahrungsaufnahme der Versuchstiere führen. Jedoch werden unsere Mäuse von geprüften Tierpflegern/Tierpflegerinnen und einem Tierarzt/einer Tierärztin fachgerecht betreut sowie Allgemeinzustand, Trinkwasser- und Nahrungsverbrauch täglich mehrmals kontrolliert. Des Weiteren werden den Tieren Substanzen injiziert und Blutabnahmen in Allgemeinnarkose getätigt.

2. Art und Anzahl der Tiere

1068 Mäuse in einem Zeitraum von fünf Jahren

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

Vermeidung: Grundlegende Ergebnisse zum Wechselspiel von Eisenstoffwechsel und Immunantwort können in Zellkulturversuchen gewonnen werden und wurden für das beantragte Tierversuchsvorhaben bereits im Vorfeld sorgsam und detailliert gewonnen.

Verminderung: Die Anzahl der Tiere wurde auf der Grundlage von Vorprojekten und Literatur so gewählt, dass eine statistisch valide Aussage bei einer möglichst geringen Anzahl an Tieren möglich ist.

Verfeinerung: Die Tiere werden bei Versuchsende in tiefer Allgemeinnarkose getötet. Sollten in einem Experiment die vordefinierten Abbruchkriterien erreicht werden, werden dennoch alle relevanten Parameter bestimmt und wertvolle Daten erhoben.

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

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

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

Die Wolman-Krankheit, auch Wolman-Syndrom oder Morbus Wolman, ist eine lysosomale Speicherkrankheit. Ein Defekt im Enzym lysosomale saure Lipase (LAL) führt bei den betroffenen Patienten zu einer Anreicherung von Cholesterinestern und Triglyceriden und zum Tod innerhalb des ersten Lebensjahres. Bei der milder verlaufenden, ebenfalls äußerst seltenen, Cholesterinester-Speicherkrankheit (CESD) ist noch eine LAL Restaktivität vorhanden. Da durch den Funktionsverlust der LAL keine Lipide aus dem Lysosom in das Zytoplasma gelangen können, ist der Regelkreis für die Regulation der intrazellulären Cholesterin-Konzentration unterbrochen. Die Symptome sind bereits in den ersten Lebenstagen vorhanden (gastrointestinale Beschwerden, geblähter Leib, Anämie, Hepatosplenomegalie). Es gibt derzeit keine spezifische Therapie für die Wolman-Krankheit. Die Behandlung erfolgt symptomatisch, beispielweise durch die Gabe von Inhibitoren der Cholesterin- oder Apolipoprotein-B-Synthese. Verschiedene Forschungsansätze haben in den letzten Jahren zur Entwicklung von Enzym-Ersatz-Therapien geführt. In diesem Projekt untersuchen wir die Auswirkungen des gewebsspezifischen Fehlens von LAL auf den Fett- und Energiestoffwechsel. Da die Aussagen von Zellkulturexperimenten begrenzt sind und nicht im Zusammenhang mit der Funktion von LAL im ganzen Organismus stehen bzw. die *in vivo* Situation darstellen, sind transgene und knock-out Mausmodelle von entscheidender Bedeutung in der Aufklärung von Krankheiten und möglichen Therapieansätzen.

zu erwartender Schaden für das Tier: Es sind keine Schmerzen für die Tiere zu erwarten, nur ein etwas erhöhter Stresspegel durch Injektionen, Blutabnahmen und Gavagieren. Da die LAL nur gewebsspezifisch fehlt, sind die zu erwartenden Veränderungen geringer als bei globalen LAL-defizienten Mäusen.

zu erwartender Nutzen: die Mechanismen des Fehlens der LAL in den verschiedenen Geweben deutlich besser zu verstehen und mögliche Therapieansätze zu finden.

2. Art und Anzahl der Tiere

1302 Mäuse

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

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

Verminderung: Bei der Erstellung des Versuchsplans wurde darauf geachtet, dass die Versuche mit der geringstmöglichen Belastung und kleinstmöglichen Anzahl an Versuchstieren durchgeführt werden. Außerdem wird großer Wert darauf gelegt, die Projektversuche nur mit jener minimalen Anzahl an Mäusen durchzuführen, die statistisch notwendig ist um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten. Neben Blut werden sämtliche Gewebe in standardisierter Weise entnommen und nach Vorkühlung in Methylbutan in flüssigen Stickstoff und nach Formalinfixierung in Paraffin gelagert, um eventuell nötige Nachbestimmungen unter Minimierung des Tierbedarfs durchführen zu können.

Verfeinerung: Die Tiere werden unter Standardbedingungen in Gruppen gehalten und von ausgebildetem Personal gepflegt. Um das Wohlbefinden zu steigern und den Zuchterfolg zu erhöhen wird den Tieren Enrichment in Form von Nistmaterial und Häuschen zu Verfügung gestellt. Die Tiere werden von Beginn der Unterbringung an den Umgang mit Menschen gewöhnt (handling), um den Stress bei den Kontrollen und Messungen zu minimieren. Zusätzlich werden die Mäuse routinemäßig von Tierärzten auf ihren Gesundheitszustand kontrolliert.

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

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

Monoklonale Antikörper stellen aufgrund ihrer unübertroffenen Epitopspezifität unersetzliche experimentelle Werkzeuge zur Funktionsanalyse von Proteinen dar, die in der medizinischen Grundlagenforschung für Methoden wie Immunpräzipitation, Immunblotting und Immunfluoreszenz Verwendung finden. Moderne medizinische Forschung ist ohne hochspezifische monoklonale Antikörper nicht denkbar. Darüberhinaus werden monoklonale Antikörper in immer größerem Ausmaß im klinischen Alltag zur Diagnose und Therapie eingesetzt. Die Generierung einer Antikörper-sezernierenden Hybridom Zelle ist jedoch eine komplexe zellbiologische Methode, deren erfolgreiche Durchführung von der Expertise und der Erfahrung der ExperimentatorIn abhängt. Aus diesen Gründen verzichten viele ForscherInnen auf die Herstellung der Antikörper und somit auf weiteren Erkenntnisgewinn. Durch unsere Expertise ist es möglich, diese hochspezifischen monoklonalen Antikörper für Forschungsprojekte und diagnostische Verfahren zur Verfügung zu stellen.

zu erwartender Nutzen: Wie sich anhand der mit Hilfe unserer Antikörper durchgeführten Publikationen ablesen lässt, werden auch die neu generierten monoklonalen Antikörper für die Beantwortung wissenschaftlicher Fragestellungen essentiell sein. Daneben werden manche der von uns generierten monoklonalen Antikörper auch dazu dienen, humane Diagnostika und Therapeutika zu entwickeln.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Zur Generierung neuer monoklonaler Antikörper werden Mäuse mit Antigenen immunisiert, was einer Impfung in der Human- und Veterinärmedizin entspricht. Nach erfolgreicher Immunisierung werden die Tiere schmerzlos getötet und die Milzzellen der Mäuse zur Herstellung von Hybridomzellen verwendet, die dann in-vitro monoklonale Antikörper produzieren.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden für einen Zeitraum von 5 Jahren 500 Mäuse für Immunisierungen beantragt. Diese Zahl ergibt sich aus der in den letzten Jahren gestiegenen Nachfrage nach monoklonalen Antikörpern, die in der Zukunft eine Zahl von ca. 100 dafür notwendigen Tieren (für ca. 25 Antikörperprojekte) pro Jahr erwarten lässt.

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

Vermeidung: Nach Etablierung einer Antikörper sezernierenden Hybridomzelllinie kann der jeweilige monoklonale Antikörper jederzeit und in praktisch unlimitierten Mengen und gleichbleibender Qualität produziert werden, wodurch keine weiteren Tiere immunisiert werden müssen. Die Hybridomzellen sind unsterblich, können in flüssigem Stickstoff unbegrenzt gelagert, und jederzeit wieder aufgetaut und zur Produktion des jeweiligen, hochspezifischen Antikörpers verwendet werden.

Verminderung: Obwohl für die Immunisierungen genetisch idente Mäuse desselben Inzucht-Stammes verwendet werden, besteht eine erhebliche Variabilität in der Immunantwort der Versuchstiere. Aus diesem Grund müssen pro Projekt mehrere Mäuse (zumeist 3-4) immunisiert werden, da im Regelfall nicht jedes immunisierte Tier eine für die Herstellung monoklonaler Antikörper entsprechende Immunantwort entwickelt. Dank unserer langjährigen Erfahrung mit dieser Technik haben wir eine außerordentlich hohe Erfolgsrate, wodurch die Zahl der für die Herstellung eines monoklonalen Antikörpers notwendigen Tiere gering gehalten werden kann.

Verfeinerung: Die Haltung der Tiere erfolgt nach den FELASA Richtlinien in einem "enriched environment" unter standardisierten SPF Haltungsbedingungen.

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

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

zu erwartender Nutzen: Mittel- und Hochdurchsatz-Screening Verfahren sind effektive Methoden zur Entwicklung von Krebsmedikamenten. Das jeweilige Krebsmodell an dem die Screens durchgeführt werden hat große Bedeutung für deren Erfolg. In den letzten Jahren hat sich der Zebrafisch als idealer Modellorganismus für Screens nach therapeutischen Substanzen etabliert. Mit diesem Modell wurden bereits neue wirksame Substanzen gegen Hautkrebs und Leukämien gefunden.

zu erwartender Schaden: Dieser Modellorganismus wird unter Anwendung der 3R (Replacement, Reduction, Refinement) genutzt (Schweregrad leicht bis mittel), um Mechanismen der Krebsentstehung zu untersuchen und um Substanzen zu identifizieren, die bei pädiatrischen Krebserkrankungen helfen könnten. Dazu sollen sowohl Xenotransplantations- als auch genetische Modelle vom Ewing Sarkom, Neuroblastom und akuten pädiatrischen Leukämien im Zebrafisch verwendet werden. Durch diesen Ansatz werden neue Medikamente für die Behandlung verschiedener Kinderkrebsarten erhofft.

2. Art und Anzahl der Tiere

8000 Zebrafische

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

Vermeidung: Langjährige Forschung hat gezeigt, dass bei der Entstehung von Tumoren viele unterschiedliche Zelltypen beteiligt sind. Um das Zusammenspiel der unterschiedlichen Zelltypen zu verstehen um letztendlich Therapeutika entwickeln zu können, ist es unerlässlich die komplexen Vorgänge in einer Umgebung, die so natürlich wie möglich ist, zu untersuchen. Klassischerweise wurden hierfür Maustumormodelle genutzt. Dieses Säugetiermodell soll durch Modelle im Zebrafisch ersetzt werden, da in den letzten Jahren gezeigt werden konnte, dass dieser sich hervorragend für *in vivo* Krebsmodelle und Medikamentenscreens eignet.

Verminderung: Es wird durch genaue Analysemethoden der Xenotransplantations- und genetischen Modelle ein möglichst früher Phänotyp mit geringer Varianz bestimmt, der sich als Indikator für die therapeutische Wirksamkeit einer Substanz verwenden lässt. Somit sollte es gelingen die Gesamtzahl der verwendeten Zebrafische zu reduzieren. Ferner werden überflüssige Fischzahlen durch zu große Behandlungsgruppen durch Erfahrungswerte der am Projekt beteiligten Partner vermieden.

Verfeinerung: Alle Versuche werden in möglichst frühen Stadien der Fischentwicklung durchgeführt. Ferner wird die Belastung der Tiere durch Verabreichung von Anästhetika reduziert.

Eine rückblickende Bewertung ist erstmals nach halber Projektlaufzeit bis spätestens 31. Dezember 2018 sowie nach Abschluss des Projekts bis spätestens 31. Dezember 2020 vorgesehen.

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

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

Ziel des Projektes ist die Produktion polyklonaler Antikörper gegen *Cystoisospora suis*, dem Erreger der Saugferkelkokzidiose, einer Durchfallerkrankung neugeborener Ferkel. Die Antigene, gegen die solche Antikörper produziert werden sollen, werden derzeit bezüglich ihrer Eignung als Vakzinenkandidaten und *in silico* untersucht. Für funktionelle Studien ist ein so genannter Invasions-Inhibitionstest *in vitro* etabliert, bei dem die polyklonalen Seren, die gegen bestimmte Proteine an der Vorderseite des Parasiten (u.a. den sog. Apikalkomplex) gerichtet sind, an spezifische Antigene binden und dadurch deren Funktion, nämlich das Eindringen in die Wirtszelle, blockieren sollen. Dieser Text ermöglicht die funktionelle Darstellung der Wirkung möglicher Vakzinekandidaten bei der Erforschung von Impfstrategien gegen *C. suis*. Zu diesem Zweck werden Kaninchen mit rekombinant (in *E. coli*) produzierten und chromatographisch aufgereinigten Proteinen von *C. suis* immunisiert und vor und nach der Immunisierung auf die Bildung von Antikörpern hin untersucht. Die erhaltenen polyklonalen Seren werden für die funktionelle Prüfung der Invasionshemmung *in vitro* eingesetzt. Schlüsselantigene für die Invasion können somit funktionell charakterisiert und als Vakzinekandidaten weiterentwickelt werden.

zu erwartender Nutzen: Bevor Antigene, die als Vakzinekandidaten in Betracht kommen, im Zieltier (hier: Schwein) geprüft werden, sollte die Funktionalität und mögliche Wirkweise bekannt sein. Dazu werden in Kaninchen (2 Tiere / Vakzinekandidat) Antikörper produziert, mit denen *in vitro* funktionelle Tests durchgeführt werden können. Dies ermöglicht den Ein- oder Ausschluss von Antigenen, die vorher *in silico* ausgesucht und rekombinant exprimiert wurden, bevor Impfstudien *in vivo* gemacht werden. Der Nutzen liegt hier in der Einengung der besten Kandidaten für eine Vakzine und deren funktionelle Charakterisierung und damit der Einsparung von Tierversuchen an Schweinen in statistisch auswertbaren Gruppengrößen. Eine Vakzine gegen *C. suis* wird derzeit als Lebendvakzine geprüft, rekombinante Antigene stellen eine mögliche Alternative dar.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Für die Blutentnahme werden die Tiere in Narkose gelegt. Zur Immunisierung (subkutane Injektion) werden sie kurzzeitig fixiert. Es wird ein besser verträgliches und dadurch deutlich weniger belastendes Adjuvans verwendet. Nach den Injektionen werden die Tiere mehrmals kontrolliert und bei Anzeichen von Schmerzen mit Schmerzmitteln behandelt. Die Tötung der Tiere erfolgt in Narkose. Belastungsgrad: mittel

2. Art und Anzahl der Tiere

Kaninchen (*Oryctolagus cuniculus*), 24 Tiere (2 pro Antigen)

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

Vermeidung: Derzeit sind keine kommerziellen Antikörper gegen *C. suis* erhältlich; falls diese eingekauft werden können, wird auf den Versuch verzichtet.

Verminderung: Es werde max. 2 Tiere immunisiert, um genügend Antikörper gewinnen zu können. Der Versuch wird gestaffelt durchgeführt, so dass bei Darstellung funktioneller Antigene auf weitere Untersuchungen verzichtet werden kann.

Verfeinerung: Die Tiere werden in Gruppen von max. 6 Tieren in Bodenhaltung gehalten, mit Stroh als Einstreu und Unterschlupf- und Rückzugsmöglichkeiten. Heu und Wasser werden ad libitum angeboten, dazu Pellets und Frischfutter. Die Kontrolle der Tiere erfolgt täglich.

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

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

Primärer und sekundärer Leberkrebs sind Krankheiten, die mit einer sehr hohen Mortalität einhergehen. Alle bekannten Therapieformen zeigen nur einen bescheidenen Erfolg und sind nicht oder nur sehr wenig effektiv. Das Ziel dieses Projektes ist es, einen neuen experimentellen Therapieweg, der in der Klinik bereits Anwendung fand, mit pharmakologischen Daten zu untermauern und mithilfe dieser Daten sowie mathematischer Modellierung die Effizienz dieses Therapieansatzes drastisch zu erhöhen, d.h. bei größtmöglicher Strahlendosis im Tumor den gesamten Strahlenschaden für den einzelnen Patienten so gering wie möglich zu halten.

Bei diesem neuen Ansatz erfolgt eine Anreicherung des Lebergewebes mit 4-dihydroxyborylphenylalanin (BPA), wobei das Brom-Atom durch das Nuklid ^{10}B ersetzt wird. Dieses Nuklid fungiert als ein sogenannter Neutroneneinfänger und zerfällt als Folge von Neutronenbestrahlung in zwei Teilchen mit jeweils sehr hohem, linearen Energietransfer, nämlich einem Alpha-Teilchen und einem ^7Li -Kern, welche bei einer erhöhten Anreicherung von BPA in Tumorzellen und aufgrund der geringen Reichweiten eine äußerst selektive Bestrahlung der malignen Zellen ermöglichen. Um das umgebende Gewebe noch mehr vor Strahlenschäden zu schützen, wird die Leber zuerst explantiert und getrennt vom Patienten bestrahlt. Nach diesem Vorgang wird die Leber wieder reimplantiert. Dieser radikale Therapieansatz soll vor allem bei Lebermetastasen beim Kolonkarzinom und bei primären Leberkrebsformen eingesetzt werden. Diese sind Erkrankungen mit höchster Mortalität und nur eingeschränkten Therapiemöglichkeiten, die sich üblicherweise auf eine palliative Therapie beschränken. Erste klinische Versuche waren in einigen wenigen Fällen, die medizinisch hoffnungslos schienen, erfolgreich und vielversprechend. Um diese Therapiemethode auf eine wissenschaftliche, d.h. strahlenphysikalisch quantitative Basis stellen zu können, müssen zwei wichtige Punkte geklärt werden: (1) die pharmakokinetische Verteilung von BPA in der Leber und (2) die Strahlendosis, die gesundes und tumoröses Gewebe bei der Bestrahlung absorbiert. Diese Fragestellungen soll mittels zweier Tumormodelle in der Ratte geklärt werden. Das erste Modell simuliert eine Erkrankung mit Lebermetastasen, das zweite Modell einen primären Lebertumor. Die benötigten Daten werden mittels PET, MRT und pharmakokinetischen Untersuchungen erhoben.

2. Art und Anzahl der Tiere

50 Ratten.

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

Replacement-Vermeidung: Dieser Versuch ist der nächste und unbedingt nötige Schritt, um diese neuartige Therapieform weiter entwickeln zu können. Leider lässt sich diese Untersuchung nur am lebenden Tier durchführen.

Reduction-Verminderung: Diese Art der bildgebenden Untersuchungsmethode ist eine Experimentalmethode, die mit einer möglichst kleinen Tierzahl auskommt. Eine weitere Reduktion der Tierzahl ist nicht möglich ohne das angestrebte wissenschaftliche Ziel zu gefährden.

Refinement-Verfeinerung: Es sind sowohl für eine tiergerechte Haltung von Ratten, 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 physischem Leid (z. B. Schmerzmittel) der verantworteten Versuchstiere dienen können. Für die Durchführung der Experimente selbst, ist langjährige Expertise vorhanden.

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

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

Labors, die den Sabin-Feldman Test durchführen können, erhalten jene Serumproben von Schwangeren, die im Rahmen der Mutter-Kind Pass-Untersuchungen im Routinelabor nicht mit der notwendigen Sicherheit in die Gruppen: „nichtinfiziert“ oder „infiziert“ zugeordnet werden können. Der Sabin-Feldman-Test gilt als Bestätigungstest und ist der Golden Standard der Weltgesundheitsorganisation (WHO).

zu erwartender Nutzen: Wird der Infektionsverdacht im Referenzlabor bestätigt, muss die Schwangere medikamentös behandelt werden, um das Ungeborene vor dem Übertritt des Parasiten zu schützen. Kann aber die Infektion der Schwangeren mit der nötigen Sicherheit ausgeschlossen werden, wird eine langwierige medikamentöse Behandlung der werdenden Mutter verhindert.

Das Ergebnis des Referenztests entscheidet so auch, ob es zur Anwendung invasiver fetaler Diagnostik, wie Fruchtwasserpunktion zum direkten Erregernachweis mit der Polymerasekettenreaktion kommt. Weiters entscheidet das Testergebnis mit dem Sabin-Feldman Test auch die Wahl der spezifischen Therapie in der Schwangerschaft. Als letzte Auswirkung entscheidet das Sabin-Feldman Test-Ergebnis auch, ob das neugeborene einer infizierten Mutter nach der Geburt antiparasitär behandelt wird oder nicht (Therapiedauer: 12 Monate).

Schäden bei Schwangeren und Kindern: Die mangelnde Trennschärfe automatisierter serologischer Testverfahren beim Screening kann zu unnötigen Behandlungen nichtinfizierter Schwangerer, aber auch zu Nichtbehandlung Infizierter Anlass geben. Die Fruchtwasserpunktion (Amniozentese) ist eine invasive diagnostische Maßnahme, die nur bei Schwangeren angewendet werden soll, bei denen das Risiko der fetalen Infektion besteht. Kann der Sabin Feldman Test dieses Risiko ausschließen, unterbleibt diese Punktion. Die antiparasitäre Therapie kann bei Mutter und Kind Blutbildschäden verursachen und muss durch häufige Blutabnahmen überwacht werden. Durch das Erkennen der Nichtinfektion werden unnötige Behandlungen und damit auch Komplikationen dieser Therapien vermieden. Da das Ergebnis des Sabin-Feldman Tests ein Leben lang aussagekräftig ist, können alle Blutabnahmen in Hinsicht auf Toxoplasma-Infektionen in der aktuellen, wie auch in den folgenden Schwangerschaften unterbleiben.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die für den Testansatz benötigten Mäuse verbleiben bis auf die einmalige Animpfung ungestört und werden nach 3 Tagen schmerzlos getötet. Es sind daher keine schmerzlindernden Methoden notwendig. Die Tiere verhalten sich im Beimpfungszeitraum normal, fressen und sind klinisch unauffällig.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es kommen ausschließlich Mäuse aus Eigenzucht zur Anwendung. Es werden jährlich 700 Mäuse über einen Zeitraum von 5 Jahren benötigt. Nur erwachsene Tiere werden angeimpft.

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

Vermeidung: Bei den Versuchen mit Zellkulturen war es bislang nicht möglich, Toxoplasmen in der Suspension so aufzubereiten, dass Titerbestimmungen in vergleichbarer Qualität durchgeführt werden konnten. Das Ziel kann zurzeit durch andere Methoden nicht erreicht werden.

Verminderung: Es wird nur die Anzahl an Mäusen beimpft, die minimal zur Testdurchführung und zur Weiterzucht des Parasiten nötig ist. Innerhalb der letzten 25 Jahre ist es durch Testverfeinerung gelungen, die benötigte Menge an Tieren um zwei Drittel zu reduzieren.

Verfeinerung: Die Tierhaltung erfolgt unter standardisierten optimalen Bedingungen.

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

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

Ziel des Projektes ist die Differenzierung früh- und spätreifer Linien eines Laborstamms von *Cystoisosporo suis*, dem Erreger der Saugferkelkokzidiose. *C. suis* wird oral aufgenommen, befällt die Dünndarmzellen und wird am Ende der endogenen Entwicklung wieder mit dem Kot ausgeschieden, wobei diese Ausscheidung typischerweise in mehreren Schüben (Peaks) erfolgt. Unter der Annahme, dass analog zu den Geflügelkokzidien, wo durch wiederholte Passagen und Selektion frühreifer Linien attenuierte, für eine Impfung geeignete Stämme erzeugt werden konnten, eine Selektion früh- bzw. spätreifer Linien von *C. suis* erfolgen kann, wird durch Passage verschiedener Oozystenfraktionen aus dem ersten bzw. zweiten Ausscheidungspeak über mehrere Würfe hinweg eine Teilung des Stamms in 2 Linien erreicht, eine früh- und eine spätreife, die bzgl. ihrer Ausscheidungscharakteristika (Dauer, Höhe der Oozystenausscheidung) und ihrer krankmachenden Wirkung hin (Induktion von Durchfall) miteinander und mit dem Ausgangsstamm verglichen werden sollen. Wenn eine dieser Linien als attenuiert beurteilt wird, könnte sie in weiteren Studien als Impflinie Verwendung finden.

zu erwartender Nutzen: Die Produktion möglicher attenuierter Linien bereitet die Grundlage für die Entwicklung von Lebendimpfstämmen. Das Schwein (Saugferkel) ist zugleich Versuchs- und Zieltierart für Interventionsmaßnahmen. Eine aus den Erkenntnissen dieses Versuchs entwickelte Vakzine wäre eine attraktive Alternative zur bestehenden Chemotherapie der *C. suis* Infektion bei Saugferkeln.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Ferkel erleiden durch die Infektion, bei der nur geringe Dosen verwendet werden, vorübergehenden wässrigen Durchfall, wobei das Allgemeinbefinden ungestört und die Sauglust erhalten bleiben. Am Ende des Versuchs werden die Tiere fachgerecht euthanasiert, da diese aufgrund der vorherigen Infektion Parasiten ausscheiden und diese in einen Bestand eintragen können. Belastungsgrad: mittel

2. Art und Anzahl der Tiere

Hausschwein (*Sus scrofa*), 15 Würfe (180 Ferkel)

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

Vermeidung: Es gibt kein *in vitro*-Kultursystem und kein Labortiermodell für die Infektion mit *C. suis*. Schweine (Saugferkel) sind die Zieltiere für alle Interventionsstrategien gegen *C. suis*, so dass entsprechende Studien in dieser Tierart und Altersgruppe, die auch die einzige empfängliche für *C. suis* ist, durchgeführt werden müssen.

Verminderung: Um die Anzahl der benötigten Würfe zu verringern, werden die Würfe für die Passagen geteilt, so dass pro Gruppe 5-7 Tiere zur Verfügung stehen, so dass für die Gruppengröße mindestens $n=8$ beträgt. Da es sich um einen Pilotversuch handelt, gibt es keine Ausgangsdaten, um die Gruppengröße statistisch abzusichern, daher ist diese Gruppengröße ausreichend.

Verfeinerung: Die Ferkel verbleiben bei der Muttersau bis zum Ende des Versuchs, der Ferkelbereich ist ebenfalls mit Stroh sowie einer Wärmelampe (Rotlicht) im Nestbereich versehen. Ab der 2. Lebenswoche erhalten die Ferkel Ferkelstarter ad libitum. Wasser ist für die Ferkel ad libitum vorhanden. Die Ferkel werden für die Kotprobengewinnung kurzzeitig in Plastikboxen gesetzt, damit freiwillig abgesetzter Kot gesammelt werden kann.

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

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

In der heutigen Zeit stellt die Alzheimer'sche Erkrankung (AD) die häufigste altersbedingte Demenz in den Industrieländern dar. Bei dieser Form der Neurodegeneration kommt es zu einem erheblichen Verlust an Hirngewebe und zu Veränderungen im Großhirn, die zu Gedächtnis- und Orientierungsverlust führen. Im Frühstadium ist die Erkrankung nicht erkennbar, so dass auch keine effektiven Möglichkeiten der Diagnose oder Therapie zur Verfügung stehen. Zu den klassischen histomorphologischen Merkmalen der Alzheimer'schen Erkrankung zählen extrazelluläre Aggregate, so genannte senile Plaques und Alzheimer-Fibrillen, die sich in der Großhirnrinde und im Hippokampus anhäufen. Während die neurofibrillären Bündel hauptsächlich aus dem Protein Tau bestehen, sind die Plaques zu einem Großteil aus Beta-Amyloid-Protein aufgebaut. Die Plaques enthalten degenerierte Axone und Dendriten und sind außerdem umgeben von aktivierten Mikroglia und Astrozyten, was auf einen entzündlichen Prozess während der Neurodegeneration hinweist. Bisherige Studien untersuchen meist entweder die Effekte der APP Plaques oder der Tau neurofibrillären Bündel. Untersuchungen zeigen jedoch, dass im Menschen meist beide Pathologien vorhanden sein müssen damit es zur Entstehung krankheits-spezifischer Pathologien kommt. Die Untersuchung der Interaktion des APP und Tau Proteins *in vivo* ist daher unerlässlich für die zukünftige Alzheimerforschung und damit einhergehend für die Entwicklung neuer wirksamer Medikamente gegen die Krankheit.

zu erwartender Schaden: Transgene APPSL Mäuse und ihre nicht transgenen Geschwistertiere werden mit Tau P301L exprimierenden Adeno-Viruspartikeln in den Hippokampus injiziert und nach unterschiedlichen Zeitpunkten auf ihren allgemeinen Gesundheitszustand sowie kognitive Fähigkeiten untersucht. Im Anschluss werden die Gewebe der Mäuse histopathologisch und biochemisch auf Alzheimer-spezifische Pathologien untersucht. Es soll zuerst eine Pilotstudie durchgeführt werden um die Wirksamkeit der Viruspartikel zu testen. Erst wenn diese Pilotstudie erfolgreich war wird die Hauptstudie durchgeführt bei der die Tierzahl stark erhöht und mehr Tests durchgeführt werden.

zu erwartender Nutzen: Durch diese Studie soll die Interaktion von APP und Tau P301L im *in vivo* Modell untersucht werden. Dadurch wird es möglich sein neue pathologische Mechanismen der Alzheimer Krankheit zu erkennen, die helfen werden neue Medikamente gegen diese Krankheit zu entwickeln.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie werden insgesamt 136 APP Mäuse und 138 nicht transgene Geschwistertiere beantragt. Die hier verwendeten Alzheimermäuse wurden bereits zuvor erfolgreich für die Alzheimerforschung eingesetzt.

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

Die Erforschung der Mechanismen die der Alzheimer'schen Krankheit zu Grunde liegen ist unerlässlich um anschließend auf Grundlage dieser Daten wirksame Medikamente gegen die Krankheit entwickeln zu können. *In vitro* Modell können in der Forschung erste Hinweise bieten, um mit dem Menschen vergleichbare Ergebnisse zu erzielen ist es jedoch unerlässlich auf Tiermodell zurückzugreifen.

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 ist die Entwicklung und Etablierung neuartiger bildgebender Verfahren zur Diagnostik der pathologischen Veränderungen nach Herzinfarkt des linken Ventrikel (linksventrikuläres Remodelling), die in weiterer Folge zum Herzversagen führen. Zur Aufklärung der molekularen Interaktionen bei der zeitlichen Entwicklung vom Myokardschaden zum Herzversagen sollen radioaktiv markierte PET/SPECT-Tracer am Ratten-Myokardinfarkt-Modell eingesetzt werden. Mittels nicht-invasiver spezieller Kleintier PET/CT bzw. SPECT/CT Systeme sollen die Zeitabläufe von Signal-Veränderungen mit und ohne medikamentöse Interventionen evaluiert werden. Außerdem werden verschiedenartige Tracer für unterschiedliche spezifische molekulare Veränderungen verwendet und funktionelle und morphologische Bildgebungsarten mittels CT, MRT und Echokardiographie kombiniert.

zu erwartender Nutzen: Das Modell der koronaren Okklusion und Reperfusion ist ein in der Literatur sehr gut etabliertes Modell bei der Ratte zur Untersuchung des Remodellings. Sein Nutzen für die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf den Menschen ist von uns und anderen Gruppen bereits gezeigt worden. Unterschiedliche Untersuchungsmethoden können bei ein und demselben Tier den Verlauf anzeigen, so dass das erworbene Wissen auf den Menschen übertragbar ist.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Unter Anästhesie und nachfolgender Schmerzbekämpfung wird den Tieren ein Herzmuskelschaden zugefügt, den die Tiere kompensieren und in der Folge eine Hypertrophie des Herzens entwickeln. Unter Anästhesie werden die Tiere den jeweiligen bildgebenden Verfahren unterzogen und unter Beibehaltung der Narkose schmerzfrei getötet.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden Ratten (Sprague-Dawley) verwendet. Die von Zwischenergebnissen abhängige Anzahl der benötigten Tiere beträgt maximal 310 Ratten in 3 Jahren.

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

Vermeidung: Hauptintention dieses Projektes ist es, mehrere neuartige PET-Tracer in der Situation des postischämischen myokardialen Schadens zu evaluieren und die Interaktionen und Zeitabläufe der involvierten Biomechanismen aufzuklären, welche durch diese Tracer abgebildet werden. Diese Experimente erfordern kontrollierbare Bedingungen des LV Remodelings und können nicht *in vitro* durchgeführt werden, da die Tracerkinetiken des Herzens von der systemischen Tracer-Verteilung und dem systemischen Tracer-Abbau abhängen. Im Sinne der Vermeidung wurden die geplanten Methoden *in-vitro* kritisch geprüft, bevor Versuchstiere zum Einsatz kommen.

Verminderung und Verfeinerung: Durch Verwendung moderner Methoden und Technologien (funktionelle molekulare Bildgebung) werden das Ausmaß der Belastung und die Zahl der benötigten Tiere minimiert. Es werden an jedem Tier mehrere bildgebende Verfahren seriell getestet. Im Sinne der Verminderung wurde die Reihenfolge der Tests so geplant, dass sich in Abhängigkeit von Zwischenergebnissen nachfolgende Experimente womöglich erübrigen. Durch standardisierte Haltung und Methodik wird die Streuung der Ergebnisse weiter vermindert.

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

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

Forcierte Gaumennahterweiterung wird für die kieferorthopädische Therapie einer skelettalen Enge des oberen Zahnbogens verwendet. Die Gaumennaht wird während dieser Behandlung mit einer festsitzenden Zahnsperre gedehnt, sodass sich neuer Knochen in diesem Bereich zwischen den beiden Hälften des Oberkiefers bildet. In der klinischen Anwendung sind nach der Phase der aktiven Dehnung zumindest 3 Monate Retention mit fixer Apparatur empfohlen, um ein Rezidiv zu vermeiden. Obwohl die Gründe für die Rezidivbildung nicht restlos geklärt sind, ist die Rate der Knochenneubildung im Bereich der Gaumennaht ein wichtiger Faktor. Es ist daher anzunehmen, dass sich die Beschleunigung der Knochenneubildung positiv auf die Vermeidung von Rezidivbildung und Verkürzung der Retentionszeit nach forcierter Gaumennahterweiterung auswirkt. Sklerostin ist ein Inhibitor der Osteoblasten-Aktivität, der zu einer verringerten Knochenproduktion führt. Die Hemmung von Sklerostin durch spezifische Antikörper führt somit zu mehr Knochenneubildung. Das klinische Potential von Sklerostin-Antikörpern in der Behandlung von Knochenstörungen wird aktuell in Phase III Studien evaluiert.

zu erwartender Nutzen: Die Gabe von Sklerostin Antikörpern könnte die Knochenneubildungsrate im Bereich der Gaumennaht nach forcierter Gaumennahterweiterung beeinflussen. Dies sollte folglich zu einer Vermeidung von Rezidiven und einer Verkürzung der Retentionsphase führen. Ergebnisse dieser Untersuchung würden des Weiteren Rückschlüsse auf die Rolle von Sklerostin in der Knochenneubildung und Regeneration des maxillären Knochens bei anderen Indikationen, wie z.B. in der Therapie von Gaumenspalten oder Knochenaufbau nach Atrophie, erlauben.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Das angewandte Modell zur forcierter Gaumennahterweiterung ist bei der Ratte etabliert und mehrfach in der Literatur beschrieben. Dabei wird der Abstand zwischen den Nagezähnen des Oberkiefers durch ein Implantat erweitert. Das Alter der Ratten von 8 Wochen entspricht dem klinisch relevanten Alter beim Menschen bei der Behandlung mittels Gaumennahterweiterung. Dieser Eingriff erfolgt in Vollnarkose mit intravenöser Verabreichung des Sklerostin-Antikörpers. Alle Tiere werden am postoperativen Tag 9 schmerzlos eingeschläfert.

2. Art und Anzahl der Tiere

20 männliche 8 Wochen alte Wistar Ratten.

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

Vermeidung: Die Fragestellung kann nicht *in-vitro* beantwortet werden, sondern ist an Wachstumsveränderungen im Gesamtorganismus gebunden. Das Modell wurde mehrfach als minimal invasiv beschrieben und führt nachweislich zu keinem Gewichtsverlust der Tiere im Vergleich zu einer unbehandelten Kontrollgruppe.

Verminderung: Die Anzahl der benötigten Tiere wurde auf ein Minimum beschränkt. Die vorgeschlagene Zahl basiert auf einer Power Analyse aus Daten bestehender Literatur. Durch Standardisierung der Tierhaltung und Versuchsanordnung kommt es zu einer geringeren Streuung der Ergebnisse und damit zur Verminderung der Anzahl an Versuchstieren.

Verfeinerung: Nach der Anlieferung werden die Tiere zur Adaptation an die neue Umgebung für zwei Wochen eingewöhnt.

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

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

Chronische metabolische Lebererkrankungen wie die entzündliche Fettlebererkrankung (Steatohepatitis) sind die Hauptursachen für chronische Leberschäden in der westlichen Welt. Sie können bei einer maßgeblichen Zahl der Patienten in der Folge zu Leberzirrhose und später zu hepatozellulärem Karzinom führen. Wir haben kürzlich massive Veränderungen im Energiestoffwechsel der Leber, wie sie für Steatohepatitis beschrieben wurden, beobachtet. Unter anderem haben diese Veränderungen zur Folge, dass Enzyme des endoplasmatischen Retikulums (Hämoxxygenase, Cytochrom P450 2a5 [Cyp2a5]) in Mitochondrien einwandern und dort auch aktiv sind. Die biologische Bedeutung dieses Vorgangs ist noch nicht bekannt, sie unterstützt wohl die Kompensation des Ausfalls der Succinatdehydrogenase, der die mitochondriale ATP-Produktion stark einschränkt. Wir wollen mit Cyp2a5-Knockout Mäusen insbesondere die (mitochondriale) Funktion dieses Enzyms verstehen: zum einen ist es wichtig, in diesem Fall die eventuell auftretenden Kompensationsmechanismen zu identifizieren, andererseits kann sich der Ausfall des Enzyms auf die hohe Langzeittoleranz des chronischen Leberschadens im Mausmodell auswirken, und damit wichtige Hinweise zur Ursache der klinischen Unauffälligkeit und eventuell zur konservativen Behandlung humaner Steatohepatitis geben.

Gleichzeitig sollen die homozygoten Wildtyp- und Knockout-Mauslinien durch Zucht weiter erhalten werden (je 9 Zuchttiere plus temporär je 50 Tiere aus denen weitere Zuchttiere selektiert werden).

zu erwartender Nutzen: Vertieftes Verständnis für die Rolle des Cyp2a5 und seines humanen Orthologs Cyp2A6 bei der Entstehung der Steatohepatitis.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Bei den Tieren wird ein der humanen Steatohepatitis ähnlicher Leberschaden induziert, der sie aber nach bisherigen Beobachtungen und Daten bis zum Ende des Versuchs in ihrer Vitalität und ihrem Verhalten nicht beeinträchtigt, da die Leber ein weitgehend schmerzunempfindliches Organ ist, und das Organ die Schädigung kompensieren kann.

2. Art und Anzahl der Tiere

Im Experiment werden 50, für die Erhaltungszucht werden insgesamt 600 Mäuse in 24 Monaten verwendet.

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

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

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

Verfeinerung: Für das Wohl der Tiere wird durch veterinärmedizinische Überwachung und erfahrenes Tierpflegepersonal Sorge getragen.

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

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

Die Huntington Krankheit (Chorea Huntington, Veitstanz oder engl. Huntington Disease, HD) ist eine autosomal dominant vererbliche, neurodegenerative Erkrankung mit breitem Symptomenspektrum und tödlichem Ausgang. Die Krankheitssymptome lassen sich in die verschiedenen Kategorien (1) Motorfunktionsstörungen, (2) psychiatrische Veränderungen, (3) kognitive Funktionseinbußen und (4) metabolische Auffälligkeiten einteilen. HD ist eine Trinukleotidkrankheit. Bei gesunden Menschen wiederholt sich das Basentriplett CAG circa 9–34 Mal im betroffenen Huntingtin Gen. Tripletwiederholungen von mehr als 35 CAGs führen zur Ausprägung der HD. Je mehr Wiederholungen vorliegen, umso früher und schwerwiegender tritt die Krankheit auf. Im Durchschnitt erkranken HD-Patienten mit 40–50 Jahren und erleiden den frühzeitigen Tod 10–20 Jahre nach Einsetzen der klinischen Symptome. Derzeit gibt es keine Therapie, die das Ausbrechen der HD verzögern oder gar verhindern könnte. Im vorliegenden Projekt soll der Verhaltensphänotyp der BACHD-Ratte weiter charakterisiert werden. Es sollen vor allem weitere Messparameter und Messprotokolle geprüft werden, die zur Beurteilung potentieller Therapeutika in präklinischen Studien eingesetzt werden können. Ferner wird dabei auch Grundlagenforschung betrieben, da die Pathogenese beim Menschen bislang nur unvollständig verstanden ist. Die Versuche sind unerlässlich, da sowohl die Grundlagenforschung als auch die Testung von Medikamenten zunächst im Tiermodell durchgeführt werden muss.

zu erwartender Schaden: In dieser Studie sollen männliche transgene BACHD Ratten im Alter von 17–18 Monaten in unterschiedlichen Tests auf ihre Ängstlichkeit, Nestbauverhalten, Körpergewicht, Futter- und Wasserkonsum sowie Glukosetoleranz untersucht werden. Im Anschluss werden die Tiere euthanasiert und Gewebe für biochemische und histologische Untersuchungen entnommen.

zu erwartender Nutzen: Ziel dieser Untersuchung ist es, diese Tiere nach erfolgreicher Verhaltens- und metabolischer Charakterisierung unseren Kunden zur Austestung neuer, potentieller Therapeutika anbieten zu können.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie werden insgesamt 10 Huntington Ratten und 10 nicht transgene Ratten beantragt.

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

Um die Huntington Krankheit erfolgreich zu behandeln, ist es erforderlich auf Tiermodelle zurück zu greifen. Ersatzmethoden wie z.B. Zellkulturen können zwar Ansätze liefern, für weitere Schritte müssen jedoch Tiermodelle zum Einsatz kommen um möglichst vergleichbare Resultate zum Menschen zu erzielen. Bereits vorhandene Tiermodelle wie z.B. die R6/2 Maus sind nicht sehr gut für die Testung neuer Medikamente geeignet, da dieses Modell bereits frühzeitig starke Defizite aufweist. Zusätzlich eignen sich Ratten auf Grund ihrer Lernfähigkeit und Sozialverhaltens besser für Verhaltenstests als Mäuse. Nur durch die Charakterisierung von neu entwickelten Huntington Ratten kann es möglich sein, im Anschluss neue und effiziente Medikamente gegen die Huntington Erkrankung zu testen.

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

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

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

2. Art und Anzahl der Tiere

Die zu untersuchenden Tiere im dreijährigen Projekt sind 198 db/db (diabetische) Mäuse.

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

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

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

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

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

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

zu erwartender Schaden für die Tiere: Unter Narkose werden Elektroden lokalisiert ins Gehirn implantiert. Die Operation ist nur kurzfristig als mittlere Belastung einzustufen. Während der Rekonvaleszenz sind keine physiologischen (Stresshormone) oder Verhaltensänderungen zu erkennen, die auf Schmerzen hinweisen. Im weiteren Verlauf wird die Lern- und Gedächtnisleistung der Tiere untersucht, bei diesen Untersuchungen muss die Schmerzfreiheit Bedingung sein.

2. Art und Anzahl der Tiere

Ratten (Sprague Dawley): 900

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

Vermeidung: Die Vielzahl der synthetisierten Substanzen wird zunächst in Zellkulturen auf ihre Spezifität und Effektivität zur Dopaminwiederaufnahme getestet. Ausschließlich die vielversprechendsten Substanzen werden dann *in vivo* im wachen, freibeweglichen und lernenden Tier getestet. Die Verhaltens- und Gehirnkplexität der Ratte sind nötig, um Rückschlüsse auf den Menschen zu erlauben. Die hippocampale LTP wird wesentlich durch extrahippokampale Strukturen beeinflusst, deren Afferenzen jedoch in postmortalen Schnittpräparaten nicht feststellbar sind.

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

Verfeinerung: Unter unseren Versuchsbedingungen sind bei den Tieren postoperativ keine Anzeichen von Schmerzen (Stresshormone, Verhaltensänderungen) zu erkennen. Werden solche Anzeichen bei einzelnen Tieren erkannt, werden diese schmerzlos getötet.

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

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

Altersbedingte degenerative Veränderungen im Kieferknochen als Ursache oder als Folge von Zahnverlust sind durch die erfreulicherweise steigende Lebenserwartung der Bevölkerung zu einer medizinischen und gesellschaftspolitischen Herausforderung geworden. Die Transplantation von Eigenknochen zum Ersatz der verlorengegangenen knöchernen Strukturen wird nicht nur in der Zahnmedizin weltweit angewendet, sondern auch in weiten Bereichen der Orthopädie und Unfallchirurgie. Mit der Entnahme des Eigenknochens sind jedoch klare Nachteile verbunden: Schmerzen, Infektionen und die limitierte Knochenmenge die oft komplexe Eingriffe notwendig machen. Es ist daher nicht verwunderlich, dass an der Entwicklung von Knochenersatzmaterialien intensiv geforscht wird. Bislang ist es jedoch nicht gelungen die hervorragenden Eigenschaften des Eigenknochens in ein Knochenersatzmaterial zu übertragen.

Wir haben einen neuen Ansatz entwickelt, um die Eigenschaften des Eigenknochens in ein Knochenersatzmaterial zu übertragen. Grundlage dafür ist die biologische Aktivität, die vom Eigenknochen freigesetzt wird. Wir haben bereits erste überzeugende Ergebnisse zur Charakterisierung der biologischen Aktivität des Knochens publiziert, die für die klinische Anwendung vielversprechend sind. Unsere Vision ist es, diese biologische Aktivität noch besser zu verstehen und die Erkenntnisse in die Entwicklung von Knochenersatzmaterial einfließen zu lassen. Konkret wollen wir wissen, ob es gelingt, diese Aktivität zur Förderung der Knochenregeneration in präklinischen Studien einzusetzen.

zu erwartender Nutzen: Die Gewinnung von Eigenknochen für Transplantationen ist mit diversen Nachteilen verbunden. Die Knochenersatzmaterialien werden zwar weltweit verwendet, trotzdem sind die Eigenschaften des Eigenknochens bisher nicht erreicht worden. Das neue Konzept verbindet die Eigenschaften und erlaubt so, Knochenersatzmaterialien mit den Eigenschaften von Eigenknochen auszustatten. Dieses Konzept soll überprüft werden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Es wird darauf geachtet, durch gewohnte Umgebung und fürsorgliche Pflege den Stress der Tiere so gering wie möglich zu halten. Die Operation, bei der die Knochenersatzmaterialien in einen Defekt an der Schädelkallotte eingebracht werden, wird von den Tieren gut vertragen und erfolgt unter Vollnarkose mit postoperativer Schmerzbehandlung. Insgesamt stellt der Versuch eine mittlere Belastung für die Tiere dar.

2. Art und Anzahl der Tiere

36 adulten, weiblichen Sprague Dawley -Ratten

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

Die Versuchsplanung basiert auf einer Vielzahl vorangegangener *in vitro* Studien, deren Umsetzung in Bezug auf die zu erwartende Förderung der Knochenregeneration das Tiermodell erfordert. Die Anzahl der Versuchstiere ist für ein Pilotexperiment ausgelegt, also mit nur einem Beobachtungszeitpunkt. Es wurde auf mehrere Beobachtungszeitpunkte verzichtet, da die meisten Umbauvorgänge nach 21 Tagen zu erwarten sind. Die Analysemethoden sind auf dem aktuellen Stand der Technik und bestens etabliert.

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

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

Im beantragten Projekt soll die zelluläre Immunantwort in unterschiedlichen Kompartimenten des Respirationstraktes während einer persistenten Infektion mit *Actinobacillus pleuropneumoniae* (*A.pp.*) detailliert untersucht werden. Zusätzlich werden Mechanismen analysiert, die es dem Erreger ermöglichen sich dem Immunsystem zu entziehen und so Schweine persistent zu besiedeln.

zu erwartender Nutzen: Detaillierte Kenntnisse über die Immunantwort gegen *A.pp.* sowie über immune-escape Mechanismen des Erregers können künftig hilfreich bei der Bekämpfung von *A.pp.* sein. Langfristig wird die Entwicklung von hochwirksamen Impfstoffen angestrebt, die eine persistente Infektion mit allen daraus resultierenden negativen Folgen für das Schwein verhindern. Die Ergebnisse dieser Studie liefern wertvolle Informationen für die Entwicklung solcher Impfstoffe.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Durch die experimentelle *A.pp.* Infektion, kann es zu einem Anstieg der inneren Körpertemperatur und respiratorischen Symptomen kommen. Die Belastung bei den Probenahmen wird als „gering“ eingestuft. Der Schweregrad des beantragten Projekts wird auf Grund der Infektion insgesamt als "schwer" eingestuft.

2. Art und Anzahl der Tiere

60 Schweine

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

Vermeidung: Vorangegangene Laborexperimente legen die Vermutung nahe, dass sich das bakterielle Expressionsmuster von *A.pp.* während der chronischen Krankheitsphase verändert. Es stehen bis dato keine adäquaten Tierversuchsfreien Ersatzmethoden zur Verfügung, um die komplexen Erreger-Wirt Interaktionen während dieser Persistenzphase der Infektion zu untersuchen.

Verminderung: Durch aufwendige Laboranalysen wird die Anzahl der verwendeten Tiere auf ein statistisch vertretbares Minimum beschränkt. Es wird zu allen Probenahmezeitpunkten ausreichend Material gewonnen, um neben *ex-vivo* Analysen auch Probenmaterial für spätere Versuche kryokonservieren zu können. Dadurch wird einer Wiederholung des Tierexperiments vorgebeugt.

Verfeinerung: Während des gesamten Tierexperiments, wird auf die physiologischen Bedürfnisse des Schweins Rücksicht genommen. Die Schweine werden in Kleingruppen aufgestellt und haben ständig Zugang zu frischem Wasser und Futter. Die Einhaltung einer einwöchigen Adaptationsphase ermöglicht den Tieren die Gewöhnung an die neue Umgebung. Beschäftigungsmaterial in Form von Ketten, Beißkugeln und -ringen wird zur Verfügung gestellt. Das Wohlergehen der Tiere und die Funktionstüchtigkeit der Einheit werden täglich durch geeignetes Personal überprüft. Probenahmen werden auf ein nötiges Minimum beschränkt. Bei Auftreten von Schmerzen und Leiden werden die Tiere umgehend mit geeigneten Analgetika und Antibiotika behandelt. Kriterien zum Abbruch des Tierexperiments sind festgelegt.

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

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

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

Herz-Kreislauf-Erkrankungen, wie Bluthochdruck und Herzinfarkt, gehören zu den häufigsten Todesursachen in Industrienationen. Oft stehen sie in Verbindung mit Übergewicht und Diabetes. Ein besseres Verständnis für die Zusammenhänge zwischen Fettstoffwechsel und Herzfunktion ist notwendig, um neue Therapieansätze zu finden. Innerhalb dieses Projektes sollen biochemische Abläufe während der Entstehung von Herz-Kreislauserkrankungen anhand eines speziellen Mausmodells untersucht werden. Sogenannten Knock-out-Mäusen fehlt ein wichtiges Enzym im Fettstoffwechsel, wodurch es zu einer vermehrten Ansammlung von Fetttröpfchen in unterschiedlichen Geweben dieser Tiere kommt. Im Herzen führt das Fehlen dieses Enzymes zu massiven Einschränkungen der Herzfunktion. Neue Erkenntnisse unserer Arbeitsgruppe weisen auf eine entscheidende Rolle von oxidativem Stress in der Entwicklung dieses Krankheitsbildes hin.

zu erwartender Schaden: Durch Fütterung der Knockout-Mäuse mit einer natürlich vorkommenden Aminosäure, einem Antioxidans und einer entzündungshemmenden Substanz soll die Herzfunktion der Tiere verbessert werden. Die Substanzen werden von den Tieren erfahrungsgemäß gut vertragen. Biochemischen und funktionellen Untersuchungen werden an *post mortem* entnommenem Gewebe vorgenommen.

zu erwartender Nutzen: Die Ergebnisse dieser Versuche erlauben es Rückschlüsse auf entscheidende biochemische Ereignisse, die in der Entwicklung von Herzerkrankungen beteiligt sind, zu ziehen. Diese Erkenntnisse könnten wichtige Anhaltspunkte für die Entwicklung von Medikamenten aufzeigen.

2. Art und Anzahl der Tiere

240 Mäuse

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

Derzeit sind keine adäquaten Alternativmethoden verfügbar, um die vorliegende Fragestellung hinreichend zu untersuchen. Dies gilt im Besonderen für komplexe Wechselwirkungen zwischen Gefäß- und Herzfunktion, welche im Zellmodell nur bedingt bzw. gar nicht beforscht werden können. Im Hinblick auf die enorme Zahl von kardiovaskulären Komplikationen in Folge des humanen metabolischen Syndroms scheint die Aufklärung der zugrundeliegenden Mechanismen am Tiermodell aber von klinischer Relevanz zu sein. Intensive Literaturrecherchen ergab keinerlei Hinweise darauf, dass die für diese Studie geplanten Versuche bereits von anderen Forschungsgruppen/-einrichtungen durchgeführt worden sind. Beim Design der Studie wurde besonders Wert auf die Minimierung der Tierzahl gelegt. Dies erfolgte durch genaueste statistische Berechnungen, verbesserte Zuchtplanung und Optimierung der biochemischen Methoden mit Hilfe von *in vitro* Systemen. Um das Leid der Tiere so gering wie möglich zu halten, werden die meisten Substanzen über das Trinkwasser/oral verabreicht. Biochemische und funktionelle Analysen werden erst nach schmerzfreier Tötung der Tiere durchgeführt. Durch dieses Vorgehen wird der Stress der Tiere minimiert. Die Tiere werden durch einen geschulten und erfahrenen Tierpfleger betreut und ihr Wohlbefinden wird regelmäßig kontrolliert.

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

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

Ziel dieses Projektes ist die Bereitstellung von Infektionsstadien von *Toxoplasma gondii*, einem weltweit verbreiteten einzelligen Parasiten bei Katzen, der viele Haustiere und auch den Menschen (=Zwischenwirte) infizieren kann. Diese Stadien, so genannte Oozysten, entstehen ausschließlich im Darm von Katzen und werden mit dem Kot ausgeschieden, aus dem sie isoliert und gesammelt werden können. Diese Oozysten stellen das initiale Infektionsstadium für den Menschen und pflanzenfressende Haustiere dar. Laufende Studien haben ergeben, dass dieses Stadium für die Ausbildung der Immunität von großer Bedeutung ist. Daher soll in dem Projekt Material für die Herstellung von Oozysten-Lysaten gewonnen und bereitgestellt werden, um die genauen Bestandteile, die für die Immunitätsbildung verantwortlich sind, zu charakterisieren. Da Oozysten nicht *in vitro* hergestellt und nicht kommerziell erhältlich sind, müssen sie in Tierpassagen gewonnen werden. Dazu werden Mäuse als natürlicher Zwischenwirt mit Parasiten infiziert. In ihnen reifen parasitäre Gewebestadien heran, die als natürliche Infektionsquelle für die Katzen dienen. Durch Verfütterung der Mäuse an die Katzen werden diese infiziert und bilden im Darm die Oozysten aus. Damit ist der Infektionszyklus geschlossen.

zu erwartender Nutzen: Lysate von Oozysten dienen als Grundlage für die Erforschung von Antigenen von *T. gondii* als mögliche Vakzinekandidaten. Da dieser Parasit weltweit verbreitet ist und für Mensch und Tiere sehr pathogen sein kann wäre eine Impfung eine möglich Methode zur Kontrolle dieses Erregers.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Mäuse (Stamm OF, 10 Wochen alt) erleiden bei der gewählten Infektionsdosis eine vorübergehende klinische Toxoplasmose mit Appetitlosigkeit und Abgeschlagenheit für 1-2 Tage. Für die Infektion von Katzen müssen die Mäuse getötet werden. Katzen scheiden die Erreger als symptomlose Träger aus, erkranken nicht und können nach Versuchsende in Privathaltung abgegeben werden. Belastungsgrad: Katzen: 1, Mäuse: 2

2. Art und Anzahl der Tiere

70 Mäuse, 12 Katzen

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

Vermeidung: Es werden nur so viele Tiere verwendet, bis die benötigte Menge an Lysat hergestellt werden kann, max. 12 Katzen/70 Mäuse, die in mehreren Durchgängen verwendet werden.

Verminderung: Die Mäuse werden mit geringen Dosen von Parasiten infiziert und erkranken wenn überhaupt nur vorübergehend und leicht. Alle Tiere werden während des Versuchs täglich mehrfach beobachtet und sind tierärztlicher Kontrolle. Eine Einzelhaltung oder Käfighaltung (Katzen) ist nicht notwendig, da alle Katzen die Katzentoilette benutzen, aus der der Kot aufgesammelt wird.

Verfeinerung: Die Mäuse werden während des Versuchs in Gruppen in Nagerkäfigen mit Beschäftigung gehalten. Die Katzen werden in Gruppen von 2-6 Tieren gehalten und erhalten Spielzeug und Kratzbäume zur Beschäftigung. Letztere werden über das Futter infiziert, Zwangsmaßnahmen sind nicht notwendig.

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

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

Das Leberkarzinom (HCC) ist weltweit einer der häufigsten Krebsformen. Wegen der praktisch weltweit zunehmenden Fettleibigkeit sowie Infektionen mit Hepatitis C steigt die Zahl der HCC stetig. Therapieoptionen, v.a. in den späteren Stadien der Erkrankung sind äußerst limitiert, es besteht ein dringender Bedarf an neuen therapeutischen Konzepten im Kampf gegen den Leberkrebs und seiner Metastasierung. Wir haben in einem großen vorangegangenen Projekt monoklonale Antikörper entwickelt, die ein entzündliches und bekanntermaßen krebs- und metastasenförderndes körpereigenes Protein in einer besonders aktiven Form blockieren können. Wir haben diese Blockade in verschiedenen Zellkulturversuchen nachgewiesen und streben nun an, eine krebshemmende Wirkung dieser Antikörper zu untersuchen. Dazu werden HCC Zellen in immundefiziente Mäuse injiziert und Antikörper verabreicht. Die Tumorentstehung und metastatische Kolonienbildung wird nach Antikörperbehandlung makroskopisch, histologisch, zell- und molekularbiologisch analysiert. Durch diese Tierversuche kann die Wirksamkeit der Antikörper *in vivo* gegen Leberkarzinomzellen bestimmt werden, um in weiterer Folge neue verbesserte Therapien zur Leberkrebsbekämpfung zu entwickeln.

zu erwartender Nutzen: Evaluierung einer neuen Therapiemöglichkeit für eine der häufigsten Krebsformen des Menschen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere erleiden eine Krebserkrankung in abgemilderter (Tumor unter der Haut, Metastasen nur mit molekularen Methoden nachweisbar) Form.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden im Maximalfall 334 Mäuse benötigt.

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

Vermeidung: Es wurden weitest gehende Zellkulturexperimente im Vorfeld durchgeführt, um zu gewährleisten, dass nur notwendige und sinnvolle Ansätze im Tierversuch erprobt werden. Die hier beantragten Krebs-Tiermodelle können nicht ersetzt werden, da Studien zur *in vivo* Wirksamkeit von Antikörpern Versuche am Tier benötigen. Sollten sich jedoch in den ersten Phasen der Studie Modelle oder Antikörper als unbrauchbar erweisen, wird der entsprechende Ansatz nicht weiter verfolgt. Somit werden durch einen stufenförmigen Aufbau des beantragten Projekts nicht notwendige Tierversuche a priori vermieden.

Verminderung: Die benötigten Modelle sind gut erprobt, wodurch keine Vortests erforderlich sind und eine geringe Versuchstierzahl notwendig ist. Die Tierhaltung und das methodische Vorgehen werden standardisiert, sodass die Streuung der Ergebnisse und somit die Anzahl an Versuchstieren minimiert werden.

Verfeinerung: Alle Eingriffe an den Versuchstieren werden durch erfahrene Mitarbeiter unter humanen Bedingungen nach dem letzten Wissensstand bezüglich Verminderung, Vermeidung und Linderung jeglichen Leidens der Tiere durchgeführt. Diese Vorgangsweise reduziert das Leiden der Tiere auf ein absolutes Minimum.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 28. Februar 2019 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

Das Projekt dient der Prüfung auf das Vorhandensein pyrogener Substanzen in Endprodukten, Vakzinen, Zwischenprodukten und Rohstoffen. QC-Test für Freigabe von Plasmaprodukten und von Vakzinen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Die Arzneimittel sollen der Vorbeugung oder Behandlung potentiell lebensbedrohlicher Erkrankungen dienen, weshalb die Verwendung von max. 21.000 Kaninchen für 3 Jahre gerechtfertigt ist.

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

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

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

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

Innerhalb der letzten zwei Jahrzehnte ist ein weltweiter Anstieg der Totgeburtenrate von Kälbern zu verzeichnen. Im Jahr 2013 wurde unter anderem für Österreich eine Totgeburtenrate von 5,3 %, für Deutschland von 7,1 % ermittelt. Dies ist gleichbedeutend mit jährlich ca. 26.000 bzw. 98.000 bereits innerhalb der ersten 48 Stunden nach der Geburt verendeter Kälber.

Das Ziel der vorliegenden Studie ist es, die physiologischen und pathologischen Veränderungen der Vitalparameter von Kälbern unter der Geburt zu ermitteln. Zu diesem Zweck sollen die Grundbausteine eines aus der Humanmedizin stammenden Sensorsystems derart modifiziert werden, dass es den Anforderungen der Kälberphysiologie unter der Geburt entspricht. Im Studienverlauf sollen die Einsatzmöglichkeiten, Genauigkeit und Praktikabilität dieses nicht-invasiven Systems hinsichtlich einer Verminderung der Totgeburtenraten getestet werden. Mittels der gewonnenen Erkenntnisse sollen daraufhin Empfehlungen für TierärztInnen und LandwirtInnen erarbeitet werden, ob ein Eingriff in den Geburtsablauf erforderlich ist oder nicht.

zu erwartender Nutzen: Das Ziel der Studie ist eine frühzeitige Erkennung von Problemgeburten. Durch ein zielgerechtes Eingreifen in die Geburt soll die Totgeburtenrate bei Kälbern gesenkt werden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Das Anbringen eines Pulsoximeters am Kalb beeinträchtigt den Geburtsablauf minimal. Die Entnahme einer arteriellen und venösen Vergleichsblutprobe beinhaltet eine geringe Belastung für das Kalb. Eine Gefährdung der Gesundheit von Muttertier und Kalb ist nicht zu erwarten.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für das Projekt sind die Erfassung der Vitalparameter von 50 Kälbern unter der Geburt sowie ein direkter Vergleich mit den am Kalb ermittelten Blutgasparametern vorgesehen.

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

Vermeidung: Im Versuch sollen die physiologischen Verläufe von Herzfrequenz und Sauerstoffsättigung von Kälbern unter der Geburt ermittelt werden. Derartige Verläufe sind mit alternativen Systemen, anderen Tierarten bzw. zu alternativen Zeitpunkten nicht nachzustellen und nur an lebenden Tieren zu untersuchen.

Verminderung: Alle invasiven Eingriffe werden von VeterinärmedizinerInnen durchgeführt. Die Tiere werden kontinuierlich auf Zeichen von Schmerz, Stress und einer Verschlechterung des Allgemeinzustandes hin untersucht und falls erforderlich erfolgt eine sofortige Einleitung von Gegenmaßnahmen. Die mit dem kontinuierlichen Monitoring und der Probenentnahme einhergehenden Belastungen sind für die Tiere minimal.

Verfeinerung: Die technische, nicht-invasive Überwachung der Geburt durch das pulsoximetrische Verfahren dient zur Verfeinerung der Tierbeobachtung durch den Tierbesitzer mit dem Ziel der frühzeitigen Erkennung pathologischer Zustände beim Kalb sowie ggf. bei dessen Muttertier.

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

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

Die Darmflora (intestinales Mikrobiom) spielt für einen gesunden Organismus eine wesentliche Rolle, ist sie beeinträchtigt, kann dies vielerlei Erkrankungen begünstigen oder auslösen. Man geht davon aus, dass das gesunde intestinale Mikrobiom aus mehreren hundert verschiedenen Bakterienstämmen aufgebaut ist, deren Zusammenspiel wie in einem Ökosystem durch hohe Diversität begünstigt wird. Verschiedene Erkrankungen, aber auch Therapie mit Antibiotika führen zu einer oft massiven Reduktion dieser Diversität, was auch das Aufkommen oder die Neubesiedlung mit pathogenen Keimen begünstigt, und damit schwere Darmerkrankungen nach sich zieht. Daher ist es in solchen Fällen wichtig, durch geeignete Maßnahmen die Diversität der Arten im intestinalen Mikrobiom nach Beendigung der Therapie zu fördern, da eine komplette Stabilisierung sonst mehrere Wochen, in bestimmten Fällen noch viel länger dauern kann. In früheren Versuchen haben wir gefunden, dass die Zufuhr bestimmter natürlicher Minerale die Diversität prinzipiell begünstigt. In einem Versuch an Mäusen, in dem Antibiotika mit dem Trinkwasser verabreicht werden, wollen wir nun zeigen, dass diese Mineralien auch nach Antibiotikatherapie das intestinale Mikrobiom schneller wieder in seinen natürlichen Zustand zurückführen.

zu erwartender Nutzen: Die Neubesiedlung des Darms nach erfolgter Antibiotikabehandlung soll möglichst rasch passieren, um das Aufkommen pathogener Keime zu unterbinden und das Entstehen von Folgeerkrankungen zu verhindern. Wenn dies durch natürliche Mineralien beschleunigt werden kann, so ist ein wesentliches Problem der Antibiotikatherapie entschärft.

zu erwartender Schaden: Die Tiere werden modellhaft einer Antibiotikatherapie mit den möglichen Folgeerscheinungen, wie Darmentzündungen, unterzogen. Diese Erscheinungen klingen im Lauf der Neubesiedlung des Darms mit intestinaler Mikroflora mehr oder weniger rasch ab (etwa 3 Wochen). Der Schweregrad der Experimente wird als gering eingestuft.

2. Art und Anzahl der Tiere

Im Experiment werden 140 Mäuse in verwendet.

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

Vermeidung: Die Diversität und Integrität des intestinalen Mikrobioms hängt von einer Vielzahl, generell durch den Wirt bestimmten, Faktoren ab, die nur in einem intakten Organismus gegeben ist. Selbst bei exakter Kenntnis oder gar Explantation des intestinalen Ökosystems kann ein *ex vivo* Versuch keine korrekten Erkenntnisse liefern, daher sind Ersatzmethoden für diese Art von Versuchen nicht vorhanden. Der Schweregrad der Experimente ist als gering anzusetzen.

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 erfahrene Tierpflegepersonal Sorge getragen.

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

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

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

2. Art und Anzahl der Tiere

Im vierjährigen Projekt werden maximal 743 Sprague Dawley Ratten untersucht.

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

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

Eine rückblickende Bewertung ist jährlich sowie nach Projektabschluss, bis spätestens 31. Dezember 2020 vorgesehen.

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

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

zu erwartender Nutzen: Chronische virale Leberinfektionen durch das Hepatitis B Virus und Hepatitis C Virus stellen eine große Bedrohung für die menschliche Gesundheit dar. Häufige klinische Komplikationen sind dabei Leberfibrose, Zirrhose sowie auch die Entstehung von Leberkrebs. Das Wissen über die dabei involvierten molekularen Mechanismen und den sich gegenseitig beeinflussenden Dynamiken von Virus sowie dem Immunsystem ist immer noch mangelhaft und stellt eine große Herausforderung für die Forschung dar. Manche eingeschränkte Fragestellungen zu Virusinfektionen von z.B. Hepatozyten können wir mittels Zellkultur in der Petrischale beantworten. Im Hinblick auf systemische und klinisch-relevanten Erkrankungen ist es jedoch unerlässlich, Tiermodelle zu verwenden, die verschiedenen kommunizierenden Organsysteme darzustellen und möglichst große Ähnlichkeit zum humanen Erkrankungsbild besitzen. Die damit gewonnenen neuen Erkenntnisse sollen neue Ziele für Behandlungswege aufzeigen, die zu verbesserten präventiven und Krankheitsreduzierenden Therapieformen für virale Hepatitis führen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Versuche gehen mit für einen Infektionsverlauf zu erwartenden Symptomen wie Apathie, Gewichtsverlust und erhöhte Entzündungsmarker einher. In der Regel klingen diese Symptome jedoch nach der ersten Woche ab und die Tiere zeigen in weiterer Folge kaum klinische Auffälligkeiten.

2. Art und Anzahl der Tiere

Wir verwenden Virusinfektionsmodelle in der Maus, die in der Vergangenheit zu wesentlichen human-relevanten Erkenntnissen geführt haben. Durch die Untersuchung von Mausstämmen, denen definierte Teile des Genoms fehlen, planen wir die Rolle und Funktion einzelner Gene und deren Rolle in Metabolismus und Entzündungsgeschehen während viraler Hepatitis zu untersuchen. Wir planen dazu 2140 Labormäuse unterschiedlichen Genotyps einzusetzen, um ein besseres Verständnis zu erlangen, welche Mechanismen den Krankheitsverlauf von viraler Hepatitis beeinflussen.

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

Vermeidung: Zur Vermeidung verwenden wir Zellkultur-Systeme wo möglich, um die zelluläre Antwort auf Infektionen zu untersuchen.

Verminderung: Zur Reduktion der Tierzahlen verwenden wir international anerkannte etablierte Infektionsmodelle mit standardisierten Haltungs- und Versuchsbedingungen, um die experimentelle Variabilität so gering wie möglich zu halten und damit die Tierzahl auf das notwendige Minimum zu reduzieren.

Verfeinerung: Zur Verfeinerung werden die Tiere täglich beobachtet hinsichtlich Anzeichen von Schmerz und Krankheit. Weiters haben wir Abbruchkriterien festgelegt sowie arbeiten mit erfahrenen Wissenschaftlern aus den jeweiligen Bereichen zusammen, um die experimentellen Abläufe kontinuierlich zu verbessern.

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

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

Das Ziel des geplanten Projektes besteht darin, den Einfluss des Immunsystems auf die Ausprägung von Winterschlaf-Rhythmus zu untersuchen. Die Hauptfragestellung gliedert sich dabei in drei spezifische Ziele: 1.) Den Effekt einer systemischen bakteriellen Infektion auf das Einsetzen des Winterschlafs zu eruieren. 2.) Informationen über die Dynamik des Immunsystems während des Winterschlafs zu erhalten. 3.) Den Effekt von unterschiedlichen Umweltbedingungen und den damit veränderten Wachstumsverhalten von Bakterien auf die Aktivierung des Immunsystems und in weiterer Folge auf Winterschlafrhythmen zu testen.

zu erwartender Schaden: Um den Einfluss einer bakteriellen Infektion auf den Winterschlaf zu untersuchen werden experimentelle Infektionen durchgeführt. Das Pilotprojekt dient zur realistischen Einschätzung und gleichzeitig zur Minimierung der zu erwartenden Symptomatik einer bakteriellen Infektion wie Mattigkeit, Fieber und Gewichtsverlust.

zu erwartender Nutzen: Diese Projekt wird neue Erkenntnisse im Bereich der Öko-Immunologie bzw. im Bereich der Winterschlafforschung bringen. Die Beantwortung der im Zuge dieses Projektes untersuchten Fragestellung wird dazu beitragen, die Rolle des Immunsystems in Verbindung mit den zyklischen Erwärmungsphasen im Winterschlaf bzw. das Einsetzen des Winterschlafs besser zu verstehen. Die gewonnenen Informationen sind nicht nur für Winterschläfer mit ihren großen Körpertemperatur- (T_b)-schwankungen von Relevanz, sondern auch für alle anderen Säuger und Vögel, die weniger großen T_b-schwankungen unterliegen. Darüber hinaus liefert dieses Projekt Informationen über die Dynamik einer bakteriellen Infektion eines Organismus, der sich in einer Immunimbalance befindet und kann somit zu einem besseren Verständnis des Immunsystems, bei z.B. künstlicher Hypothermie, beitragen, die bei verschiedenen Operationstechniken angewandt wird.

2. Art und Anzahl der Tiere

24 Gartenschläfer (*Eliomys quercinus*)

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

Replacement: Das Ziel der vorgeschlagenen Studie ist die Untersuchung der Physiologie von kleinen Nagern im bzw. vor dem Winterschlaf. Daher ist es nicht möglich die Verwendung von Tieren durch Alternativmethoden wie Zellkulturen oder Computermodelle zu ersetzen.

Reduction: Das hier beantragte Pilotprojekt trägt bereits zur Reduktion der verwendeten Tierzahlen bzw. zur Vermeidung der Verwendung eines ungeeigneten Pathogens in einem größeren Rahmen bei. Die Anzahl von Tieren, die pro Messzeitpunkt erforderlich ist, um signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen in Bezug auf die zu untersuchenden Parameter detektieren, wurde mittels statistischer Poweranalyse bestimmt.

Refinement: Die Nesttemperatur der Tiere wird während des Winterschlafs kontinuierlich überwacht, sodass eine genaue Bestimmung des Winterschlafrythmus möglich ist. Die Überwachung erfolgt ohne unnötige Störung und Manipulation.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 28. Februar 2019 vorgesehen.

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

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

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

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden maximal 198 Hausschweine untersucht.

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

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

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

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

Das Projektziel liegt darin, zahlreiche Mauslinien über den Weg von Embryotransfers zu sanieren, um einen höchstmöglichen Gesundheitsstatus für die Tiere zu erzielen. Dies ist notwendig für genauere Forschungsergebnisse und trägt daher auch maßgeblich zu einer Verringerung der Tierzahlen bei. Außerdem werden Mausembryonen eingefroren, um Mauslinien ohne genetische Veränderungen zu bewahren und reine Erhaltungszuchten zu vermeiden. Schließlich können dadurch auch Kooperationen mit anderen ForscherInnengruppen verbessert und die Anzahl der zu züchtenden Tiere verringert werden.

zu erwartender Nutzen: Die Belastungen der Tiere durch Krankheitskeime wird verringert und dadurch der Gesundheitszustand der Tiere verbessert. Zudem wird die Anzahl der Tiere durch Verringerung der Zuchtpopulationen deutlich reduziert. Insgesamt können diese Maßnahmen zu einer Verbesserung der Qualität der Forschungsergebnisse führen, da der Einfluss durch Krankheitskeime oder genetische Variationen großteils vermieden werden kann.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Spenderweibchen werden durch die Hormonbehandlung geringfügig belastet. Die Empfängerweibchen und Männchen werden fachgerecht narkotisiert und erfahren einen minimalen chirurgischen Eingriff. Zusätzlich erhalten diese Tiere eine umfassende Schmerzbehandlung, weshalb sie nach den operativen Eingriffen keine Schmerzen haben.

2. Art und Anzahl der Tiere

In einem Zeitraum von 5 Jahren werden voraussichtlich maximal 19.700 Mäuse verwendet werden. Es ist jedoch davon auszugehen, dass diese Maximalzahl nicht erreicht wird.

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

Vermeidung: Eine gänzliche Vermeidung von Tieren ist nicht möglich, da sowohl Mausweibchen als Spendertiere und Empfängertiere für Embryonen als auch vasktomisierte Mausmännchen notwendig sind.

Verminderung: Es wird darauf geachtet, dass die Anzahl der verwendeten Tiere so gering wie möglich ist und alle Eingriffe durch besonders geschultes Personal durchgeführt werden. Dadurch können mögliche Belastungen sowie vorzeitige Tötungen von Tieren weitgehend vermieden werden.

Verfeinerung: Die Haltung der Mäuse erfolgt in Gruppen von 3- 5 Tieren in einem ausreichend großen Käfig. Als Environmental Enrichment stehen den Tieren ein Maushäuschen als Rückzugsmöglichkeit und Nistmaterial zur Beschäftigung zur Verfügung.

Die operativen Eingriffe werden nur von fachlich geschulten Personen durchgeführt. Die Tiere werden fachgerecht narkotisiert. Während dieser Eingriffe wird mittels einer Wärmematte die Körpertemperatur im physiologischen Bereich gehalten. Die Augen der Tiere werden durch Auftragen einer Augensalbe vor dem Austrocknen geschützt. Während und nach den operativen Eingriffen erhalten die Tiere eine umfassende Schmerzbehandlung.

Vor, während und nach den Eingriffen werden die Tiere durch fachkundiges Tierpflegepersonal betreut, und das Wohlergehen der Tiere wird durch spezialisierte Tierärzte gewährleistet.

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

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

Ziel ist die Prüfung der Pharmakokinetik, Wirksamkeit und Verträglichkeit von Immunmodulatoren zur Behandlung von Autoimmunerkrankungen

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

2. Art und Anzahl der Tiere

Das Arzneimittel soll der Vorbeugung oder Behandlung potentiell lebensbedrohlicher Erkrankungen dienen, weshalb die Verwendung von 5000 Mäusen gerechtfertigt ist.

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

Das Projekt wurde im Hinblick auf Verminderung (Verwendung geringstmöglicher Tierzahlen bei aussagekräftigen Ergebnissen), Verbesserung (in Tierhaltung und –verwendung) geprüft; die komplette Vermeidung ist aufgrund der Komplexität der Erkrankung und Therapie nicht möglich. Die maximale Belastung wird als „mittel“ eingestuft, es erfolgt keine rückblickende 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

Glioblastoma multiforme (GBM) ist die häufigste und aggressivste Form von Hirntumor mit einer durchschnittlichen Lebenserwartung von 14,6 Monaten. Die aktuelle Behandlung eines GBM sieht je nach Größe und Lokalisierung des Tumors entweder eine Chemo-Strahlentherapie, oder einen operativen Eingriff mit anschließender Chemo-Strahlentherapie vor. Das einzige Medikament für eine Chemotherapie ist bis zum heutigen Stand Temozolomide, das ein funktionierendes DNA Reparatur System voraussetzt. In unseren Zellkulturversuchen haben wir bewiesen, dass Tumorzellen, welche über einen längeren Zeitraum Temozolomide verabreicht bekommen eine Resistenz entwickeln, indem sie zwei wesentliche DNA Reparatur Proteine vermehrt exprimieren und somit andere Signal- und alternative DNA Reparaturwege aktivieren. Um weitere Tests durchzuführen haben wir Temozolomide resistente Ziellinien etabliert. In verschiedenen molekularbiologischen Methoden konnten wir nach Einsatz unserer zwei neuen Substanzen in den resistenten Zellen eine Induktion von Zelltod nachweisen.

zu erwartender Nutzen: Wir möchten mit unserem Tierversuch beweisen, dass es mittels Inhibierung der beiden Proteine eine alternative Behandlungsmöglichkeit für GBM Patienten mit fortschreitender Temozolomideresistenz gibt und dadurch die Lebenserwartung erheblich anheben.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Nach Etablierung eines subcutanen nicht metastasierenden Tumors werden die Inhibitoren 2 mal pro Woche injiziert sowie wird das Tumorstadium dokumentiert. Nach maximal 8 Wochen bzw. einer Tumorstadiumgröße von maximal 1,5cm wird das Experiment beendet und die Tiere gemäß der Tierschutzverordnung betäubt und euthanisiert.

2. Art und Anzahl der Tiere

Balb/C Mice Strain: 144 Tiere

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

Vermeidung: Es wurden bereits alle *in vitro* Versuche durchgeführt, im speziellen Zellkulturversuche als auch Untersuchungen an Gewebe.

Verminderung: Alle Versuche werden mit fachspezifischen Personal (24h Betreuung durch ausgebildete Tierärzte als auch Tierpfleger) durchgeführt. Die Zahl der Versuchstiere pro Experiment und Gruppe werden auf das notwendige Minimum reduziert. Die Tierhaltung sowie das methodische Vorgehen erfolgen standardisiert, um eine minimale Streuung der Ergebnisse zu erzielen. Alle Tiere werden von einer zertifizierten Institution angekauft.

Verfeinerung: Es werden keine operativen Eingriffe an den Versuchstieren durchgeführt, ausschließlich mittels minimalen Injektionsmengen durch Spritzen wird der Tumor behandelt. Die Tiere werden auch in kleineren Gruppen gehalten, um ihr Wohlbefinden zu verbessern.

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

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

Die Proliferative Nierenerkrankung (PKD), verursacht durch den Parasiten, *Tetracapsuloides bryosalmonae*, aus der Gruppe der Myxozoa, stellt eine der wirtschaftlich bedeutendsten Krankheiten sowohl in der Aquakultur als auch bei Wildforellenpopulationen in Europa und Nordamerika dar. In Europa treten saisonale Ausbrüche in den Zuchtanlagen der Regenbogenforelle (*Oncorhynchus mykiss*) auf. Es sind zurzeit keine anwendbaren Behandlungsmethoden gegen PKD bekannt. Zudem erschwert der Entwicklungszyklus von PKD in zwei Wirten die Möglichkeit Fische zu behandeln und Erreger-Eradikation durchzuführen. Es ist jedoch bekannt, dass die Fische nach der ersten Infektion mit PKD Immunität bilden. Diese Kenntnisse bieten einen starken Impuls für die Entwicklung von Impfstoffen. Ziel dieses Antrags ist, die Schutzwirkung von vier DNA basierten Impfstoff-Kandidaten mit Hilfe eines *in vivo* Infektionsmodells zu testen.

Der *erwartete Nutzen* dieses Projekts, ist die Prüfung der Schutzwirkung von vier *Tetracapsuloides bryosalmonae* Antigenen *in vivo* unter kontrollierten Laborbedingungen.

Der *zu erwartende Schaden* entsteht durch die infektionsbedingte Erkrankung der Versuchsfische mit dem pathogenen Erreger und diese kann bis zu schwer belastend sein.

2. Art und Anzahl der Tiere

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

Anzahl der verwendeten Tiere: 308.

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

Vermeidung: Das Ziel dieser Studie ist es, die komplexe Interaktion zwischen dem Pathogen, *Tetracapsuloides bryosalmonae*, und den Immunparametern und der Gesundheit der Regenbogenforellen zu studieren. Da dies nicht *in vitro* simuliert werden kann, ist ein Tierversuch unvermeidlich.

Verminderung: Aufgrund von Erfahrungen mit anderen Fischpathogenen wurde die Anzahl der belasteten Fische so gewählt, dass möglichst wenige Fische infiziert werden müssen und dennoch aussagekräftige Ergebnisse zu erwarten sind.

Verfeinerung: Die Fische werden im Durchflusssystem gehalten um Stress zu vermeiden. Die Fische werden ad libitum gefüttert und mindestens zweimal täglich kontrolliert. Sollten klinische Erscheinungen (Schwarzverfärbung, Exophthalmus, Aufgetriebene Abdomen) auftreten, werden die Fische fachgerecht euthanasiert. Um Stress für die Fische möglichst gering zu halten, werden alle Interaktionen mit den Fischen auf ein Minimum reduziert.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. Oktober 2016 vorgesehen.

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

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

Elastographie ist ein Verfahren um mechanische Gewebeeigenschaften zu untersuchen. Eine Möglichkeit stellt dabei dar, das Zielgewebe mit einer Schwingung anzuregen und die sich ausbreitenden Wellen zu messen. Die Steifheit kann dann mathematisch bestimmt werden. In diesem Projekt sollen Augen kontaktlos oder zumindest nur unter indirekter Berührung durch das Unterlid mit Schallwellen angeregt werden. Dann soll die Bewegung der Schichten der hinteren Augenwand mit optischer Kohärenztomographie, ebenfalls kontaktlos, dargestellt werden. Diese Messungen finden unter Narkose statt. Das Ziel ist ein Wert für die Elastizität der Schichten der hinteren Augenwand.

zu erwartender Nutzen: Die Ergebnisse des Projektes sollen einen Beitrag zur Erforschung der Ursache der Glaukom-Erkrankung ("grüner Star") liefern. Das Glaukom zählt zu den häufigsten Erblindungsursachen weltweit. Es kann derzeit noch nicht kausal behandelt werden, sondern nur das Fortschreiten der Erkrankung verlangsamt werden. Dabei ist vor allem die Senkung eines erhöhten Augendruckes wichtig. Allerdings hat ein erhöhter Augendruck nicht bei allen Patienten dieselbe Auswirkung. Es wird angenommen, dass mechanische Charakteristika im Bereich der hinteren Augenwand eng mit individuellen Unterschieden zusammenhängen. Ein Verständnis über die Entstehung und die zugrunde liegenden Mechanismen sind grundlegend für die Entwicklung einer Therapie die es möglich macht die Sehfähigkeit zu erhalten.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere werden in Narkose ohne Wiederherstellung der Lebensfunktion versetzt. Es handelt sich um einen Terminalversuch.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für dieses Projekt werden insgesamt 40 männliche Ratten verwendet.

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

Vermeidung: Die optische Kohärenztomographie ist ein nicht invasives Verfahren. Derzeit ist kein ausreichend komplexes *in vitro* Ersatzmodell für die durchzuführenden Versuche verfügbar. Aufgrund des vielfältigen Umfeldes im Bereich der hinteren Augenwand, bei denen feine Druckunterschiede eine große Rolle spielen können, ist es notwendig, die Versuche an einem standardisierten Modell durchzuführen um aussagekräftige Daten zu erhalten.

Verminderung: Die Fallzahl wurde so gewählt, dass der Erhalt von aussagekräftigen Ergebnissen gewährleistet ist. Alle Haltungs- und Versuchsbedingungen sind standardisiert, um die Streuung der Versuchsergebnisse möglichst gering zu halten. So ist es möglich aussagekräftige Daten bei einer reduzierten Tierzahl zu erhalten. Weiters handelt es sich bei optische Kohärenztomographie um eine sehr genaue und verlässliche Methode mit hoher Auflösung. Die Zahl der Tiere kann dadurch weiter reduziert werden.

Verfeinerung: Die Haltung der Tiere erfolgt unter standardisierten Bedingungen.

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 Etablierung eines neuen Impfstoffes zur Vorbeugung von Chikungunyavirus (CHIKV). Das Chikungunyavirus ist ein RNA-Virus, das zur Gattung der Alphaviren gehört. Die Vektorenübertragung erfolgt durch den Stich einer infizierten Mücke, vor allem Anopheles (Malariaemücke) Stegomyia, Culex und Mansonia. Die Erkrankung ist insbesondere im östlichen und südlichen Afrika, auf dem indischen Subkontinent, in Südostasien verbreitet. Seit einigen Jahren breitet sich die Krankheit auch auf die Inseln im Indischen Ozean, in der Karibik und im nördlichen Südamerika aus. Nach einer kurzen Inkubationszeit von drei bis sieben Tagen entwickeln die Betroffenen für einige Tage rasch ansteigendes hohes Fieber mit schweren Gelenkschmerzen mit hoher Berührungsempfindlichkeit, so dass sie sich kaum aufrecht halten können. Die Symptome können gelegentlich wiederkehren oder bis zu mehrere Monate anhalten. Weiterhin können durch die Erkrankung gelegentlich eine fulminante Leberentzündung, Herzentzündungen, starke neurologische Störungen, Hirnhautentzündungen oder sogar Gehirnschäden verursacht werden.

zu erwartender Nutzen: Bisher gibt es noch kein wirksames Medikament zur Behandlung dieser Erkrankung. Das verursachende Virus ist zwar seit 50 Jahren bekannt, doch da dieses und das von ihm ausgelöste Chikungunyavirus bisher fast ausschließlich in Entwicklungsländern vorkam, wurde kaum nach wirksamen Medikamenten geforscht.

zu erwartender Schaden: Der Nutzen der zu erwartenden Testergebnisse liegt über dem Schaden der Tiere. Die vorgesehenen Immunogenitätsstudien und Wirksamkeitsstudien sind mit einer geringen Belastung der Versuchstiere verbunden. Bei den notwendigen Virulenz Experimenten und positiven Kontrollgruppen in etablierten Challenge Modellen ist die Belastung der Tiere jedoch als schwer einzustufen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden 4500 wildtyp Mäuse und 300 AG 129 GKO Mäuse für die Entwicklung eines Impfstoffes (im Zeitraum von 5 Jahren) benötigt.

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

Es werden gut etablierte und international akzeptierte Mausmodelle unter Berücksichtigung aller Anforderungen zur Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung bei den geplanten Versuchen durchgeführt. Für die Erhaltung aussagekräftiger Ergebnisse ist die Versuchstierzahl basierend auf langjähriger Erfahrung und einer Statistischen Auswertbarkeit und Vergleichbarkeit so gering wie möglich kalkuliert.

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

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

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

Das hepatozelluläre Karzinom (HCC) ist die häufigste Form von Leberkrebs und auf Grund des Mangels an wirksamen Therapien auch eine häufige Todesursache, die zunehmend ist, weil ernährungsbedingter Einfluss der zu Fettleibigkeit führt ebenso zunimmt. Fettleibigkeit führt zu Typ 2 Diabetes Mellitus, Fettleber und nicht-alkoholischer Steatohepatitis (NASH) zu Leberfibrose und letztendlich zu HCC. Die Beforschung dieser Kausalkette war durch das Fehlen eines geeigneten Tiermodells bisher jedoch beschränkt, daher konnte bisher keine Verbindung zwischen Mechanismen bei der Entstehung von NASH und HCC hergestellt werden. Ein Molekül, das sowohl bei der Entstehung von NASH als auch bei Entstehung, Wachstum und Metastasierung von HCC eine Rolle spielen dürfte ist Osteopontin (OPN). Daher wollen wir mit Hilfe des hier vorgeschlagenen Tierexperiments die Rolle von OPN in der Entstehung und seine Tauglichkeit als therapeutisches Target zur Behandlung bzw. Verhinderung von dem ursprünglich von der Fettleber verursachten HCC evaluieren.

zu erwartender Nutzen: Ein wichtiger Schritt zur Bekämpfung von HCC, der eine bedeutende Todesursache darstellt.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Milder Diabetes und unter Umständen Ausbildung eines Leberkarzinoms.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden im Maximalfall 624 Mäuse benötigt.

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

Vermeidung: Die hier beantragten Krebs-Tiermodelle können nicht ersetzt werden. Darüber hinaus benötigen Studien zur Wirksamkeit von Antikörpern Versuche am Tier. Sollte sich jedoch in den ersten Phasen der Studie Modelle oder Antikörper als unbrauchbar erweisen, wird der entsprechende Ansatz nicht weiter verfolgt. Somit werden durch einen stufenförmigen Aufbau des beantragten Projekts nicht notwendige Tierversuche *a priori* vermieden.

Verminderung: Die benötigten Modelle sind gut erprobt, wodurch mit Ausnahme der humanisierten OPN Maus keine Vortests erforderlich sind und eine geringe Versuchstierzahl notwendig ist. Durch die Standardisierung der Tierhaltung und Methodik wird die Streuung der Ergebnisse minimiert. Es wird nur die minimale Anzahl an Versuchstieren für die Experimente eingesetzt.

Verfeinerung: Alle Eingriffe an den Versuchstieren werden durch erfahrene Mitarbeiter unter humanen Bedingungen und nach dem letzten Wissensstand bezüglich Verminderung, Vermeidung und Linderung jeglichen Leidens der Tiere durchgeführt. Diese Vorgangsweise reduziert das Leiden der Tiere auf ein absolutes Minimum.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 28. Februar 2019 vorgesehen.

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

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

Titanium Dioxid Nanopartikel sind als weiße Farbe in einer Vielzahl von Gebrauchsgegenständen, Medikamenten und Lebensmittel enthalten. Man weiß jedoch bis heute sehr wenig darüber inwiefern sich die Aufnahme dieser Nanopartikel über den Magendarmtrakt auf das Immunsystem auswirkt. Das Ziel des vorliegenden Projektes ist es den Einfluss von Titanium Dioxid Nanopartikeln auf die Funktion des Immunsystems und die Zusammensetzung und Durchlässigkeit der Darmschleimhautschicht zu untersuchen. Zusätzlich wird abgeklärt, ob ein Zusammenhang zwischen Aufnahme von Titanium Dioxid Nanopartikeln über den Magendarmtrakt und der Entwicklung einer Nahrungsmittelallergie besteht.

zu erwartender Nutzen: Nahrungsmittelallergien stellen ein steigendes Gesundheitsrisiko dar und betreffen bis zu 5% der gesamten Bevölkerung. Allerdings werden bis heute die Mechanismen, warum manche Patienten Nahrungsmittelallergien entwickeln, nicht zur Gänze verstanden. Aus Gründen der Sicherheit von nahrungsmittelallergischen Patienten ist es daher ganz entscheidend, Risikofaktoren für die Entwicklung einer Nahrungsmittelallergie aufzuklären und genau zu untersuchen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Im ersten Experiment werden Tiere mit Titanium Dioxid Nanopartikeln behandelt. Diese werden von der Bevölkerung über Nahrungsmittel und Medikamente jeden Tag eingenommen. Es ist daher kein Schaden für die Tiere zu erwarten. Im zweiten Experiment werden die Tiere mit Titanium Dioxid Nanopartikeln vorbehandelt und anschließend mittels eines bestehenden Protokolls allergisch gemacht. Dieses Protokoll führt während der Entwicklung der Allergie zu keinen Reaktionen und damit zu keinem Schaden der Tiere. Ausschließlich wenige Minuten vor der Tötung in Narkose wird eine allergische Reaktion ausgelöst und die Symptome der Tiere bewertet. Sollten diese erheblich sein, werden die Tiere sofort aus dem Versuch genommen.

2. Art und Anzahl der Tiere

126 Mäuse

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

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

Verminderung: Zur Schonung der Tiere werden möglichst wenige Eingriffe vorgenommen. Zusätzlich wurde der Versuch so geplant, dass es zu einer möglichen Belastung der Tiere durch eine allergische Reaktion erst wenige Minuten vor Abschluss des Experiments und Tötung durch Narkose kommen könnte.

Verfeinerung: Die zu verwendende Tieranzahl konnte durch genaue Planung der Arbeiten und durch statistische Planung so weit wie möglich reduziert werden.

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

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

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

Ziel der Studie ist es, ein neu entwickeltes transkutan wirksames nicht steroidales Antiphlogistikum (NSAID) mit dem Wirkstoff Flunixin-Meglumin bei Kälbern auf seine Absorption bei Niederschlägen zu überprüfen. Die Gabe erfolgt Pour-On an der Rückenlinie. Das Präparat sollte normalerweise bei trockenen Bedingungen verabreicht werden, um eine vollständige transdermale Absorption zu gewährleisten. Unter extensiven Haltungsbedingungen und in niederschlagsreichen Regionen sind diese Voraussetzungen durch die Einwirkung von Regen und Feuchtigkeit nicht gewährleistet. Es soll daher untersucht werden, wie sich Niederschlag auf die transdermale Absorption des Pour-On Präparats auswirken und wie lange das Präparat einwirken muss, bevor therapierte Tiere auch bei Niederschlag wieder ins Freie gelassen werden können.

zu erwartender Nutzen: Die Anwendung von NSAID in Form eines Pour-On Präparats beim Rind ist aus Sicht des Tierschutzes sehr positiv zu bewerten. Während NSAID bisher als Injektionspräparate verabreicht werden, können entzündungshemmende und fiebersenkende Therapien in Form eines Pour-On-Präparats schmerz- und stressfrei durchgeführt werden. Die Untersuchung, inwieweit Niederschläge die Absorption des Wirkstoffes beeinträchtigen, soll in Zukunft eine gezielte Anwendung des Präparats unter extensiven Haltungsbedingungen ermöglichen.

zu erwartender Schaden: Die Schmerzen, die beim Setzen des intravenösen Dauerkatheters entstehen, sind als gering zu erachten. Außerdem stehen die Kälber unter der Wirkung eines Analgetikums, da ein transdermal wirksames NSAID erprobt wird.

2. Art und Anzahl der Tiere

10 Kälber

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

Vermeidung: Klinisch angewandte Studien müssen an der Zielart erfolgen, ein Ersatz steht nicht zur Verfügung. Das transdermal wirksame NSAID wurde bisher noch nicht an dieser Altersstufe von Rindern und unter diesen Bedingungen erprobt.

Verminderung: Die Tierzahl wurde so niedrig als möglich angesetzt, um nach Auswertung der Ergebnisse noch eine statistisch sinnvolle und wissenschaftlich verwertbare Aussage zu erhalten.

Verfeinerung: Eine klinische Untersuchung zu Beginn der Studie gewährleistet, dass nur gesunde Kälber verwendet werden. Durch einen intravenösen Dauerkatheter kann das Handling der Tiere auf ein Minimum reduziert werden. Da ein transdermal wirksames NSAID erprobt wird, stehen die Kälber zudem unter der Wirkung des Analgetikums.

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

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

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

2. Art und Anzahl der Tiere

Die zu untersuchenden Tiere sind 145 Sprague Dawley Ratten.

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

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

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

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

Die Schleimschicht des Magendarm-Traktes übernimmt eine wichtige Schutzfunktion und schützt die darunter liegende Schleimhaut vor Krankheitserregern. Genauso sind bestimmte Bestandteile dieser Schleimschicht verantwortlich dafür, dass das Immunsystem des Darms oral aufgenommene Nahrungsbestandteile duldet, also toleriert. Das Ziel des vorliegenden Projektes ist es den Einfluss von Schleim-lösenden Medikamenten auf die Darmschleimschicht und auf die Durchlässigkeit der Schleimhautschicht zu untersuchen. Zusätzlich wird abgeklärt, ob ein Zusammenhang mit zwischen Beeinträchtigung der Schleimschichte und der Entwicklung einer Nahrungsmittelallergie besteht.

zu erwartender Nutzen: Nahrungsmittelallergien stellen ein steigendes Gesundheitsrisiko dar und betreffen bis zu 5% der gesamten Bevölkerung. Allerdings werden bis heute die Mechanismen, warum manche Patienten Nahrungsmittelallergien entwickeln, nicht zur Gänze verstanden. Aus Gründen der Sicherheit von Nahrungsmittelallergischen Patienten ist es daher ganz entscheidend, Risikofaktoren für die Entwicklung einer Nahrungsmittelallergie aufzuklären und genau zu untersuchen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Im ersten Experiment werden Tiere mit Schleim-lösenden Medikamenten behandelt. Diese werden von einer großen Zahl von Patienten täglich eingenommen. Es ist daher kein Schaden für die Tiere zu erwarten. Im zweiten Experiment werden die Tiere mit Schleim-lösenden Medikamenten vorbehandelt und anschließend mittels eines bestehenden Protokolls allergisch gemacht. Dieses Protokoll führt während der Entwicklung der Allergie zu keinen Reaktionen und damit zu keinem Schaden der Tiere. Ausschließlich wenige Minuten vor der Tötung durch Narkose, wird eine allergische Reaktion ausgelöst und die Symptome der Tiere bewertet. Sollten diese erheblich sein, werden die Tiere sofort aus dem Versuch genommen.

2. Art und Anzahl der Tiere

138 Mäuse

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

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

Verfeinerung: Zu Schonung der Tiere werden möglichst wenige Eingriffe vorgenommen. Zusätzlich wurde der Versuch so geplant, dass es zu einer möglichen Belastung der Tiere durch eine allergische Reaktion erst wenige Minuten vor Abschluss des Experimentes und Tötung durch Narkose kommen könnte.

Verminderung: Die zu verwendende Tieranzahl konnte durch genaue Planung der Arbeiten und durch statistische Planung so weit wie möglich reduziert werden.

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

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

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

Mechanismen für Entzündungen des Darms, der Atemwege und des Darmkrebs sollen untersucht werden. Diese Erkrankungen sind schwer zu behandeln und neue Therapiemöglichkeiten sind dringend erforderlich. Entzündungsmechanismen gehen von verschiedenen Zellen aus, so z. B. von Epithelzellen und Leukozyten. Im diesem Projekt geht es um die Rolle von G-Protein-gekoppelten Rezeptoren, die auf diesen Zelltypenvorkommen und das Immunsystem beeinflussen. Die Ausschaltung dieser Rezeptoren soll den Entzündungsprozess und die Karzinogenese verlangsamen und damit positiv auf eine Heilung einwirken. Für das Projekt sollen transgene Mäuse gezüchtet werden, die einen dieser G-Protein-gekoppelten Rezeptoren nicht produzieren.

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

zu erwartender Schaden für die Tiere: Durch die Zucht ist kein Schaden für die Mäuse zu erwarten. Die transgenen Mäuse sind vollkommen vital und zeigen keine Beeinträchtigungen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Insgesamt sollen 500 transgene Mäuse gezüchtet werden.

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

Vermeidung: Entzündungen des Darms, der Atemwege und des Darmkrebs sind komplexe Erkrankungen, an denen das Zusammenwirken von Immunzellen aus dem Knochenmark und lymphatischer Organe mit verschiedenen Zelltypen aus der Darmschleimhaut oder der Bronchialschleimhaut eine wichtige Rolle spielen. Diese unterschiedlichen Zelltypen und Organsysteme interagieren untereinander nur in einem intakten Organismus. Fragestellungen zu diesen Erkrankungen können daher nicht an einem isolierten Organsystem oder einer Zellkultur adressiert werden, sondern nur am Gesamtorganismus.

Verminderung: Die Zucht der Tiere wird so klein wie möglich gehalten, es wird danach getrachtet, dass so wenig wie möglich Tiere geboren werde. Die Überschaubarkeit der Zucht ermöglicht auch eine bessere Kontrolle und Versorgung der Tiere.

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

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

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

Eine Gruppe von Patienten entwickelt im Laufe ihres Lebens nicht nur eine, sondern -nacheinander, und meistens viele Jahre voneinander getrennt verschiedene Organ-spezifische Autoimmunkrankheiten. Dabei können dieselben oder sogar verschiedene Organsysteme betroffen sein. Um die zugrunde liegenden Mechanismen aufzuklären, müssen die Wechselwirkungen der autoimmunen T-Zellen, Antikörper, und betroffenen Organe charakterisiert werden. Die meisten Untersuchungen dazu können *in vitro* erfolgen. Dennoch müssen aufgrund der Komplexität dieser Wechselwirkungen auch *in vivo* Untersuchungen durchgeführt werden.

zu erwartender Nutzen: Der zu erwartende Menschennutzen dieser Experimente beruht auf einem besseren Verständnis der Krankheitsprozesse und der daraus resultierenden Grundlage für neue Therapie-Ansätze.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Der zu erwartende Tierschaden entspricht demjenigen betroffener Patienten mit mittelstarkem Krankheitsverlauf.

2. Art und Anzahl der Tiere

Insgesamt werden 352 Lewisratten benötigt.

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

Vermeidung: Zur Vermeidung unnötiger Tierexperimente werden diejenigen T-Zellen, die *in vitro* sehr gut auf die entsprechenden Autoantigene reagieren, zu T-Zell-Linien expandiert, deren Eigenschaften über mehrere Passagen hinweg stabil bleiben. Dadurch können wir verhindern, dass viele T-Zell-Linien ausgetestet werden müssen.

Verminderung: Um die Zahl der für diese Experimente vorgesehenen Tiere so gering wie möglich zu halten, wurde die benötigte Tierzahl durch statistische Fallzahlberechnungen ermittelt. Zudem werden die Tiere unter standardisierten Bedingungen gehalten, wodurch die Variabilität innerhalb der Experimente eingeschränkt wird und ganz generell geringere Tierzahlen in unseren Experimenten möglich sind. Des Weiteren 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.

Verfeinerung: Zur Verminderung der Krankheitssymptome und Verfeinerung der Experimente werden die eingesetzten T-Zell-Linien dann in verschiedenen Zellzahlen in einer geringen Anzahl von Tieren auf ihre Fähigkeit hin getestet, eine Organ-spezifische Autoimmunkrankheit mittleren Grades auszulösen, und dann in der dadurch ermittelten Zellzahl verwendet, damit ein möglichst geringer Schweregrad klinischer Symptome zu erwarten sein wird.

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

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

Malaria ist eine von Parasiten hervorgerufene Tropenerkrankung die weltweit rund 1 Million, österreichweit 50 bis 100 Todesfälle pro Jahr verursacht. Die Erreger vermehren sich im Blut und in der Leber und führen zu Fieber, Anämie, sowie zu neurologischen Komplikationen. Zu letzteren gehört die zerebrale Malaria, eine Infektion des Gehirns, die unbehandelt bei 50 bis 60 % der Mitteleuropäer tödlich endet. Derzeit gibt es keine Impfung und die erhältlichen Medikamente verlieren wegen zunehmender Resistenzen sukzessive an Wirkung. Nun wurde eine Substanz entwickelt die möglicherweise an einen zelluläres Molekül bindet, das für den Lebenszyklus der Parasiten eine wichtige Rolle spielt und in allen für die Infektion relevanten Organen, d.h. im Blut, der Leber und im Gehirn exprimiert wird. Ziel dieses Versuchs ist es, diese Substanz in Mäusen zu charakterisieren. Dazu wird zuerst die Verteilung im Gehirn und anderen peripheren Organen dargestellt. In einem zweiten Schritt wird untersucht, ob diese Bindung auch spezifisch ist und wie diese Substanz im Körper abgebaut wird. Sämtliche Versuche dienen dazu, die Eignung der Substanz als Anti-Malaria-Medikament zu testen.

2. Art und Anzahl der Tiere

40 Mäuse.

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

Replacement-Vermeidung: Dieser Versuch ist der nächste und unbedingt nötige Schritt, um die Substanz weiter charakterisieren zu können. Leider lässt sich diese Untersuchung nur am lebenden Tier durchführen.

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

Refinement-Verfeinerung: Es sind sowohl für eine tiergerechte Haltung von Mäusen, als für die eigentliche Durchführung der Experimente sämtliche nötigen infrastrukturellen Güter vorhanden. Das betrifft insbesondere ausreichend geschultes Fachpersonal mit langjähriger Erfahrung, als auch alle Hilfsmittel, die zur Abwehr von psychischem (z. B. "environmental enrichment") und physischem 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): Grundlagenforschung

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

Erkrankungen, wie die Aortenklappenstenose oder die arterielle Hypertonie führen zur Ausbildung einer hypersensitiven linksventrikulären Hypertrophie. Im Rahmen dessen kommt es neben zellulären Veränderungen auch zu Veränderungen in der extrazellulären Matrix, die als Gerüst des Herzgewebes dient und dieses stabilisiert. Hierzu gehört unter anderem eine progrediente Vernarbung des Herzgewebes. In weiterer Folge kommt es zu einer Verminderung der Pumpleistung des Herzens.

Wird die erkrankte Aortenklappe operativ ersetzt, kommt es zu einer Rückbildung der krankhaften Veränderungen. Dieser Vorgang wird als Reverse Remodeling bezeichnet und ist bis dato nur sehr lückenhaft untersucht.

Im Rahmen dieser Studie soll anhand eines Knockout Modells und nach Induktion eines Reverse Remodelings durch Aortic Banding und Debanding der Einfluss eines Glykoproteins der extrazellulären Matrix auf diesen adaptiven Vorgang untersucht werden.

In vorangegangenen Studien konnte diesem Glykoprotein bereits eine wichtige Rolle in Umbauvorgängen bei anderen Herzerkrankungen nachgewiesen werden.

zu erwartender Nutzen: Ziel der Studie ist eine Identifizierung potentieller Angriffspunkte für pharmakologische Therapeutika, die den Vorgang des Reverse Remodeling unterstützen. Weiters sollen potentielle Marker gefunden werden, die Rückschlüsse auf die Prognose nach Aortenklappenersatz erlauben sollen.

zu erwartender Schaden für das Tier: Bei den Tieren wird operativ in Vollnarkose mit anschließender Analgesie eine Einengung der Aorta durchgeführt. Hauptzielparameter stellen neben dem Grad der Vernarbung des Herzgewebes, die Produktion und Identifizierung von Proteinen dar, die für den Umbau des Herzgewebes verantwortlich sind. Außerdem soll die Herzfunktion mittels modernster Bildgebung untersucht werden

2. Art und Anzahl der Tiere

384 Mäuse

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

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

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

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

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

Ziel ist es, die bestehende Leistungsfähigkeit einer bestehenden minimalinvasiven Samplingmethode soweit zu verbessern, dass diese künftig als Standard in klinischen Humanstudien im Zuge der Arzneimittelentwicklung und –Zulassung eingesetzt werden kann. Dazu ist es nötig, über Grundlagenforschung rund um die Schnittstelle Organismus/Gewebe-Technologie neue Erkenntnisse als Entwicklungseingaben zu gewinnen.

zu erwartender Nutzen: Durch diesen Tierversuch wird es in Zukunft möglich sein, die Entwicklung und Zulassung von bestimmten dermal anwendbaren Arzneimittelwirkstoffen und Generika effizienter und Patientenschonender zu gestalten.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Eingriffe erfolgen unter Anästhesie durch erfahrenes Personal und sind von sehr geringer Invasivität. Beim Menschen werden die Eingriffe ohne Anästhesie durchgeführt und somit ist in diesen Tierversuch der relevanteste Eingriff die Anästhesie. Die Nachsorge nach dem Eingriff und das Töten der Tiere werden von geschultem Personal durchgeführt. Versuche und Tötungen finden nicht in Gegenwart anderer wacher Tiere statt.

2. Art und Anzahl der Tiere

40 Hausschweine

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

Vermeidung: Eine Vermeidung des beantragten Tierversuchs ist nicht möglich, da die Fragestellung nur *in vivo* zu beantworten sind. *In vitro* Laboruntersuchungen sind nicht zielführend, da die realen Bedingungen für diese Samplingmethode nicht im Labor simuliert werden kann.

Verminderung: die Versuche erfolgen mit kleinstmöglichen Gruppengrößen. Durch die im jeweiligen Versuch gewonnenen Daten können die notwendigen Versuchstiere für den nächsten Versuch möglichst gering gehalten werden. Die Anzahl der Versuchstiere wird durch die gleichzeitige Anwendung vieler Sammelsysteme gering gehalten. Bei ausreichenden Ergebnissen vor Erreichen der beantragten Anzahl an Versuchstieren werden keine weiteren Versuche durchgeführt.

Verfeinerung: Während der Eingewöhnungszeit der Tiere wird neben standardmäßiger fachkundiger Betreuung durch geschultes Tierpflegerpersonal zusätzlich zum Wohl der Tiere eine Bereicherung („Enrichment“) in Form von Bällen, Gummiringen, Stroh, etc. zur Verfügung gestellt. Weiters werden die Tiere durch vermehrten Kontakt an die TierpflegerInnen gewöhnt, um den Stress der Tiere zu reduzieren.

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

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

Herzfibrose ist eine pathologische Veränderung des Herzmuskels, die durch chronische Krankheiten des Herz-Kreislauf System entsteht. Die Herzfibrose trägt zu Herzdysfunktion durch Erhöhung der Herz-StEIFigkeit und durch Auslösen der Herzrhythmusstörungen bei. Zurzeit gibt es keine Therapiemaßnahmen für Behandlung der Herzfibrose. Das Ziel dieses Projektes ist es, die mögliche antifibrotische Therapien an einer Modelle der rechtsventrikulären Fibrose zu untersuchen. In weiterem sollen die molekularen Mechanismen der anti-fibrotischen Wirkung untersucht werden.

zu erwartender Nutzen: Unsere Untersuchungen können die Grundlage für die weiteren klinischen Studien werden. Diese könnten zum Einsatz von untersuchten Substanzen zur Behandlung von Herzfibrose führen. Zusätzlich, die gewonnenen Kenntnisse werden zur Entwicklung neuer effektiveren Therapien zur Behandlung von Patienten benutzt.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Durch die Operation leiden die Mäuse an Schmerzen. Um Leiden der Tiere zu minimieren, wird die Operation unter sorgfältig kontrollierter Anästhesie durchgeführt. In post-operativen Periode werden die Mäuse engmaschig kontrolliert und Analgetika zur Schmerzlinderung in regelmäßigen Abständen verabreicht.

2. Art und Anzahl der Tiere

Mäuse, insgesamt 998

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

Vermeidung: Komplexe Interaktionen zwischen verschiedenen Systemen im Körper, die im Laufe der Herz-Kreislauf Erkrankungen entstehen, machen Tierversuche für unsere Untersuchungen unerlässlich.

Verminderung: Um die Anzahl der verwendeten Tiere zu verringern, schlagen wir einen Plan vor, der die Anzahl der Tiere in der Kontrollgruppe reduziert. Zusätzliche Reduzierung der Tieranzahl wird durch eine optimierte Zuchtstrategie erreicht. Unser Versuchsprotokoll ermöglicht uns mehrere Parameter von einem einzelnen Tier zu messen, dies führt zur weiteren Reduktion der Anzahl der Tiere. Dies dient der Reduktion der Zahl der Tiere.

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

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

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

Das Ziel dieses Versuches ist die Testung einer anti-Krebs Vakzine. 1. Es soll zwischen 2 Impfstoffkandidaten entschieden werden. 2. werden Zusatzstoffe, die zur Wirksamkeit der Vakzine beitragen und die Dosierung getestet.

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

zu erwartender Schaden für die Tiere: Der Versuch wird an Mäusen durchgeführt. Dazu werden die Mäuse 4-malig immunisiert, vor Beginn und abschließend werden Blutproben entnommen. Nach dem Abschluss des Impfschemas werden die Mäuse getötet. Die hier verwendeten Bestandteile sind als gutverträglich bekannt. Die Belastung der Tiere wird daher als gering eingeschätzt.

2. Art und Anzahl der Tiere

243 Mäuse werden benötigt.

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

Vermeidung: Die Wirkung einer Vakzine ist ein komplexer Vorgang in mehreren lymphatischen Organen und kann nicht an isolierten Zellen, Zellkultur, *in vitro* getestet werden.

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

Verfeinerung: Die Tiere werden vom Fachpersonal versorgt. Durch eine engmaschige Überwachung und Kontrolle der Tiere wird angemessener Gesundheitszustand gewährleistet. Die Durchführung der Versuche, Tierhaltung und Hygiene-Maßnahmen entsprechen der Österreichischen Tierversuchsverordnung 2012. Die Belastung der Tiere wird in diesem Versuch als gering bemessen.

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

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

Es gibt viele Patienten mit Organ-spezifischen Autoimmunkrankheiten, bei denen Gewebeschaden durch die Wirkung von Autoantikörpern induziert wird. Bedauerlicherweise haben einige Patienten mit Organ-spezifischen Autoimmunkrankheiten Autoantikörper in ihrem Serum, deren Beitrag zum Gewebeschaden unter komplexen *in vivo* Bedingungen anders ist als es unter Zellkultur-Bedingungen oder mit monoklonalen Antikörpern beobachtet wurde. Um diese Prozesse aufzuklären, müssen derartige Antikörper nach deren Isolierung und Aufreinigung aus Patientenserum sowohl *in vitro* als auch im Rahmen T-Zell-vermittelter Entzündungsreaktionen *in vivo* charakterisiert werden. Dies kann nur im Rahmen von Tierexperimenten erfolgen.

zu erwartender Nutzen: Der zu erwartende Menschennutzen dieser Experimente beruht auf einem besseren Verständnis der Krankheitsprozesse und der daraus resultierenden Grundlage für neue Therapie-Ansätze.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Der zu erwartende Tierschaden entspricht demjenigen betroffener Patienten mit mittelstarkem Krankheitsverlauf.

2. Art und Anzahl der Tiere

Insgesamt werden 376 Lewisratten benötigt.

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

Vermeidung: Zur Vermeidung unnötiger Tierexperimente werden diejenigen T-Zellen, die *in vitro* sehr gut auf die entsprechenden Autoantigene reagieren, zu T-Zell-Linien expandiert, deren Eigenschaften über mehrere Passagen hinweg stabil bleiben. Dadurch können wir verhindern, dass viele T-Zell-Linien ausgetestet werden müssen.

Verminderung: Um die Zahl der für diese Experimente vorgesehenen Tiere so gering wie möglich zu halten, wurde die benötigte Tierzahl durch statistische Fallzahlberechnungen ermittelt. Zudem werden die Tiere unter standardisierten Bedingungen gehalten, wodurch die Variabilität innerhalb der Experimente eingeschränkt wird und ganz generell geringere Tierzahlen in unseren Experimenten möglich sind. Des Weiteren 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.

Verfeinerung: Zur Verfeinerung der Experimente wird die Zahl der eingesetzten T-Zellen so gewählt, dass ein möglichst geringer Schweregrad klinischer Symptome zu erwarten sein wird.

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

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

Mykotoxine, sekundäre Metabolite von Schimmelpilzen, können bei Mensch und Tier toxische Effekte hervorrufen. Wie aus der Literatur bekannt, führen Fumonisine zu Leistungseinbußen und pathologischen Veränderungen im Atmungstrakt (Lungenödeme) und wirken hepato- und nephrotoxisch. Da chemische und physikalische Entgiftungsmethoden von Fumonisin im Futtermittel im Großmaßstab nach wie vor unzureichend sind, wird unser Hauptaugenmerk auf biologische Entgiftung in Form von Enzymen gelegt. Diese Enzyme sollen im Zuge der Nahrungsaufnahme zur Detoxifikation des Mykotoxins im Schwein führen. Die Aktivität des Enzyms wurde in vivo und in vitro bestätigt. Dieser Versuch soll Aufschluss geben, welche Enzymformulierungen am effektivsten bzw. welche Konzentrationen noch ausreichend sind, um eine Entgiftung des Mykotoxins im Verdauungstrakt von Schweinen nach Zugabe zum Futter zu bewirken. Diese Fragestellung soll anhand des Verhältnisses von Sphinganine/Sphingosin im Serum und Kot, welche in der Literatur als verlässlicher Biomarker beschrieben sind, beantwortet werden. Die daraus gewonnenen Resultate leisten einen Beitrag zur Verbesserung des Gesundheitsstatus im Schwein.

2. Art und Anzahl der Tiere

36 Absatzferkel (Suis suis)

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

Replacement: Die Durchführung dieses Projektes ist aufgrund der notwendigen Biomarker in Blut und Kot nicht in Form einer in vitro Studie möglich und es kann somit nicht auf eine Ersatz- bzw. Ergänzungsstudie ausgewichen werden.

Reduction: Es wird die geringstmögliche Anzahl an Tieren (3 weibliche und 3 männliche) je Gruppe verwendet, um ein aussagekräftiges und statistisch auswertbares Ergebnis zu erhalten.

Refinement: 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 tierärztlich betreut. Bei der eingesetzten Fumonisin Konzentration von 5 ppm sind keine klinischen Krankheitserscheinungen zu erwarten.

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

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

Die Fokal segmentale Glomerulosklerose (FSGS) bezeichnet eine Gruppe von chronischen Erkrankungen der Niere, die unbehandelt in der Mehrzahl der Fälle zu chronischem Nierenversagen führt. In Patienten mit FSGS werden eine Reihe von Genen innerhalb der Niere weniger stark exprimiert. Wir möchten die Hypothese überprüfen ob eine genetische Inaktivierung von einem dieser Gene im Mausmodell *in vivo* zu einer FSGS führt. Weiters möchten wir durch molekularbiologische Untersuchungen überprüfen, welche zellulären Signalwege durch genetische Inaktivierung unseres Zielgens beeinflusst werden. Die Überprüfung einer FSGS *in vivo* erfolgt über die Albumin/Creatinin Ratio. Dadurch kann volumenunabhängig die Menge des Albumins im Harn und damit die Proteinurie als Leitsymptom der FSGS überprüft.

zu erwartender Nutzen: Das geplante Projekt soll Einblick in die bis heute schlecht verstandene Krankheitsentstehung der FSGS erlauben und helfen, neue Targets für die Therapie dieser schweren Erkrankung aufzudecken.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Mäuse werden über gentechnische Verfahren so verändert, dass das Zielgen in der Niere nicht mehr aktiv ist. Wir gehen davon aus, dass dies zu einer FSGS-ähnlichen Erkrankung führt.

2. Art und Anzahl der Tiere

insgesamt 106 Mäuse unterschiedlichen Genotyps.

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

Die zugrundeliegenden Hypothesen der vorliegenden Versuche wurden ausführlich in verschiedenen Studien gezeigt. Eine weitere Aufklärung erfordert die Überprüfung in einem *in vivo* Modell, vor allem für die Charakterisierung der zu erwartenden FSGS durch funktionelle, histologische und molekularbiologische Untersuchungen besteht keine Alternative zur Tierstudie. Die notwendige Anzahl der Tiere wurde durch Berechnung der Stichprobengröße ermittelt. Die biologische Streuung wird durch standardisierte Tierhaltung und methodisches Vorgehen weiter vermindert. Die Belastung der Versuchstiere wird durch laufende Beurteilung des klinischen Zustandbildes und durch klare Abbruchkriterien auf ein Minimum reduziert.

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

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

Dieses Projekt hat die Verbesserung und Bewertung der Sequenz-Parameter für die Magnetresonanztomografie-Bildgebung in Kleintieren zum Ziel. Es werden verschiedene Magnetresonanztomografie-Bildgebungstechniken angewendet und verglichen sowie Untersuchungsprotokolle am gesunden Kleintier erstellt, die in späterer Folge auf Krankheitsmodelle in anderen Projekten übertragen werden können. Die Verbesserung der Untersuchungsbedingungen der Magnetresonanztomografie-Bildgebung soll die Untersuchungsdauer verkürzen. Die erstellten Protokolle sollen den Einsatz der Magnetresonanztomografie-Bildgebung in zukünftigen Projekten rechtfertigen und eine geringere Gesamtanzahl an Versuchstieren erlauben.

zu erwartender Nutzen: verbesserte Untersuchungsbedingungen führen zu einer kürzeren Untersuchungsdauer, vermindern die Belastung sowohl von diesen als auch von Tieren aus zukünftigen Projekten mit Magnetresonanztomografie-Bildgebung und erlauben eine Verminderung der Gesamtanzahl an Tieren in zukünftigen Projekten mit Magnetresonanztomografie-Bildgebung.

zu erwartender Schaden für die Tiere: einzige Belastung für die Tiere stellt die Narkose dar, da von Seiten der Magnetresonanztomografie-Bildgebung kein Schaden für die Tiere zu erwarten ist.

2. Art und Anzahl der Tiere

436 Mäuse unterschiedlichen Genotyps und 436 Ratten unterschiedlichen Genotyps aus genehmigten Zuchtbetrieben.

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

Vermeidung: Eine Abklärung im *in vivo* Modell ist für die Verbesserung der Parameter für die Magnetresonanztomografie-Bildgebung erforderlich.

Verminderung: Das wiederholte Untersuchen ein und des desselben Versuchstieres ermöglicht eine Verminderung der Gesamtanzahl an Versuchstieren. Das methodische Vorgehen und die Haltung der Tiere erfolgen unter kontrollierten und standardisierten Bedingungen statt.

Verfeinerung: Die Anzahl und Dauer der verwendeten Narkosen pro Versuchstier werden so gering wie möglich gehalten, um eine möglichst geringe Belastung der Versuchstiere sicher zu stellen.

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

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

zu erwartender Nutzen: Ziel des Projektes ist die Etablierung eines neuen Impfstoffes zur Vorbeugung von *Clostridium difficile* Durchfallerkrankungen. *Clostridium difficile* („*C.difficile*“) ist ein grampositiver anaerober Stäbchenbakterium und ein Hauptverursacher von nosokomialen Antibiotika induzierten Durchfallerkrankungen. Zur höchsten Risikogruppe zählen vor allem ältere Personen, die unter antibiotischer Behandlung stehen. *C. difficile*-Infektionen können Symptome von milden Durchfall bis lebensbedrohlichem pseudomembranösen Colitis (Dickdarmentzündung) verursachen.

zu erwartender Schaden: Der Nutzen der zu erwartenden Testergebnisse liegt über dem Schaden der Tiere, da die Immunogenitäts- und Wirksamkeitsstudien sowie erforderliche Freigabetests des Impfstoffkandidaten für klinische Studien durchgeführt werden müssen. Bei den geplanten LD 50 Experimenten und positiven Kontrollgruppen in einem gut etablierten Challenge Modell ist die Belastung der Versuchstiere jedoch als schwer einzustufen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden maximal 12.800 Mäuse in einem Zeitraum von 5 Jahren verwendet.

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

Die CDAD des Menschen wird in einem gut etablierten und international akzeptierten Mausmodell unter Berücksichtigung aller Anforderungen an Verminderung, Vermeidung und Verfeinerung erreicht. Für die Erhaltung aussagekräftiger Ergebnisse ist die Versuchstierzahl basierend auf langjähriger Erfahrung und einer Statistischen Auswertbarkeit und Vergleichbarkeit so gering wie möglich kalkuliert.

Eine rückblickende Bewertung ist jährlich sowie nach Projektabschluss, bis spätestens 31. Dezember 2020 vorgesehen.

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

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

Pferde werden immer wieder vom Menschen ausgehenden, potentiellen Stress-Situationen ausgesetzt. Dazu gehören z.B. Transporte, Leistungsanforderungen im Reitsport oder tierärztliche Untersuchungen. Die Belastung der Tiere kann anhand sogenannter physiologischer Stressparameter (z.B. Stresshormone, Herzfrequenz, Freisetzung von Zytokinen) erfasst und quantifiziert werden. In dem Projekt wird die Reaktion verschiedener physiologischer Stressparameter (Herzfrequenz und Herzfrequenzvariabilität, Cortisol, Zytokin NGF) auf unterschiedliche Belastungssituationen (Transport auf der Straße, Behandlung mit ACTH, Blitzlicht) bei Pferden analysiert werden. Dabei werden auch Unterschieden in der Stressreaktion von männlichen und weiblichen Pferden untersucht.

zu erwartender Nutzen: Objektive Quantifizierung potentieller Stressoren beim Pferd

zu erwartender Schaden für die Tiere: geringgradige Belastung durch die oben genannten Stressoren, die Applikation von ACTH sowie durch die Blutabnahme.

2. Art und Anzahl der Tiere

Pferde (n=12)

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

Vermeidung: Da die Untersuchung der komplexen physiologischen Stressreaktion von Pferden nur an lebenden Tieren möglich ist, kann die Studie nicht komplett vermieden werden.

Verminderung: Durch wiederholte Verwendung derselben Pferde für die unterschiedlichen Teilversuche kann die interindividuelle Variabilität herausgerechnet werden und dadurch die Anzahl der verwendeten Pferde reduziert werden

Verfeinerung: Blutentnahmen erfolgen über Verweilkatheter, damit keine wiederholte Venenpunktion; definierte Abbruchkriterien stellen sicher, dass die Belastung der Tiere geringgradig bleibt.

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

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

Zwei verschiedene Bodensysteme (Plastikroste mit Schlitzern oder Löchern) werden auf deren Einfluss auf die Gesundheit und das Wohlergehen der Tiere getestet. Die Tiere werden am Anfang der Studie klinisch auf ihren Gesundheitszustand überprüft, es werden Kotproben genommen und die Hälfte der Tiere wird für eine Videoaufzeichnung am Rücken mit Farbe markiert. Es werden mögliche Verletzungen und Verschmutzungen der Tiere aufgezeichnet und das Verhalten der Tiere wird ausgewertet.

zu erwartender Nutzen: Verbesserung der Bodengestaltung in der Kaninchenaufzucht

zu erwartender Schaden für die Tiere: In dieser Studie sollen die Haltungsbedingungen für die Tiere verbessert werden. Die Haltungssysteme, die für die Studie getestet werden, sind besser als das bisherige System, allerdings kann durch die Untersuchungen für die Studie (Videoaufnahmen, klinische Untersuchungen) eine geringe Belastung für die Tiere auftreten.

2. Art und Anzahl der Tiere

208 Kaninchen (New Zealand White Rabbit Hybride)

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

Verminderung: Zur Erhebung der Stichprobengröße wurde eine PowerAnalyse durchgeführt

Verfeinerung: Die Studie selbst dient dazu, die Haltung der Tiere zu verbessern.

Vermeidung: Studien zur Verbesserung der Tierhaltung bedürfen für eine Überprüfung der Anwesenheit von Tieren.

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

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

Der Diphtherie - Antitoxingehalts-Test dient zur quantitativen Bestimmung spezifischer Antikörper gegen das von "*Corynebacterium diphtheriae*" gebildete Toxin in Plasmen und Immunglobulin - Präparationen. Der Test wird in Anlehnung an die aktuelle Ph. Eur., Monographie 0086, "Immunoserum diphthericum", jedoch mit reduzierter Tierzahl durchgeführt.

2. Art und Anzahl der Tiere

Die Arzneimittel sollen der Vorbeugung oder Behandlung potentiell lebensbedrohlicher Erkrankungen dienen, weshalb die Verwendung von max. 10 Meerschweinchen für 1 Jahr gerechtfertigt ist.

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

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

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

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

Besamungen von Rindern werden in der tierärztlichen Praxis häufig durchgeführt (ca. 800.000 Besamungen/Jahr in Österreich). Daher müssen fachkundige Personen in der Technik der Sameneinführung (Besamung) ausgebildet werden. Ziel der Ausbildung ist es, Grundfertigkeiten in der Voruntersuchung von Rindern zur Besamung, im Umgang mit Tiefgefriersamen und in der Sameneinführung zu vermitteln.

zu erwartender Nutzen: Ausbildung fachkompetenter Personen für die Rinderbesamung

zu erwartender Schaden für die Tiere: keiner, allenfalls geringgradige Belastung durch die Untersuchung und Sameneinführung

2. Art und Anzahl der Tiere

Rinder (n=40)

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

Vermeidung: Eine komplette Vermeidung von Ausbildungseinheiten mit Verwendung von Tieren ist nicht möglich.

Verminderung und Verfeinerung: Zur Verfeinerung und Verminderung des Lernens am Tier gehen diesen Übungen an einem Simulationsmodell voran. Dies verbessert den Lernerfolg der Teilnehmenden, verringert die Untersuchungszeit pro Tier und erlaubt gleichzeitig mit einer geringeren Zahl an Übungseinheiten am Tier auszukommen.

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

Bauchspeicheldrüsenkrebs gehört zu einer der tödlichsten Krebsarten. Das Ziel des Projekts ist zu bestimmen, ob ein spezifisches Zelloberflächeneinweiß eine essentielle Rolle am Bauchspeicheldrüsenkrebs spielt. Unsere Hypothese wird zur Entwicklung individuellen Anti-Krebs-Therapien beitragen. Um unsere Hypothese zu bestätigen, werden Xenotransplantationen von Tumorzellen in Mäusen durchgeführt. Die Zellen mit diesem Protein sollen Tumore bilden. Der Tumor wird entnommen und histologisch untersucht.

zu erwartender Nutzen: Die Ergebnisse des Projekts sollen ein Protein identifizieren, das als Zellmarker und potenzielles Ziel gegen Bauchspeicheldrüsenkrebs dient.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Bei den geplanten Tierversuchen handelt es sich um Experimente ohne operative Eingriffe. Die Zellen werden unter der Haut injiziert. Es handelt sich um eine geringe invasive Manipulation.

2. Art und Anzahl der Tiere

Der Versuch wird mit den kleinstmöglichen (aber statistisch notwendigen Anzahl) an Mäuse durchgeführt. Insgesamt werden 40 Mäuse verwendet.

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

Vermeidung: Die Identifizierung von der Malignität dieses Proteins ist nur in *in vivo* Experimenten möglich. Es gibt zurzeit keine andere Methode, um dies nachzuweisen. Daher ist der Tierversuch unvermeidbar.

Verminderung: Die Zahl der Versuchstiere wird minimal gehalten. Geeignete Abbruchkriterien wurden genau definiert, die ein unnötiges Leiden der Tiere vermeiden sollten.

Verfeinerung: Es werden Maßnahmen ergriffen, die zu einer Verringerung der Stresssituation und Leiden der Tiere führen sollen. Eine adäquate Haltung (wie zum Beispiel Futter und Trinkwasser) ist gesorgt. Der Gesundheitszustand der Tiere wird durch ausgebildetes Pflegepersonal regelmäßig kontrolliert.

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

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

zu erwartender Nutzen: Ziel dieser Studie ist es, durch den Einsatz einer neuen modifizierten Lebendvakzine gegen das porcine reproduktive und respiratorische Syndrom Virus (PRRSV) in einem Ferkelproduktionsbetrieb mit angeschlossener Mast, in dem mittels labordiagnostischer Verfahren eine Zirkulation von PRRSV bestätigt wurde die Viruszirkulation zu unterbinden und dadurch die Tiergesundheit und das Tierwohl zu verbessern. Beantragt wird die Blutentnahme bei 450 Saugferkeln und Mastschweinen zur Beurteilung der Viruszirkulation nach Bestandsvakzinierung.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Schweine verbleiben alle am Betrieb und sind von dem Versuch mit Ausnahme der Blutprobenentnahme nicht beeinflusst. Die Belastung, die die Tiere im Rahmen dieses Versuches erfahren, kann als gering eingestuft werden und übersteigt nicht die in der Routinediagnostik regelmäßig durchgeführten Tätigkeiten. Der Nutzen, den die Tiere durch die Stabilisierung in Bezug auf PRRSV erfahren, übersteigt bei weitem das Leiden, das den Tieren im Versuch zuteilwird.

2. Art und Anzahl der Tiere

450 Schweine (Hausschwein; *Sus Scrofa domestica*): je 30 Ferkel in der 3. Lebenswoche, sowie Mitte und Ende Mast im 2 monatigen Intervall über 5 Durchgänge.

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

Vermeidung: Es stehen keine Alternativen zur Untersuchung der Zirkulation und Stabilisierung von PRRSV in einem Bestand zur Verfügung. Die komplexen Vorgänge zur betriebsinternen Viruszirkulation zwischen unterschiedlichen Produktionsbereichen und Altersgruppen am Betrieb können mit *in vitro* Modellen nicht nachgeahmt werden.

Verminderung: Die Anzahl an Blutproben zur Beurteilung der Viruszirkulation im Bestand wurde auf ein Minimum reduziert, um mit 95 %iger Sicherheit eine Prävalenz von $\geq 10\%$ innerhalb der jeweiligen Altersgruppe von etwa 350 Ferkeln zu erkennen.

Verfeinerung: Die Maßnahmen, die im Projekt durchgeführt werden entsprechen den in der Praxis gängigen Methoden der Vakzination und Blutentnahme zu Diagnostikzwecken. Um Sicherzustellen, dass die Belastung der Tiere auf ein Minimum reduziert wird, werden die Blutproben ausschließlich von Fachpersonen entnommen.

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

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

Ein Sonnenbrand ist ein ernstzunehmendes medizinisches Problem, vor allem im Hinblick auf die UV-strahlungsinduzierte kutane Tumorgenese. Zudem handelt es sich auch um ein entzündliches und somit schmerzhaftes Geschehen.

Ziel des Versuches ist es, die Wirksamkeit von Escin, einem natürlichen Inhaltsstoff der Roßkastanie mit entzündungshemmenden Eigenschaften, am Schwein zu testen.

zu erwartender Nutzen: Sollte sich Escin zur Prophylaxe bzw. Therapie als wirksam erweisen, könnte ein Prophylaktikum (z.B. als Inhaltsstoff von Sonnencremes) bzw. Therapeutikum entwickelt werden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Eine Hautrötung und Hautschwellung im Sinne eines Sonnenbrandes könnte auftreten.

2. Art und Anzahl der Tiere

Schweine (*Sus scrofa*), 33 Tiere

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

Vermeidung: da es sich beim Sonnenbrand um einen komplexen Vorgang handelt und v.a. die entzündliche Komponente untersucht wird, ist derzeit kein in vitro System als Alternative zur Bearbeitung der vorliegenden Fragestellung geeignet.

Verminderung: dieses Experiment ist als Pilotstudie konzipiert. Die Verwendung von 5 Tieren pro Gruppe ist die minimale Anzahl, um eine Dosisabhängigkeit der Wirksamkeit zeigen zu können.

Verfeinerung: um den Tieren unnötigen Stress im Rahmen der Fixierung zu ersparen sowie eine gut reproduzierbare UV-Exposition zu erreichen, wird eine speziell angefertigte „restraint-Hängematte“ verwendet.

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

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

Ziel dieses Projekts ist es einen genetisch veränderten Organismus zu generieren.

zu erwartender Nutzen: In weiterer Folge können diese genetisch veränderten Organismen der Generierung von neuen Zelllinien dienen und tragen daher auch dazu bei, die Zahl von Tierversuchen in diesem Forschungsgebiet zu vermindern.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere zeigen eine normale Lebensqualität. Sie werden zu Lebzeiten keinen Experimenten unterzogen, außer der Genotypisierung.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden insgesamt 50 Mäuse benötigt.

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

Vermeidung: Bei den geplanten Experimenten wird die Auswirkung des Fehlens eines Proteins in der Entwicklung von primären Zellen zu Krebszellen untersucht. Aus diesem Grund ist es nicht möglich, Erkenntnisse durch alternative Methoden wie Zellkultur zu gewinnen. In diesen, für den medizinischen Fortschritt wichtigen Untersuchungen, wird jedoch immer auf eine möglichst geringe Belastung der Versuchstiere geachtet.

Verminderung: Es wird großer Wert darauf gelegt, die Projektversuche nur mit jener minimalen Anzahl an Mäusen durchzuführen, die statistisch notwendig ist, um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten.

Verfeinerung: Die Tiere werden unter Standardbedingungen in Gruppen gehalten und von ausgebildetem Personal gepflegt. Um das Wohlbefinden zu steigern und den Zuchterfolg zu erhöhen wird den Tieren Enrichment in Form von Nistmaterial und Häuschen zur Verfügung gestellt.

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

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

Die Verwendung von dentalen Implantaten zur oralen Rehabilitation nach Zahnverlust ist ein etabliertes Verfahren in der Zahnheilkunde. Häufig kommt es aber nach Zahnextraktionen zur Atrophie des Kieferkammes wodurch die Anwendung der Implantate erschwert wird. Durch einen Knochenaufbau mit Knochenersatzmaterialien kann die Implantatinsertion erleichtert werden. Häufig müssen aber bei größeren Defekten neben dem Knochenersatzmaterial zusätzlich noch körpereigene Knochentransplantate aus anderen Kieferregionen oder aus dem Beckenknochen verwendet werden. Dies bedeutet für den Patienten einen zweiten Eingriff, der mit zusätzlichen Komplikationen und Schmerzen verbunden sein kann. In bestrahltem Knochen oder bei sehr großen Defekten kann nur mit vaskularisierten Knochentransplantaten gearbeitet werden, die über Gefäßanastomosen in der Defektregion mit Blut versorgt werden

In diesem Projekt soll modifiziertes Knochenersatzmaterial untersucht werden. Mit diesem soll einerseits eine schnellere Verknöcherung des Defektes erzielt werden, andererseits sollen auch größere Defekte ohne die Verwendung von körpereigenen Knochen aufgebaut werden können. Durch den Einsatz eines artifiziellen Gefäßsystems kann auch eine Blutgefäßversorgung dem Knochentransplantat zur Verfügung gestellt werden wie es in bestrahltem Knochen unabdingbar ist. Der Einsatz des modifizierten Materials und der artifiziellen Transplantate im Menschen ist nach der erfolgreichen Testung im Tiermodell ehestmöglich geplant um die Notwendigkeit körpereigener Knochentransplantate und der damit verbundenen Eingriffe, Schmerzen und Komplikationen zu reduzieren.

2. Art und Anzahl der Tiere

17 Schafe (Erhöhung der Tierzahl um 4 Tiere auf 17 Tiere)

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

Die Selektion von Knochenersatzmaterialien findet in-vitro statt. Anschließend müssen die Materialien im Tierversuch getestet werden bevor sie am Menschen angewendet werden können. Die Studie wird mit der geringstmöglichen Anzahl von Tieren durchgeführt, die eine aussagekräftige, statistische Bewertung erlaubt. Durch standardisierte Versuchsbedingungen und eine entsprechende chirurgische Expertise sind die Durchführungsbedingungen in dieser Studie höchstmöglich verfeinert. Die Operation wird ähnlich wie beim Menschen in Vollnarkose mit anschließender Schmerzbekämpfung durchgeführt. Bei 4 Tieren wird zusätzlich das Knochenersatzmaterial mit Gefäßbett eingesetzt um die knöcherne Ausheilung durch verbesserte Vaskularisierung zu untersuchen.

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

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen Die ansteigende Fettleibigkeit ist für die dramatische Häufung von Atherosklerose und Typ 2 Diabetes mellitus verantwortlich. Die momentan verfügbaren therapeutischen Strategien gegen dieses kardiovaskuläre Risiko sind nicht ausreichend, da die zellphysiologischen Ursachen nur ungenügend verstanden sind. Eine Störung der Glukosetoleranz und der Insulinsensitivität sind jedenfalls zwei prominent diskutierte Risikofaktoren für kardiovaskuläre Erkrankungen und Diabetes mellitus Typ 2. Zusätzlich hat sich rezent gezeigt, dass eine chronische Entzündung, welche im Wesentlichen durch entzündliche Makrophagen im viszeralen (intraabdominalen) Fett vorangetrieben wird, die eine Glukoseintoleranz und eine Insulinresistenz begünstigen bzw. auslösen. Die zugrundeliegenden zellulären Moleküle in Makrophagen, die die Entzündung und den Glukosemetabolismus regulieren, sind jedoch nur unzureichend erforscht. Die Projektidee zielt darauf ab, die Rolle von Signaltransduktionswegen in Makrophagen zu erforschen, die die Glukosetoleranz und die Insulinsensitivität steuern. Die Erforschung der Signaltransduktionswege, die in Makrophagen den Stoffwechsel regulieren, lassen neue therapeutische Ansätze erwarten, um metabolische und kardiovaskuläre Erkrankungen künftig besser verstehen und auch behandeln zu können. In dieser Erweiterung des ursprünglichen Antrages soll auch noch die Rolle der untersuchten Signalwege in einem kolorektalen Tumormodell untersucht werden.

2. Art und Anzahl der Tiere

Erhöhung um 84 Mäuse auf insgesamt 372 Mäuse

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

Alle Experimente dieses Projektes wurden unter Einhaltung des „3R“-Prinzips geplant. Zu dieser Fragestellung gibt es keine in-vitro Alternativen (Vermeidung nicht möglich). Um die Streuung der Versuchsergebnisse zu minimieren, werden die Haltungs- und Versuchsbedingungen optimal standardisiert und Littermates als Kontrolltiere eingesetzt. Zur Einschränkung der Belastung wurden außerdem stringente Abbruchkriterien definiert. Die Studien werden engmaschig überwacht und kontrolliert.

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

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

Lungenfibrose ist eine seltene Krankheit, jedoch gibt es aktuell keine wirksame und nebenwirkungsfreie Behandlungsstrategie. Bei der Lungenfibrose versteift die Lunge und es wird mehr Kraft benötigt, um die Lungenflügel ausreichend zu belüften, damit ein Gasaustausch stattfinden kann. Dadurch nimmt der Sauerstoffanteil im Blut ab und das Atmen fällt den Patienten schwer. Das Projektziel ist es, die Mechanismen, die zu dieser Krankheit führen zu verstehen und diese neuen Erkenntnisse zur Entwicklung neuer Therapiemöglichkeiten für Patienten zu nutzen.

zu erwartender Nutzen: Diese Ergebnisse können auf die Krankheit beim Menschen übertragen werden und dienen der Entwicklung neuer Therapiemöglichkeiten für Lungenfibrose.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere entwickeln die Symptome die der menschlichen Erkrankung ähnlich sind wie häufig andauernde Müdigkeit, geringe körperliche Belastbarkeit, sowie ein Anstieg der Atemfrequenz. Die Tiere erfahren möglicherweise mittelfristige leichte Schmerzen durch die Veränderungen in der Lunge.

2. Art und Anzahl der Tiere

Mäuse, insgesamt: 1101 (Erhöhung um 126 Mäuse)

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

Vermeidung: Zahlreiche *in vitro* Vorversuche zeigten eine mögliche relevante Rolle spezifischer, durch Wachstumsfaktoren-induzierter Moleküle bei kardiovaskulären Erkrankungen und lassen eine Rolle dieser Gene in Lungenfibrose vermuten. Komplexe pathophysiologische Zusammenhänge, die der Lungenfibrose zugrunde liegen, können nur im lebenden Organismus untersucht werden. Deshalb können wir zur Entwicklung neuer Therapeutika den Einsatz von Tiermodellen nicht vollständig verhindern.

Verminderung: Um Tierzahlen auf ein Minimum zu reduzieren, wurden Kontrollgruppen verkleinert und die Anzahl von an einem Tier durchgeführten Messungen erhöht. Zusätzliche Reduzierung der Tieranzahl wird durch eine optimierte Zuchtstrategie erreicht.

Verfeinerung: Die absolute Anzahl der Tiere wurde minimiert, indem mehrere unterschiedliche Messwerte (Parameter) pro Tier gemessen werden. Dies dient der Verfeinerung der Versuche und der Reduktion der Zahl der Tiere. Alle Tiere werden unter optimalen, kontrollierten und schmerzfreien Bedingungen gehalten. Die Tiere werden von ausgebildeten Tierpflegern versorgt und in regelmäßigen Abständen tierärztlich überprüft. Um das Wohlbefinden der Tiere zu gewährleisten, werden ihnen Nestmaterial und Tunnels zur Verfügung gestellt.

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

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

Die Grundlagenforschung nutzt die Maus als Modellorganismus, da die Gene zwischen Mensch und Maus sehr konserviert sind bzw. die gleiche Funktion im Körper ausüben. Es werden sogenanntem "Transgene Tiere" verwendet. Das sind Tiere deren Erbgut gezielt verändert wurde und diese genetische Veränderung stabil an ihre Nachkommen weitergibt. Es können ein oder mehrere zusätzliche Gene eingefügt werden, welche in ihrer Funktion auch noch oft verstärkt werden, sowie man auch Gene in ihrer Wirkung verändern oder gar inaktivieren kann. Die Charakterisierung dieser Mausmodelle liefert einen sehr wichtigen Beitrag zur Erforschung molekularer Veränderungen, die die Entstehung humaner Erkrankungen verursachen oder begünstigen. Solche transgene Tiere sind wertvolles Gut und werden unter speziellen hygienisch standardisierten Bedingungen gezüchtet und gehalten. Außerdem werden die Mäuse einem regelmäßigen Gesundheitsüberwachungsprogramm unterzogen, in dem auf das Vorkommen bestimmter krankmachender Keime untersucht wird. Nur gesunde Mäuse liefern eindeutige, reproduzierbare und sichere Forschungserkenntnisse. So ist bekannt, dass z.B. tierische Verhaltensweisen, Wachstumsraten, Organgewichte, Immunreaktion oder andere physiologische Vorgänge durch (subakute oder chronische) Erkrankungen gestört sein können und somit falsche Forschungsergebnisse liefern, die nicht mehr mit anderen verglichen werden können. Deshalb ist es wichtig, die Mäuse regelmäßig einem Gesundheitscheck zu unterziehen und standardisiert zu halten. Nur dann ist es möglich, eine gesunde Population zu erhalten und Forschungsergebnisse international vergleichbar zu machen. Um sich bei der Weitergabe von Tieren, die Gesundheit der eigenen Population zu erhalten, bedient man sich der Methodik des Embryonaltransfers. Weiteres können Tiere aus externen Haltungen, die nicht dem eigenen Hygienestandard entsprechen durch Embryonaltransfer „saniert“ werden. Unser Institut möchte mittels des Embryonaltransfers die eigene, gesunde Mauspopulation schützen und neu erworbene Mauslinien dem eigenen Gesundheitsstatus anpassen. Zusätzlich sollen wertvolle Mauslinien, die aktuell nicht untersucht werden, auf Linienhalt gezüchtet werden. Diese Linien können jederzeit wieder vermehrt gezüchtet werden, falls sich aktuelle Fragestellungen erheben.

2. Art und Anzahl der Tiere

Der Antrag wird auf insgesamt **10410 Mäuse** erhöht.

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

Wir versuchen mit so wenigen Tieren als möglich auszukommen, jedoch sind in der Regel 3-5 Transfers notwendig um ausreichend Nachkommen für die weitere Zucht der Tiere zu erhalten. Die Zahlen stellen die obere Grenze dar und voraussichtlich werden wir mit weit weniger Tieren auskommen. Es wird ständig an der Verbesserung der Versuchsabläufe gearbeitet und versucht, den Stress der Tiere so gering als möglich zu halten. Außerdem werden kurze Narkosezeiten und minimal invasive Operationstechniken verwendet. Eine entsprechende Analgesie und postoperative Nachversorgung der Tiere wird gewährleistet. Bedauerlicherweise lässt sich die Sanierung von Mauslinien nur am lebenden Tier durchführen. Bis jetzt sind keine Ersatzmethoden möglich.

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

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

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.

zu erwartender Nutzen: 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.

Diese Erweiterung und Methodenänderung der bereits genehmigten Studie ermöglicht durch neue in-vivo Imaging-Verfahren weitere Informationen zu erhalten.

zu erwartender Schaden: Die Mäuse werden in Vollnarkose ähnlich humanen Patienten an der Halsschlagader operiert und entsprechend postoperativ mit Schmerzmitteln versorgt. Nach Erholung der Tiere werden in Kurzzeitnarkosen verschiedene Untersuchungen und bildgebenden Verfahren mit modernen schmerzfreien Methoden durchgeführt und danach schmerzfrei eingeschläfert. Die Belastung der Tiere entspricht einer mittelgradigen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Als Versuchstiere werden ApoE (-/-) und C57BL/6 Mäuse verwendet. Die Anzahl der benötigten Tiere beläuft sich auf **1496 Mäuse (Erhöhung des ursprünglichen Kontingents um 404 auf 1496 Tiere)**

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

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. Des Weiteren werden unterschiedliche *in vivo* Imaging Verfahren eingesetzt um die Anzahl der Tiere möglichst gering zu halten.

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

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

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

Die Entstehung von Fettleibigkeit steht in engem Zusammenhang mit metabolischen Erkrankungen wie Typ 2 Diabetes, nicht-alkoholische Fettlebererkrankung und koronaren Herzerkrankungen. Diese stellen nicht nur eine enorme Belastung für die betroffenen Personen dar, sondern auch für das Gesundheitssystem. Weltweit sind bereits 500 Millionen Menschen krankhaft fettleibig, wobei 2,8 Millionen Menschen pro Jahr an den Folgen von Übergewicht sterben (WHO, 2013). Fette werden hauptsächlich in Form von sogenannten Triglyzeriden in spezialisierten Fettzellen (Adipozyten) gespeichert. Der Abbau von Triglyzeriden liefert dem Organismus wichtige Substrate zur Energiegewinnung für z.B. Muskelarbeit oder Wärmeproduktion, sowie Botenstoffe und Signalmoleküle. Um gespeichertes Fett zu mobilisieren, bedient sich der Körper spezieller fettsplattender Eiweißmoleküle - sogenannter Lipasen. Das durchführende Labor fokussiert sich im eingebrachten Antrag (1) auf die molekulare Regulation des Triglyzeridabbaus durch Lipasen und deren Regulatorproteine, und (2) auf die Bedeutung des Triglyzeridabbaus für die Pathophysiologie von metabolischen Erkrankungen. Dafür sind Tierversuche unumgänglich, da das komplexe Zusammenspiel verschiedener Organe bei der Entstehung solcher Erkrankungen nicht in Zellkulturversuchen nachgestellt werden kann. Die beantragten Studien sollen (1) unser Verständnis der grundlegenden molekularen Mechanismen des Fettabbaus verbessern, und (2) Ansatzpunkte für die Prävention und Behandlung von metabolischen Erkrankungen liefern. Aufgrund der neuen Anforderungen unserer Versuchs- und Zuchtplanung erhöht sich vor allem die Anzahl der Tiere, die einer geringen Belastung durch Schanzspitzenbiopsie ausgesetzt sind. Ein Teil der gezüchteten Tiere wird in bestehende Versuchsreihen integriert. Diese zusätzlich benötigten Versuchstiere werden vorübergehend leichter bis mittlerer Belastung durch experimentelle Eingriffe wie z.B. Diätstudien, Nahrungskarenz oder Blutabnahme ausgesetzt sein.

2. Art und Anzahl der Tiere

Die Anzahl der verwendeten Mäuse erhöht sich von 2830 auf 9000.

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

Wir versuchen die Anzahl sowie Leid und Stress der Tiere zu minimieren. Entsprechend internationalen Standards werden daher Tierversuche durch den Einsatz von tierversuchsfreien Verfahren ersetzt. So gehen jedem Tierversuch ausführliche Zellkultur- und biochemische Experimente voraus. Wir versuchen mit so wenigen Tieren als möglich auszukommen. Die Anzahl der verwendeten Tiere ist abhängig vom zu erwartenden oder vorausgesagten Effekt, d.h. sind die zu erwartenden Veränderungen zwischen Mausmodell und Kontrollmaus eindeutig, werden sich die Experimente auf ein statistisches Minimum beschränken. Zusätzlich wird ständig an der Verbesserung der Versuchsabläufe gearbeitet. So setzen wir, soweit als möglich, nicht-invasive Methoden ein, um Leid und Stress der Tiere so gering als möglich zu halten.

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

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

Ultraviolette (UV) Strahlung schädigt Hautzellen und kann zu frühzeitiger Hautalterung und zu Hautkrebs führen. Die Pigmentierung der Haut, die von einem bestimmten Hautzelltyp, dem Melanozyten, bewirkt wird, bietet einen teilweisen Schutz gegen UV Strahlen. Weiters verfügen Hautzellen über intrazelluläre Reparatur- und Regenerationsmechanismen, von denen man annimmt, dass sie zum Schutz gegen UV Schäden beitragen. Einer dieser Mechanismen ist die Autophagie, ein evolutionär konservierter Prozess zur Entfernung schadhafter Zellbestandteile. In früheren Studien wurde gezeigt, dass Autophagie auch in Melanozyten des Menschen und der Maus aktiv ist. Um die Rolle der Autophagie im Schutz der Melanozyten gegen UV Schäden bestimmen zu können, wurde ein Mausstamm kreiert, in dem die Autophagie spezifisch in Melanozyten inaktiviert ist. In der jetzigen Studie werden Mäuse dieses Stammes und Mäuse, die zur normalen Autophagie in Melanozyten fähig sind, mit UV bestrahlt. Die Auswirkungen der Bestrahlung werden in beiden Mausstämmen 24 Stunden und 4 Wochen nach Ende der Bestrahlung untersucht.

zu erwartender Nutzen: Durch Vergleich der UV-Wirkungen in beiden Mausstämmen können die beiden Forschungshypothesen getestet werden, dass Autophagie zum Schutz der Melanozyten gegen UV Schäden beiträgt und dass Autophagie in Melanozyten notwendig für die UV-induzierte Zunahme der Hautpigmentierung ist. Die erwarteten Erkenntnisse können in der Entwicklung von präventiven und therapeutischen Strategien gegen UV Schäden helfen, und nun auch zusätzlich zum besseren Verständnis von Pigmentierungsstörungen beitragen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Negative Effekte der geplanten Untersuchungen sind nicht zu erwarten, da die Behandlung mit UV- Strahlung und einer Therapielampe nicht die Energiemenge erreicht, die zu einer lokalen Entzündung führt. Die Behandlung wird unter Narkose und mit Augenabdeckung durchgeführt.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es wird die Erhöhung der Anzahl der Tiere **um 64 Mäuse auf insgesamt 264 benötigt**. Von den Tieren ist die Hälfte genetisch so verändert sind, dass die Autophagie spezifisch in Melanozyten abgeschaltet ist.

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

Den 3R Prinzipien wird in dieser Studie dadurch Rechnung getragen, dass die Anzahl an eingesetzten Mäusen so weit wie möglich reduziert wird, um noch statistisch aussagekräftige Analysen Ergebnisse zu erhalten. Die gewählten Bestrahlungsbedingungen werden so gewählt, wie sie in früheren Studien als relevant und wenig belastend eruiert wurden. Ergänzende Studien werden mit kultivierten Zellen *in vitro* durchgeführt.

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

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

Fettleibigkeit, Diabetes und Herz-Kreislauf-Erkrankungen stellen in westlichen Zivilisationen Massenerkrankungen dar. In Westeuropa sind mehr als 50% der Bevölkerung übergewichtig und mit ca. 15 Mio. Todesfällen pro Jahr sterben ungefähr doppelt so viele Menschen weltweit an Herz-Kreislauf-Erkrankungen wie Herzinfarkt und Gehirnschlag als an Krebs. All diesen Erkrankungen liegen unter anderem Fettstoffwechselstörungen zugrunde, die zur massiven Einlagerung von Fetten in Körperzellen und zur Ablagerung von Cholesterin in der Arterienwand führen.

Fette dienen dem Körper nicht nur als Langzeitspeicher von Energie, sie sind auch wichtige Botenstoffe und Signalmoleküle im Körper. Deshalb wird Fett nicht nur im Fettgewebe, sondern zu einem kleinen Teil in fast allen Körperzellen gespeichert. Um gespeichertes Fett zu mobilisieren, besitzt der Körper spezielle fettspaltende Enzyme, sogenannte Lipasen. Jede Lipase ist für einen ganz bestimmten Schritt im Abbau verantwortlich. Der Körper besitzt ein äußerst kompliziertes Steuerungs- und Regelsystem, mit dem er jeden einzelnen Zellprozess sehr fein abstimmen kann.

Zur Untersuchung des Energie- und Fettstoffwechsels werden neben Zellkulturexperimenten auch Modellorganismen herangezogen, wie z.B. Würmer, Insekten oder Fische. Jedoch können diese Modelle häufig nicht direkt mit einem Säugetier verglichen werden. Daher werden in der Forschung nach wie vor Mausmodelle hergestellt und untersucht. Die Maus hat einen komplexen Organismus und der weist Stoffwechselmechanismen auf, welche in allen Säugetieren ident sind. Dadurch können wichtige Erkenntnisse gewonnen werden, die Ansatzpunkte für die Prävention und Behandlung von Krankheiten bieten. Wir sind an der biologischen Charakterisierung von Enzymen interessiert, die den Abbau von Lipiden in Säugerzellen katalysieren. Diese lipolytischen Enzyme spielen eine wichtige Rolle in vielen biologischen und pathologischen Prozessen, da sie die Verfügbarkeit von Lipiden sowohl für die zelluläre Energieproduktion, als auch für Synthese- und Signaltransduktionsreaktionen kontrollieren. Es existieren zahlreiche genetische Erkrankungen, die einen Defekt im Phospholipid-, Triglyzerid-, oder Cholesterinester-Abbau aufweisen. Darüber hinaus können Veränderungen von lipolytischen Aktivitäten auch die Entstehung von häufig vorkommenden Stoffwechselerkrankungen beeinflussen, wie z.B. Fettleibigkeit, Dyslipidämien, Typ 2 Diabetes, Atherosklerose, und auch Tumor-induzierte Kachexie. Dennoch sind viele Lipasen unzureichend charakterisiert oder unentdeckt. Ziel unserer Forschung ist es neue Lipasen zu identifizieren und deren biologische Funktion mithilfe von biochemischen, zell- und molekularbiologischen Methoden zu erklären. Um die Funktion von einem Enzym in einem komplexen Organismus zu verstehen, sind jedoch Tierversuche unumgänglich.

zu erwartender Nutzen: Wir erwarten aus den Experimenten neue Einblicke in den Fettstoffwechsel zu gewinnen, die auch medizinisch relevant sind. Die Erkenntnisse unserer Studien könnten unser Verständnis über die Entstehung von Stoffwechselerkrankungen wesentlich verbessern und neue Wege zur Therapie dieser Erkrankungen aufzeigen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Um die Experimente durchzuführen, müssen folgende Methoden angewandt werden (Schweregrad: gering-mittel): Schwanzspitzenbiopsie (2 mm) zur Genotypisierung, Blutabnahme, Operation unter Narkose, Behandlung mit diversen Wirkstoffen (Insulin, Lipase-Inhibitoren, Cannabinoiden, orale Gavage, Opioidrezeptor Agonisten, Lipopolysacchariden), Diätstudien und kurzfristiger Nahrungsentzug (max. 12 Stunden).

2. Art und Anzahl der Tiere

Züchtung und Genotypisierung von insgesamt 5.600 Mäusen und vier Kaninchen.

2014: Aufgrund neuer Erkenntnisse wird die Anzahl der Tiere um zusätzlich 240 Mäuse erhöht.

2015: Erhöhung der Anzahl der Tiere um zusätzlich 1.226 Mäuse auf insgesamt 7.066 Mäuse.

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

Selbstverständlich versuchen wir Stress und Anzahl der Tiere zu minimieren. Entsprechend internationalen Standards werden Tierversuche durch den Einsatz von tierversuchsfreien Verfahren

ersetzt. So gehen jedem Tierversuch ausführliche Zellkultur- und biochemische Experimente voraus. Der Tierversuch wird ausschließlich als Proof-of-Principle Experiment gesehen, das eine aus in vitro Experimenten entstandene Hypothese bestätigt oder verwirft. Auch in der Lehre werden nur tierversuchsfreie Verfahren eingesetzt.

Außerdem wird versucht, mit so wenigen Tieren wie möglich auszukommen. Die Anzahl ist abhängig vom zu erwartenden oder vorausgesagten Effekt, d.h. sind die zu erwartenden Veränderungen zwischen Mausmodell und Kontrollmaus eindeutig, werden sich die Experimente auf ein statistisches Minimum beschränken. Die Zahl der notwendigen Versuchstiere hängt daher stark vom Experiment und liegt im Normalfall zwischen 3 und 10 Tieren.

Zusätzlich wird ständig an der Verbesserung der Versuchsabläufe gearbeitet, sodass die Leiden der eingesetzten Versuchstiere stark vermindert werden und gezieltere Informationen aus den Experimenten gewonnen werden können.

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

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

Der vorliegende Antrag betrifft die Erhaltungszucht und Zielzucht für in Beantragung befindliche Tierversuche von transgenen Mausstämmen. Es sind keine Belastungen, Leiden oder ein offensichtlicher Phänotyp bekannt. Die Tiere werden nach entsprechenden Verpaarungsschemata gezüchtet, und von jedem Tier wird ein zur Markierung gestanztes Ohrläppchenstück zur Genotypisierung verwendet. Das beantragte Projekt wird die kardioprotektiven Effekte einer kurzfristigen und langfristigen Gabe von Polyaminen 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 Polyamin-Gehalt). Dadurch könnte die alterungsbedingte kardiovaskuläre Dysfunktion verhindert bzw. die Manifestation einer Herzinsuffizienz im Alter zumindest hinauszögert werden.

2. Art und Anzahl der Tiere

Erhöhung der Anzahl der Tiere um **zusätzlich 2750 Mäuse auf 12500 Mäuse.**

3. 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: Bei der Zucht wird auf eine möglichst geringe Belastung der Versuchstiere geachtet. Die Zucht der Tiere wird so klein wie möglich gehalten, da die Überschaubarkeit der Zucht eine bessere Kontrolle und Pflege der Tiere ermöglicht. Außerdem wird berücksichtigt, die Projektversuche nur mit jener minimalen Anzahl an Mäusen durchzuführen, die statistisch notwendig ist, um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten.

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

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

Die Gene zwischen Mensch und Maus sind meist sehr konserviert bzw. „homolog“ und haben die gleichen oder ähnlichen Funktionen in Mensch und Tier. Die Herstellung und Untersuchung transgener Mausmodelle (Mäuse mit Genmutationen) liefert einen wichtigen Beitrag zur Erforschung der molekularen und biochemischen Veränderungen, die ursächlich zur Entstehung vieler humaner Erkrankungen beitragen. Durch die Herstellung von Mäusen mit Verlust oder Überexpression von Genen ist es in der Vergangenheit gelungen Gene zu entschlüsseln, die eine wichtige Rolle im Fettstoffwechsel der Maus spielen. Unter anderem konnte gezeigt werden, dass der Verlust eines Fett-spaltenden Proteins bei Mäusen zu einer schweren und tödlichen Herzverfettung führt. Basierend auf diesen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass Mutationen in diesem Gen beim Menschen ebenfalls zu schweren metabolischen Erkrankungen führen einschließlich einer tödlichen Herzdysfunktion (welche mitunter eine Herztransplantation der Patienten im Alter von 30 Jahren erfordert), schwerer Lebersteatose, Verlust einer intakten Hautbarriere und der durch Tumorerkrankungen verursachten Kachexie („Auszehrung“, rapider Verlust von Fett- und Muskelmasse). Gleichzeitig lieferte die Charakterisierung dieser Mäuse eine mögliche therapeutische Intervention. Tatsächlich konnte die Verabreichung eines sogenannten Agonisten der den Fettstoffwechsel induziert den Gesundheitszustand von Patienten verbessern. Der vorliegende Antrag umfasst die weiterführende Charakterisierung dieser wertvollen Mausmodelle im Energiestoffwechsel hinsichtlich der Entstehung von metabolischen Erkrankungen. Zudem sollen neue Mausmodelle mit Gewebs-spezifischem Verlust von Fettabbauenden Enzymen (Lipasen) oder deren Ko-faktoren (Proteine die die Aktivität der Lipasen zusätzlich stimulieren oder inhibieren) untersucht werden. Diese dadurch gewonnenen Erkenntnisse können die Basis für therapeutische Ansätze in der Behandlung metabolischer Erkrankungen wie der Adipositas, Diabetes, Lebersteatose und Herz- und Kreislauferkrankungen im Menschen liefern.

2. Art und Anzahl der Tiere

Die Tierzahlen des Antrags werden um **2480 Mäuse auf insgesamt 7085 Mäuse erhöht.**

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

Die Anzahl der verwendeten Tiere ist abhängig vom zu erwartenden oder vorausgesagten Effekt, d.h. sind die zu erwartenden Veränderungen zwischen Mausmodel und Kontrollmaus eindeutig, werden sich die Experimente auf ein statistisches Minimum beschränken. Zusätzlich wird ständig an der Verbesserung der Versuchsabläufe gearbeitet. So setzen wir, soweit als möglich, nicht-invasive Methoden ein, um Leid und Stress der Tiere so gering als möglich zu halten.

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

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

Entzündliche Fettleber (Steatohepatitis) eine Manifestation des metabolischen Syndroms ist eine der Hauptursachen chronischer Leberschäden beim Mensch, und kann in der Folge zu Leberzirrhose und Leberkrebs führen. Entwicklung neuer Therapien zur Behandlung der Steatohepatitis ist von großer Bedeutung, da es bisher keine spezifische Therapie gibt und, insbesondere durch die Zunahme des Typ II – Diabetes, kombiniert mit Fettleibigkeit, mit einer weltweiten Zunahme der Steatohepatitisfälle von 3 – 7% gerechnet werden kann. Die charakteristischen pathophysiologischen und morphologischen Veränderungen in der Leber, die bei Steatohepatitis auftreten, wie Vergrößerung (Ballonierung) der Leberzellen, die mit einer Zerstörung des Keratinskeletts und dem Auftreten von Proteinaggregaten (Mallory-Denk Körpern) einhergeht, können durch Langzeitfütterung der chemischen Verbindung 3,5-diethoxycarbonyl-1,4-dihydrocollidin (DDC) in der Maus herbeigeführt werden.

p62 (Sequestosome-1) ist ein zelluläres Protein, das eine wichtige Rolle bei der Übermittlung von Zellantworten und damit bei der Regulierung des Abbaus von Zell-Bestandteilen und Krebsentstehung spielt. Die Vermutung liegt somit nahe, dass die Bindung von p62 an abnorm gefaltete Keratine, Leberzellen erlauben, potenziell schädliche Proteine in einem biologisch unschädlichen Zustand zu entsorgen. Der Prozess der Ausbildung von Mallory-Denk Körpern während des Verlaufs der DDC-induzierten Steatohepatitis soll nun in p62-Knockout Mäusen, denen p62 in der Leber fehlt, genauer analysiert werden.

Eine weitere Auswirkung der Steatohepatitis betrifft die Entwicklung von Insulinresistenz wie sie auch beim Diabetes auftritt. Studien der letzten Jahre haben ergeben, dass Mäuse, denen p62 im gesamten Organismus fehlt, einen altersabhängigen Übergewichts-Phänotyp entwickeln, der von veränderter Glukose- und Insulintoleranz begleitet wird. Im Zusammenhang mit der Entwicklung von Steatohepatitis, wirft dies nun die Fragestellung auf, ob p62 in der Beta-Zelle an der Übermittlung von Zellantworten mittels Insulin teilnimmt und dadurch eine regulatorische Rolle im Glukosestoffwechsel d.h Regulierung des Blutzuckers einnimmt. Um dieser Frage nachgehen zu können, ziehen wir eine Mauslinie heran, der p62 spezifisch in der Bauchspeicheldrüse fehlt. Im Vergleich mit p62 total Knockout Mäuse kann dadurch die physiologische Bedeutung dieses Stress-induzierten Proteins in diesem Gewebe erforscht werden.

zu erwartender Nutzen: Wir erwarten uns durch diese Experimente wichtige Erkenntnisse über die Rolle von p62 in der Entwicklung metabolischer Lebererkrankungen und bei der Regulation des Glucosestoffwechsels durch Insulin.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Verabreichung des Experimentalfutters führt zu (entzündlicher) Fettlebererkrankung, die aufgrund der Schmerzunempfindlichkeit aber zu keiner Beeinträchtigung führt. Kleine Eingriffe (Schwanzspitzenbiopsie, Bestimmung der Insulin/Glucosetoleranz – erfordert Injektion und Blutabnahme aus der Schwanzvene) werden unter Anästhesie (Biopsie lokal) durchgeführt. Am Ende der Versuchsdauer werden die Tiere auf die schmerzloseste Art getötet.

2. Art und Anzahl der Tiere

Erhöhung der Anzahl der Tiere um **zusätzlich 1200 Mäuse auf insgesamt 2850 Mäuse.**

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

Vermeidung: Bisher gibt es leider bis auf die Anfütterung mit DDC keine weiteren Methoden, die eine einfachere Herbeiführung von Steatohepatitis im Mausmodell ermöglichen würde. Die Experimente müssen zudem in genetischen Mausmodellen in vivo durchgeführt werden, da die komplexen Störungen in der Stoffwechselsituation bei Diabetes und Fettleibigkeit sowie die Pathogenese der Steatohepatitis, bei der unterschiedliche Zelltypen beteiligt sind, nicht in einer für die menschliche Situation relevanten Form in isolierten Zellen reproduziert werden können. Parallel zu den beschriebenen Ansätzen, werden jedoch ohnehin soweit wie möglich Zellkulturexperimente für

einzelne Aspekte der Fragestellung durchgeführt. Von den analysierten Tieren wird soweit wie möglich Gewebe, welches nicht unmittelbar für Analysen verwendet wird in flüssigem Stickstoff für allfällige weitere Untersuchungen gelagert. Da Lebererkrankungen schmerzlos verlaufen, und auch sonst keine weiteren Beeinträchtigungen festgestellt wurden, zeichnet sich ein solches Modell jedoch durch eine sehr geringe Belastung für die Tiere aus.

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

Verfeinerung: Für das Wohl der Tiere wird durch veterinärmedizinische Überwachung und erfahrenes Tierpflegepersonal Sorge getragen.

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

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

Ein Ungleichgewicht in der Energiebalance zugunsten des Energieverbrauches führt zum Abbau der gespeicherten Energiereserven, was zu Gewichtsverlust bis zur Abmagerung (Kachexie) führen kann. Rund 50% der Krebspatienten leiden an Kachexie, von denen 20 -40% an den direkten Folgen der Kachexie sterben. Dabei kommt es zu einem starken Verlust von Fett-und Muskelgewebe. Tumorerkrankungen bei denen Kachexie und/oder Anorexie auftreten, haben generell eine schlechte Prognose. Unser Ziel ist es herauszufinden welche Faktoren den Abbau von Fett-und Muskelmasse bei einer Krebserkrankung signalisieren. Die Kenntnis der zugrundeliegenden Mechanismen stellt den ersten Schritt zur Prävention und Behandlung von Kachexie dar.

Den Hauptenergiespeicher des Körpers stellt das Fettgewebe dar. Um dieses Fett zu mobilisieren, bedient sich der Körper spezieller fettspaltender Enzyme -sogenannter Lipasen. Lipasen spielen aber nicht nur im Abbau von Fettgewebe eine wichtige Rolle. Vorangegangene Experimente haben gezeigt, dass auch die Funktion der Skelettmuskulatur durch die An-und Abwesenheit von Lipasen reguliert wird. Patienten denen die Aktivität der Fettgewebs-Triglyzerid-Lipase (ATGL) fehlt leiden unter NLSDM (Neutral Lipid Storage Disease with Myopathy) einer Stoffwechselerkrankung die unter anderem durch Muskelschwäche und durch massive Einlagerung von Fett im Muskel gekennzeichnet ist. Ein ähnliches Muskelbild zeigt sich beim Altern. Erste Zellkulturversuche haben gezeigt, dass Muskelvorläuferzellen denen ATGL Aktivität fehlt Fett akkumulieren und nicht in der Lage sind sich zu Muskelfasern zu entwickeln. Unser Ziel ist es daher herauszufinden welche Rolle die ATGL in der Muskelfunktion spielt und ob eine reduzierte ATGL Aktivität einen Grund für den Muskelverlust im Alter darstellt.

Um diese Ziele zu erreichen sind Tierversuche unumgänglich. Es sollen wichtige Erkenntnisse gewonnen werden, welche Ansatzpunkte für die Prävention und Behandlung von Krebs induzierter Kachexie sowie dem altersbedingten Muskelverlust bieten. Die Maus weist Stoffwechselmechanismen auf, welche in allen Säugetieren ident sind. Daher können mit Hilfe von verschiedenen Mausmodellen die Ursachen und Mechanismen der krebsbedingten Abmagerung und des altersbedingten Muskelverlustes untersuchen. **Die beantragte neue Mauslinie ist ein genetisches Krebsmodell, welches sich als ideal für die Untersuchung der krebsassoziierten Kachexie herausgestellt hat.** Nun müssen wir die Versuchstierzahlen an diese neu gewonnenen Erkenntnisse anpassen um unsere Studien fortführen zu können. Dabei werden die gezüchteten Tiere in bestehende Versuchsreihen integriert und erfahren dabei mittlere bis schwere Belastung. Zur Untersuchung der Muskelregeneration erfahren die Tiere geringe bis mittlere Belastung.

2. Art und Anzahl der Tiere

Wir haben im laufenden Antrag für die Züchtung, Genotypisierung und für Versuche von insgesamt 2045 Mäusen angesucht. Wir ersuchen um die Züchtung einer neuen gentechnisch veränderten Mauslinie und um eine Erhöhung der Versuchstieranzahl an und benötigen dazu **weitere 1600 Tiere**. **Bisher genehmigte Tierzahl: 2045; Neu beantragte Tierzahl: 3645**

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

Wir versuchen die Anzahl sowie Leid und Stress der Tiere zu minimieren. Entsprechend internationalen Standards werden daher Tierversuche durch den Einsatz von tierversuchsfreien Verfahren ersetzt. So gehen jedem Tierversuch ausführliche Zellkultur-und biochemische Experimente voraus. Wir versuchen mit so wenigen Tieren als möglich auszukommen. Die Anzahl der verwendeten Tiere ist abhängig vom zu erwartenden oder vorausgesagten Effekt, d.h. sind die zu erwartenden Veränderungen zwischen Mausmodell und Kontrollmaus eindeutig, werden sich die Experimente auf ein statistisches Minimum beschränken. Zusätzlich wird ständig an der Verbesserung der Versuchsabläufe gearbeitet. So setzen wir, soweit als möglich, nicht-invasive Methoden ein, um Leid und Stress der Tiere so gering als möglich zu halten.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 30. September 2019 vorgesehen.

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

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

Die beantragten Experimente dienen der Grundlagenforschung. Im Speziellen soll der Einfluss epigenetischer Mechanismen auf verschiedene Verhaltens-, Lern- und Gedächtnisleistungen in der Maus untersucht werden. Ein durch natürliche Züchtung entstandener Laborstamm mit verminderter Furchthemmung sowie ein genetisch verändertes Mausmodell werden im Hinblick auf die Regulation chromatinmodifizierender Faktoren in Antwort auf verschiedene Versuchsschemata untersucht. Diese Studien sollen zu einem besseren Verständnis psychischer Erkrankungen des Menschen (z.B. Depressionen, Angststörungen) führen und in der Folge mögliche molekulare Ziele für die Entwicklung neuer Therapiestrategien liefern.

2. Art und Anzahl der Tiere

Insgesamt werden **ca. 504 Mäuse (Erhöhung um 396 Mäuse)** zum Einsatz kommen. Vier verschiedene Verhaltenstests werden durchgeführt, wobei bei drei dieser Tests keine bis minimale Leiden verursachen.

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

Im Vorfeld wurden ausgedehnte Experimente und Planungen durchgeführt um die Anzahl der benötigten Versuchstiere so gering wie möglich zu halten. Dafür wurden Methoden für molekulare Analysen optimiert und für den Gebrauch mit minimalen Probenmengen modifiziert. Da das Ziel dieser Studie die Erforschung molekularer Mechanismen bei Verhaltensabläufen ist, ist der Tierversuch die einzig mögliche Art die Forschungsfrage adäquat zu behandeln. Alle Tiere werden regelmäßig und sorgfältig von geschultem Personal kontrolliert und betreut. Sollten sich Anzeichen für krankhafte Veränderungen ergeben, werden diese Tiere umgehend auf schmerzfreie Art getötet.

Eine rückblickende Bewertung ist bis **spätestens 30. April 2018** vorgesehen.

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

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

In dem vorliegenden Projekt werden neue radioaktiv markierte Verbindungen entwickelt, die als Grundlage für radioaktive Arzneimittel zur bildgebenden Diagnostik mittels der sogenannten Positronen-Emissions-Tomographie (PET) dienen sollen. In den letzten Jahren wurde gezeigt, dass insbesondere metallische Radionuklide wie Gallium-68 und Zirkonium-89 sehr vielversprechende Eigenschaften für die PET haben. Die dabei verwendeten Moleküle sollen möglichst spezifisch in Krankheitsprozesse eingeschleust werden, um diese sichtbar zu machen. Die in diesem Projekt entwickelten Verbindungen beinhalten eine neuartige Struktur zur Bindung von Gallium und Zirkonium und sind hochspezifisch auf Zielstrukturen gerichtet, wie sie vor allem auf Tumorzellen vorkommen. Dadurch könnte eine sensitive Darstellung von Tumoren in Patienten möglich sein. Die Moleküle werden in aufwändigen Experimenten im Labor mittels Zellkulturen und hochempfindlichen Analysemethoden getestet und die vielversprechendsten Kandidaten ausgewählt. Jedoch können bestimmte, für die Bildgebung wesentliche Eigenschaften, im Speziellen die Verteilung und Anreicherung in Tumorzellen in einem Organismus, nicht ausschließlich im Reagenzglas getestet werden. Zu diesem Zweck dienen die hier beantragten Tierversuche. Diese werden an Mäusen durchgeführt - einerseits in normalen, gesunden Tieren und andererseits in Tumormodellen. Für die Tumormodelle werden Nacktmäusen Tumorzellen injiziert und nach ein paar Wochen wächst an der Injektionsstelle ein subkutaner Tumor. Bevor diese Tumore eine Größe erreichen, die für das Tier stärker belastend sind, werden die selektierten radioaktiv markierten Moleküle verabreicht. Die Radioaktivitätsmenge ist dabei so gering, dass es für die Tiere keinerlei Belastung darstellt. Nach vorher bestimmten Zeitpunkten (1 bis 4 Stunden) werden die Tiere getötet und die Radioaktivitätsverteilung gemessen. Die Länge der Versuche stellt dabei für die Tiere eine geringe Belastung dar.

2. Art und Anzahl der Tiere

Insgesamt werden für diesen Änderungsantrag, der auf neue Erkenntnisse des *in vitro* Verhaltens optimierter Moleküle eingeht, zu den 130 Mäusen maximal **zusätzlich 55 Mäuse** beantragt, um die vorgesehenen Aussagen, ob sich die entwickelten Verbindungen potentiell zur Bildgebung bei Tumorpatienten eignen, wissenschaftlich fundiert zu beantworten. Die Zahl sollte idealerweise deutlich darunter liegen.

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

Um die Zahl der Versuchstiere so gering wie möglich zu halten, gibt es im Rahmen des Projekts zusätzlich Kooperationen mit anderen Universitäten, wo ein neues bildgebendes Verfahren (Micro-PET) eingesetzt wird, um dynamische Radioaktivitätsaufnahme-Studien in der Maus durchzuführen.

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

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

In dieser Studie sollen anhand von natürlich alternden Mäusen verschiedene, der menschlichen Ernährung nachempfundene Diäten auf ihre Auswirkungen auf Langlebigkeit bzw. Lebensspanne, sowie unterschiedliche physiologische Parameter wie Insulinresistenz (typischer Marker für Diabetes), Fettleibigkeit, kardiologische Parameter und chronische Entzündungsmarker beim Altern getestet werden. Dafür wird der Anteil verschiedener Nahrungsbestandteile (zum Beispiel bestimmte Kohlehydrate) im Futter der Tiere verändert und die Auswirkungen dieser Ernährung überwacht. Einerseits sollen Diäten getestet werden, bei denen Diabetes-ähnliche Symptome sowie eine möglicherweise verkürzte Lebensdauer erwartet werden.

Zu erwartender Schaden für das Tier: Es wird erwartet, dass diese Ernährungsweisen den Tieren nur in sehr begrenztem Maße (z.B. leichte Beeinträchtigung der Beweglichkeit durch Fettleibigkeit) zusätzliches Leid verursacht und nicht wesentlich über das Maß von natürlichen Altersschwächen hinausgeht bzw. diese höchstens etwas beschleunigt. Andererseits werden gesundheitsfördernde Ernährungsweisen getestet, bei denen eine positive Wirkung auf den Allgemeinzustand wie auch die Lebensspanne erwartet wird. Diese potentiell gesundheitsfördernden Ernährungsweisen umfassen lediglich die Zugabe und damit eine Anreicherung von Substanzen, die bereits ein natürlicher Bestandteil von normalem Mausfutter sind. Diese Substanzen werde in Mengen zugesetzt, die im Prinzip durch Variation einer natürlichen und ausgewogenen Ernährung erreichbar wären. **In einer Folgestudie sollen durch Kombination vorgenannter Ernährungsweisen die durch oben genannte Kohlenhydrat-reiche Ernährung auftretenden negativen Effekte vermindert werden und der allgemeine Gesundheitszustand verbessert werden.**

zu erwartender Nutzen: Da die verabreichten Diäten Ernährungsweisen unserer Gesellschaft nachempfunden sind, kann diese Studie wertvolle Einblicke in die Folgen von sogenannter "ungesunder" Ernährung bieten und mögliche natürliche Alternativen zu medikamentöser Behandlung von Zivilisationskrankheiten wie Diabetes oder Fettleibigkeit aufzeigen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Insgesamt wird die Studie maximal **753 Wildtyp-Mäuse** umfassen (**Erhöhung um 225 Tiere**)

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

Vermeidung: Die oben angesprochenen Diätformen wurden bereits in niederen Modell-Organismen (z.B. Würmern und Fliegen) soweit wie möglich getestet. Auf Grund vielversprechender Ergebnisse in diesen Modellen ist nun der Schritt zum höheren Tiermodell unabdingbar, um eine mögliche positive Wirkung auf den Menschen abzuschätzen. Da die gemessenen Parameter (Diabetesmarker, chronische Entzündungsmarker, Parameter für Herzinsuffizienz etc.) sich aus dem Zusammenspiel verschiedener Organe eines alternden Organismus ergeben, gibt es für sogenannte multisystemische Studien, wie die hier vorgestellte, keine bekannten Alternativmodelle.

Verminderung: Die Anzahl der Tiere wurde schon im Vorhinein streng limitiert und ein Teil dieser Tiere dient als Kontrollen, die keinem Tierversuch im eigentlichen Sinne unterzogen werden. Eine weitere Reduktion der Tierzahlen wird erreicht, in dem von den maximal veranschlagten Tierzahlen nur so viele Tiere tatsächlich für einen Versuch (z.B. Glukose- und Insulintoleranztest) verwendet werden, wie nötig sind, um statistisch signifikante Ergebnisse zu erreichen und damit wissenschaftlich fundierte Erkenntnisse zu gewinnen.

Verfeinerung: Weiters werden nur wissenschaftlich erprobte Testverfahren, nach international anerkannten Protokollen, angewendet und die Dauer eines Testes durch Abbruch der Messungen bei Erreichen einer Aussage minimiert. Dabei wird selbstverständlich so gearbeitet, dass Stress und Schmerzen für die Tiere auf ein Minimum reduziert werden. So wird beispielsweise auch auf den Einsatz von transgenen Tieren, die von Geburt an Defizite in ihrem Fett- und Kohlehydratstoffwechsel aufweisen und daher unter physiologischen Beeinträchtigungen leiden, verzichtet. Darüber hinaus werden alle Versuche ausschließlich von sachkundigem und bestens geschultem Personal durchgeführt.

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

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

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

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

zu erwartender Nutzen: Durch die transgenen Tiere kann das komplexe Zusammenspiel der Leukozyten in diesen Erkrankungen im lebenden Organismus untersucht werden. Dieses Zusammenspiel kann nicht in einem Einzellversuch nachgestellt werden. Die Erkrankungen (entzündliche Darmerkrankungen und Kolonkarzinom) verlaufen bei den Mäusen gleich wie beim Menschen und zeigen in den Modellen auch die gleiche Symptomatik. Dies ist von äußerst großer Wichtigkeit für die Übertragbarkeit von experimentellen Ergebnissen auf die Humanmedizin. Deswegen bringen die Untersuchungen in der transgenen Maus einen beträchtlichen neuen Wissensgewinn, der in der Grundlagen- und angewandten Forschung und in der Medizin von äußerst großem Nutzen ist.

2. Art und Anzahl der Tiere

Erhöhung der Anzahl der Tiere um **zusätzlich 70 Mäuse auf 166 Mäuse**.

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

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

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

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

