

**Evidenzbasierte Belastungseinschätzung bei Labornagern –
Retrospektiver Vergleich telemetrisch erfasster
Aktivitätsdaten mit klinischen Scoring-Systemen und
Validierung eines kamerabasierten
Heimkäfigmonitoringsystems**

von Miriam Ada Maihöfner

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde

der Tierärztlichen Fakultät

der Ludwig-Maximilians-Universität München

**Evidenzbasierte Belastungseinschätzung bei Labornagern –
Retrospektiver Vergleich telemetrisch erfasster
Aktivitätsdaten mit klinischen Scoring-Systemen und
Validierung eines kamerabasierten
Heimkäfigmonitoringsystems**

von Miriam Ada Maihöfner

aus München

München 2026

Aus dem Veterinärwissenschaftlichen Department

der Tierärztlichen Fakultät

der Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie

Arbeit angefertigt unter der Leitung von: Univ.-Prof. Dr. Heidrun Potschka

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Heidrun Potschka

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Bernhard Aigner

Tag der Promotion: 07. Februar 2026

Meiner Familie, insbesondere meinem Mann

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG.....	10
II.	LITERATURÜBERSICHT	13
1.	Belastungseinschätzung in Tierversuchen.....	13
1.1.	Tierversuche im ethischen Kontext.....	13
1.2.	Tierversuche im rechtlichen Kontext	17
1.3.	Einschätzung von Belastung	19
1.4.	Relative Severity Assessment	24
2.	Ausgewählte Parameter zur Belastungseinschätzung	25
2.1.	Herzfrequenz und Herzratenvariabilität	25
2.2.	Lokomotorische Aktivität im Heimkäfig	29
2.3.	Körpergewicht.....	30
2.4.	Nestbauverhalten.....	32
2.5.	Neuro-Score	33
2.6.	Mouse Grimace Scale.....	34
2.7.	Fäkale Kortikosteronmetaboliten	36
3.	Übersicht zu videobasierten Heimkäfigmonitoringsystemen	38
3.1.	Kommerzielle kamerabasierte Heimkäfigmonitoringsysteme	38
3.2.	Kamerabasierte Open-Source- und DIY- Heimkäfigmonitoringsysteme ..	43
4.	Konzept für ein kamerabasiertes Heimkäfigmonitoringsystem (Smart-Homecage)	45
III.	ARBEITSHYPOTHESEN UND ZIELSETZUNG.....	47
IV.	MATERIAL UND METHODEN	50
1.	Retrospektiver Vergleich zwischen telemetrisch erfassten Aktivitätsdaten und klinischen Scoring-Systemen.....	50
1.1.	Workflow für den Vergleich zwischen telemetrisch erfassten Aktivitätsdaten und klinischen Scoring-Systemen.....	52
1.2.	Experimentelle Tiermodelle und Interventionen.....	55
1.3.	Auswertung und Statistik	73
2.	Validierung eines kamerabasierten Heimkäfigmonitoringsystems	75

2.1.	Studiendesign	75
2.2.	Versuchstiere	78
2.3.	Transmitterimplantation	81
2.4.	Telemetrieaufzeichnungen und Datenauswertung	85
2.5.	Smart-Homecage-Aufzeichnungen	91
2.6.	Weitere erfasste Parameter	92
2.6.1.	(Patho-)physiologische Parameter	93
2.6.1.1.	Körpergewicht	93
2.6.1.2.	Rektaltemperatur	93
2.6.2.	Verhaltensuntersuchungen	94
2.6.2.1.	Nestbauverhalten	94
2.6.2.2.	Neuro-Score	96
2.6.2.3.	Mouse Grimace Scale	97
2.6.3.	Harmonisierter klinischer Score	98
2.6.4.	Fäkale Kortikosteronmetaboliten	100
2.7.	Auswertung und Statistik	102
V.	ERGEBNISSE	103
1.	Retrospektiver Vergleich zwischen telemetrisch erfassten Aktivitätsdaten und klinischen Scoring-Systemen	103
1.1.	Effektstärken	104
1.1.1.	Effektstärken der aktivitäts-assoziierten Parameter basierend auf Vergleichen mit Daten von Referenztagen	105
1.1.2.	Effektstärken der aktivitäts-assoziierten Parameter basierend auf Vergleichen mit Daten von Referenzgruppen	120
1.1.3.	Zusammenfassung der Ergebnisse	129
2.	Validierung eines kamerabasierten Heimkäfigmonitoringsystems	134
2.1.	Telemetrieaufzeichnungen	134
2.1.1.	Herzfrequenz	134
2.1.2.	Herzratenvariabilität	139
2.1.3.	Aktivität	148
2.1.4.	Temperatur	151
2.2.	Körpergewicht	154
2.3.	Rektaltemperatur	157

2.4.	Nestbauverhalten	159
2.5.	Neuro-Score	162
2.6.	Mouse Grimace Scale.....	164
2.7.	Harmonisierter klinischer Score.....	166
2.8.	Fäkale Kortikosteronmetaboliten	170
VI.	DISKUSSION.....	171
1.	Retrospektiver Vergleich zwischen telemetrisch erfassten Aktivitätsdaten und klinischen Scoring-Systemen.....	171
2.	Validierung eines kamerabasierten Heimkäfigmonitoringsystems	186
VII.	ZUSAMMENFASSUNG	201
VIII.	SUMMARY	204
IX.	LITERATURVERZEICHNIS.....	206
X.	ANHANG.....	236
1.	Abbildungsverzeichnis.....	236
2.	Tabellenverzeichnis	237
3.	Geräte.....	240
4.	Software	241
5.	Medikamente und Substanzen.....	242
6.	Neuro-Score.....	244
7.	Aktivitätsdaten für den retrospektiven Vergleich zwischen telemetrisch erfassten Aktivitätsdaten und klinischen Scoring-Systemen.....	247
8.	R-Skripte.....	250
XI.	PUBLIKATIONSLISTE	253
XII.	DANKSAGUNG.....	254

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ACTH	Adrenocorticotropes Hormon	kg	Kilogramm
AG	Arbeitsgruppe	KGaA	Kommanditgesellschaft auf Aktien
ARRIVE	<i>Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments</i>	MESZ	mitteleuropäische Sommerzeit
AU	<i>action unit</i>	MEZ	mitteleuropäische Zeit
BfR	Bundesinstitut für Risikobewertung	m	Meter
bpm	<i>beats per minute</i>	M	Mittelwert
bzw.	beziehungsweise	mg	Milligramm
ca.	zirka	MGS	Mouse Grimace Scale
cc	Kubikzentimeter	min	Minute
CI	Konfidenzintervall	ml	Milliliter
cm	Zentimeter	ms	Millisekunde
cpm	<i>counts per minute</i>	n	Stichprobenumfang
CRH	<i>Corticotropin-Releasing-Hormon</i>	ng	Nanogramm
DFG	Deutsche Forschungsgemeinschaft	NN-I/RR-I	<i>normal-to-normal-Intervall/Schlag-zu-Schlag-Intervall</i>
d. h.	das heißt	OP	Operation
DIY	Do it yourself	RELSA	<i>Relative Severity Assessment</i>
ECLAM	<i>European College of Laboratory Animal Medicine</i>	RGB	Rot, Grün, Blau
EEG	Elektroenzephalogramm	RMSSD	<i>Root Mean Square of successive Differences of RR intervals</i>
EIA	Enzym-Immunoassay	RL	Richtlinie
EKG	Elektrokardiogramm	RT	Referenztag[e]

ESLAV	<i>European Society of Laboratory Animal Veterinarians</i>	s.c.	subkutan
EU	Europäische Union	SD	<i>standard deviation</i>
FCM	Fäkale Kortikosteronmetaboliten	SDNN	<i>Standard Deviation of NN intervals</i>
FELASA	<i>Federation of European Laboratory Animal Science Associations</i>	SE	<i>Status epilepticus</i>
Fn	Fußnote	SPF	Spezifisch-Pathogenfrei
g	Gramm	TB	Terabyte
ggf.	gegebenenfalls	TierSchG	Tierschutzgesetz
GV-Solas	Gesellschaft für Versuchstierkunde	TierSchVersV	Tierschutzversuchstierverordnung
h	Stunde	u. a.	unter anderem
HF	Herzfrequenz	VersTierMeldV	Versuchstiermeldeverordnung
hf/lf	<i>high-frequency/low-frequency</i>	VO	Verordnung
HRV	Herzratenvariabilität	vs.	versus
inkl./exkl.	inklusive/exklusive	ZEBET	Zentralstelle zur Erfassung und Bewertung von Ersatz- und Ergänzungsmethoden zum Tierversuch
i.p.	intraperitoneal	z. B.	zum Beispiel
IQR	<i>interquartile range</i>	z. T.	zum Teil
IVC	<i>individually ventilated cages</i>	3R	<i>Replacement, Reduction, Refinement</i>
KI	Künstliche Intelligenz	°C	Grad Celsius

I. EINLEITUNG

In der tierexperimentellen Forschung verpflichtet die Richtlinie 2010/63/EU der Europäischen Union zur Implementierung der von Russel und Burch (1959) veröffentlichten 3R-Prinzipien (*Replacement, Reduction, Refinement*). Das Prinzip des *Refinements* zielt darauf ab, Tierversuche zu verbessern und das Leiden von Versuchstieren in derzeit nicht ersetzbaren Experimenten auf das unerlässliche Maß zu beschränken. Ein zentrales Element dieses Prinzips stellt die evidenzbasierte Belastungseinschätzung dar (KEUBLER et al., 2020). Trotz der Vielzahl hierfür potenziell verfügbarer Parameter, mangelt es an wissenschaftlich validierten, modellübergreifend anwendbaren Methoden für eine adäquate Beurteilung der Belastung (BLEICH und TOLBA, 2017; KEUBLER et al., 2020). Um dieser Problematik entgegenzuwirken, hat sich die Forschungsgruppe „*Severity Assessment in Animal-Based Research*“ (<https://severity-assessment.de>) (DFG-FOR2591, 2025) zur Aufgabe gemacht, objektive und sensitive Parameter für die Belastungseinschätzung zu identifizieren und bestehende Methoden zu validieren sowie weiterzuentwickeln. Darüber hinaus sollen neue Techniken zur minimal- bzw. nicht-invasiven Überwachung entwickelt werden. Neben der Reduktion der Belastung in Tierversuchen kann so auch zu einer höheren Studienqualität beigetragen werden, indem z. B. eine distress-assoziierte Varianz der generierten Daten reduziert wird (BLEICH und TOLBA, 2017). Beide im Rahmen dieser Dissertation durchgeführten Studien erfolgten in der Forschungsgruppe DFG-FOR2591 und verfolgten das übergeordnete Ziel, zum *Refinement* gemäß der EU-Richtlinie 2010/63/EU beizutragen. In der ersten Studie wurden hierzu telemetrisch erfasste Aktivitätsdaten mit klinischen Scoring-Systemen in verschiedenen Nagermodellen und Interventionen verglichen. In der zweiten Studie wurde im Rahmen einer multizentrisch angelegten Studie ein Beitrag zur Validierung eines neuen kamerabasierten Heimkäfigmonitoringsystems geleistet. Zusätzlich wurde die postoperative Belastung nach subkutaner Transmitterimplantation untersucht.

Die Aktivität von Tieren stellt einen häufig verwendeten Parameter zur Beurteilung der Belastung dar (DÜLSNER et al., 2020). Die Aktivität kann u. a. telemetrisch und somit kontinuierlich im Heimkäfig der Tiere erfasst werden. Dies erfordert jedoch einen invasiven Eingriff zur Implantation entsprechender Sender. Alternativ lässt sich die Aktivität mit Hilfe des in der Regel verwendeten klinischen Scores

subjektiv, jedoch nicht-invasiv, im Heimkäfig erfassen. In der ersten explorativen Studie dieser Dissertation wurden retrospektiv telemetrisch erfasste Aktivitätsdaten mit klinischen Scoring-Systemen verglichen. Dabei sollte die Sensitivität der beiden Methoden zur Erfassung der Aktivität überprüft werden und eingeschätzt werden in welchen Modellen oder Interventionen die Aktivität einen informativen Parameter im Rahmen der Belastungseinschätzung darstellt.

Für die evidenzbasierte Beurteilung sind multimodale Ansätze zur Beurteilung des Wohlergehens und der Belastung von Versuchstieren essenziell (PEREIRA et al., 2019; ZIEGLOWSKI et al., 2021; ZECHNER et al., 2022; REIBER et al., 2023). Eine kontinuierliche Erfassung von Vital- und Verhaltensparametern ermöglicht Rückschlüsse auf das Tierwohl. Bei bereits validierten Systemen zur Erfassung dieser Parameter sind Limitierungen, z. B. durch Fixierungen, Narkosen oder operative Eingriffe, zu berücksichtigen. Vor allem physiologische Parameter werden im Heimkäfig der Tiere überwiegend telemetrisch erfasst (KAHNAU et al., 2023). Der Einsatz von Telemetriesendern, um beispielsweise ein Elektrokardiogramm (EKG) erfassen zu können, setzt die invasive Implantation des Senders voraus. Eine vielversprechende Möglichkeit zur nicht-invasiven Überwachung von Labornagern stellen heimkäfigbasierte Monitoringsysteme dar, die durch Automatisierung zusätzlich zur Standardisierung von Experimenten beitragen können (KLEIN et al., 2022). In Kombination mit künstlicher Intelligenz (KI) könnten in Zukunft präzise Abweichungen im Gesundheitszustand und des Verhaltens der Tiere in Echtzeit erfasst und adressiert werden (SÜNDERMANN et al., 2024). Von der Forschungsgruppe DFG-FOR2591 wurde ein neues kamerabasiertes Heimkäfigmonitoringsystem („Smart-Homecage-System“) entwickelt, welches mit Hilfe von Nahinfrarot-, Wärmebild- und RGB-Kameras die Ableitung verschiedener Parameter wie Herzfrequenz, Atemfrequenz, Körpertemperatur oder Aktivität ermöglicht (MÖSCH et al., 2023). Ziel ist es, invasive Eingriffe zu vermeiden sowie eine kontinuierliche und objektive Überwachung von Nagern zu gewährleisten. Zur Validierung des Smart-Homecage-Systems wurde eine multizentrische Studie in der Forschergruppe (DFG-FOR2591, 2025) geplant. Dabei sollte das System mit der bereits validierten Methodik der Telemetrie überprüft werden. Neben den Beiträgen zu dieser multizentrischen *In-vivo*-Studie umfasst die vorliegende Dissertation auch eine Betrachtung der

postoperativen Belastung und insbesondere einen Vergleich der Belastung an Tag 14 und 21 nach subkutaner Transmitterimplantation bei Mäusen unter Verwendung (patho-) physiologischer, verhaltensbezogener und biochemischer Parameter. Dabei sollte überprüft werden, ob eine um eine Woche verlängerte Rekonvaleszenzzeit nach dem operativen Eingriff mit einer fortgeschritteneren Erholung einherging.

II. LITERATURÜBERSICHT

1. Belastungseinschätzung in Tierversuchen

1.1. Tierversuche im ethischen Kontext

In der Tierethikdebatte lassen sich die meisten Sichtweisen den vier Positionen Anthropozentrik, Pathozentrik, Biozentrik und Holismus zuordnen (ALZMANN, 2016). Im Mittelpunkt der Anthropozentrik stehen der Mensch sowie seine Interessen, wodurch die moralische Berücksichtigung anderer Wesen auf den Umfang beschränkt bleibt, in dem sie den menschlichen Interessen zuträglich ist (GROSS und TOLBA, 2015; ALZMANN, 2016). Laut Immanuel Kant, einem wichtigen Vertreter, sind Tierversuche moralisch problematisch, wenn diese lediglich der Spekulation dienen. Außerdem plädierte Kant dafür, Tierversuche nach Möglichkeit durch Alternativen zu ersetzen (ALZMANN, 2016). Die Pathozentrik, vertreten u. a. durch Peter Singer, zielt auf den Schutz sämtlicher empfindungs- und leidensfähigen Lebewesen ab. Die Verursachung von Leiden gilt dabei als moralisch verwerflich (ALZMANN, 2016). Singer forderte eine Gleichheit der Interessen unabhängig von der Rasse oder Art eines Wesens (SINGER, 1990). Aus der primär utilitaristischen Perspektive Singers wird der Nutzen einer Handlung moralisch beurteilt, sodass Tierversuche dann gerechtfertigt erscheinen, wenn der Nutzen die entstehenden Leiden überwiegt (GROSS und TOLBA, 2015; ALZMANN, 2016). Im Zentrum der moralischen Überlegungen der Biozentrik, deren bekanntester Vertreter Albert Schweitzer ist, steht hingegen das Leben an sich. Entsprechend wird das Töten eines Lebewesens grundsätzlich abgelehnt (ALZMANN, 2016). Schweitzer betonte jedoch, dass im Falle von Tierversuchen stets die Notwendigkeit abzuwiegen sei und Schmerzen, sofern möglich, zu mildern seien (SCHWEITZER, 1923). Der Holismus erweitert die Schutzwürdigkeit auf die unbelebte Natur. Er findet v. a. im Natur- und Umweltschutz Anwendung, während er in der Tierethik nur selten berücksichtigt wird (ALZMANN, 2016).

Vergleicht man die Position von Tierschutzrechtlern, so zeigt sich hier deren fundamentale Kritik an der Nutzung bzw. Instrumentalisierung von Tieren auf. Tieren wird das gleiche Recht auf Unversehrtheit und Leben wie dem Menschen

zugeschrieben. Befürworter dieser Sichtweise fordern daher einen deontologischen Ansatz, wie ihn auch Tom Regan vertrat, und beziehen sich auf die Pflichten, die der Mensch gegenüber Tieren hat (GROSS und TOLBA, 2015). Nach Regan sollte die Nutzung von Tieren in der Wissenschaft vollständig abgeschafft werden (ALZMANN, 2016). Befürworter fordern darüber hinaus die Eliminierung jeglicher Formen der Nutzung von Tieren, einschließlich der Haltung in zoologischen Gärten oder der Verwendung zur Lebensmittelherstellung (GROSS und TOLBA, 2015). Vor diesem Hintergrund bietet ein Vergleich der Anzahl an Versuchstieren und Nutztieren in Deutschland für das Jahr 2023 eine relevante Kontextualisierung. Insgesamt wurden 3,5 Millionen Versuchstiere zu wissenschaftlichen Zwecken verwendet oder getötet. Diese Anzahl beinhaltet ebenfalls die nicht verwendeten, getöteten Tiere (BFR, 2024). Demgegenüber standen 201,1 Millionen in Deutschland gehaltene Nutztiere, darunter Rinder, Schweine, Schafe, Ziegen und Geflügel (BMEL, 2023).

Die oben aufgeführten ethischen Konzepte haben gemeinsam, dass sie von Menschen zur kritischen Beurteilung des eigenen Handelns entwickelt wurden und eine bestimmte ideologische Überzeugung voraussetzen, welche entsprechend nie von der gesamten Bevölkerung geteilt wird. Darin begründet sich die Notwendigkeit zur Berücksichtigung moralischer Ansätze, die in den meisten intellektuellen, kulturellen und religiösen Traditionen Anerkennung finden. Ein solcher zentraler Ansatz ist das 1959 von William M. S. Russell und Rex L. Burch vorgeschlagene Prinzip der 3R's (GROSS und TOLBA, 2015). Die 3R's (*Replacement*, *Reduction* und *Refinement*) wurden als Hauptprinzipien für einen humanen Umgang mit Versuchstieren formuliert (RUSSELL und BURCH, 1959) und gesetzlich als zentraler Grundsatz in der Richtlinie (RL) 2010/63/EU zum Schutz der für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere¹ verankert. Seit der Umsetzung dieser Richtlinie in nationales Recht, kam es zu einem starken Anstieg der Anzahl der 3R-Zentren und -Plattformen in Europa (NEUHAUS et al., 2022).

Die ursprüngliche Definition von *Replacement* umfasst den Ersatz von höheren Lebewesen durch empfindungsloses Material. Russell und Burch zählten hierzu

¹ Richtlinie 2010/63/EU des europäischen Parlaments und des Rates vom 22. September 2010 zum Schutz der für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere, Amtsblatt der Europäischen Union L 276, 20.10.2010, S. 33-79

zum Beispiel auch den Ersatz durch weniger empfindungsfähige Spezies oder Experimente an Tieren, welche sich in finaler Narkose befinden (TANNENBAUM und BENNETT, 2015). In zeitgenössischen Interpretationen wird *Replacement* als der Ersatz von Tierversuchen durch alternative oder tierfreie Methoden verstanden (GROSS und TOLBA, 2015; TANNENBAUM und BENNETT, 2015). Als mögliche Alternativen werden u. a. Zellkulturen, Organoide, künstliche Intelligenz sowie *In-silico*-Simulationen genannt (MACARTHUR CLARK, 2018; POH und STANSLAS, 2024). In diesem Zusammenhang gilt es zu beachten, dass auch alternative Methoden, wie etwa humane zerebrale Organoide, aufgrund der Möglichkeit zur Entwicklung von Empfindungsfähigkeit oder Bewusstsein gegenwärtig zu neuen ethischen Diskursen führen (KREITMAIR, 2023; PICHL et al., 2023). Im Hinblick auf die *Reduction* beziehen sich Russell und Burch auf die Verringerung der Anzahl eingesetzter Tiere, wobei die Genauigkeit und Präzision der angestrebten wissenschaftlichen Erkenntnisse gewahrt bleiben müssen (TANNENBAUM und BENNETT, 2015). Zur Entwicklung von Alternativen zu Tierversuchen und zur Reduzierung der Verwendung von Tieren zu wissenschaftlichen Zwecken wurde 1989 mit der ZEBET (Zentralstelle zur Erfassung und Bewertung von Ersatz- und Ergänzungsmethoden zum Tierversuch) am Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) das weltweit erste staatliche Zentrum für alternative Methoden etabliert (NEUHAUS et al., 2022). Die ZEBET trägt folglich maßgeblich zur Umsetzung der Grundsätze des *Replacements* und der *Reduction* bei. Ist der Einsatz von Versuchstieren unumgänglich, sollte das Prinzip des *Refinements* zur Anwendung kommen. Der durch die Tiere erlittene Distress (Schmerzen, Leiden, Schäden) muss auf ein Minimum begrenzt werden (TANNENBAUM und BENNETT, 2015). *Refinement* kann sich sowohl in der Verbesserung der Lebensumstände und des Wohlbefindens der Versuchstiere als auch in einer Minimierung potenzieller Schmerzen, Leiden oder Schäden widerspiegeln. Diese Optimierungen sollten u. a. während der Haltung, Pflege und des Umgangs mit den Tieren sowie bei der Auswahl angemessener Euthanasiemethoden Berücksichtigung finden (GROSS und TOLBA, 2015; MACARTHUR CLARK, 2018). Im Rahmen des *Refinements* können die Haltungsbedingungen insbesondere durch gezieltes *Enrichment* verbessert werden. Zudem lässt sich der mit experimentellen Abläufen verbundene Stress für die Tiere durch entsprechendes Training bzw. eine Gewöhnung minimieren und die mit

Schmerzen und Distress einhergehende Belastung durch einen adäquaten Einsatz von Anästhetika und Analgetika weiter verringern (MACARTHUR CLARK, 2018).

Neben der Anhebung der Standards im Hinblick auf das Tierwohl kann die Umsetzung des 3R-Prinzips neben ethischen auch zu wissenschaftlichen Vorteilen führen. Die Implementierung von *Refinement* trägt beispielsweise zur Minimierung von Stress als wissenschaftliche Variable und folglich zur Standardisierung im Tiermodell bei (MACARTHUR CLARK, 2018; BLEICH et al., 2020). Andauernder experimentell bedingter Stress kann sich negativ auf die Physiologie und den Metabolismus auswirken, was wiederum die Qualität der erhobenen Daten beeinträchtigt (BAILEY, 2018). Somit kann *Refinement* gezielt zur Erhöhung der Robustheit und Validität von Forschungsdaten beitragen. In der Versuchstierkunde lässt sich daher eine wechselseitige Beziehung zwischen Ethik und wissenschaftlicher Qualität identifizieren (BRILL et al., 2021). Bereits Russel und Burch (1959) betonten die Notwendigkeit guter wissenschaftlicher Praxis, um Schäden an Versuchstieren auf ein Mindestmaß beschränken zu können. Gute Studiendesigns, eine sachgerechte Modellwahl und geeignete statistische Analysen sind essenzielle Voraussetzung, um Wiederholungen von Experimenten und damit den Einsatz zusätzlicher Tiere zu vermeiden, wodurch das Gesamtmaß an Tierleid minimiert wird (BRILL et al., 2021). Strech und Dirnagl (2019) forderten daher, das klassische 3R-Prinzip durch die Prinzipien *Robustness*, *Registration* und *Reporting* zu einem 6R-Prinzip zu erweitern, um die Studien- und Publikationsqualität in der tierexperimentellen Forschung weiter zu verbessern. Entscheidend sind ein robustes Studiendesign, die vorherige Registrierung der Studien sowie die nicht-selektive Publikation aller Ergebnisse, einschließlich Negativergebnisse (STRECH und DIRNAGL, 2019). Diskutiert wird auch die Erweiterung der 3R's um lediglich einen weiteren Aspekt, etwa *Rehabilitation*, wobei die adäquate Versorgung und die Erholung von experimentellen Eingriffen oder Stressoren gewährleistet sein sollte (MANDAL und PARIJA, 2013; GROSS und TOLBA, 2015). Ebenso werden *Refusal*, das Ablehnen von Forschungsprotokollen ohne zu erwartenden Erkenntnisgewinn (CURZER et al., 2016; LEE et al., 2020) sowie *Responsibility*, die Übernahme von Verantwortung für die Versuchstiere und den gesellschaftlichen wie wissenschaftlichen Status der

tierexperimentellen Forschung (LEE et al., 2020), als weitere Ergänzung vorgeschlagen.

Tom L. Beauchamp und David DeGrazia stellten in dem Buch „Principles of Animal Research Ethics“ (BEAUCHAMP und DEGRAZIA, 2020) zusätzliche Grundsätze für die Tierversuchsethik heraus, welche das 3R-Prinzip ergänzen. Sie schlugen einen normativen Rahmen aus den Kernwerten „sozialer Nutzen“ und „Tierschutz“ vor, der potenziell sowohl mit biomedizinischer als auch tierschutzrechtlicher Sichtweise kompatibel ist. Dem sozialen Nutzen sind die Prinzipien „keine alternative Methode“, „erwarteter Nettonutzen“ und „hinreichender Wert zur Rechtfertigung des Schadens“ zugeordnet, während dem Tierschutz die Prinzipien „kein unnötiger Schaden“, „Grundbedürfnisse“ und „Obergrenze für Schäden“ unterliegen. Diese sechs Prinzipien spiegeln sich teilweise bereits in Richtlinien oder Gesetzgebungen einiger Länder wider (DEGRAZIA und BEAUCHAMP, 2021). Das Unternehmen Merck KGaA gründete im Jahr 2022 eine Koalition mit Pharmaunternehmen, um die „Marseiller Erklärung zur weltweiten Einführung hoher Standards bei der internen und externen Tierhaltung und -nutzung für wissenschaftliche Zwecke durch die Pharmaindustrie“ zu formulieren. Diese Erklärung forderte die Einhaltung des 3R-Prinzips (nach Russell und Burch) sowie der sechs ethischen Grundprinzipien (nach Beauchamp und DeGrazia) zur Umsetzung höchstmöglicher Tierschutzstandards in der pharmazeutischen Forschung (MERCK KGAA, 2025a, 2025b).

1.2. Tierversuche im rechtlichen Kontext

Mit Artikel 20a wurde 2002 der Tierschutz als Staatsziel im Grundgesetz der Bundesrepublik Deutschland verankert². Die Richtlinie 2010/63/EU zum Schutz der für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere regelt übergeordnet den Schutz von Tieren in der Forschung für alle Mitgliedsstaaten der Europäischen Union (EU)³. Diese europäische Richtlinie wurde in Deutschland über die Tierschutz-Versuchstierverordnung (TierSchVersV)⁴ in Verbindung mit dem

² Grundgesetz für die Bundesrepublik Deutschland in der im Bundesgesetzblatt Teil III, Gliederungsnummer 100-1, veröffentlichten bereinigten Fassung, das zuletzt durch Artikel 1 des Gesetzes vom 19. Dezember 2022 (BGBl. I S. 2478) geändert worden ist

³ Richtlinie 2010/63/EU (Fn. 1)

⁴ Tierschutz-Versuchstierverordnung vom 1. August 2013 (BGBl. I S. 3125, 3126), die zuletzt durch Artikel 1 der Verordnung vom 11. August 2021 (BGBl. I S. 3570) geändert worden ist

Tierschutzgesetz (TierSchG)⁵ in nationales Recht überführt. Paragraf 1 des TierSchG formuliert die „Verantwortung des Menschen für das Tier als Mitgeschöpf“, wobei das „Leben und Wohlbefinden“ der Tiere zu schützen sind⁶. Des Weiteren darf niemand „einem Tier ohne vernünftigen Grund Schmerzen, Leiden oder Schäden zufügen“ (§1 TierSchG)⁶. Dieser vernünftige Grund kann laut §7a TierSchG durch die Unerlässlichkeit eines Tierversuches gegeben sein: Für die Entscheidung, müssen u. a. der aktuelle wissenschaftliche Stand und alternative Methoden bzw. Verfahren überprüft und abgewogen werden. Zudem dürfen den Versuchstieren nicht mehr Schmerzen, Leiden oder Schäden zugefügt werden, als für den Versuchszweck unbedingt erforderlich und die zu erwartenden Schmerzen, Leiden oder Schäden müssen in Anbetracht dieses Zweckes ethisch vertretbar sein⁶. Das in Kapitel II 1.1 beschriebene 3R-Prinzip korrespondiert mit dem Grundsatz der Vermeidung, Verminderung und Verbesserung der RL 2010/63/EU⁷ und findet sich ebenfalls in §7 Abs. 1 des TierSchG⁶ wieder. Artikel 3 der RL 2010/63/EU definiert einen Tierversuch bzw. ein „Verfahren“ als „jede invasive oder nicht invasive Verwendung eines Tieres zu Versuchszwecken oder anderen wissenschaftlichen Zwecken mit bekanntem oder unbekanntem Ausgang, oder zu Ausbildungszwecken, die bei dem Tier Schmerzen, Leiden, Ängste oder dauerhafte Schäden in einem Ausmaß verursachen kann, das dem eines Kanüleneinstichs gemäß guter tierärztlicher Praxis gleichkommt oder darüber hinausgeht“⁸. Ferner schreibt die Richtlinie die Einteilung der Belastung entsprechender „Verfahren“ in vier Schweregrade vor⁹, wobei das „Ausmaß von Schmerzen, Leiden, Ängsten oder dauerhaften Schäden [...], die das einzelne Tier während des Verfahrens voraussichtlich empfindet bzw. erleidet“, zu berücksichtigen ist¹⁰ (vergleiche Kapitel II 1.3). Die Belastungseinschätzung muss bei jeder Antragsstellung für einen Tierversuch prospektiv im Rahmen einer Schaden-Nutzen-Analyse und unter Berücksichtigung des gesamten zu erwartenden Tierleides erfolgen¹¹ (SMITH et

⁵ Tierschutzgesetz in der Fassung der Bekanntmachung vom 18. Mai 2006 (BGBl. I S. 1206, 1313), das zuletzt durch Artikel 2 Absatz 20 des Gesetzes vom 20. Dezember 2022 (BGBl. I S. 2752) geändert worden ist

⁶ Tierschutzgesetz (Fn. 5)

⁷ Artikel 4 und 13, RL 2010/63/EU (Fn. 1)

⁸ Artikel 3, RL 2010/63/EU (Fn. 1)

⁹ Artikel 15, RL 2010/63/EU (Fn. 1)

¹⁰ Anhang 8, RL 2010/63/EU (Fn. 1)

¹¹ Artikel 38, RL 2010/63/EU (Fn. 1)

al., 2018; BRILL et al., 2021). Auch der pädagogische und wissenschaftliche Nutzen ist im Rahmen der Projektplanung zu bewerten¹² (BRILL et al., 2021). Zudem muss sowohl während des Versuches als auch retrospektiv die tatsächliche Belastung beurteilt werden (SMITH et al., 2018). Diese Schweregrade der Belastung sowie statistische Daten über die verwendeten Tiere werden jährlich erfasst und veröffentlicht¹³. In Deutschland erfolgt die Veröffentlichung der Statistik über die Gesamtzahl der verwendeten Versuchstiere einmal im Jahr durch das BfR (BFR, 2024). Die rechtliche Grundlage hierfür bildet die Versuchstiermeldeverordnung (VersTierMeldV)¹⁴.

1.3. Einschätzung von Belastung

Die in den vorangegangenen Kapiteln erläuterten rechtlichen und moralischen Anforderungen an den Umgang mit Tieren können im Rahmen tierexperimenteller Forschung folglich u. a. durch die Implementierung des 3R-Prinzips erfüllt werden. Eine Belastungsbeurteilung (im Sinne dieses Prinzips) kann demnach zum Schutz des Wohlbefindens und der Gesundheit der Tiere beitragen, indem entsprechende Beeinträchtigungen mit dem Ziel der Vermeidung oder Linderung identifiziert werden (WEICH et al., 2020). Die „Summe aller Faktoren, die direkt oder indirekt auf anatomische, physiologische, kognitive oder emotionale Zustände wirken und kurzzeitig oder dauerhaft zu Schmerzen oder Leiden führen“ wird von der Gesellschaft für Versuchstierkunde (GV-SOLAS) als „Belastung“ definiert (DÜLSNER et al., 2020). Artikel 15 der RL 2010/63/EU schreibt die Einstufung des Schweregrads der Verfahren bzw. Tierversuche im Rahmen der Belastungsbeurteilung, unter Verwendung der in Anhang VIII dieser Richtlinie beschriebenen Zuordnungskriterien, vor¹⁵. Für die Einteilung der Schweregrade werden im Anhang VIII Abschnitt I der RL 2010/63/EU die Kategorien „keine Wiederherstellung der Lebensfunktion“ (Verfahren in finaler Vollnarkose), „gering“, „mittel“ und „schwer“ vorgegeben und definiert¹⁶. In dem darauffolgenden Abschnitt werden Kriterien und Faktoren, welche für die

¹² Artikel 38 Abs.2a und 3b, RL 2010/63/EU (Fn. 1)

¹³ Artikel 54, RL 2010/63/EU (Fn. 1)

¹⁴ Versuchstiermeldeverordnung vom 12. Dezember 2013 (BGBl. I S. 4145), die zuletzt durch Artikel 2 der Verordnung vom 11. August 2021 (BGBl. I S. 3570) geändert worden ist

¹⁵ Artikel 15 und Anhang 8 der RL 2010/63/EU (Fn. 1)

¹⁶ Anhang 8 Abschnitt 1 der RL 2010/63/EU (Fn. 1)

Zuordnung zu den Schweregradkategorien berücksichtigt werden müssen, aufgeführt. So sollte beispielsweise jede Intervention oder Manipulation (inklusive deren Art), das kumulative Leiden und Einschränkungen bei der Unterbringung, Haltung und Pflege sowie die Tierart, der Genotyp und das Geschlecht neben weiteren aufgeführten Faktoren Beachtung finden¹⁷. Im letzten Abschnitt des Anhangs VIII der RL 2010/63/EU werden Beispiele für die Zuordnung von verschiedenen Verfahren zu den Schweregradkategorien gelistet: Zum Schweregrad „gering“ wird hier beispielsweise die „Anwendung externer Telemetriegeräte [...]“ oder eine Allgemeinanästhesie gezählt; ein chirurgischer Eingriff, wie die Implantation eines Telemetriesenders, unter Allgemeinanästhesie und mit adäquater Analgesie wird der Kategorie „mittel“ zugeordnet; unumgängliche Elektroschocks oder die länger andauernde Nutzung von Stoffwechselkäfigen mit einer hochgradigen Bewegungseinschränkung werden u. a. in der Kategorie „schwer“ aufgeführt¹⁸. Eine solche Kategorisierung kann zur Festlegung einer klaren Obergrenze für das Tierleid und somit zur Umsetzung humaner Endpunkte beitragen (SMITH et al., 2018). Mit länger anhaltenden oder nicht linderbaren starken Schmerzen, schweren Leiden oder Ängsten einhergehende Verfahren sollten grundsätzlich untersagt werden (Art. 15 Abs. 2 RL 2010/63/EU)¹⁹.

Die in Anhang VIII der RL 2010/63/EU aufgeführten Beispiele (einzelne einfache sowie komplexere Prozeduren) bieten Anhaltspunkte für die Belastungseinschätzung, decken aber nicht die Vielfalt an Eingriffen ab bzw. lassen auch Raum für Missverständnisse oder eine falsche Kategorisierung (SMITH et al., 2018). Daher wurden von Smith und Kollegen²⁰ (2018) in einem FELASA (*Federation of European Laboratory Animal Science Associations*)/ECLAM (*European College of Laboratory Animal Medicine*)/ESLAV (*European Society of Laboratory Animal Veterinarians*)-Arbeitsgruppenbericht zusätzliche Informationen und Hilfestellungen zur Belastungseinschätzung erarbeitet. Bei der

¹⁷ Anhang 8 Abschnitt 2 der RL 2010/63/EU (Fn. 1)

¹⁸ Anhang 8 Abschnitt 3 der RL 2010/63/EU (Fn. 1)

¹⁹ Artikel 15 Absatz 2 der RL 2010/63/EU (Fn. 1)

²⁰ In dieser Dissertationsschrift wird aus Gründen der besseren Lesbarkeit bei Personenbezeichnungen das generische Maskulinum verwendet. Falls nicht näher spezifiziert, umfassen diese im Folgenden alle Geschlechter.

Entwicklung eines geeigneten Überwachungs- und Beurteilungssystems sollten laut Smith und Kollegen (2018) folgende Punkte beachtet werden:

- Ausrichtung des Systems auf das einzelne Individuum;
- Berichterstattung des Schweregrades unter Verwendung der Kategorien „gering“, „mittel“ und „schwer“;
- Berücksichtigung des administrativen Aufwandes des Systems bei der Planung bzw. Gestaltung;
- Verwendung objektiver Messmethoden für die Beurteilung von Schmerz, Leid und Stress;
- Definition humaner Endpunkte;
- Erfassung erwarteter und unerwarteter Einschränkungen des Wohlbefindens, sowie Erfassung von getroffenen *Refinement*-Maßnahmen;
- Beurteilungskriterien zur Erleichterung der Schweregradklassifizierung (z. B. in Form eines numerischen Bewertungssystems);
- standardisierte, modell- und speziesspezifische Aufzeichnungen.

Die gesetzliche Verpflichtung zur Belastungseinschätzung während eines Tierversuchs bietet die Möglichkeit das 3R-Prinzip bereits in der Studienplanung mit einzubeziehen, um sicherzustellen, dass die Belastung auf ein Mindestmaß reduziert wird. Die Belastungsbeurteilung kommt den Tieren somit im Sinne des *Refinements* bzw. einer Leidensverringerung zugute (SMITH et al., 2018). Die Festlegung von Interventionszeitpunkten oder humanen Endpunkten inkl. einer vorzeitigen Euthanasie kann beispielsweise zu einer solchen Verringerung des Tierleids beitragen (WILLIAMS und BANEUX, 2022). Die im Voraus stattfindende intensive Auseinandersetzung mit den Effekten der im Versuchsvorhaben inkludierten Prozeduren auf z. B. die Physiologie oder das Verhalten der Tiere kann zu einem robusteren Studiendesign führen. Solche Effekte und die damit verbundenen Beeinträchtigungen der Tiere könnten sich negativ auf die Ergebnisse auswirken, wodurch eine Minimierung solcher, zur Verbesserung der Datenqualität beitragen kann (SMITH et al., 2018).

Im Rahmen der Forschergruppe DFG-2591 wurden sensitive Parameter für die evidenzbasierte Belastungseinschätzung identifiziert, welche sich in (patho-) physiologische, verhaltensbezogene und biochemische Parameter einteilen lassen (JIRKOF et al., 2020; KAHNAU et al., 2020; KEUBLER et al., 2020).

Modellspezifische Veränderungen sorgen im Kontext der Belastungsbeurteilung dafür, dass ein direkter Vergleich zwischen Parametern nicht immer möglich ist (ZECHNER et al., 2022). Bei der Interpretation von Ergebnissen aus unterschiedlichen Laboratorien sollte insbesondere bei Verhaltensuntersuchungen die mögliche Varianz zwischen den Standorten beachtet werden (JIRKOF et al., 2020). Generell sollten die verschiedenen Parameter zur Belastungseinschätzung kombiniert betrachtet werden, um die Multidimensionalität von Belastung erfassen zu können (KEUBLER et al., 2020; VAN DIJK et al., 2020; ZECHNER et al., 2022; REIBER et al., 2023; MUNK et al., 2024). In Kapitel II 2. dieser Dissertation wird eine Auswahl an Parametern zur Belastungseinschätzung aufgeführt.

In der Regel erfolgt die Belastungsbeurteilung während des Versuchs mit Hilfe von Bewertungsbögen (*Score Sheets*), mit denen eine Einstufung der Belastung anhand vordefinierter Kriterien erfolgen kann. Die Bewertungsbögen sollten modell- und versuchsspezifisch angepasst werden und Handlungsanweisungen für die verschiedenen Stufen der Symptome bzw. Belastungen enthalten (DÜLSNER et al., 2020). Bei der Beurteilung sollten, neben versuchsspezifischen Kriterien, die Anatomie, Physiologie und das Verhalten berücksichtigt werden. Auf solchen Bewertungsbögen finden sich Kriterien wieder, welche beispielsweise Aspekte des Habitus, der Körperhaltung und des Allgemeinzustandes inkl. des Hydratationsstatus, der Aktivität und Lokomotion, der Atmung sowie das Verhalten und modellspezifische Besonderheiten aufgreifen (SMITH et al., 2018; DÜLSNER et al., 2020). Zu beachten gilt, dass dieses klinische Scoring eine subjektive Beurteilung darstellt und innerhalb einer Spezies von Tier zu Tier unterschiedliche Reaktionen (z. B. auf Schmerzen) gezeigt werden können (NATIONAL RESEARCH COUNCIL COMMITTEE ON RECOGNITION AND ALLEVIATION OF PAIN IN LABORATORY ANIMALS, 2009). Mit Hilfe täglicher klinischer Scorings lassen sich oft erst stärkere Schmerz- oder Belastungsanzeichen, wie beispielsweise Piloerektion, gekrümmte Haltung, ungepflegtes Fell, Apathie oder Aggression erkennen (ARRAS et al., 2007).

Unter die Belastungseinschätzung fällt u. a. die postoperative Schmerzerkennung, welche aufgrund der Non-Verbalität der Tiere erschwert wird (TURNER et al., 2019). Zusätzlich neigen Nager als Beutetiere (auch in Anwesenheit von Menschen) dazu, ihre Schmerzen zu verbergen (ARRAS et al., 2007; LARSON et

al., 2019; TURNER et al., 2019). Des Weiteren kann die Beurteilung des Schmerzes insbesondere bei der Anwesenheit von Männern oder deren Geruch beeinflusst werden, da dies bei Labornagern zu einer stressinduzierten „Analgesie“ führen kann (SORGE et al., 2014; TURNER et al., 2019).

Schmerzen können unterschiedliche Parameter verändern. Nach operativen bzw. schmerzhaften Eingriffen zeigen Mäuse oft eine reduzierte Aktivität (NATIONAL RESEARCH COUNCIL COMMITTEE ON RECOGNITION AND ALLEVIATION OF PAIN IN LABORATORY ANIMALS, 2009). Neben der Aktivitätsreduktion können weitere bestimmte physiologische Verhaltensmuster, wie das Aufrichten (engl. *rearing*) oder die Fellpflege reduziert werden oder schmerz-assoziierte Verhaltensweisen (z. B. Aufkrümmen des Rückens, Gewichtsverlagerung oder Taumeln) gezeigt werden. Außerdem kann es zu Veränderungen in der Vokalisation im Ultraschallbereich (TURNER et al., 2019) oder zu Veränderungen in der Mimik als Reaktion auf Schmerzen kommen (LANGFORD et al., 2010; MCCOY et al., 2024). Auch das Wühl- und Nestbauverhalten wird postoperativ oft als nicht überlebensnotwendiges Verhalten in der Versuchstierhaltung eingestellt (ARRAS et al., 2007; JIRKOF et al., 2010; JIRKOF et al., 2013; JIRKOF, 2014). Zu berücksichtigen gilt, dass die Anästhesie an sich (CLEMENT et al., 1989) wie auch Analgetika Einfluss auf die Aktivität und physiologische Verhaltensmuster haben können (TURNER et al., 2019). Neben einer Vielzahl verhaltensbezogener Parameter werden durch Schmerzen auch physiologische Parameter wie das Körpergewicht beeinflusst, das u. a. in Folge einer schmerzbedingt geringeren Futteraufnahme reduziert sein kann (TAPPE-THEODOR und KUNER, 2014). Eine Gewichtsreduktion kann jedoch auch auf ein grundsätzlich beeinträchtigtes Wohlbefinden, ungünstige Haltungsbedingungen oder chronische Krankheitsprozesse, welche nicht zwingend mit Schmerzen assoziiert sind, zurückgeführt werden (TURNER et al., 2019). Schmerzen können auch Änderungen der Herzfrequenz, der Atemfrequenz oder des Blutdrucks bewirken, wobei Änderungen der klinischen Parameter ebenfalls durch Stress bzw. Distress ausgelöst werden können. Auch der Einfluss des Handlings sollte hierbei nicht unterschätzt werden (NATIONAL RESEARCH COUNCIL COMMITTEE ON RECOGNITION AND ALLEVIATION OF PAIN IN LABORATORY ANIMALS, 2009). So führt akuter Stress (inkl. Schmerz) zu einer Aktivierung der

Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse, was über die Freisetzung von Stresshormonen eine Erhöhung der Herz- und Atemfrequenz, des Blutdrucks und der Körpertemperatur (TURNER et al., 2019), sowie eine Reduktion der Herzratenvariabilität bedingen kann (ARRAS et al., 2007). Die freigesetzten Stresshormonmetaboliten lassen sich biochemisch u. a. im Blut, Urin oder in Fäzes nachweisen (TOUMA et al., 2004; LEPSCHY et al., 2007). Um trotz der genannten Limitierungen und der geringen Spezifität für Schmerz eine möglichst gute Schmerzeinschätzung durchführen zu können, sollten in diesem Kontext mehrere Indikatoren gemeinsam betrachtet werden. Idealerweise sollten diese im Heimkäfig und ohne die Anwesenheit eines Experimentators erfasst werden (TURNER et al., 2019). Hierfür stellen heimkäfigbasierte Monitoringsysteme, welche verschiedene Verhaltensparameter oder physiologische Parameter nicht-invasiv im vertrauten Heimkäfig erfassen können, eine vielversprechende Möglichkeit dar.

1.4. Relative Severity Assessment

Der *RELative Severity Assessment Score* (RELSA-Score) stellt eine validierte Möglichkeit zur evidenzbasierten und objektiven Quantifizierung der Belastung von Versuchstieren dar. Der RELSA-Score bestimmt die Belastung in Bezug auf einen Referenzdatensatz und ermöglicht so beispielsweise einen Vergleich zwischen verschiedenen Experimentalgruppen oder Tiermodellen. Hierfür werden quantitative Parameter, wie z. B. die Herzfrequenz, das Körpergewicht oder die Aktivität, miteinbezogen, um eine relative Metrik für den Vergleich der Belastung zu erhalten. Für den RELSA-Score wird ein Referenzdatensatz eines Tiermodells benötigt, dessen Belastungsgrad bereits bekannt ist. Hierfür kann sich ein Datensatz einer Transmitterimplantation, die als moderate Belastung eingestuft wird, eignen. Ein unabhängiger zu untersuchender Datensatz mit denselben metrischen Parametern kann dann in Relation zu dieser Referenz gesetzt werden. Die Daten werden für die Quantifizierung der Belastung zunächst tabellarisch strukturiert, harmonisiert und normalisiert, um für jeden Zeitpunkt Unterschiede relativ zu einem Ausgangspunkt (z. B. Basalmesswerte) zu kalkulieren. Diese Unterschiede werden im Folgenden durch die normalisierten maximalen Unterschiede der korrespondierenden Variable in den Referenzdaten dividiert, um eine Wichtung der Variablen zu erhalten. Diese Wichtung spiegelt die Ähnlichkeit zu den Referenzdaten wider. Abschließend wird der RELSA-Score berechnet, indem die

Wurzel aus der verfügbaren Wichtung dividiert durch die Anzahl der Variablen gebildet wird. Ein RELSA-Score von 1 bedeutet, dass alle beitragenden Variablen dieselben Werte, wie die größten beobachteten Abweichungen im Referenzdatensatz innerhalb des definierten Belastungsgrades erreichten. Somit zeigt ein RELSA-Score von über 1 eine größere Belastung im Vergleich zum Referenzdatensatz an. Der RELSA-Algorithmus ist als R-Paket auf GitHub (<https://github.com/mytalbot/relsa>) verfügbar. Unter Verwendung desselben Referenzdatensatzes kann zu einer besseren Vergleichbarkeit beigetragen werden (TALBOT et al., 2022). Der RELSA-Score wurde im Rahmen einer vergleichenden Belastungseinschätzung bereits für depressions-assoziierte Modelle (MALLIEN et al., 2022), gastrointestinale Modelle (TALBOT et al., 2023), sowie für Pankreastumor-Modelle (SCHREIBER et al., 2024) verwendet. So kann dieser Score auch zur Verbesserung des Tierwohls beitragen: nach einer vergleichenden Belastungsbeurteilung könnten beispielsweise Tiermodelle priorisiert werden, die mit einer geringeren Belastung verbunden sind (MALLIEN et al., 2022; TALBOT et al., 2023).

2. Ausgewählte Parameter zur Belastungseinschätzung

2.1. Herzfrequenz und Herzratenvariabilität

Die elektrophysiologischen Vorgänge im Herzen werden durch dessen Erregungsbildungs- und Erregungsleitungssystem gesteuert. Es handelt sich um spezialisierte Muskelzellen im Herzen, die entsprechende Impulse bilden und weiterleiten. Der Sinusknoten erzeugt im rechten Vorhof als primärer Schrittmacher entsprechende Aktionspotenziale, welche die Kontraktion des Myokards und somit die Herzschläge bedingen. Bei einem Ausfall des Sinusknotens kann der Atrioventrikularknoten als sekundärer Schrittmacher mit niedrigerer Frequenz die entsprechende Funktion übernehmen. Die Herztätigkeit wird durch das vegetative Nervensystem, welches sich peripher aus dem Sympathikus und Parasympathikus zusammensetzt, reguliert. So kann, über Noradrenalin aus sympathischen Fasern und Adrenalin aus dem Plasma, die Herzschlagfrequenz erhöht und über Acetylcholin aus parasympathischen Fasern des *Nervus vagus* die Herzschlagfrequenz verringert werden. Des Weiteren verstärken Noradrenalin und Adrenalin die Herzkontraktionen (SILBERNAGL et al., 2018; BREVES et al.,

2022a). Im Ruhezustand dominiert der Vagustonus, sodass die parasympathischen Einflüsse die sympathischen Effekte in der ständigen Interaktion überwiegen (MALIK et al., 1996; SILBERNAGL et al., 2018). Die Herzratenvariabilität (Heart rate variability, HRV) hängt in Ruhe vor allem von der vagalen Modulation ab. Sie beschreibt die Fähigkeit des Herzens, die Herzfrequenz von Schlag zu Schlag anpassen zu können. Sowohl eine Reduktion der parasympathischen Aktivität, als auch eine hohe sympathische Aktivität führen zu einer niedrigen HRV (MALIK et al., 1996), was einer reduzierten Anpassungsfähigkeit des Herzens entspricht. Zudem kann eine niedrige HRV eine Prädisposition für Herzerkrankungen, wie die kongestive Herzinsuffizienz, implizieren (THIREAU et al., 2008). Eine erhöhte Aktivität des Sympathikus ist ein Indikator für die Exposition gegenüber Stressoren. Sie führt zu einer erhöhten Herzfrequenz, sowie einer reduzierten HRV. Umgekehrt bewirkt die Aktivität des Parasympathikus eine reduzierte Herzfrequenz und eine erhöhte HRV (GAIDICA und DANTZER, 2020).

Für die Bestimmung der HRV-Parameter wird ein kontinuierliches Elektrokardiogramm (EKG) benötigt (MALIK et al., 1996; THIREAU et al., 2008). Das EKG visualisiert die Summe der elektrischen Aktivitäten bzw. die hierdurch bedingten Potentialdifferenzen des Herzens im zeitlichen Verlauf. Im EKG lassen sich folgende Abschnitte unterscheiden:

- P-Welle (Depolarisation der Vorhöfe);
- PQ-Strecke (Vorhöfe komplett erregt);
- QRS-Komplex (Depolarisation der Ventrikel);
- ST-Strecke (Ventrikel komplett erregt);
- T-Welle (Repolarisation der Ventrikel).

Anhand des EKGs lässt sich dann die Herzfrequenz als Herzschläge pro Minute (*beats per minute, bpm*) ableiten. (SILBERNAGL et al., 2018; BREVES et al., 2022a). Physiologisch liegt diese bei Mäusen bei ca. 300 bis 840 Schlägen pro Minute (MÜLLER, 2017).

Für die EKG-gestützte Erfassung der HRV können sowohl zeit-, als auch frequenzbasierte Methoden angewendet werden. Zu den zeitbasierten Parametern gehören beispielsweise das kardiale mittlere Schlag-zu-Schlag-Intervall (in ms), wobei hier der Abstand zwischen den normalen aufeinanderfolgenden R-Zacken

(RR-Intervall) oder QRS-Komplexen (*normal-to-normal*/NN-Intervall) betrachtet wird (MALIK et al., 1996; ARRAS et al., 2007). Ein geringes RR-Intervall reflektiert somit einen Anstieg der Herzfrequenz. Die Standardabweichung der zeitlichen Abstände zwischen aufeinanderfolgenden Herzschlägen (NN- bzw. RR-Intervalle) in Millisekunden wird als SDNN bezeichnet. Sie ist ein Maß für die Variabilität der Herzfrequenzänderungen bzw. des autonomen Nervensystems (ARRAS et al., 2007). Die Quadratwurzel des Mittelwertes aller Quadrate der Differenzen aufeinanderfolgender Schlag-zu-Schlag-Intervalle (RMSSD, in ms) ist ein Maß für kurzfristige Änderungen der RR-Intervalle. NNx stellt die Anzahl der Paare aufeinanderfolgender Schlag-zu-Schlag-Intervalle dar, welche mehr als x Millisekunden voneinander abweichen. Der prozentuale Anteil aller aufeinanderfolgenden Schlag-zu-Schlag-Intervalle, welche eine Abweichung von mehr als x Millisekunden aufweisen, wird pNNx genannt. Diese ist ein Maß für die kardiale parasympathische Aktivität. Für die Analyse von NNx und pNNx wird der x-Wert speziesabhängig angepasst: Beim Menschen liegt der Wert bei 50 ms und bei der Maus bei 6 ms (THIREAU et al., 2008). Neben diesen zeitbasierten Methoden, werden auch Analysen im Frequenzbereich genutzt. Hierfür wird der relative Anteil von Schwankungen verschiedener Zeitbereiche in Frequenzbereichen dargestellt. Die Frequenzanalyse der HRV zeigt verschiedene Komponenten auf, zu denen u. a. *high-frequency* (hf) und *low-frequency* (lf), also hohe und niedrige Frequenzbereiche, gehören. Die hohe Frequenz spiegelt die parasympathische Aktivität wider und zeigt kurzfristige Schwankungen der Herzfrequenz an, welche durch den Atmungsrhythmus verursacht werden. Die niedrige Frequenz wird überwiegend mit der sympathischen Aktivität in Verbindung gebracht und durch das Barorezeptorsystem, aber auch durch den Parasympathikus, beeinflusst. Das Verhältnis zwischen *low-* und *high-frequency* kann zur Bewertung des Gleichgewichtes zwischen sympathischer und parasympathischer Aktivität herangezogen werden (KORESH et al., 2016).

Grundsätzlich sollten alle Messungen und Analysen separat für die Hell- und Dunkelphase durchgeführt werden, um Variationen innerhalb des zirkadianen Rhythmus abzudecken (THIREAU et al., 2008). Auch der Effekt der Umgebungstemperatur sollte stets beachtet werden. So können kleine Änderungen in der Umgebungstemperatur die kardiovaskulären Parameter signifikant

beeinflussen, wobei Mäuse im Vergleich zu Ratten hier sensibler reagieren können (SWOAP et al., 2004).

Die Erfassung von Herzfrequenz und Herzratenvariabilität kann bei Nagern über herkömmliche Messmethoden (z. B. Oberflächenelektroden-EKG oder Schwanzmanschetten) erfolgen, bei denen Sensoren oder Kabel an fixierten oder narkotisierten Tieren angebracht werden. Hier muss bei der Interpretation jedoch der artifizielle Einfluss (z. B. von Fixierungsstress oder Anästhesie) auf die physiologischen Parameter beachtet werden (KRAMER und KINTER, 2003; CESAROVIC et al., 2011). Im Vergleich dazu, bietet die Radiotelemetrie, nach der Erholung von dem invasiven chirurgischen Eingriff (Senderimplantation), eine Möglichkeit, an freibeweglichen Tieren physiologische Parameter kontinuierlich über einen längeren Zeitraum hinweg zu erfassen. Hierzu können die Tiere in ihrem gewohnten Heimkäfig gehalten werden (CESAROVIC et al., 2011). Mittels Telemetrie können physiologische Signale aus der Ferne erfasst, prozessiert und an ein externes Gerät übertragen werden (LEWES und HILL, 1967). Das Wort „Telemetrie“ leitet sich von den griechischen Wörtern „tele“ (= fern) und „metron“ (= messen) ab (NIKITA, 2014). Die Implantation der Transmitter zur Erfassung der physiologischen Parameter erfolgt in der Regel subkutan oder intraperitoneal. Es gibt eine Vielzahl von kommerziell erhältlichen Telemetriesystemen (KRAMER und KINTER, 2003). Um die Belastung nach einer entsprechenden invasiven Implantation auf ein Minimum zu reduzieren, sollte ein möglichst kleiner Transmitter im Vergleich zum Tier gewählt werden (LEON et al., 2004).

Einen alternativen Ansatz zur telemetrischen Ableitung des EKGs bei freibeweglichen Ratten ohne vorausgehenden chirurgischen Eingriff stellen mit Elektroden und Transmittern ausgestattete „Jacken“ dar (FARES et al., 2022). Mit diesen „Jacken“ konnten Fares und Kollegen (2022) bereits über 22-stündige Zeiträume EKG-Aufzeichnungen bei in Paaren gehaltenen Ratten durchführen. Für den Gebrauch dieser „Jacken“ ist entsprechend eine Gewöhnung an die „Jacke“ selbst und an die Rasur von Fellpartien unter der „Jacke“ nötig, um den Stress für die Tiere möglichst gering zu halten (FARES et al., 2020). Weitere alternative Ansätze umfassen nicht-invasive kamerabasierte Methoden. Im Rahmen der Belastungsbeurteilung stellen diese zum jetzigen Zeitpunkt eine vielversprechende Möglichkeit zur Überwachung physiologischer Parameter bei Nagern dar

(KUNCZIK et al., 2019; MÖSCH et al., 2023). So könnten sich die Tiere frei in ihrem Käfig aufhalten, während sie mittels Nahinfrarot-, Wärmebild- und RGB-Kameras überwacht werden, um aus den Aufnahmen beispielsweise die Herzfrequenz zu extrahieren (MÖSCH et al., 2023).

2.2. Lokomotorische Aktivität im Heimkäfig

Die lokomotorische Aktivität ist ein nützlicher Parameter für die Beurteilung des Wohlergehens, sowie der physischen Gesundheit von Nagern. Sie spielt eine wichtige Rolle bei der Verhaltensphänotypisierung (GENEWSKY et al., 2017; MOORE et al., 2024). Die Erfassung der Aktivität im Heimkäfig selbst bietet viele Vorteile: Vermeidung von Stress durch die ausbleibende Interaktion mit dem Menschen bzw. das ausbleibende Handling durch den Menschen und die damit einhergehende Reduktion der Datenverzerrung; Erfassung des spontanen Verhaltens ohne Einfluss einer neuen Umgebung; Möglichkeit zur Beobachtung über einen längeren Zeitraum hinweg. Letzteres führt dazu, dass beispielsweise zirkadiane Rhythmen, der Einfluss des Östruszyklus oder schrittweise auftretende genetische Effekte erfasst werden können (TECOTT und NESTLER, 2004). Die lokomotorische Aktivität kann im Heimkäfig u. a. nach der chirurgischen Implantation von Radiotelemetrietransmittern (siehe Kapitel II 2.1) erfasst werden (CESAROVIC et al., 2011). Eine weitere weniger invasive Möglichkeit bietet die subkutane Implantation von Radiofrequenzidentifikationstranspondern (RFID-Chips) in Kurznarkose. Mit Hilfe von RFID-Antennen, die den Käfigbodenbereich abdecken, ermöglicht diese Technologie auch das Nachvollziehen der zurückgelegten Strecken bzw. Routen im Heimkäfig sowie von Aufenthalt in verschiedenen Arealen. Die lokomotorische Aktivität konnte bereits bei Ratten telemetrisch und nicht-invasiv über mit Transmittern (inkl. 3-achsigem Akzelerometer) ausgestatteten „Jacken“ bestimmt werden, welche von den Tieren nach einer entsprechenden Habituation getragen wurden (TANGUY et al., 2025). Auch infrarotbasierte Methoden werden zur Bestimmung der Position und Aktivität von Nagern eingesetzt: durch Infrarotstrahlen auf Höhe der Tiere können Unterbrechungen dieser Strahlen entsprechend als horizontale Aktivität interpretiert werden. Eine zusätzliche höhere Strahlenebene kann ebenso für vertikale Aktivitätserfassungen (z. B. beim Aufrichten der Tiere) genutzt werden. Des Weiteren können Sensorplatten unter dem Heimkäfig genutzt werden, um

lokomotionsbedingte mechanische Kräfte in elektrische Signale umzuwandeln. So können mit diesen Platten Aussagen über die zurückgelegte Distanz und Geschwindigkeit getroffen werden, sowie die Position der Nager bestimmt werden (VOIKAR und GABURRO, 2020; KLEIN et al., 2022). Eine weitere Option zur Überwachung der Heimkäfigaktivität stellt der Einsatz von mikrowellen- bzw. radarbasierten Bewegungsdetektoren dar (GENEWSKY et al., 2017). Das *Digital-ventilated-Cage*-Monitoringsystem (DVC®, Tecniplast, Buguggiate, Italien) basiert hingegen auf elektromagnetischen Feldern, die durch Elektroden unter dem jeweiligen Käfig erzeugt werden. Die Nager erzeugen durch ihre Bewegung im Käfig Signalveränderungen innerhalb dieser Felder, über welche beispielsweise die zurückgelegte Distanz und die Geschwindigkeit ermittelt werden kann (IANNELLO, 2019; PERNOLD et al., 2019). Auch kamerabasierte Aktivitätsbestimmungen, welche Echtzeit-Tracking und Aufzeichnungen für spätere Analysen zulassen, spielen eine große Rolle (LAZ et al., 2023; MÖSCH et al., 2023; ROBERTSON et al., 2025). Gerade der Fortschritt im Bereich der künstlichen Intelligenz kann vielseitig für Videoauswertungen genutzt werden (DE CHAUMONT et al., 2019). Das PhenoTyper® System (Noldus, Wageningen, Niederlande) stellt ein Beispiel für ein kommerziell erhältliches videobasiertes Heimkäfigsystem dar (VOIKAR und GABURRO, 2020; KLEIN et al., 2022), welches genauer in Kapitel II 3.1 erläutert wird. Generell können verschiedenste Kamerasysteme und Kombinationen eingesetzt werden, die vom sichtbaren Lichtbereich, über Infrarot, bis hin zu Thermalaufnahmen reichen (PEREIRA et al., 2018; PEREIRA et al., 2019). Mit einigen der genannten Technologien lassen sich auch andere Verhaltensweisen im Heimkäfig, wie das Kletter-, Putz- oder Trinkverhalten, überwachen (MINGRONE et al., 2020; VOIKAR und GABURRO, 2020; KLEIN et al., 2022; KAHNAU et al., 2023). Wenn möglich sollten nicht-invasive Techniken eingesetzt werden, um potenzielle postoperative Schmerzen oder Distress zu vermeiden (PEREIRA et al., 2019).

2.3. Körpergewicht

Die Verwendung des Körpergewichtes zur Beurteilung von Schmerzen, Leiden oder Stress hat den Vorteil der objektiven Messbarkeit. Vereinfacht kann dieser Parameter die Futter- und Wasseraufnahme widerspiegeln. Dennoch könnten verschiedene Faktoren, wie z. B. eine intestinale Malabsorption oder eine erhöhte

Metabolisierungsrate zu Gewichtsreduktionen trotz normaler Futter- und Wasserzufuhr beitragen (MORTON und GRIFFITHS, 1985). In einem Hell-Dunkel-Zyklus gehaltene nachtaktive Nager zeigen eine erhöhte Aktivität und Nahrungsaufnahme während der Dunkelphase (ARBLE et al., 2009), sodass aufgrund des zirkadianen Rhythmus bei der Körpergewichtserfassung auf gleiche Messzeitpunkte geachtet werden sollte. Die natürliche Wachstumskurve und Appetit sollten hierbei ebenfalls beachtet werden (MORTON und GRIFFITHS, 1985). Nach einer postoperativen Gewichtsreduktion, durch einen invasiven Eingriff wie der intraabdominalen Transmitterimplantation, kann die Dauer bis zum Erreichen des präoperativen Gewichtes je nach Mauslinie variieren (BAUMANS et al., 2001; HELWIG et al., 2012). Auch die Größe des verwendeten Transmitters kann einen Einfluss auf das Ausmaß der Körpergewichtsreduktion haben (HELWIG et al., 2012). Das Körpergewicht wird in den meisten *Score Sheets* als zentraler Parameter herangezogen. Oft wird eine Gewichtsreduktion von mehr als 20 Prozent (oder eine vergleichbare prozentuale Abweichung) als Kriterium für das Erreichen eines humanen Endpunktes verwendet. Das strikte Umsetzen dieses Kriteriums ist jedoch nicht für alle Modelle gleichermaßen sinnvoll und könnte zur voreiligen Euthanasie von betroffenen Tieren führen. So kann es unter Umständen vorkommen, dass Tiere über 20 % ihres Körpergewichtes verlieren, ohne dabei andere Anzeichen für Distress widerzuspiegeln. Im Gegensatz dazu können Gewichtsverluste unter dieser 20 %-Grenze bereits auf eine klinische Beeinträchtigung hinweisen (TALBOT et al., 2020). Auch Faktoren die zu Flüssigkeitsansammlungen oder einem abnormalen Gewebewachstum (z. B. Aszites oder Tumore) führen, könnten eigentliche Gewichtsreduktionen kompensieren (MORTON und GRIFFITHS, 1985). Dieses Risiko kann durch zusätzliche Körperkonditionsbeurteilung (*Body Condition Scoring*, BCS) reduziert werden (ULLMAN-CULLERE und FOLTZ, 1999). Zudem sollte die häufig praktizierte *ad libitum*-Fütterung bedacht werden, da die Tiere hierdurch zu Übergewicht neigen. So könnten Gewichtsreduktionen im Verhältnis zum hohen Körpergewicht unterbewertet werden. Das Körpergewicht kann zwar leicht und objektiv erfasst werden, aber aus den genannten Gründen auch zu Interpretationsschwierigkeiten führen. Generell sollte das Gewicht daher immer im Kontext mit anderen Parametern beurteilt werden (TALBOT et al., 2020).

2.4. Nestbauverhalten

Das Nestbauverhalten stellt ein angeborenes Verhalten dar, welches als Indikator für die Gesundheit und das Wohlbefinden von Mäusen dienen kann und nicht-invasiv im Heimkäfig erfassbar ist (GASKILL et al., 2013; JIRKOF, 2014). Im Vergleich zur Maus zeigt die Ratte eine niedrigere intrinsische Motivation zum Nestbau, was eine zuverlässige Erfassung des Nestbauverhaltens erschwert (SCHWABE et al., 2020; AULEHNER et al., 2022b). Das Nestbauverhalten ist in der Labortierhaltung nicht essenziell für das Überleben notwendig. Dennoch stellt es ein Bedürfnis dar, welches sich in der hohen Akzeptanz von zur Verfügung gestelltem Nestbaumaterial bei Mäusen widerspiegelt. Entsprechend kann auch von einem „Wohlfühlverhalten“ gesprochen werden, da das Nestbauverhalten bei reduziertem Wohlbefinden, als nicht zwingend notwendiges Verhalten, als erstes reduziert wird (JIRKOF, 2014). Wilden Hausmäusen dient das Nest unter anderem zur Thermoregulation, aber auch als Unterschlupf bzw. zum Schutz oder zur Aufzucht der Jungtiere (DEACON, 2006; GASKILL et al., 2013; JIRKOF, 2014). Labormäuse beider Geschlechter bauen vergleichbare Nester, welche v. a. zum Schlafen, zum Schutz vor externen Einflüssen (z. B. Licht), sowie zur Thermoregulation dienen (LISK et al., 1969; SHERWIN, 1997; JIRKOF, 2014). Da sich die Umgebungstemperatur auf das Nestbauverhalten auswirken kann (DENENBERG et al., 1969; RAJENDRAM et al., 1987), sollten die Erfassungen unter entsprechend konstanten Bedingungen durchgeführt werden (JIRKOF, 2014). Auch stammabhängige Unterschiede, also genetisch bedingte Einflüsse zwischen verschiedenen Mauslinien bzw. -stämmen, können sich auf das Nestbauverhalten auswirken (DEACON, 2012). Zusätzlich sollte die zirkadiane Rhythmik berücksichtigt werden. So zeigen Mäuse am Ende der Dunkelphase die größte Ausprägung im Nestbauverhalten, um während der Hellphase ein intaktes Nest und somit einen Ruheort zu garantieren. (JIRKOF et al., 2013). Eine Beurteilung der Nestkomplexität erfolgt daher oft nach einer vollendeten Dunkelphase zu Beginn der Hellphase (JIRKOF, 2014). Auch operative Eingriffe können das Nestbauverhalten in der postoperativen Phase beeinflussen (GASKILL et al., 2013). Dies zeigte sich beispielsweise nach einer Laparotomie ohne zusätzliche analgetische Versorgung (ARRAS et al., 2007), nach intraperitonealer Transmitterimplantation (KUMSTEL et al., 2020), nach intrakraniellen Elektrodenimplantationen (BOLDT et al., 2021; MUNK et al., 2024) oder nach

kombinierter intrahippocampaler Elektroden- und subkutaner Transmitterimplantation (BUCHECKER et al., 2023).

Zur Evaluierung des Nestbauverhaltens kann der Fokus auf das fertiggestellte Nest oder auf die Darstellung des Verhaltens an sich gelegt werden. Die Nestkomplexität kann u. a. in unterschiedlichen Abstufungen beurteilt werden, aber auch die Nesthöhe, die verwendete Menge des Nestmaterials, die Latenzzeit bis zum Nestbau oder die Dauer des Nestbaus kann analysiert werden. Unterschiede ergeben sich hier auch durch das bereitgestellte Nestmaterial (JIRKOF, 2014). Baumwolle ist das am häufigsten eingesetzte Nestmaterial (AULEHNER et al., 2022b). Für die Beurteilung der Nestkomplexität unter Verwendung von gepressten Baumwollquadraten wurde bereits eine geeignete fünfstufige Bewertungsskala veröffentlicht (DEACON, 2006). Auch Tiefenkameras können für die Erfassung des Nestbauverhaltens (inkl. Volumen, Radius und mittlerer Höhe des Nests) eingesetzt werden (OKAYAMA et al., 2015).

2.5. Neuro-Score

Der Neuro-Score stellt einen modifizierten Irwin-Score dar. Er wurde in unserer Arbeitsgruppe entwickelt und in die Versuchstierkunde eingeführt. Er erwies sich bereits als nützlich bei der Belastungsbeurteilung (BUCHECKER et al., 2023; MUNK et al., 2024). Bei dem von Samuel Irwin 1968 entwickelten Score, handelte es sich ursprünglich um eine systematische und quantitative Methode zur Erfassung des Verhaltens, des physiologischen Zustandes und der Effekte pharmakologischer Substanzen auf das autonome, zentrale und periphere Nervensystem. Der Irwin-Score beinhaltet die Umsetzung einer Testbatterie aus verschiedenen Verhaltensparametern. Dabei erfolgt zunächst eine Observation der Tiere ohne Manipulationen und anschließend mit Manipulationen (IRWIN, 1968). Er wird bis heute in der pharmazeutischen Industrie als Screening-Methode in der Wirkstoffprüfung eingesetzt (ROUX et al., 2005; MATHIASSEN und MOSER, 2023; REIBER et al., 2025). Die Einstufung durch Beobachtung der Tiere, die Subjektivität dieser Methode und die Variabilität zwischen Laboren tragen zu einer Limitierung der Aussagekraft des Scores bei (MOSCARDO et al., 2007; FONCK et al., 2015; REIBER et al., 2025). Für den Neuro-Score wurde auf Parameter verzichtet, die für die Belastungsbeurteilung vernachlässigbar sind. Der Score dient der Erfassung des Allgemeinzustandes und möglicher neurologischer

Beeinträchtigungen. Zusätzlich wurden Parameter, die der postoperativen Belastungseinschätzung dienen, hinzugefügt (MUNK et al., 2024).

2.6. Mouse Grimace Scale

Entsprechend der Tatsache, dass sowohl Menschen als auch Tiere über die Gesichtsmimik verschiedenste Emotionen zum Ausdruck bringen können (DARWIN, 1872), wurde im Jahr 1978 ein „Gesichtsbewegungs-Kodierungssystem“ (*Facial Action Coding System*) zur entsprechenden Klassifizierung für den Menschen entwickelt (EKMAN und FRIESEN, 1978). Später wurde dieses für die Schmerzdetektion bei Menschen unterschiedlicher Alters- und Entwicklungsstufen (v. a. Kinder oder Menschen mit Beeinträchtigungen) abgewandelt (GILBERT et al., 1999; LACHAPELLE et al., 1999; LINTS-MARTINDALE et al., 2007). Die Beurteilung von Schmerzen bei Tieren wird zusätzlich dadurch erschwert, dass sie ihre Empfindungen nicht verbal mitteilen können. Langford und Kollegen (2010) entwickelten auf dieser Grundlage den *Mouse Grimace Scale* (MGS): ein Scoring-System zur Klassifizierung von Schmerzen bei Mäusen, unter Verwendung von folgenden 5 Parametern bzw. Bewegungseinheiten (sog. *action units*, AUs):

- **Schließen der Augen bzw. Lider (*orbital tightening*):** Abweichungen dieses Parameters durch Schließen bzw. Zusammenkneifen der Lider.
- **Wölbung des Nasenrückens (*nose bulge*):** Abweichungen dieses Parameters durch Krümmung des Nasenspiegels nach ventral (z. T. Hautfalten in diesem Bereich sichtbar).
- **Wölbung des Oberkieferbereiches (*cheek bulge*):** Abweichungen dieses Parameters durch Anspannung der Kaumuskulatur mit resultierender konvexer Wölbung im Wangenbereich zwischen Augen und Tasthaaren.
- **Stellung der Ohren (*ear position*):** Abweichungen dieses Parameters durch Drehung der Ohren zur Seite und/oder nach hinten.
- **Veränderung der Vibrissen (*whisker change*):** Abweichungen dieses Parameters durch flaches Anlegen der Tasthaare an das Gesicht, durch Abstehen der Tasthaare nach kranial oder durch Zusammenkleben dieser.

Diese Parameter können jeweils mit einem Score von null (keine Abweichung), eins (moderate Abweichung) oder zwei (starke Abweichung) bewertet werden

(LANGFORD et al., 2010). Die Erfassung des MGS kann in Echtzeit durch einen Experimentator erfolgen, wobei hier sofort Maßnahmen getroffen werden können, falls während des Versuches Schmerzzeichen wahrgenommen werden (ONUMA et al., 2024). Es muss jedoch berücksichtigt werden, dass Mäuse als Beutetiere, in Anwesenheit des Experimentators, dazu neigen Schmerzen zu verbergen (TURNER et al., 2019; AULEHNER et al., 2022b; ONUMA et al., 2024). Miller und Leach (2015) beobachteten beispielsweise bei Echtzeit-Bewertungen signifikant niedrigere MGS-Scores im Vergleich zu retrospektiv analysiertem Bildmaterial (MILLER und LEACH, 2015). Auch der Einfluss des Geschlechtes des Experimentators muss hier berücksichtigt werden: so zeigten Mäuse und Ratten in Anwesenheit des Geruchs männlicher Experimentatoren verringerte schmerz-assoziierte Verhaltensweisen, sowie Änderungen der Mimik, was auf eine stressinduzierte „Analgesie“ zurückgeführt wurde. Bei dem Geruch weiblicher Experimentatoren stellten sich bei den Nagern dagegen keine signifikanten Verringerungen dar (SORGE et al., 2014; ONUMA et al., 2024). Als weiterer Kritikpunkt ist die erschwerte Umsetzung von Verblindung und Standardisierung aufzuführen (ERNST et al., 2020b; WHITTAKER et al., 2021). Im Laufe der folgenden zehn Jahre nach der Entwicklung des MGS wurden überwiegend retrospektive Scoring-Methoden angewendet. Für diese Methode kamen Standfotos zum Einsatz, die aus Foto- oder Videoaufzeichnungen extrahiert wurden (WHITTAKER et al., 2021; AULEHNER et al., 2022b). Nicht zu unterschätzen ist jedoch der zeitliche Aufwand für entsprechende Bearbeitungen dieser Fotos und Videos (ERNST et al., 2020b; WHITTAKER et al., 2021). Zur Optimierung der Videobearbeitung entwickelten Ernst und Kollegen (2020b) einen Algorithmus, der geeignete Standbilder automatisch aus Videoaufzeichnungen selektiert (ERNST et al., 2020b). Maschinelles Lernen wurde auch genutzt, um die mit dem Scoring verbundene Subjektivität durch automatisierte Bewertungen zu reduzieren (TUTTLE et al., 2018; ANDRESEN et al., 2020; CHIANG et al., 2022). Der Ansatz von Tuttle und Kollegen (2018) ermöglicht beispielsweise eine binäre automatisierte Zuordnung, von Bildern von Mäusen mit weißer Fellfarbe, in die Kategorie „kein Schmerz vorhanden“ oder „Schmerz vorhanden“ (TUTTLE et al., 2018). Neuere Ansätze umfassen beispielsweise kostenlose, nutzerfreundliche und webbasierte Programme, wie die von MC Coy und Kollegen (2024) entwickelte Software „*PainFace*“. Unter Nutzung von maschinellem Lernen können vier *action*

units (Augen, Nase, Ohren und Vibrissen) mit einem Scoring von 0 bis 8 bewertet werden. Diese Software benötigt allerdings qualitativ hochwertige Videoaufnahmen, welche idealerweise mit dem vorgeschlagenen Protokoll und Aufbau aufgezeichnet werden sollten. Außerdem wurde die Software vorerst nur auf C57BL/6 Mäuse mit schwarzem Fell trainiert (MCCOY et al., 2024).

Im Rahmen einer systematischen Übersichtsarbeit in unserer Arbeitsgruppe zur postoperativen Schmerzbeurteilung, zeigten sich im Vergleich zu Basalwerten in allen Studien signifikante Effekte von operativen Eingriffen auf den MGS. Der Einsatz von Analgetika nach den operativen Eingriffen führte im Vergleich zu operierten Kontrolltieren ohne Schmerzmedikation in ca. 87 % der entsprechenden Studien ($n = 8$) zu reduzierten MGS-Scores (AULEHNER et al., 2022b). Des Weiteren sollten Anästhesieeffekte, welche zu Erhöhungen des MGS führen können, berücksichtigt werden (TURNER et al., 2019; WHITTAKER et al., 2021). Außerdem kann die Schmerzempfindlichkeit zwischen unterschiedlichen Mausstämmen sowie Geschlechtern variieren, sodass ermittelte Basalwerte abhängig vom genetischen Hintergrund als auch geschlechtsabhängig beeinflusst werden können (MILLER und LEACH, 2015; ONUMA et al., 2024). Eine intensive Gewöhnung der Tiere an das Handling führte durch entsprechendes Training zu reduzierten MGS-Scores, was den Einfluss von Distress auf den MGS unterstreicht (SWAN et al., 2023). Mittlerweile wurden *Grimace Scales* für viele weitere Spezies entwickelt, wie etwa für Ratten (SOTOCINAL et al., 2011), Kaninchen (HAMPSHIRE und ROBERTSON, 2015), Schweine (DI GIMINIANI et al., 2016), Schafe (HÄGER et al., 2017), Pferde (DALLA COSTA et al., 2014), Katzen (EVANGELISTA et al., 2019) oder Frettchen (REIJGWART et al., 2017).

2.7. Fäkale Kortikosteronmetaboliten

Stress, beispielsweise ausgelöst durch Schmerz oder Fixierung, führt zu einer Aktivierung der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse, wodurch eine Freisetzung von Stresshormonen ausgelöst wird (TURNER et al., 2019). Die Freisetzung vom Corticoliberin (Corticotropin-Releasing-Hormon, CRH) im Hypothalamus sorgt für die Freisetzung des adrenocorticotropen Hormons (ACTH) im Hypophysenvorderlappen, welches wiederum die Sekretion von Glukokortikoiden in der Nebennierenrinde bedingt. Die Glukokortikoide spielen u. a. eine wichtige Rolle in der Energiebereitstellung. Physiologischerweise werden

die genannten Hormone ohne Stressoren in geringeren Mengen pulsatil im Rahmen eines zirkadianen Rhythmus sezerniert. Über eine negative Rückkopplung innerhalb dieser Achse, sorgen hohe Konzentrationen dieser Hormone für eine Hemmung der weiteren Sezernierung (BREVES et al., 2022b). In murinem Blut stellt Kortikosteron das Haupt-Glukokortikoid dar (SPACKMAN und RILEY, 1978; TOUMA et al., 2003). Des Weiteren lassen sich Glukokortikoide und ihre Abbauprodukte in verschiedensten Se- und Exkreten, sowie in Haaren bestimmen bzw. quantifizieren (TOUMA et al., 2004; KAHNAU et al., 2020). Aufgrund von intensiver Metabolisierung in der Leber und durch die mikrobielle Darmflora lassen sich in murinen Fäzes lediglich Kortikosteronmetaboliten nachweisen (TOUMA et al., 2003). Die Extraktion von Kortikosteronmetaboliten aus Kotproben stellt eine nicht-invasive Möglichkeit zur Quantifizierung von Stresshormonmetaboliten dar. So können invasive Blutentnahmen (inkl. des direkten Einflusses auf die Kortikosteronspiegel) durch das Sammeln von Kotproben umgangen werden. Der von Touma und Kollegen (2003) entwickelte spezifische Enzym-Immunoassay zum Nachweis von fäkalen Kortikosteronmetaboliten (FCM) stellt eine valide Möglichkeit zur Überwachung der adrenokortikalen Aktivität bei Mäusen und Ratten dar (TOUMA et al., 2004; LEPSCHY et al., 2007). Die Darmpassagezeit führt nach entsprechender Stressexposition zu speziesspezifisch verzögerten Änderungen fäkaler Kortikosteronspiegel (PALME et al., 1996). So beträgt die Passagezeit, unter dem Einfluss des diurnalen Rhythmus, bei Mäusen in der Ruhe- bzw. Hellphase ca. zehn Stunden und aufgrund der schnelleren Darmpassage nur ca. vier Stunden in der Aktiv- bzw. Dunkelphase (TOUMA et al., 2003). Bei wiederholten Messungen an unterschiedlichen Tagen, sollte aufgrund der zirkadianen Rhythmik auf gleiche Messzeitpunkte geachtet werden (TOUMA und PALME, 2005). Bei der Interpretation der FCM sollten neben Unterschieden durch das Geschlecht (TOUMA et al., 2003) auch Abweichungen durch die zirkannuelle Rhythmik, das Alter und den genetischen Hintergrund beachtet werden (KOLBE et al., 2015).

3. Übersicht zu videobasierten Heimkäfigmonitoringsystemen

Grundsätzlich bieten Heimkäfigmonitoringsysteme viele Vorteile in Bezug auf das Tierwohl und die Qualität der Daten. Die Tiere können ungestört in ihrem gewohnten Umfeld gehalten werden und gleichzeitig nicht-invasiv bis zu 24/7 überwacht werden. Dabei können viele Verhaltensparameter, wie die Aktivität, soziale Verhaltensweisen, Lernen und Gedächtnis, oder die Nahrungsaufnahme, aber auch physiologische Parameter, wie die Herzfrequenz oder Temperatur, überprüft werden (KAHNAU et al., 2023). In einer Übersichtsarbeit von Kahnau und Kollegen (2023) zeigte sich u. a., dass viele Verhaltensparameter bereits kamerabasiert ausgewertet werden, während physiologische Parameter (Herzfrequenz, Körpertemperatur, Blutdruck etc.) noch überwiegend telemetrisch erfasst werden. Das Testen bestimmter Labornagerverhaltensweisen außerhalb des Heimkäfigs findet in der Regel in kürzeren Zeitfenstern während der Hellphase des Lichtzyklus statt. Somit findet das erforderliche Handling durch einen Experimentator während der eigentlichen Ruhephase der Tiere statt (KAHNAU et al., 2023; LAZ et al., 2023). Dies kann zu einem erhöhten Stresslevel und dadurch zu einer höheren Belastung der Tiere führen, was sich wiederum auf die Studienergebnisse auswirken kann (LAZ et al., 2023). Gerade die menschliche Interaktion stellt einen großen Faktor für die Variabilität innerhalb und zwischen Laboren dar. Um diesem Faktor entgegenzuwirken und um das unbeeinflusste Verhalten der Tiere über längere Zeiträume kontinuierlich untersuchen zu können wurden immer mehr Heimkäfigmonitoringsysteme entwickelt (GRIECO et al., 2021). Einige dieser Systeme basieren u. a. auf Technologien, welche bereits in Kapitel II 2.2 erwähnt wurden. Im Folgenden soll genauer auf die kamerabasierten Heimkäfigmonitoringsysteme für Labornager eingegangen werden.

3.1. Kommerzielle kamerabasierte Heimkäfigmonitoringsysteme

Ein sehr häufig verwendetes und kommerziell erhältliches System stellt der Noldus PhenoTyper® Heimkäfig (inkl. der Software EthoVision® XT) dar (VOIKAR und GABURRO, 2020; KLEIN et al., 2022). Das System gewährleistet über Videos (inkl. Infrarotkameraaufnahmen) aus der Vogelperspektive das kontinuierliche Tracking der Tiere (MINGRONE et al., 2020; GRIECO et al., 2021). Über die

Software “EthoVison® XT” kann die Bewegung von bis zu zwei Mäusen oder Ratten automatisch verfolgt werden (NOLDUS, 2025a). Über längere Beobachtungszeiträume hinweg, können dann das Trink- und Fressverhalten, soziale Interaktionen, sowie Aktivitätszyklen über die Hell- und Dunkelphasen hinweg analysiert werden (NOLDUS, 2025b, 2025c). Verschiedene Stimuli wie Licht oder Geräusche können programmiert werden und das System kann modular angepasst werden (GRIECO et al., 2021; NOLDUS, 2025a). So können für spezifischere Analysen zusätzlich z. B. Lickometer, Laufräder oder Module zur operanten Konditionierung integriert werden, sowie Anpassungen für die Nutzung von optogenetischen Stimulusgeräten oder zur Kalzium-Bildgebung vorgenommen werden (BAINS et al., 2018; MINGRONE et al., 2020).

Bei dem Any-maze Cage (Stoelting, Wood Dale, IL, USA) handelt es sich um eine Isolierkammer, welche einen Heimkäfig aus Plexiglas beherbergt. Die Aufzeichnungen erfolgen über eine infrarotsensitive Kamera und entsprechendes Infrarot- und Umgebungslicht (VU et al., 2018) aus der Vogelperspektive (BAINS et al., 2018). Mit Hilfe der entsprechenden Any-Maze-Software (Stoelting) kann kamerabasiert ein zirkadianes Profil, die zurückgelegte Strecke und die Position im Käfig analysiert werden (VOIKAR und GABURRO, 2020). Schlafphasen können über Inaktivität bestimmt werden (BAINS et al., 2018). Die Auswertung kann für ein Tier in Einzelhaltung oder für zwei Tiere mit unterschiedlicher Fellfarbe erfolgen (VOIKAR und GABURRO, 2020). Zusätzlich kann über mit Waagen ausgestattete Futter- und Wasserbehälter und über ein mit Sensoren ausgestattetes Laufrad die Futter- und Wasseraufnahme, sowie die Anzahl der Radumdrehungen ermittelt werden (VU et al., 2018).

Das PhenoRack (ViewPoint Behavior Technology, Civrieux, Frankreich) ermöglicht über die kombinierte Hard- und Software eine kontinuierliche Überwachung von bis zu 32 einzeln gehaltenen Mäusen oder Ratten. Das System verfügt für die Aufzeichnungen über Systemeinheiten, welche in einem Käfiggestell platziert werden. Die meisten handelsüblichen Heimkäfige können ohne weitere Anpassungen in jeweils eine Systemeinheit integriert werden (VIEWPOINT BEHAVIOR TECHNOLOGY, 2025). So kann bei Bedarf eine hohe Besatzdichte gewährleistet werden. Jede Systemeinheit verfügt über eine seitliche Kamera, über die das Verhalten und die Bewegungen der Tiere erfasst werden kann.

Die Analysen umfassen quantitative Aktivitätsmessungen (Distanz, Geschwindigkeit, Dauer) sowie Annotationen verschiedener Verhaltensweisen (z. B. Aufrichten (engl. *rearing*), Erstarren (engl. *freezing*), Trinken oder Fressen) (BAINS et al., 2018; VIEWPOINT BEHAVIOR TECHNOLOGY, 2025).

Das Home-Cage-Analyser-System (HCA, Actual Analytics Ltd, Edinburgh, Vereinigtes Königreich) kann modular angepasst werden und als eigenständige Einheit, sowie in IVC-Käfiggestellen oder anderen Gestellen verwendet werden (ACTUAL ANALYTICS, 2025). Dabei ist zu beachten, dass dieses System zwei Plätze in einem IVC- (*Individually Ventilated Cages*) Käfiggestell einnimmt: Eine Hälfte beinhaltet u. a. eine Infrarotkamera für die laterale Aufnahmen und einen Computer mit der entsprechenden HCA-Software, die andere Hälfte beinhaltet den Heimkäfig, RFID-Antennen in der Basis und Infrarotbeleuchtung im Dach. Nach der Implantation von RFID-Microchips können mit dem System auch in Gruppen gehaltene Tiere (bis zu 5 Tiere) kontinuierlich überwacht werden (HOBSON et al., 2020; ACTUAL ANALYTICS, 2025). Dabei werden die RFID-Identitäten mit den Videos überlagert (BAINS et al., 2018; MINGRONE et al., 2020), um die individuellen Aktivitäts-, Temperatur- und Verhaltensdaten (z. B. Klettern, Trinken und Fressen) zu extrahieren (ACTUAL ANALYTICS, 2025). Die Temperatur wird von den implantierten Microchips abgeleitet (MINGRONE et al., 2020). Bei Abweichungen im Verhalten der Tiere kann durch Live-Analysen eine Benachrichtigung (z. B. in Form eines Alarms) erfolgen. Zusätzlich kann über einen Remote-Zugang auf die Live-Videos zugegriffen werden (ACTUAL ANALYTICS, 2025).

Das IVC-RackScan-System (Sys Inc., Reston, VA, USA) ermöglicht kontinuierliche Analysen unter Verwendung von Weiß- und Infrarotlichtpanelen (CLEVERSYS, 2025a). Die Aufzeichnungen erfolgen über Kameras, welche die laterale Ansicht, sowie die Vogelperspektive abdecken. Mit Hilfe der Software (GroupHousedScan, CleverSys Inc.) kann dann die Aktivität sowie einige weitere Verhaltensweisen erfasst werden (BAINS et al., 2018). Erfasst werden über 20 verschiedene Verhaltensparameter, darunter auch feinmotorisch detektierbare Parameter (z. B. Schnüffeln, Urinieren und Kauen) (CLEVERSYS, 2025b). Mit der Software können bis zu vier Individuen innerhalb eines Käfigs überwacht werden

(KLEIN et al., 2022). In jedem IVC-RackScan-Käfiggestell können dabei bis zu zwölf IVC-Käfige untergebracht werden (CLEVERSYS, 2025a).

Das Vium-Digital-Vivarium™-Smart-Housing™-System ermöglicht die kontinuierliche Überwachung von bis zu 49 Mausekäfigen in einem ventilierten Käfiggestell (BC MECHANICAL DESIGN, 2025). Dabei wurden die Käfige und zugehörigen Gestelle von Vium (San Mateo, CA, USA) speziell für das Videomonitoring entworfen (SALEM et al., 2024). Über Sensoren und eine HD-Kamera aufgezeichnete Daten und Rohvideodateien werden auf eine cloudbasierte Infrastruktur übertragen, auf die über Remote-Verbindungen zugegriffen werden kann. Mit Hilfe von Bildverarbeitungsalgorithmen wird die Bewegung (m/sek) und Atemrate (Atemzüge/min) der Tiere analysiert (LIM et al., 2019; DO et al., 2020). Die Atemfrequenz wird durch die Identifikation von periodischen Bewegungen, in Zeitabschnitten in denen die Tiere ruhen, analysiert (LIM et al., 2019).

Das iMouse-System (*intelligent Monitoring & operation system in use within a standardized environment*, iMouse GmbH, Potsdam, Deutschland) verbindet für die kontinuierliche Überwachung von Labornagern die Hardware (iMouse DigiFrame) mit einer digitalen Plattform (iMouseHub) und bietet ein KI-System (iMouseBrain). Bei dem DigiFrame handelt es sich um eine Retro-fit-Lösung, sodass die Hardware um bestehende Käfigsysteme (offene oder ventilierte Haltung) angebracht werden kann. Der DigiFrame beinhaltet u. a. unterschiedlich viele Kameras (benutzerspezifisch anpassbar) mit Infrarotfunktionen sowie die Computereinheit für den Datentransfer und die Vorverarbeitung (LAZ et al., 2023; IMOUSE, 2025a). Insgesamt können eine bis vier Kameras (frontal, rechts, links oder an der Rückseite des Käfigs) angebracht werden. Die Plattform iMouseHub (inklusive der generierten Daten) kann über Remote-Verbindungen aufgerufen werden, sodass die Tiere jederzeit visuell inspiziert und Aufnahmen gestartet werden können. Die Plattform wurde auf Basis der Open-Source-Software „ZoneMinder“ aufgebaut. So können über das Festlegen verschiedener Zonen die Fress- und Trinkaktivität oder die Kletter- und Nestbauaktivität je Käfig über entsprechende Bewegungsmeldungen erfasst werden (LAZ et al., 2023). Durch die Kombination plattformbasierter Daten mit geeigneten Algorithmen, könnten mit Hilfe des iMouseBrains automatisiert verschiedene Verhalten (z. B. Schlafen, Putzen oder soziale Interaktion) detektiert werden (IMOUSE, 2025a). Hier wird

maschinelles Lernen angewendet, um aus den zonenbasierten Aufnahmen, einzelne Verhalten zu klassifizieren (LAZ et al., 2023). Bereits trainierte Parameter können dann analysiert werden, während weitere Funktionen erst im Rahmen von Kooperationen entwickelt oder optimiert werden müssen. Um in Zukunft vollständig automatische Analysen mit Hilfe des iMouseBrains durchführen zu können, werden die Daten bisheriger Kooperationspartner und Nutzer zur Optimierung dieses Analyseprogramms verwendet (SÜNDERMANN et al., 2024). In Kollaboration mit iMouse kann das KI-System entsprechend bei den jeweiligen Einrichtungen etabliert werden (IMOUSE, 2025b).

Bei dem Allentown-Discovery™-IVC-System (Allentown LLC, Allentown, NJ, USA) handelt es sich um ein KI-gestütztes System, welches die JAX-Envision™-Software (The Jackson Laboratories, Bar Harbor, ME, USA) für kontinuierliches Monitoring und Datenanalysen nutzt. Die cloudbasierte Software integriert künstliche Intelligenz und maschinelles Lernen und ermöglicht über einen digitalen Zugang das Einsehen der Tierdaten. Zusätzlich werden Echtzeit-Messungen und Warnmeldungen erzeugt. Die Hardware besteht aus Modulen (*In Vivo View module*, IVV), die über den jeweiligen IVC-Käfigen angebracht werden können. Jedes Modul verfügt über eine hochauflösende Infrarotkamera und entsprechende Beleuchtung, welche die Überwachung aus der Vogelperspektive ermöglichen. Das Discovery™-Käfiggestell überträgt die Daten an die Envision™-Software. Das System ermöglicht auf Käfigebene die Analyse von individueller und Gruppenaktivität (ALLENTOWN, 2025). Mit Hilfe der Software können Individuen identifiziert und verfolgt werden, sowie der Futter- und Wasserstand überwacht werden. Die in der Cloud gespeicherten Daten können über eine App eingesehen werden. Die App kann bei Bedarf über eine Entwickleroberfläche benutzerdefiniert in Bezug auf die KI-gestützten Funktionen angepasst werden (THE JACKSON LABORATORY, 2025a). In einem JAX-Video (*Envision™: A New Paradigm Toward Rigorous Understanding of Mouse Behavior and Physiology*) vom 26. Februar 2025 wurden die neuesten Funktionen der Software (Version 3.0) vorgestellt: Die Aktivität von bis zu drei Mäusen kann hier in die Klassen „Inaktiv“, „Aktiv“, „Klettern“ und „Lokomotion“ eingeteilt werden, wobei hier kleine Barcode-Ohrmarkierungen für die kamerabasierte Identifikation angebracht werden. Zusätzlich kann die gesamte zurückgelegte Strecke analysiert

werden und die Atemfrequenz über rhythmische Bewegungen des Brustkorbs erfasst werden. Des Weiteren wird eine Anfallsdetektion (Beta-Phase) angeboten. Die im Rahmen von generalisierten epileptischen Anfällen auftretende Seitenlage der Tiere wird hier für die Detektion der Anfälle genutzt (THE JACKSON LABORATORY, 2025b).

3.2. Kamerabasierte Open-Source- und DIY- Heimkäfigmonitoringssysteme

Das SCOREHE-System (*System for Continuous Observation of Rodents in Home-cage Environment*) wurde von den *National Institutes of Health* (NIH, Bethesda, MD, USA) als Open-Source-Retro-fit-Lösung veröffentlicht, sodass die Hardware um bestehende IVC-Käfigsysteme angebracht werden kann (SALEM et al., 2015). Die Hardware umfasst zwei bis vier Kameras mit Fischaugenobjektiven und Nahinfrarotbeleuchtung (SALEM et al., 2016). Bei der Verwendung von zwei Kameras, werden diese jeweils mittig sowie oben an der Vorder- und Rückseite des IVC-Käfigs mit einem um 25 Grad nach unten gerichtetem Winkel angebracht. Die Nahinfrarotpanele werden zwischen zwei benachbarten Käfigen montiert. Die Videos werden auf einen Videorekorder übertragen und über einen Konvertierer digitalisiert und gespeichert. Die nachfolgende Prozessierung (unter Verwendung der Algorithmen) erfolgt rechnergestützt. Über den validierten Algorithmus für einzeln gehaltene Mäuse können die zurückgelegte Strecke und die Position („auf dem Boden“, „nicht auf dem Boden“ und „Aufrichten“) analysiert werden. Die Ergebnisse werden als einstündige Intervalle über den gesamten zirkadianen Zyklus hinweg analysiert. Der Algorithmus für in Paaren gehaltene Mäuse ist noch nicht ausreichend validiert (SALEM et al., 2015).

Das MouseVUER-System (*Mouse Video Utility for Experiments Recording*) wurde inklusive dem entsprechenden Videoanalysetool ebenfalls als Open-Source von den *National Institutes of Health* (NIH, Bethesda, MD, USA) veröffentlicht. Es ermöglicht die Überwachung von Mäusen in einem modifizierten Heimkäfigsystem unter Verwendung einer Tiefenkamera mit der Option gleichzeitig RGB-, Tiefen- und Nahinfrarotvideos aus der Vogelperspektive aufnehmen zu können. Das Design wurde für die Nutzung von ventilierten Käfiggestellen von Allentown (NexGen ventilated racks, Allentown LLC, Allentown, NJ, USA) angepasst, wobei der jeweilige Platz über dem Heimkäfig im Gestell für das System benötigt wird. Um

die zusätzlich benötigte Hardware zu konstruieren, benötigt man u. a. Zugriff auf einen 3D-Drucker und einen Laserschneider. Es werden individuelle Futter- und Wasserbehälter verwendet und ein Kameragehäuse zur Anbringung über dem Käfig konstruiert. Es kann ein individuelles Zwischengeschoss mit inkludiertem Tunnel als *Enrichment* genutzt werden. Außerdem werden kommerzielle Lösungen für die Videoaufzeichnungen vorgeschlagen (SALEM et al., 2024). Mit dem Open-Source-Tool „DeepLabCut“ (MATHIS et al., 2018) konnten verschiedene Schlüsselpunkte (Ohren, Nase und Schwanzbasis) von einzeln gehaltenen Mäusen identifiziert und nachverfolgt werden (SALEM et al., 2024). Solche, auf maschinellem Lernen basierende Tools könnten für die automatisierte Analyse von Bewegungsmustern und Verhalten genutzt werden (MATHIS und MATHIS, 2020). Das System kann auch außerhalb eines Allentown-Käfiggestells genutzt werden. Hierfür wurden das Design und Anleitungen für ein einzelnstehendes nicht ventiliertes Käfiggestell, in welchem drei der Systeme integriert werden können, bereitgestellt. Alle Anleitungen und die Software finden sich unter <https://github.com/NIH-CIT-OIR-SPIS/MouseVUER> (SALEM et al., 2024).

Die Lethbridge Universität (Lethbridge, AB, Kanada) hat eine günstige Open-Source-Lösung zur Überwachung von Nagern veröffentlicht. Dabei wird eine Infrarotkamera sowie entsprechende Beleuchtung in den Käfigdeckel des bestehenden Heimkäfigs integriert. Die Kamera muss in eine präparierte Öffnung in der Mitte des Käfigdeckels angebracht werden. Mit Hilfe eines Webinterfaces (https://github.com/silvanmelchior/RPi_Cam_Web_Interface) kann über eine Remote-Verbindung auf die Live-Aufnahmen zugegriffen werden und es können Aufnahmen für Offline-Verhaltensanalysen gestartet werden. Mit der bereitgestellten Software (https://github.com/surjeets/Animal_Home_Cage und <https://github.com/surjeets/Home-Cage-Python-and-MATLAB-Code>) kann im Nachgang die Bewegung detektiert werden und ein Tracking der Tiere erfolgen, um so Schlaf- bzw. Wachphasen zu analysieren (SINGH et al., 2019).

Das *California Institute of Technology* (Pasadena, CA, USA) und das *Weizmann Institute of Science* (Rehovot, Israel) haben DIY-Systeme zur Erfassung von sozialem Verhalten veröffentlicht (KLEIN et al., 2022): das System aus Kalifornien kombiniert Video-Tracking, Tiefenerkennung und maschinelles Lernen zur automatischen Erkennung und Quantifizierung von sozialem Verhalten zwischen

zwei Mäusen unterschiedlicher Fellfarbe. Dabei werden synchronisierte Kameras (Vogelperspektive und seitliche Ansicht) und ein Tiefensensor verwendet. Der Sensor erkennt den Tiefenwert eines Objektes durch Messung der Laufzeit eines Infrarotsignals zwischen Kamera und Objekt. Es können drei soziale Verhaltensklassen („attackieren“, „besteigen“ und „inspizieren“) unterschieden werden (HONG et al., 2015). Für das System aus Israel wurden in einer Arena gehaltene Mäuse ($n = 4$) mit unterschiedlich fluoreszierenden Farbstoffen farbmarkiert. Unter Verwendung von UVA-Licht und einer Farbkamera waren die Tiere somit in der Dunkelphase sichtbar. Mit der Software konnte neben der Überwachung des Gruppenverhaltens und der sozialen Interaktionen auch die individuelle Aktivität der Mäuse erfasst werden, indem die Aufenthaltszeit in den verschiedenen Bereichen der Arena (z. B. „Wasser“, „Futterbehälter“ oder „im Nest“) aufgezeichnet wurde (SHEMESH et al., 2013).

4. Konzept für ein kamerabasiertes Heimkäfigmonitoringsystem (Smart-Homecage)

In unserer Forschungsgruppe (DFG-FOR2591, 2025) wurde ein Konzept, sowie Prototypen, für ein kamerabasiertes Monitoringsystem, das Smart-Homecage-System, entwickelt. Dieses System soll eine kontinuierliche, nicht-invasive Überwachung der Tiere im Heimkäfig mittels verschiedener Kamerasysteme ermöglichen. Mit Hilfe von Nahinfrarot-, Wärmebild- und RGB-Kameras sollen neben der Aktivität und zirkadianen Rhythmik auch verschiedene Vitalparameter, wie die Herzfrequenz, Atemfrequenz oder Körpertemperatur erfasst bzw. abgeleitet werden (MÖSCH et al., 2023).

Für dieses Projekt erfolgten Voruntersuchungen zur Erfassung einzelner Parameter an unterschiedlichen Standorten innerhalb der Forschungsgruppe (BREUER et al., 2023; MÖSCH et al., 2023): in unserer Arbeitsgruppe wurden zur Überprüfung der videobasierten Überwachung der Atemfrequenz männliche Sprague-Dawley Ratten ($n = 3$) verwendet, wobei hierbei die zyklische Ausdehnung und Kontraktion des Thorax- und Abdomenbereiches analysiert wurde. Diesen Ratten wurden Radiotransmitter zur Ableitung des Elektroenzephalogramms und Elektrokardiogramms implantiert. Von den freibeweglichen Ratten wurden, parallel zu den EKG-Aufzeichnungen, Videos über eine Thermal- und eine RGB-Kamera

aufgenommen. Die Tiere befanden sich hierfür in nach oben hin offenen Glasaquarien. Die EKG-Aufzeichnungen wurden als Grundlage für die Ableitung der Atemfrequenz herangezogen. Mit Hilfe von Algorithmen wurden Schwankungen des EKG-Signals (bzw. der maximalen R-Zacken-Ausschläge der einzelnen QRS-Komplexe) aus den Rohdaten gefiltert. Diese Schwankungen bzw. Signalveränderungen wurden durch die Ein- und Ausatmung und die damit verbundene Lageveränderung des Herzens zu den Elektroden verursacht. Die aus dem EKG abgeleitete Atemfrequenz diente später als Referenzmethode für den kamerabasierten Ansatz. So konnte mit einem relativen Fehler von 5,46 % gezeigt werden, dass die Atemfrequenz in sich frei bewegenden Ratten mit Hilfe von einer nicht-invasiven, kamerabasierten Methode erfasst werden kann (BREUER et al., 2023). Um Vitalparameter auch im Heimkäfig aufzeichnen zu können, wurde im nächsten Schritt ein Konzept für ein Smart-Homecage-System entwickelt. Hierfür wurden die entsprechenden Anforderungen zur Generierung optimaler Videos detailliert analysiert. Dies umfasste Aspekte, wie die exakte Positionierung der Kameras, die Auflösung und Bildrate, die externe Beleuchtung, die Videoerfassung, die Datensicherung und die Synchronisierung. Es wurden zwei Designs entworfen, wobei eines die Verwendung in Regalen bzw. Gestellen ermöglicht und eines die einzelne Aufstellung, mit der Möglichkeit zur Verwendung von Telemetrie-Receiver-Platten unterhalb der Käfigschale, ermöglicht. Für die Bedienung wurde eine webbasierte benutzerfreundliche Oberfläche entwickelt, durch die der Zugriff von allen Geräten mit einem Webbrowser (z. B. Smartphone, Tablet, Laptop) möglich ist. Am Standort Aachen wurden für eine erste Überprüfung vier männliche, nicht-implantierte, in Gruppen gehaltene C57BL/6J Mäuse verwendet. Diese Untersuchungen zeigten, dass eine Generierung von Daten zur Erfassung von Vitalparametern, wie der Atem- und Herzfrequenz, möglich ist. Das System kann modular entsprechend den Wünschen und Anforderungen der Nutzer angepasst und um weitere Kameras ergänzt werden. Des Weiteren könnte es für eine 24/7 Überwachung genutzt werden (MÖSCH et al., 2023).

Im weiteren Verlauf soll dieses Smart-Homecage-System mit Hilfe der bereits validierten Telemetrie an verschiedenen Standorten der Forschungsgruppe (DFG-FOR2591, 2025) überprüft werden. In dieser Dissertationsschrift werden die Beiträge zur Validierung dieses Monitoringsystems im Rahmen eines multizentrischen Ansatzes beschrieben.

III. ARBEITSHYPOTHESEN UND ZIELSETZUNG

Für die Erfassung verschiedener physiologischer Parameter werden in der experimentellen Forschung überwiegend Telemetriesysteme eingesetzt (KAHNAU et al., 2023). Mit Hilfe der Telemetrie kann u. a. die Aktivität der Tiere kontinuierlich im Heimkäfig erfasst werden. Die heimkäfigbasierte Aktivität hat sich bei Untersuchungen der Forschungsgruppe DFG-FOR2591 bereits bei verschiedenen Nagernmodellen als sensibler Parameter zur Belastungseinschätzung erwiesen (HÄGER et al., 2018; KUMSTEL et al., 2020; ZENTRICH et al., 2021; TALBOT et al., 2022). Für eine telemetrische Erfassung der Aktivität ist jedoch standardmäßig ein invasiver Eingriff zur chirurgischen Implantation des Telemetriesenders erforderlich. In experimentellen Tierversuchen findet eine Einstufung der Aktivität üblicherweise bereits durch das klassische klinische Scoring statt. Der klinische Score ist spezifisch auf die jeweiligen Projekte ausgelegt und wird im Rahmen der Tierversuchsgenehmigung von den lokalen Behörden genehmigt. Während der Versuche wird der klinische Score subjektiv und i.d.R. nicht-invasiv im Heimkäfig der Tiere erfasst. Da klinische Scoring-Systeme im Allgemeinen mit einer geringeren Belastung für die Tiere verbunden sind, stellt sich die Frage, ob die invasivere Telemetrie einen informativen Mehrwert gegenüber klinischen Scoring-Systemen bietet. Das Ziel der ersten Studie dieser Dissertation war daher ein retrospektiver explorativer arbeitsgruppenübergreifender (DFG-FOR2591, 2025) Vergleich zwischen telemetrisch erfassten Aktivitätsdaten und klinischen Scoring-Systemen. So sollte eine vergleichende Einschätzung zur Sensitivität der beiden Methoden im Rahmen der Aktivitätserfassung erfolgen. Außerdem sollte eingeschätzt werden, in welchen Modellen und bei welchen Interventionen eine entsprechende Aktivitätserfassung sinnvoll ist, um den Parameter „Aktivität“ z. B. als Teil einer multidimensionalen Belastungseinschätzung zu integrieren. Für diese Studie wurden die Daten aller Kooperationspartner innerhalb der Forschungsgruppe „*Severity Assessment in Animal-Based Research*“ (DFG-FOR2591, 2025) inkludiert, die neben dem klinischen Score auch telemetrische Aktivitätserfassungen in Maus- und Rattenmodellen einbezogen hatten. Grundsätzlich wurde bei einer ausreichenden Studienanzahl eine Metaanalyse angestrebt.

Die Implantation von Telemetriesendern stellt einen invasiven Eingriff dar, sodass der Einsatz nicht-invasiver Alternativen, im Sinne des *Refinements*, bevorzugt werden sollte. Eine mögliche Alternative stellen heimkäfigbasierte, nicht-invasive Monitoringsysteme dar. Das Ziel der zweiten Studie dieser Dissertation ist daher die Validierung eines neuen, kamerabasierten Heimkäfigmonitoringsystems (Smart-Homecage-System). Dieses System soll im Rahmen einer multizentrischen Studie innerhalb der Forschergruppe (DFG-FOR2591, 2025) validiert werden. Die Validierung erfolgt sowohl für Mäuse als auch für Ratten. Die Studie wird voraussichtlich an vier Standorten (u. a. in München) unter Verwendung von Mäusen durchgeführt. Um das Smart-Homecage-System zu validieren, sollen dessen kamerabasierte Ergebnisse zur Ableitung der Herzfrequenz, Atemfrequenz, Körpertemperatur und Aktivität mit Ergebnissen der bereits validierten Telemetrie verglichen werden. Die Hypothese für die multizentrische Nicht-Unterlegenheitsstudie lautet hier: das Smart-Homecage-System ist dem klassischen Telemetriesystem im Rahmen einer mehrdimensionalen, quantitativen Belastungseinschätzung (*Relative Severity Score/Assessment*: RELSA) nicht unterlegen. Vor der telemetrischen Erfassung von Daten in einer experimentellen Studie muss zudem eine ausreichende postoperative Erholungszeit von der Transmitterimplantation eingehalten werden (LEON et al., 2004), um mögliche Einflüsse einer unvollständigen postoperativen Erholung auf die generierten Daten zu vermeiden und somit die Datenqualität sicherzustellen. Die übliche Erholungszeit nach einer Transmitterimplantation beträgt zwei Wochen. In Bezug auf die Länge einer solchen Erholungszeit gibt es unterschiedliche Meinungen und Empfehlungen. Daher sollte am Standort München explorativ zusätzlich die postoperative Belastung nach subkutaner Transmitterimplantation beurteilt werden und insbesondere der Vergleich der Belastung 14 und 21 Tage nach Transmitterimplantation untersucht werden. So sollte überprüft werden, ob eine um eine Woche verlängerte Rekonvaleszenzphase (drei Wochen statt üblicherweise zwei Wochen) nach der Transmitterimplantation mit einer vollständigeren Erholung der Tiere vor folgenden Studienphasen einhergeht. Für die Belastungsbeurteilung wurden (patho-) physiologische, verhaltensbezogene und biochemische Parameter untersucht.

Die beiden Studien dieser Dissertation tragen indirekt oder direkt zum *Refinement* im Sinne der EU-Richtlinie 2010/63 bei. Ein übergeordnetes Ziel stellt das *Refinement* der Methodik zur Erfassung der Aktivität im Heimkäfig dar. Die Ergebnisse der beiden Studien, könnten insbesondere zu einer besseren Grundlage für eine Schaden-Nutzen-Analyse der Telemetrie beitragen. Entsprechende Schaden-Nutzen-Analysen fließen neben der Berücksichtigung der kumulativen Belastung in die für einen Tierversuchsantrag erforderliche Belastungseinschätzung ein²¹ (SMITH et al., 2018; BRILL et al., 2021).

²¹ Artikel 38, RL 2010/63/EU (Fn. 1)

IV. MATERIAL UND METHODEN

1. Retrospektiver Vergleich zwischen telemetrisch erfassten Aktivitätsdaten und klinischen Scoring-Systemen

Ziel der vorliegenden retrospektiven Datenanalyse war es zu untersuchen, in welchen experimentellen Maus- und Rattenmodellen und für welche Interventionen die Aktivität der Tiere einen informativen Parameter zur Belastungseinschätzung darstellt. Außerdem sollte die Sensitivität verschiedener Methoden zur Aktivitätserfassung verglichen werden. Hierfür wurden Studien mit Maus- und Rattenmodellen von Mitgliedern der Forschungsgruppe (DFG-FOR2591, 2025) einbezogen, die aktivitäts-assoziierte Parameter klinischer Scoring-Systeme und telemetrisch erfasste Aktivitätsdaten umfassten. Für die Datenanalyse konnte ein breites Spektrum verschiedener tierexperimenteller Krankheitsmodelle und Interventionen aus den Fachbereichen der Neurologie, Gastroenterologie und Onkologie inkludiert werden. Es wurden ebenfalls Studien mit operativen Interventionen sowie mit verschiedenen experimentellen Techniken inkludiert. Die Datensätze der verschiedenen berücksichtigten Tiermodelle und Interventionen wurden entsprechend in folgende methodische Kategorien unterteilt:

- 1) Operative Intervention (z. B. partielle Hepatektomie oder Transmitterimplantation)
- 2) Operative Intervention und Krankheitsmodell (z. B. Pankreaskarzinom)
- 3) Krankheitsmodell (z. B. verschiedene chronische Epilepsiemodelle)
- 4) Experimentelle Technik (kabelgebundene Aufzeichnung)

Für die Aktivitätsanalysen wurden in den Studien ausgewählte Phasen betrachtet. Dabei sollte beachtet werden, dass der Fokus der Aktivitätsanalysen bei der Kategorie „Operative Intervention“ auf der Phase nach einem chirurgischen Eingriff liegt. Bei den analysierten Zeitpunkten handelt es sich sowohl um die akute postoperative Phase als auch um den weiteren Verlauf während der Erholungszeit. Bei dieser Kategorie muss zwischen operativen Interventionen unterschieden werden, bei denen eine chirurgische Transmitterimplantation bereits vorab erfolgt

ist, und solchen, in deren Rahmen die Implantation eines Transmitters durchgeführt wurde.

Bei der Kategorie „Operative Intervention und Krankheitsmodell“ liegt der Fokus der Analyse auf dem zeitlichen Verlauf nach einem operativen Eingriff zur Induktion eines Krankheitsmodells. Bei den analysierten Zeitpunkten handelt es sich sowohl um die akute postoperative Phase als auch um den weiteren Verlauf bis hin zur Manifestation der erkrankungs-assoziierten Veränderungen. Hier ist ebenfalls zu beachten, dass die Transmitterimplantation bei den Experimentaltieren z. T. in einem weiteren chirurgischen Eingriff vor dem analysierten Zeitraum durchgeführt wurde.

Bei der Kategorie „Krankheitsmodell“ liegt der Fokus der Analyse auf dem zeitlichen Verlauf nach Induktion einer Krankheit. Die Induktion der Krankheiten erfolgte bei diesen Modellen jedoch nicht durch einen chirurgischen Eingriff. Dennoch sei angemerkt, dass operative Eingriffe bei den Experimentaltieren vor dem analysierten Zeitraum durchgeführt wurden.

Bei der Kategorie „Experimentelle Technik“ liegt der Fokus der Analyse auf dem zeitlichen Verlauf ab der Durchführung einer gängigen experimentellen Technik. Hier erfolgte die Transmitterimplantation bei den Experimentaltieren ebenfalls vor dem analysierten Zeitraum.

Zusätzlich ist anzumerken, dass die meisten inkludierten Datensätze bereits innerhalb der Forschungsgruppe zur Belastungseinschätzung für die spezifische Analyse zu einzelnen Modellen und Interventionen herangezogen wurden.

Aktivitätsdaten der verwendeten Datensätze wurden in der vorliegenden Analyse mit entsprechenden Referenzdaten verglichen. Die für diese Vergleiche verwendeten Referenzdaten in den inkludierten Datensätzen wurden in die Kategorien „Referenztag[e]“ und „Referenzgruppe[n]“ eingeteilt. Basalmessungen werden in dieser Dissertation als Referenztage bezeichnet, da aufgrund der für die Telemetrie benötigten Transmitterimplantation keine Erfassung echter Basalmessungen möglich ist. Bei diesen Referenztagen handelt es sich um Zeitpunkte nach einer laborspezifischen Erholungszeit von der Transmitterimplantation, da telemetrisch erfasste Aktivitätsdaten erst nach dem operativen Eingriff zur Verfügung stehen. Zudem konnten mehrere Vergleiche für ein Modell oder für eine Intervention erfolgen, wenn verschiedene Referenzdaten-

Kategorien in den Datensätzen enthalten waren (z. B. ein Vergleich der Daten einer Interventions- bzw. Experimentalgruppe mit Daten an Referenztagen sowie mit Daten einer Referenzgruppe).

1.1. Workflow für den Vergleich zwischen telemetrisch erfassten Aktivitätsdaten und klinischen Scoring-Systemen

Datensatzscreening und -vervollständigung

Um ein möglichst breites Spektrum für die Aktivitätsanalysen bzw. die Vergleiche berücksichtigen zu können, wurden Datensätze mit aktivitäts-assozierten Parametern basierend auf einer Projektabfrage innerhalb der Forschungsgruppe (DFG-FOR2591, 2025) identifiziert. Alle Kooperationspartner wurden bezüglich dieser Projekte kontaktiert, um die Vervollständigung der Datensätze und methodischen Details zu koordinieren.

Folgende In- und Exklusionskriterien fanden Anwendung: inkludiert wurden alle Datensätze von Kooperationspartnern (DFG-FOR2591, 2025) aus Studien mit Maus- und Rattenmodellen, welche die beiden relevanten aktivitäts-assozierten Parameter („Telemetrie“; „Klinischer Score“) enthielten. Exkludiert wurden Datensätze mit einem Stichprobenumfang von unter fünf Untersuchungseinheiten pro Experimentalgruppe, sowie die Daten von Zeitpunkten oder Gruppen mit über 20 % fehlenden Daten. Fehlende Daten aufgrund von modell-assozierten Tierzahlausfällen, z. B. durch das Erreichen eines humanen Endpunktes im Laufe der Tumorprogression, fielen nicht unter die 20 %-Regelung.

Die entsprechend verfügbaren telemetrisch erfassten Aktivitätsdaten und die zugehörigen klinischen Scores der Forschungsgruppenmitglieder wurden zentral in Form von Excel-Dateien gesammelt.

Die meisten in diesen modell- und interventionsübergreifenden Analysen inkludierten Datensätze wurden bereits publiziert. Entsprechende Referenzen können der Tabelle 1 entnommen werden. Andernfalls wurden unveröffentlichte Datensätze nur nach vorheriger Zustimmung durch den entsprechenden Kooperationspartner verwendet.

Parameterspezifische Prozessierung und Zusammenführung

Die von den Kooperationspartnern übermittelten Excel-Dateien enthielten z. T. mehrere Parameter (z. B. prozentuale Körpergewichtsveränderung), die nicht für die Aktivitätsanalysen benötigt wurden. Im weiteren Verlauf wurden daher lediglich die für die Aktivitätsanalyse relevanten Daten auf Vollständigkeit überprüft. Die im Heimkäfig kontinuierlich telemetrisch erfassten Aktivitätsdaten wurden i.d.R. in der Einheit „Anzahl pro Minute“ exportiert und übermittelt. Die Telemetriesysteme erfassten u. a. die Positionsänderungen der intraperitoneal oder subkutan implantierten Transmitter in Bezug auf die in den Empfängerplatten integrierten Antennen unter den Heimkäfigen der Tiere. Die Erfassung erfolgte als Anzahl der Positionswechsel innerhalb eines definierten Zeitintervalls. Wenn die Einheit der telemetrisch erfassten Aktivität nicht „Anzahl pro Minute“ entsprach, wurden diese Datensätze in der entsprechenden Einheit nachgefordert, um eine Vergleichbarkeit der Daten sicherzustellen. Nachdem auch Daten für fehlende Referenztage nachgefordert wurden, konnten die gesammelten Daten weiter prozessiert werden: die zur Verfügung gestellten telemetrisch erfassten Aktivitätsmittelwerte (wie beispielsweise tierindividuelle Mittelwerte über je zwölf Stunden Hell- und Dunkelphase) wurden kopiert und in einer zentralen Datei zusammengefügt, wobei eine Unterteilung in Hell- und Dunkelphase beibehalten wurde. Die genaue zeitliche Zuordnung der Datensätze innerhalb der Hell- und/oder Dunkelphase kann den folgenden Beschreibungen der Tiermodelle und Interventionen (Kapitel IV 1.2) entnommen werden. Für institutsinterne telemetrisch erfasste Aktivitätsdaten wurde, wenn nötig nachträglich, ein Mittelwert für die Hell- und Dunkelphase auf Basis der zusätzlich verfügbaren Rohdaten berechnet.

Alle arbeitsgruppen- und modellspezifischen klinischen Scores wurden während der Hellphase erfasst, um die Belastung der Tiere während den Versuchen zu beurteilen. Für die vorliegenden Aktivitätsanalysen wurden die aktivitäts-assoziierten Änderungen in diesen klinischen Scoring-Systemen herangezogen. Zur besseren Vergleichbarkeit zwischen den Modellen und Interventionen, wurden die aktivitäts-assoziierten Änderungen in diesen projektspezifischen klinischen Scoring-Systemen entsprechend den individuellen Definitionen der angewendeten Parameter mit „Ja“ (bei einem Hinweis auf Aktivitätsänderungen) oder „Nein“ (bei fehlendem/keinem Hinweis auf Aktivitätsänderungen) in die zentrale Datei

übertragen. Wenn das jeweilige Scoring-System Rückschlüsse auf die Richtung der Aktivitätsänderungen (Steigerung oder Reduktion) zuließ, wurden entsprechende Vermerke angefügt. Dies traf ebenso auf von Kooperationspartnern übermittelte Angaben zur Direktionalität zu. Die Parameter zur Identifikation von Aktivitätsänderungen innerhalb der einzelnen Scoring-Systeme können der Tabelle 3 entnommen werden. Es erfolgte also eine Umkodierung der Score-Werte in die Kategorien „Ja“ und „Nein“, welche später in entsprechende binäre logische Operatoren („1“ und „0“) überführt wurden. Teilweise entsprach die Benennung der Tage in den übermittelten Excel-Dateien nicht der Benennung in den zugehörigen Publikationen. Zur Standardisierung erfolgte, wenn nötig, eine Umnummerierung der Experimentaltage, sodass die Tage relativ zu dem Beginn der zu betrachtenden Interventionen oder Ereignisse (siehe auch Tabelle 4) benannt wurden. Die fehlerfreie Übertragung der Daten wurde im Rahmen stichprobenartiger Qualitätsprüfungen (ca. 20 %) sichergestellt.

Projektspezifische Vergleiche

Nach der Erstellung von Übersichtstabellen zur Darstellung der vorhandenen Kategorien der Referenzdaten (individuelle Referenztage und/oder jegliche Referenzgruppen) in den berücksichtigten experimentellen Datensätzen, wurde die Art der Vergleiche festgelegt. Dabei konnten innerhalb eines Modells oder einer Intervention mehrere Kategorien der Referenzdaten enthalten sein, sodass mehrere Vergleichsarten Anwendung finden konnten. Die im weiteren Verlauf kalkulierten Effektstärken sollten dazu dienen, zu vergleichen, welcher aktivitäts-assoziierte Parameter („Telemetrie“; „Klinischer Score“) Aktivitätsänderungen häufiger detektierte. Die Effektstärken wurden basierend auf dem Vergleich zwischen den Daten der Interventions- bzw. Experimentaltiere und den zugehörigen Referenzdaten berechnet.

Entscheidung zur Durchführung einer Metaanalyse

Im Folgenden wurde überprüft, ob eine Metaanalyse durchgeführt werden konnte. Voraussetzung dafür war eine Anzahl von über fünf Studien pro Referenzdaten-Kategorie („Referenztag[e]“ und „Referenzgruppe[n]“) und pro Spezies für einen zu vergleichenden Zeitpunkt (z. B. der erste postoperative Tag) bzw. eine zu vergleichende Phase (z. B. die chronische Phase eines Krankheitsmodells)

innerhalb der methodischen Kategorien (MYUNG, 2023). Andernfalls wurden Effektstärken und 95% Konfidenzintervalle kalkuliert und diese anschließend graphisch und tabellarisch dargestellt. Durch die Berechnung der Effektstärken wurde eine Vergleichbarkeit zwischen den experimentellen Modellen und Interventionen unabhängig von der Stichprobengröße ermöglicht.

1.2. Experimentelle Tiermodelle und Interventionen

Alle inkludierten Experimente wurden laut unseren Kooperationspartnern in Übereinstimmung mit der deutschen Gesetzgebung und der EU-Richtlinie 2010/63/EU durchgeführt und von den örtlichen Behörden genehmigt. Entsprechende Referenznummern der Tierversuchsgenehmigungen und zuständige Behörden können der Tabelle 1 entnommen werden.

Grundsätzlich werden bei der folgenden Beschreibung der einbezogenen Tiermodelle und Interventionen die experimentellen Abläufe innerhalb der für die Analyse relevanten Gruppen aufgezeigt. Zusätzliche methodische Informationen zu den einzelnen Tiermodellen und Interventionen sowie zu den telemetrischen Aufzeichnungen können der Tabelle 2 und Tabelle 4 entnommen werden. An allen Tagen mit telemetrischen Aktivitätserfassungen, erfolgten Erfassungen der klinischen Scores. Somit waren innerhalb der verwendeten Datensätze für alle Experimentaltage Daten für beide analysierten Parameter („Telemetrie“; „Klinischer Score“) verfügbar. Im Folgenden werden die Modelle und Interventionen entsprechend der oben erläuterten methodischen Kategorien „Operative Intervention“, „Operative Intervention und Krankheitsmodell“, „Krankheitsmodell“ und „Experimentelle Technik“ aufgeführt:

Operative Intervention:

Intraperitoneale Transmitterimplantation bei Mäusen (TALBOT et al., 2022):

In dieser Studie wurde bei weiblichen C57BL/6J Mäusen unter Allgemeinanästhesie ein intraperitonealer (i.p.) Transmitter implantiert. Vor der Implantation erhielten die Mäuse der Metamizol-Gruppe subkutan 200 mg/kg Metamizol (Novaminsulfon 500 mg Lichtenstein, Zentiva Pharma GmbH, Frankfurt am Main, Deutschland) und anschließend bis zum dritten

postoperativen Tag 200 mg/kg Metamizol oral über das Trinkwasser. Die Tiere der Carprofen-Gruppe erhielten präoperativ subkutan (s.c.) 5 mg/kg Carprofen (Rimadyl®, Zoetis Deutschland GmbH, Berlin, Deutschland) und postoperativ bis zum dritten Tag alle zwölf Stunden subkutan 2,5 mg/kg Carprofen. Die telemetrisch erfasste Aktivität der beiden Interventionsgruppen wurde an spezifischen Tagen innerhalb der ersten vier Wochen nach der Implantation über einen Zeitraum von jeweils zwölf Stunden (davon 10 h Dunkelphase und 2 h Hellphase) aufgezeichnet. Als Referenztag wurde der letzte Aufzeichnungstag (Tag 28) genutzt.

Subkutane Transmitterimplantation bei Mäusen:

Bei den weiblichen C57BL/6J Mäusen dieser Studie wurde unter Allgemeinanästhesie ein subkutaner (s.c.) Transmitter implantiert. Vor der Implantation erhielten die Mäuse ab dem Morgen des ersten präoperativen Tages bis zum Morgen des vierten postoperativen Tages Carprofen (Rimadyl® 50 mg/ml, Zoetis Deutschland GmbH, Zieldosis: 25 mg/kg/24 h) oral über das Trinkwasser. Präoperativ erhielten die Tiere zur Schnittlinieninfiltration subkutan 4 mg/kg Bupivacain (Carbostesin, 0,25 %ige Injektionslösung, Aspen Germany GmbH; 1:1 bis 1:4 verdünnt mit isotoner Natriumchlorid-Lösung, B. Braun SE, Melsungen, Deutschland). Am Ende des operativen Eingriffes wurden subkutan körperwarmer Ringer-Laktat-Lösung (B. Braun SE) und 10 mg/kg Carprofen injiziert. Die telemetrisch erfasste Aktivität wurde an spezifischen Tagen innerhalb der ersten drei Wochen nach der Implantation jeweils für die Dunkelphase (12 h) aufgezeichnet. Als Referenztag wurde der letzte Aufzeichnungstag (Tag 21) genutzt. Bei diesen Daten handelt es sich um die Aktivitätsdaten der Dunkelphasen aus der zweiten Studie dieser Dissertation.

Partielle Hepatektomie (PH) bei Ratten (ZIEGLOWSKI et al., 2021):

In der Studie wurden bei männlichen Wistar-Han Ratten, 15 Tage nach subkutaner Transmitterimplantation, einzelne Leberlappen in Allgemeinanästhesie im Rahmen einer Laparotomie reseziert (50 % und 70 % partielle Hepatektomie). Anschließend wurde einmalig sterile Kochsalzlösung (10 ml/kg, s.c.) injiziert. Präoperativ wurde einmalig

Metamizol (Novaminsulfon-ratiopharm® 1 g/2 ml, Ratiopharm GmbH, Ulm, Deutschland) in einer Dosis von 100 mg/kg subkutan verabreicht. Postoperativ wurde bis zum dritten postoperativen Tag Metamizol (Novaminsulfon-ratiopharm® 1 g/2 ml, 400 mg/kg/Tag) oral über gesüßtes Trinkwasser, sowie einmal täglich Cefuroxim (16 mg/kg, s.c.) verabreicht. Die telemetrisch erfasste Aktivität der 50 %- und 70 %-PH-Gruppe wurde an spezifischen Tagen vor (Referenztag) und innerhalb der ersten Woche nach partieller Hepatektomie über einen Zeitraum von jeweils 16 Stunden (davon 12 h Dunkelphase und 4 h Hellphase) aufgezeichnet.

Operative Intervention und Krankheitsmodell:

Pankreaskarzinom bei Mäusen (KUMSTEL et al., 2020):

Bei männlichen C57BL/6J Mäusen dieser Studie wurde ein intraperitonealer Transmitter implantiert. Zwei Wochen nach der Transmitterimplantation wurden bei den Mäusen orthotopisch Pankreaskarzinomzellen im Rahmen einer Laparotomie unter Allgemeinanästhesie injiziert. Carprofen (Rimadyl®, Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) wurde perioperativ subkutan in einer Dosis von 5 mg/kg verabreicht. Postoperativ wurde Metamizol (Ratiopharm, Ulm, Deutschland) oral über das Trinkwasser in einer Dosis von 1250 mg/l angeboten, wobei die Applikation bis zum Versuchsende fortgeführt wurde. Die telemetrisch erfasste Aktivität wurde vor der Tumorzellimplantation (Referenztag), sowie an spezifischen Tagen nach Zellimplantation jeweils für die Dunkelphase (12 h) aufgezeichnet.

Chemisch induziertes Post-Status-Epilepticus-Modell bei Mäusen (BUCHECKER et al., 2023):

Das hier verwendete intrahippocampale Kainat-Modell in Mäusen (IHK) wird als Modell der Temporallappenepilepsie eingesetzt. Es handelt sich um ein chronisches Epilepsiemodell, welches durch einen initialen Status epilepticus (SE) induziert wird. Der SE wird durch die intrahippocampale Injektion von Kainat ausgelöst. Es können insgesamt drei Phasen unterschieden werden: 1) die akute Phase nach der Induktion des SE mit

einhergehenden neurodegenerativen Veränderungen; 2) eine Latenzphase, während der keine Anfallsaktivität bei den Tieren detektierbar ist, aber während der das Gehirn diversen biologischen Prozessen unterliegt, die zur Ausbildung eines übererregbaren neuronalen Netzwerkes beitragen; 3) die chronische Phase, die durch eine hochfrequente elektrographische epileptiforme Aktivität gekennzeichnet ist. Im Rahmen einer Allgemeinanästhesie wurde in dieser Studie bei weiblichen HsdWin:NMRI Mäusen ein subkutaner Transmitter und eine intrazerebrale Elektrode in die rechte CA1-Region des dorsalen Hippocampus implantiert. In dieselbe Gehirnregion wurde zur Induktion eines SE vor der Implantation der Elektrode Kainat (50 nl einer 20 mM Lösung, d. h. 0,21 µg in 50 nl Kochsalzlösung, d. h. 1 nmol, Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland) injiziert (Kainat-SE-Gruppe). Somit erfolgte im Rahmen des operativen Eingriffes die Induktion der Krankheit. Bei der inkludierten Sham-Gruppe wurde hier (zusätzlich zur Transmitterimplantation) vor der Elektrodenimplantation intrazerebral Kochsalzlösung injiziert, während bei Tieren der Kontroll-Gruppe nur ein subkutaner Transmitter implantiert wurde. Meloxicam (Metacam®; Boehringer Ingelheim, Ingelheim am Rhein, Deutschland) wurde 30 min vor dem Anästhesiebeginn, sowie 24 h später in einer Dosis von 5 mg/kg s.c. injiziert. Die telemetrisch erfasste Aktivität der Kontroll-, der Sham- und der Kainat-SE-Gruppe wurde jeweils für die Hell- und Dunkelphase für die ersten 96 h nach dem operativen Eingriff bzw. nach SE-Induktion und für 48 h nach zwei Wochen sowie für 48 h nach vier Wochen aufgezeichnet.

Krankheitsmodell:

Chemisch induziertes Post-Status-Epilepticus-Modell bei Ratten (KOSKA et al., 2019):

Das hier angewendete (Lithium-) Pilocarpin-Modell in Ratten wird ebenfalls als Modell für Temporallappenepilepsie eingesetzt und stellt ein chronisches Epilepsiemodell dar, welches durch den initialen Status epilepticus (SE) induziert wird. Der SE wird hier durch die systemische Injektion von Pilocarpin ausgelöst. Es können dieselben Phasen

unterschieden werden, welche für das IHK-Modell beschrieben wurden. Nach der SE-Induktion zeigen sich nach einer Latenzphase (ohne das Auftreten von Anfällen) in der chronischen Phase spontan wiederkehrende Anfälle. Bei weiblichen Sprague-Dawley Ratten wurde in dieser Studie ein subkutaner Transmitter und eine Elektrode in den rechten Gyrus dentatus des Hippocampus implantiert. Nach einer ca. 18-tägigen Erholung wurde ein SE durch fraktionierte Lithium-Pilocarpin-Injektionen bei den Tieren der Pilocarpin-SE-Gruppe induziert. Nach 90 Minuten wurde der SE durch die Injektion von Phenobarbital (25 mg/kg, i.p.) und drei Diazepam-Injektionen (10 mg/kg, i.p., wiederholt alle 15 Minuten, Ratiopharm, Ulm, Deutschland) beendet. Den Ratten wurde nach dem SE für zwei Tage subkutan Ringer-Lactat-Lösung injiziert und sie wurden mit Babybrei gefüttert, bis sie wieder eigenständig pelletiertes Futter aufnahmen. Zusätzlich wurde eine Sham-Gruppe ohne SE-Induktion inkludiert. Die telemetrisch erfasste Aktivität der Sham- und Pilocarpin-SE-Gruppe wurde jeweils für die Hell- und Dunkelphase vor SE-Induktion (Referenztage), am Ende der ersten Woche (frühe Post-Insult-Phase), sowie während der vierten (Latenzphase) und neunten Woche (chronische Phase) nach SE-Induktion aufgezeichnet.

Elektrisch induziertes Post-Status-Epilepticus-Modell bei Ratten (SEIFFERT et al., 2019):

Auch dieses chronische Epilepsiemodell wird durch einen initialen Status epilepticus (SE) induziert und wird als Modell der Temporallappenepilepsie genutzt. Der SE wird hier nicht pharmakologisch, sondern durch die elektrische Stimulation der basolateralen Amygdala induziert. Als Konsequenz treten entsprechende neurodegenerative Veränderungen auf. Es können dieselben Phasen unterschieden werden, welche für die anderen chronischen Post-Status-Epilepticus-Modelle beschrieben wurden. Nach dem zerebralen Insult folgt eine Latenzphase, die in eine chronische Phase mit Epilepsiemanifestation über geht. Bei weiblichen Sprague-Dawley Ratten dieser Studie wurde ein subkutaner Transmitter und eine Elektrode in die basolaterale Amygdala implantiert. Nach einer ca. sechswöchigen Erholung wurde bei den Tieren der SE-Gruppe durch elektrische

Stimulation über die implantierte Elektrode ein SE induziert. Der SE wurde vier Stunden nach der elektrischen Induktion durch intraperitoneale Diazepam-Injektionen (10 mg/kg, Ratiopharm, Ulm, Deutschland) beendet. Tiere, bei denen eine Stunde nach Diazepam-Anwendung noch eine Anfallsaktivität im Elektroenzephalogramm (EEG) erfasst wurde, erhielten eine zweite Diazepam-Injektion. Den Ratten der SE-Gruppe wurde am Tag des SE subkutan und intraperitoneal Ringer-Lactat-Lösung (10 ml/kg), sowie mehrmals in den folgenden zwei Tagen subkutan Ringer-Lactat-Lösung (5 ml/kg) injiziert. Die Ratten wurden ebenfalls mit Babybrei gefüttert, bis sie wieder eigenständig pelletiertes Futter aufnahmen. Zusätzlich wurde eine Sham-Gruppe ohne SE-Induktion inkludiert. Die telemetrisch erfasste Aktivität der Sham- und der SE-Gruppe wurde jeweils für die Hell- und Dunkelfase vor SE-Induktion (Referenztage), am Ende der ersten Woche (frühe Post-Insult-Phase), sowie während der vierten (Latenzphase) und neunten Woche (chronische Phase) nach SE-Induktion aufgezeichnet.

Amygdala-Kindling-Modell bei Ratten (MÖLLER et al., 2019):

In dieser Studie wurde bei weiblichen Sprague-Dawley Ratten ein subkutaner Transmitter (Kontroll-, Sham und Kindling-Gruppe) und eine Tiefenstimulationselektrode in die basolaterale Amygdala (Sham und Kindling-Gruppe) implantiert. Nach einer ca. 17-tägigen Erholung wurden bei den Tieren der Kindling-Gruppe durch wiederholte elektrische Stimulationen (Kindling) Anfälle induziert. Hierdurch kam es zu einer progressiven Erhöhung der Erregbarkeit des Gehirns und der Anfallsstärke. So treten in diesem Modell zu Beginn der Stimulationen meistens nur fokale Anfälle auf, welche später in generalisierte Anfälle übergehen. Zu Beginn des Amygdala-Kindlings wurde die initiale Nachentladungsschwelle (Afterdischarge threshold (ADT); EEG-Änderungen: Frequenz mind. ein Hertz, Amplitude mind. doppelte Höhe der Basallinie des EEGs) bestimmt. Einen Tag nach der ADT-Bestimmung wurde mit dem Amygdala-Kindling fortgefahren, wobei einmal täglich (13:00-15:00 Uhr) an fünf Tagen pro Woche mit einer Stromstärke von 580 μ A stimuliert wurde. Die telemetrisch erfasste Aktivität der Kontroll-, Sham- und Kindling-Gruppe wurde jeweils

für die Hell- und Dunkelphase vor Beginn des Amygdala-Kindlings (Referenztag), zu spezifischen Zeitpunkten während des Auftretens fokaler Anfälle, sowie während des Auftretens generalisierter Anfälle aufgezeichnet. Das Kindling-Modell stellt ebenfalls ein chronisches Modell der Temporallappenepilepsie dar. Die wiederholte Induktion der Anfälle stellen in diesem Modell eine Besonderheit dar. Bei der Anwendung gängiger Protokolle treten i.d.R. keine spontanen Anfälle auf.

Intrakranielles Gliom bei Ratten (Humaner Endpunkt) (HELGERS et al., 2020):

In dieser Studie wurde bei männlichen BDIX Ratten ein subkutaner Transmitter implantiert. Vier Wochen nach der Transmitterimplantation wurden Ratten-Glioblastom-Zellen der Linie BT4Ca, im Rahmen einer weiteren Allgemeinanästhesie, stereotaktisch in den rechten frontalen Cortex der Ratten injiziert. Carprofen (Rimadyl®, Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) wurde intraoperativ subkutan in einer Dosis von 5 mg/kg und postoperativ (für zwei Tage) subkutan in einer Dosis von 2,5 mg/kg verabreicht. Im Verlauf der resultierenden intrakraniellen Glioblastom-Entwicklung wurden täglich Körpergewichte und klinische Scores überprüft, um die Tiere beim Erreichen eines humanen Endpunktes (>20 % Gewichtsreduktion, schlechtes Allgemeinbefinden) rechtzeitig zu euthanasieren. Die transmitterimplantierten Ratten überlebten im Mittel 14 Tage (Range: 13 bis 16 Tage) nach intrakranieller Tumorzellimplantation. Die telemetrisch erfasste Aktivität wurde vor der Zellimplantation (Referenztag: ca. Tag -17 vor Erreichen eines humanen Endpunktes), sowie täglich während den letzten acht Tagen vor dem Erreichen eines humanen Endpunktes aufgezeichnet. Die analysierten telemetrisch erfassten Aktivitätsdaten umfassten für jeden Aufzeichnungstag Mittelwerte aus jeweils acht Stunden der Dunkelphase.

*Experimentelle Technik:***Nicht-kabelgebundene vs. kabelgebundene Aufzeichnungen bei Ratten**
(AULEHNER et al., 2022a):

Bei kabelgebundenen Aufzeichnungen (z. B. zur Erfassung von elektroenzephalographischen Signalen) erfolgt die Datenübertragung der untersuchten Parameter über Kabelverbindungen zwischen den bei Tieren implantierten Elektroden und einem externen Aufzeichnungsgerät. Hier könnten sich eventuell auftretende Zugkräfte z. B. auf das Ruhe- bzw. Schlafverhalten der betroffenen Tiere auswirken. Ziel der Studie war es den Einfluss der experimentellen Technik der kabelgebundenen Aufzeichnung auf Aktivitäts-, Ruhe- und Schlafmuster und somit auf das Wohlbefinden von Sprague-Dawley Ratten zu beurteilen. Mögliche Alternativen stellen kabellose Telemetriesysteme dar. In dieser Studie wurden die verschiedenen erfassten Parameter einer nicht-kabelgebundenen und einer kabelgebundenen Experimentalgruppe miteinander verglichen. Bei weiblichen Sprague-Dawley Ratten wurde hierzu ein subkutaner Transmitter und eine kranielle Oberflächenschraubenelektrode implantiert. Nach einer ca. vierwöchigen Erholung wurden die Tiere in individuellen modifizierten Plexiglaskäfigen gehalten, um während der zweiwöchigen Experimentalphase elektroenzephalographische, elektromyographische und Aktivitätsaufzeichnungen durchzuführen. Bei den Tieren der kabelgebundenen-Gruppe wurde zusätzlich ein Kabel mit der kraniellen Elektrode der Tiere verbunden. Das Kabel wurde wiederum an ein Swivel-System angeschlossen, sodass eine freie Bewegung der Tiere im Käfig ermöglicht wurde. Da es sich bei allen Tieren um transmitterimplantierte Tiere handelte, dienten die Kabel nicht der Aufzeichnung der verschiedenen Parameter. Stattdessen wurde so lediglich die experimentelle Situation bei einer kabelgebundenen Aufzeichnung der Parameter imitiert. Die telemetrisch erfasste Aktivität der nicht-kabelgebundenen- und kabelgebundenen-Gruppe wurde jeweils für die Hell- und Dunkelphase vor Beginn der experimentellen Aufzeichnungen (Referenztage) und an neun Tagen während der Experimentalphase aufgezeichnet. Die Messungen an

den Referenztagen erfolgten bei allen Tieren im bisherigen Heimkäfig der Tiere und somit vor dem Transfer in die Plexiglaskäfige.

Tabelle 1: Übersicht zu den in den Aktivitätsanalysen berücksichtigten Studien inklusive rechtlicher Aspekte sowie zugrundeliegender Förderungen

Modell/ Intervention	Referenz	Tierversuchsgenehmigung*	Förderung[en]
Intraperitoneale Transmitterimplantation (Maus)	https://doi.org/10.3389/fvets.2022.937711 (TALBOT et al., 2022)	Lizenznummer 15/1905 (Niedersächsisches Landesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit)	DFG (HA6483/1-2, BL953/10-1 und 10-2, BL953/11-1 und 11-2; FOR 2591)
Subkutane Transmitterimplantation (Maus)	Noch unpubliziert (siehe zweite Studie dieser Dissertation)	Aktenzeichen 55.2-2532.Vet_02-19-157 (Regierung von Oberbayern)	DFG (PO681/9-3; FOR 2591)
Partielle Hepatektomie (PH) (Ratte)	https://doi.org/10.1371/journal.pone.0255175 (ZIEGLOWSKI et al., 2021) (telemetrisch erfasste Aktivität unpubliziert)	Referenznummer 84–02.04.2017.A304 (Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz Recklinghausen, Nordrhein-Westfalen)	DFG (TO 542/5-1; FOR 2591)
Pankreaskarzinom (Maus)	https://doi.org/10.1016/j.jare.2019.09.002 (KUMSTEL et al., 2020)	Aktenzeichen 7221.3-1-062/16 (Landesamt für Landwirtschaft, Lebensmittelsicherheit und Fischerei, Mecklenburg-Vorpommern)	DFG (ZE 712/1-1 und VO 450/15-1; FOR 2591)
Chemisch induziertes Post-Status-Epilepticus-Modell (Maus)	https://doi.org/10.1159/000522156 (BUHECKER et al., 2023)	Aktenzeichen 55.2-2532.Vet_02-17-86 (Regierung von Oberbayern)	DFG (PO681/9-2 und BL953/11-2; FOR 2591)

Chemisch induziertes Post-Status- Epilepticus-Modell (Ratte)	https://doi.org/10.1111/epi.16330 (KOSKA et al., 2019)	Aktenzeichen 55.2-1-54-2532-105-16 (Regierung von Oberbayern)	DFG (PO681/9-1; FOR 2591)
Elektrisch induziertes Post-Status- Epilepticus-Modell (Ratte)	https://doi.org/10.1111/epi.16095 (SEIFFERT et al., 2019)	Aktenzeichen 55.2-1-54-2532-105-2016 und 55.2-1-54-2532-011-2015 (Regierung von Oberbayern)	DFG (PO681/9-1; FOR 2591)
Amygdala- Kindling-Modell (Ratte)	https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2018.11.034 (MÖLLER et al., 2019)	Aktenzeichen 55.2-1-54-2532-105-16 und 55.2-1-54-2531-119-14 (Regierung von Oberbayern)	DFG (PO681/9-1; FOR 2591)
Intrakranielles Gliom (Ratte)	https://doi.org/10.1038/s41598-020-65783-7 (HELGERS et al., 2020)	genehmigt (Niedersächsisches Landesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit)	DFG (SCHW1176/7-1; FOR 2591)
Nicht-kabelgebundene vs. kabelgebundene Aufzeichnungen (Ratte)	https://doi.org/10.1038/s41598-022-06307-3 (AULEHNER et al., 2022a)	Aktenzeichen 55.2-2532.Vet_02-16-105 (Regierung von Oberbayern)	DFG (PO681/9-1 und 9-2; FOR 2591)
<i>DFG = Deutsche Forschungsgemeinschaft; FOR = Forschungsgruppe</i> <i>*Alle Experimente wurden in Übereinstimmung mit der EU-Richtlinie 2010/63/EU durchgeführt</i>			

Tabelle 2: Übersicht zu methodischen Details der verwendeten Tiere, zur Haltung und Pflege der Tiere und zu den Kategorien der Referenzdaten der in den Aktivitätsanalysen berücksichtigten Studien

Modell/ Inter- vention	Spezies Stamm Geschlecht	Haltung und Pflege - Käfigtyp - Gruppen- vs. Einzelhaltung - Art des <i>Enrichments</i> - Futter und Wasser (Art und Zugang) - Temperatur (Bereich) - Luftfeuchtigkeit (Bereich) - Hell-Dunkel-Zyklus (Stunden) - Art des Handlings - Geschlecht des involvierten Personals (z. B. Tierpfleger und Experimentatoren)	Kategorie[en] der Referenzdaten
Intraperitoneale Transmitterimplantation	Maus C57BL/6J Weiblich	Macrolon Typ II Käfig (Tecniplast) Paarhaltung Nistmaterial Standard Nagerfutter (1324, Altromin) und autoklaviertes destilliertes Wasser ad libitum 22 ± 1 °C 50-60 % 14:10 h Licht-/Dunkelzyklus Schwanz-Handling Weiblich	Referenztag
Subkutane Transmitterimplantation	Maus C57BL/6J Weiblich	Eurostandard Typ III H Käfig (Tecniplast Deutschland GmbH) Einzelhaltung Nestlet, Tunnel Futter (V1534-0000, R/M Haltung, ssniff Spezialdiäten GmbH) und Leitungswasser ad libitum 22 ± 2 °C 55 ± 10 % 12:12 h Licht/Dunkel Zyklus Tunnel-Handling Beide Geschlechter	Referenztag
Partielle Hepatektomie	Ratte Wistar-Han Männlich	Typ 2000 Filter-top-Käfig (Tecniplast) Gruppenhaltung Nestlet, Tunnel Standardfutter (V1534-300, ssniff Spezialdiäten GmbH) und gesüßtes (Ja! Süßstoff flüssig, Rio Mints & Sweeteners B.V.) Trinkwasser ad libitum 22°C ± 2 °C 30-70 % 12:12 h Licht/Dunkel-Zyklus Tunnel-Handling Weiblich	Referenztag

Pankreaskarzinom	Maus C57BL/6J Männlich	Typ III Käfig Einzelhaltung Nistmaterial, Papierrolle, Holzstab Futter und Leitungswasser ad libitum 21 ± 2 °C 12:12 h Licht-/Dunkelzyklus 60 ± 20 % Schwanz-Handling Weiblich	Referenztag
Chemisch induziertes Post-Status-Epilepticus-Modell	Maus NMRI Weiblich	Macrolon Typ III Käfig (Zoonlab GmbH) Einzelhaltung Nestlet, Haus Futter (R/M Haltung, ssniff Spezialdiäten GmbH) und Leitungswasser ad libitum 22 ± 2 °C 55 ± 10 % 12:12 h Licht/Dunkel Zyklus Schwanz-Handling Beide Geschlechter	Referenzgruppe (Kontrolle) Referenzgruppe (Sham)
Chemisch induziertes Post-Status-Epilepticus-Modell	Ratte Sprague-Dawley Weiblich	Macrolon Typ III Käfig (Ehret GmbH) Einzelhaltung Enviro Dri® Futter (ssniff Spezialdiäten GmbH) und Leitungswasser ad libitum 22-24 °C 45-65 % 12:12 h Licht/Dunkel-Zyklus Keine Angabe Beide Geschlechter	Referenztage Referenzgruppe (Sham)
Elektrisch induziertes Post-Status-Epilepticus-Modell	Ratte Sprague-Dawley Weiblich	Macrolon Typ III Käfig Einzelhaltung Enviro Dri® Futter (R/M Haltung, ssniff Spezialdiäten GmbH) und Leitungswasser ad libitum 20-24 °C 45-65% 12:12 h Hell-Dunkel-Zyklus Keine Angabe Beide Geschlechter	Referenztage Referenzgruppe (Sham)
Amygdala-Kindling-Modell	Ratte Sprague-Dawley Weiblich	Macrolon Typ III Käfig (Ehret GmbH) Einzelhaltung Enviro Dri® Futter (R/M Haltung, ssniff Spezialdiäten GmbH) und Leitungswasser ad libitum 20-24 °C 45-65% 12:12 h Licht/Dunkel-Zyklus Keine Angabe Beide Geschlechter	Referenztage Referenzgruppe (Kontrolle) Referenzgruppe (Sham)

Intrakranielles Gliom	Ratte BDIX Männlich	Macrolon Typ IV Käfig Gruppenhaltung (n = 2-4) Enviro Dri® Futter (1324 TPF, Altromin Spezialfutter GmbH&Co. KG) und Leitungswasser ad libitum 22 ± 2 °C 55 ± 10 % 14:10 h Licht/Dunkel-Zyklus Keine Angabe Beide Geschlechter	Referenztag
Nicht-kabelgebundene vs. kabelgebundene Aufzeichnungen	Ratte Sprague-Dawley Weiblich	Macrolon Typ III Käfig (Ehret GmbH) Einzelhaltung Enviro Dri® Pelletiertes Futter (ssniff Spezialdiäten GmbH) und Leitungswasser ad libitum 22-24 °C 45-65 % 12:12 h Hell-Dunkel-Zyklus Keine Angabe Beide Geschlechter	Referenztage

Tabelle 3: Übersicht zu methodischen Details der klinischen Scoring-Systeme der in den Aktivitätsanalysen berücksichtigten Studien

Modell/ Intervention	Parameter innerhalb der klinischen Scoring-Systeme, welche zur Identifikation von Aktivitätsänderungen herangezogen wurden	Schwellenwert für aktivitäts-assoziiertes Scoring
Intraperitoneale Transmitter-implantation (Maus)	Aktivität: 4 bis 5 Weniger aktiv 6 Kaum aktiv 6+ Lethargisch	Score ≥ 4 für reduzierte Aktivität
Subkutane Transmitterimplantation (Maus)	Verhalten: 1 Verminderte Reaktionen, eingeschränkte oder überhöhte Aktivität 2 Kauerhaltung, teilweises Absondern von der Gruppe 3 Apathisch, keine Reaktion o. Aggressivität bei Handling, Isolation, Auftreten stereotyper Verhaltensweisen Motorik: 1 Bewegt sich reduziert o. übermäßig, Auftreten veränderter Bewegungsmuster 2 Stark eingeschränkte Bewegung, Vorliegen von Lähmungen von max. einer Extremität 3 Völlige Bewegungslosigkeit	Score ≥ 1 in einer der angegebenen Kategorien (Direktionalität wurde durch einen Vermerk angegeben)

Partielle Hepatektomie (Ratte)	Spontanes Verhalten und Bewegungsbereitschaft: 1: geringfügige Abweichungen vom Normalverhalten; Schutzhaltung der operierten Gliedmaße beim Rearing 5: ungewöhnliches Verhalten; motorische Auffälligkeiten (Stelzengang, Schutzhaltung der operierten Gliedmaße im Gang); verminderte Bewegungsbereitschaft (nur nach Impuls) 10: Isolation; Apathie; stark verminderte Gehbereitschaft; Verhaltensstereotypen/Aggressivität; Koordinationsstörungen 20: Schmerzgeräusch beim Greifen; Lethargie; keine Bewegungsbereitschaft; Automutilation	Score ≥ 1 für reduzierte Aktivität
Pankreaskarzinom (Maus)	III. Spontanes Verhalten: 2: III-a das Tier ist passiv oder überaktiv 4: III-b ausgeprägte Apathie, Hyperkinetik oder Isolation IV. Fluchtverhalten nach Kontakt: 2: IV-a das Tier ist passiv oder überaktiv 5: IV-b ausgeprägte Apathie oder Hyperkinetik	Score ≥ 2 in einer der angegebenen Kategorien (Direktionalität wurde durch einen Vermerk angegeben, wobei bei den zur Verfügung gestellten Daten lediglich Reduktionen festgestellt wurden)
Chemisch induziertes Post-Status-Epilepticus-Modell (Maus)	Verhalten: 1 Verminderte Reaktionen, eingeschränkte oder überhöhte Aktivität 2 Kauerhaltung, teilweises Absondern von der Gruppe 3 Apathisch, keine Reaktion o. Aggressivität bei Handling, Isolation, Auftreten stereotyper Verhaltensweisen Motorik: 1 Bewegt sich reduziert o. übermäßig, Auftreten veränderter Bewegungsmuster 2 Stark eingeschränkte Bewegung, Vorliegen von Lähmungen an einzelnen Extremitäten 3 Völlige Bewegungslosigkeit	Score ≥ 1 in einer der angegebenen Kategorien (Direktionalität wurde durch einen Vermerk angegeben, wobei bei den zur Verfügung gestellten Daten lediglich Reduktionen festgestellt wurden)

Chemisch und elektrisch induziertes Post-Status-Epilepticus-Modell (Ratte)	Verhalten: 1 Verminderte Reaktionen, eingeschränkte oder überhöhte Aktivität 2 Kauerhaltung, teilweises Absondern von der Gruppe 3 Apathisch, keine Reaktion o. Aggressivität bei Handling, Isolation, Auftreten stereotyper Verhaltensweisen Motorik: 1 Bewegt sich reduziert o. übermäßig, Auftreten veränderter Bewegungsmuster 2 Stark eingeschränkte Bewegung, Vorliegen von Lähmungen an einzelnen Extremitäten 3 Völlige Bewegungslosigkeit	Score ≥ 1 in einer der angegebenen Kategorien
Amygdala-Kindling-Modell (Ratte)	Verhalten: 1 Verminderte Reaktionen, eingeschränkte oder überhöhte Aktivität 2 Kauerhaltung, teilweises Absondern von der Gruppe 3 Apathisch, keine Reaktion o. Aggressivität bei Handling, Isolation, Auftreten stereotyper Verhaltensweisen Motorik: 1 Bewegt sich reduziert o. übermäßig, Auftreten veränderter Bewegungsmuster 2 Stark eingeschränkte Bewegung, Vorliegen von Lähmungen an einzelnen Extremitäten oder Krämpfe 3 Völlige Bewegungslosigkeit	Score ≥ 1 in einer der angegebenen Kategorien
Intrakranielles Gliom (Ratte)	2 aktiv mit einigen Unterbrechungen der Aktivität; Erkundungsverhalten 3 längerer Inaktivität, begrenztes Erkundungsverhalten auf äußere Reize, intakter Muskeltonus 4 Ataxie, kein Erkundungsverhalten, stark eingeschränkte Reaktion auf äußere Reize, verminderter Muskeltonus, Kauerhaltung, gestäubtes Fell, verzögerter Stellreflex 5 kein Stellreflex, prämortales Stadium.	Score ≥ 2 für reduzierte Aktivität

Nicht-kabelgebundene vs. kabelgebundene Aufzeichnungen (Ratte)	Verhalten: 1 Verminderte Reaktionen, eingeschränkte oder überhöhte Aktivität 2 Kauerhaltung, teilweises Absondern von der Gruppe 3 Apathisch, keine Reaktion o. Aggressivität bei Handling, Isolation, Auftreten stereotyper Verhaltensweisen Motorik: 1 Bewegt sich reduziert o. übermäßig, Auftreten veränderter Bewegungsmuster 2 Stark eingeschränkte Bewegung, Vorliegen von Lähmungen an einzelnen Extremitäten 3 Völlige Bewegungslosigkeit	Score ≥ 1 in einer der angegebenen Kategorien
--	--	--

Tabelle 4: Übersicht zu methodischen Details der Telemetrieaufzeichnungen der in den Aktivitätsanalysen berücksichtigten Studien

Modell/ Intervention	Implantationsstelle	Transmittertyp	Software - Aufzeichnung - Analyse	Intervention/Ereignis (an Tag 0) Experimentaltage Referenztag[e] (wenn verfügbar)
Intraperitoneale Transmitterimplantation (Maus)	i.p.	ETA-F10 (Data Sciences International, St Paul, MN, USA)	Ponemah v. 5.20 Ponemah v. 5.20, Data Sciences International, USA	Implantation des Senders Tag 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 14, 28 Referenztag: Tag 28
Subkutane Transmitterimplantation (Maus)	s.c.	ETA-F10 (Data Sciences International, St Paul, MN, USA)	Ponemah v. 5.20 Ponemah v. 6.60, Data Sciences International, USA	Implantation des Senders Tag 0, 1, 2, 3, 7, 14, 21 Referenztag: Tag 21

Partielle Hepatektomie (Ratte)	s.c.	HD-S11 (Data Sciences International, St Paul, MN, USA)	Ponemah v. 6.30 Ponemah v. 6.4, Data Sciences International, USA	Partielle Hepatektomie (PH) Tag -2, 1, 2, 3, 6 Referenztag: Tag -2
Pankreaskarzinom (Maus)	i.p.	ETA-F10 (Data Sciences International, St Paul, MN, USA)	Ponemah v. 5.2, Data Sciences International, USA Excel (Microsoft, Redmont, USA)	Tumorzellinjektion Tag -1, 0, 1, 2, 3, 4, 18, 34 Referenztag: Tag -1
Chemisch induziertes Post-Status-Epilepticus-Modell (Maus)*	s.c.	HD-X02 (Data Sciences International, St Paul, MN, USA)	Ponemah v. 5.20 Ponemah v. 6.41, Data Sciences International, USA	Chirurgische Implantation einer intrazerebralen Elektrode, intrazerebrale Injektion von Kainat (SE-Induktion) oder Kochsalzlösung sowie subkutane Implantation eines Telemetriesenders Tag 1, 2, 3, 4 („post SE“), 14 bis 15 („2 Wochen post SE“), 28 bis 29 („4 Wochen post SE“)
Chemisch induziertes Post-Status-Epilepticus-Modell (Ratte)	s.c.	HD-X02 (Data Sciences International, St Paul, MN, USA)	Ponemah v. 5.20 Ponemah v. 6.41, Data Sciences International, USA	Chemische SE-Induktion (Pilocarpin) Tag -3, -2, 5 bis 6 („früh post Insult“), 26 bis 27 („Latenz“), 63 bis 64 („Chronisch“) Referenztage: Mittelwert aus Tag -3 und -2

Elektrisch induziertes Post-Status-Epilepticus-Modell (Ratte)	s.c.	HD-X02 (Data Sciences International, St Paul, MN, USA)	Ponemah v. 5.20 Ponemah v. 6.41, Data Sciences International, USA	Elektrische SE-Induktion Tag -2, -1, 5 bis 6 (“früh post Insult”), 26 bis 27 (“Latenz”), 61 bis 62 (“Chronisch”) Referenztage: Mittelwert aus Tag -2 und -1
Amygdala-Kindling-Modell (Ratte)	s.c.	ETA-F10 (Data Sciences International, St Paul, MN, USA)	Ponemah v. 5.20 Ponemah v. 6.30, Data Sciences International, USA	Beginn des Amygdala-Kindling Tag -3, -2, 1 (nur Dunkelfase), 2, 3, 14 (nur Dunkelfase), 15, 16 Referenztage: Mittelwert aus Tag -3 und -2
Intrakranielles Gliom (Ratte)	s.c.	ETA-F10 (Data Sciences International, St Paul, MN, USA)	Ponemah v. 5.2 Ponemah v. 6.41, Data Sciences International, USA	Erreichen des humanen Endpunktes Tag -8, -7, -6, -5, -4, -3, -2, -1, 0 Referenztage: ca. Tag -17 (aufgrund der unterschiedlichen Endpunkte/Überlebenszeiten)
Nicht-kabelgebundene vs. kabelgebundene Aufzeichnungen (Ratte)	s.c.	HD-X02 (Data Sciences International, St Paul, MN, USA)	Ponemah v. 5.20 Ponemah v. 6.41, Data Sciences International, USA	Beginn der nicht-kabelgebundenen/kabelgebundenen Aufzeichnungsphase Tag -2, -1, 0, 1, 2, 5, 6, 7, 11, 12, 13 Referenztage: Mittelwert aus Tag -2 und -1

i.p. = intra peritoneal; *s.c.* = subkutan; SE = Status epilepticus
 * In diesem Modell bestand Zugriff auf die Rohdaten (einschließlich der individuellen Tage für die „post SE“-Phase); in der ursprünglichen Publikation wurden die Mittelwerte pro Phase berichtet

1.3. Auswertung und Statistik

Die in Excel zusammengefassten Aktivitätsdaten aller inkludierter Datensätze wurden mit dem Programm Microsoft® Excel® für Microsoft 365 MSO (Version 2503 Build 16.0.18623.20266, 64 Bit) verarbeitet.

Für die telemetrisch erfasste Aktivität wurde das Effektstärkenmaß Cohen's d mit einer Hedges Korrektur (Hedges' g) inklusive der 95 % Konfidenzintervalle in Excel kalkuliert (LEE, 2016; HARRER et al., 2021).

Hierfür wurden folgende Schritte für die verschiedenen Vergleichszeitpunkte berechnet (Beispiel: Vergleich einer Experimentalgruppe mit einer Referenzgruppe):

- Aktivitätsmittelwerte der Experimental- (M1) und Referenzgruppe (M2)
- Stichprobengröße der Experimental- (n_1) und Referenzgruppe (n_2), wobei n_1 und n_2 addiert die gesamte Stichprobengröße (n) ergeben
- Standardabweichung der Experimental- (SD_1) und Referenzgruppe (SD_2)
- Gepoolte Standardabweichung:
$$\sqrt{\frac{(n_1-1) \times SD_1^2 + (n_2-1) \times SD_2^2}{n_1+n_2-2}}$$
- Cohen's d:
$$\frac{M1-M2}{\text{gepoolte } SD}$$
- Hedges' g:
$$d \times \left(1 - \frac{3}{4n-9}\right)$$

Aufgrund geringer Stichprobengrößen in den berücksichtigten Datensätzen, wurde auf den Cohen's d die Hedges Korrektur (Hedges' g) angewendet (HARRER et al., 2021). Die oben aufgeführten Formeln wurden äquivalent für die Vergleiche mit Referenztagen angewendet.

Die 95 % Konfidenzintervalle wurden ebenfalls in Excel basierend auf dem Standardfehler und dem t-Wert (aufgrund geringer Stichprobengrößen) kalkuliert:

- Standardfehler:
$$\sqrt{\frac{n_1+n_2}{n_1 n_2} + \frac{g^2}{2(n_1+n_2)}}$$
- Freiheitsgrade: $n_1 + n_2 - 2$
- t-Wert: T.INV.2S(0,05; „Freiheitsgrade“)

Die verwendete Formel wurde zur Berechnung zweiseitiger Quantile der *Student-t*-Verteilung verwendet

- Untere Grenze des 95 % Konfidenzintervalls:
 $g - \text{„t-Wert“} \times \text{„Standardfehler“}$
- Obere Grenze des 95 % Konfidenzintervalls:
 $g + \text{„t-Wert“} \times \text{„Standardfehler“}$

Die Effektstärke Cohen's h , inklusive der 95 % Konfidenzintervalle, wurde für die binär umcodierten klinischen Score-Daten in R Version 4.3.3 (R CORE TEAM, 2024) mit dem R-Paket „effectsize“ kalkuliert (BEN-SHACHAR et al., 2020), wobei der in den Exceltabellen verwendete Codewert „1“ für eine Veränderung stand und „0“ für keine Veränderung stand. Hierzu wurde der Excel-Tabelle beispielsweise entnommen, wieviele Tiere der Experimental- bzw. Referenzgruppe jeweils einen aktivitäts-assoziierten klinischen Score aufwiesen und wieviele Tiere keinen entsprechenden Score aufwiesen. Die Effektstärke Cohen's h wurde dann unter Verwendung des Unterschiedes der Proportionen der Aktivitätsänderungen von den Experimental- bzw. Referenzgruppen, sowie äquivalent für die Vergleiche mit Referenztagen, kalkuliert. Das zur Effektstärken- und Konfidenzintervallkalkulation verwendete R-Skript kann dem Kapitel X 8. entnommen werden.

Die Ergebnisse aller Effektstärkenkalkulationen inklusive der 95 % Konfidenzintervalle (CI) wurden anschließend zur graphischen Darstellung in das Programm GraphPad Prism (Prism 10 für Windows 64-bit, Version 10.4.1 (627)) übertragen.

2. Validierung eines kamerabasierten Heimkäfigmonitoring-systems

2.1. Studiendesign

Im Rahmen der Forschungsgruppe „*Severity Assessment in Animal-Based Research*“ (DFG-FOR2591, 2025) wurde eine multizentrische Studie geplant, um das Smart-Homecage-System zu validieren. In der Forschungsgruppe wurde jeweils ein Studienplan für alle Arbeitsgruppen mit Rattenmodellen (voraussichtlich drei Institute/Standorte) und einer für alle Arbeitsgruppen mit Mausmodellen (voraussichtlich vier Institute/Standorte, inkl. LMU München) erarbeitet. Die Durchführung der jeweiligen Studien fand bzw. findet zeitlich unabhängig voneinander statt.

Alle Arbeitsgruppen (AGs), die Mausmodelle im Rahmen der multizentrischen Studie verwendeten, implantierten bei je sechs weiblichen Mäusen einen Radiotelemetriesender. Auf einen siebentägigen Zeitraum zur Messung von Basalwerten (*Baseline*) folgte die Transmitterimplantation (an Tag 0). Im Anschluss folgte eine mindestens vierzehntägige Monitoringphase. Die Haltung der Tiere erfolgte zu allen Zeitpunkten im Smart-Homecage-System. Die Mäuse wurden während der Experimentalphasen einzeln gehalten, um jeden Parameter individuell für das Einzeltier zu erfassen. Jedes einzeln pro Smart-Homecage-System gehaltene Tier stellte eine experimentelle Einheit dar. Neben den telemetrischen Aufzeichnungen sowie den Kameraaufzeichnungen mit den Smart-Homecage-Systemen, wurden folgende Parameter an ausgewählten Zeitpunkten während der *Baseline* und postoperativen Monitoringphase erfasst: Körpergewicht, Rektaltemperatur, Nestbauverhalten, fäkale Kortikosteronmetabolite, *Mouse Grimace Scale*, Neuro-Score und zusätzlich, zu dem internen klinischen Score der jeweiligen Arbeitsgruppe, ein harmonisierter (DFG-FOR2591, 2025) klinischer Score. Die Abbildung 1 gibt einen detaillierten Überblick zu den Parametern, die über den zeitlichen Verlauf der multizentrischen *In-vivo*-Studie erfasst wurden.

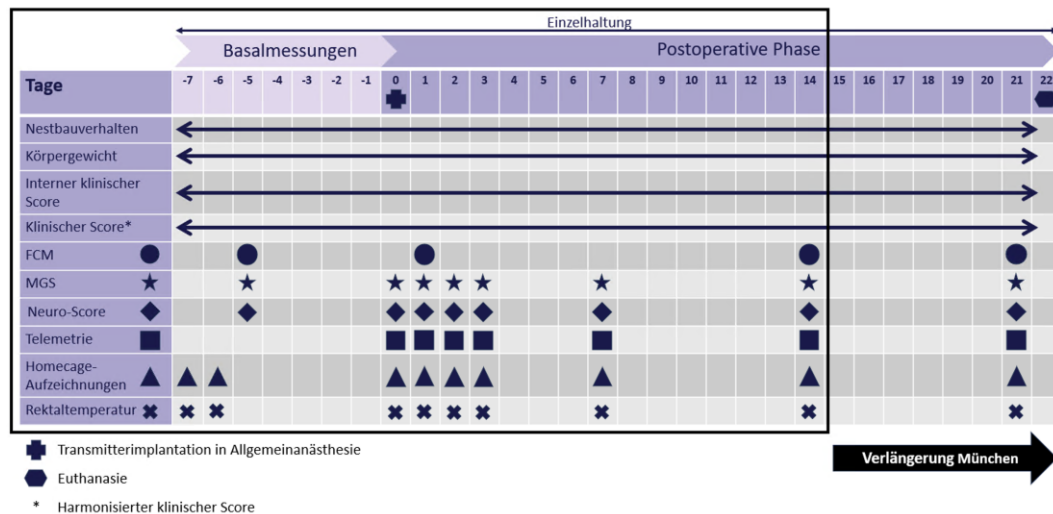


Abbildung 1: Studiendesign zur Validierung eines kamerabasierten Heimkäfigmonitoringsystems

Innerhalb der Forschungsgruppe (DFG-FOR2591) harmonisiertes Studiendesign (schwarz eingrahmt) inklusive der am Standort München durchgeführten Verlängerung des Studiendesigns (schwarzer Pfeil) zur Validierung eines kamerabasierten Heimkäfigmonitoringsystems.

Im Anschluss an die Aufzeichnungen aller Arbeitsgruppen mittels der Smart-Homecage-Systeme wurden diese Video-Dateien im Rahmen der Forschungsgruppe durch die AG Czaplik (Priv.-Doz. Dr. med. Michael Czaplik, Klinik für Anästhesiologie, Universitätsklinikum Aachen) und die AG Stegmaier (Prof. Dr.-Ing. Johannes Stegmaier, Lehrstuhl für Bildverarbeitung, Universitätsklinikum Aachen) für die abschließende Validierung ausgewertet. Die im Rahmen der *In-vivo*-Studien erfassten Daten aller Parameter werden im Folgenden durch die AG Talbot (Dr. Steven R. Talbot, Institut für Versuchstierkunde und Zentrales Tierlaboratorium, Medizinische Hochschule Hannover) für eine Nicht-Unterlegenheitsstudie im Rahmen der mehrdimensionalen, quantitativen Belastungseinschätzung (*Relative Severity Assessment Score*, RELSA) verwendet.

Die Abbildung 1 veranschaulicht den am Standort München umgesetzten verlängerten Studienplan, der auf den harmonisierten Vorgaben für die Mausmodell-Gruppen basiert. Um zusätzlich zur Validierung des Smart-Homecage-Systems die postoperative Belastung der Transmitterimplantation über die Zeit beurteilen zu können, wurde die Monitoringphase um eine Woche verlängert. So könnten Empfehlungen für die Dauer einer entsprechenden

Erholungsphase abgeleitet werden. Dabei wurde für den ersten Batch ein Studiendesign verwendet, das sich hinsichtlich des letzten Experimentaltags von allen folgenden Batches unterschied: die in Abbildung 1 dargestellten Parameter an Tag 21 wurden bei dem ersten Batch einen Tag früher (an Tag 20) erfasst. Das Studiendesign wurde nach vorläufigen partiellen Analysen der telemetrisch erfassten Daten des ersten Batches angepasst, da an Tag 14 im Vergleich zu Tag 20 höhere Herzfrequenzen und Aktivitätsdaten aufgezeichnet wurden. An Tag 14 erfolgte im Unterschied zu Tag 20 vor Beginn der telemetrischen Aufzeichnungen ein Käfigwechsel, sodass ein Einfluss des käfigwechselbedingten Erkundungsverhalten auf die erfassten Daten nicht ausgeschlossen werden konnte. Der letzte Aufnahmetag wurde daher ab dem zweiten Batch von Tag 20 auf Tag 21 verschoben und der Käfigwechsel an Tag 7 und 14 auf Tag 8 und 15 verschoben, sodass alle telemetrischen Aufzeichnungen vor dem wöchentlichen Käfigwechsel stattfanden.

Für die Aufzeichnungen im Rahmen der multizentrischen Studie standen am Standort München zwei Smart-Homecage-Systeme (Nummeriert mit 1 und 2) zur Verfügung, sodass pro Batch zwei Tiere parallel verwendet wurden.

Randomisierungen und Verblindungen

Wenn umsetzbar, fanden Randomisierungen (z. B. Käfigzuordnung bei mehreren Homecage-Systemen) und Verblindungen (z. B. bei den Rohdatenanalysen) Anwendung: die Zuordnung der Tiere zu ihren Tiernummern und damit verbunden die Zuordnung zum jeweiligen Smart-Homecage-System wurde für jeden Batch mit einer einfachen Randomisierung (R 4.3.2 (R CORE TEAM, 2023)) festgelegt. Jedem Smart-Homecage-System wurde vor Beginn der *In-vivo*-Studie eine Telemetrie-Receiver-Platte zugewiesen und festgelegt, dass jeweils das Tier mit der niedrigeren Tiernummer dem „Smart-Homecage 1“ und das Tier mit der höheren Tiernummer dem „Smart-Homecage 2“ zugeordnet wird. Alle Eingriffe bzw. Manipulationen, also auch der operative Eingriff, wurden zuerst bei dem im „Smart-Homecage 1“ und danach bei dem im „Smart-Homecage 2“ gehaltenen Tier durchgeführt. Die Telemetrietransmitter wurden den Tieren ebenfalls über eine einfache Randomisierung (R 4.3.2 (R CORE TEAM, 2023)) zugewiesen. Da alle Tiere dasselbe Protokoll mit Transmitterimplantation durchliefen, war eine Verblindung der Versuchsdurchführenden und der Tierpfleger während der

Datenerhebung nicht nötig. Das Scoring der Parameter MGS und Nestbauverhalten erfolgte retrospektiv verblindet durch eine weitere trainierte Person. Für den MGS erfolgte dabei eine Verblindung in Bezug auf das Tier und den Tag und für das Nestbauverhalten erfolgte eine Verblindung in Bezug auf den Tag.

In- und Exklusionen

Folgende In- und Exklusionskriterien wurden vor Beginn der Studie festgelegt: inkludiert wurden lediglich gesunde (negativer SPF-Status in Übereinstimmung mit den FELASA-Richtlinien (MÄHLER et al., 2014) C57BL/6J Mäuse von Charles River Laboratories ohne klinische Anzeichen auf jegliche Krankheiten sowie Mäuse mit einem Ankunftsalter von 16-17 Wochen und mit intakten Tasthaaren (bei Ankunft und zum Zeitpunkt des Einzelnsetzens). Als Exklusionskriterien wurden grundsätzlich, neben den im Rahmen der Tierversuchsgenehmigung definierten Exklusionskriterien (z. B. 20 %ige Reduktion des Körpergewichtes oder schwere Wundheilungsstörungen), Störungen der technischen Ausrüstung, Fehler seitens der beteiligten Wissenschaftler (z. B. inkorrekte Implantation), Implantatverluste oder das Erreichen eines humanen Endpunktes definiert.

Insgesamt mussten im Laufe der Studie $n = 6$ Tiere exkludiert werden. Der erste Batch ($n = 2$ Tiere) musste aufgrund der oben beschriebenen Protokolländerungen wiederholt werden. Bei einem Tier kam es zum Verlust des Implantats, zwei Tiere erreichten die in der Tierversuchsgenehmigung definierten Abbruchkriterien und bei einem Tier kam es zu Ohrtrandnekrosen. Es wurden daher zusätzliche Reservetiere beantragt, um diese Ausfälle im Rahmen von weiteren Durchläufen zu kompensieren. Die Aufzeichnungen mit den Smart-Homecage-Systemen aller exkludierten Tiere wurden bis zum Zeitpunkt des individuellen Ausscheidens aus der Studie für das Training der Algorithmen im Rahmen der Validierung der Smart-Homecage-Systeme genutzt.

2.2. Versuchstiere

Die Versuche, für die Validierung des Smart-Homecage-Systems am Standort München, wurden in Übereinstimmung mit der Tierversuchsgenehmigung der Regierung von Oberbayern (AZ ROB-55.2-2532.Vet_02-19-157) und im Einklang mit dem deutschen Tierschutzgesetz, sowie der EU-Richtlinie 2010/63/EU durchgeführt. Für die Berichterstattung wurden die ARRIVE Richtlinien 2.0

(Tierversuche: Berichterstattung über *In-vivo*-Experimente) (PERCIE DU SERT et al., 2020) berücksichtigt.

Für den Standort München wurden 16 bis 17 Wochen alte C57BL/6J Wildtyp-Mäuse ($n = 12$ weibliche Experimentaltiere) bei Charles River Laboratories (Sulzfeld, Deutschland) bestellt, wobei alle Tiere aus Frankreich stammten. Die Tiere wurden ab Ankunft direkt in dem Smart-Homecage gehalten, wobei hier Eurostandard Typ III H Käfige (Käfigschale aus H-Temp (PSU), Tecniplast Deutschland GmbH, Hohenpeißenberg, Deutschland) verwendet wurden. Die Käfigschalen wurden für das Smart-Homecage-System modifiziert und verfügten an einer Frontseite über ein zentrales Loch zum Einhängen der langen gebogenen Tränkkappe (Typ TKG-140, gebogene Kugelkanüle 140 mm lang, Zoonlab GmbH, Castrop-Rauxel, Deutschland), sowie über jeweils rechts und links neben diesem Loch angebrachte Halterungen für die Gehäuse der beiden Frontalkameras. Für optimale Aufnahmen mit diesen Kameras, wurde die Tränkkappe ca. sieben cm in den Käfig hineinragend eingeschoben. Die Haltung der Tiere erfolgte unter kontrollierten Umweltbedingungen (Raumtemperatur: 22 ± 2 °C; Luftfeuchtigkeit: 55 ± 10 %) und unter Vorgabe eines zwölf Stunden Hell-Dunkel-Zyklus (Beleuchtungsphase: 6:00 bis 18:00 Uhr MESZ bzw. 5:00 bis 17:00 Uhr MEZ). Die Versuche fanden sowohl während der Winterzeit als auch während der Sommerzeit statt. Die Heimkäfige waren mit Holzschnitzeleinstreu (SAFE® Select, J. Rettenmaier & Söhne GmbH + Co KG, Rosenberg, Deutschland) ausgestattet. Leitungswasser und Standard-Futterpellets (V1534-0000, Ratte/Maus Haltung, Sniff Spezialdiäten GmbH, Soest, Deutschland) standen *ad libitum* zur Verfügung. Die Futterpellets wurden in einem Keramik-Napf (AniOne Kleintier-Napf, 180 ml, MultiFit Tiernahrungs GmbH, Krefeld, Deutschland) bereitgestellt. Als zusätzliches *Enrichment* wurde in jedem Heimkäfig je ein roter Tunnel (Ehret GmbH, Freiburg, Deutschland) und je nach Phase unterschiedlich viele (während der Eingewöhnungsphase) oder ein (während der *Baseline* und postoperativ) Baumwollnestlet (Zoonlab GmbH, Castrop-Rauxel, Deutschland) angeboten. Bei jedem Käfigwechsel erhielten die Tiere frisches Wasser und Futter, frische Einstreu und ein Baumwollnestlet, wobei immer ca. 50 g gebrauchte Einstreu aus dem alten in den neuen Käfig transferiert wurde. Nach Ankunft der Tiere an Tag -20 fand der erste Käfigwechsel an Tag -7 (Start der *Baseline*) statt, danach erfolgte der

Käfigwechsel an Tag 0 (nach dem operativen Eingriff), an Tag 8 und an Tag 15. Der rote Tunnel und die Keramik-Futterschale wurden bei einem Käfigwechsel nicht durch neue ersetzt, sondern direkt in den neuen Käfig überführt, oder falls verunreinigt zuvor gereinigt.

Während der Haltung von 13 Wochen alten Trainingstieren ($n = 2$, C57BL/6J Weibchen) in den Smart-Homecage-Systemen traten Körpergewichtsverluste auf. Daher wurden in der Studie ältere Tiere verwendet und eine Akklimatisierungsphase von zwei Wochen ab Ankunft direkt im Smart-Homecage durchgeführt. In Folge wurden zunächst (für Batch 1 und 2) vier Tiere bestellt und entsprechend der einfachen Randomisierung (R 4.3.2 (R CORE TEAM, 2023)) jeweils zwei Tiere je Smart-Homecage-System eingesetzt (Paarhaltung). Die Tiere wurden während dieser Eingewöhnungsphase unter den oben aufgeführten Bedingungen gehalten, um direkt an die Haltung im Smart-Homecage-System gewöhnt zu werden. Sechs Tage nach Ankunft (an Tag -14) erfolgte die Herausnahme des Tieres mit dem jeweils geringeren Körpergewicht (ab hier als Beisitzer festgelegt) aus dem Smart-Homecage-System. Die beiden Experimentaltiere (jeweils höheres Körpergewicht an Tag -14) verblieben für weitere sieben Tage in Einzelhaltung in den entsprechenden alten Käfigen (kein Käfigwechsel) im Smart-Homecage-System und erhielten, zu den bereits vorhandenen zwei Nestlets, an Tag -14 noch ein weiteres Nestlet. Des Weiteren erhielten die Experimentaltiere für die ersten drei Tage in Einzelhaltung (Tag -14 bis zum Morgen von Tag -11) standardisiert als Nahrungsergänzung einen 56 g Becher DietGel® 76A mit pflanzlichem Protein (ClearH₂O®, Westbrook, ME, USA). Dieses Vorgehen wurde gewählt, um möglichen Gewichtsreduktionen vorzubeugen, um bis zum operativen Eingriff ein ausreichendes Körpergewicht für die Implantation der Transmitter sicherzustellen (das Transmittergewicht sollte maximal 10 % des Körpergewichtes der Tiere betragen). Alle Tiere wurden ab Ankunft (jeweils montags bis freitags) mit der Wiegebox (Käfigschale) und dem Tunnel-Handling (Verwendung des roten Tunnels aus dem jeweiligen Heimkäfig) vertraut gemacht und an die Fixation im Nacken gewöhnt.

Im Rahmen von täglichen Kontrollen wurde mit Hilfe des internen klinischen Scores das Wohlbefinden der Tiere beurteilt. Im Fokus des klinischen Scores lag die Beurteilung der Parameter „Aussehen“, „Körpergewicht“, „Verhalten“,

„Motorik“ und „Wundinfektion“. Der Score 0 entsprach jeweils dem physiologischen Zustand der zu beurteilenden Parameter. Veränderungen konnten pro Parameter auf einer Skala von 1 bis 3 (1 = geringe Belastung; 2 = erhöhte (mäßige) Belastung; 3 = starke Belastung) bewertet werden. Alle Scores der beurteilten Parameter wurden zu einem Summen-Score addiert. Das Erreichen des Scores 3 eines einzelnen Parameters oder das Erreichen des Summen-Scores von ≥ 5 wurde als humaner Endpunkt definiert, was mit einer tierschutzgerechten Tötung verbunden war.

Die Beisitzer vom zweiten Batch wurden, im Sinne der *Reduction*, für weitere drei Durchläufe erneut als Beisitzer eingesetzt. Aufgrund des Auftretens von *Barbering* bei den alten Beisitzern, mussten für den letzten Durchlauf neue Beisitzer verwendet werden. Alle Beisitzer wurden im Anschluss an die Experimentalphase im Rahmen eines anderen Aktenzeichens für Trainingszwecke genutzt.

Die Experimentaltiere wurden nach Beendigung der Versuche durch intraperitoneale Injektion von Pentobarbital (600 mg/kg, Narkodorm®, 182,3 mg/ml, CP Pharma Handelsgesellschaft mbH, Burgdorf, Deutschland), verdünnt in 0,9 %iger Kochsalzlösung (Isotonische Natriumchlorid-Lösung ad us. Vet., B. Braun SE, Melsungen, Deutschland), euthanasiert.

2.3. Transmitterimplantation

Für die Transmitterimplantation (zur Aufzeichnung der Herzfrequenz, Herzratenvariabilität, Aktivität und Temperatur) wurde im Rahmen der Forschungsgruppe (DFG-FOR2591, 2025) ein evidenzbasiertes Analgesieregime für die peri- und postoperative Analgesie von Professorin Dr. med. vet. Marion Bankstahl (Institut für Pharmakologie und Toxikologie, Veterinärmedizinische Universität Wien) empfohlen. Am Standort München wurde ab 26 bis 24 Stunden vor dem operativen Eingriff bis zum Morgen des vierten postoperativen Tages Carprofen (Rimadyl® 50 mg/ml Injektionslösung für Hunde und Katzen, Zoetis Deutschland GmbH; Zieldosis: 25 mg/kg/24 h) oral über das Trinkwasser verabreicht. Für die Narkose wurde Isofluran CP® (Isofluran 1 ml/ml, CP-Pharma Handelsges. mbH, Burgdorf, Deutschland) verwendet (Einleitung 4 %, Erhalt: 1,5 - 2 %). Zur Überwachung der Körpertemperatur lagen die Mäuse während der Narkose auf einer Wärmematte (RightTemp® JR., Kent Scientific Corporation,

Torrington, CT, USA). Über eine Rektalsonde und eine Temperatursonde unter der Maus wurde die Temperatur der Matte entsprechend der Körpertemperatur der Tiere reguliert. Die Narkosetiefe wurde in regelmäßigen Abständen durch den Zwischenzehenreflex und durch Adspektion der Atmung überprüft. Zum Schutz der Augen vor Austrocknung wurde eine Augensalbe (Bepanthen® Augen- und Nasensalbe, Bayer Vital GmbH, Leverkusen, Deutschland) verwendet. Nach Rasur und Desinfektion (Octenisept®; Schülke & Mayr GmbH, Norderstedt, Deutschland) der dorsalen und ventralen Operationsfelder, wurde die Haut, im Bereich der späteren Inzisionen, zur lokalen Anästhesie mit 4 mg/kg Bupivacain (Carbostesin, 0,25 %ige Injektionslösung, Aspen Germany GmbH, München, Deutschland; 1:1 bis 1:4 verdünnt mit isotoner Natriumchlorid-Lösung, B. Braun SE) infiltriert. Nach einer 15-minütigen Wartezeit wurde mit Hautschnitten begonnen. Nach dem ersten ca. 1,5 cm langen Hautschnitt kaudal des linken Schulterblattes, wurde ausgehend von der Inzision und parallel zur Wirbelsäule, mit Hilfe einer stumpfen leicht gebogenen Schere, eine subkutane Tasche präpariert. Die Tasche wurde vor dem Einführen des Telemetrietransmitters (ETA-F10, Data Science International, St. Paul, MN, USA; Gewicht: 1,6 g, Volumen: 1,1 cc; Abbildung 2) mit körperwarmer isotoner Natriumchlorid-Lösung gespült, um das Einführen zu erleichtern. Für die intramuskuläre Implantation der Transmitterkabel an den vorgeschriebenen Positionen, wurde die Haut mit einem stumpfen Trokar (Surgery Kit, Data Sciences International) mobilisiert bzw. untertunnelt. Der erste subkutane Tunnel wurde, ausgehend von der Transmittertasche, zur rechten Achsel geführt, wobei die Haut hier minimal über dem rechten Rippenbogen eingeschnitten wurde, damit das graue negative Kabel subkutan mit einer Pinzette an die Implantationsstelle herangeführt werden konnte. Diese negative Ableitungselektrode wurde dann mit Hilfe einer Kanüle (20Gx1 1/2 HS-Einmal Injektionskanülen, Henry Schein®, Melville, NY, USA) im Pektoralismuskel platziert und nach Entfernung eines kleinen Teils der Isolierung mit nicht-resorbierbarem Nahtmaterial (Daclon USP 5/0 EP 1, Monofilament black nylon, SMI AG, St. Vith, Belgien) fixiert. Mit Hilfe eines zweiten subkutanen Tunnels wurde dieses Vorgehen für die Fixation des roten positiven Kabels links vom Xyphoid wiederholt. Die beiden ventralen Hautschnitte, sowie der dorsale Schnitt kaudal der Schulter wurden im Anschluss mit resorbierbarem Nahtmaterial (Surgicryl Monofilament USP 5/0 EP 1, SMI AG, St. Vith, Belgien) durch

Einzelknopfhefte geschlossen. Über den ventralen Knopfheften wurde ein Sprühpflaster (Pharmazentralnummer: 16762396, Hansaplast, Beiersdorf AG, Hamburg, Deutschland) angewendet. Zum Ausgleich von Flüssigkeitsverlusten während der Narkose, wurde den Mäusen am Ende des operativen Eingriffes subkutan körperwarmer Ringer-Laktat-Lösung (B. Braun SE, Melsungen, Deutschland) injiziert. Danach erfolgte die subkutane Injektion von 10 mg/kg Rimadyl® (50 mg/ml, Zoetis Deutschland GmbH), welches zuvor 1:50 mit Aqua inieciabilia (B. Braun SE) verdünnt und auf Körpertemperatur erwärmt wurde. Die Tiere wurden, nach Erfassung des postoperativen Körpergewichtes, für die Aufwachphase in aufgewärmte, frische Käfige gesetzt. Nachdem die Tiere wieder bei vollem Bewusstsein waren (Erholungszeitpunkt), wurde die orale Carprofenapplikation über das Trinkwasser bis zum Morgen des vierten postoperativen Tages fortgeführt. Zwei Stunden nach dem Eingriff (bezogen auf den Erholungszeitpunkt) wurden die Tiere wieder zurück in den Tierhaltungsraum gebracht. Als Notfall-Analgesie konnte jederzeit morgens Rimadyl® (10 mg/kg; verdünnt mit Aqua inieciabilia (B. Braun SE)) subkutan injiziert werden. Die Notfall-Analgesie wurde in Abhängigkeit vom klinischen Score (tierindividueller Gewichtsverlust und/oder gestörtes Allgemeinbefinden) und der Trinkwasseraufnahme einzeln gehaltener Tiere (Reduktion $\geq 30\%$) appliziert. Wenn es zum Öffnen der Nähte durch Aufbeißen kam, wurde die Naht in kurzer Isoflurannarkose (Einleitung 4 %, Erhalt: 1,8 - 2 %), sowie subkutaner Applikation von Bupivacain (1-1,33 mg/kg), Carprofen (10 mg/kg) und Ringer-Lactat-Lösung (10 ml/kg) wieder verschlossen. Die Anästhesie und die Applikationen erfolgten mit denselben Präparaten, die für die Transmitterimplantation beschrieben wurden.

Für die orale Applikation des Carprofens über das Trinkwasser wurde in unserem Institut für jedes Tier die basale Trinkwasseraufnahme gravimetrisch (Tischwaage FCB 3KO.1, Kern & Sohn GmbH, Balingen, Deutschland) alle zwölf Stunden, beginnend zwei Stunden nach Start der Dunkelphase an Tag -5 bis zum Morgen von Tag -3 bzw. folgend alle 24 h (beginnend 2 h nach Ende der Dunkelphase an Tag -3 bis zum Morgen von Tag -1) bestimmt. Vor Versuchsbeginn wurden gravimetrisch Korrekturfaktoren gemessen, die den durchschnittlichen Wasserverlust durch Tropfen der Tränkeflaschen über zwölf und 24 Stunden berücksichtigten. Diese wurden von den täglichen Gewichts differenzen der Tränkeflaschen abgezogen. Aus

den erfassten *Baseline*-Trinkwasseraufnahmen konnte dann für jedes Tier ein Durchschnitt je 24 h ermittelt werden. Dabei wurden die alle zwölf Stunden ermittelten Werte, nach Subtraktion des Korrekturfaktors, jeweils zu einem 24 h-Wert zusammengefasst. Wenn während der Erfassung der *Baseline*-Trinkwasseraufnahme ein gewichtsbedingtes Zufüttern der Tiere stattfand, wurden die entsprechenden Phasen des Zufütterns für die Kalkulationen exkludiert. Anhand des durchschnittlichen Körpergewichtes der Mäuse (einmal täglich von Tag -7 bis Tag -1 gemessen) und der *Baseline*-Trinkwasseraufnahme pro 24 h, wurde für jeden Batch individuell die Carprofenkonzentration berechnet, welche für die Herstellung der Stammlösung (Rimadyl® und Leitungswasser) benötigt wurde (Carprofenkonzentration in der Stammlösung: Mittelwert = 0,2566 mg/ml, SD = 0,0668). Das mit Carprofen angereicherte Trinkwasser wurde aufgrund der Photosensitivität des Wirkstoffes lichtgeschützt in roten Flaschen (Tränkeflasche aus rotem Polyphenylsulfon (X-Temp) 260 ml, mit Silikondichtring, Tecniplast Deutschland GmbH, Hohenpeißenberg, Deutschland) frei zugänglich angeboten. Während der oralen Applikation des Carprofens wurden die Tränkeflaschen mit 50-60 g der täglich neu angesetzten Stammlösung (jeweils gleiche Konzentration pro Batch und Tag) befüllt. Um die Tiere mit den roten Flaschen vertraut zu machen, wurden diese bereits ab Ankunft als reguläre Tränkeflaschen verwendet. Die Werte der *Baseline*-Trinkwasseraufnahmen für die Dunkelphase wurden vor allem für den Vergleich mit der postoperativen Trinkwasseraufnahme über Nacht verwendet, um unter Berücksichtigung des klinischen Scores gegebenenfalls die oben beschriebene Notfall-Analgesie anzuwenden. Um nach dem operativen Eingriff zu überprüfen, dass die Tiere jeweils genug Carprofen über das Trinkwasser aufgenommen hatten, wurde die gravimetrische Bestimmung der Trinkwasseraufnahme bis zum Morgen des vierten postoperativen Tages fortgeführt.

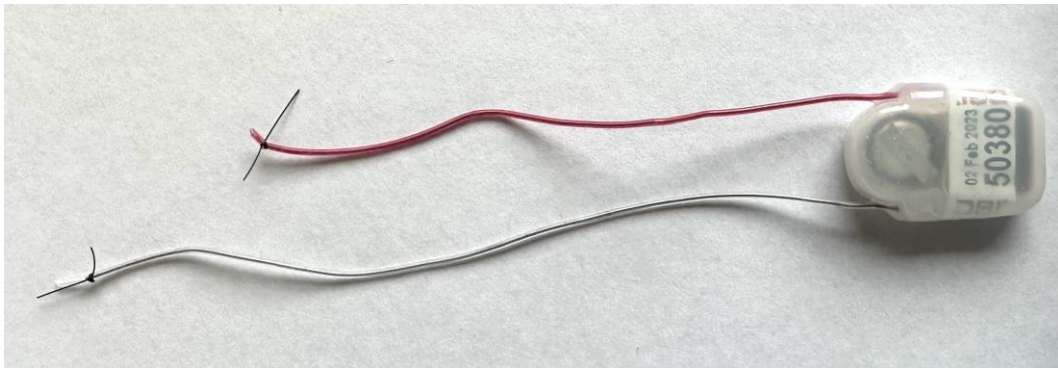


Abbildung 2: ETA-F10 Telemetrietransmitter der Firma DSI (Data Science International, St. Paul, MN, USA)

2.4. Telemetrieaufzeichnungen und Datenauswertung

In der Forschungsgruppe (DFG-FOR2591, 2025) wurden für die telemetrischen Aufzeichnungen die postoperativen Tage 0 (Tag des operativen Eingriffes), 1, 2, 3, 7 und 14 festgelegt. Die Telemetrie wurde ca. zwei Stunden nach Beginn der Hellphase gestoppt und nach Beendigung aller in Kapitel IV 2.6 aufgeführten Manipulationen wieder gestartet (Allg. Aufnahme-Kernzeit 15:00 – 8:00 Uhr MESZ aufgrund des höheren Zeitaufwandes am OP-Tag). Am Standort München wurde als zusätzlicher Aufnahmetag der postoperative Tag 21 festgelegt.

In München wurde das Elektrokardiogramm (EKG), die Aktivität und die Temperatur der Mäuse über ETA-F10 Transmitter (Data Science International) aufgezeichnet und über Radiowellen vom Tier auf das Telemetriesystem übertragen. Für die telemetrischen Aufzeichnungen wurden die implantierten Transmitter mit Hilfe eines Magneten aktiviert bzw. deaktiviert. Der Aktivierungsstatus der Transmitter konnte über ein spezielles Radio (welches sich hierfür in der Nähe des Implantats befand), durch An- oder Abwesenheit eines hohen Tons, überprüft werden. Durch die Verwendung des Radiotelemetriesystems konnten die verschiedenen Parameter kontinuierlich in der Tierhaltung ohne die Anwesenheit von Menschen und im Heimkäfig der Tiere erfasst werden. Die Verwendung der kabellosen Radiotelemetrie ermöglichte eine Datenerfassung, während sich die Mäuse frei im Käfig bewegen konnten. Bei jedem Smart-Homecage-System wurde eine Receiver-Platte (RPC-1, Data Sciences International) unter der Käfigschale eingeschoben. Die Käfigsysteme wurden so nebeneinander auf rollbaren Tischen aufgestellt, dass sich die Receiver-Platten in einem Abstand von mindestens 50 cm zueinander befanden. Nach Übertragung der

Daten vom Transmitter auf die Receiver-Platte erfolgte die Umwandlung dieser in digitale Signale, welche im Folgenden über eine Matrix (MX 2.0, Data Sciences International) und anschließend über einen Switch (Cisco Small Business Switch, Data Science International) an einen Aufzeichnungscomputer weitergeleitet wurden. Über die Software Ponemah® (Ponemah Software 5.20, Data Sciences International, St. Paul, MN, USA) wurden diese Signale auf dem Aufzeichnungscomputer gespeichert.

Die Datenauswertung des telemetrisch erfassten EKGs, der Aktivität und der Temperatur erfolgte mit Hilfe der Software Ponemah® (Ponemah Software 6.60, Data Sciences International). Die Analyse der einzelnen Parameter wurde separat und getrennt für die Hell- und Dunkelphasen durchgeführt. Zum Analysieren der Rohdaten wurde ein Zeitintervall (*Logging Rate*) von fünf Minuten festgelegt, wodurch Durchschnittswerte für alle relevanten Parameter für die definierten 5-Minuten-Intervalle berechnet wurden. Um eine Zeitsynchronisierung für die spätere Validierung der Smart-Homecage-Systeme sicherzustellen, wurde der Telemetrie-Aufzeichnungscomputer mit den Homecage-Systemen verbunden und der Zeitserver so konfiguriert, dass die Zeit von den Homecage-Systemen übernommen wurde.

Für die EKG-Analysen wurde das in der Software enthaltene EKG-Analyse-Modul verwendet, mit dem automatisiert eine fortlaufende Nummerierung der R-Zacken erfolgte (Abbildung 3). Des Weiteren wurden Artefakte automatisch über einen Störfilter markiert. Diese Artefakt-Markierungen (*bad data marks*) stellten sich als rote gestrichelte Linien dar (Abbildung 4) und führten zum Ausschluss dieser Abschnitte von der Analyse.

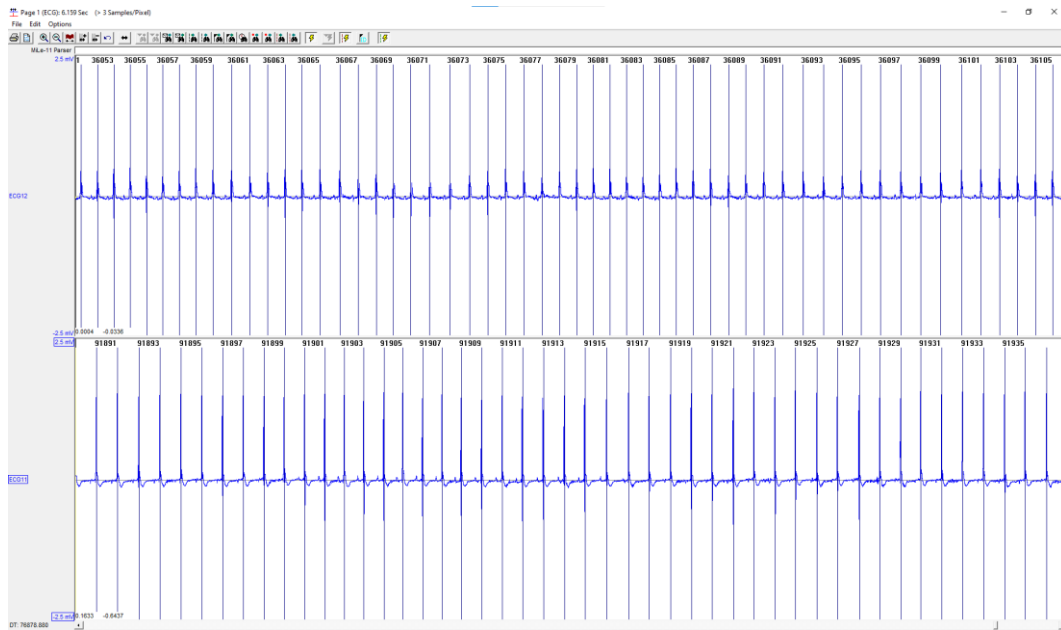


Abbildung 3: R-Zacken Detektion nach Anwendung des EKG-Analyse-Moduls in Ponemah® 6.60

Da die automatisierte Artefaktdetektion nicht immer sensitiv genug war, erfolgte eine manuelle Überprüfung der QRS-Komplexe. Eine niedrigere Amplitude der Komplexe führte unter Umständen dazu, dass R-Zacken nicht automatisch gekennzeichnet wurden. Mit den Voreinstellungen des Analyse-Moduls nicht erkannte R-Zacken konnten manuell und separat für jedes Tier durch individuelle Anpassung der Einstellungen bzw. Grenzwerte mit in die Kennzeichnungen aufgenommen werden (Abbildung 5), oder manuell an entsprechender Stelle eingefügt werden. Von der Software nicht erfasste Artefakte konnten durch manuelles Einfügen von *bad data marks* markiert und somit von der Analyse exkludiert werden.

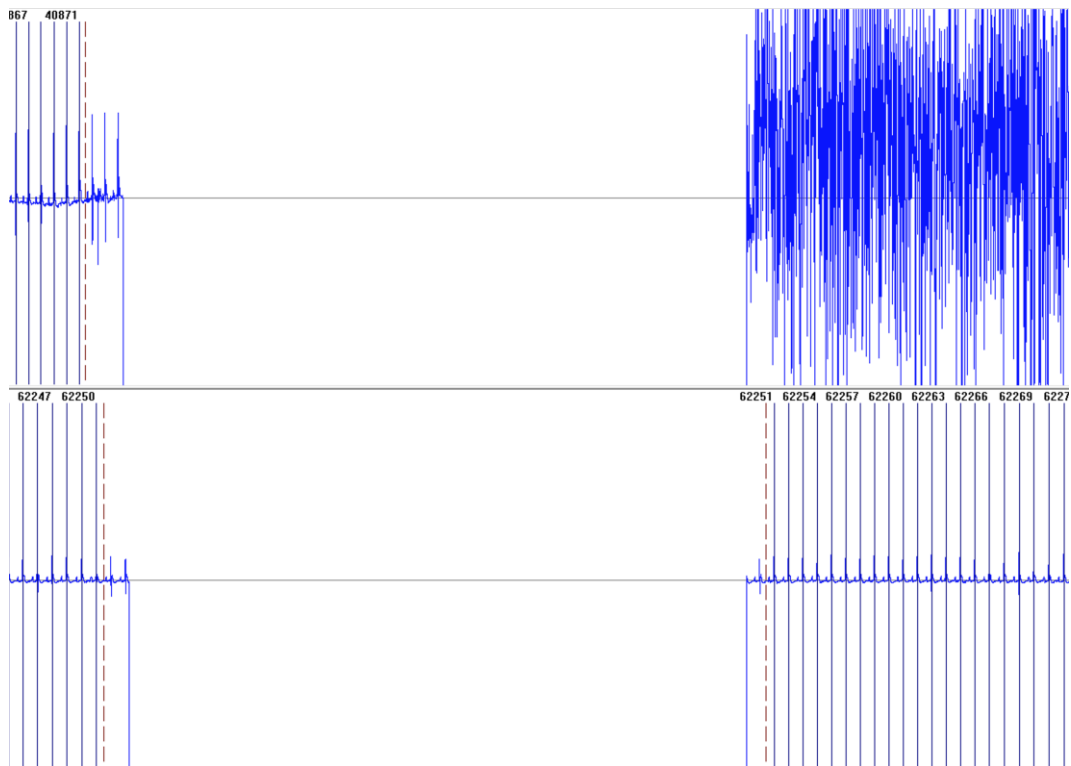


Abbildung 4: Darstellung von *bad data marks* (rot gestrichelte Linien) im EKG-Analyse-Modul

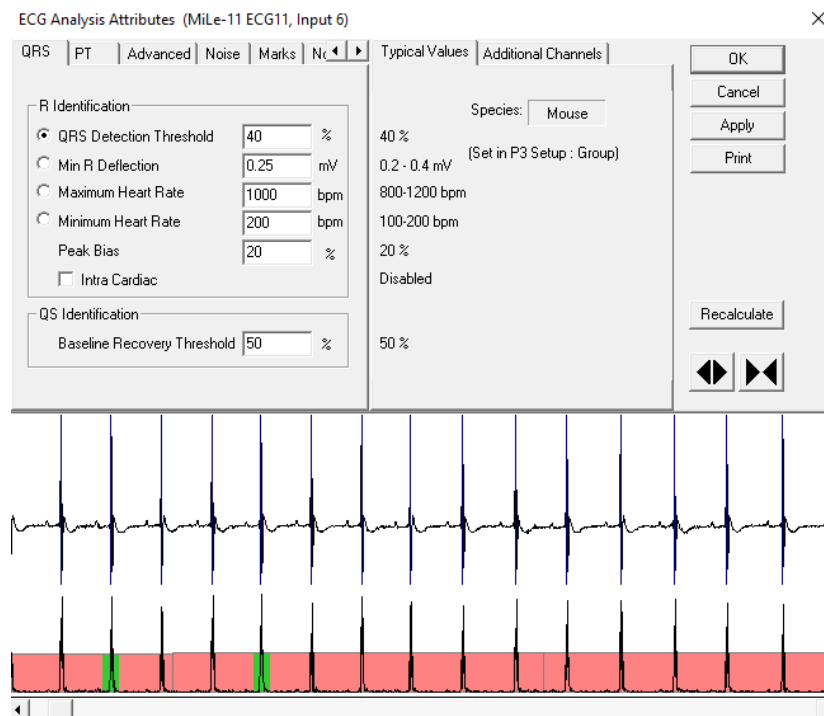


Abbildung 5: Einstellungen im EKG-Analyse-Modul zur individuellen R-Zacken-Detektion

Folgende Parameter wurden mit der Software Ponemah® Version 6.60 (Data Sciences International) auf Basis des EKGs über die Zeitdomäne des Variabilitäts-Moduls ermittelt und exportiert:

- Mittlere Herzfrequenz (HF) in Schlägen pro Minute
- Mittleres RR-Intervall in ms
- SDNN (*Standard Deviation of NN intervals*): Standardabweichung der Zeitabstände zwischen aufeinanderfolgenden Herzschlägen (NN- bzw. RR-Intervalle); Maß für Gesamtvariabilität des autonomen Nervensystems

$$SDNN = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (RR_i - \overline{RR})^2}$$

- RMSSD (Root Mean Square of Successive Differences): Quadratwurzel des Mittelwerts aller Quadrate der Differenzen aufeinanderfolgender Schlag-zu-Schlag-Intervalle (RR-I); Maß für kurzfristige Änderungen der RR-Intervalle, über das Rückschlüsse auf die Erholungsfähigkeit des Herzens gezogen werden können

$$RMSSD = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^{N-1} (RR_{i+1} - RR_i)^2}$$

- NN6: Anzahl der Paare aufeinanderfolgender Schlag-zu-Schlag-Intervalle, die mehr als 6 ms voneinander abweichen
- pNN6: Prozentualer Anteil aller aufeinanderfolgenden RR-Intervalle, die eine Abweichung von mehr als 6 ms aufweisen; Korreliert stark mit RMSSD; Maß für kardiale parasymphatische Aktivierung

$$pNN6 = \frac{NN6}{N-1} \cdot 100 \%$$

Die Auswertung der telemetrisch erfassten Aktivität wurde, wie für die EKG-Auswertung beschrieben, mit Hilfe des Aktivitäts-Analyse-Moduls der Software Ponemah® Version 6.60 (Data Sciences International) durchgeführt. Die Aktivität (ATA2) der Mäuse in den Heimkäfigen wurde in Anzahl pro Minute (*counts per minute*, cpm) erfasst. Hierbei wurden Änderungen der Transmitterposition zu den in den Receiver-Platten enthaltenen Antennen gemessen. Die Kennzeichnung der Aktivitätsmessungen erfolgte automatisiert und mit fortlaufenden Nummerierungen. Artefakte wurden automatisch durch einen Störfilter über *bad*

data marks markiert, welche zum Ausschluss dieser Abschnitte von der Analyse führten. Es erfolgte eine manuelle Überprüfung, um unberücksichtigte Artefakte (z. B. negative Aktivitätswerte) manuell durch Einfügen von zusätzlichen *bad data marks* zu markieren. So konnten diese Artefakte ebenfalls von der Analyse exkludiert werden.

Für die Analyse der Temperatur ist zu beachten, dass der Transmitter in dieser *In-vivo*-Studie subkutan implantiert wurde und somit keine Körpertemperatur erfasst wurde. Über das Temperatur-Analyse-Modul der Software Ponemah® Version 6.60 (Data Sciences International) konnte, nach vorheriger automatischer oder manueller Bereinigung, die Temperatur in °C exportiert werden. Wie schon für die EKG- und Aktivitätsanalyse beschrieben, konnten unphysiologische Ausreißer und Artefakte (nach erfolgter automatischer Überprüfung durch das Analyse-Modul) manuell über das Setzen von *bad data marks* von der Analyse ausgeschlossen werden (Abbildung 6).

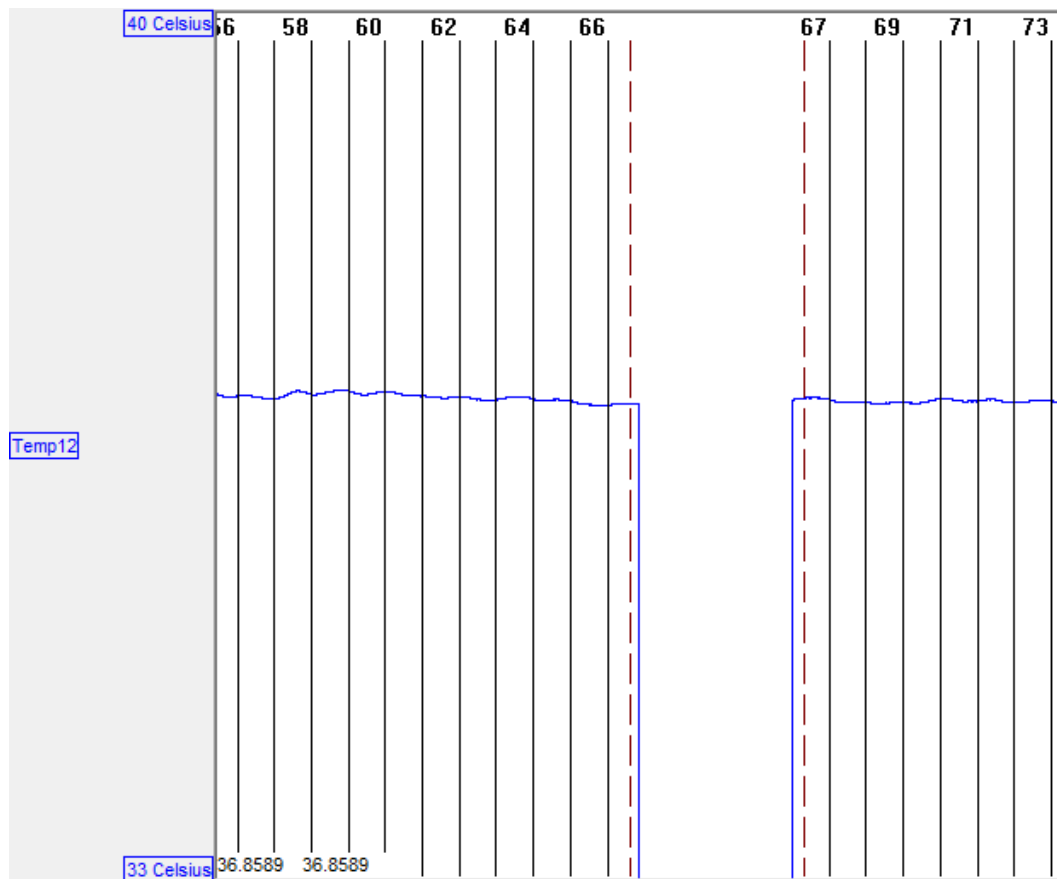


Abbildung 6: Darstellung von *bad data marks* (rot gestrichelte Linien) im Temperatur-Analyse-Modul

2.5. Smart-Homecage-Aufzeichnungen

In der Forschungsgruppe (DFG-FOR2591, 2025) wurde für die kamerabasierten Aufzeichnungen mit den Smart-Homecage-Systemen festgelegt, dass diese zeitgleich mit der Telemetrie (siehe Kapitel IV 2.4) und zusätzlich an den Tagen -7 und -6 für Basalmessungen stattfinden. Durch das Smart-Homecage-System soll eine kontinuierliche nicht-invasive kamerabasierte Überwachung der Tiere im Heimkäfig ermöglicht werden, um später verschiedene Vitalparameter wie Herzfrequenz, Atemfrequenz, Aktivität oder Körpertemperatur erfassen bzw. ableiten zu können.

Die Prototypen wurden hierzu mit geeigneten Kameras ausgestattet. Für die Vogelperspektive wurde im Käfigdeckel eine FLIR BOSON 320 50° FOV Thermalkamera (Teledyne FLIR LLC, Wilsonville, OR, USA) zur Überwachung der Hauttemperatur und Atemfrequenz, sowie zwei nahinfrarotsensitive RGB-Kameras (Pi Camera Module 2 NoIR, Raspberry PI Foundation, Cambridge, England) zur Überwachung der Herzfrequenz, der Aktivität und für das Tracking verbaut, um jeweils die gesamte Käfigfläche abzudecken. Für frontale Aufzeichnungen wurde eine Thermalkamera mit niedrigerer Auflösung (FLIR Lepton 3.5, Teledyne FLIR LLC) zur Einschätzung der Körperinnentemperatur und Atemfrequenz, sowie eine Pi-Kamera (Pi Camera Module 2 NoIR, Raspberry PI Foundation) für die Herzfrequenzanalyse gewählt. Das System umfasste als Gehäuse ein quaderförmiges Konstrukt aus Plexiglas, in welchem für Mäuse ein Eurostandard Typ III H Käfig verwendet werden konnte. Nahinfrarot-LED-Streifen (850 Nanometer) an der Käfigdeckelunterseite stellten eine adäquate Beleuchtung sicher. Die Frontalkameras wurden über spezielle Einrastmechanismen neben der Öffnung für die Wasserflasche eingehängt, um die Chance auf gute Videos von den Tieren in der Frontalansicht zu erhöhen. Da das Material der Käfigschalen keine Thermalaufnahmen durch den Käfig hindurch zulässt, wurde die Käfigschale entsprechend modifiziert: Es wurde ein Fenster für die Thermalkamera ausgeschnitten und mit einer Metallumrandung vor möglichem Benagen durch die Tiere geschützt, zusätzlich wurde die Kamera mit einem speziellen opaken durchlässigen Film (Kube Electronics AG, Gossau, Schweiz) vor Flüssigkeit und Benagung geschützt. Für die Aufzeichnungen wurden mehrere Raspberry-Pi-Computer (Raspberry Pi 4 Model B, Raspberry PI Foundation) genutzt, über die

das Steuern der Kameras und die Datensicherung auf externen Festplatten gewährleistet wurde (MÖSCH et al., 2023). Am Standort München wurden für die Aufzeichnungen mit den zwei Smart-Homecage-Systemen im Wechsel vier Sets mit jeweils sechs externen Festplatten (WD Elements™ Portable 2 TB, Western Digital Corporation, San José, CA, USA) verwendet. Pro 24 Stunden Aufnahme mit einem Smart-Homecage-System wurden drei der externen Festplatten an die korrespondierenden aufzeichnenden Raspberry-Pi-Computer (Raspberry Pi 4 Model B, Raspberry PI Foundation) angeschlossen: eine Festplatte diente als Speicher für die Tracking-Kamera, eine Festplatte diente den beiden Frontalkameras und eine den beiden Kameras für die Vogelperspektive (Top-Kameras). Die Festplatten wurden nach spätestens 24 h Aufnahmen ausgetauscht, da die Speicherkapazität von 2 TB pro Festplatte nicht für weitere 24 h-Aufnahmen mit den Front- und Top-Kameras ausgereicht hätte. Nach Beendigung der Aufnahmen wurden die Videodateien auf einem internen Server, sowie auf einem zentralen Server in Aachen gesichert. Um die Datenmengen vor der Übertragung zu reduzieren, wurden die Dateien der Pi-Kameras verlustfrei komprimiert. Hierfür wurde ein Kompressionstool der AG Czaplik verwendet. Nach erfolgreicher Übertragung der Daten auf die Server, wurden die externen Festplatten geleert und für weitere Aufnahmen eingesetzt.

Das innerhalb der Forschungsgruppe (DFG-FOR2591, 2025) unter Mitwirkung unserer Arbeitsgruppe entwickelte Konzept und Design des Smart-Homecage-Systems, sowie der Großteil vom Bau der entsprechenden Prototypen, war kein Teil dieses Dissertationsprojektes (siehe auch Kapitel II 4.) (BREUER et al., 2023; MÖSCH et al., 2023).

2.6. Weitere erfasste Parameter

Generell wurden alle Parameter entsprechend den Aufzeichnungszeiten für die Telemetrie oder die Smart-Homecage-Systeme ab ca. zwei Stunden nach Beginn der Hellphase erfasst. Nachdem alle Interaktionen mit den Tieren beendet waren, wurde an den Aufzeichnungstagen direkt im Anschluss mit weiteren Aufnahmen begonnen, um eine möglichst kontinuierliche 24-Stunden-Aufzeichnung zu gewährleisten. An Tagen ohne telemetrische oder kamerabasierte Aufzeichnungen wurden diese Zeiten entsprechend einheitlich für die Erfassung der Parameter übernommen. Alle Parameter wurden entweder im Haltungsraum der Tiere oder in

einem schallisolierten Verhaltensraum erfasst, wobei diese Information den folgenden separaten Unterkapiteln entnommen werden kann. Lediglich das Körpergewicht der Tiere wurde direkt nach dem operativen Eingriff im Operationsraum gemessen.

2.6.1. (Patho-)physiologische Parameter

2.6.1.1. Körpergewicht

Für die multizentrische Studie sollte das Körpergewicht ab Beginn der Basalmessungen bis zum Versuchsende einmal täglich gemessen werden. Für den Tag der Transmitterimplantation wurden zusätzliche Körpergewichtserfassungen direkt postoperativ und vier Stunden nach dem Eingriff festgelegt. Die Messung fand am Standort München zusätzlich nach Ankunft und während der Akklimatisierung ab Tag -14 bis einschließlich Tag -8 (jeweils von Montag bis Freitag) statt, um Gewichtsverluste vor den Experimentalphasen durch Zufütterung (DietGel® 76A mit pflanzlichem Protein, ClearH₂O®) kompensieren zu können. Das Körpergewicht der Tiere wurde mit einer Tischwaage (FCB 3KO.1, Kern & Sohn GmbH, Balingen, Deutschland) im Haltungsraum der Tiere erfasst. Für das Wiegen der Tiere wurden die Tiere mit Hilfe des im jeweiligen Heimkäfig vorhandenen roten Tunnel in die Wiegebox (Käfigschale) transferiert. Das Gewicht wurde morgens in der Regel als erster Parameter erfasst, lediglich an Tagen mit Erfassung der Trinkwasseraufnahme, wurden die Gewichte der Wasserflaschen zuvor erfasst. An Tagen mit Neuro-Score-Erfassungen erfolgte vor der Körpergewichtserfassung die Beurteilung der Neuro-Score-Parameter, für die keine Fixation der Tiere nötig war.

2.6.1.2. Rektaltemperatur

Die Erfassung der rektalen Körpertemperatur fand an den Tagen statt, an denen jeweils mit den Smart-Homecage-Systemen aufgezeichnet wurde (Tag -7, -6, 0, 1, 2, 3, 7, 14 und 21). Ergänzend zur telemetrisch erfassten Temperatur diente die Rektaltemperatur als Referenz für die Validierung der mit den Smart-Homecage-Systemen erfassten Temperatur. Die Messungen fanden am Standort München mit Hilfe einer flexiblen Rektalsonde eines Thermometers (Acorn® Temp JKT Thermocouple Thermometer, Oakton, Vernon Hills, IL, USA) in kurzer Fixation durch die Versuchsdurchführende statt. Die Sonde wurde mit einer Salbe

(Bepanthen® Augen- und Nasensalbe, Bayer Vital GmbH) gleitfähiger gemacht. Die rektale Temperatur wurde jeweils als letzter Parameter gemessen, um eine möglichst geringe Zeitspanne zwischen dem darauffolgenden Starten der Smart-Homecage-Systeme zu gewährleisten. Infolgedessen erfolgten die Datenerhebungen zu unterschiedlichen Zeiten und an variierenden Orten (an Tag 0, 2, 3 und 7 im Verhaltensraum, ansonsten im Tierhaltungsraum). Da im Anschluss an die Videoaufnahmen für den MGS eine kurze Fixation der Tiere zur Erfassung der letzten Parameter des Neuro-Scores erforderlich war, wurde die Rektaltemperatur direkt anschließend im Rahmen dieser Fixation gemessen. So konnte an den entsprechenden Tagen eine zweite Fixation der Tiere umgangen werden. Die Aufnahme von Fotos zur Beurteilung des Nestbauverhaltens vier Stunden nach dem Käfigwechsel, oder der für die FCM-Erfassung erforderliche Verbleib (2 h) der Tiere in Transportkäfigen, führten an den entsprechenden Tagen zu späteren Rektaltemperaturmessungen.

2.6.2. Verhaltensuntersuchungen

2.6.2.1. Nestbauverhalten

Ab Beginn der *Baseline* wurden bis zum Versuchsende täglich Fotos der Nester angefertigt. Die Aufnahmen erfolgten i.d.R. ca. zwei Stunden nach Beginn der Hellphase. An Tag 0 erfolgten die Aufnahmen zusätzlich vier Stunden nach dem operativen Eingriff. Hierfür erhielten die Mäuse bei jedem Käfigwechsel (Tag -7, 0, 8 und 15) ein neues Baumwollnestlet. Für einen direkten Vergleich mit den Aufnahmen vier Stunden nach dem operativen Eingriff, wurden die Fotos an den Tagen -7, 8 und 15 ebenfalls vier Stunden nach Erhalt des neuen Nestlets aufgenommen. Mit einer Kamera (LUMIX DMC-LF1, Panasonic Corporation, Kadoma, Japan) wurden im Tierhaltungsraum bei angeschaltetem Arbeitslicht je Zeitpunkt und Nest drei Fotos (in einer Ansicht von oben, von lateral und im 45° Winkel) aufgenommen. Da die Fotos direkt morgens parallel zur Körpergewichtserfassung aufgenommen wurden (Tiere wurden für diesen kurzen Zeitraum in den Wiegeboxen belassen), konnte verhindert werden, dass die Nester durch das Aufscheuchen der Tiere zerstört wurden. Für das spätere verblindete Scoring sollten die Tiere nicht auf den Fotos zu sehen sein. Die Evaluierung der Fotos erfolgte retrospektiv durch eine trainierte und in Bezug auf die Zeitpunkte

verblindete Person. Zur Beurteilung des Nestbauverhaltens kam ein modifizierter Nest-Score nach Deacon (DEACON, 2006; DEACON, 2012) und Jirkof (JIRKOF et al., 2013) zur Anwendung:

- **Score 1:** Nestlet kaum berührt (> 90 % des Nestlets sind intakt)
- **Score 2:** Nestlet z. T. aufgerissen (50-90 % des Nestlets sind intakt)
- **Score 3:** Nestlet größtenteils zerrissen (50-90 % des Nestlets sind zerrissen)
 - < 50 % des Nestlets sind intakt
 - < 90 % des zerfetzten Nestlets befinden sich in einem Käfigviertel
 - Baumwollstücke sind im Käfig verteilt und wurden nicht zu einem identifizierbaren Nest geformt
- **Score 4:** Nest identifizierbar, flach (> 90 % des Nestlets sind zerrissen)
 - Baumwollstücke befinden sich in einem Käfigviertel und wurden zu einem identifizierbaren Nest geformt
 - < 50 % der Nestwände sind höher als ein Drittel eines Maushauses (Mouse shelter red transparent polycarbonate, Zoonlab GmbH, Castrop-Rauxel, Deutschland), was einer Höhe von 1,83 cm entspricht
- **Score 5:** Nest nahezu perfekt (> 90 % des Nestlets sind zerrissen)
 - > 50 % der Nestwände sind höher als ein Drittel eines Maushauses (Mouse shelter red transparent polycarbonate, Zoonlab GmbH), was einer Höhe von 1,83 cm entspricht
- **Score 6:** Nest perfekt (> 90 % des Nestlets sind zerrissen)
 - > 90 % der Nestwände sind höher als ein Drittel eines Maushauses (Mouse shelter red transparent polycarbonate, Zoonlab GmbH), was einer Höhe von 1,83 cm entspricht

2.6.2.2. Neuro-Score

Bei dem am Standort München an den Tagen -5 (*Baseline*), 0 bis 3, 7, 14 und 21 angewendeten Neuro-Score handelt es sich um einen modifizierten Irwin-Score unserer Arbeitsgruppe (siehe z. B. BUCHECKER et al., 2023; MUNK et al., 2024). Im Rahmen der Modifikation wurden für die Belastungsbeurteilung vernachlässigbare Parameter exkludiert und auf Parameter verzichtet, welche mit mehr Stress für die Tiere verbunden sein könnten (z. B. „Schreckhaftigkeit“ oder „Lidreflex“). Dagegen wurden Parameter für die postoperative Beurteilung (z. B. „Implantatbereich“) hinzugefügt. Der Neuro-Score dient der Erfassung des allgemeinen Wohlbefindens und der Funktion des autonomen, peripheren und zentralen Nervensystems der Tiere. Die Erfassung an Tag 0 fand ca. vier Stunden nach dem operativen Eingriff statt. Für alle Parameter entspricht ein Wert von „0“ dem physiologischen Zustand, während alle anderen Werte eine Abweichung vom Normalzustand anzeigen. Bei ausgewählten Parametern wurde die Direktionalität durch Hinzufügen von Minus- oder Pluszeichen berücksichtigt. Zur Berechnung des Summen-Neuro-Scores wurden lediglich Abweichungen der einzelnen Scores berücksichtigt, jedoch nicht die Direktionalität dieser Veränderungen. Die Parameter des Neuro-Scores wurden mit angeschaltetem Arbeitslicht erfasst und in drei Teilbereiche untergliedert. Die Parameter der ersten beiden Bereiche konnten im Tierhaltungsraum erfasst werden. Der erste Bereich umfasste Parameter, welche durch reine Adspektion der Tiere in ihrem Heimkäfig eingeschätzt werden konnten, wodurch keine Interaktion mit den Tieren erforderlich war. Der zweite Bereich beinhaltete Parameter, welche eine Herausnahme der Käfigschalen aus den Smart-Homecage-Systemen erforderten. Für die Erfassung von Parametern des dritten Bereichs war eine Interaktion (inkl. Fixation im Nacken) mit den Tieren außerhalb des Käfigs nötig. Um das Handling außerhalb des Käfigs auf ein Minimum zu beschränken, fand die Erfassung der letzten Parameter immer im Anschluss an die Aufnahmen für den MGS im Verhaltensraum statt. Die einzelnen Parameter finden sich aufgelistet in Kapitel X 6. (Tabelle 30). Die Parameter „Harnabsatz“ und „Kotabsatz“ wurden für den Summen-Neuro-Score nicht berücksichtigt, da sie im Zusammenhang mit der postoperativen Belastungsbeurteilung als unspezifisch angesehen werden. Der Parameter „Ptosis“ wurde von den finalen Analysen ausgeschlossen, da es hier zu einem Fehler im Zusammenhang mit der Erfassung kam (Exklusionskriterium).

2.6.2.3. Mouse Grimace Scale

Die Aufnahmen der MGS-Videos erfolgten an den Tagen -5 (*Baseline*), 0 bis 3, 7, 14 und 21, wobei die Videoaufnahmen an Tag 0 ca. vier Stunden postoperativ stattfanden. Hierfür wurden die Mäuse in MGS-Boxen gesetzt, die Innen neun Zentimeter lang und fünf Zentimeter breit und hoch waren und in einem transparenten Gestell platziert wurden. Das Gestell und die zugehörigen mit Lüftungslöchern ausgestatteten Boxen wurden aus Plexiglas angefertigt und befanden sich für die Videoaufzeichnungen zentral in einem Lichtzelt (Photo Studio Lichtzelt Diffusion Soft Box, Schießwürfel 80 x 80 cm, NEEWER, East Brunswick NJ, USA) mit einer Helligkeit von 400 bis 410 lux. An den Versuchstagen wurden im Verhaltensraum mit einer Spiegelreflexkamera (EOS 800D Digitalkamera + EF-S 18-55mm f/4-5,6 IS STM Objektiv, Canon Inc, Tokyo, Japan) jeweils zehn Minuten andauernde Videos der sich in den Boxen frei bewegenden Tiere aufgezeichnet, um retrospektiv die Mimik der Mäuse beurteilen zu können. Die Aufnahmen erfolgten in Abwesenheit der Experimentatorin. Die Spiegelreflexkamera wurde an einem Stativ vor dem Lichtzelt angebracht. Die offene Frontseite des Lichtzeltes wurde für die Aufnahmen mit einem schwarzen Stoffvorhang abgehängt, sodass Spiegelungen auf den MGS-Boxen reduziert werden konnten. Die Tiere wurden nach den Aufnahmen in den MGS-Boxen wieder in ihre Heim- oder Transportkäfige gesetzt. Für das Scoring wurden aus den Videos ca. 600 Einzelbilder je Zeitpunkt und Tier mit Hilfe eines Bildverarbeitungsprogrammes (Kooperationspartner: Prof. Dr.-Ing. Dorit Merhof, Lehrstuhl für Bildverarbeitung, RWTH Aachen) (ERNST et al., 2020a) extrahiert. Anschließend erfolgte eine manuelle Vorselektion der ausgeschnittenen Bilder in Bezug auf folgende Kriterien (ERNST et al., 2020a):

- Maus in Profil- oder Vorderansicht;
- Sichtbarkeit von mindestens einem Auge (geschlossene Augen bedingt durch Blinzeln oder Schlafen führten zur Exklusion);
- Sichtbarkeit von mindestens einem Ohr;
- Sichtbarkeit des Nasen- und Wangenbereiches;
- Maus in einer statischen Position (z. B. keine Fellpflege oder Schnüffeln);
- gute Qualität der Bilder.

Von diesen vorselektierten Bildern wurden alle in den ersten oder letzten 30 Sekunden der zehnminütigen Videos aufgenommenen Fotos exkludiert, da hier eine

Beeinflussung durch das Verlassen und Betreten des Raumes durch die Experimentatorin nicht ausgeschlossen werden konnte. Anschließend wurden aus den übrigen Bildern zehn am nächsten zur Mitte der jeweiligen Minute (xx:30 min) aufgenommene Bilder ausgewählt. Somit standen theoretisch für jedes Tier und jeden Zeitpunkt zehn Bilder für das Scoring zur Verfügung. Die abschließende randomisierte und verblindete Beurteilung (in Bezug auf Tier und Zeitpunkt) der extrahierten MGS-Bilder erfolgte durch eine weitere trainierte Person unter Verwendung eines MGS-Score-Tools (Kooperationspartner: Prof. Dr.-Ing. Dorit Merhof) (ERNST et al., 2020a) und unter Anwendung des *Mouse Grimace Scale* nach Langford und Kollegen (LANGFORD et al., 2010). Pro Tier und Zeitpunkt konnten aus den Score-Werten der zehn Bilder ein mittlerer MGS (Skala von 0 bis 2) berechnet werden, indem zunächst für jede *action unit* (AU) ein Mittelwert berechnet wurde und anschließend die Summe aus diesen Mittelwerten durch die Anzahl der AUs (i.d.R. $n = 5$) dividiert wurde. Zur besseren Vergleichbarkeit mit anderen Studien, konnte zusätzlich aus den Score-Werten der zehn Bilder pro Tier und Zeitpunkt, ein Summen-MGS (Skala von 0 bis 10) berechnet werden, indem für jede AU ein Mittelwert berechnet wurde und anschließend die Summe aus diesen Mittelwerten gebildet wurde. Wenn die Bewertung einer AU nicht möglich war, wurde dies in den Berechnungen berücksichtigt. Die Tabelle 23 gibt einen Überblick über die nicht bewertbaren AUs in Bezug auf die Anzahl der analysierten MGS-Bilder.

2.6.3. Harmonisierter klinischer Score

Ein im Rahmen der Forschungsgruppe harmonisierter klinischer Score wurde zusätzlich zum internen klinischen Score jeder Arbeitsgruppe täglich ab Tag -7 angewendet. Da jede Arbeitsgruppe an den von der jeweiligen lokalen Tierversuchsgenehmigungsbehörde vorgegebenen klinischen Score gebunden war, wurde für die Forschungsfragestellung ein zusätzlicher harmonisierter klinischer Score angewendet. Dieser ermöglichte einen Vergleich zwischen den beteiligten Arbeitsgruppen der multizentrischen Studie. Die Erfassung an Tag 0 fand ca. vier Stunden nach dem operativen Eingriff statt. Der harmonisierte Score umfasste die Parameter „Körpergewicht“, „Allgemeinzustand“, „Spontanes Verhalten“, „Fluchtverhalten nach Kontakt“ und „Prozessspezifische Kriterien“. Für alle Parameter entspricht ein Wert von „0“ dem physiologischen Zustand, während alle

anderen Werte eine Abweichung vom Normalzustand anzeigen. Alle Score-Werte der beurteilten Parameter wurden täglich zu einem Summen-Score addiert. Eine Summe von „3“ bis „4“ entsprach einer geringen, eine Summe von „5“ bis „15“ entsprach einer moderaten und eine Summe über „15“ entsprach einer schwerwiegenden Belastung. Die Tabelle 5 enthält eine detaillierte Übersicht der Parameter des harmonisierten klinischen Scores mit entsprechenden Bewertungen.

Tabelle 5: Bewertungsbogen für den harmonisierten klinischen Score

Parameter	Beobachtung	Score
I Körpergewicht	I-a Reduktion um > 10 % (im Vergleich zum Ausgangsgewicht an Tag -7)	2
	II-a Reduktion um > 20 % (im Vergleich zum Ausgangsgewicht an Tag -7)	5
II Allgemeinzustand	II-a Zu lange Zähne	1
	II-b Fell stumpf, struppig oder ungepflegt	2
	II-c Augen trüb oder zusammengekniffen	2
	II-d Ungepflegte Körperöffnungen	3
	II-e Abnorme Körperhaltung	3
	II-f Dehydratation	3
	II-g Kurze Spasmen oder vorübergehende Lähmungserscheinungen	3
	II-h Anhaltende (>30') Krämpfe oder Lähmungen	5
	II-i Abnorme Atemgeräusche oder das Tier fühlt sich kalt an	5
III Spontanes Verhalten	III-a Tier ist passiv oder überaktiv	2
	III-b Ausgeprägte Apathie, Hyperkinetik oder Isolation	4
	III-c Quieten aufgrund von Schmerzen	5
	III-d selbstverletzendes Verhalten	5

IV Fluchtverhalten nach Kontakt	IV-a Tier ist passiv oder überaktiv	2
	IV-b ausgeprägte Apathie oder Hyperkinetik	5
V Prozessspezifische Kriterien	V-a Wundheilungsstörung	2
	V-b Öffnung der Nähte durch Aufbeißen	1
	V-c lokale Entzündung	2
	V-d Aszites	4

2.6.4. Fäkale Kortikosteronmetaboliten

Für die tierindividuelle Analyse der fäkalen Kortikosteronmetaboliten (FCM) wurden die Tage -5 (*Baseline*), 1, 14 und 21 für das Sammeln der Kotproben bestimmt. Die Tiere wurden an den entsprechenden Tagen jeweils in Käfigen mit frischer Einstreu gewogen und im weiteren Verlauf in diesen Käfigen in einen Verhaltensraum transportiert. Für die zehnminütigen MGS-Aufnahmen im Verhaltensraum wurden die Tiere in je eine MGS-Box aus Plexiglas gesetzt. Nach Erfassung der Neuro-Score-Parameter (dritter Teilbereich) im Anschluss an die MGS-Aufnahmen, wurden die Tiere wieder in ihre Transportkäfige überführt und in diesen zurück in den Haltungsraum verbracht. Um eine ausreichende Kotmenge sicherzustellen, verblieben die Tiere nach den MGS-Aufnahmen für zwei Stunden in den Transportkäfigen im Haltungsraum, bevor die Tiere wieder in ihren Heimkäfig transferiert wurden. In den Transportkäfigen befanden sich zusätzlich jeweils Futterpellets und der rote Tunnel aus dem Heimkäfig. Die Heimkäfigwasserflasche stand nach dem Rücktransport in den Haltungsraum frei zur Verfügung. In der Zwischenzeit konnte der Kot aus den MGS-Boxen in Eppendorf-Reaktionsgefäßen (Eppendorf Safe-Lock Tubes 2,0 ml, Eppendorf SE, Hamburg, Deutschland) gesammelt werden. Nachdem die Tiere wieder in ihre Heimkäfige verbracht wurden, konnte der Kot aus den Transportkäfigen gesammelt und zu den Eppendorf-Reaktionsgefäßen hinzugefügt werden. Die Lagerung der gesammelten Kotproben erfolgte bis zur weiteren Bearbeitung bei -20 °C.

Für die Extraktion der Kortikosteronmetaboliten in Methanol wurden die Proben durch eine technische Assistentin und die Experimentatorin aufgetaut und wiederholt mit Spateln homogen zerkleinert, um nach zwei Trocknungsphasen über Nacht bei 60 °C im Trockenschrank ein feines Pulver zu erhalten. Von jeder Probe

wurden 0,05 g des hergestellten Pulvers in ein separates Reaktionsgefäß eingewogen und mit 1 ml 80 %igem Methanol (Methanol $\geq$ 99,5 %, VWR International S.A.S., Briare, Frankreich; verdünnt mit deionisiertem Wasser) versetzt. Anschließend erfolgte das 30-minütige Schütteln der Proben (Unimax 1010, Heidolph Scientific Products GmbH, Schwabach, Deutschland), gefolgt von einer zehnminütigen Zentrifugation (MIKRO 200, Andreas Hettich GmbH, Tuttlingen, Deutschland) bei 3500 Umdrehungen pro Minute. Von dem Überstand wurden 0,5 ml, sowie je eine Rückstellprobe in 1,5 ml Reaktionsgefäße (Eppendorf Safe-Lock Tubes, Eppendorf SE) abpipettiert. Die weitere Lagerung der Extrakte erfolgte bei -80 °C.

Für die Analyse der Proben folgte der Versand aller Proben zum Labor unseres Kooperationspartners Prof. Dr. Rupert Palme (Abteilung für experimentelle Endokrinologie, Department für Biologische Wissenschaften und Pathobiologie, Veterinärmedizinische Universität Wien, Österreich), wobei der Transport der Reaktionsgefäße auf Trockeneis stattfand. Dort konnte die Menge der FCM im Methanolextrakt mit einem 5α -Pregnan-3 β ,11 β ,21-triol-20-eins-Enzym-Immunoassay (EIA) bestimmt werden (TOUMA et al., 2004).

2.7. Auswertung und Statistik

Im Rahmen der multizentrischen Studie zur Validierung des Smart-Homecage-Systems, wurde der Stichprobenumfang durch eine *a priori* Stichprobenberechnung für eine Nicht-Unterlegenheitsstudie im Rahmen der mehrdimensionalen, quantitativen Belastungseinschätzung (*Relative Severity Assessment Score*, RELSA) festgelegt. Auf eine ursprünglich eingeplante naive Kontrollgruppe wurde im Sinne der *Reduction* verzichtet, da die transmitterimplantierten Tiere später als ihre eigene Kontrolle dienten (Telemetrie- und Smart-Homecage-System-Aufzeichnungen erfolgen simultan). Da das Geschlecht der Tiere für das primäre Ziel der Validierung des Smart-Homecage-Systems irrelevant war, wurde in dieser Studie im Smart-Homecage-System auf den Einsatz beider Geschlechter verzichtet.

Bei der multizentrischen Studie handelt es sich um eine noch nicht abgeschlossene Studie, sodass die finale statistische Auswertung noch aussteht. Da es sich bei den Ergebnissen des Standortes München lediglich um einen Teilbeitrag zu dieser multizentrischen Studie handelt, wurden in dieser Dissertationsschrift die Ergebnisse des Standortes München rein explorativ ausgewertet. Die Rohdatenverarbeitung erfolgte mit dem Programm Microsoft® Excel® für Microsoft 365 MSO (Version 2503 Build 16.0.18623.20266, 64 Bit). Die graphische Darstellung und deskriptive Statistik erfolgte über das Programm GraphPad Prism (Prism 10 für Windows 64-bit, Version 10.4.1 (627)) und die Darstellung der telemetrischen Daten zusätzlich über die Software R Version 4.3.2 (R CORE TEAM, 2023). Das entsprechende R-Skript kann dem Kapitel X 8. entnommen werden.

V. ERGEBNISSE

1. Retrospektiver Vergleich zwischen telemetrisch erfassten Aktivitätsdaten und klinischen Scoring-Systemen

Datensatzscreening und -vervollständigung

Basierend auf der Projektabfrage zu aktivitäts-assoziierten Parametern innerhalb der Forschergruppe (DFG-FOR2591, 2025) wurden insgesamt 22 Projekte für die Aktivitätsanalysen identifiziert, welche neben dem klinischen Score unter anderem telemetrisch erfasste Aktivitätsdaten in Maus- und Rattenmodellen bzw. Interventionen beinhalteten. Von diesen konnten insgesamt zehn Projekte für die Aktivitätsanalysen genutzt werden. Gründe für die Exklusionen waren: fehlende Einwilligungen zur Publikation (z. B. aufgrund der Priorisierung eigener Publikationen, $n = 11$); zu geringer Stichprobenumfang ($n = 1$).

Projektspezifische Vergleiche

Nach der Erstellung von Übersichtstabellen zur Darstellung der vorhandenen Kategorien der Referenzdaten (individuelle Referenztage und/oder jegliche Referenzgruppen) in den inkludierten experimentellen Datensätzen, wurden Daten von individuellen Referenztagen (bei diesen Referenztagen handelt es sich um Zeitpunkte nach einer laborspezifischen Erholungszeit von der Transmitterimplantation, da telemetrisch erfasste Aktivitätsdaten erst nach einem operativen Eingriff zur Verfügung stehen), sowie Daten von Kontroll- und Sham-Gruppen für mögliche Vergleiche identifiziert (siehe Tabelle 2). Die zehn inkludierten Datensätze enthielten z. T. mehrere Kategorien der Referenzdaten: neun Datensätze enthielten Referenztage, vier Datensätze enthielten Daten einer Sham-Gruppe und zwei Datensätze enthielten Daten einer Kontroll-Gruppe.

Entscheidung zur Durchführung einer Metaanalyse

Eine Metaanalyse konnte nicht durchgeführt werden, da die in Kapitel IV 1.1 beschriebenen Voraussetzungen nicht erfüllt wurden (MYUNG, 2023). Daher wurden Effektstärken und Konfidenzintervalle für die Vergleiche zwischen Daten

der Interventions- bzw. Experimentaltiere und entsprechenden Daten von Referenztagen oder Referenzgruppen kalkuliert.

Graphische Darstellung

Die in den Graphen verwendeten unterschiedlichen Farben für Experimentalgruppen wurden konstant verwendet, sodass die Gruppen eines Modells immer in derselben Farbe über alle Graphen hinweg dargestellt wurden. Für alle institutsinternen Modelle wurden dieselben Farben für die Gruppen verwendet (weiß, grau, blau). Die Stichprobengröße pro Gruppe und Zeitpunkt, sowie eine entsprechende Abweichung, kann der Tabelle 6, der Tabelle 7, der Tabelle 8 und der Tabelle 9 entnommen werden.

1.1. Effektstärken

Da mit Ausnahme der institutsinternen Telemetriedatensätze lediglich Mittelwerte für die Dunkelphase verfügbar waren, wurde für die Analysen mit Referenztagen nur die Dunkelphase (Aktivphase der Tiere) berücksichtigt. Für die Vergleiche mit Kontroll- oder Sham-Gruppen, wurde sowohl die Hell- als auch die Dunkelphase analysiert, da es sich hierbei um institutsinterne Datensätze handelte.

Im Folgenden sind die Effektstärke Hedges' g (für die telemetrisch erfassten Aktivitätsdaten) und Cohen's h (für die klinischen Scores) inklusive der 95 % Konfidenzintervalle dargestellt. Wenn im Rahmen des klinischen Scorings zu keinem der analysierten Zeitpunkte aktivitäts-assoziierte Änderungen auftraten, wurden keine entsprechenden Graphen der Effektstärken gezeigt. Die Effektstärken und Konfidenzintervalle dienten bei den telemetrisch erfassten Aktivitätsdaten der Einteilung in gesteigerte und reduzierte Aktivität. Eine positive Effektstärke definierte eine gesteigerte Aktivität und eine negative Effektstärke definierte eine reduzierte Aktivität. Wenn die entsprechenden 95 % Konfidenzintervalle die Nulllinie überschritten (beide Richtungen), wurde die Aktivität als nicht relevant verändert gewertet. Für die Daten der klinischen Scores, definierte eine positive Effektstärke (inklusive der 95 % Konfidenzintervalle, welche die Nulllinie nicht überschritten) eine erfasste Aktivitätsänderung jeglicher Direktion in der Experimental- bzw. Interventionsgruppe im Vergleich zur Referenz. Bei allen mit den klinischen Scoring-Systemen eingeschätzten Aktivitätsänderungen, handelte es sich an den analysierten Experimentaltagen um Reduktionen der Aktivität. Die

genauen Effektstärken und 95 % Konfidenzintervalle, sowie die Stichprobengröße je Gruppe und Zeitpunkt können der Tabelle 6, der Tabelle 7, der Tabelle 8 und der Tabelle 9 entnommen werden.

1.1.1. Effektstärken der aktivitäts-assoziierten Parameter basierend auf Vergleichen mit Daten von Referenztagen

Operative Intervention:

Intraperitoneale Transmitterimplantation bei Mäusen:

Bei den Vergleichen mit Daten vom Referenztag (Tag 28 nach Transmitterimplantation) zeigte sich bei den transmitterimplantierten Mäusen der Carprofen-Gruppe in der telemetrisch erfassten Aktivität ab dem operativen Eingriff bis zum vierten postoperativen Tag eine reduzierte Dunkelphasenaktivität. Die Tiere der Carprofen-Gruppe erhielten bis zum dritten postoperativen Tag alle zwölf Stunden subkutane Carprofen-Injektionen. Bei den transmitterimplantierten Mäusen der Metamizol-Gruppe zeigte sich ab dem operativen Eingriff bis zum dritten postoperativen Tag sowie am siebten postoperativen Tag eine telemetrisch erfasste Reduktion der Dunkelphasenaktivität. Die Tiere der Metamizol-Gruppe erhielten bis zum dritten postoperativen Tag Metamizol über das Trinkwasser.

In der Carprofen-Gruppe zeigten sich zu keinem Zeitpunkt Änderungen in der mit dem klinischen Score erfassten Aktivität. Für die Metamizol-Gruppe waren klinische Scores nur für Tag 0 bis 4 verfügbar. Da für den klinischen Score keine Daten vom Referenztag verfügbar waren, konnte entsprechend keine Effektstärke für die Metamizol-Gruppe kalkuliert werden.

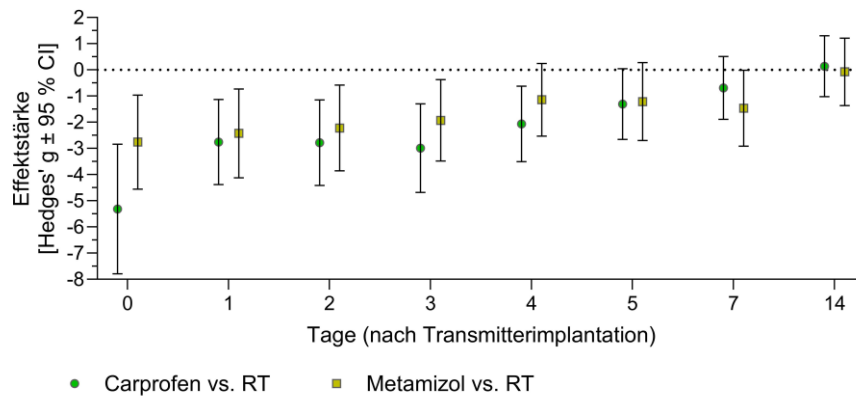


Abbildung 7: Effektstärken - Intraperitoneale Transmitterimplantation bei Mäusen

Graphische Darstellung der Effektstärke und des 95 % Konfidenzintervalls (Hedges' $g \pm 95\%$ CI) der telemetrisch erfassten Aktivität nach intraperitonealer Transmitterimplantation bei Mäusen mit postoperativer Carprofen- oder Metamizolapplikation. Die Effektstärken basieren auf Vergleichen mit Daten vom Referenztag (RT, postoperativer Tag 28).

Subkutane Transmitterimplantation bei Mäusen:

Bei den transmitterimplantierten Mäusen zeigten sich während der Dunkelfphase bei Vergleichen mit Daten vom Referenztag (Tag 21 nach Transmitterimplantation) zu keinem Zeitpunkt Änderungen in den telemetrisch erfassten Aktivitätsdaten.

Es zeigten sich ebenso zu keinem der Zeitpunkte Änderungen in der mit dem klinischen Score erfassten Aktivität.

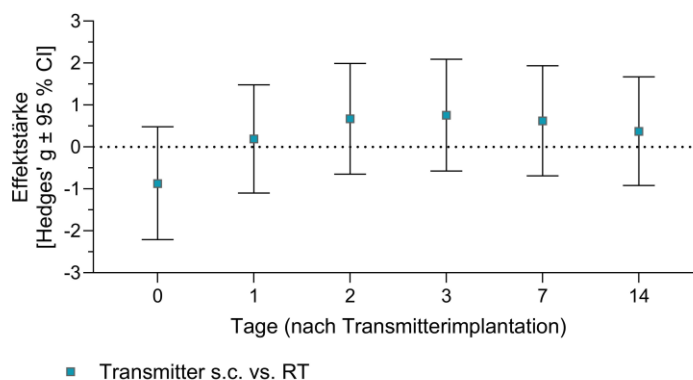


Abbildung 8: Effektstärken - Subkutane Transmitterimplantation bei Mäusen

Graphische Darstellung der Effektstärke und des 95 % Konfidenzintervalls (Hedges' $g \pm 95\%$ CI) der telemetrisch erfassten Aktivität nach subkutaner (s.c.) Transmitterimplantation bei Mäusen. Die Effektstärken basieren auf Vergleichen mit Daten vom Referenztag (RT, postoperativer Tag 21).

Partielle Hepatektomie (PH) bei Ratten:

Nach partieller Leberlappenresektion erhielten alle Ratten bis zum dritten postoperativen Tag Metamizol über das Trinkwasser, sowie einmal täglich subkutane Cefuroxim-Injektionen. In der 50 %-PH-Gruppe zeigte sich bei Vergleichen mit Daten vom Referenztag (Tag -2 vor partieller Hepatektomie) in der telemetrisch erfassten Aktivität eine Reduktion der Dunkelphasenaktivität am ersten und dritten postoperativen Tag. Die Daten des zweiten postoperativen Tages der 50 %-PH-Gruppe mussten aufgrund von über 20 % fehlender telemetrisch erfasster Aktivitätsdaten exkludiert werden. In der 70 %-PH-Gruppe zeigte sich bei Vergleichen mit Daten vom Referenztag eine Reduktion der telemetrisch erfassten Dunkelphasenaktivität am ersten postoperativen Tag. Die Daten des sechsten postoperativen Tages der 70 %-PH-Gruppe mussten aufgrund von über 20 % fehlender telemetrisch erfasster Aktivitätsdaten exkludiert werden.

In der 50 %-PH-Gruppe zeigte sich am ersten postoperativen Tag eine Reduktion der mit dem klinischen Score erfassten Aktivität. In der 70 %-PH-Gruppe zeigten sich dagegen keine entsprechenden Änderungen.

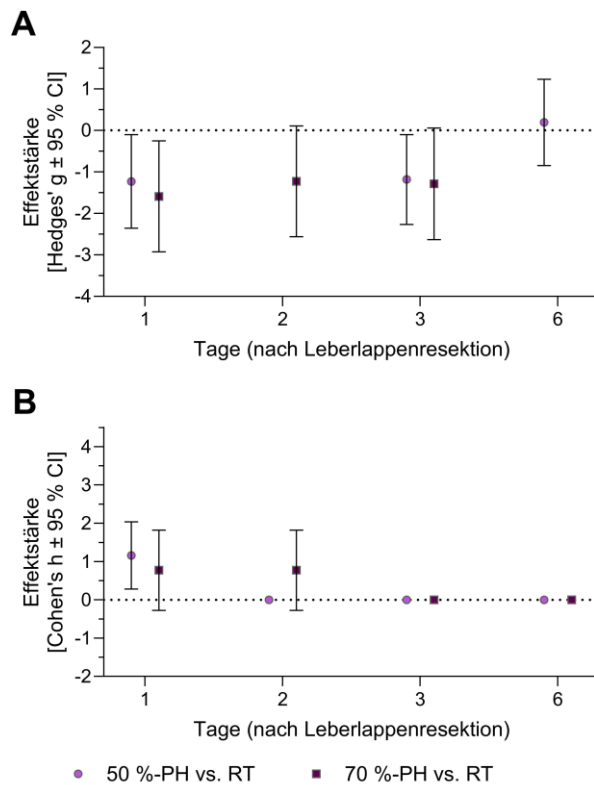


Abbildung 9: Effektstärken - Partielle Hepatektomie bei Ratten

Graphische Darstellung der Effektstärke und des 95 % Konfidenzintervalls (Hedges' $g \pm 95\%$ CI) der telemetrisch erfassten Aktivität (**A**) sowie der Effektstärke und des 95 % Konfidenzintervalls (Cohens' $h \pm 95\%$ CI) der mit dem klinischen Scoring-System erfassten Aktivität (**B**) nach 50 %iger oder 70 %iger partieller Hepatektomie (PH) bei Ratten. Die Effektstärken basieren auf Vergleichen mit Daten vom Referenztag (RT, Tag - 2 vor PH). Bei der mit dem klinischen Score erfassten Aktivitätsänderung handelte es sich um eine Reduktion der Aktivität in der 50 %-PH-Gruppe. Die Daten des zweiten postoperativen Tages der 50 %-PH-Gruppe und des sechsten postoperativen Tages der 70 %-PH-Gruppe mussten aufgrund von über 20 % fehlender telemetrisch erfasster Aktivitätsdaten exkludiert werden.

Operative Intervention und Krankheitsmodell:

Pankreaskarzinom bei Mäusen:

Nach orthotopischer Pankreaskarzinomzellinjektion im Rahmen einer Laparotomie zeigte sich bei den Mäusen bei Vergleichen mit Daten vom Referenztag (Tag -1 vor Zellinjektion) in der telemetrisch erfassten Aktivität eine Reduktion der Dunkelphasenaktivität an Tag 0. Die Mäuse erhielten bis zum Versuchsende Metamizol über das Trinkwasser.

An Tag 0 zeigte sich ebenso 30 min nach dem operativen Eingriff eine Reduktion in der mit dem klinischen Score erfassten Aktivität.

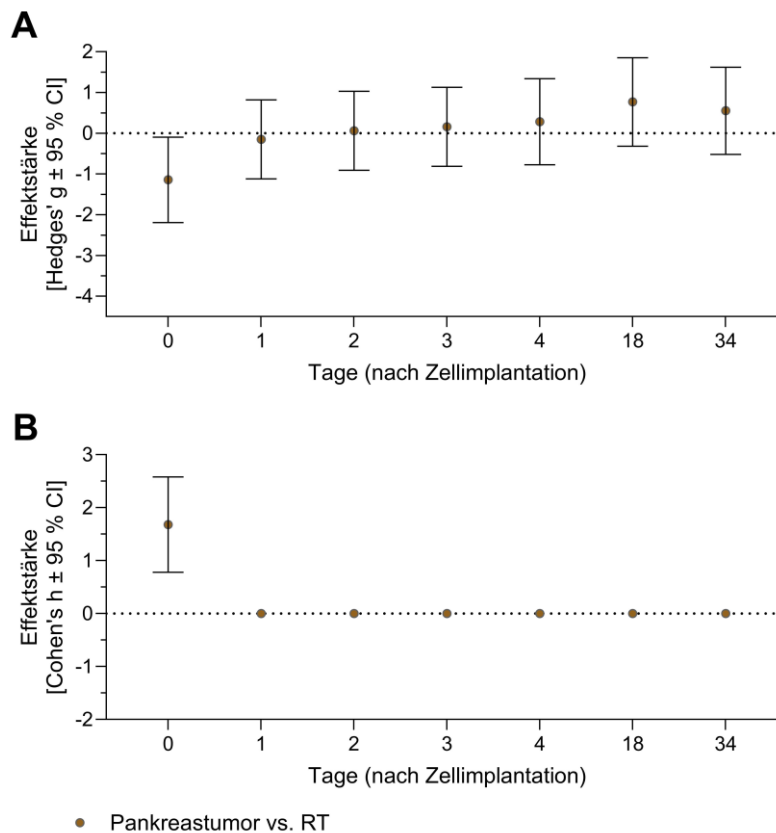


Abbildung 10: Effektstärken - Pankreaskarzinom bei Mäusen

Graphische Darstellung der Effektstärke und des 95 % Konfidenzintervalls (Hedges' $g \pm 95\%$ CI) der telemetrisch erfassten Aktivität (**A**) sowie der Effektstärke und des 95 % Konfidenzintervalls (Cohens' $h \pm 95\%$ CI) der mit dem klinischen Scoring-System erfassten Aktivität (**B**) nach orthotopischer Pankreaskarzinomzellinjektion (Pankreastumor) bei Mäusen. Die Effektstärken basieren auf Vergleichen mit Daten vom Referenztag (RT, Tag -1 vor Zellinjektion). Bei der mit dem klinischen Score erfassten Aktivitätsänderung handelte es sich um eine Reduktion der Aktivität.

Krankheitsmodell:

Chemisch induziertes Post-Status-Epilepticus-Modell bei Ratten:

Bei den Ratten der Sham-Gruppe (Transmitter- und Elektrodenimplantation) ohne SE-Induktion zeigten sich während der Dunkelperiode bei Vergleichen mit Daten von Referenztagen (Mittelwert aus Tag -3 und -2 vor SE-Induktion) keine Änderungen in der telemetrisch erfassten Aktivität. Bei den Ratten mit chemischer SE-Induktion durch Pilocarpin (Pilocarpin-SE-Gruppe, Transmitter- und Elektroden-

implantation) zeigte sich bei Vergleichen mit Daten von Referenztagen eine Steigerung der telemetrisch erfassten Dunkelphasenaktivität in der frühen Post-Insult-Phase und in der Latenzphase.

In beiden Gruppen zeigten sich keine Änderungen in der mit dem klinischen Score erfassten Aktivität.

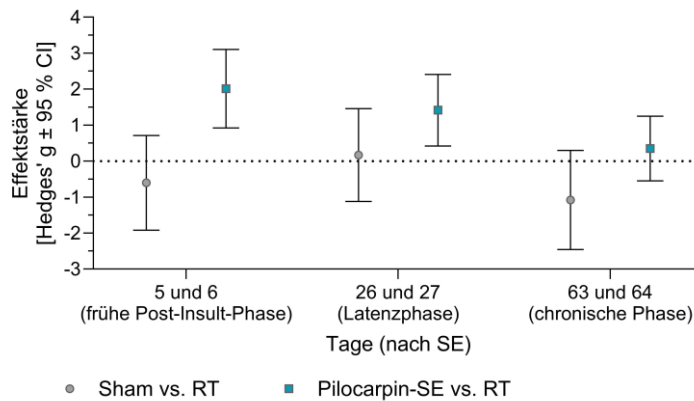


Abbildung 11: Effektstärken - Chemisch induziertes Post-Status-Epilepticus-Modell bei Ratten

Graphische Darstellung der Effektstärke und des 95 % Konfidenzintervalls (Hedges' $g \pm 95\%$ CI) der telemetrisch erfassten Aktivität bei Ratten nach chemischer Status-Epilepticus-Induktion durch Pilocarpin (Pilocarpin-SE-Gruppe) sowie der Sham-Gruppe. Die Effektstärken basieren auf Vergleichen mit Daten von den Referenztagen (RT, Mittelwert aus Tag -3 und -2 vor SE-Induktion). Bei den Tieren der Sham- und Pilocarpin-SE-Gruppe wurde ein subkutaner Transmitter und eine intrazerebrale Elektrode implantiert.

Elektrisch induziertes Post-Status-Epilepticus-Modell bei Ratten:

Bei den Ratten der Sham-Gruppe (Transmitter- und Elektrodenimplantation) ohne SE-Induktion zeigten sich während der Dunkelphase bei Vergleichen mit Daten von Referenztagen (Mittelwert aus Tag -2 und -1 vor SE-Induktion) keine Änderungen in der telemetrisch erfassten Aktivität. Bei den Ratten mit elektrischer SE-Induktion (Elektrischer-SE-Gruppe, Transmitter- und Elektrodenimplantation) zeigte sich bei Vergleichen mit Daten von Referenztagen eine Steigerung der telemetrisch erfassten Dunkelphasenaktivität in der Latenzphase.

In beiden Gruppen zeigten sich keine Änderungen in der mit dem klinischen Score erfassten Aktivität.

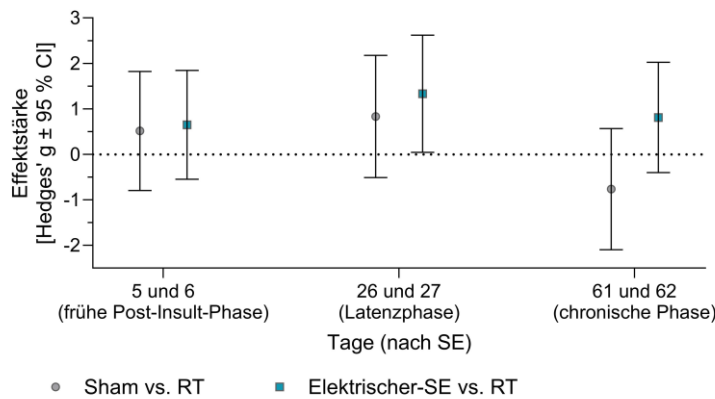


Abbildung 12: Effektstärken - Elektrisch induziertes Post-Status-Epilepticus-Modell bei Ratten

Graphische Darstellung der Effektstärke und des 95 % Konfidenzintervalls (Hedges' $g \pm 95\%$ CI) der telemetrisch erfassten Aktivität bei Ratten nach elektrischer Status-Epilepticus-Induktion (Elektrischer-SE-Gruppe) sowie der Sham-Gruppe. Die Effektstärken basieren auf Vergleichen mit Daten von den Referenztagen (RT, Mittelwert aus Tag -2 und -1 vor SE-Induktion). Bei den Tieren der Sham- und Elektrischen-SE-Gruppe wurde ein subkutaner Transmitter und eine intrazerebrale Elektrode implantiert.

Amygdala-Kindling-Modell bei Ratten:

Bei den Ratten der Kontroll-Gruppe (Transmitterimplantation), sowie bei den Ratten der Kindling-Gruppe (Transmitter- und Elektrodenimplantation, sowie wiederholte elektrische Stimulationen) zeigten sich während der Dunkelphase bei Vergleichen mit Daten von Referenztagen (Mittelwert aus Tag -3 und -2 vor Beginn des Amygdala-Kindlings) keine Änderungen in der telemetrisch erfassten Aktivität. Die Daten der Kindling-Gruppe vom dritten Tag nach Beginn des Kindlings mussten aufgrund von über 20 % fehlender telemetrisch erfasster Aktivitätsdaten exkludiert werden (Da an diesem Tag 50 % der Kindling-Tiere bereits generalisierte Anfälle zeigten, wurden die Daten von dem letzten Tag der Phase fokaler Anfälle exkludiert). Bei den Tieren der Sham-Gruppe (Transmitter- und Elektrodenimplantation) zeigte sich bei Vergleichen mit Daten von Referenztagen eine Reduktion der telemetrisch erfassten Aktivität am 14. und 16. Tag.

In allen Gruppen zeigten sich bei Vergleichen mit Daten von Referenztagen keine Änderungen in der mit dem klinischen Score erfassten Aktivität.

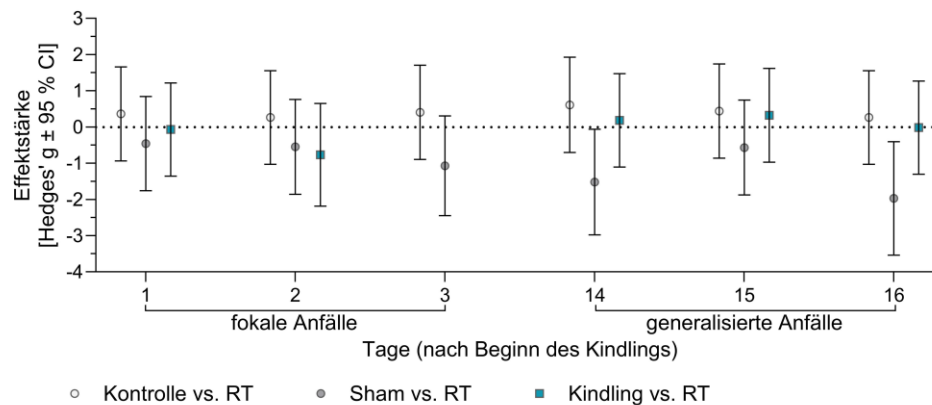


Abbildung 13: Effektstärken - Amygdala-Kindling-Modell bei Ratten

Graphische Darstellung der Effektstärke und des 95 % Konfidenzintervalls (Hedges' $g \pm 95 \% CI$) der telemetrisch erfassten Aktivität bei Ratten nach wiederholten elektrischen Stimulationen (Kindling) sowie der Kontroll- und Sham-Gruppe. Die Effektstärken basieren auf Vergleichen mit Daten von den Referenztagen (RT, Mittelwert aus Tag -3 und -2 vor Beginn des Kindlings). Bei den Tieren der Kontroll-Gruppe wurde lediglich ein subkutaner Transmitter implantiert, während bei den Tieren der Sham- und Kindling-Gruppe ein subkutaner Transmitter und eine intrazerebrale Elektrode implantiert wurde. Die Daten der Kindling-Gruppe vom dritten Tag nach Beginn des Kindlings mussten aufgrund von über 20 % fehlender telemetrisch erfasster Aktivitätsdaten exkludiert werden.

Intrakranielles Gliom bei Ratten (Humaner Endpunkt):

Nach intrakranieller BT4Ca-Zellinjektion bei Ratten zeigte sich während der resultierenden Glioblastom-Entwicklung bei Vergleichen mit Daten vom Referenztag (Tag -3 vor intrakranieller Zellinjektion bzw. aufgrund der unterschiedlichen Überlebenszeit ca. Tag -17 vor Erreichen eines humanen Endpunktes) eine Reduktion der telemetrisch erfassten Dunkelphasenaktivität. Diese Reduktion zeigte sich am zweiten Tag vor Erreichen eines humanen Endpunktes sowie am Tag des Endpunktes selbst.

Ab dem zweiten Tag vor Erreichen eines humanen Endpunktes zeigte sich bis zum Erreichen des Endpunktes eine Reduktion in der mit dem klinischen Score erfassten Aktivität.

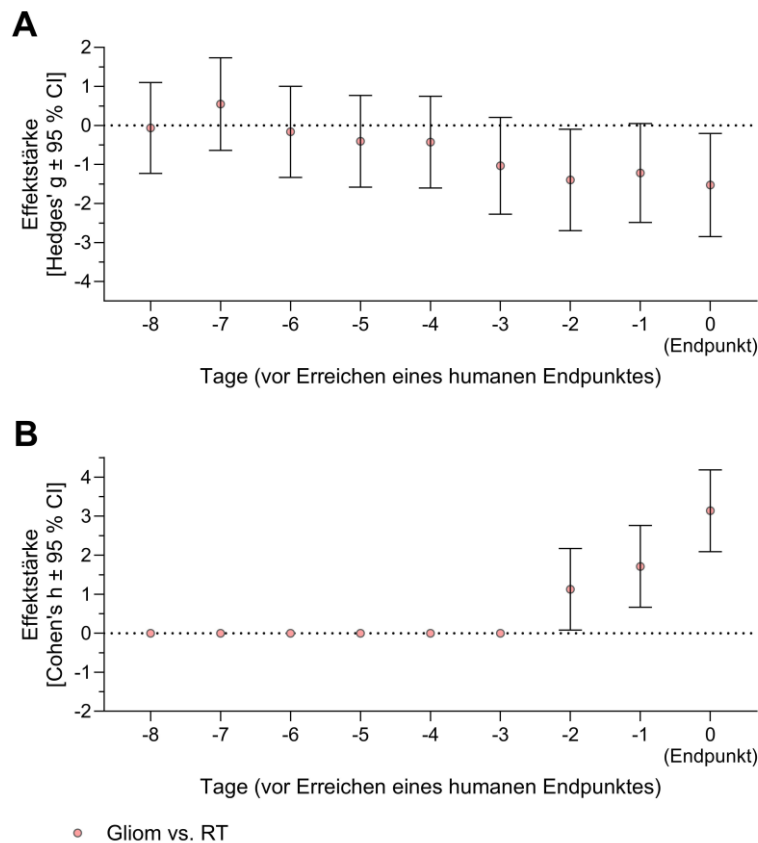


Abbildung 14: Effektstärken - Intrakranielles Gliom bei Ratten (Humaner Endpunkt)

Graphische Darstellung der Effektstärke und des 95 % Konfidenzintervalls (Hedges' $g \pm 95\%$ CI) der telemetrisch erfassten Aktivität (**A**) sowie der Effektstärke und des 95 % Konfidenzintervalls (Cohens' $h \pm 95\%$ CI) der mit dem klinischen Scoring-System erfassten Aktivität (**B**) nach intrakranieller BT4Ca-Zellinjektion (Gliom) bei Ratten. Die Effektstärken basieren auf Vergleichen mit Daten vom Referenztag (RT, Tag -3 vor Zellinjektion bzw. ca. Tag -17 vor Erreichen eines humanen Endpunktes). Bei den mit dem klinischen Score erfassten Aktivitätsänderungen handelte es sich um eine Reduktion der Aktivität.

Experimentelle Technik:

Nicht-kabelgebundene vs. kabelgebundene Aufzeichnungen bei Ratten:

Sowohl in der nicht-kabelgebundenen als auch in der kabelgebundenen Gruppe zeigten sich nach Beginn der experimentellen Aufzeichnungen bei Vergleichen mit Daten von Referenztagen (Mittelwert aus Tag -2 und -1 vor Beginn der experimentellen Aufzeichnungsphase) keine Änderungen in der telemetrisch erfassten Aktivität während der Dunkelphase.

Es zeigten sich ebenso in beiden Gruppen keine Änderungen in der mit dem klinischen Score erfassten Aktivität.

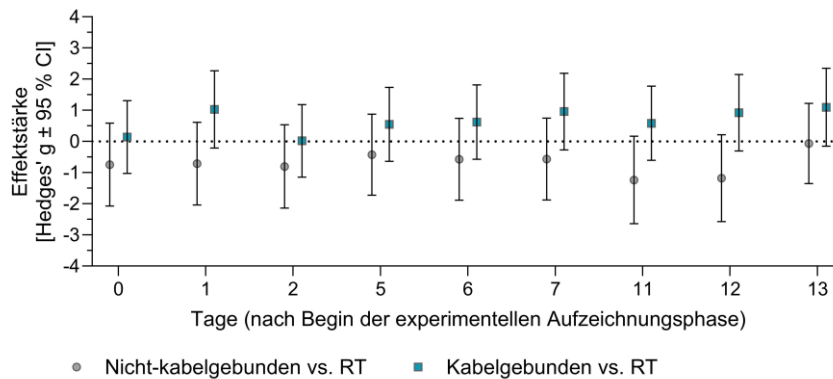


Abbildung 15: Effektstärken - Nicht-kabelgebundene vs. kabelgebundene Aufzeichnungen bei Ratten

Graphische Darstellung der Effektstärke und des 95 % Konfidenzintervalls (Hedges' $g \pm 95\%$ CI) der telemetrisch erfassten Aktivität während nicht-kabelgebundener oder kabelgebundener Aufzeichnungen bei Ratten. Die Effektstärken basieren auf Vergleichen mit Daten von den Referenztagen (RT, Mittelwert aus Tag -2 und -1 vor Beginn der experimentellen Aufzeichnungsphase).

Tabelle 6: Effektstärken der telemetrisch erfassten Dunkelphasenaktivität basierend auf Vergleichen mit Daten von Referenztagen

Tabellarische Darstellung der Effektstärke Hedges'g und des 95% Konfidenzintervalls (CI) der telemetrisch erfassten Aktivität für die Experimentalgruppen an den jeweiligen Experimentaltagen. Die Effektstärken basieren auf Vergleichen mit Daten von den Referenztagen. Zusätzlich ist die Stichprobengröße (n) der Experimentalgruppen an den Referenztagen im Vergleich zur Stichprobengröße am Experimentaltag dargestellt.

Modell/ Inter- vention	Experimen- tag[e]	Experimental- gruppe	Stichprobengröße (n) [Referenztag[e] vs. Experimentaltag[e]]	Hedges'g (95 % CI)
Intraperitoneale Transmitterimplantation (Maus)	0	Carpofen	7 vs. 7	-5,31 (-2,83; -7,79)
		Metamizol	6 vs. 6	-2,76 (-0,96; -4,55)
	1	Carpofen	7 vs. 7	-2,75 (-1,13; -4,38)
		Metamizol	6 vs. 6	-2,42 (-0,73; -4,12)
	2	Carpofen	7 vs. 7	-2,78 (-1,15; -4,41)
		Metamizol	6 vs. 6	-2,22 (-0,58; -3,85)
	3	Carpofen	7 vs. 7	-2,99 (-1,29; -4,68)
		Metamizol	6 vs. 6	-1,93 (-0,37; -3,48)
	4	Carpofen	7 vs. 7	-2,06 (-0,62; -3,50)
		Metamizol	6 vs. 6	-1,14 (0,25; -2,53)
	5	Carpofen	7 vs. 6	-1,31 (0,04; -2,65)
		Metamizol	6 vs. 5	-1,21 (0,28; -2,70)
	7	Carpofen	7 vs. 7	-0,69 (0,51; -1,88)
		Metamizol	6 vs. 6	-1,46 (-0,02; -2,91)
	14	Carpofen	7 vs. 7	0,14 (1,31; -1,02)
		Metamizol	6 vs. 6	-0,07 (1,21; -1,36)
Subkutane Transmitterimplantation (Maus)	0	Transmitter s.c.	6 vs. 6	-0,87 (0,48; -2,21)
	1	Transmitter s.c.	6 vs. 6	0,19 (1,48; -1,10)
	2	Transmitter s.c.	6 vs. 6	0,67 (1,99; -0,65)
	3	Transmitter s.c.	6 vs. 6	0,76 (2,09; -0,57)
	7	Transmitter s.c.	6 vs. 6	0,62 (1,94; -0,69)
	14	Transmitter s.c.	6 vs. 6	0,37 (1,67; -0,92)
Partielle Hepatektomie (PH) (Ratte)	1	50 %-PH	9 vs. 8	-1,23 (-0,10; -2,36)
		70 %-PH	7 vs. 7	-1,59 (-0,25; -2,93)
	2	50 %-PH	9 vs. 5	exkludiert
		70 %-PH	7 vs. 6	-1,23 (0,11; -2,56)
	3	50 %-PH	9 vs. 9	-1,18 (-0,10; -2,27)
		70 %-PH	7 vs. 6	-1,29 (0,06; -2,63)
	6	50 %-PH	9 vs. 8	0,19 (1,23; -0,85)
		70 %-PH	7 vs. 4	exkludiert

Pankreaskarzinom (Maus)	0	Pankreastumor	10 vs. 9	-1,15 (-0,10; -2,19)
	1	Pankreastumor	10 vs. 9	-0,15 (0,82; -1,12)
	2	Pankreastumor	10 vs. 9	0,06 (1,03; -0,91)
	3	Pankreastumor	10 vs. 9	0,16 (1,13; -0,81)
	4	Pankreastumor	10 vs. 7	0,28 (1,33; -0,78)
	18	Pankreastumor	10 vs. 7	0,77 (1,85; -0,32)
	34	Pankreastumor	10 vs. 7	0,55 (1,62; -0,52)
Chemisch induziertes Post-Status-Epilepticus- Modell (Ratte)	5 bis 6	Sham	6 vs. 6	-0,60 (0,71; -1,92)
		Pilocarpin SE	11 vs. 11	2,01 (3,11; 0,92)
	26 bis 27	Sham	6 vs. 6	0,17 (1,46; -1,12)
		Pilocarpin SE	11 vs. 11	1,42 (2,41; 0,42)
	63 bis 64	Sham	6 vs. 6	-1,08 (0,30; -2,45)
		Pilocarpin SE	11 vs. 11	0,35 (1,25; -0,55)
Elektrisch induziertes Post-Status-Epilepticus- Modell (Ratte)	5 bis 6	Sham	6 vs. 6	0,52 (1,82; -0,79)
		Elektrischer SE	7 vs. 7	0,65 (1,85; -0,54)
	26 bis 27	Sham	6 vs. 6	0,83 (2,18; -0,51)
		Elektrischer SE	7 vs. 7	1,33 (2,62; 0,05)
	61 bis 62	Sham	6 vs. 6	-0,76 (0,57; -2,09)
		Elektrischer SE	7 vs. 7	0,81 (2,02; -0,40)
Amygdala-Kindling-Modell (Ratte)	1	Kontrolle	6 vs. 6	0,36 (1,66; -0,93)
		Sham	6 vs. 6	-0,46 (0,85; -1,76)
		Kindling	6 vs. 6	-0,07 (1,22; -1,35)
	2	Kontrolle	6 vs. 6	0,26 (1,56; -1,03)
		Sham	6 vs. 6	-0,55 (0,76; -1,86)
		Kindling	6 vs. 5	-0,77 (0,65; -2,19)
	3	Kontrolle	6 vs. 6	0,41 (1,71; -0,89)
		Sham	6 vs. 6	-1,07 (0,31; -2,45)
		Kindling	6 vs. 3	exkludiert
	14	Kontrolle	6 vs. 6	0,61 (1,93; -0,70)
		Sham	6 vs. 6	-1,52 (-0,06; -2,98)
		Kindling	6 vs. 6	0,19 (1,47; -1,10)
	15	Kontrolle	6 vs. 6	0,44 (1,74; -0,86)
		Sham	6 vs. 6	-0,56 (0,75; -1,88)
		Kindling	6 vs. 6	0,32 (1,62; -0,97)
	16	Kontrolle	6 vs. 6	0,27 (1,56; -1,03)
		Sham	6 vs. 6	-1,97 (-0,40; -3,54)
		Kindling	6 vs. 6	-0,01 (1,27; -1,30)

Intrakranielles Gliom (Ratte)	-8	Gliom	7 vs. 7	-0,07 (1,10; -1,23)
	-7	Gliom	7 vs. 7	0,55 (1,73; -0,64)
	-6	Gliom	7 vs. 7	-0,17 (1,00; -1,33)
	-5	Gliom	7 vs. 7	-0,41 (0,77; -1,59)
	-4	Gliom	7 vs. 7	-0,43 (0,75; -1,61)
	-3	Gliom	7 vs. 7	-1,04 (0,20; -2,28)
	-2	Gliom	7 vs. 7	-1,40 (-0,10; -2,70)
	-1	Gliom	7 vs. 7	-1,22 (0,05; -2,49)
	0 (Endpunkt)	Gliom	7 vs. 7	-1,53 (-0,21; -2,85)
Nicht-kabelgebundene vs. kabelgebundene Aufzeichnungen (Ratte)	0	Nicht-kabelgebunden	6 vs. 6	-0,74 (0,59; -2,07)
		Kabelgebunden	7 vs. 7	0,14 (1,31; -1,02)
	1	Nicht-kabelgebunden	6 vs. 6	-0,71 (0,61; -2,04)
		Kabelgebunden	7 vs. 7	1,03 (2,27; -0,21)
	2	Nicht-kabelgebunden	6 vs. 6	-0,80 (0,54; -2,14)
		Kabelgebunden	7 vs. 7	0,02 (1,19; -1,14)
	5	Nicht-kabelgebunden	6 vs. 6	-0,42 (0,88; -1,72)
		Kabelgebunden	7 vs. 7	0,55 (1,73; -0,64)
	6	Nicht-kabelgebunden	6 vs. 6	-0,57 (0,74; -1,88)
		Kabelgebunden	7 vs. 7	0,62 (1,82; -0,57)
	7	Nicht-kabelgebunden	6 vs. 6	-0,56 (0,75; -1,88)
		Kabelgebunden	7 vs. 7	0,96 (2,19; -0,27)
	11	Nicht-kabelgebunden	6 vs. 6	-1,23 (0,17; -2,64)
		Kabelgebunden	7 vs. 7	0,58 (1,77; -0,60)
	12	Nicht-kabelgebunden	6 vs. 6	-1,18 (0,22; -2,57)
		Kabelgebunden	7 vs. 7	0,93 (2,15; -0,30)
	13	Nicht-kabelgebunden	6 vs. 6	-0,06 (1,23; -1,35)
		Kabelgebunden	7 vs. 7	1,10 (2,35; -0,15)

Tabelle 7: Effektstärken der mit klinischen Scoring-Systemen erfassten Aktivität basierend auf Vergleichen mit Daten von Referenztagen

Tabellarische Darstellung der Effektstärke Cohens' h und des 95 % Konfidenzintervalls (CI) der mit den klinischen Scoring-Systemen erfassten Aktivität für die Experimentalgruppen an den jeweiligen Experimentaltagen. Die Effektstärken basieren auf Vergleichen mit Daten von den Referenztagen. Zusätzlich ist die Stichprobengröße (n) der Experimentalgruppen an den Referenztagen im Vergleich zur Stichprobengröße am Experimentaltag dargestellt. (* = Experimentaltage, an denen keine Änderungen der mit den klinischen Scoring-Systemen erfassten Aktivität auftraten und an denen der Stichprobenumfang entsprechend gleich ausfiel, wurden in einer Zeile zusammengefasst).

Modell/ Intervention	Experimental- tag[e]*	Experimental- gruppe	Stichprobengröße (n) [Referenztag[e] vs. Experimentaltag[e]]	Cohens' h (95 % CI)
Intraperitoneale Transmitterimplan- tation (Maus)	0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 14	Carpofen	7 vs. 7	0
		Metamizol	nicht anwendbar	nicht anwendbar
Subkutane Transmitterimplantation (Maus)	0, 1, 2, 3, 7, 14	Transmitter s.c.	6 vs. 6	0
Partielle Hepatektomie (PH) (Ratte)	1	50 %-PH	10 vs. 10	1,16 (2,04; 0,28)
		70 %-PH	7 vs. 7	0,78 (1,82; - 0,27)
	2	50 %-PH	10 vs. 10	0
		70 %-PH	7 vs. 7	0,78 (1,82; - 0,27)
	3, 6	50 %-PH	10 vs. 10	0
		70 %-PH	7 vs. 7	0
Pankreaskarzinom (Maus)	0	Pankreastumor	10 vs. 9	1,68 (2,58; 0,78)
	1, 2, 3	Pankreastumor	10 vs. 9	0
	4, 18, 34	Pankreastumor	10 vs. 7	0

Chemisch induziertes Post-Status-Epilepticus-Modell (Ratte)	5 bis 6, 26 bis 27, 63 bis 64	Sham	6 vs. 6	0
		Pilocarpin SE	11 vs. 11	0
Elektrisch induziertes Post-Status-Epilepticus-Modell (Ratte)	5 bis 6, 26 bis 27, 61 bis 62	Sham	6 vs. 6	0
		Elektrischer SE	7 vs. 7	0
Amygdala-Kindling-Modell (Ratte)	1, 2, 3, 14, 15, 16	Kontrolle	6 vs. 6	0
		Sham	6 vs. 6	0
		Kindling	6 vs. 6	0
Intrakranielles Gliom (Ratte)	-8, -7, -6, -5, -4, -3	Gliom	7 vs. 7	0
	-2	Gliom	7 vs. 7	1,13 (2,18; 0,08)
	-1	Gliom	7 vs. 7	1,71 (2,76; 0,67)
	0 (Endpunkt)	Gliom	7 vs. 7	3,14 (4,19; 2,09)
Nicht-kabelgebundene vs. kabelgebundene Aufzeichnungen (Ratte)	0, 1, 2, 5, 6, 7, 11, 12, 13	Nicht-kabelgebunden	6 vs. 6	0
		Kabelgebunden	7 vs. 7	0

1.1.2. Effektstärken der aktivitäts-assoziierten Parameter basierend auf Vergleichen mit Daten von Referenzgruppen

Operative Intervention und Krankheitsmodell:

Chemisch induziertes Post-Status-Epilepticus-Modell bei Mäusen:

Bei den Mäusen mit chemischer SE-Induktion durch intrazerebrale Kainat-Injektion (Kainat-SE-Gruppe, Transmitter- und Elektrodenimplantation) zeigte sich in der telemetrisch erfassten Aktivität bei Vergleichen mit Daten der Kontroll-Gruppe (Transmitterimplantation) eine Reduktion der Dunkelphasenaktivität am ersten postoperativen Tag, während sich bei Vergleichen mit Daten der Sham-Gruppe (Transmitter- und Elektrodenimplantation sowie intrazerebrale Kochsalz-Injektion) keine Änderungen in der Hell- und Dunkelphasenaktivität zeigten.

Bei Vergleichen mit Daten der Kontroll- und Sham-Gruppe ohne SE-Induktion zeigte sich bei den Tieren mit SE-Induktion (Kainat-SE-Gruppe) am ersten postoperativen Tag eine Reduktion in der mit dem klinischen Score erfassten Aktivität.

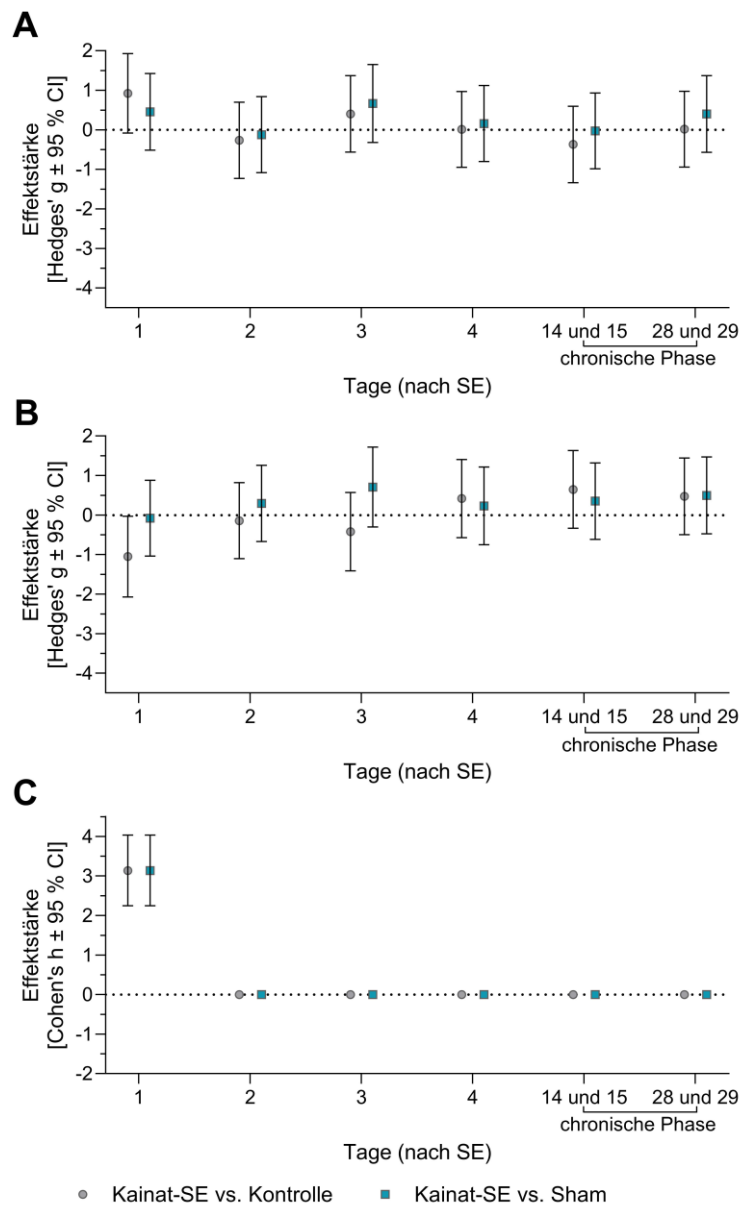


Abbildung 16: Effektstärken - Chemisch induziertes Post-Status-Epilepticus-Modell bei Mäusen

Graphische Darstellung der Effektstärke und des 95 % Konfidenzintervalls (Hedges' g $\pm$ 95 % CI) der telemetrisch erfassten Aktivität getrennt für die Hell- (A) und Dunkelphase (B) sowie der Effektstärke und des 95 % Konfidenzintervalls (Cohen's h $\pm$ 95 % CI) der mit dem klinischen Scoring-System erfassten Aktivität (C) nach chemischer Status-Epilepticus-Induktion durch Kainat (Kainat-SE-Gruppe) bei Mäusen. Die Effektstärken basieren auf Vergleichen mit Daten von den Referenzgruppen (Kontrolle und Sham). Bei den Tieren der Kontroll-Gruppe wurde lediglich ein subkutaner Transmitter implantiert, während bei den Tieren der Sham- und Kainat-SE-Gruppe ein subkutaner Transmitter und eine intrazerebrale Elektrode implantiert wurde. Bei den mit dem klinischen Score erfassten Aktivitätsänderungen handelte es sich um eine Reduktion der Aktivität.

*Krankheitsmodell:***Chemisch induziertes Post-Status-Epilepticus-Modell bei Ratten:**

Bei den Ratten mit chemischer SE-Induktion durch Pilocarpin (Pilocarpin-SE-Gruppe, Transmitter- und Elektrodenimplantation) zeigte sich bei Vergleichen mit Daten von der Sham-Gruppe (Transmitter- und Elektrodenimplantation) ohne SE-Induktion eine Steigerung in der telemetrisch erfassten Dunkelphasenaktivität in der frühen Post-Insult- und der Latenzphase des Modells und eine Steigerung der Hellphasenaktivität in der frühen Post-Insult-Phase.

Bei Vergleichen mit Daten von der Sham-Gruppe zeigte sich bei den Tieren der Pilocarpin-SE-Gruppe keine Änderung in der mit dem klinischen Score erfassten Aktivität.

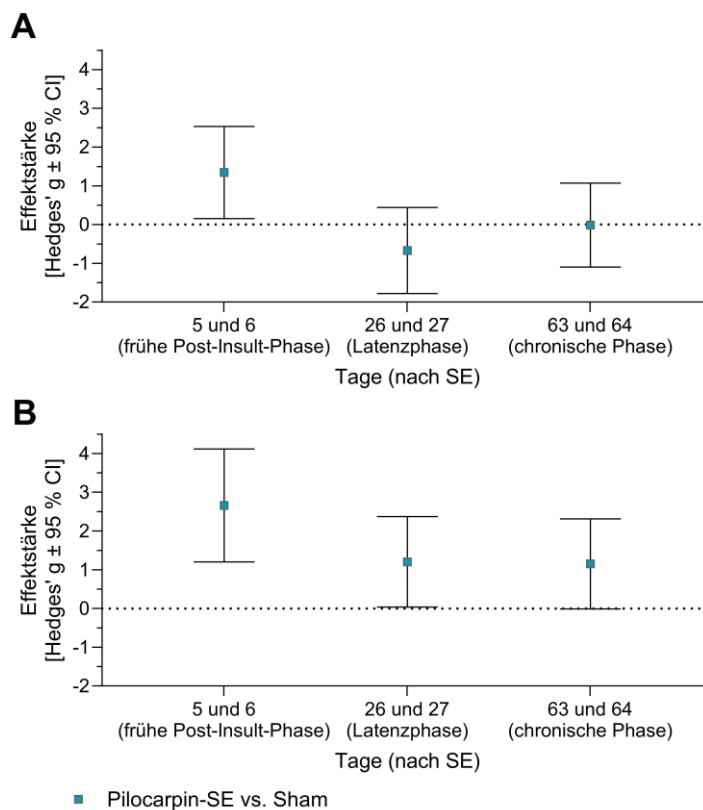


Abbildung 17: Effektstärken - Chemisch induziertes Post-Status-Epilepticus-Modell bei Ratten

Graphische Darstellung der Effektstärke und des 95 % Konfidenzintervalls (Hedges' g ± 95 % CI) der telemetrisch erfassten Aktivität nach chemischer Status-Epilepticus-Induktion durch Pilocarpin (Pilocarpin-SE) bei Ratten getrennt für die Hell- (A) und Dunkelphase (B). Die Effektstärken basieren auf Vergleichen mit Daten von der Referenzgruppe (Sham).

Bei den Tieren der Sham- und Pilocarpin-SE-Gruppe wurde ein subkutaner Transmitter und eine intrazerebrale Elektrode implantiert.

Elektrisch induziertes Post-Status-Epilepticus-Modell bei Ratten:

Bei den Ratten mit elektrischer SE-Induktion (Elektrischer-SE-Gruppe, Transmitter- und Elektrodenimplantation) zeigte sich bei Vergleichen mit Daten von der Sham-Gruppe (Transmitter- und Elektrodenimplantation) ohne SE-Induktion eine Steigerung der telemetrisch erfassten Hellphasenaktivität in der frühen Post-Insult-Phase.

Bei Vergleichen mit Daten von der Sham-Gruppe zeigte sich bei den Tieren der Elektrischen-SE-Gruppe keine Änderung in der mit dem klinischen Score erfassten Aktivität.

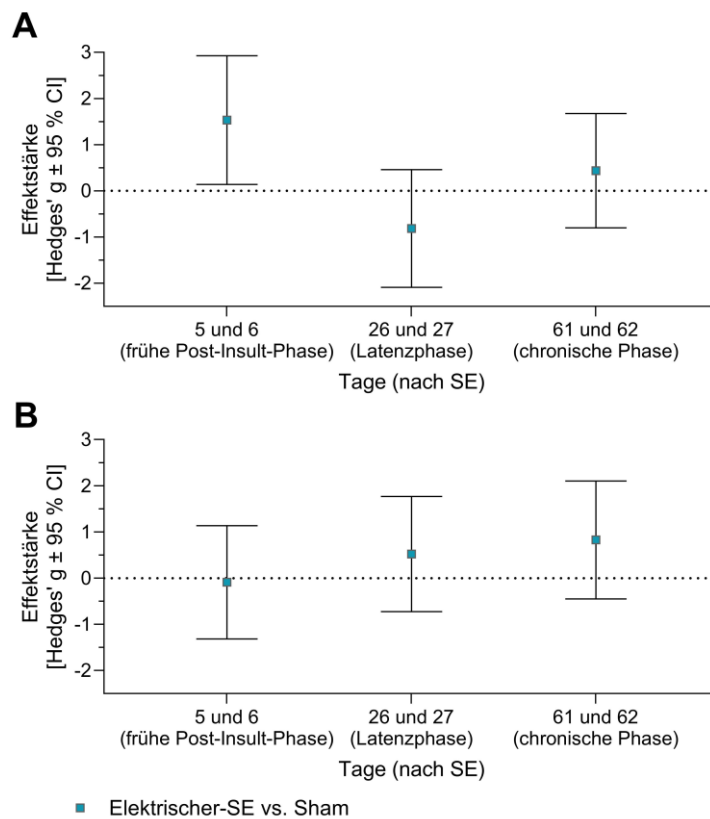


Abbildung 18: Effektstärken - Elektrisch induziertes Post-Status-Epilepticus-Modell bei Ratten

Graphische Darstellung der Effektstärke und des 95 % Konfidenzintervalls (Hedges' g ± 95 % CI) der telemetrisch erfassten Aktivität nach elektrischer Status-Epilepticus-Induktion (Elektrischer-SE) bei Ratten getrennt für die Hell- (A) und Dunkelphase (B). Die Effektstärken basieren auf Vergleichen mit Daten von der Referenzgruppe (Sham). Bei den

Tieren der Sham- und Elektrischen-SE-Gruppe wurde ein subkutaner Transmitter und eine intrazerebrale Elektrode implantiert.

Amygdala-Kindling-Modell bei Ratten:

Bei den Ratten der Kindling-Gruppe (Transmitter- und Elektrodenimplantation, sowie wiederholte elektrische Stimulationen) zeigte sich bei Vergleichen mit Daten von der Kontroll- (Transmitterimplantation) und Sham-Gruppe (Transmitter- und Elektrodenimplantation) eine Steigerung in der telemetrisch erfassten Hellphasenaktivität am 15. Tag nach Beginn des Kindlings und somit während der Phase generalisierter Anfälle. Die Daten der telemetrisch erfassten Dunkelphasenaktivität am dritten Tag nach Beginn des Kindlings mussten aufgrund von über 20 % fehlender Daten exkludiert werden.

Bei Vergleichen mit Daten von der Kontroll- und Sham-Gruppe zeigte sich bei den Tieren der Kindling-Gruppe keine Änderung in der mit dem klinischen Score erfassten Aktivität.

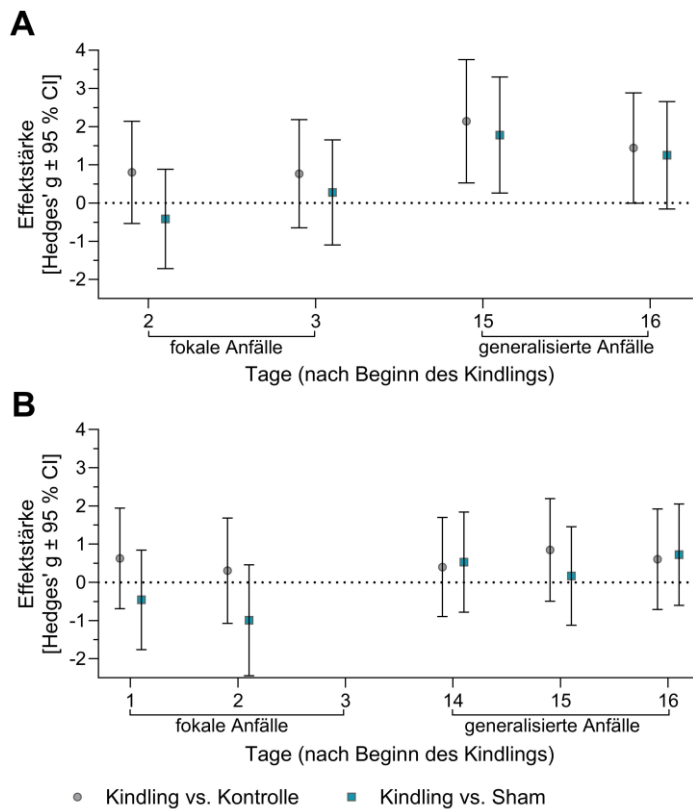


Abbildung 19: Effektstärken - Amygdala-Kindling-Modell bei Ratten

Graphische Darstellung der Effektstärke und des 95 % Konfidenzintervalls (Hedges' $g \pm 95\%$ CI) der telemetrisch erfassten Aktivität nach wiederholten elektrischen Stimulationen (Kindling) bei Ratten getrennt für die Hell- (A) und Dunkelphase (B). Die Effektstärken basieren auf Vergleichen mit Daten von den Referenzgruppen (Kontrolle und Sham). Bei den Tieren der Kontroll-Gruppe wurde lediglich ein subkutaner Transmitter implantiert, während bei den Tieren der Sham- und Kindling-Gruppe ein subkutaner Transmitter und eine intrazerebrale Elektrode implantiert wurde. Die Daten der telemetrisch erfassten Dunkelphasenaktivität am dritten Tag nach Beginn des Kindlings mussten aufgrund von über 20 % fehlender Daten exkludiert werden.

Tabelle 8: Effektstärken der telemetrisch erfassten Hell- und Dunkelphasenaktivität basierend auf Vergleichen mit Daten von einer Referenzgruppe

Tabellarische Darstellung der Effektstärke Hedges'g und des 95 % Konfidenzintervalls (CI) der telemetrisch erfassten Aktivität für die Experimentalgruppen an den jeweiligen Experimentaltagen. Die Effektstärken basieren auf Vergleichen mit Daten von den Referenzgruppen. Zusätzlich ist die Stichprobengröße der Referenzgruppen (n_Ref) und Experimentalgruppen (n_Exp) für die Hell- und Dunkelphase der jeweiligen Experimentaltage dargestellt. (RT = Referenztag[e]; / = keine Angabe aufgrund von nicht durchgeführter Erfassung zum entsprechenden Zeitpunkt).

Modell	Tag[e]	Experimental- gruppe	n_Ref [hell; dunkel]	n_Exp [hell; dunkel]	Hedges'g (95 % CI) Hellphase	Hedges'g (95 % CI) Dunkelphase
Chemisch induziertes Post-Status-Epilepticus-Modell (Maus)	1	Kainat SE	8; 8 Kontrolle	12; 12	0,92 (1,93; -0,09)	-1,05 (-0,03; -2,07)
	2	Kainat SE	8; 8 Kontrolle	12; 12	-0,27 (0,70; -1,23)	-0,14 (0,82; -1,10)
	3	Kainat SE	8; 8 Kontrolle	12; 11	0,40 (1,37; -0,57)	-0,42 (0,57; -1,41)
	4	Kainat SE	8; 8 Kontrolle	12; 11	0,01 (0,97; -0,95)	0,42 (1,41; -0,57)
	14 bis 15	Kainat SE	8; 8 Kontrolle	12; 12	-0,37 (0,60; -1,34)	0,65 (1,63; -0,33)
	28 bis 29	Kainat SE	8; 8 Kontrolle	12; 12	0,01 (0,97; -0,95)	0,48 (1,45; -0,50)
	1	Kainat SE	8; 8 Sham	12; 12	0,45 (1,42; -0,52)	-0,08 (0,88; -1,04)
	2	Kainat SE	8; 8 Sham	12; 12	-0,12 (0,84; -1,08)	0,30 (1,26; -0,67)
	3	Kainat SE	8; 8 Sham	12; 11	0,67 (1,65; -0,32)	0,71 (1,72; -0,30)
	4	Kainat SE	8; 8 Sham	12; 11	0,16 (1,12; -0,80)	0,23 (1,22; -0,75)
	14 bis 15	Kainat SE	8; 8 Sham	12; 12	-0,03 (0,93; -0,99)	0,35 (1,32; -0,61)
	28 bis 29	Kainat SE	8; 8 Sham	12; 12	0,40 (1,37; -0,57)	0,50 (1,47; -0,47)
Chemisch induziertes Post-Status-Epilepticus-Modell (Ratte)	-3 bis -2 (RT)	Pilocarpin SE	6; 6 Sham	11; 11	0,66 (1,77; -0,45)	0,10 (1,19; -0,98)
	5 bis 6	Pilocarpin SE	6; 6 Sham	11; 11	1,34 (2,53; 0,15)	2,66 (4,12; 1,21)
	26 bis 27	Pilocarpin SE	6; 6 Sham	11; 11	-0,67 (0,44; -1,78)	1,21 (2,37; 0,04)
	63 bis 64	Pilocarpin SE	6; 6 Sham	11; 11	-0,01 (1,07; -1,10)	1,15 (2,31; -0,01)

Elektrisch induziertes Post-Status-Epilepticus-Modell (Ratte)	-2 bis -1 (RT)	Elektrischer SE	6; 6 Sham	7; 7	-0,45 (0,79; -1,69)	-0,64 (0,61; -1,90)
	5 bis 6	Elektrischer SE	6; 6 Sham	7; 7	1,53 (2,92; 0,14)	-0,09 (1,14; -1,31)
	26 bis 27	Elektrischer SE	6; 6 Sham	7; 7	-0,82 (0,46; -2,09)	0,52 (1,77; -0,72)
	61 bis 62	Elektrischer SE	6; 6 Sham	7; 7	0,44 (1,67; -0,80)	0,83 (2,10; -0,45)
Amygdala-Kindling-Modell (Ratte)	-3 bis -2 (RT)	Kindling	6; 6 Kontrolle	6; 6	1,03 (2,39; -0,34)	1,23 (2,63; -0,17)
	1	Kindling	6; 6 Kontrolle	/; 6	/	0,63 (1,95; -0,69)
	2	Kindling	6; 6 Kontrolle	6; 5	0,80 (2,14; -0,53)	0,31 (1,68; -1,07)
	3	Kindling	6; 6 Kontrolle	5; 3	0,77 (2,18; -0,65)	exkludiert
	14	Kindling	6; 6 Kontrolle	/; 6	/	0,40 (1,70; -0,90)
	15	Kindling	6; 6 Kontrolle	6; 6	2,14 (3,75; 0,53)	0,85 (2,19; -0,49)
	16	Kindling	6; 6 Kontrolle	6; 6	1,44 (2,88; 0,00)	0,60 (1,92; -0,71)
	-3 bis -2 (RT)	Kindling	6; 6 Sham	6; 6	-0,85 (0,49; -2,20)	-1,03 (0,34; -2,40)
	1	Kindling	6; 6 Sham	/; 6	/	-0,46 (0,85; -1,76)
	2	Kindling	6; 6 Sham	6; 5	-0,42 (0,88; -1,72)	-0,99 (0,46; -2,44)
	3	Kindling	6; 6 Sham	5; 3	0,27 (1,65; -1,10)	exkludiert
	14	Kindling	6; 6 Sham	/; 6	/	0,53 (1,84; -0,78)
	15	Kindling	6; 6 Sham	6; 6	1,78 (3,30; 0,26)	0,17 (1,46; -1,12)
	16	Kindling	6; 6 Sham	6; 6	1,25 (2,66; -0,16)	0,73 (2,05; -0,60)

Tabelle 9: Effektstärken der mit klinischen Scoring-Systemen erfassten Aktivität basierend auf Vergleichen mit Daten von einer Referenzgruppe

Tabellarische Darstellung der Effektstärke Cohens' h und des 95 % Konfidenzintervalls (CI) der mit den klinischen Scoring-Systemen erfassten Aktivität für die Experimentalgruppen an den jeweiligen Experimentaltagen. Die Effektstärken basieren auf Vergleichen mit Daten von den Referenzgruppen. Zusätzlich ist die Stichprobengröße (n) der Referenz- und Experimentalgruppen dargestellt. (* = Experimentaltage, an denen keine Änderungen der mit den klinischen Scoring-Systemen erfassten Aktivität auftraten und an denen der Stichprobenumfang entsprechend gleich ausfiel, wurden in einer Zeile zusammengefasst; RT = Referenztag[e]).

Modell	Experimental-tag[e]*	Referenzgruppe	Experimentalgruppe	Stichprobengröße (n) [Referenzgruppe vs. Experimentalgruppe]	Cohens' h (95 % CI)
Chemisch induziertes Post-Status-Epilepticus-Modell (Maus)	1	Kontrolle	Kainat SE	8 vs. 12	3,14 (4,04; 2,25)
	2, 3, 4, 14 bis 15, 28 bis 29	Kontrolle	Kainat SE	8 vs. 12	0
	1	Sham	Kainat SE	8 vs. 12	3,14 (4,04; 2,25)
	2, 3, 4, 14 bis 15, 28 bis 29	Sham	Kainat SE	8 vs. 12	0
Chemisch induziertes Post-Status-Epilepticus-Modell (Ratte)	RT, 5 bis 6, 26 bis 27, 63 bis 64	Sham	Pilocarpin SE	6 vs. 11	0
Elektrisch induziertes Post-Status-Epilepticus-Modell (Ratte)	RT, 5 bis 6, 26 bis 27, 61 bis 62	Sham	Elektrischer SE	6 vs. 7	0
Amygdala-Kindling-Modell (Ratte)	RT, 1, 2, 3, 14, 15, 16	Kontrolle	Kindling	6 vs. 6	0
	RT, 1, 2, 3, 14, 15, 16	Sham	Kindling	6 vs. 6	0

1.1.3. Zusammenfassung der Ergebnisse

Tabelle 10: Direktionalität der mit aktivitäts-assozierten Parametern erfassten Aktivität basierend auf Vergleichen mit Daten von Referenztagen

Modell/ Intervention	Experimental- tag[e]*	Experimental- gruppe	Telemetrie (Dunkelphase)	Klinischer Score
Intraperitoneale Transmitterimplantation (Maus)	0	Carpofen	↓	↔
		Metamizol	↓	nicht anwendbar
	1	Carpofen	↓	↔
		Metamizol	↓	nicht anwendbar
	2	Carpofen	↓	↔
		Metamizol	↓	nicht anwendbar
	3	Carpofen	↓	↔
		Metamizol	↓	nicht anwendbar
	4	Carpofen	↓	↔
		Metamizol	↔	nicht anwendbar
	5	Carpofen	↔	↔
		Metamizol	↔	nicht anwendbar
	7	Carpofen	↔	↔
		Metamizol	↓	nicht anwendbar
	14	Carpofen	↔	↔
		Metamizol	↔	nicht anwendbar
Subkutane Transmitterimplantation (Maus)	0	Transmitter s.c.	↔	↔
	1	Transmitter s.c.	↔	↔
	2	Transmitter s.c.	↔	↔
	3	Transmitter s.c.	↔	↔
	7	Transmitter s.c.	↔	↔
	14	Transmitter s.c.	↔	↔
Partielle Hepatektomie (PH) (Ratte)	1	50 %-PH	↓	↓
		70 %-PH	↓	↔
	2	50 %-PH	exkludiert	↔
		70 %-PH	↔	↔
	3	50 %-PH	↓	↔
		70 %-PH	↔	↔
	6	50 %-PH	↔	↔
		70 %-PH	exkludiert	↔
Pankreaskarzinom (Maus)	0	Pankreastumor	↓	↓
	1	Pankreastumor	↔	↔
	2	Pankreastumor	↔	↔
	3	Pankreastumor	↔	↔
	4	Pankreastumor	↔	↔
	18	Pankreastumor	↔	↔
	34	Pankreastumor	↔	↔

Chemisch induziertes Post- Status-Epilepticus- Modell (Ratte)	5 bis 6	Sham	↔	↔
		Pilocarpin SE	↑	↔
	26 bis 27	Sham	↔	↔
		Pilocarpin SE	↑	↔
	63 bis 64	Sham	↔	↔
		Pilocarpin SE	↔	↔
Elektrisch induziertes Post- Status- Epilepticus- Modell (Ratte)	5 bis 6	Sham	↔	↔
		Elektrischer SE	↔	↔
	26 bis 27	Sham	↔	↔
		Elektrischer SE	↑	↔
	61 bis 62	Sham	↔	↔
		Elektrischer SE	↔	↔
Amygdala-Kindling-Modell (Ratte)	1	Kontrolle	↔	↔
		Sham	↔	↔
		Kindling	↔	↔
	2	Kontrolle	↔	↔
		Sham	↔	↔
		Kindling	↔	↔
	3	Kontrolle	↔	↔
		Sham	↔	↔
		Kindling	exkludiert	↔
	14	Kontrolle	↔	↔
		Sham	↓	↔
		Kindling	↔	↔
	15	Kontrolle	↔	↔
		Sham	↔	↔
		Kindling	↔	↔
	16	Kontrolle	↔	↔
		Sham	↓	↔
		Kindling	↔	↔
Intrakranielles Gliom (Ratte)	-8	Gliom	↔	↔
	-7	Gliom	↔	↔
	-6	Gliom	↔	↔
	-5	Gliom	↔	↔
	-4	Gliom	↔	↔
	-3	Gliom	↔	↔
	-2	Gliom	↓	↓
	-1	Gliom	↔	↓
	0 (Endpunkt)	Gliom	↓	↓

Nicht-kabelgebundene vs. kabelgebundene Aufzeichnungen (Ratte)	0	Nicht-kabelgebunden	↔	↔
		Kabelgebunden	↔	↔
	1	Nicht-kabelgebunden	↔	↔
		Kabelgebunden	↔	↔
	2	Nicht-kabelgebunden	↔	↔
		Kabelgebunden	↔	↔
	5	Nicht-kabelgebunden	↔	↔
		Kabelgebunden	↔	↔
	6	Nicht-kabelgebunden	↔	↔
		Kabelgebunden	↔	↔
	7	Nicht-kabelgebunden	↔	↔
		Kabelgebunden	↔	↔
	11	Nicht-kabelgebunden	↔	↔
		Kabelgebunden	↔	↔
	12	Nicht-kabelgebunden	↔	↔
		Kabelgebunden	↔	↔
	13	Nicht-kabelgebunden	↔	↔
		Kabelgebunden	↔	↔

↑ = gesteigerte Aktivität; ↓ = reduzierte Aktivität; ↔ = keine Aktivitätsänderung (Die 95 % Konfidenzintervalle der entsprechenden Effektstärke überschritten die Nulllinie); Rot hinterlegte Zellen repräsentieren unterschiedliche Ergebnisse, grün hinterlegte Zellen repräsentieren gleiche Ergebnisse (telemetrisch erfasste Aktivität vs. aktivitäts-assozierte Parameter im klinischen Score)

Tabelle 11: Direktionalität der mit aktivitäts-assoziierten Parametern erfassten Aktivität basierend auf Vergleichen mit Daten von einer Referenzgruppe

Modell	Tag[e]	Experimental- gruppe	Referenz- gruppe	Telemetrie (Hellphase)	Telemetrie (Dunkelphase)	Klinischer Score
Chemisch induziertes Post-Status-Epilepticus-Modell (Maus)	1	Kainat SE	Kontrolle	↔	↓	↓
	2	Kainat SE	Kontrolle	↔	↔	↔
	3	Kainat SE	Kontrolle	↔	↔	↔
	4	Kainat SE	Kontrolle	↔	↔	↔
	14 bis 15	Kainat SE	Kontrolle	↔	↔	↔
	28 bis 29	Kainat SE	Kontrolle	↔	↔	↔
	1	Kainat SE	Sham	↔	↔	↓
	2	Kainat SE	Sham	↔	↔	↔
	3	Kainat SE	Sham	↔	↔	↔
	4	Kainat SE	Sham	↔	↔	↔
	14 bis 15	Kainat SE	Sham	↔	↔	↔
	28 bis 29	Kainat SE	Sham	↔	↔	↔
Chemisch induziertes Post-Status-Epilepticus-Modell (Ratte)	-3 bis -2 (RT)	Pilocarpin SE	Sham	↔	↔	↔
	5 bis 6	Pilocarpin SE	Sham	↑	↑	↔
	26 bis 27	Pilocarpin SE	Sham	↔	↑	↔
	63 bis 64	Pilocarpin SE	Sham	↔	↔	↔

Elektrisch induziertes Post-Status-Epilepticus-Modell (Ratte)	-2 bis -1 (RT)	Elektrischer SE	Sham	↔	↔	↔
	5 bis 6	Elektrischer SE	Sham	↑	↔	↔
	26 bis 27	Elektrischer SE	Sham	↔	↔	↔
	61 bis 62	Elektrischer SE	Sham	↔	↔	↔
Amygdala-Kindling-Modell (Ratte)	-3 bis -2 (RT)	Kindling	Kontrolle	↔	↔	↔
	1	Kindling	Kontrolle	/	↔	↔
	2	Kindling	Kontrolle	↔	↔	↔
	3	Kindling	Kontrolle	↔	exkludiert	↔
	14	Kindling	Kontrolle	/	↔	↔
	15	Kindling	Kontrolle	↑	↔	↔
	16	Kindling	Kontrolle	↔	↔	↔
	-3 bis -2 (RT)	Kindling	Sham	↔	↔	↔
	1	Kindling	Sham	/	↔	↔
	2	Kindling	Sham	↔	↔	↔
	3	Kindling	Sham	↔	exkludiert	↔
	14	Kindling	Sham	/	↔	↔
	15	Kindling	Sham	↑	↔	↔
	16	Kindling	Sham	↔	↔	↔

↑ = gesteigerte Aktivität; ↓ = reduzierte Aktivität; ↔ = keine Aktivitätsänderung (Die 95 % Konfidenzintervalle der entsprechenden Effektstärke überschritten die Nulllinie); RT = Referenztag[e]; / = keine Angabe aufgrund von nicht durchgeführter Erfassung zum entsprechenden Zeitpunkt; Rot hinterlegte Zellen repräsentieren unterschiedliche Ergebnisse, grün hinterlegte Zellen repräsentieren gleiche Ergebnisse (telemetrisch erfasste Aktivität vs. aktivitäts-assoziierte Parameter im klinischen Score)

2. Validierung eines kamerabasierten Heimkäfigmonitoring-systems

Die Farbcodierung für die Daten einzelner Individuen wurde konstant für alle Graphen angewendet, sodass die Individuen immer durch dieselbe Farbe repräsentiert wurden. Abweichende Stichprobengrößen von $n = 6$ sind den Abbildungslegenden zu entnehmen.

2.1. Telemetrieaufzeichnungen

Die telemetrischen Aufzeichnungen im Heimkäfig umfassten das EKG, die Aktivität und die subkutane Körpertemperatur der Tiere. Die analysierten Parameter werden im Folgenden getrennt für die Hell- und Dunkelphase, sowie als zeitliche Verläufe je Experimentaltag dargestellt, um die zirkadiane Rhythmik der nachtaktiven Tiere zu berücksichtigen.

2.1.1. Herzfrequenz

Die telemetrisch erfasste Herzfrequenz war an allen Experimentaltagen in den Ruhephasen (Hellphasen) der Tiere im Mittel niedriger als in den Aktivphasen (Dunkelphasen) der Tiere. Lediglich an Tag 0 wurden im Mittel nahezu identisch hohe Herzfrequenzwerte während der Aktiv- und Ruhephase der Tiere verzeichnet. Ab dem ersten postoperativen Tag zeigten sich bei den mittleren Herzfrequenzwerten größere Unterschiede zwischen den Werten der Hell- und Dunkelphasen der Tiere. Die mittlere Herzfrequenz erreichte während der Hell- und Dunkelphase postoperativ an Tag 0 die höchsten Werte. Die Werte sanken im Mittel über die folgenden Experimentaltage, bis an Tag 14 die niedrigsten Werte während der Hell- und Dunkelphase erreicht wurden. An Tag 21 zeigten sich vergleichbare Werte, wie an Tag 14 (siehe auch Abbildung 20 und Tabelle 12). Die zirkadiane Rhythmik kann im Detail den zeitlichen Verläufen der Abbildung 21 entnommen werden. Hier war bereits ab dem ersten postoperativen Tag die klassische zirkadiane Rhythmik erkennbar. Es zeigte sich ebenfalls eine erhöhte Herzfrequenz direkt nach dem Beginn einer jeden Telemetrieaufzeichnung und somit nach dem Handling der Tiere. Die Herzfrequenzwerte wurden durch die entsprechend gegensätzlichen NN-Intervalle reflektiert. So zeigten sich niedrigere NN-Intervalle zu Zeitpunkten mit hoher Herzfrequenz und umgekehrt hohe NN-Intervalle zu Zeitpunkten mit niedriger Herzfrequenz (siehe auch Abbildung 20, Abbildung 22 und Tabelle 12).

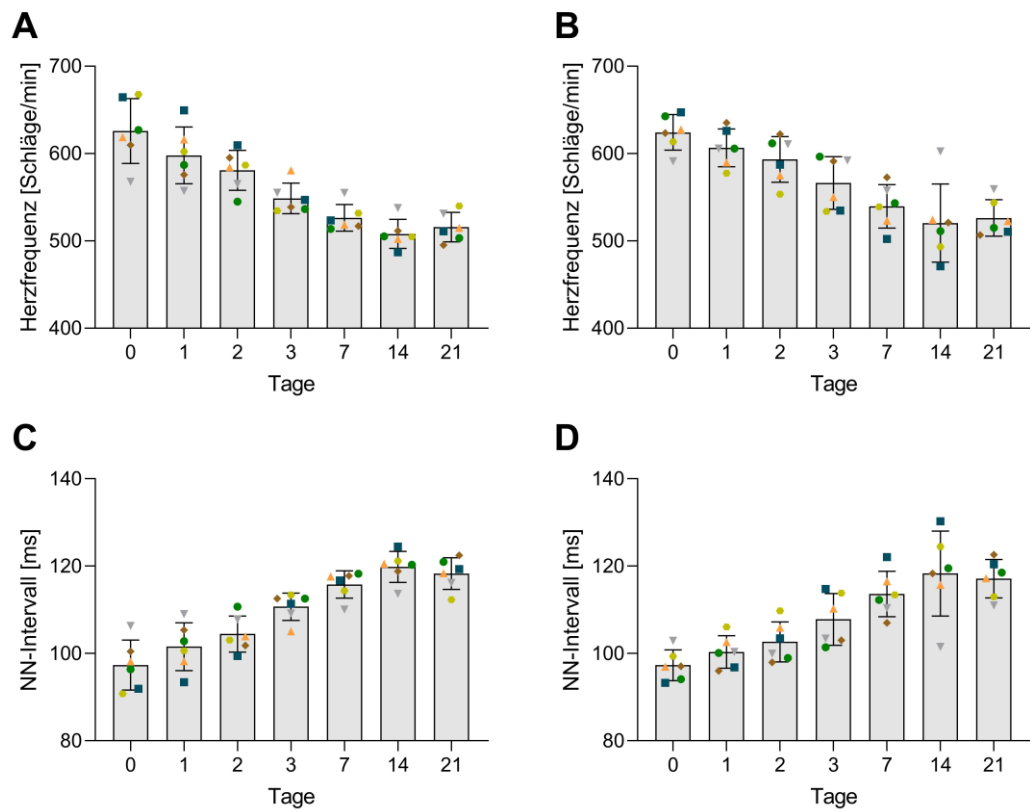


Abbildung 20: Herzfrequenz und NN-Intervall

Graphische Darstellung der mittleren telemetrisch erfassten Herzfrequenz ($M \pm SD$) in Schlägen pro Minute getrennt für die Hell- (A) und Dunkelphase (B) sowie des mittleren telemetrisch erfassten NN-Intervalls ($M \pm SD$) in Millisekunden getrennt für die Hell- (C) und Dunkelphase (D). Die mittlere Herzfrequenz und das mittlere NN-Intervall der $n = 6$ Individuen an den Experimentaltagen ist farb- und formcodiert dargestellt.

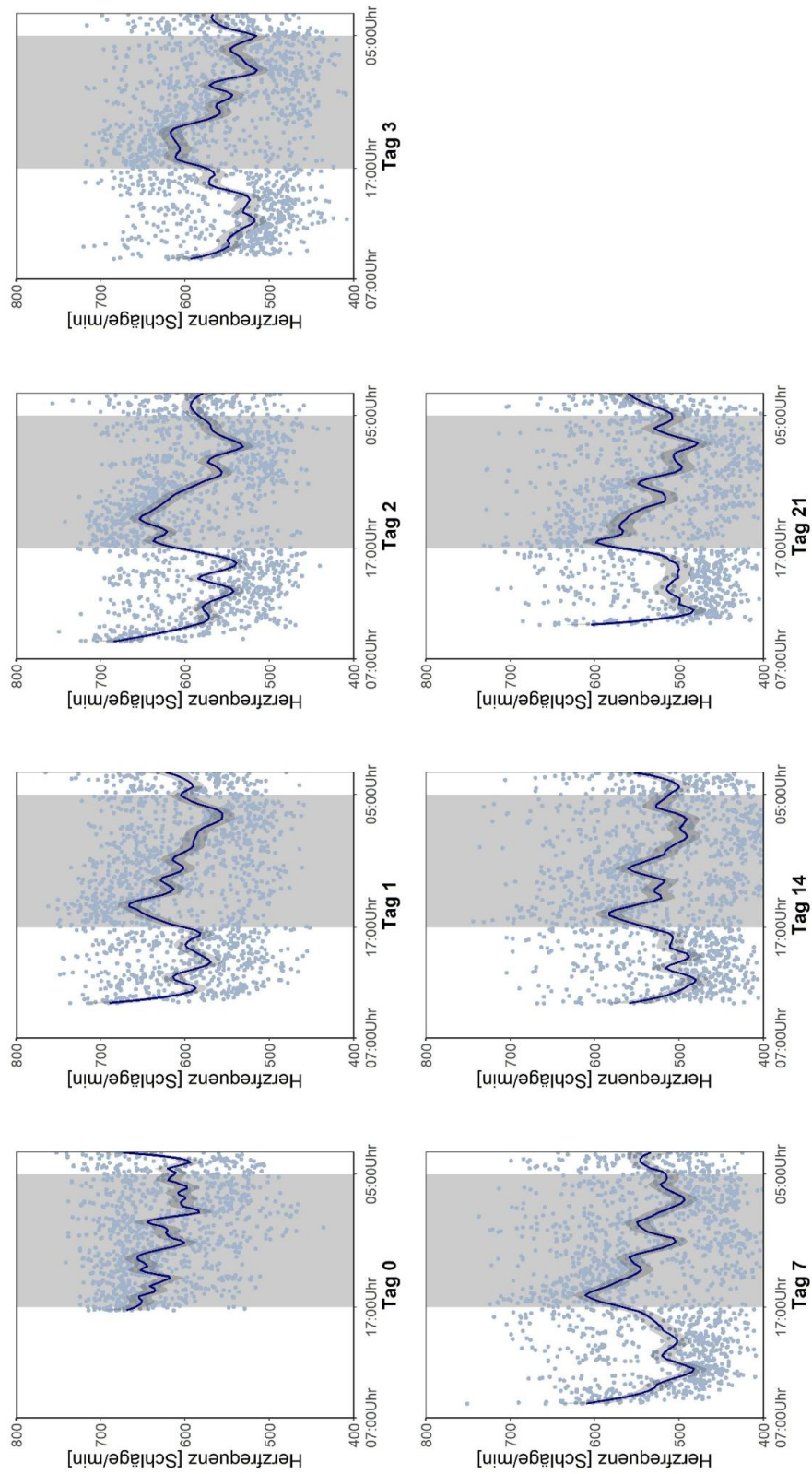


Abbildung 21: Herzfrequenz

Zeitlicher Verlauf der telemetrisch erfassten Herzfrequenz in Schlägen pro Minute an den Experimentaltagen. Die Dunkelphasen sind durch hellgraue Hinterlegungen gekennzeichnet. Die Linie zeigt die LOESS-Regression der in 5-Minuten-Intervallen erfassten Herzfrequenz der $n = 6$ Experimentaltiere und die entsprechend grau unterlegte Fläche das 95 % Konfidenzintervall. Herzfrequenzmittelwerte der Individuen im zeitlichen Verlauf sind als Streudiagramm in hellblau aufgezeigt.

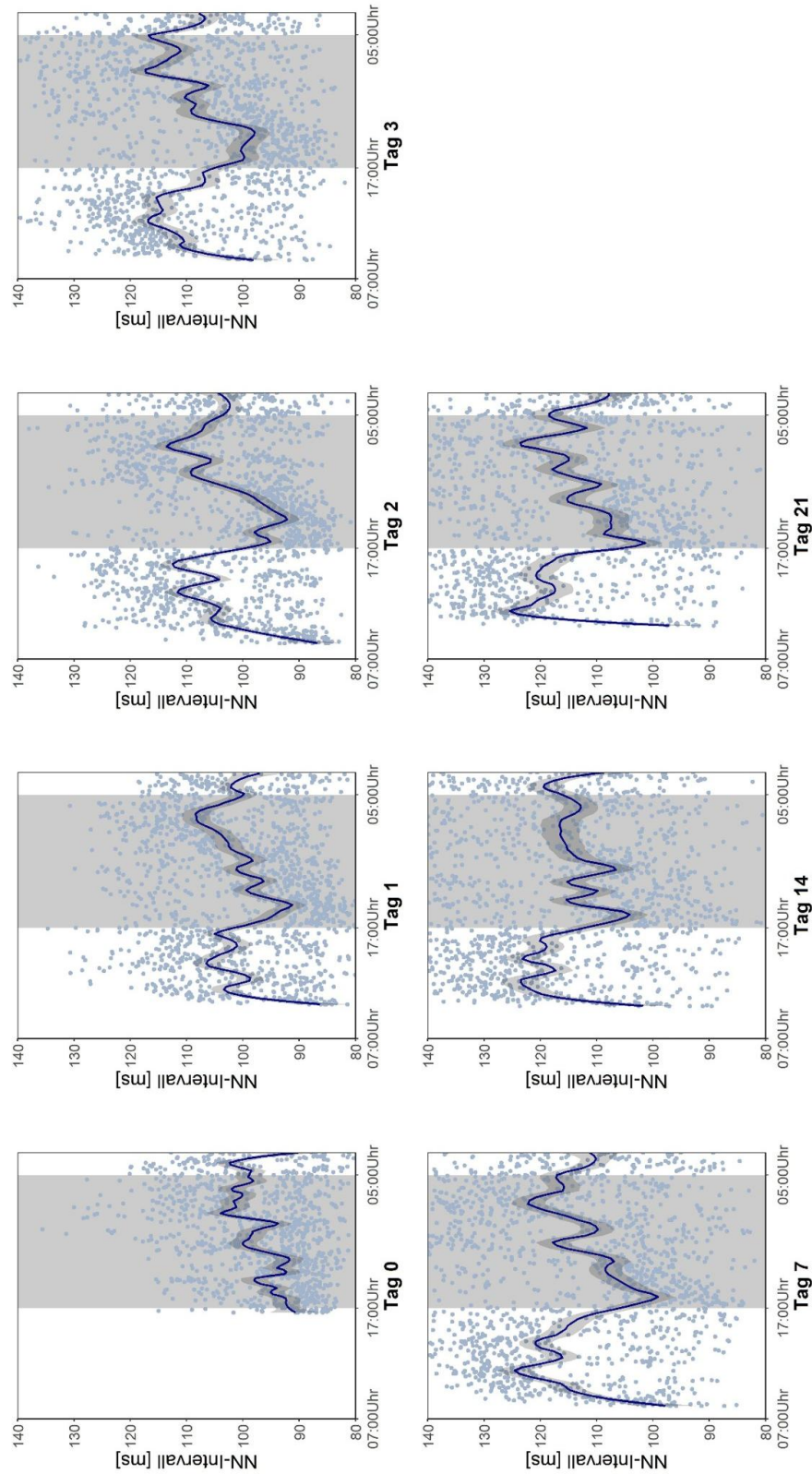


Abbildung 22: NN-Intervall

Zeitlicher Verlauf des telemetrisch erfassten NN-Intervalls in Millisekunden an den Experimentaltagen. Die Dunkelphasen sind durch hellgraue Hinterlegungen gekennzeichnet. Die Linie zeigt die LOESS-Regression der in 5-Minuten-Intervallen erfassten NN-Intervalle der $n = 6$ Experimentaltiere und die entsprechend grau unterlegte Fläche das 95 % Konfidenzintervall. NN-Intervallmittelwerte der Individuen im zeitlichen Verlauf sind als Streudiagramm in hellblau aufgezeigt.

Tabelle 12: Herzfrequenz und NN-Intervall

Tabellarische Darstellung der mittleren telemetrisch erfassten Herzfrequenz in Schlägen pro Minute und des mittleren telemetrisch erfassten NN-Intervalls in Millisekunden mit den entsprechenden Standardabweichungen getrennt für die Hell- und Dunkelphase, sowie des geringsten (Min) und höchsten (Max) Herzfrequenz- bzw. NN-Intervallwertes der n = 6 Experimentaltiere an den Experimentaltagen.

			Hellphase				Dunkelphase			
	Tag	n	Mittelwert (M)	Standardabweichung (SD)	Min	Max	Mittelwert (M)	Standardabweichung (SD)	Min	Max
Herzfrequenz [Schläge/min]	0	6	625,80	37,19	567,70	667,60	624,20	20,43	591,20	647,20
	1	6	597,90	32,52	557,20	649,50	606,50	21,56	577,40	635,20
	2	6	580,80	22,80	544,80	609,30	593,30	26,17	553,40	622,00
	3	6	548,70	17,48	534,40	580,70	566,30	30,06	533,50	596,40
	7	6	526,50	15,27	513,60	554,90	539,60	24,85	502,20	572,50
	14	6	508,00	16,71	486,90	537,70	520,40	44,73	470,80	602,30
	21	6	515,80	16,89	495,10	539,80	526,20	20,79	506,60	559,10
	0	6	97,35	5,74	90,79	106,30	97,30	3,53	93,27	102,90
NN-Intervall [ms]	1	6	101,60	5,48	93,42	109,00	100,30	3,71	96,02	106,10
	2	6	104,50	4,12	99,41	110,70	102,70	4,57	97,98	109,80
	3	6	110,70	3,12	105,10	113,40	107,80	5,90	101,40	114,80
	7	6	115,80	3,13	110,10	118,30	113,60	5,20	107,00	122,10
	14	6	119,80	3,56	113,70	124,50	118,30	9,71	101,50	130,30
	21	6	118,30	3,63	112,30	122,50	117,10	4,42	111,00	122,60

2.1.2. Herzratenvariabilität

Um die zeitabhängige Herzratenvariabilität (HRV) an den Experimentaltagen zu analysieren, wurden die Parameter SDNN, RMSSD, NN6 und pNN6 analysiert. Der Parameter SDNN wurde als Maß für die Gesamtvariabilität der Aktivität des autonomen Nervensystems herangezogen. Die Parameter RMSSD, NN6 und pNN6 wurden als Maß für kurzfristige Anpassungen der Variabilität analysiert.

Bei allen telemetrisch erfassten HRV-Parametern zeigten sich während der Hell- und Dunkelphasen jeweils vergleichbare Werte. Die Parameter waren an allen Experimentaltagen in den Hellphasen im Mittel niedriger als in den Dunkelphasen, lediglich bei dem Parameter NN6 zeigte sich an Tag 2 im Mittel ein höherer Wert in der Hellphase als in der Dunkelphase. Bei allen HRV-Parametern zeigten sich postoperativ an den Tagen 0 bis 2 die niedrigsten Werte, welche ab Tag 3 anstiegen und an Tag 14 die höchsten Werte erreichten. An Tag 21 zeigten sich vergleichbar hohe Werte, wie an Tag 14 (siehe auch Abbildung 23, Abbildung 24, Tabelle 13 und Tabelle 14). Die zeitlichen Verläufe können der Abbildung 25, Abbildung 26, Abbildung 27 und Abbildung 28 entnommen werden.

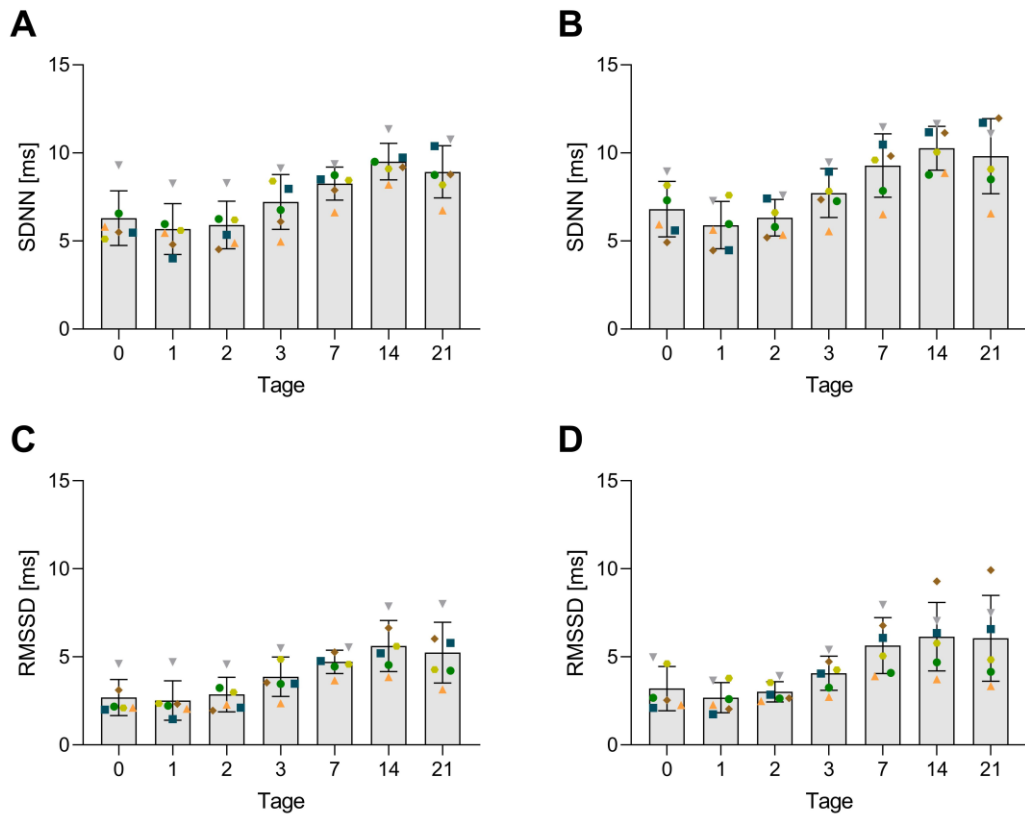


Abbildung 23: Herzratenvariabilitätsparameter SDNN und RMSSD

Graphische Darstellung des mittleren telemetrisch erfassten Herzratenvariabilitätsparameters SDNN ($M \pm SD$) in Millisekunden getrennt für die Hell- (A) und Dunkelphase (B) sowie des mittleren telemetrisch erfassten Herzratenvariabilitätsparameters RMSSD ($M \pm SD$) in Millisekunden getrennt für die Hell- (C) und Dunkelphase (D). Die mittleren SDNN- und RMSSD-Werte der $n = 6$ Individuen an den Experimentaltagen sind farb- und formcodiert dargestellt.

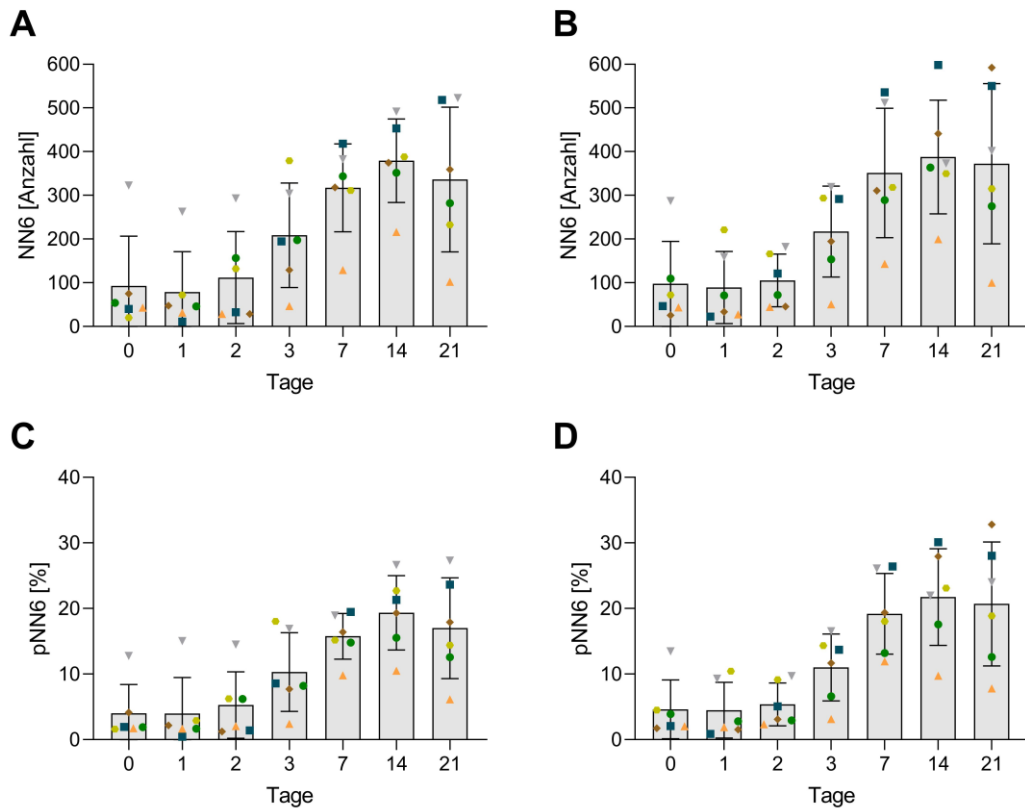


Abbildung 24: Herzeratenvariabilitätsparameter NN6 und pNN6

Graphische Darstellung des mittleren telemetrisch erfassten Herzeratenvariabilitätsparameters NN6 ($M \pm SD$) in Anzahl getrennt für die Hell- (A) und Dunkelphase (B) sowie des mittleren telemetrisch erfassten Herzeratenvariabilitätsparameters pNN6 ($M \pm SD$) in Prozent getrennt für die Hell- (C) und Dunkelphase (D). Die mittleren NN6- und pNN6-Werte der $n = 6$ Individuen an den Experimentaltagen sind farb- und formcodiert dargestellt.

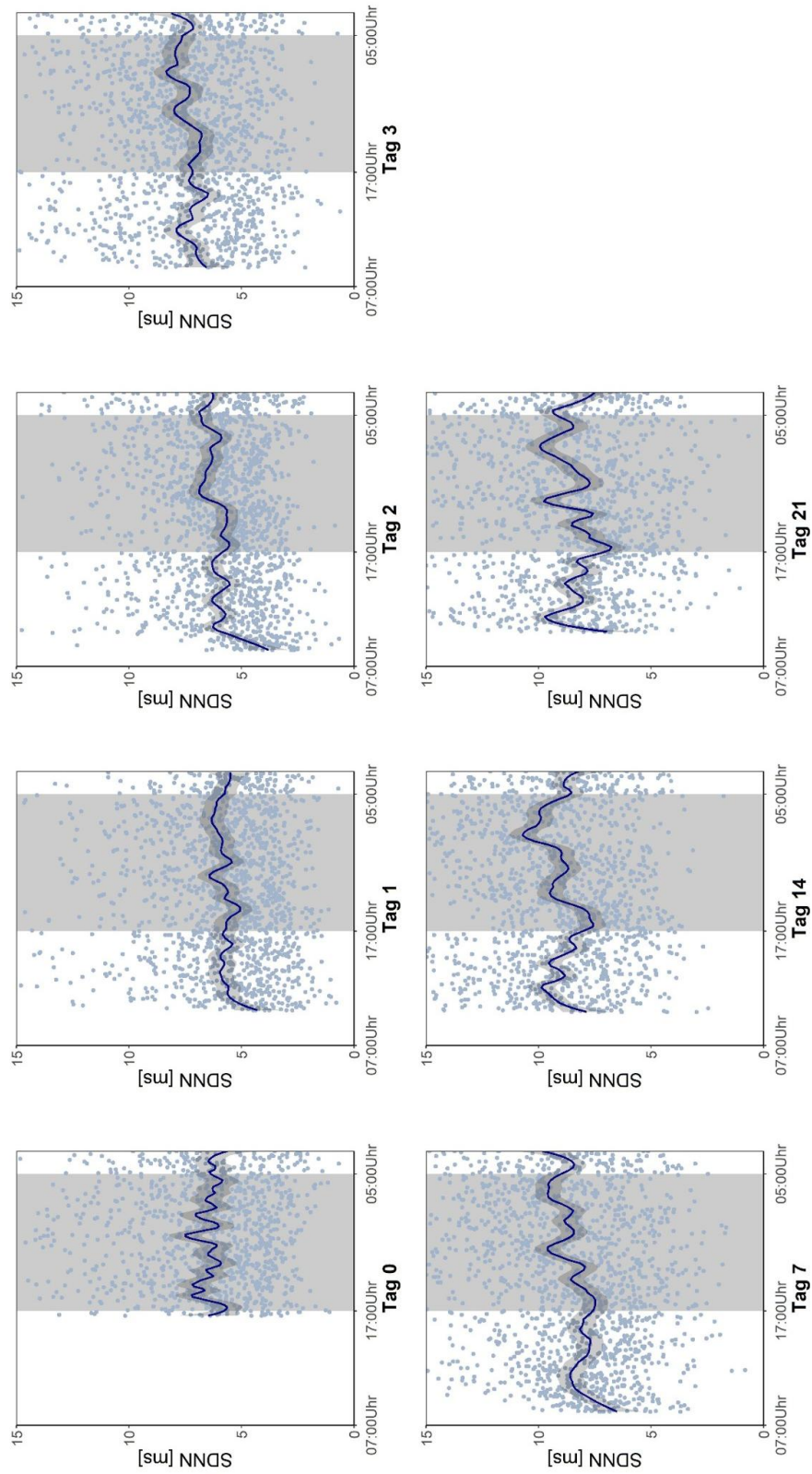


Abbildung 25: Herzratenvariabilitätsparameter SDNN

Zeitlicher Verlauf des telemetrisch erfassten Herzratenvariabilitätsparameters SDNN in Millisekunden an den Experimentaltagen. Die Dunkelphasen sind durch hellgraue Hinterlegungen gekennzeichnet. Die Linie zeigt die LOESS-Regression der in 5-Minuten-Intervallen erfassten SDNN-Werte der $n = 6$ Experimentaltiere und die entsprechend grau unterlegte Fläche das 95 % Konfidenzintervall. SDNN-Mittelwerte der Individuen im zeitlichen Verlauf sind als Streudiagramm in hellblau aufgezeigt.

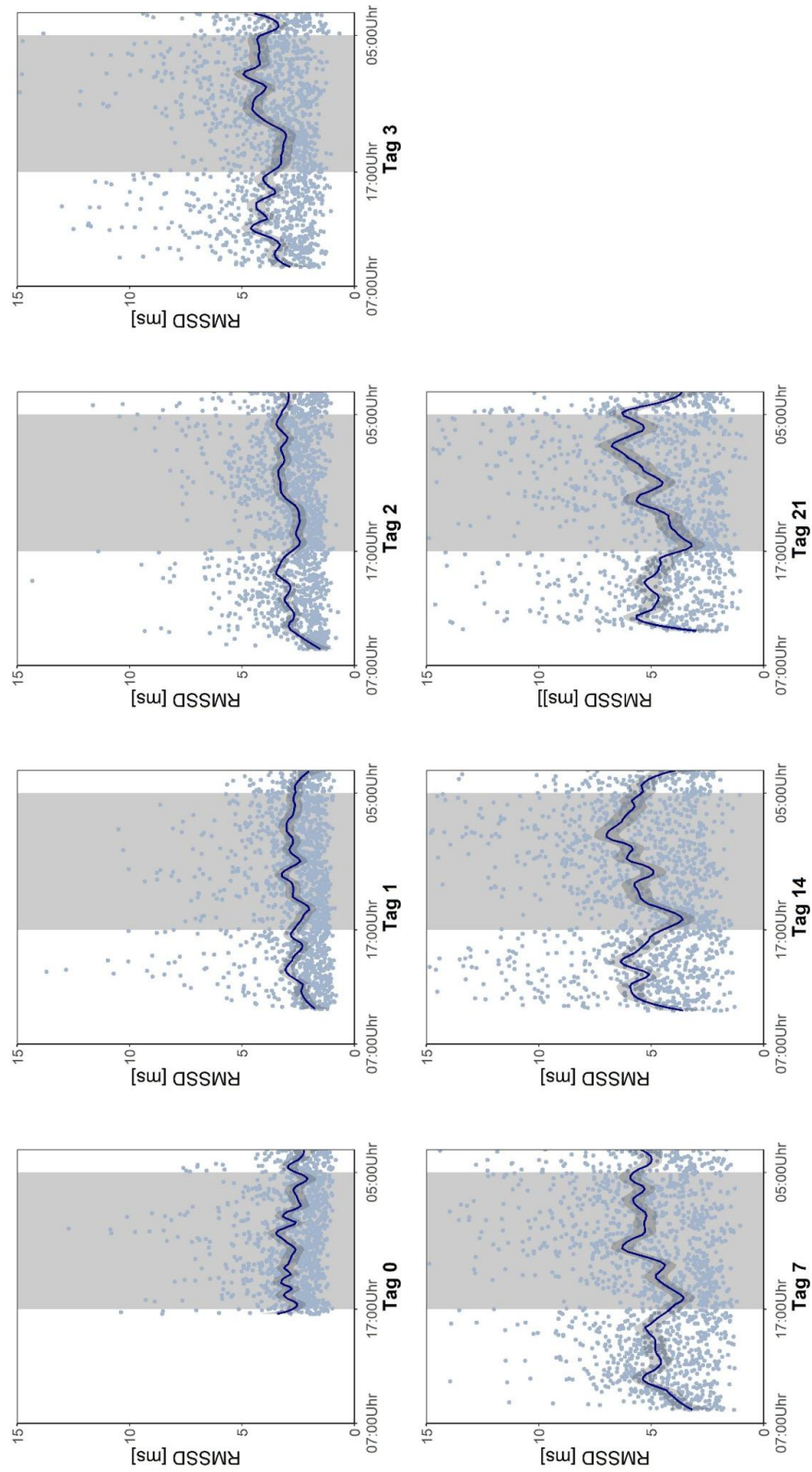


Abbildung 26: Herzratenvariabilitätsparameter RMSSD

Zeitlicher Verlauf des telemetrisch erfassten Herzratenvariabilitätsparameters RMSSD in Millisekunden an den Experimentaltagen. Die Dunkelphasen sind durch hellgraue Hinterlegungen gekennzeichnet. Die Linie zeigt die LOESS-Regression der in 5-Minuten-Intervallen erfassten RMSSD-Werte der $n = 6$ Experimentaltiere und die entsprechend grau unterlegte Fläche das 95 % Konfidenzintervall. RMSSD-Mittelwerte der Individuen im zeitlichen Verlauf sind als Streudiagramm in hellblau aufgezeigt.

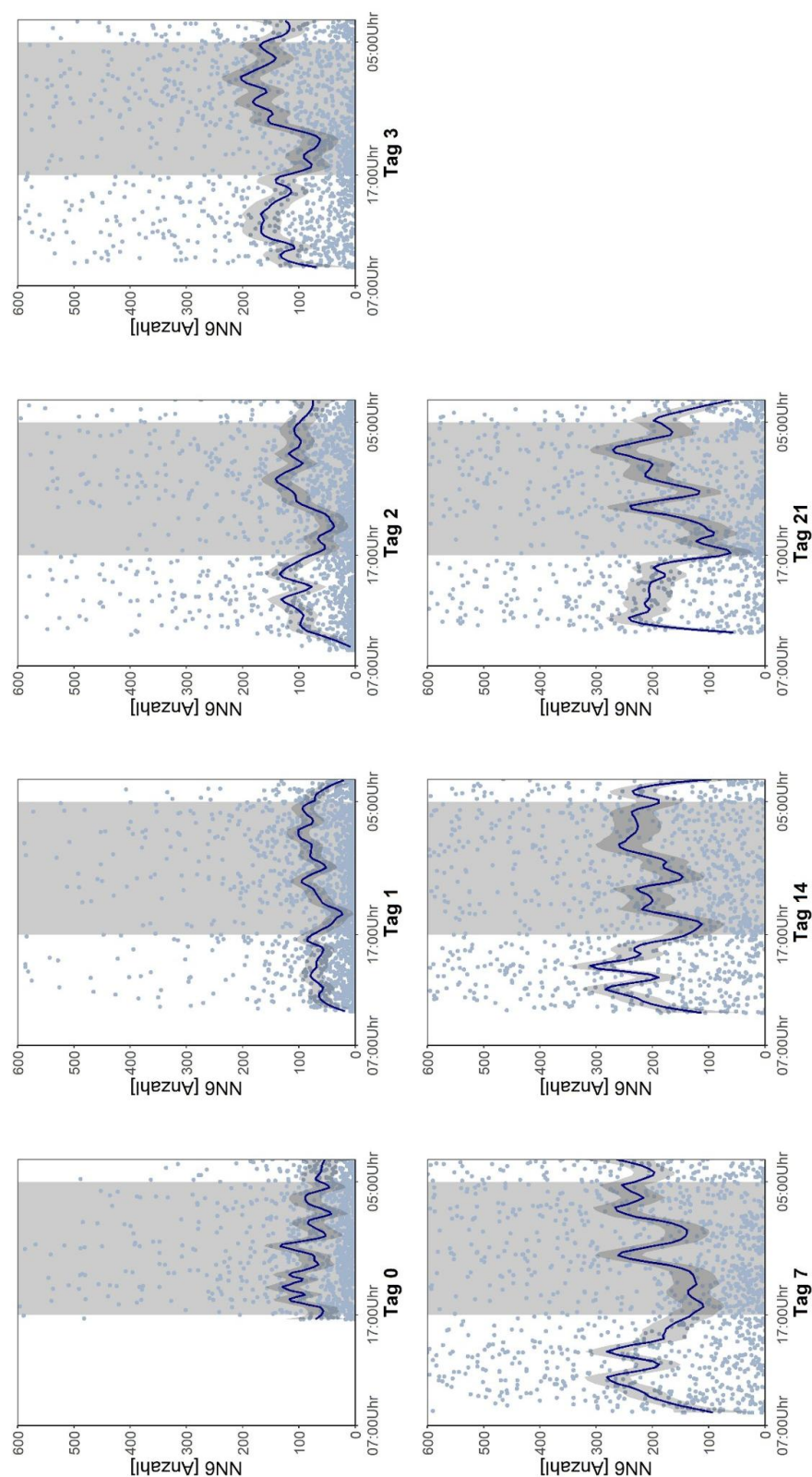


Abbildung 27: Herzratenvariabilitätsparameter NN6

Zeitlicher Verlauf des telemetrisch erfassten Herzratenvariabilitätsparameters NN6 in Anzahl an den Experimentaltagen. Die Dunkelphasen sind durch hellgraue Hinterlegungen gekennzeichnet. Die Linie zeigt die LOESS-Regression der in 5-Minuten-Intervallen erfassten NN6-Werte der $n = 6$ Experimentaltage und die entsprechend grau unterlegte Fläche das 95 % Konfidenzintervall. NN6-Mittelwerte der Individuen im zeitlichen Verlauf sind als Streudiagramm in hellblau aufgezeigt.

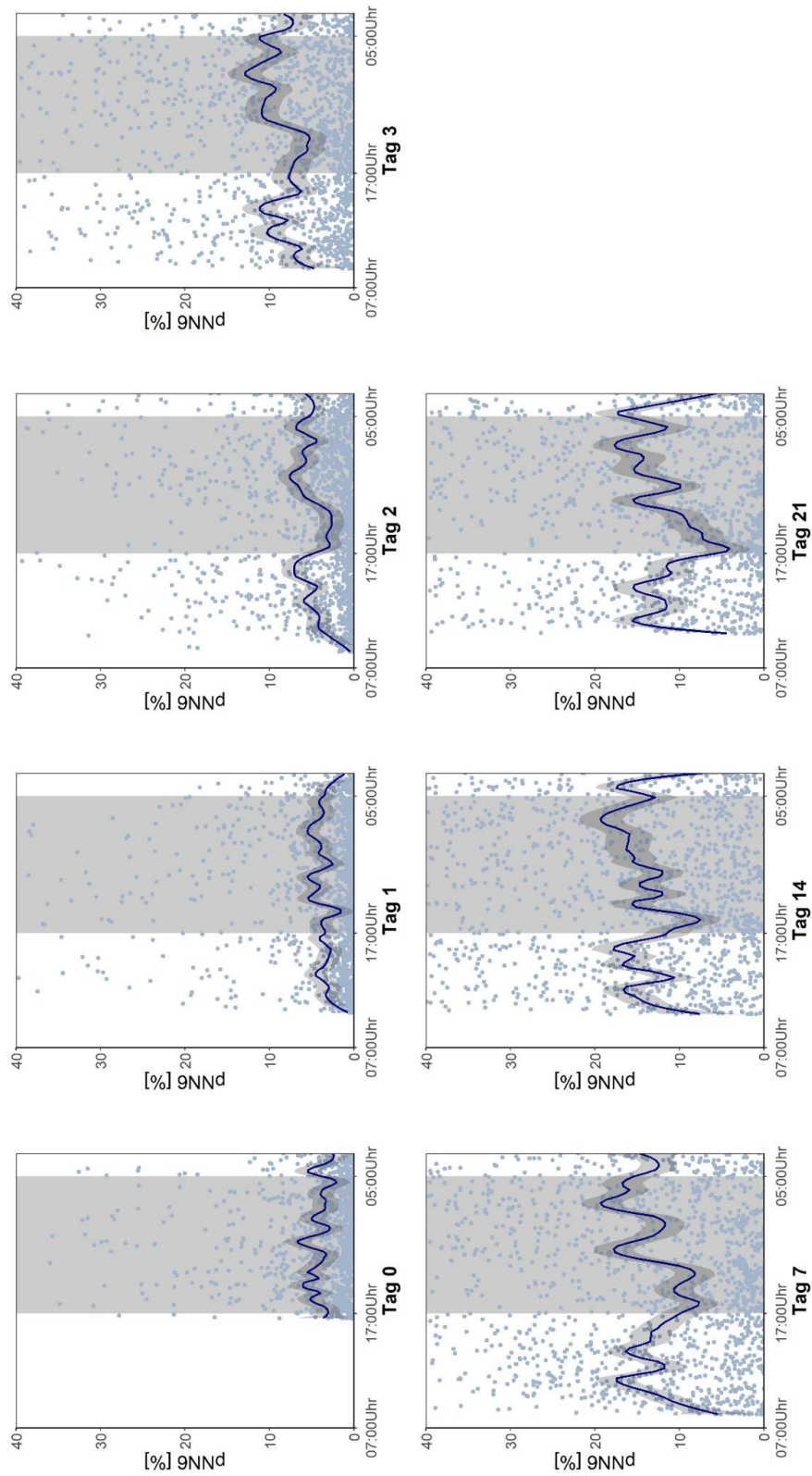


Abbildung 28: Herzratenvariabilitätsparameter pNN6

Zeitlicher Verlauf des telemetrisch erfassten Herzratenvariabilitätsparameters pNN6 in Prozent an den Experimentaltagen. Die Dunkelphasen sind durch hellgraue Hinterlegungen gekennzeichnet. Die Linie zeigt die LOESS-Regression der in 5-Minuten-Intervallen erfassten pNN6-Werte der $n = 6$ Experimentaltiere und die entsprechend grau unterlegte Fläche das 95 % Konfidenzintervall. Die pNN6-Mittelwerte der Individuen im zeitlichen Verlauf sind als Streudiagramm in hellblau aufgezeigt.

Tabelle 13: Herzratenvariabilitätsparameter SDNN und RMSSD

Tabellarische Darstellung der telemetrisch erfassten Herzratenvariabilitätsparameter SDNN und RMSSD in Millisekunden mit den entsprechenden Standardabweichungen getrennt für die Hell- und Dunkelphase, sowie des geringsten (Min) und höchsten (Max) SDNN- und RMSSD-Wertes der n = 6 Experimentaltiere an den Experimentaltagen.

			Hellphase				Dunkelphase			
	Tag	n	Mittelwert (M)	Standardabweichung (SD)	Min	Max	Mittelwert (M)	Standardabweichung (SD)	Min	Max
SDNN [ms]	0	6	6,29	1,55	5,11	9,29	6,81	1,58	4,92	8,94
	1	6	5,68	1,44	4,00	8,26	5,90	1,34	4,45	7,60
	2	6	5,91	1,35	4,52	8,28	6,32	1,04	5,19	7,58
	3	6	7,21	1,56	4,96	9,12	7,72	1,39	5,54	9,46
	7	6	8,26	0,93	6,62	9,36	9,28	1,81	6,51	11,46
	14	6	9,51	1,04	8,19	11,34	10,27	1,25	8,75	11,64
	21	6	8,93	1,48	6,73	10,75	9,81	2,13	6,56	11,97
RMSSD [ms]	0	6	2,69	1,03	2,01	4,61	3,20	1,26	2,11	4,98
	1	6	2,53	1,12	1,47	4,71	2,69	0,85	1,74	3,79
	2	6	2,86	0,98	1,95	4,58	3,02	0,58	2,49	3,92
	3	6	3,87	1,12	2,37	5,49	4,07	0,97	2,73	5,40
	7	6	4,72	0,66	3,67	5,55	5,65	1,59	3,90	7,95
	14	6	5,62	1,45	3,85	7,87	6,15	1,94	3,73	9,29
	21	6	5,25	1,73	3,16	8,01	6,06	2,44	3,34	9,93

Tabelle 14: Herzratenvariabilitätsparameter NN6 und pNN6

Tabellarische Darstellung der telemetrisch erfassten Herzratenvariabilitätsparameter NN6 und pNN6 in Anzahl bzw. Prozent mit den entsprechenden Standardabweichungen getrennt für die Hell- und Dunkelphase, sowie des geringsten (Min) und höchsten (Max) NN6- und pNN6-Wertes der $n = 6$ Experimentaltiere an den Experimentaltagen.

			Hellphase				Dunkelphase			
	Tag	n	Mittelwert (M)	Standardabweichung (SD)	Min	Max	Mittelwert (M)	Standardabweichung (SD)	Min	Max
NN6 [Anzahl]	0	6	92,69	114,20	20,46	322,80	97,61	97,37	25,92	287,40
	1	6	78,68	92,46	11,24	262,90	89,32	82,38	22,66	221,30
	2	6	112,00	105,20	28,54	293,20	105,30	60,34	44,63	182,10
	3	6	208,70	119,30	46,55	379,30	217,20	104,00	50,53	319,10
	7	6	317,10	100,60	129,10	418,10	351,40	148,00	143,40	535,60
	14	6	379,30	95,49	216,30	492,00	387,80	130,10	200,00	598,10
	21	6	336,30	165,40	102,40	522,80	372,50	183,10	100,10	592,20
pNN6 [%]	0	6	4,02	4,39	1,61	12,78	4,63	4,48	1,76	13,48
	1	6	4,00	5,48	0,44	15,06	4,49	4,25	0,87	10,45
	2	6	5,29	5,08	1,24	14,53	5,40	3,27	2,35	9,72
	3	6	10,32	5,99	2,43	18,04	11,02	5,11	3,16	16,55
	7	6	15,78	3,49	9,81	19,47	19,19	6,15	11,94	26,40
	14	6	19,35	5,68	10,52	26,65	21,75	7,37	9,76	30,11
	21	6	17,00	7,69	6,14	27,32	20,70	9,46	7,81	32,83

2.1.3. Aktivität

Die telemetrisch erfasste Aktivität der Tiere war an allen Experimentaltagen in den Ruhephasen (Hellphasen) im Mittel niedriger als in den Aktivphasen (Dunkelphasen) der Tiere. Während der Hellphasen aller Experimentaltage zeigten sich bei der mittleren Aktivität vergleichbare Werte. Während der Dunkelphasen zeigte sich an Tag 0 die niedrigste mittlere Aktivität. Ab dem ersten postoperativen Tag zeigten sich bei der mittleren Aktivität größere Unterschiede zwischen den Hell- und Dunkelphasen. Ab dem ersten postoperativen Tag zeigte sich eine größere Varianz in der gemessenen Dunkelphasenaktivität der Tiere. Dabei konnte eine Subgruppe mit höheren mittleren Aktivitätswerten und eine Subgruppe mit niedrigeren mittleren Aktivitätswerten unterschieden werden (siehe auch Abbildung 29 und Tabelle 15). Die zirkadiane Rhythmik und die Aktivitätshöhepunkte in den Dunkelphasen können im Detail den zeitlichen Verläufen der Abbildung 30 entnommen werden. Hier war ab dem zweiten postoperativen Tag die klassische zirkadiane Rhythmik erkennbar, welche sich schon ab dem ersten postoperativen Tag andeutete. Es zeigten sich ebenfalls Aktivitätssteigerungen direkt nach dem Beginn einer jeden Telemetrieaufzeichnung und somit nach dem Handling der Tiere.

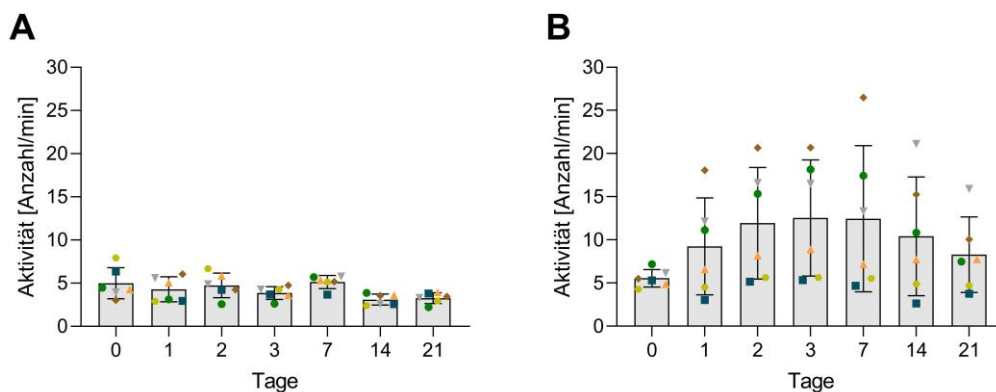


Abbildung 29: Aktivität

Graphische Darstellung der mittleren telemetrisch erfassten Aktivität ($M \pm SD$) in Anzahl pro Minute getrennt für die Hell- (A) und Dunkelphase (B). Die mittlere Aktivität der $n = 6$ Individuen an den Experimentaltagen ist farb- und formcodiert dargestellt.

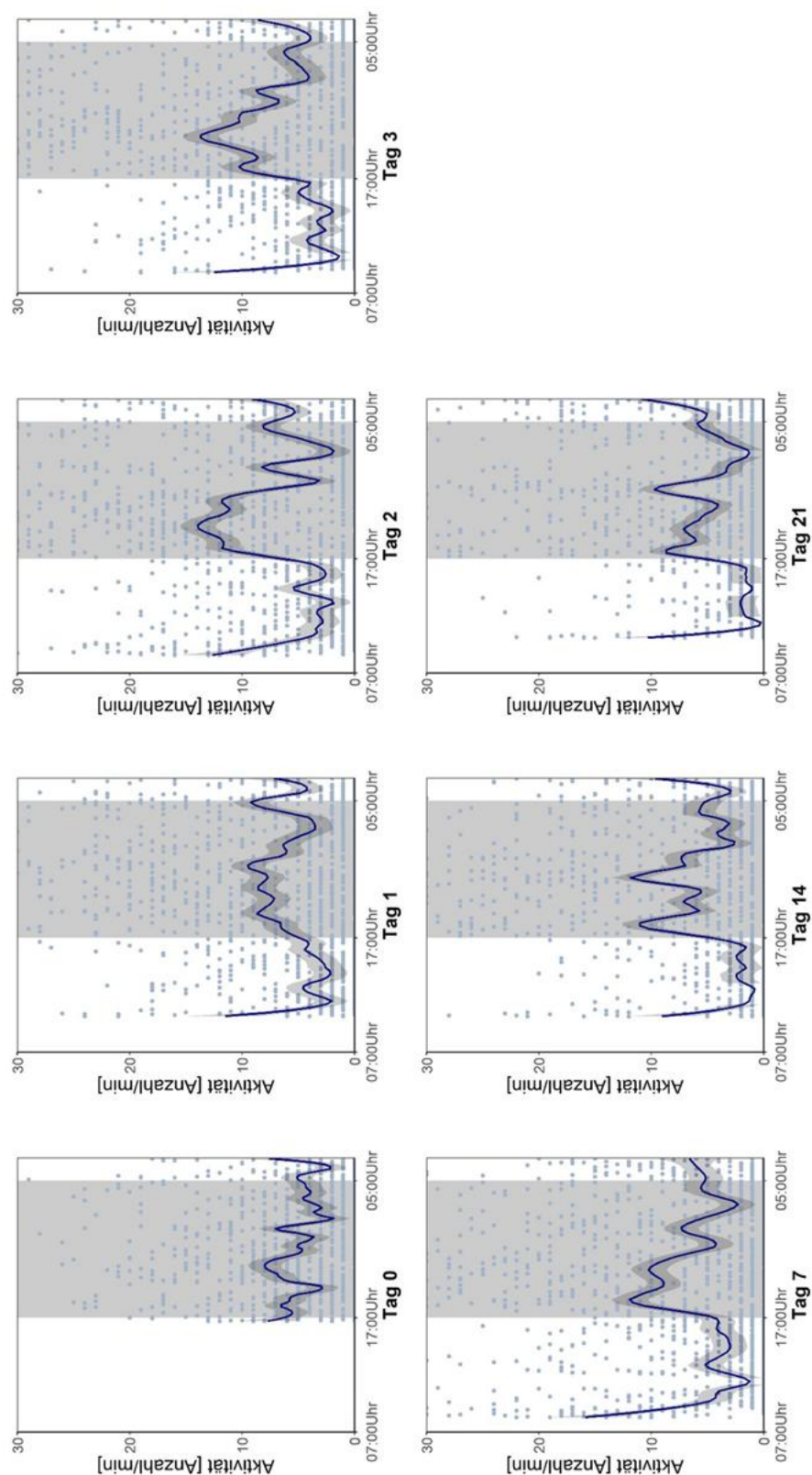


Abbildung 30: Aktivität

Zeitlicher Verlauf der telemetrisch erfassten Aktivität in Anzahl pro Minute an den Experimentaltagen. Die Dunkelphasen sind durch hellgraue Hinterlegungen gekennzeichnet. Die Linie zeigt die LOESS-Regression der in 5-Minuten-Intervallen erfassten Aktivität der $n = 6$ Experimentaltiere und die entsprechend grau unterlegte Fläche das 95 % Konfidenzintervall. Aktivitätsmittelwerte der Individuen im zeitlichen Verlauf sind als Streudiagramm in hellblau aufgezeigt.

Tabelle 15: Aktivität

Tabellarische Darstellung der telemetrisch erfassten Aktivität in Anzahl pro Minute und der entsprechenden Standardabweichung getrennt für die Hell- und Dunkelfase, sowie der geringsten (Min) und höchsten (Max) Aktivität der n = 6 Experimentaltiere an den Experimentaltagen.

Tag	n	Hellphase				Dunkelfase			
		Mittelwert (M)	Standardabweichung (SD)	Min	Max	Mittelwert (M)	Standardabweichung (SD)	Min	Max
0	6	4,98	1,80	3,00	7,90	5,56	1,01	4,30	7,19
1	6	4,28	1,45	2,90	6,05	9,24	5,61	3,03	18,05
2	6	4,73	1,42	2,57	6,65	11,93	6,46	5,17	20,67
3	6	3,86	0,74	2,61	4,73	12,54	6,73	5,33	20,70
7	6	5,13	0,77	3,66	5,76	12,44	8,47	4,68	26,48
14	6	3,09	0,64	2,39	3,87	10,42	6,87	2,65	21,12
21	6	3,27	0,63	2,22	3,94	8,28	4,37	3,77	15,92

2.1.4. Temperatur

Die über einen subkutan implantierten Telemetriesender erfasste Temperatur der Tiere war an allen Experimentaltagen in den Ruhephasen (Hellphasen) im Mittel niedriger als in den Aktivphasen (Dunkelphasen) der Tiere (Abbildung 31). Ab dem zweiten postoperativen Tag war bereits die klassische zirkadiane Rhythmik erkennbar, welche sich schon ab dem ersten postoperativen Tag andeutete. Die zeitlichen Verläufe können der Abbildung 32 entnommen werden. Die Temperaturverläufe ähnelten denen der Aktivität und es zeigten sich ebenfalls erhöhte Temperaturwerte direkt nach dem Beginn einer jeden Telemetrieaufzeichnung und somit nach dem Handling der Tiere. Die mittlere Temperatur zeigte an allen Experimentaltagen vergleichbare Werte während der Hellphase, sowie vergleichbare Werte während der Dunkelphase (siehe auch Abbildung 31 und Tabelle 16).

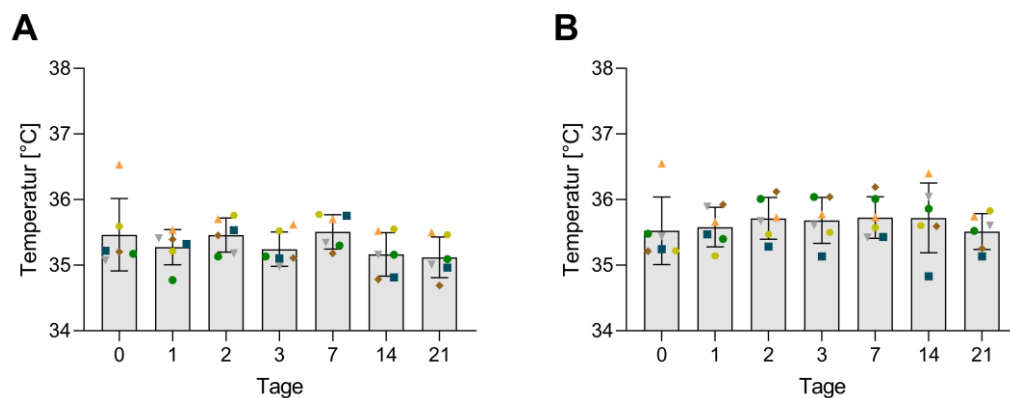


Abbildung 31: Temperatur

Graphische Darstellung der mittleren, über einen subkutanen Telemetriesender erfassten, Temperatur ($M \pm SD$) in Grad Celsius (°C) getrennt für die Hell- (A) und Dunkelphase (B). Die absolute mittlere Temperatur der $n = 6$ Individuen an den Experimentaltagen ist farb- und formcodiert dargestellt.

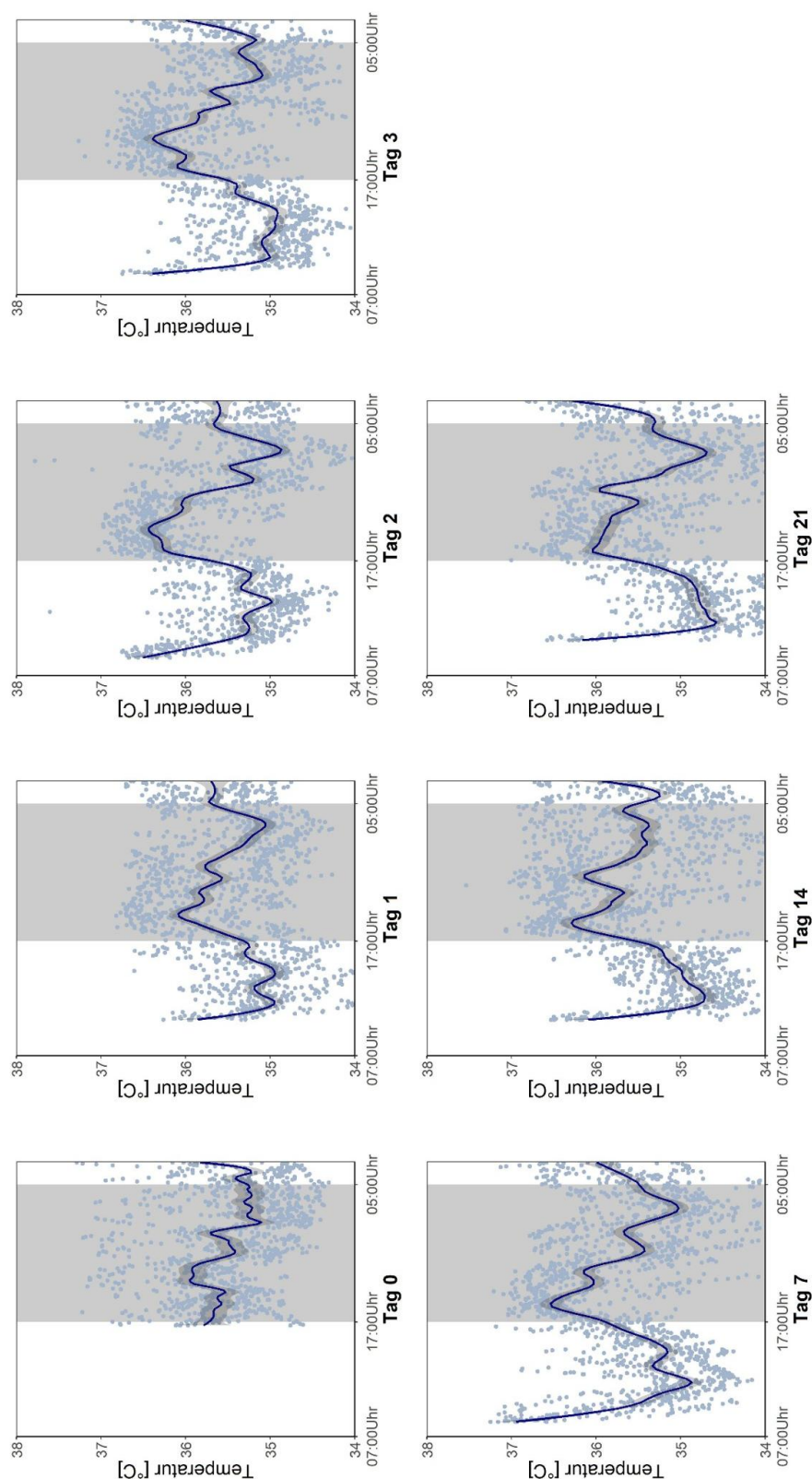


Abbildung 32: Temperatur

Zeitlicher Verlauf der, über einen subkutanen Telemetriesender erfassten, Temperatur in Grad Celsius an den Experimentaltagen. Die Dunkelphasen sind durch hellgraue Hinterlegungen gekennzeichnet. Die Linie zeigt die LOESS-Regression der in 5-Minuten-Intervallen erfassten Temperatur der $n = 6$ Experimentaltiere und die entsprechend grau unterlegte Fläche das 95 % Konfidenzintervall. Temperaturmittelwerte der Individuen im zeitlichen Verlauf sind als Streudiagramm in hellblau aufgezeigt.

Tabelle 16: Temperatur

Tabellarische Darstellung der mittleren, über einen subkutanen Telemetrisierender erfassten, Temperatur in Grad Celsius (°C) und der entsprechenden Standardabweichung getrennt für die Hell- und Dunkelphase, sowie der geringsten (Min) und höchsten (Max) absoluten Temperatur der n = 6 Experimentaltiere an den Experimentaltagen.

Tag	n	Hellphase				Dunkelphase			
		Mittelwert (M)	Standardabweichung (SD)	Min	Max	Mittelwert (M)	Standardabweichung (SD)	Min	Max
0	6	35,46	0,55	35,07	36,53	35,52	0,52	35,21	36,55
1	6	35,27	0,27	34,77	35,54	35,58	0,30	35,14	35,92
2	6	35,46	0,26	35,13	35,76	35,71	0,32	35,28	36,12
3	6	35,24	0,26	34,98	35,62	35,68	0,35	35,13	36,04
7	6	35,51	0,26	35,18	35,77	35,73	0,32	35,42	36,19
14	6	35,16	0,33	34,78	35,55	35,72	0,53	34,83	36,40
21	6	35,12	0,31	34,69	35,50	35,51	0,27	35,13	35,83

2.2. Körpergewicht

Über einen Zeitraum von vier Wochen (eine Woche Basalmessungen, drei Wochen postoperative Messungen) zeigte sich ein Anstieg des mittleren Körpergewichtes der Tiere (siehe Abbildung 33). Für die postoperative Körpergewichtserfassung wurde jeweils das Gewicht des Transmitters (1,6 g) subtrahiert. Präoperativ zeigten sich variable mittlere Körpergewichte, sowie die niedrigsten mittleren Körpergewichte in dem vierwöchigen Messzeitraum. Das niedrigste postoperative mittlere Körpergewicht zeigte sich am ersten Tag nach dem operativen Eingriff, wobei dieses mittlere Körpergewicht vergleichbar mit dem Mittelwert der präoperativen Körpergewichtsmessungen (M: 21,14) war. Das höchste mittlere Körpergewicht wurde am letzten Experimentaltag erreicht (siehe auch Abbildung 33 und Tabelle 17).

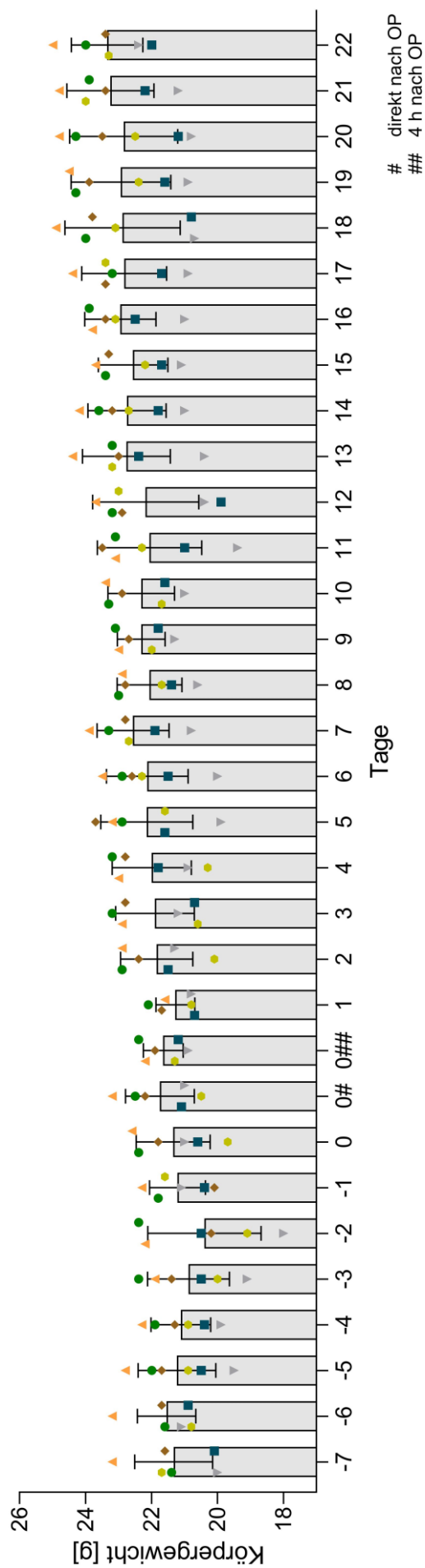


Abbildung 33: Körpergewicht

Graphische Darstellung des täglichen mittleren Körpergewichtes ($M \pm SD$) in Gramm (g). Die postoperativen Gewichte stellen das Gewicht abzüglich des implantierten Transmitters (1,6 g) dar. Das tägliche absolute Körpergewicht der $n = 6$ Individuen an den Experimentaltagen ist farb- und formcodiert dargestellt.

Tabelle 17: Körpergewicht

Tabellarische Darstellung des täglichen mittleren Körpergewichtes in Gramm (g) und der entsprechenden Standardabweichung, sowie des geringsten (Min) und höchsten (Max) absoluten Körpergewichtes (g) der n = 6 Experimentaltiere an den Experimentaltagen. Die postoperativen Gewichte stellen das Gewicht abzüglich des implantierten Transmitters (1,6 g) dar. (# = direkt nach dem operativen Eingriff; ## = 4 Stunden nach dem operativen Eingriff).

Tag	n	Mittelwert (M)	Standardabweichung (SD)	Min	Max
-7	6	21,33	1,18	20,00	23,20
-6	6	21,55	0,89	20,80	23,20
-5	6	21,23	1,18	19,50	22,80
-4	6	21,12	0,90	19,90	22,30
-3	6	20,88	1,24	19,10	22,40
-2	6	20,40	1,72	18,00	22,40
-1	6	21,22	0,85	20,10	22,30
0	6	21,35	1,12	19,70	22,60
0#	6	21,75	1,04	20,50	23,20
0##	6	21,65	0,60	20,90	22,40
1	6	21,28	0,59	20,70	22,10
2	6	21,85	1,10	20,10	22,90
3	6	21,90	1,19	20,60	23,20
4	6	22,00	1,20	20,30	23,20
5	6	22,15	1,40	19,90	23,70
6	6	22,13	1,24	20,00	23,50
7	6	22,57	1,09	20,80	23,90
8	6	22,07	0,98	20,60	23,00
9	6	22,32	0,73	21,30	23,10
10	6	22,32	1,01	21,00	23,40
11	6	22,07	1,58	19,40	23,50
12	6	22,18	1,61	19,90	23,70
13	6	22,77	1,33	20,40	24,40
14	6	22,75	1,18	21,00	24,20
15	6	22,57	1,05	21,10	23,70
16	6	22,95	1,08	21,00	23,90
17	6	22,83	1,29	20,90	24,40
18	6	22,88	1,75	20,70	24,90
19	6	22,93	1,51	20,90	24,50
20	6	22,85	1,64	20,80	24,80
21	6	23,25	1,32	21,20	24,80
22	6	23,35	1,08	22,00	25,00

2.3. Rektaltemperatur

Die rektale Körpertemperatur wurde jeweils als letzter Parameter vor den Aufzeichnungen mit den Smart-Homecage-Systemen erfasst. So wurde eine möglichst geringe Zeitspanne zwischen dem darauffolgenden Starten der Telemetrie und/oder der Smart-Homecage-Systeme gewährleistet. Infolgedessen erfolgten die Datenerhebungen zu unterschiedlichen Zeiten und an variierenden Orten. Die gemessenen Rektaltemperaturen variierten an den Experimentaltagen im Mittel zwischen 36,23°C und 37,32°C. In Bezug auf alle Messzeitpunkte, wurde die niedrigste mittlere Rektaltemperatur am ersten postoperativen Tag gemessen (siehe Abbildung 34 und Tabelle 18).

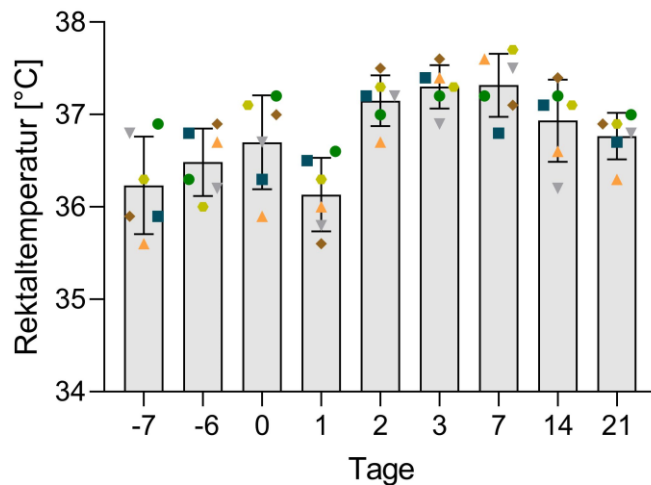


Abbildung 34: Rektaltemperatur

Graphische Darstellung der mittleren Rektaltemperatur ($M \pm SD$) in Grad Celsius (°C). Die absolute Rektaltemperatur der $n = 6$ Individuen an den Experimentaltagen ist farb- und formcodiert dargestellt.

Tabelle 18: Rektaltemperatur

Tabellarische Darstellung der mittleren Rektaltemperatur in Grad Celsius (°C) und der entsprechenden Standardabweichung, sowie der geringsten (Min) und höchsten (Max) absoluten Rektaltemperatur der n = 6 Experimentaltiere an den Experimentaltagen.

Tag	n	Mittelwert (M)	Standardabweichung (SD)	Min	Max
-7	6	36,23	0,53	35,60	36,90
-6	6	36,48	0,37	36,00	36,90
0	6	36,70	0,51	35,90	37,20
1	6	36,13	0,40	35,60	36,60
2	6	37,15	0,27	36,70	37,50
3	6	37,30	0,24	36,90	37,60
7	6	37,32	0,34	36,80	37,70
14	6	36,93	0,45	36,20	37,40
21	6	36,77	0,25	36,30	37,00

2.4. Nestbauverhalten

Während der *Baseline* zeigte sich der niedrigste mediane Nest-Score am ersten Experimentaltag, an welchem die Fotos der Nester vier Stunden nach dem Käfigwechsel aufgenommen wurden. An den folgenden *Baseline*-Tagen zeigten sich im Median konstant nahezu perfekte bis perfekte Nester, welche durch hohe mediane Nest-Scores reflektiert wurden. Postoperativ zeigte sich eine Reduktion der medianen Nest-Scores, wobei der niedrigste mediane Nest-Score vier Stunden nach dem operativen Eingriff und somit nach dem Käfigwechsel an Tag 0 auftrat. Der mediane Nest-Score an Tag 0 unterschritt den medianen Nest-Score der Tiere am ersten *Baseline*-Tag, an welchem die Fotos zu einem vergleichbaren Zeitpunkt aufgenommen wurden. Ab dem dritten postoperativen Tag erreichten alle Tiere bis zum letzten Experimentaltag wieder Score-Werte auf dem Niveau der präoperativen Nest-Scores (siehe auch Abbildung 35 und Tabelle 19).

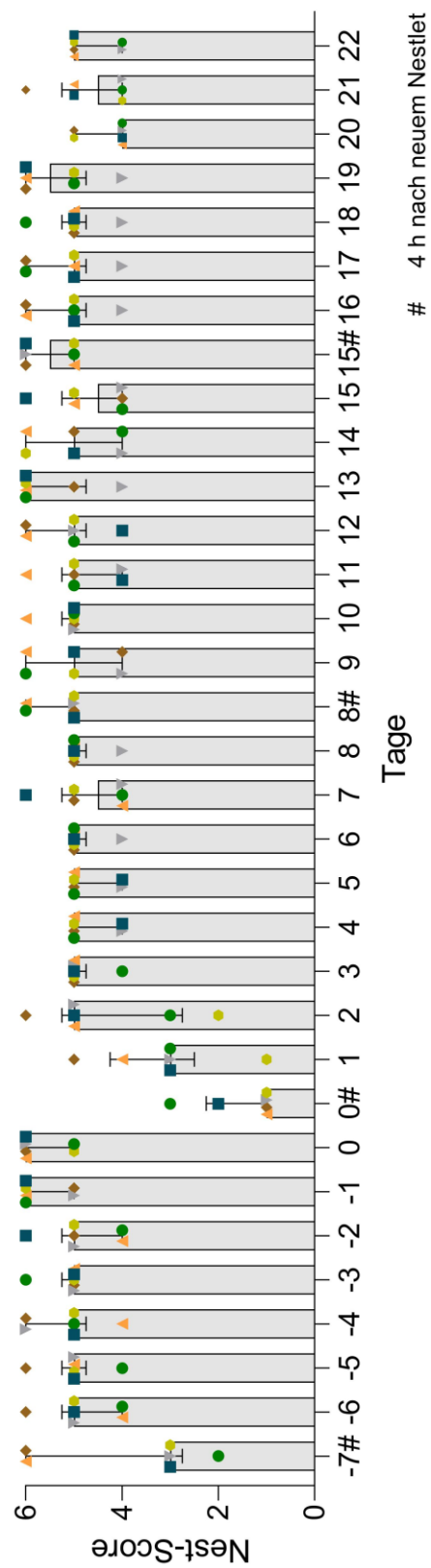


Abbildung 35: Nestbauverhalten

Graphische Darstellung des täglichen medianen Nest-Scores (Median $\pm$ IQR) der $n = 6$ Experimentaltiere. Die täglichen individuellen Nest-Scores sind farb- und formcodiert dargestellt.

Tabelle 19: Nestbauverhalten

Tabellarische Darstellung des medianen Nest-Scores und des entsprechenden 25. und 75. Perzentils, sowie des geringsten (Min) und höchsten (Max) Nest-Scores der $n = 6$ Experimentaltiere an den Experimentaltagen. (# = 4 Stunden nach dem Käfigwechsel und somit nach Erhalt eines neuen Nestlets).

Tag	n	Median	25. Perzentil	75. Perzentil	Min	Max
-7	6	3	2,75	6	2	6
-6	6	5	4	5,25	4	6
-5	6	5	4,75	5,25	4	6
-4	6	5	4,75	6	4	6
-3	6	5	5	5,25	5	6
-2	6	5	4	5,25	4	6
-1	6	6	5	6	5	6
0	6	6	5	6	5	6
0#	6	1	1	2,25	1	3
1	6	3	2,5	4,25	1	5
2	6	5	2,75	5,25	2	6
3	6	5	4,75	5	4	5
4	6	5	4	5	4	5
5	6	5	4	5	4	5
6	6	5	4,75	5	4	5
7	6	4,5	4	5,25	4	6
8	6	5	4,75	5	4	5
8#	6	5	5	6	5	6
9	6	5	4	6	4	6
10	6	5	5	5,25	5	6
11	6	5	4	5,25	4	6
12	6	5	4,75	6	4	6
13	6	6	4,75	6	4	6
14	6	5	4	6	4	6
15	6	4,5	4	5,25	4	6
15#	6	5,5	5	6	5	6
16	6	5	4,75	6	4	6
17	6	5	4,75	6	4	6
18	6	5	4,75	5,25	4	6
19	6	5,5	4,75	6	4	6
20	6	4	4	5	4	5
21	6	4,5	4	5,25	4	6
22	6	5	4	5	4	5

2.5. Neuro-Score

Postoperativ zeigte sich eine Erhöhung des Summen-Neuro-Scores an Tag 0 und 1. Der mediane Summen-Neuro-Score sank ab dem zweiten postoperativen Tag und erreichte ab dem dritten postoperativen Tag im Median wieder basale Scores (siehe Abbildung 36 und Tabelle 20). Während der *Baseline* wurde bei allen Experimentaltieren eine gesteigerte „Berührungsreaktion“ festgestellt. Zu der postoperativen Erhöhung des Summen-Scores trugen die Parameter „Beckenhöhe“, „Schwanzhöhe“ und „Beinrotation“ bei, wobei der Parameter „Schwanzhöhe“ lediglich bei einem Tier zu einem Zeitpunkt Veränderungen aufwies. Die Tabelle 21 gibt einen Überblick über die Anzahl der Tiere, welche die entsprechenden individuellen Scores erreichten.

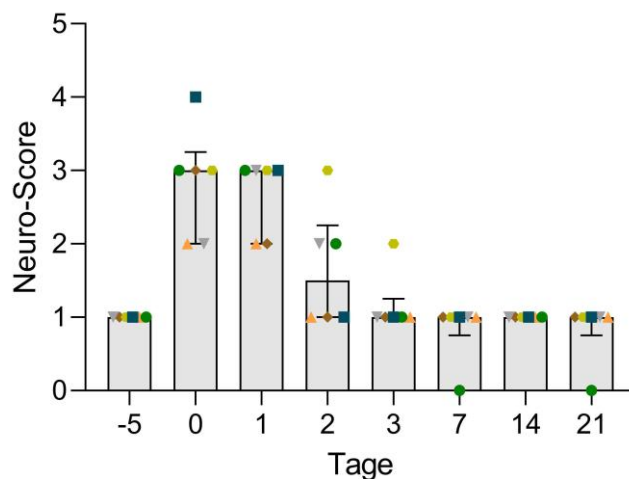


Abbildung 36: Neuro-Score

Graphische Darstellung des medianen Summen-Neuro-Scores (Median $\pm$ IQR) der $n = 6$ Experimentaltiere. Die täglichen individuellen Summen-Neuro-Scores an den Experimentaltagen sind farb- und formcodiert dargestellt.

Tabelle 20: Neuro-Score

Tabellarische Darstellung des medianen Summen-Neuro-Scores und des entsprechenden 25. und 75. Perzentils, sowie des geringsten (Min) und höchsten (Max) Summen-Neuro-Scores der n = 6 Experimentaltiere an den Experimentaltagen.

Tag	n	Median	25. Perzentil	75. Perzentil	Min	Max
-5	6	1	1	1	1	1
0	6	3	2	3,25	2	4
1	6	3	2	3	2	3
2	6	1,5	1	2,25	1	3
3	6	1	1	1,25	1	2
7	6	1	0,75	1	0	1
14	6	1	1	1	1	1
21	6	1	0,75	1	0	1

Tabelle 21: Anzahl der Tiere, die individuelle Scores der Neuro-Score-Parameter erreichten

Tabellarische Darstellung der Anzahl der Tiere, die an den Experimentaltagen individuelle Scores der Neuro-Score-Parameter erreichten. Die Tabelle enthält lediglich die Parameter, bei denen im Rahmen des Neuro-Scorings der n = 6 Experimentaltiere Abweichungen festgestellt wurden.

Parameter	Score	Tag -5	Tag 0	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 7	Tag 14	Tag 21
Beckenhöhe	-1	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	6	2	1	5	6	6	6	6
	1	0	4	5	1	0	0	0	0
Schwanzhöhe	-1	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	6	5	6	6	6	6	6	6
	1	0	1	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0
Beinrotation (nach außen)	0	6	0	1	3	5	6	6	6
	1	0	6	5	3	1	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0
Berührungsreaktion (auf dreimal leichtes Streichen über den Rücken)	-2	0	0	0	0	0	0	0	0
	-1	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	1	0	1
	1	6	6	6	6	6	5	6	5
	2	0	0	0	0	0	0	0	0
Harnabsatz	0	5	6	6	6	6	5	5	6
	1	1	0	0	0	0	1	1	0
Kotabsatz	0	4	3	3	1	1	2	4	5
	1	2	3	3	5	5	4	2	1

2.6. Mouse Grimace Scale

Während der *Baseline* zeigte sich der niedrigste mittlere MGS. Postoperativ zeigte sich eine Erhöhung des mittleren MGS, wobei der höchste Mittelwert vier Stunden nach dem postoperativen Eingriff (Tag 0) ermittelt wurde. Die Mittelwerte sanken in den folgenden postoperativen Tagen, bis ab dem dritten postoperativen Tag im weiteren Verlauf vergleichbare Werte erreicht wurden. Der basale Mittelwert wurde postoperativ nie unterschritten (siehe Abbildung 37 und Tabelle 22). Der Summen-MGS und Summen-MGS exklusive der *action unit* (AU) „Veränderung der Vibrissen“ können der Tabelle 22 entnommen werden. Die Tabelle 23 gibt einen Überblick über Fälle, in denen MGS-AUs oder Bilder nicht evaluiert werden konnten. Für ein Tier waren für Tag 0 keine Bilder für das Scoring verfügbar, da sich das Tier während der Aufzeichnungen immer abgewandt zur Kamera oder in Bewegung befand.

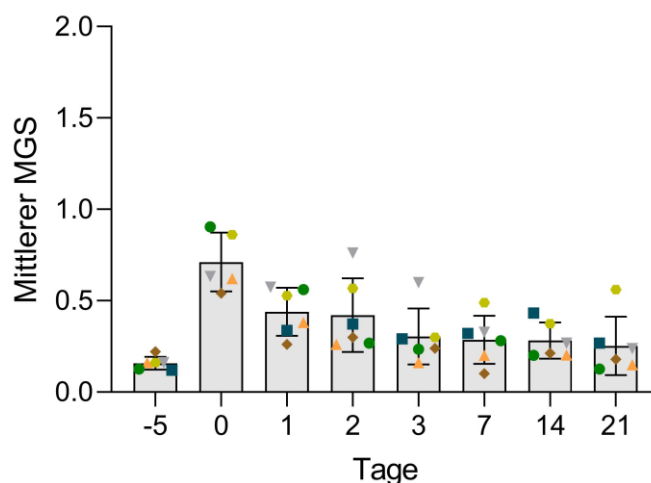


Abbildung 37: MGS

Graphische Darstellung des mittleren MGS (*Mouse Grimace Scale*, $M \pm SD$) der $n = 6$ Experimentaltiere (abweichende Stichprobengröße an Tag 0: $n = 5$). Die individuellen MGS-Scores an den Experimentaltagen sind farb- und formcodiert dargestellt.

Tabelle 22: MGS

Tabellarische Darstellung des mittleren MGS (*Mouse Grimace Scale*, Skala: 0 bis 2), des Summen-MGS (Skala: 0 bis 10) und des Summen-MGS exklusive der *action unit* „Veränderung der Vibrissen“ (Skala: 0 bis 8) mit den entsprechenden Standardabweichungen, sowie des geringsten (Min) und höchsten (Max) MGS-Scores der $n = 6$ Experimentaltiere (abweichende Stichprobengröße an Tag 0: $n = 5$) an den Experimentaltagen.

	Tag	n	Mittelwert (M)	Standardabweichung (SD)	Min	Max
Mittlerer MGS	-5	6	0,16	0,04	0,12	0,22
	0	5	0,71	0,16	0,54	0,90
	1	6	0,44	0,13	0,26	0,58
	2	6	0,42	0,20	0,26	0,76
	3	6	0,30	0,15	0,16	0,60
	7	6	0,29	0,13	0,10	0,49
	14	6	0,28	0,10	0,20	0,43
	21	6	0,25	0,16	0,13	0,56
Summen-MGS	-5	6	0,77	0,21	0,50	1,10
	0	5	3,56	0,80	2,70	4,52
	1	6	2,10	0,58	1,30	2,80
	2	6	2,11	1,01	1,30	3,80
	3	6	1,52	0,77	0,80	3,00
	7	6	1,43	0,66	0,50	2,44
	14	6	1,35	0,45	1,00	2,17
	21	6	1,26	0,80	0,63	2,80
Summen-MGS (exkl. "Veränderung der Vibrissen")	-5	6	0,73	0,22	0,50	1,10
	0	5	3,16	0,30	2,70	3,52
	1	6	1,97	0,69	0,80	2,80
	2	6	1,61	0,70	0,83	2,80
	3	6	1,08	0,56	0,60	2,00
	7	6	1,14	0,39	0,50	1,60
	14	6	1,05	0,39	0,50	1,50
	21	6	0,92	0,46	0,50	1,80

Tabelle 23: Übersicht zu den Fällen, in denen MGS-action units oder Bilder nicht evaluiert werden konnten

Anteil der während dem Scoring abgelehnten Bilder*		1.70 %
Anteil der Fälle, in denen <i>action units</i> nicht evaluiert werden konnten**	Schließen der Augen	0.00 %
	Wölbung des Nasenrückens	0.65 %
	Wölbung des Oberkieferbereiches	0.65 %
	Stellung der Ohren	0.00 %
	Veränderung der Vibrissen	59.74 %
Anteil der Fälle in denen die <i>action unit</i> „Veränderung der Vibrissen“ in allen 10 Bildern eines Zeitpunktes abgelehnt wurde***		6.38 %
* Berechnet in Bezug auf die gesamte Anzahl der extrahierten Bilder ($n = 470$, da für ein Tier an Tag 0 keine Bilder verfügbar waren) ** Berechnet in Bezug auf die gesamte Anzahl der analysierten Bilder ($n = 462$) *** Die <i>action unit</i> „Veränderung der Vibrissen“ war nicht in allen 10 Bildern pro Maus und Zeitpunkt evaluierbar; Berechnet in Bezug auf die gesamte Anzahl der MGS Scoring Fälle ($n = 47$, inklusive aller Mäuse und Zeitpunkte)		

2.7. Harmonisierter klinischer Score

Zu einer Erhöhung des Summen-Scores trugen folgende Parameter bei: Körpergewicht („Reduktion um $> 10\%$ “); Allgemeinzustand („Fell stumpf, struppig oder ungepflegt“, „Augen zusammengekniffen“ und „Abnorme Körperhaltung“) und prozessspezifische Kriterien („Öffnung der Nähte durch Aufbeißen“). Die Körpergewichtsreduktion ($>10\%$) trat lediglich bei einem Tier zu einem Zeitpunkt während der *Baseline* auf, ansonsten traten präoperativ keine Abweichungen auf. Postoperativ zeigte sich eine Erhöhung des Summen-Scores an Tag 0 und 1. Ab dem zweiten postoperativen Tag sank der mediane Summen-Score und erreichte bereits wieder basale Scores (siehe Abbildung 38 und Tabelle 24). Die Tabelle 25 gibt einen Überblick über die Anzahl der Tiere, welche die entsprechenden individuellen Scores des harmonisierten klinischen Scores erreichten. So führte ab dem postoperativen Tag 3 bis zum Tag 6 lediglich das Öffnen der Nähte bei vereinzelt Individuen zu Einzel-Scores. Im weiteren Verlauf wurden bis zum letzten Experimentaltag keine Abweichungen mit dem Scoring festgestellt.

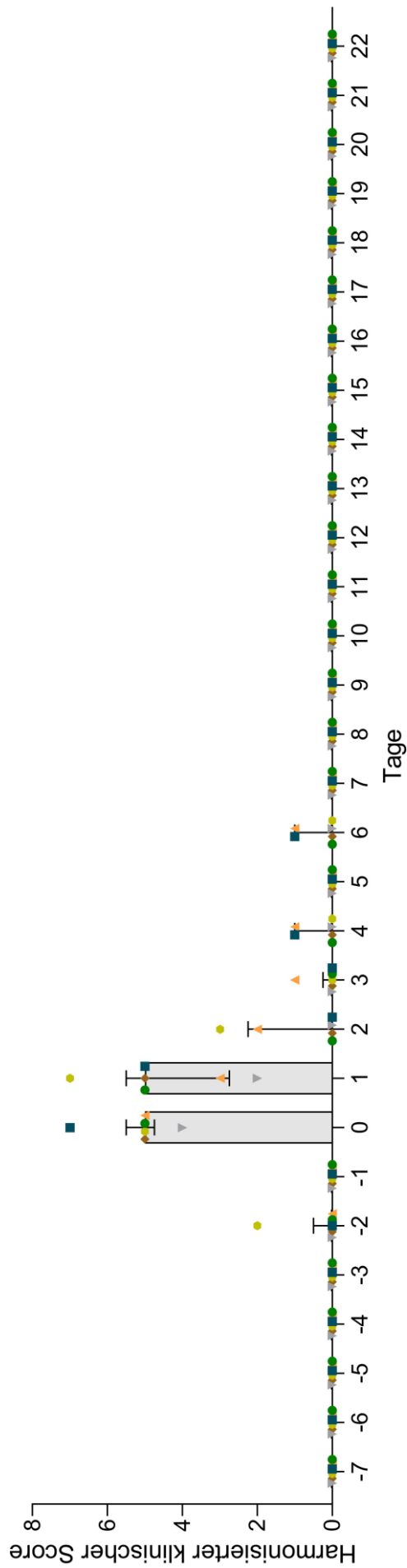


Abbildung 38: Harmonisierter klinischer Score

Graphische Darstellung des medianen Summen-Scores (Median $\pm$ IQR) des harmonisierten klinischen Scores der $n = 6$ Experimentaltiere. Die täglichen individuellen Summen-Scores an den Experimentaltagen sind farb- und formcodiert dargestellt.

Tabelle 24: Harmonisierter klinischer Score

Tabellarische Darstellung des medianen Summen-Scores des harmonisierten klinischen Scores und des entsprechenden 25. und 75. Perzentils, sowie des geringsten (Min) und höchsten (Max) Summen-Scores der n = 6 Experimentaltiere an den Experimentaltagen.

Tag	n	Median	25. Perzentil	75. Perzentil	Min	Max
-7	6	0	0	0	0	0
-6	6	0	0	0	0	0
-5	6	0	0	0	0	0
-4	6	0	0	0	0	0
-3	6	0	0	0	0	0
-2	6	0	0	0,5	0	2
-1	6	0	0	0	0	0
0	6	5	4,75	5,5	4	7
1	6	5	2,75	5,5	2	7
2	6	0	0	2,25	0	3
3	6	0	0	0,25	0	1
4	6	0	0	1	0	1
5	6	0	0	0	0	0
6	6	0	0	1	0	1
7	6	0	0	0	0	0
8	6	0	0	0	0	0
9	6	0	0	0	0	0
10	6	0	0	0	0	0
11	6	0	0	0	0	0
12	6	0	0	0	0	0
13	6	0	0	0	0	0
14	6	0	0	0	0	0
15	6	0	0	0	0	0
16	6	0	0	0	0	0
17	6	0	0	0	0	0
18	6	0	0	0	0	0
19	6	0	0	0	0	0
20	6	0	0	0	0	0
21	6	0	0	0	0	0
22	6	0	0	0	0	0

Tabelle 25: Anzahl der Tiere, die individuelle Scores bei Parametern des harmonisierten klinischen Scores erreichten

Tabellarische Darstellung der Anzahl der Tiere, die an den Experimentaltagen individuelle Scores bei Parametern des harmonisierten klinischen Scores erreichten. Die Tabelle enthält nur die Parameter, bei denen im Rahmen des harmonisierten klinischen Scorings der $n = 6$ Experimentaltiere Abweichungen festgestellt wurden. Die Zeitpunkte vor dem Tag -2 und nach dem Tag 6 wurden ebenfalls nicht dargestellt, da in diesen Zeiträumen keine Parameter des harmonisierten klinischen Scores verändert waren (Scores immer „0“).

Parameter		Score	Tag -2	Tag -1	Tag 0	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6
I Körpergewicht	I-a Reduktion um > 10 % (im Vergleich zum Gewicht an Tag -7)	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0
II Allgemeinzustand	II-b Fell stumpf, struppig oder ungepflegt	2	0	0	6	6	1	0	0	0	0
	II-c Augen zusammengekniffen	2	0	0	3	1	0	0	0	0	0
	II-e Abnorme Körperhaltung	3	0	0	4	3	1	0	0	0	0
V Prozessspezifische Kriterien	V-b Öffnung der Nähte durch Aufbeißen	1	0	0	1	1	0	1	2	0	2

2.8. Fäkale Kortikosteronmetaboliten

Die mittlere Konzentration der fäkalen Kortikosteronmetaboliten (FCM) überschritt am ersten postoperativen Tag die mittlere basale Konzentration. An den beiden weiteren Experimentaltagen (14 und 21) unterschritt die mittlere FCM-Konzentration den Basalwert (siehe Abbildung 39 und Tabelle 26).

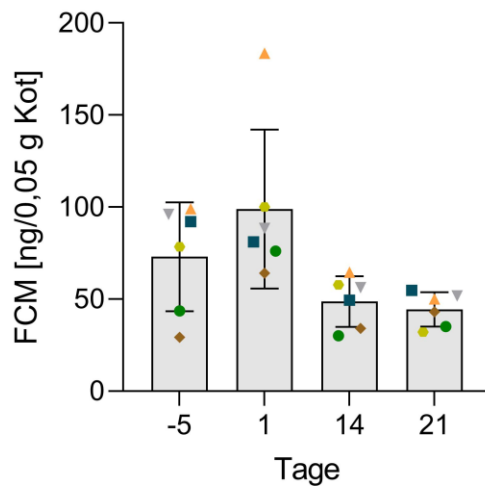


Abbildung 39: FCM

Graphische Darstellung der mittleren Konzentration der fäkalen Kortikosteronmetaboliten (FCM-Konzentration, $M \pm SD$) in ng/0,05 g Kot. Die absolute FCM-Konzentration der $n=6$ Individuen an den Experimentaltagen ist farb- und formcodiert dargestellt.

Tabelle 26: FCM

Tabellarische Darstellung der mittleren Konzentration der fäkalen Kortikosteronmetaboliten (FCM) in ng/0,05 g Kot und der entsprechenden Standardabweichung, sowie der geringsten (Min) und höchsten (Max) absoluten FCM-Konzentration der $n = 6$ Experimentaltiere an den Experimentaltagen.

Tag	n	Mittelwert (M)	Standardabweichung (SD)	Min	Max
-5	6	73,07	29,58	29,30	99,00
1	6	98,88	43,22	64,10	183,60
14	6	48,67	13,76	30,10	64,50
21	6	44,42	9,35	32,00	54,80

VI. DISKUSSION

1. Retrospektiver Vergleich zwischen telemetrisch erfassten Aktivitätsdaten und klinischen Scoring-Systemen

In der ersten Studie dieser Dissertation sollten telemetrisch erfasste Aktivitätsdaten mit klinischen Scoring-Systemen über eine retrospektive explorative arbeitsgruppenübergreifende (DFG-FOR2591, 2025) Analyse verglichen werden. Grundsätzlich zeigten sich in allen inkludierten Modellen oder Interventionen Aktivitätsänderungen an bestimmten Experimentaltagen oder in bestimmten Gruppen im Vergleich zu einem Referenztag (oder einem Mittelwert aus mehreren Referenztagen) oder einer Referenzgruppe. Lediglich bei der subkutanen Transmitterimplantation bei Mäusen und bei nicht-kabelgebundenen vs. kabelgebundenen Aufzeichnungen bei Ratten konnten keine entsprechenden Änderungen festgestellt werden. Nach operativen Eingriffen bei Mäusen und Ratten zeigte sich in der akuten bzw. frühen postoperativen Phase entweder keine Aktivitätsänderung oder eine Aktivitätsreduktion. Eine akute Aktivitätsreduktion nach den operativen Interventionen war erwartungsgemäß, da bei diesen Eingriffen von Schmerzen auszugehen ist (NATIONAL RESEARCH COUNCIL COMMITTEE ON GUIDELINES FOR THE USE OF ANIMALS IN NEUROSCIENCE AND BEHAVIORAL RESEARCH, 2003; NATIONAL RESEARCH COUNCIL COMMITTEE ON RECOGNITION AND ALLEVIATION OF PAIN IN LABORATORY ANIMALS, 2009). In den letzten Tagen vor dem Erreichen eines humanen Endpunktes nach Glioblastom-Entwicklung bei Ratten zeigten sich Aktivitätsreduktionen. Entsprechende Reduktionen der Aktivität konnten in anderen Tumormodellen ebenfalls bei fortschreitendem Tumorwachstum festgestellt werden (TOLEDO et al., 2011; SOUZA et al., 2018). Nach chemischer oder elektrischer Status-Epilepticus-Induktion, sowie nach elektrischen Amygdala-Stimulationen (Kindling) zeigten sich bei Ratten Aktivitätsänderungen im Rahmen von Steigerungen. Diese Aktivitätsänderungen spiegeln sich auch in der berichteten Hyperaktivität in ähnlichen Studien wider (MURPHY und BURNHAM, 2003; STEWART und LEUNG, 2003; BRANDT et al., 2006; MATOS et al., 2018). Sowohl bei

Vergleichen mit Daten eines Referenztages als auch bei Vergleichen mit Daten einer Referenzgruppe wurden Aktivitätsänderungen häufiger mit telemetrischen Aufzeichnungen erfasst als mit dem klassischen klinischen Score.

Bei den **Vergleichen mit Referenztagen** zeigten sich bei Mäusen nach subkutaner Transmitterimplantation sowohl in den telemetrisch erfassten Aktivitätsdaten als auch in den klinischen Scoring-Systemen zu keinem Zeitpunkt Änderungen. Dagegen zeigte sich bei Mäusen nach intraperitonealer Transmitterimplantation in den postoperativen Tagen zunächst unabhängig vom angewendeten Analgesieregime (Carprofen oder Metamizol) eine Reduktion in der telemetrisch erfassten Dunkelphasenaktivität. Mit dem klinischen Score konnte an den entsprechenden Tagen keine Aktivitätsänderung erfasst werden. Nach der intraperitonealen Implantation wurden auch belastungs-assoziierte Abweichungen in Parametern, wie dem Wühlverhalten, dem Körpergewicht, der Herzfrequenz und der Herzratenvariabilität, festgestellt (TALBOT et al., 2022). Dies unterstreicht, dass die telemetrisch erfassten Aktivitätsreduktionen auf die postoperative Belastung zurückzuführen sind. Auch Leon und Kollegen (2004) stellten bei männlichen C57BL/6J Mäusen nach intraperitonealer Transmitterimplantation veränderte zirkadiane Aktivitätsrhythmen bis zum fünften postoperativen Tag fest, wobei die Aktivität der Tiere vor allem in den postoperativen Dunkelphasen reduziert ausfiel. Ähnlich dazu konnten bei männlichen C57BL/6J Mäusen vier bis fünf Tage nach intraperitonealer Transmitterimplantation wieder klassisch ausgeprägte zirkadiane Aktivitätsrhythmen festgestellt werden, wobei die Dauer bis zur Wiedererlangung höherer Aktivitätswerte in Abhängig vom Analgesieregime variierte (HAYES et al., 2000). Ein Grund für die ausgebliebene Aktivitätsänderung nach subkutaner Transmitterimplantation im Vergleich zu den Aktivitätsreduktionen nach intraperitonealer Transmitterimplantation könnte eine vergleichsweise höhere Belastung nach intraperitonealer Implantation darstellen. So zeigten sich nach subkutaner Implantation ebenfalls belastungs-assoziierte Abweichungen in verschiedenen Parametern (z. B. Herzfrequenz, Herzratenvariabilität, Nestbauverhalten), wobei keine Aktivitäts- und Körpergewichtsreduktionen auftraten (siehe auch Kapitel V 2.). Eine weitere Erklärung könnte eine Überlegenheit des Analgesieregimes in der inkludierten Studie mit subkutaner Implantation im Vergleich zur inkludierten Studie mit

intraperitonealer Implantation sein. Hayes und Kollegen (2000) zeigten bereits, dass unterschiedliche Analgesieregime nach Transmitterimplantation bei männlichen C57BL/6J Mäusen mit einer unterschiedlichen Dauer bis zur Normalisierung der Aktivität einhergingen. Da in beiden inkludierten Studien dieselben Transmitter verwendet wurden, kann ein Einfluss des Transmittertyps bzw. der Implantatgröße vernachlässigt werden. Insgesamt deuten die Ergebnisse darauf hin, dass die Aktivität einen validen Parameter zur multimodalen Belastungsbeurteilung nach Transmitterimplantationen darstellt. In diesen vorliegenden Studien erwies sich die telemetrische Erfassung als überlegen gegenüber der Erfassung mit den klinischen Scoring-Systemen.

Nach partieller Hepatektomie (PH) im Rahmen einer Laparotomie zeigte sich bei den Ratten der 50 %-PH-Gruppe am ersten und dritten postoperativen Tag, sowie bei den Ratten der 70 %-PH-Gruppe am ersten postoperativen Tag eine Reduktion der telemetrisch erfassten Dunkelphasenaktivität, welche mit dem klinischen Score lediglich am ersten postoperativen Tag in der 50 %-PH-Gruppe erfasst werden konnte. Andere Parameter, wie die fäkalen Kortikosteronmetaboliten, die zurückgelegte Distanz im Open field, die Herzfrequenz sowie die Aspartat-Aminotransferase und Alanin-Aminotransferase-Konzentration, welche für die Belastungseinschätzung nach partieller Hepatektomie von Ziegłowski und Kollegen (2021) erfasst wurden, erreichten am ersten postoperativen Tag ebenfalls die stärksten Abweichungen. Das Körpergewicht und der allgemeine klinische Score erreichten maximale Abweichungen zwischen dem ersten und zweiten postoperativen Tag (ZIEGŁOWSKI et al., 2021). Somit stellt die Aktivität auch einen validen Parameter für die Belastungseinschätzung nach partieller Hepatektomie dar. Im Vergleich zum klinischen Score konnten mit der Telemetrie dennoch häufiger Aktivitätsänderungen erfasst werden. Bei männlichen Sprague-Dawley Ratten zeigte sich nach einer Laparotomie ebenfalls eine postoperativ reduzierte Aktivität (Totale horizontal zurückgelegte Distanz) in den Dunkelphasen, wobei am ersten postoperativen Tag die niedrigste zurückgelegte Distanz erfasst wurde (CATA et al., 2021).

Nach der Durchführung einer Laparotomie zur orthotopischen Implantation von Pankreaskarzinomzellen konnte bei den männlichen C57BL/6J Mäusen eine reduzierte Aktivität in der Nacht nach dem operativen Eingriff mittels Telemetrie und mit dem klinischen Score erfasst werden. An demselben Experimentaltag

zeigten auch die zusätzlich erfassten Parameter die stärksten belastungs-assozierten Abweichungen (KUMSTEL et al., 2020). Während der Tumorprogression könnten schmerzbedingte Aktivitätsreduktionen durch die durchgehende analgetische Versorgung der Tiere kompensiert worden sein, was die ausbleibende Aktivitätsänderung (Telemetrie und klinischer Score) zu späteren Zeitpunkten, während dem Tumorwachstum, erklären könnte. Mit den zusätzlich erfassten Parametern wurden während dem Tumorwachstum ebenfalls keine signifikanten belastungs-assozierten Abweichungen festgestellt (KUMSTEL et al., 2020). Die Aktivität stellt in diesem Modell somit insbesondere in der akuten postoperativen Phase einen validen Parameter zur Belastungseinschätzung dar. Unabhängig von dem angewendeten Analgesieregime konnte 24 Stunden nach einer Laparotomie bei weiblichen und männlichen C57BL/6J Mäusen ebenfalls eine reduzierte Aktivität durch kamerabasierte Analysen festgestellt werden (DURST et al., 2021). Dagegen konnten Arras und Kollegen (2007) bei zuvor transmitterimplantierten Tieren keine signifikanten telemetrisch erfassten Aktivitätsänderungen nach einer Laparotomie bei männlichen HsdHan:NMRI Mäusen mit und ohne postoperativer Analgesie feststellen. Hier sollten mögliche unterschiedlich ausgeprägte Schmerzsensitivitäten zwischen den Stämmen berücksichtigt werden (ONUMA et al., 2024).

Eine telemetrisch erfasste Steigerung der Dunkelphasenaktivität in der frühen Post-Insult-Phase und in der Latenzphase nach chemischer Status-Epilepticus-Induktion durch fraktionierte Lithium-Pilocarpin-Injektionen bei Ratten konnte nicht mit dem klinischen Scoring-System erfasst werden. Grundsätzlich wiesen die Ergebnisse dieser Studie unserer Arbeitsgruppe unter Berücksichtigung von verschiedenen (patho-) physiologischen, verhaltensbezogenen und biochemischen Parametern auf eine erhöhte Beeinträchtigung des Wohlbefindens der Tiere in der frühen Post-Insult-Phase und der chronischen Phase sowie auf eine geringere Belastung in der Latenzphase des Modells hin (KOSKA et al., 2019). Bei Vergleichen mit Basalmessungen konnten keine Aktivitätsänderungen in der chronischen Phase erfasst werden. Auch bei männlichen Wistar Ratten konnte im Vergleich zu Basalmessungen eine gesteigerte Aktivität nach chemischer SE-Induktion durch Pilocarpin in der frühen Post-SE-Phase und 10 Wochen nach SE-Induktion festgestellt werden. Dabei wurden über die Infrarot-Bewegungssensoren in den Dunkelphasen ausgeprägtere Aktivitätsänderungen als in den Hellphasen gemessen

(MATOS et al., 2018). Bei Vergleichen mit Basalmessungen führte die chemische SE-Induktion mittels Pilocarpin bei männlichen Wistar Ratten ebenfalls zu einer gesteigerten Hell- und Dunkelphasenaktivität. Diese Aktivitätssteigerung zeigte sich in viertägigen Aufzeichnungen nach der ersten, vierten und achten Woche nach SE-Induktion. Die mittels Infrarot-Bewegungssensoren erfassten Aktivitätsänderungen fielen hier bei den Messungen eine Woche nach SE am deutlichsten aus und reduzierten sich mit jedem Messzeitraum, bis in der letzten Messung (12 Wochen nach SE) wieder Basalwerte oder geringere Werte erreicht wurden (STEWART und LEUNG, 2003). Nach elektrischer SE-Induktion wurde bei Ratten in der inkludierten Studie unserer Arbeitsgruppe lediglich telemetrisch eine Steigerung der Dunkelphasenaktivität in der Latenzphase erfasst. Auch in diesem Modell wiesen verschiedene (patho-) physiologische, verhaltensbezogene und biochemische Parameter auf eine gesteigerte Belastung der Tiere in der frühen Post-Insult-Phase sowie auf eine geringere Belastung in der Latenzphase des Modells hin. Die Belastung in der frühen Post-Insult-Phase spiegelte sich hier lediglich in der erhöhten Hellphasenaktivität wider (SEIFFERT et al., 2019). Die erfassten Aktivitätsänderungen deuten darauf hin, dass die telemetrisch erfasste Aktivität einen validen Parameter darstellt, der in multidimensionale Systeme zur Einschätzung der Belastung in verschiedenen Phasen nach chemischer und elektrischer SE-Induktion integriert werden könnte. Die Telemetrie erfasste Aktivitätsänderungen auch in diesen beiden inkludierten Post-SE-Modellen bei Ratten häufiger als die angewendeten klinischen Scoring-Systeme. An dieser Stelle sei erneut betont, dass für die Belastungsbeurteilung immer multimodale Ansätze für eine umfassende Einschätzung herangezogen werden sollten (VAN DIJK et al., 2020; REIBER et al., 2023).

Im Kindling-Modell wurden während der Phase generalisierter Anfälle in der Sham-Gruppe (ohne entsprechende Anfälle) telemetrisch an zwei von drei Tagen Aktivitätsreduktionen erfasst, während keine Aktivitätsänderungen mit dem klinischen Score erfasst wurden. Hier sollte berücksichtigt werden, dass die telemetrisch erfassten Aktivitätsmittelwerte der Sham-Tiere innerhalb der drei Gruppen (Kontrolle, Sham und Kindling) während den Referenztagmessungen am höchsten ausfielen. Zu den Zeitpunkten, während dem Auftreten generalisierter Anfälle, konnte unsere Arbeitsgruppe zwischen allen Gruppen (Kontrolle, Sham, Kindling) keine signifikanten Unterschiede in der Dunkelphasenaktivität

feststellen. In der Phase der generalisierten Anfälle wurden ebenfalls keine Veränderungen in der Herzratenvariabilität oder der Nestkomplexität festgestellt (MÖLLER et al., 2019). Die bei dem vorliegenden Vergleich mit den Daten von Referenztagen festgestellten Aktivitätsreduktionen in der Sham-Gruppe könnten demnach auch auf entsprechend hohe „Basalwerte“ zurückzuführen sein. Dennoch konnten diese Änderungen häufiger mit der Telemetrie als mit dem klinischen Scoring erfasst werden.

Im Rahmen der Glioblastom-Entwicklung bei Ratten wurde ab dem zweiten Tag vor Erreichen eines humanen Endpunktes bis zu dessen Eintritt eine reduzierte Aktivität mit dem klinischen Score erfasst. Diese Reduktion spiegelte sich ebenfalls in den telemetrischen Daten wider, wobei am Tag vor Erreichen eines humanen Endpunktes keine Reduktion erfasst wurde. Die hohe Varianz der telemetrisch erfassten Aktivitätsdaten am Tag vor Erreichen des Endpunktes könnte hierfür ausschlaggebend gewesen sein. Ähnlich zur Erfassung mit dem klinischen Score und der Telemetrie, traten in den letzten Tagen vor dem Erreichen eines humanen Endpunktes weitere belastungs-assoziierte Veränderungen (z. B. im Körpergewicht, im Wühlverhalten oder der Herzratenvariabilität) auf (HELGERS et al., 2020). Sowohl die Telemetrie als auch das angewendete klinische Scoring-System ermöglichten in dieser Studie eine Erfassung von Aktivitätsänderungen in vergleichbarem Ausmaß. Eine Aktivitätsreduktion zu fortgeschrittenen Zeitpunkten während der Tumorprogression wurde auch bei männlichen Wistar Ratten in einem C6-Zell-Gliom-Modell beschrieben (SOUZA et al., 2018).

Sowohl in den telemetrisch erfassten Aktivitätsdaten als auch in den klinischen Scoring-Systemen konnten bei den kabelgebundenen und nicht-kabelgebundenen Aufzeichnungen bei Ratten zu keinem Zeitpunkt Änderungen festgestellt werden. Bei den Tieren beider Experimentalgruppen wurden in der Originalstudie unserer Arbeitsgruppe ebenfalls keine substanziellen Unterschiede bei Verhaltensuntersuchungen oder bei den untersuchten Schlafmustern festgestellt, sodass von einer vergleichbaren Belastung ausgegangen werden kann (AULEHNER et al., 2022a). Das Ausbleiben von Aktivitätsänderungen zum Zeitpunkt der experimentellen Aufzeichnungen könnte auf eine geringe Belastung in beiden Gruppen zurückzuführen sein. Weder mit der Telemetrie noch mit dem klinischen Scoring-System wurden Änderungen der Aktivität erfasst. In unserer Arbeitsgruppe konnten bei Ratten ebenfalls keine Unterschiede zwischen

kabelgebundenen Gruppen mit Elektrodenimplantaten und naiven Gruppen ohne Implantate in der zurückgelegten Distanz im Open field festgestellt werden (KOSKA et al., 2019; SEIFFERT et al., 2019). Bei den Ergebnissen von kabelgebundenen Aufzeichnungen sollte grundsätzlich die Flexibilität und das Gewicht der Kabel in Relation zur Tiergröße berücksichtigt werden. So zeigte sich bei kabelgebundenen BALB/cJ und DBA/2J Mäusen mit zunehmendem Kabelgewicht und sinkender Flexibilität dieser Kabel eine zunehmende Reduktion der mittels Infrarotstrahlen gemessenen totalen zurückgelegten Distanz im Käfig der Tiere (TANG et al., 2004).

Bei der Interpretation der Vergleiche mit Daten eines Referenztages muss berücksichtigt werden, dass die hier inkludierten telemetrisch erfassten Daten lediglich über die Dunkelphase oder die Dunkelphase inklusive weniger Stunden am Übergang zur Hellphase hinweg aufgezeichnet wurden. Die klinischen Scores wurden dagegen in der Hellphase erfasst. Somit wurden hier Daten aus der Aktivphase der Tiere (Dunkelphase) mit Daten aus der Ruhephase der Tiere (Hellphase) verglichen.

Bei den **Vergleichen mit Referenzgruppen** zeigte sich am ersten postoperativen Tag bei Mäusen nach Transmitter- und Elektrodenimplantation sowie chemischer SE-Induktion mittels Kainat eine reduzierte Aktivität im Vergleich zur transmitterimplantierten Kontrollgruppe. Diese Reduktion wurde mit dem klinischen Scoring-System und während der Dunkelphase telemetrisch nachgewiesen. Im Vergleich zur Sham-Gruppe wurde am ersten postoperativen Tag ebenfalls eine Aktivitätsreduktion mit dem klinischen Scoring-System erfasst, während telemetrisch keine Aktivitätsänderung erfasst wurde. Eine Möglichkeit, warum die Telemetrie hier seltener eine Reduktion der Aktivität erfasst haben könnte, stellen ähnlich ausgeprägte telemetrisch erfasste Aktivitätsreduktionen in der Kainat-SE- und Sham-Gruppe dar, sodass entsprechende Unterschiede im Vergleich geringer ausfielen. In der chronischen Phase wurden dagegen keine Aktivitätsänderungen erfasst. Eine reduzierte Aktivität am ersten Tag nach der operativen Intervention war prinzipiell in allen Gruppen zu erwarten, da grundsätzlich mit Schmerzen gerechnet werden muss (NATIONAL RESEARCH COUNCIL COMMITTEE ON GUIDELINES FOR THE USE OF ANIMALS IN NEUROSCIENCE AND BEHAVIORAL RESEARCH, 2003; NATIONAL

RESEARCH COUNCIL COMMITTEE ON RECOGNITION AND ALLEVIATION OF PAIN IN LABORATORY ANIMALS, 2009). Die Ergebnisse wiesen grundsätzlich auf eine geringere Belastung der transmitterimplantierten Kontrollgruppe im Vergleich zur Sham- und Kainat-SE-Gruppe hin. Unsere Arbeitsgruppe stellte bei weiteren erfassten Verhaltensparametern ebenfalls Abweichungen in der frühen postoperativen Phase fest. Die Belastung in der chronischen Phase des intrahippocampalen Kainat-Modells wurde in dieser Studie auf Basis der kaum vorhandenen Abweichungen bei den untersuchten verhaltensbezogenen und biochemischen Parametern (trotz des frequenten Auftretens elektrographischer Anfälle) als gering eingestuft (BUHECKER et al., 2023). So weisen die Ergebnisse darauf hin, dass die Aktivität einen validen Parameter zur Belastungseinschätzung in diesem Modell darstellt. Die Aktivität konnte in dieser Studie vergleichbar häufig mittels Telemetrie und dem klinischen Scoring erfasst werden.

Nach chemischer Status-Epilepticus-Induktion durch fraktionierte Lithium-Pilocarpin-Injektionen bei Ratten zeigte sich im Vergleich zur Sham-Gruppe in der Dunkelphase der frühen Post-Insult-Phase und der Latenzphase, sowie in der Hellphase der frühen Post-Insult-Phase eine Steigerung der telemetrisch erfassten Aktivität. Diese Steigerungen konnten zu keinem der Zeitpunkte mit dem klinischen Scoring erfasst werden. Die im Vergleich zur Sham-Gruppe nach elektrischer SE-Induktion telemetrisch erfasste Steigerung der Hellphasenaktivität in der frühen Post-Insult-Phase konnte ebenfalls nicht mit dem klinischen Score erfasst werden. Bei dem Amygdala-Kindling-Modell wurde bei den Tieren der Kindling-Gruppe nach wiederholten elektrischen Stimulationen während der Phase generalisierter Anfälle telemetrisch eine Steigerung der Hellphasenaktivität im Vergleich zur Kontroll- (Transmitterimplantation) und Sham-Gruppe (Transmitter- und Elektrodenimplantation) erfasst, welche nicht mit dem klinischen Scoring-System nachgewiesen wurde. Die möglicherweise mit einer gesteigerten Aktivität einhergehende Beeinträchtigung des Ruheverhaltens und die damit verbundene Belastung der Tiere (MÖLLER et al., 2019) begründet die Validität der Aktivitätserfassung in Epilepsie- und Anfallsmodellen. Eine Aktivitätssteigerung bei Vergleichen mit einer Sham-Gruppe bzw. nicht-epileptischen Kontrolle wurde bei Epilepsiemodellen nach einem SE oder generalisierten Anfällen bereits mehrfach mit Hilfe von Verhaltenstests, wie dem Open field, aufgezeigt (MURPHY

und BURNHAM, 2003; BRANDT et al., 2006; HIDAKA et al., 2008; KOSKA et al., 2019; MÖLLER et al., 2019). So war die Immobilitätszeit von transmitter- und elektrodenimplantierten weiblichen Sprague-Dawley Ratten in einer Studie unserer Arbeitsgruppe in der chronischen Phase nach chemischer SE-Induktion im Vergleich zu Sham-Tieren im Open field erniedrigt (KOSKA et al., 2019). Weibliche Sprague-Dawley Ratten mit Elektrodenimplantat in der basolateralen Amygdala zeigten ca. neun Wochen nach elektrisch induziertem Status epilepticus im Vergleich zu nicht-epileptischen Kontrolltieren eine Erhöhung der zurückgelegten Distanz im Open field (BRANDT et al., 2006). Dagegen zeigten transmitter- und elektrodenimplantierte weibliche Sprague-Dawley Ratten in unserer Arbeitsgruppe an einem vergleichbaren Zeitpunkt nach elektrischer SE-Induktion im Vergleich zu den Sham-Tieren keine gesteigerte zurückgelegte Distanz im Open field (SEIFFERT et al., 2019). Wiederholt über corneale Elektroden verabreichte elektrokonvulsive Schocks, welche zum Auftreten generalisierter Anfälle führten, sorgten bei männlichen Wistar Ratten 24 Stunden nach Beendigung des siebentägigen Stimulationszeitraums im Vergleich zu Sham-Tieren zu einer gesteigerten Aktivität im Open field (HIDAKA et al., 2008). In einem Amygdala-Kindling-Modell mit männlichen Long-Evans Ratten, zeigten Kindling-Tiere mit generalisierten Anfällen im Vergleich zu nicht gekindelten Sham-Tieren ebenfalls eine höhere Aktivität im Open field (MURPHY und BURNHAM, 2003). Bei den Open-field-Daten müssen u. a. die Einflüsse des Handlings und Transfers der Tiere aus dem Heimkäfig in die Untersuchungsarena sowie die unterschiedlichen Tageszeiten bedacht werden (MÖLLER et al., 2019). Dennoch untermauern sie die Validität der telemetrisch erfassten Aktivitätsdaten. Insgesamt konnten in den inkludierten Epilepsie- und Anfallsmodellen mit der Telemetrie häufiger Aktivitätsunterschiede gegenüber den jeweiligen Referenzgruppen erfasst werden als mit den angewendeten klinischen Scoring-Systemen, mit denen nur selten Aktivitätsänderungen bei Vergleichen mit Referenzgruppen detektiert wurden.

Unabhängig davon, ob gegen einen Referenztag oder eine Referenzgruppe verglichen wurde, erfasste die Telemetrie bei den inkludierten Tiermodellen und Interventionen insgesamt häufiger Aktivitätsänderungen als der klassische klinische Score. Dies unterstreicht, dass mit dem klinischen Scoring oft erst

moderate Veränderungen erfasst werden können, sodass eventuell milde bis moderate Veränderungen nicht ausreichend detektiert werden (ARRAS et al., 2007; HÄGER et al., 2018; KEUBLER et al., 2020). So wird bei der Verwendung von klinischen Scores immer eindringlich auf ein ausreichendes Training des Personals hingewiesen (KAHNAU et al., 2020; KEUBLER et al., 2020). Gerade die Abhängigkeit vom Beurteilenden und die Variabilität zwischen verschiedenen Beurteilenden stehen den Vorteilen der nicht-invasiven einfachen und schnellen Durchführung entgegen (KEUBLER et al., 2020). Bei unverblindeten Beurteilungen könnte die durchführende Person je nach Modell zusätzlich gewisse Änderungen erwarten und so bestimmte Ergebnisse über- oder unterbewerten. Da die Beurteilung der Tiere mittels *Score Sheets* entsprechende Konsequenzen, wie z. B. Abbruchkriterien, nach sich zieht, sollte das Scoring idealerweise durch gut geschultes und unvoreingenommenes Personal erfolgen. Um Interpretationsspielräume zu vermeiden, sollten die *Score Sheets* eindeutig und klar formuliert werden. Außerdem ist je nach klinischem Score unter Umständen eine Interaktion oder das Handling der Tiere erforderlich, was mit zusätzlichem Stress verbunden sein könnte (NATIONAL RESEARCH COUNCIL COMMITTEE ON RECOGNITION AND ALLEVIATION OF PAIN IN LABORATORY ANIMALS, 2009). Einen Vorteil des klinischen Scores stellt dagegen die Möglichkeit dar, direkt Maßnahmen treffen zu können, wenn im Rahmen des Scorings Beeinträchtigungen in Bezug auf die Gesundheit oder das Wohlbefinden eines Tieres festgestellt wurden (JIRKOF et al., 2019). Bei dem klinischen Scoring handelt es sich dennoch um eine Momentaufnahme, in der die Tiere evolutionsbedingt als Beutetiere mögliche Schmerzen und Leiden vor der beurteilenden Person verbergen könnten (LARSON et al., 2019; TURNER et al., 2019). Umgekehrt könnte ein kurzzeitig gezeigtes oder nicht gezeigtes Verhalten verhältnismäßig überbewertet werden und somit zu einem nicht repräsentativen Ergebnis/Scoring führen. Eine durch Schmerzen verursachte Aktivitätsänderung könnte ebenso durch eine stressinduzierte „Analgesie“ kaschiert worden sein, wenn beispielsweise männliches Personal oder entsprechender Geruch präsent war (SORGE et al., 2014; TURNER et al., 2019). Zusätzlich könnte hinterfragt werden, ob eine Einstufung des klinischen Scores während der Dunkelphase und somit während der Aktivphase der Tiere zu einer optimaleren Erfassung von Aktivitätsänderungen führen würde (TURNER et al., 2019). So zeigen sich Aktivitätsspitzen nachtaktiver Tiere natürlicherweise vor

allem in der Dunkelphase des zirkadianen Rhythmus (VERWEY et al., 2013; KOBAYASHI et al., 2020; PASTRICK et al., 2024). Die Telemetrie ermöglicht dagegen eine unabhängige bzw. objektive kontinuierliche Aufzeichnung der Parameter im Heimkäfig der Tiere über den gesamten zirkadianen Rhythmus. Dieser Vorteil muss dem hierfür notwendigen invasiven Eingriff zur Senderimplantation entgegengestellt werden. Dennoch kann die Telemetrie Anzeichen von Schmerzen oder Distress erfassen, die nicht über direkte Beobachtungen der Tiere erfasst werden können (ARRAS et al., 2007; ARRAS et al., 2012; KEUBLER et al., 2020). Aufgrund der z. T. benötigten Prozessierung der telemetrischen Daten ist hier lediglich eine zeitversetzte Beurteilung der Parameter möglich, sodass eventuell notwendige Maßnahmen unter Umständen nicht rechtzeitig getroffen werden. Diese Daten könnten demnach für eine retrospektive Beurteilung oder für die Implementierung von vorsorglichen Maßnahmen in zukünftigen ähnlichen Studien derselben Modelle genutzt werden.

Grundsätzlich verdeutlichen die Ergebnisse der inkludierten operativen Interventionen, dass sich Aktivitätserfassungen gerade in der akuten Phase nach entsprechenden Eingriffen zur Belastungsbeurteilung eignen. Bei den Krankheitsmodellen zeigte sich ein heterogeneres Bild auf, sodass Aktivitätsänderungen je nach Modell und Phase der induzierten Krankheiten in unterschiedlichem Maße festgestellt wurden. Gerade die im Rahmen der inkludierten Epilepsiemodelle (mit Ausnahme des intrahippocampalen Kainat-Modells) festgestellten telemetrisch erfassten Aktivitätsänderungen, konnten jedoch zu keinem Zeitpunkt mit dem klinischen Score erfasst werden. Bei den inkludierten Tumormodellen konnten Aktivitätsänderungen lediglich im Verlauf der Glioblastom-Entwicklung (um den Zeitpunkt des Erreichens eines humanen Endpunktes) festgestellt werden, wobei hier noch einmal auf die durchgängige Analgesie bei dem inkludierten Pankreastumormodell hingewiesen werden sollte. Auch wenn die Aktivität einen validen Parameter für die Belastungseinschätzung in verschiedenen Modellen und Interventionen darstellt, sollten im Allgemeinen immer multimodale Ansätze zur evidenzbasierten Beurteilung des Wohlergehens und der Belastung von Versuchstieren angewendet werden (PEREIRA et al., 2019; ZIEGLOWSKI et al., 2021; ZECHNER et al., 2022).

Limitierungen, Schlussfolgerung und Ausblick

Bei der Interpretation dieser Ergebnisse müssen verschiedene Limitierungen berücksichtigt werden. Für die vorliegende Datenanalyse in der Forschungsgruppe (DFG-FOR2591, 2025) konnte nach Anwendung der Exklusionskriterien lediglich eine geringe Anzahl an Tiermodellen inkludiert werden. Insgesamt ist der Stichprobenumfang der inkludierten Experimentalgruppen der ursprünglichen Studien als klein anzusehen. Daher wurden entsprechende Korrekturen für kleine Stichprobenumfänge angewendet und die Effektstärken in Zusammenhang mit den 95 % Konfidenzintervallen betrachtet. Da lediglich Effektstärken, deren 95 % Konfidenzintervalle nicht die Nulllinie überschritten, als relevante Aktivitätsänderung gewertet wurden, muss berücksichtigt werden, dass dabei möglicherweise reale Veränderungen unberücksichtigt blieben, die statistisch nicht eindeutig nachweisbar waren. Dies betrifft insbesondere Fälle bzw. Zeitpunkte mit einer hohen Varianz der Daten, sodass diese Zeitpunkte nach Kalkulation der Effektstärken inklusive der Konfidenzintervalle in den Analysen vernachlässigt wurden. Wenn die Konfidenzintervalle die Nulllinie nicht überschritten, wurde also von einem statistisch von Null abweichenden Effekt und somit von einem wahrscheinlich nicht mehr zufälligen Effekt ausgegangen (LAKENS, 2017; WILLIGENBURG und POOLMAN, 2023). In der Datenanalyse wurden Studien mit Mäusen und Ratten beider Geschlechter inkludiert. Neben der Spezies, dem genetischen Hintergrund und dem Geschlecht sind auch die unterschiedlichen Haltungsbedingungen und die Heterogenität der klinischen Scores zu berücksichtigen. Eine geschlechterabhängige Schmerzsensitivität (MOGIL, 2020) und unterschiedliche Sexualzyklusstadien bei Weibchen könnten demnach zu unterschiedlich ausgeprägten Aktivitätsänderungen und einer höheren Varianz der Daten beigetragen haben (PASTRICK et al., 2024). Auch zirkannuelle Unterschiede können nicht ausgeschlossen werden (FERGUSON und MAIER, 2013). Unterschiedliches *Enrichment* könnte ebenfalls zu Abweichungen geführt haben. So konnten Pastrick und Kollegen (2024) bei Mäusen geschlechtsunabhängige Änderungen der Aktivitätsrhythmen durch die Bereitstellung von Laufrädern feststellen. Da bei den inkludierten Modellen in der Regel keine Verblindung während dem klinischen Scoring angewendet wurde oder angewendet werden konnte, kann eine gewisse Voreingenommenheit nicht

ausgeschlossen werden. Zukünftige Untersuchungen mit verblindetem Scoring wären hier (sofern anwendbar) von Interesse. Für die Vergleiche mit Daten von einem Referenztag ist vor allem die unterschiedliche Erfassungszeit als Limitierung zu berücksichtigen, da hier die telemetrischen Daten während der Dunkelphase und die klinischen Scores während der Hellphase erfasst wurden.

Der klinische Score ist vor allem darauf ausgelegt beeinträchtigtes Wohlbefinden der Tiere und Verschlechterungen im Verlauf der Studie zu identifizieren, um rechtzeitig intervenieren zu können (DÜLSNER et al., 2020). Dies birgt je nach Scoring-System (z. B. postoperativ) die Gefahr, dass eine am Vortag identifizierte Veränderung bei einer Verbesserung am Folgetag nicht mehr festgehalten wird, wenn eine fortbestehende leichte Veränderung eventuell erkannt, aber aufgrund der Besserung im zeitlichen Verlauf nicht mehr im Scoring berücksichtigt wird. Um dieser Problematik entgegenzuwirken wäre die Optimierung des klinischen Scores durch die Umsetzung einer deutlichen Differenzierung sinnvoll.

Die Ergebnisse der retrospektiven Datenanalyse dieser explorativen Studie lassen vermuten, dass die Erfassung von Aktivitätsänderungen mittels Telemetrie der Einstufung mit Hilfe des klassischen klinischen Scores überlegen ist. So lässt sich die Hypothese aufstellen, dass die telemetrische Aktivitätserfassung einen informativen Mehrwert im Vergleich zur Erfassung aktivitäts-assoziiierter Parameter klinischer Scoring-Systeme bietet. Zur empirischen Generalisierung müsste eine umfangreichere forschungsgruppenunabhängige Analyse, z. B. im Rahmen einer Metaanalyse, durchgeführt werden. So könnten auch Einflussfaktoren identifiziert werden, die zur Heterogenität innerhalb der Metaanalyse beitragen (EISEND und KUß, 2017). Bei der Interpretation der Ergebnisse darf die Invasivität der Transmitterimplantation und die zum Teil zeitversetzte Beurteilung der Ergebnisse nicht außer Acht gelassen werden. Wenn in einem Tiermodell keine zusätzlichen telemetrischen Parameter wie Elektroenzephalogramme oder Elektrokardiogramme erfasst werden sollen, die aktuell nicht durch andere Messmethoden erfasst werden können, sollte im Sinne des *Refinements* auf nicht-invasive Methoden zurückgegriffen werden. Idealerweise sollte zur Aktivitätserfassung eine gleichwertige und nicht-invasive Methode eingesetzt werden, welche die Vorteile der Telemetrie und des klinischen Scores verbindet. Eine Möglichkeit der kontinuierlichen objektiven

Aktivitätserfassung stellen heimkäfigbasierte Monitoringsysteme dar. In Kombination mit Warnsystemen kann bei kontinuierlichem Monitoring schnell auf Veränderungen reagiert werden. Grundsätzlich unterstreichen die Ergebnisse den Wert von Aktivitätserfassungen, gerade postoperativ und im Verlauf verschiedener Krankheitsmodelle. Die Aktivitätserfassung über verschiedene Methoden (u. a. Laufrad, heimkäfigbasiertes Monitoring, Open field) konnte bereits in verschiedenen Tiermodellen und nach operativen Eingriffen als sensibler Parameter zur Belastungsbeurteilung identifiziert werden (HÄGER et al., 2018; MALLIEN et al., 2020; ZIEGLOWSKI et al., 2020; ZENTRICH et al., 2021). Generell sollten jedoch für die umfassende Belastungseinschätzung immer mehrere Parameter kombiniert betrachtet werden.

Die Vielzahl an Möglichkeiten zur Erfassung von Aktivitätsänderungen, lässt die Frage offen, ob andere Methoden hierfür wiederum einen Mehrwert im Vergleich zur Telemetrie bieten. Daher werden in einer übergreifenden retrospektiven Analyse in unserer Arbeitsgruppe aktuell verschiedene Methoden zur Aktivitätserfassung mit variablen Invasivitätsgraden verglichen, welche im Heimkäfig selbst oder außerhalb des Heimkäfigs angewendet werden können. Dabei soll der informative Mehrwert der verschiedenen Methoden im Vergleich zueinander und zum klinischen Score betrachtet werden. Hierfür werden zur Einschätzung der Sensitivität bzw. des informativen Mehrwertes der verschiedenen Erfassungsmethoden ROC-Analysen (*Receiver Operating Characteristic*) und Kreuzkorrelationen durchgeführt. Zusätzlich soll untersucht werden, ob heimkäfigbasierte Methoden zur Erfassung von Aktivitätsänderungen gegenüber Methoden, die eine Entnahme der Tiere aus dem Käfig voraussetzen, gleichwertig oder überlegen sind. So könnten idealerweise sensitive Methoden identifiziert werden, die ohne eine zusätzliche Störung der Tiere angewendet werden können. Die Analysen umfassen neben den im Rahmen dieser Dissertation analysierten Datensätze auch weitere Tiermodelle und experimentelle Interventionen aus der Forschungsgruppe (DFG-FOR2591, 2025). So kann hier umfassend überprüft werden, ob und in welchen experimentellen Tiermodellen sowie Interventionen die Aktivität der Tiere einen informativen Parameter im Rahmen der Belastungseinschätzung darstellt. Die in diesen übergreifenden Analysen noch ausstehenden Auswertungen bilden die Basis für die abschließende Beurteilung

der Sensitivität der verschiedenen Methoden. Zusätzlich soll in unserer Arbeitsgruppe eine parameterspezifische vergleichende Analyse zwischen dem klinischen Score und dem Neuro-Score (modifizierter Irwin-Score) durchgeführt werden. Hierbei könnten besonders sensitive Parameter im Neuro-Score identifiziert werden, die einen Mehrwert für die Belastungsbeurteilung bieten und zukünftig zusätzlich in klinischen Scoring-Systemen integriert werden könnten.

2. Validierung eines kamerabasierten Heimkäfigmonitoringsystems

Die zweite Studie dieser Dissertation umfasste Beiträge zur Validierung eines neuen kamerabasierten Heimkäfigmonitoringsystems für Labornager im Rahmen einer multizentrischen Studie der DFG-Forschungsgruppe „*Severity Assessment in Animal-Based Research*“ (DFG-FOR2591, 2025). Hierfür erfolgte eine subkutane Transmitterimplantation in weiblichen C57BL/6J Mäusen, um die telemetrisch erfassten Daten als Referenz für die übergreifende noch ausstehende Validierung des Monitoringsystems zu nutzen. Die zusätzlich erfassten (patho-) physiologischen, verhaltensbezogenen und biochemischen Parameter wurden neben den telemetrisch erfassten Daten am Standort München für eine explorative Belastungsbeurteilung nach subkutaner Transmitterimplantation und insbesondere für den Vergleich der postoperativen Belastung zwei und drei Wochen nach Implantation genutzt. Eine ausreichende Erholung von dem operativen Eingriff ist essenziell für unbeeinflusste weiterführende Messungen. Dennoch scheinen bei der Festlegung einer solchen Erholungszeit große Unterschiede vorzuliegen. So reicht die in der Literatur beschriebene Range für eine Erholungszeit nach der Implantation von wenigen Tagen bis zu einigen Wochen: während in einzelnen Studien nach intraperitonealer Transmitterimplantation bei C57BL/6J Mäusen lediglich drei Tage (HOIT et al., 2002) oder nach subkutaner Transmitterimplantation bei männlichen C57BL/6J Mäusen lediglich vier bis sechs Tage zur Erholung vor weiterführenden Experimenten eingehalten wurden (GEHRMANN et al., 2000), bewerteten Butz und Davisson (2001) fünf bis sieben Tage nach subkutaner Transmitterimplantation in Kombination mit der Implantation eines Blutdruckkatheters in die thorakale Aorta bei weiblichen C57BL/6 Mäusen als kritisch. Es wurde auch eine siebentägige Erholungszeit nach Blutdruck-Transmitterimplantation in die linke *Arteria carotis communis* bei weiblichen NIH Swiss Mäusen durchgeführt oder zehn Tage nach subkutaner Transmitterimplantation bei FVB/N Mäusen als ausreichende Erholungszeit vorgeschlagen (THIREAU et al., 2008). Kumstel und Kollegen (2020) hielten eine zweiwöchige Erholungsphase nach intraperitonealer Transmitterimplantation bei männlichen C57BL/6J Mäusen ein. Auch wesentlich längere Erholungszeiten, wie beispielsweise acht Wochen nach intraperitonealer Transmitterimplantation bei

männlichen HsdHan:NMRI Mäusen (ARRAS et al., 2007) wurden eingehalten. In der vorliegenden Studie erreichten verhaltensbezogene Parameter und klinische Scores ab dem dritten postoperativen Tag bereits Basalwerte, oder die Werte sanken bis zum Tag 3 auf ein gleichbleibendes Niveau, welches jedoch über den Basalwerten lag. Die Veränderungen der telemetrisch erfassten Herzfrequenz und Herzratenvariabilitätsparameter reichten über den siebten postoperativen Tag hinaus. Bei dem Vergleich der Daten an den Tagen 14 und 21 konnten keine größeren Abweichungen der telemetrisch erfassten Parameter festgestellt werden.

Bei der Betrachtung der im Folgenden aufgeführten **telemetrisch erfassten Parameter** sollte bedacht werden, dass aufgrund der Methodik keine präoperativen Basalmessungen erfolgen konnten. Somit kann keine Aussage darüber getroffen werden, wann sich nach dem operativen Eingriff wieder präoperative Werte eingestellt haben. Generell werden als Basalwerte für telemetrische Messungen v. a. Zeitpunkte mit einem größtmöglichen zeitlichen Abstand zur Transmitterimplantation verwendet. Das Wiedereinstellen der typischen zirkadianen Rhythmik nach der Transmitterimplantation wird u. a. als Indikator für die Erholung von dem operativen Eingriff genutzt (BUTZ und DAVISSON, 2001). In der vorliegenden Studie wurde an den ersten postoperativen Tagen, bei Vergleichen mit den letzten Aufzeichnungen, eine erwartungsgemäße Steigerung der **Herzfrequenz** ersichtlich (CESAROVIC et al., 2011; KUMSTEL et al., 2020; BUCHECKER et al., 2023), die durch entsprechend gegenläufige NN-Intervalle reflektiert wurde. Die Herzfrequenzsteigerung fiel in der ersten Dunkelphase nach der Implantation am höchsten aus, während hier die niedrigste Aktivität der Tiere in den Dunkelphasen festgestellt wurde. Somit kann eine aktivitäts-assoziierte Herzfrequenzsteigerung ausgeschlossen werden. Der klassische Verlauf der zirkadianen Rhythmik stellte sich ab dem zweiten postoperativen Tag wieder ausgeprägter dar, was sich bei einer subkutan transmitterimplantierten Kontrollgruppe (weibliche HsdWin:NMRI Mäuse) in einer Studie unserer Arbeitsgruppe in einem Post-Status-Epilepticus-Modell vergleichbar direkt postoperativ und zwei Wochen nach dem Eingriff darstellte. Hier konnten zwei Wochen nach der Implantation ebenfalls äquivalente Frequenzreduktionen festgestellt werden (BUCHECKER et al., 2023). Die grundsätzlich etwas höheren Herzfrequenzwerte der HsdWin:NMRI Mäuse im Vergleich zu den in der

vorliegenden Studie verwendeten C57BL/6J Mäusen könnte durch den genetischen Hintergrund erklärt werden. So zeigten sich auch postoperativ bei C57BL/6J Mäuse grundsätzlich niedrigere Herzfrequenzen als bei A/J Mäusen, während keine größeren Unterschiede in der zirkadianen Rhythmik zu verzeichnen waren (HOIT et al., 2002). Anhand unserer Ergebnisse kann nicht ausgeschlossen werden, dass das zwischen Tag 14 und 21 ersichtliche Plateau nicht bereits zwischen Tag 7 und 14 erreicht wurde, da ab dem siebten Tag lediglich im wöchentlichen Turnus aufgezeichnet wurde.

Die untersuchten **Herzratenvariabilitätsparameter** (SDNN, RMSSD, NN6, pNN6) zeigten postoperativ niedrigere Werte, welche ab Tag 3 wieder anstiegen und an Tag 14 und 21 die höchsten Werte von vergleichbarer Ausprägung erreichten. In den ersten postoperativen Tagen sowie zwei Wochen nach dem operativen Eingriff zeigten sich in einer Studie in unserer Arbeitsgruppe ähnliche zeitliche Verläufe bei subkutan transmitterimplantierten HsdWin:NMRI Mäusen (BUCHECKER et al., 2023). Anhand der HRV-Parameter lässt sich ebenfalls nicht ausschließen, dass das zwischen Tag 14 und 21 ersichtliche Plateau bereits zwischen Tag 7 und 14 erreicht wurde. So benötigten beispielsweise männliche FVB/N Mäuse nach subkutaner Transmitterimplantation mindestens zehn Tage zum Erreichen von stabilen SDNN-Werten (THIREAU et al., 2008). Die Veränderungen der Herzfrequenz und der Herzratenvariabilität, welche eine akute reduzierte Anpassungsfähigkeit des Herzens repräsentieren, könnten postoperativ vor allem auf Stress oder Schmerzen zurückzuführen sein (ARRAS, 2007; KORESH et al., 2016; GAIDICA und DANTZER, 2020). Gleichzeitig kann ein gewisser Einfluss der Anästhetika und Analgetika insbesondere in den ersten 24 h nach dem Eingriff nicht ausgeschlossen werden (ARRAS et al., 2007).

Die **Aktivität** der Tiere fiel während den Hellphasen konstant und während den Dunkelphasen variabler aus. Die höhere Variabilität während der Dunkelphasen zeigte sich auch bei männlichen C57BL/6J und A/J Mäusen nach intraperitonealer Transmitterimplantation (HOIT et al., 2002). In der vorliegenden Studie stellte sich der klassische Verlauf der zirkadianen Rhythmik ab dem zweiten postoperativen Tag wieder ausgeprägter dar. Die mittlere Aktivität stieg postoperativ bei einer Subgruppe der Tiere während der Dunkelphasen an, was eine hohe Standardabweichung bedingte. Hier könnten unterschiedliche Zyklusstadien zu den unterschiedlich ausgeprägten Aktivitätsspitzen geführt haben (SANCHEZ-

ALAVEZ et al., 2011). Bei der Betrachtung der zeitlichen Verläufe konnten mehrere Aktivitätshöhepunkte in der Dunkelphase (ab dem Abschalten der Lichter in der Tierhaltung) festgestellt werden. Vor allem der Verlauf an Tag 14 und 21 erscheint hier am vergleichbarsten. Nach intraperitonealer Transmitterimplantation bei männlichen C57BL/6J Mäusen stellte sich die klassische zirkadiane Rhythmik erst ab fünf Tagen (LEON et al., 2004) und nach subkutaner Transmitterimplantation sowie der Implantation eines Blutdruckkatheters in die thorakale Aorta bei weiblichen C57BL/6 Mäusen nach fünf bis sieben Tagen ein (BUTZ und DAVISSON, 2001). Dies könnte auf die höhere Belastung nach den genannten Eingriffen im Vergleich zur subkutanen Transmitterimplantation sowie auf die fehlende analgetische Versorgung der Tiere in den betreffenden externen Studien zurückzuführen sein.

Die telemetrisch erfasste **Temperatur** erreichte an allen Experimentaltagen vergleichbare Werte während der Hell- und Dunkelphase, wobei die Zeitpunkte mit Maximalwerten während der Dunkelphase lagen. Aufgrund der geringen Temperaturunterschiede ergaben sich keine Hinweise auf eine postoperative Entzündung (ARRAS, 2007). Die niedrigen Temperaturwerte lassen sich durch die subkutane Implantation erklären, so können durch die subkutane Position des Senders keine zur Körperinnentemperatur äquivalenten Temperaturwerte ermittelt werden. Die zeitlichen Temperaturverläufe ähneln jenen, die beispielsweise mit intraperitonealen Transmittern bei männlichen C57BL/6J Mäusen (LEON et al., 2004) sowie weiblichen C57BL/6 Mäusen erfasst wurden (SANCHEZ-ALAVEZ et al., 2011). Interessanterweise zeigten männliche C57BL/6J Mäuse unter sehr ähnlichen Haltungsbedingungen, wie in unserer Studie, nach intraperitonealer Transmitterimplantation vergleichbar niedrige Temperaturwerte (HOIT et al., 2002) in der Hell- und Dunkelphase. Die Überschneidung der intraperitonealen Temperaturen bei männlichen C57BL/6J Mäusen mit den subkutanen Temperaturen bei weiblichen Mäusen der vorliegenden Studie könnte auf geschlechtsspezifische Unterschiede zurückzuführen sein. So wurde bei männlichen C57BL/6 Mäusen eine niedrigere intraperitoneale Temperatur als bei weiblichen C57BL/6 Mäusen festgestellt (SANCHEZ-ALAVEZ et al., 2011). Länger anhaltende oder ausgeprägtere Temperaturänderungen nach intraperitonealer Transmitterimplantation könnten hier ebenfalls auf eine höhere Invasivität im

Vergleich zur subkutanen Implantation hinweisen (LEON et al., 2004; TALBOT et al., 2022).

Die zeitlichen Verläufe der Temperatur und Herzfrequenz entsprachen erwartungsgemäß denen der Aktivität (HOIT et al., 2002). So zeigte sich in diesen Parametern ein äquivalenter Maximalwert direkt nach Beginn der Aufzeichnungen. Diese lässt sich durch das Handling (inklusive einer für die Erfassung der Rektaltemperatur durchgeführten Fixation im Nacken) der Tiere kurz vor dem Start der telemetrischen Aufzeichnungen erklären. Die schnelle Etablierung eines ausgeprägteren Verlaufs der zirkadianen Rhythmik in den telemetrisch erfassten Parametern könnte für eine gute peri- und postoperative analgetische Versorgung der Tiere sprechen.

Die **Rektaltemperatur** wurde vor allem für die Validierung der Temperaturerfassung über die Kameras erfasst. Da die Rektaltemperatur daher immer als letzter Parameter vor dem Beginn der Smart-Homecage-Aufzeichnungen gemessen wurde, erfolgte die Messung an den Experimentaltagen, abhängig von dem zuvor erfassten Parameter, zu jeweils abweichenden Uhrzeiten und in unterschiedlichen Räumlichkeiten. Die Messungen können daher nur vorsichtig miteinander verglichen werden. Die Messung an Tag -7 erfolgte beispielsweise ca. vier Stunden nach dem Erhalt des neuen Nestlets und die Messungen an den Tagen 1, 14 und 21 nach einem für die FCM-Bestimmung benötigten zweistündigen Aufenthalt im Transportkäfig (lediglich mit Einstreu und Tunnel aber ohne Nistmaterial ausgestattet). So könnte „fehlendes“ Nistmaterial zu geringeren Temperaturwerten geführt haben, da in diesem Zeitraum kein gut isolierender Unterschlupf vorhanden war. Umgekehrt erfolgte die Rektaltemperaturmessung an den anderen postoperativen Zeitpunkten direkt nach den zehnminütigen MGS-Videoaufzeichnungen in Plexiglasboxen. Die MGS-Aufnahmen könnten an den entsprechenden Tagen für ein höheres Stresslevel zum Zeitpunkt der Temperaturmessung gesorgt haben. So könnte an diesen Tagen ein stressinduzierter Temperaturanstieg zu höheren Temperaturwerten geführt haben (GROENINK et al., 1994; VEENING et al., 2004). An den *Baseline*-Tagen, an denen keine MGS-Aufzeichnungen erfolgten, wurden ebenfalls niedrigere Temperaturwerte gemessen. Grundsätzlich könnten die unterschiedlichen Temperaturwerte auch durch eine unterschiedlich ausgeprägte Aktivität der Tiere beeinflusst worden sein

(WEINERT und WATERHOUSE, 1998). Die zeitlichen Verläufe der telemetrisch erfassten Aktivität und Temperatur stellten sich in der vorliegenden Dissertation vergleichbar dar, was auf eine Assoziation der beiden Parameter hinweisen könnte. Des Weiteren wurde die Sonde nicht zwei Zentimeter oder tiefer rektal eingeführt, wie es für die Erfassung der tiefen Körperinnentemperatur erforderlich wäre, um Verletzungen durch die Rektalsonde zu vermeiden. Somit wurden geringere und variablere Rektaltemperaturen erwartet (MEYER et al., 2017). Grundsätzlich lagen alle Messwerte in dem speziesspezifischen Temperaturbereich von $36,5 \pm 1,3$ °C (NATIONAL RESEARCH COUNCIL COMMITTEE ON GUIDELINES FOR THE HUMANE TRANSPORTATION OF LABORATORY ANIMALS, 2006).

Bei den täglich erfassten **Körpergewichten** stellten sich postoperativ nach Korrektur bezüglich der Transmittergewichte keine relevanten Reduktionen dar. Mögliche Gewichtsreduktionen infolge fehlender Trinkwasser- und Futteraufnahme während des Eingriffs könnten unmittelbar postoperativ durch die am Ende der Narkose injizierten Analgetika sowie die Ringer-Lactat-Injektion kompensiert worden sein. Im wöchentlichen Verlauf konnten bis zum Versuchsende Steigerungen des Körpergewichtes festgestellt werden, wie sie bei ad libitum Fütterung zu erwarten sind (TALBOT et al., 2020). Dies könnte auf eine postoperative Aufrechterhaltung der Futter- und Wasseraufnahme oder eine Kompensation einer erhöhten Metabolisierungsrate oder Malabsorption durch eine gesteigerte Futter- und Wasseraufnahme zurückzuführen sein (MORTON und GRIFFITHS, 1985). Ein Grund für eine postoperative Aufrechterhaltung der Futter- und Wasseraufnahme könnte eine adäquate analgetische Versorgung der Tiere sein. Nach intraperitonealer Transmitterimplantation aufgetretene Gewichtsreduktionen bei männlichen C57BL/6J Mäusen (LEON et al., 2004; HELWIG et al., 2012; KUMSTEL et al., 2020) deuten darauf hin, dass die subkutane Implantation mit einer geringeren Belastung verbunden sein könnte. Die räumliche Nähe des Implantats zu den Verdauungsorganen könnte sich bei einer intraperitonealen Implantation ebenfalls negativ auf die Futteraufnahme ausgewirkt haben. So zeigten sich mit zunehmender Transmittergröße stärkere und länger anhaltende Gewichtsverluste nach intraperitonealer Implantation (HELWIG et al., 2012). Die in der vorliegenden Studie aufgetretenen Körpergewichtsreduktionen bei Trainingstieren (siehe Kapitel IV IV.2.22.2) vor Anpassung der

Akklimatisierungsphase (Verlängerung und ohne Wechsel des Käfig-Typs) unterstreichen die Notwendigkeit einer angemessenen Gewöhnung an veränderte Haltungsbedingungen. Auch der Wechsel von konventionellen offenen Käfigen zu IVC-Käfigen sowie der Wechsel von Gruppen- zu Einzelhaltung sorgten bei männlichen C57BL/6JRj Mäusen für eine Gewichtsreduktion (PASQUARELLI et al., 2017).

Das täglich erfasste **Nestbauverhalten** diente als Indikator für die Gesundheit und das Wohlbefinden der Tiere (GASKILL et al., 2013; JIRKOF, 2014). Postoperativ konnte bei einer vergleichenden Betrachtung des Nestbauverhaltens mit den korrespondierenden Basalwerten eine Reduktion der Nest-Scores vier Stunden nach der Implantation als auch am ersten postoperativen Tag festgestellt werden. Die medianen Nest-Scores vier Stunden sowie einen Tag nach dem operativen Eingriff entsprachen zu den gleichen Zeitpunkten den Scores von weiblichen C57BL/6J Mäusen einer Substanzkontrollgruppe (Isoflurannarkose, Carprofen und Bupivacain mit Epinephrin) ohne einen operativen Eingriff in unserer Arbeitsgruppe (MUNK et al., 2024). Am zweiten postoperativen Tag überstiegen die medianen Scores bereits die der genannten Substanzkontrollgruppe, sodass die in der vorliegenden Studie erfassten postoperativen Einflüsse auf das Nestbauverhalten auf die Anästhesie und Analgetika zurückgeführt werden könnten. Eine orale Carprofenapplikation (25 mg/kg/24 h) über das Trinkwasser hatte bei weiblichen C57BL/6J Mäusen über einen fünftägigen Beobachtungszeitraum keinen Einfluss auf das Nestbauverhalten (GLASENAPP et al., 2024). Auch nach einem Sham-Embryotransfer unter Allgemeinanästhesie in Kombination mit Analgetika zeigten weibliche C57BL/6J Mäusen neun Stunden nach dem Erhalt eines neuen Nestlets ähnliche Nest-Scores wie die Kontrollgruppe, welche lediglich einer Allgemeinanästhesie ausgesetzt wurde (JIRKOF et al., 2013).

Mit dem **Neuro-Score** (modifizierter Irwin-Score) sollten der Allgemeinzustand der Tiere sowie eventuelle Einflüsse auf das autonome, zentrale und periphere Nervensystem an ausgewählten Zeitpunkten erfasst werden. Im Vergleich zur *Baseline* wurden vier Stunden, einen Tag und zwei Tage nach der Transmitterimplantation erhöhte Scores festgestellt. Dabei wurden an den Tagen 1, 2, 3, 7 und 14 nahezu identische mediane Summen-Scores, wie bei einer subkutan

transmitterimplantierten Kontrollgruppe (weibliche HsdWin:NMRI Mäuse) in einer Studie unserer Arbeitsgruppe detektiert (BUHECKER et al., 2023). Zu der postoperativen Erhöhung der Neuro-Scores in dieser Dissertation führten vor allem die Parameter „Beckenhöhe“ und „Beinrotation (nach außen)“, welche zu den motorischen Parametern zählen. In unserer Arbeitsgruppe zeigten weibliche C57BL/6J Mäuse einer Substanzkontrollgruppe (Isoflurannarkose, Carprofen und Bupivacain mit Epinephrin) ohne einen operativen Eingriff vier Stunden sowie einen Tag nach der Anästhesie keine Veränderungen in dem Parameter „Beckenhöhe“ und nur vereinzelt Erhöhungen in dem Parameter „Beinrotation“ (6,25 %) (MUNK et al., 2024). Dies lässt darauf schließen, dass bei unserer Studie ein Effekt des operativen Eingriffs detektiert wurde. Lediglich ein Tier zeigte vier Stunden nach dem operativen Eingriff einen *straub tail* (tonische Aufrichtung des Schwanzes nach dorsal). Ein *straub tail* konnte bei weiblichen C57BL/6J Mäusen nach oraler Carprofenapplikation (25 mg/kg/24 h) über das Trinkwasser mit dem Irwin-Score detektiert werden, wobei dieser Nebeneffekt am häufigsten 24 Stunden nach Beginn der Applikation auftrat (GLASENAPP et al., 2024). In unserer Arbeitsgruppe wurde dagegen bei weiblichen C57BL/6J Mäusen einer Substanzkontrollgruppe (Isoflurannarkose, Carprofen und Bupivacain mit Epinephrin) vier Stunden und einen Tag nach der Anästhesie kein *straub tail* festgestellt (MUNK et al., 2024). Bei den meisten in der vorliegenden Dissertation erfassten Neuro-Score-Parametern wurden keine Veränderungen festgestellt. Das Ausbleiben postoperativer exzitations-assoziiierter Parameter sowie Veränderungen des autonomen Nervensystems war erwartungsgemäß.

Der *Mouse Grimace Scale* findet häufig Anwendung in der postoperativen Schmerzbeurteilung (AULEHNER et al., 2022b). In der vorliegenden Studie konnten postoperativ Erhöhungen des mittleren MGS im Vergleich zum basalen mittleren MGS festgestellt werden, wobei ab Tag 3 ein erniedrigtes sowie im weiteren Verlauf gleichbleibendes Niveau erreicht wurde. Neben möglichen Einflüssen durch das Geschlecht des Personals oder der Tiere selbst, den genetischen Hintergrund der Tiere, den affektiven Status der Tiere (z. B. ängstlich oder aggressiv) oder die Art des Handlings (DEFENSOR et al., 2012; LARSON et al., 2019; MOTA-ROJAS et al., 2020), sollten vor allem auch die Einflüsse der Anästhesie und Analgesie auf den MGS berücksichtigt werden (MATSUMIYA et

al., 2012; MILLER et al., 2015; HOHLBAUM et al., 2017; MUNK et al., 2024). Der mittlere MGS überstieg ca. vier Stunden sowie einen und zwei Tage nach der Transmitterimplantation geringfügig die Werte weiblicher C57BL/6J Mäuse einer Substanzkontrollgruppe (Isoflurannarkose, Carprofen und Bupivacain mit Epinephrin) ohne operativen Eingriff in unserer Arbeitsgruppe (MUNK et al., 2024), was auf das Vorliegen postoperativer Schmerzen zurückzuführen sein könnte. Die ab Tag 3 erreichten vergleichbaren Werte, überschritten die Basalwerte bis zum Ende des Experiments, entsprachen aber den Werten von weiblichen naiven C57BL/6J Kontroll-Mäusen (MUNK et al., 2024). Trotz des retrospektiv verblindeten Scorings, besteht die Möglichkeit, dass Operationsnähte oder ausrasierte Fellpartien im Bildmaterial ersichtlich gewesen sind. Dies könnte eventuell unbewusst zu höheren postoperativen Scores beigetragen haben. Grundsätzlich überschritt der mittlere MGS zu keinem Zeitpunkt den Wert „1“, welcher mit einer moderaten Abweichung verbunden ist.

Mit dem täglich erfassten **harmonisierten klinischen Score** wurden postoperativ nach ca. vier Stunden sowie nach einem Tag Erhöhungen detektiert. Der Summen-Score erreichte im Median an Tag 0 und 1 jeweils einen Score von „5“. Ein Summen-Score von „5“ bis „15“ entsprach bei diesem Score einer moderaten Belastung. Ab dem zweiten postoperativen Tag wurden im Median wieder Basalwerte erreicht. Zu den postoperativen Erhöhungen trugen vor allem Veränderungen des Allgemeinzustandes, aber auch das Öffnen der Nähte durch Aufbeißen bei. Ab dem dritten postoperativen Tag trug lediglich das Öffnen der Nähte durch Aufbeißen zu vereinzelt Scores bei. Die wiederholte Durchführung von Nahtverschlüssen unter Allgemeinanästhesie sollte bei der kumulativen Belastungsbeurteilung der Transmitterimplantation mitberücksichtigt werden. Hohlbaum und Kollegen (2017) konnten nach wiederholten Isoflurannarkosen bei C57BL/6JRj Mäusen nur geringe kurzfristig auftretenden Beeinträchtigungen des Wohlbefindens feststellen. Daher ist in diesem Zusammenhang nur von einer geringen Belastung auszugehen.

Die Analyse der **fäkalen Kortikosteronmetaboliten** diente der Einschätzung des Stresslevels der Tiere. Verschiedene Stressoren (u. a. auch Schmerz) können zur Aktivierung der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse und dadurch zur Freisetzung von Stresshormonen beitragen (TURNER et al., 2019). Die

postoperative mittlere FCM-Konzentration überstieg die basale Konzentration an Tag 1 und fiel an den Tagen 14 und 21 geringer aus. Die Erhöhung an Tag 1 könnte auf ein höheres Stresslevel an diesem Tag hinweisen. Ursächlich könnten hier postoperative Schmerzen durch den Eingriff, der Einfluss der Anästhesie und Analgesie sowie der Transport aus der Tierhaltung in die Operationsvorbereitungsräume (inkl. des Aufenthaltes in den Räumen für mehrere Stunden) gewesen sein. Die geringen Werte nach zwei und drei Wochen könnten auf eine fortgeschrittene Erholung zurückzuführen sein. Die basale FCM-Konzentration entsprach ca. der basalen Konzentration von weiblichen naiven C57BL/6J Mäusen aus unserer Arbeitsgruppe (MUNK et al., 2024). Die Konzentration an Tag 1 überstieg in dieser Dissertation die Konzentration von weiblichen C57BL/6J Mäuse einer Substanzkontrollgruppe (Isoflurannarkose, Carprofen und Bupivacain mit Epinephrin) ohne operativen Eingriff in unserer Arbeitsgruppe (MUNK et al., 2024), wobei an diesem Tag eine vergleichbare Konzentration wie bei weiblichen naiven C57BL/6J Mäusen in einer Studie unserer Arbeitsgruppe gemessen wurde (MUNK et al., 2024). Die an Tag 1 gemessene Konzentrationssteigerung in der vorliegenden Studie lässt sich wahrscheinlich auf Stress durch den Transport und den Aufenthalt in einer neuen Umgebung zurückführen, da die genannten naiven Tiere mit vergleichbaren Konzentrationen ebenfalls in die Operationsvorbereitungsräume transportiert wurden.

Limitierungen, Schlussfolgerung und Ausblick

Verschiedene Limitierungen bzw. Faktoren sollten bei der Beurteilung der Ergebnisse oder der Übertragung auf weitere Szenarien berücksichtigt werden. Für die kontinuierlichen Aufzeichnungen mit heimkäfigbasierten Monitoringsystemen müssen gewisse technische Voraussetzungen erfüllt sein. Die größte Limitierung stellen hierbei die großen Datenmengen dar, welche entsprechend gesichert und verarbeitet werden müssen. In der vorliegenden Studie wurden die Daten manuell auf interne und externe Server übertragen, ein Internet- oder Intranetzugang in der Tierhaltung könnte hier für eine automatisierte Datensicherung und den Remotezugriff auf die Kameras genutzt werden. Aufgrund der baulichen Gegebenheiten war dies in unserer Tierhaltung nicht möglich. Das kamerabasierte Monitoringsystem benötigt zur optimalen Abdeckung der Käfiggrundfläche einen Mindestabstand zwischen den Kameras im Deckel und dem Käfigboden. Auch die

benötigte Hardware nimmt Platz ein, sodass das System aktuell entsprechend mehr Platz benötigt als typische Standardkäfige. In Zukunft könnte durch den Einsatz anderer Kameras eventuell Platz eingespart werden, wobei dies mit höheren Kosten verbunden sein könnte. Die in dem vorliegenden Monitoringsystem inkludierten Thermalkameras ermöglichen keine Aufnahmen durch Kunststoff. Um für die Validierung möglichst Lücken im kontinuierlichen Monitoring zu vermeiden, wurde daher auf Maushäuser verzichtet. Je nachdem welches *Enrichment* in Zukunft in den Monitoringsystemen genutzt wird, könnte dies zu diskontinuierlichen Parametererfassungen führen. Durch die Einzelhaltung der Tiere konnten in unserem Studiendesign alle Parameter (inklusive der telemetrisch erfassten) für eine einheitliche experimentelle Einheit ($n = 1$) erfasst werden. Nach der Validierung soll auch die Gruppenhaltung in dem Monitoringsystem ermöglicht werden. Hierfür werden die zugrundeliegenden Algorithmen auf das Tracking von Individuen in Paar- und Gruppenhaltung trainiert. Für die explorative Belastungsbeurteilung, insbesondere den Vergleich der Belastung an Tag 14 und 21 nach subkutaner Transmitterimplantation, wurde das Studiendesign für die multizentrisch angelegte Validierungsstudie übernommen, um keine zusätzlichen Tiere zu benötigen. Somit wurde die Belastungsbeurteilung anhand eines geringen Stichprobenumfangs durchgeführt.

Für die Belastungsbeurteilung wären weitere Erfassungen zwischen Tag 3 und 7 und zwischen Tag 7 und 14 sinnvoll gewesen. So hätte man eventuell schon ein früheres Erreichen eines Plateaus in den erfassten Parametern detektieren können. Auch postoperative Aufzeichnungen über die vorliegenden drei Wochen hinaus könnten genutzt werden, um ein weiteres Absinken oder Aufsteigen über diesen Zeitraum hinaus auszuschließen. Die ähnlichen Telemetriewerte zwei und vier Wochen nach subkutaner Transmitterimplantation von weiblichen HsdWin:NMRI Mäusen in unserer Arbeitsgruppe, könnten dafür sprechen (BUHECKER et al., 2023), dass das in der vorliegenden Dissertation festgestellte Plateau (zwischen Tag 14 und 21) nach vier Wochen weiterhin ähnlich ausgeprägt sein könnte.

Da zum Teil (Batch 1 und 2) Experimentaltiere mit einem höheren Ausgangskörpergewicht verwendet wurden, ist ein Selektionsbias im Hinblick auf die Rekonvaleszenz zu berücksichtigen. Dieses Vorgehen wurde aufgrund der bei Trainingstieren beobachteten Gewichtsreduktionen während der Akklimatisierungsphase zu Beginn der Experimente angewendet. Es zielte darauf

ab, die Ausprägung von Gewichtsreduktionen zu minimieren. Dieser Bias betrifft jedoch lediglich eines der sechs Experimentaltiere. Die anderen drei Tiere, bei denen das genannte Vorgehen noch Anwendung fand, mussten exkludiert werden (Gründe: Wiederholung des ersten Batches und Verlust des Implantats). Für die weiteren Experimentaltiere wurde das Vorgehen nicht übernommen, da die Besitzer ab dem zweiten Batch für die folgenden Durchläufe wiederverwendet wurden.

Für die Belastungsbeurteilung nach Transmitterimplantation wurde zudem lediglich ein Geschlecht genutzt, da dieses für die Validierung des Monitoringsystems irrelevant war. Für die Interpretation der Ergebnisse der Belastungsbeurteilung sollte neben dem genetischen Hintergrund, dem Geschlecht der Experimentatoren und laborspezifischen Haltungs- und Umweltbedingungen auch die höhere Schmerzsensitivität von weiblichen Mäusen im Vergleich zu männlichen Mäusen (MOGIL, 2020) berücksichtigt werden. So kann vermutet werden, dass die Belastung männlicher Mäuse nach subkutaner Transmitterimplantation von der Belastung von weiblichen Mäusen abweicht. Für eine entsprechende Beurteilung wären Folgestudien nötig. Auch die Einzelhaltung ist bei der Belastungsbeurteilung zu berücksichtigen. So stellt die Einzelhaltung von Mäusen je nach Dauer eine geringe bis mittlere Belastung nach der Richtlinie 2010/63/EU dar²². In der vorliegenden Studie hatten die Tiere ab der Einzelhaltung durch das offene Käfigsystem auditiven und olfaktorischen Kontakt untereinander. Idealerweise sollten die Tiere nach reiner Transmitterimplantation nach der Abheilung der Operationswunden wieder vergesellschaftet werden. Da für die Versuche lediglich zwei Monitoringsysteme verwendet wurden und durch die verlängerte Akklimatisierung in den Systemen lange Zeiträume pro Durchlauf verursacht wurden, fand die Durchführung der Experimente sowohl in der Winterzeit als auch in der Sommerzeit statt. Dem sollte durch den einheitlichen Lichtzyklus in unserer Tierhaltung und die Anpassung der Experimentalzeiten an diesen entgegengewirkt werden. Neben dem möglichen zirkannuellen Einfluss, könnte die Verwendung von weiblichen Mäusen durch den Sexualzyklus zu einer Erhöhung der Varianz, aber gleichzeitig zu einer Erhöhung der Robustheit geführt haben. Es sollte ebenfalls bedacht werden, dass die wiederholte Durchführung der

²² Anhang 8, RL 2010/63/EU (Fn. 1)

Verhaltenstests unter Umständen zu einer Gewöhnung geführt haben könnte. Da alle Tiere von derselben Experimentatorin operiert wurden, müssen am Tag des operativen Eingriffs die unterschiedlichen Zeitpunkte der ebenfalls durch die Operateurin durchgeführten Verhaltenstests (jeweils vier Stunden postoperativ) berücksichtigt werden. So liegen diese Erfassungen ca. zwei Stunden auseinander, wobei sie bei allen Tieren innerhalb der Hellphase stattfanden. Bei den fäkalen Kortikosteronmetaboliten sollte ebenfalls bedacht werden, dass grundsätzlich keine Unterscheidung zwischen Eu- und Distress erfolgen kann. Bei der Anwendung unterschiedlicher Scoring-Systeme sollte trotz entsprechendem Training die Subjektivität des Scorings berücksichtigt werden. Da bei allen Tieren ein Transmitter implantiert wurde, kann eine gewisse Voreingenommenheit in der postoperativen Phase beim Scoring ebenfalls nicht ausgeschlossen werden. Dem wurde in unserer Studie durch überwiegend retrospektiv verblindete und randomisierte Auswertungen, objektive gravimetrische Erfassung sowie softwaregestützte Auswertungen entgegengewirkt. Lediglich die klinischen Scores und der Neuro-Score wurden in Echtzeit ohne die Möglichkeit der Verblindung (offensichtliche Implantate) erfasst, wobei das Neuro-Scoring einheitlich durch nur eine Experimentatorin durchgeführt wurde, um die Variabilität auf ein Minimum zu reduzieren. Die klinischen Scores wurden durch dieselbe Experimentatorin erfasst, bis postoperativ keine Abweichungen mehr im klinischen Score der Tiere festgestellt wurden. So kann insgesamt von einem geringen Verzerrungspotential ausgegangen werden. Zudem sollte festgehalten werden, dass es sich bei den explorativen Ergebnissen der vorliegenden Studie um laborspezifische Ergebnisse handelt, welche lediglich hinweisend sind und gegebenenfalls überprüft werden müssen. Des Weiteren sollte auch immer die individuelle kumulative Belastung der Einzeltiere im Fokus liegen.

Die abschließende Validierung des kamerabasierten Heimkäfigmonitoringsystems steht noch aus, da die entsprechenden *In-vivo*-Versuche an weiteren Standorten innerhalb der Forschungsgruppe aktuell oder zu einem späteren Zeitpunkt durchgeführt werden. Die festgestellten belastungs-assoziierten Veränderungen nach subkutaner Transmitterimplantation bei weiblichen einzeln gehaltenen C57BL/6J Mäusen stehen im Einklang mit der in Abschnitt III des Anhang VIII der Richtlinie 2010/63/EU beschriebenen Definition des Schweregrades „mittel“:

„Verfahren, bei denen zu erwarten ist, dass sie bei den Tieren kurzzeitig mittelstarke Schmerzen, mittelschwere Leiden oder Ängste oder lang anhaltende geringe Schmerzen verursachen sowie Verfahren, bei denen zu erwarten ist, dass sie eine mittelschwere Beeinträchtigung des Wohlergehens oder des Allgemeinzustands der Tiere verursachen [...]“²³. Grundsätzlich deuten unsere Ergebnisse darauf hin, dass vor allem in den ersten postoperativen Tagen mit einer „mittleren“ Belastung gerechnet werden kann. Die „Anwendung externer Telemetriegeräte, die die Tiere nur geringfügig beeinträchtigen oder normale Tätigkeiten und normales Verhalten nur leicht einschränken“ wird in der RL 2010/63/EU der Schweregradkategorie „gering“ zugeordnet²³. Aufgrund der geringen Abweichungen in den erfassten (patho-) physiologischen, verhaltensbezogenen und biochemischen Parametern zu späteren Zeitpunkten würden wir die Belastung im weiteren Verlauf ebenfalls als „gering“ bewerten. Bei dem Vergleich der Belastung an Tag 14 und Tag 21 konnten in der vorliegenden Studie keine substanziellen Unterschiede festgestellt werden, sodass von einer ähnlichen Belastung an diesen Tagen ausgegangen werden kann. Für weiterführende Untersuchungen mittels Telemetrie könnte die Hypothese aufgestellt werden, dass eine zweiwöchige Erholungsphase nach subkutaner Transmitterimplantation bei weiblichen C57BL/6J Mäusen bereits ausreicht, um Einflüsse einer unvollständigen postoperativen Erholung auf folgende Versuchsphasen zu umgehen. Zur Belastungsbeurteilung der subkutanen Transmitterimplantation wäre generell ein konfirmatorischer Versuch unter Berücksichtigung beider Geschlechter sinnvoll.

Die Daten aus Voruntersuchungen lassen vermuten, dass das kamerabasierte Heimkäfigmonitoringsystem eine vielversprechende objektive und nicht-invasive Methode zur Überwachung von Labornagern darstellt (BREUER et al., 2023; MÖSCH et al., 2023). Der Einsatz solcher Systeme in der Tierhaltung könnte zur Optimierung der Tierpflege und des Tierwohls im Sinne der 3R-Prinzipien beitragen. So könnten die Tiere beispielsweise nach operativen Eingriffen ungestört und rund um die Uhr in ihrem Heimkäfig überwacht werden, während integrierte Warnsysteme schnelle Interventionen sicherstellen (MOORE et al., 2024; SÜNDERMANN et al., 2024). Durch die Vermeidung der Transmitterimplantation

²³ Anhang 8, RL 2010/63/EU (Fn. 1)

zur Ableitung von Vitalparametern und der damit verbundenen Belastung, sowie der Reduktion von Untersuchungen außerhalb des Heimkäfigs, könnte das Monitoringsystem zur Steigerung der Robustheit und Datenqualität beitragen. Durch die Reduktion der menschlichen Interaktion könnte insbesondere die Variabilität der Daten innerhalb und zwischen Laboren reduziert werden (GRIECO et al., 2021). So könnte eine bessere Reproduzierbarkeit und Replikabilität von Studienergebnissen, sowie eine bessere Standardisierung gewährleistet werden (KLEIN et al., 2022). Außerdem birgt der Einsatz der Telemetrie grundsätzlich den Nachteil, dass keine Basalwerte vor der operativen Implantation des Senders erfasst werden können. Nach erfolgreicher Validierung des Monitoringsystems könnten die im Heimkäfig kamerabasiert erfassten Vitalparameter weiterführende Schlussfolgerungen hinsichtlich der Unterschiede zwischen prä- und postoperativen Messungen ermöglichen.

VII. ZUSAMMENFASSUNG

Die gesetzlich in der EU-Richtlinie 2010/63/EU verankerten 3R-Prinzipien (*Replacement, Reduction, Refinement*), welche 1959 von Russell und Burch veröffentlicht wurden, sind fester Bestandteil von ethischen Standards in der tierexperimentellen Forschung. Das Prinzip des *Refinements* hat zum Ziel das Leiden von Versuchstieren in derzeit nicht ersetzbaren Experimenten auf das unerlässliche Maß zu beschränken. Die beiden in dieser Dissertation durchgeführten Studien leisten indirekt oder direkt einen Beitrag zum *Refinement* in Tierversuchen.

Die Aktivität von Tieren stellt einen Parameter dar, der häufig zur Belastungseinschätzung herangezogen wird (DÜLSNER et al., 2020). Bei tierexperimentellen Studien erfolgt eine Einstufung der Aktivität in der Regel standardmäßig nicht-invasiv über klinische Scoring-Systeme. Die Telemetrie ermöglicht eine kontinuierliche und objektive Erfassung dieses Parameters. Angesichts der Invasivität des hierfür erforderlichen operativen Eingriffs, bieten klinische Scoring-Systeme eine weniger belastende Alternative. Daher sollte in der ersten explorativen Studie dieser Dissertation die Sensitivität der beiden Methoden zur Erfassung der Aktivität überprüft werden. Hierfür wurden telemetrisch erfasste Aktivitätsdaten mit klinischen Scoring-Systemen verglichen. Die retrospektive Datenanalyse inkludierte Studien mit Maus- und Rattenmodellen sowie experimentellen Interventionen von Mitgliedern der Forschungsgruppe „*Severity Assessment in Animal-Based Research*“ (DFG-FOR2591, 2025). In den berücksichtigten Studien (n = 10) konnten in verschiedenen Krankheitsmodellen und operativen Interventionen Aktivitätsänderungen festgestellt werden. Dabei konnten Aktivitätsänderungen häufiger mit der Telemetrie als mit den klinischen Scoring-Systemen erfasst werden.

Die erhobenen Daten unterstreichen die Bedeutung der Entwicklung nicht-invasiver Verfahren und Technologien zum kontinuierlichen Monitoring von Versuchstieren, welche die Vorteile der Telemetrie mit denen klinischer Scoring-Systeme kombinieren. Heimkäfigbasierte Monitoringsysteme, welche eine objektive und kontinuierliche Erfassung von Vital- und Verhaltensparametern ermöglichen, stellen hierbei eine vielversprechende Möglichkeit zur evidenzbasierten Beurteilung des Wohlbefindens und der Belastung dar.

Von der Forschungsgruppe (DFG-FOR2591, 2025) wurde ein solches neues Heimkäfigmonitoringsystem entwickelt, welches kamerabasiert die Ableitung verschiedener Parameter, wie der Herzfrequenz, Atemfrequenz, Körpertemperatur oder Aktivität, bei Nagern ermöglicht (MÖSCH et al., 2023). Die kontinuierliche und objektive Überwachung der Tiere kann mit dem Monitoringsystem unter Vermeidung invasiver Prozeduren erfolgen. Zur Validierung dieses Systems, mittels der bereits etablierten Methodik der Telemetrie, wurde eine multizentrische In-vivo-Studie innerhalb der Forschungsgruppe (DFG-FOR2591, 2025) geplant. Neben den Beiträgen zu dieser Studie wurde in der vorliegenden Dissertation explorativ die Belastung von weiblichen C57BL/6J Mäusen ($n = 6$) nach subkutaner Transmitterimplantation betrachtet und insbesondere die Belastung an Tag 14 und 21 verglichen. Um Einflüsse einer unvollständigen postoperativen Erholung auf die Datenerhebung in folgenden experimentellen Studienphasen zu vermeiden, ist die Einhaltung einer ausreichenden Erholungszeit nach der Transmitterimplantation essenziell. Ziel war es daher, neben der Beurteilung der postoperativen Belastung auch Empfehlungen für die Dauer einer entsprechenden Erholungsphase nach dem operativen Eingriff ableiten zu können. Hierfür wurden (patho-) physiologische, verhaltensbezogene und biochemische Parameter herangezogen. Am Standort München erreichten die verhaltensbezogenen Parameter (wie z. B. das Nestbauverhalten oder der *Mouse Grimace Scale*) und die klinischen Scores nach Transmitterimplantation bereits ab dem dritten postoperativen Tag wieder Basalwerte oder die Werte sanken auf ein gleichbleibendes Niveau, welches jedoch über den Basalwerten lag. Im Gegensatz dazu konnten Abweichungen der telemetrisch erfassten Herzfrequenz und Herzratenvariabilitätsparameter über den siebten postoperativen Tag hinaus festgestellt werden. Zwischen dem postoperativen Tag 14 und 21 konnten parameterübergreifend vergleichbare Werte festgestellt werden. Dies könnte darauf hinweisen, dass zwei Wochen und drei Wochen nach Transmitterimplantation eine vergleichbare Belastung vorliegt. Die Ergebnisse implizieren, dass eine zweiwöchige Erholungsphase nach subkutaner Transmitterimplantation bei weiblichen C57BL/6J Mäusen bereits ausreichen könnte, um weiterführende Untersuchungen ohne den Einfluss einer unvollständigen postoperativen Erholung durchführen zu können. Die In-vivo-Versuche zur Validierung des Monitoringsystems an weiteren Standorten innerhalb der Forschungsgruppe werden aktuell oder zu einem späteren Zeitpunkt

durchgeführt, sodass die abschließende Beurteilung noch aussteht. Die Daten aus Vorstudien in der Forschungsgruppe weisen bereits darauf hin, dass das Monitoringsystem eine vielversprechende objektive und nicht-invasive Methode zur Überwachung von Labornagern darstellt und zur Optimierung der Tierpflege und -haltung beitragen könnte (BREUER et al., 2023; MÖSCH et al., 2023). Durch die Vermeidung der Belastung in Folge einer Transmitterimplantation und die Reduzierung von Untersuchungen außerhalb des Heimkäfigs, könnte das System neben dem *Refinement* zusätzlich zur Steigerung der Robustheit und Datenqualität beitragen.

VIII. SUMMARY

The 3R principles (*Replacement, Reduction, Refinement*), published by Russell and Burch in 1959, have become an ethical basis for animal-based research and are legally established in the EU Directive 2010/63/EU. *Refinement* aims to minimize the suffering of laboratory animals used in experiments that cannot currently be replaced. This dissertation includes two studies that, indirectly or directly, address the objectives of *refinement*.

Animal activity represents a commonly used readout parameter for severity assessment (DÜLSNER et al., 2020). In experimental studies, activity is typically evaluated non-invasively using standardized clinical scoring systems. Telemetry enables continuous and objective monitoring of this parameter. However, due to the invasiveness of the surgical procedure required for telemetry, clinical scoring systems offer a less burdensome alternative. Therefore, the first exploratory study in this dissertation aimed to evaluate the sensitivity of both methods for assessing activity. For this purpose, telemetric activity data were compared with results from clinical scoring systems. The retrospective data analysis included studies with mouse and rat models and experimental interventions from the research group “*Severity Assessment in Animal-Based Research*” (DFG-FOR2591, 2025). In the included studies ($n = 10$), activity-related changes were observed in various disease models and following surgical interventions. The corresponding changes were detected more frequently by telemetry than by clinical scoring systems.

Overall, the findings highlight the importance of developing non-invasive methods and technologies for continuous monitoring of laboratory animals that combine the advantages of telemetry with those of clinical scoring systems. Home-cage-based monitoring systems, which enable objective and continuous recording of vital and behavioral parameters, represent a promising technology for evidence-based assessment of animal welfare and burden.

Such a monitoring system, developed by our research group (DFG-FOR2591, 2025), uses camera-based technology to measure parameters such as heart rate, respiratory rate, body temperature, and activity in rodents (MÖSCH et al., 2023). Continuous and objective monitoring of animals can be achieved using this home-cage-based monitoring system without invasive procedures. A multicenter in vivo study was planned by the research group (DFG-FOR2591, 2025) in which

telemetric data will be used as a reference for validating this system. In addition to the contributions to this validation, this dissertation also included an exploratory assessment of the distress experienced by female C57BL/6J mice ($n = 6$) after subcutaneous transmitter implantation, with a particular focus on comparing the burden on days 14 and 21 after surgery. Ensuring an adequate recovery period following transmitter implantation is essential to avoid confounding effects by insufficient post-surgical recovery in subsequent experimental phases. Therefore, the aim was to assess post-surgical severity levels at different time points and derive recommendations for an appropriate duration of the recovery period after surgery. For this purpose, (patho-) physiological, behavioral, and biochemical parameters were evaluated. Behavioral parameters (such as nesting behavior or Mouse Grimace Scale) and clinical scores returned to baseline levels or declined to a steady level, which remained above baseline, on the third post-surgical day. However, post-surgical alterations in telemetrically recorded heart rate and heart rate variability persisted beyond the seventh post-surgical day. Nevertheless, between post-surgical days 14 and 21, comparable values were recorded for all parameters. These results may indicate that the animals experienced a similar severity at two and three weeks following transmitter implantation. The findings suggest that a two-week recovery period following subcutaneous transmitter implantation in female C57BL/6J mice may be sufficient to conduct follow-up studies without the confounding influence of incomplete post-surgical recovery. In vivo experiments to validate the monitoring system at other locations of our research group are currently underway or planned, so a final assessment is still pending. Preliminary investigations previously conducted in our research group already indicate that the system represents a promising objective and non-invasive method for continuous monitoring in laboratory rodents and can contribute to optimizing animal care and husbandry (BREUER et al., 2023; MÖSCH et al., 2023). By avoiding the distress and pain associated with implanting a transmitter and reducing the need for examinations outside the home-cage, the system can contribute to refinement and increased robustness and data quality.

IX. LITERATURVERZEICHNIS

Actual Analytics. Home Cage Analyser (HCA). 2025:
<https://www.actualanalytics.com/products>. 07.06.2025.

Allentown. Allentown Discovery™ IVC. 2025:
<https://www.allentowninc.com/discovery/>. 08.06.2025.

Alzmann N (2016) Zur Beurteilung der ethischen Vertretbarkeit von Tierversuchen.
Narr Francke Attempto Verlag.

Andresen N, Wöllhaf M, Hohlbaum K, Lewejohann L, Hellwich O, Thöne-Reineke C, Belik V. Towards a fully automated surveillance of well-being status in laboratory mice using deep learning: Starting with facial expression analysis. PLoS One 2020; 15: e0228059.

Arble DM, Bass J, Laposky AD, Vitaterna MH, Turek FW. Circadian Timing of Food Intake Contributes to Weight Gain. Obesity 2009; 17: 2100-2.

Arras M, Rettich A, Cinelli P, Kasermann HP, Burki K. Assessment of post-laparotomy pain in laboratory mice by telemetric recording of heart rate and heart rate variability. BMC Vet Res 2007; 3: 16.

Arras M. Improvement of pain therapy in laboratory mice. ALTEX 2007; 24 Spec No: 6-8.

Arras M, Glauser DL, Jirkof P, Rettich A, Schade B, Cinelli P, Pinschewer DD, Ackermann M. Multiparameter telemetry as a sensitive screening method to detect vaccine reactogenicity in mice. PLoS One 2012; 7: e29726.

Auguie B, Antonov A. gridExtra: Miscellaneous Functions for "Grid" Graphics. R Package Version 2.3. Comprehensive R Archive Network (CRAN), 2017.

Aulehner K, Bray J, Koska I, Pace C, Palme R, Kreuzer M, Platt B, Fenzl T, Potschka H. The impact of tethered recording techniques on activity and sleep patterns in rats. *Sci Rep* 2022a; 12: 3179.

Aulehner K, Leenaars C, Buchecker V, Stirling H, Schönhoff K, King H, Häger C, Koska I, Jirkof P, Bleich A, Bankstahl M, Potschka H. Grimace scale, burrowing, and nest building for the assessment of post-surgical pain in mice and rats-A systematic review. *Front Vet Sci* 2022b; 9: 930005.

Bailey J. Does the stress of laboratory life and experimentation on animals adversely affect research data? A critical review. *Altern Lab Anim* 2018; 46: 291-305.

Bains RS, Wells S, Sillito RR, Armstrong JD, Cater HL, Banks G, Nolan PM. Assessing mouse behaviour throughout the light/dark cycle using automated in-cage analysis tools. *J Neurosci Methods* 2018; 300: 37-47.

Baumans V, Bouwknecht J, Boere H, Kramer K, Van Lith H, Van de Weerd H, Van Herck H. Intra-abdominal transmitter implantation in mice: effects on behaviour and body weight. *Animal Welfare* 2001; 10: 291-302.

BC Mechanical Design. Vium Digital Vivarium™ Smart Housing™. 2025: <https://bcmechanicaldesign.com/portfolio-item/vium-digital-vivarium-smart-housing-2/>. 08.06.2025.

Beauchamp TL, DeGrazia D (2020) *Principles of Animal Research Ethics*. Oxford University Press.

Ben-Shachar M, Lüdtke D, Makowski D. effectsize: Estimation of Effect Size Indices and Standardized Parameters. *Journal of Open Source Software* 2020; 5: 2815.

BfR. Bundesinstitut für Risikobewertung: Verwendung von Versuchstieren im Berichtsjahr 2023. 2024: https://www.bf3r.de/de/verwendung_von_versuchstieren_im_berichtsjahr_2023-318066.html. 27.09.2025.

Bleich A, Tolba RH. How can we assess their suffering? German research consortium aims at defining a severity assessment framework for laboratory animals. *Lab Anim* 2017; 51: 667.

Bleich A, Bankstahl M, Jirkof P, Prins JB, Tolba RH. Severity Assessment in animal based research. *Lab Anim* 2020; 54: 16.

BMEL. Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft: statistische Auswertung zur Entwicklung des Viehbestands in Deutschland. 2023: <https://www.bmel-statistik.de/landwirtschaft/tierhaltung/viehbestand>. 26.01.2025.

Boldt L, Koska I, Maarten van Dijk R, Talbot SR, Miljanovic N, Palme R, Bleich A, Potschka H. Toward evidence-based severity assessment in mouse models with repeated seizures: I. Electrical kindling. *Epilepsy Behav* 2021; 115: 107689.

Brandt C, Gastens AM, Sun M, Hausknecht M, Löscher W. Treatment with valproate after status epilepticus: effect on neuronal damage, epileptogenesis, and behavioral alterations in rats. *Neuropharmacology* 2006; 51: 789-804.

Breuer L, Mösch L, Kunczik J, Buchecker V, Potschka H, Czaplik M, Pereira CB. Camera-Based Respiration Monitoring of Unconstrained Rodents. *Animals (Basel)* 2023; 13.

Breves G, Diener M, Gäbel G (2022a) Physiologie der Haustiere. In: Herz, 6., vollständig überarbeitete und erweiterte Auflage edn. Ed Breves G. Thieme, Stuttgart.

Breves G, Diener M, Gäbel G (2022b) Physiologie der Haustiere. In: Endokrinologie, 6., vollständig überarbeitete und erweiterte Auflage edn. Eds Wilkens M, Muscher-Banse A. Thieme, Stuttgart.

Brill SA, Guerrero-Martin SM, Metcalf Pate KA. The Symbiotic Relationship Between Scientific Quality and Animal Research Ethics. *Ilar j* 2021; 60: 334-40.

Buchecker V, Koska I, Pace C, Talbot SR, Palme R, Bleich A, Potschka H. Toward Evidence-Based Severity Assessment in Mouse Models with Repeated Seizures: (II.) Impact of Surgery and Intrahippocampal Kainate. *Eur Surg Res* 2023; 64: 89-107.

Butz GM, Davisson RL. Long-term telemetric measurement of cardiovascular parameters in awake mice: a physiological genomics tool. *Physiological Genomics* 2001; 5: 89-97.

Cata JP, Patiño M, Lacagnina MJ, Li J, Gorur A, Agudelo-Jimenez R, Wei B, Hagberg CA, Dougherty PM, Shureiqi I, Yang P, Grace PM. A rat model to investigate quality of recovery after abdominal surgery. *Pain Rep* 2021; 6: e943.

Cesarovic N, Jirkof P, Rettich A, Arras M. Implantation of radiotelemetry transmitters yielding data on ECG, heart rate, core body temperature and activity in free-moving laboratory mice. *J Vis Exp* 2011.

Chiang CY, Chen YP, Tzeng HR, Chang MH, Chiou LC, Pei YC. Deep Learning-Based Grimace Scoring Is Comparable to Human Scoring in a Mouse Migraine Model. *J Pers Med* 2022; 12.

Clement JG, Mills P, Brockway B. Use of telemetry to record body temperature and activity in mice. *J Pharmacol Methods* 1989; 21: 129-40.

CleverSys. IVC-RackScan. 2025a:
https://cleversysinc.com/CleverSysInc/csi_products/ivc-rackscan/. 07.06.2025.

CleverSys. GroupHousedScan. 2025b:
https://cleversysinc.com/CleverSysInc/csi_products/grouphousedscan/.
08.06.2025.

Curzer HJ, Perry G, Wallace MC, Perry D. The Three Rs of Animal Research: What they Mean for the Institutional Animal Care and Use Committee and Why. *Sci Eng Ethics* 2016; 22: 549-65.

Dalla Costa E, Minero M, Lebelt D, Stucke D, Canali E, Leach MC. Development of the Horse Grimace Scale (HGS) as a pain assessment tool in horses undergoing routine castration. *PLoS One* 2014; 9: e92281.

Darwin C (1872) *The expression of the emotions in man and animals*. John Murray, London.

de Chaumont F, Ey E, Torquet N, Lagache T, Dallongeville S, Imbert A, Legou T, Le Sourd AM, Faure P, Bourgeron T, Olivo-Marin JC. Real-time analysis of the behaviour of groups of mice via a depth-sensing camera and machine learning. *Nat Biomed Eng* 2019; 3: 930-42.

Deacon R. Assessing burrowing, nest construction, and hoarding in mice. *J Vis Exp* 2012: e2607.

Deacon RM. Assessing nest building in mice. *Nat Protoc* 2006; 1: 1117-9.

Defensor EB, Corley MJ, Blanchard RJ, Blanchard DC. Facial expressions of mice in aggressive and fearful contexts. *Physiol Behav* 2012; 107: 680-5.

DeGrazia D, Beauchamp TL. Beyond the 3 Rs to a More Comprehensive Framework of Principles for Animal Research Ethics. *Ilar j* 2021; 60: 308-17.

Denenberg VH, Taylor RE, Zarrow MX. Maternal behavior in the rat: an investigation and quantification of nest building. *Behaviour* 1969; 34: 1-16.

DFG-FOR2591. The DFG research unit 2591 – a research consortium aims at defining a severity assessment framework for laboratory animals. Bleich, A

Tolba, R 2025: <https://severity-assessment.de>. 26.01.2025.

Di Giminiani P, Brierley VL, Scollo A, Gottardo F, Malcolm EM, Edwards SA, Leach MC. The Assessment of Facial Expressions in Piglets Undergoing Tail Docking and Castration: Toward the Development of the Piglet Grimace Scale. *Front Vet Sci* 2016; 3: 100.

Do JP, Defensor EB, Ichim CV, Lim MA, Mechanic JA, Rabe MD, Schaevitz LR. Automated and Continuous Monitoring of Animal Welfare through Digital Alerting. *Comp Med* 2020; 70: 313-27.

Dülsner A, Hack R, Krüger C, Manthey T, Paulin N, Pils M, Scherer K, Schmelting B, Schmidt M, Siegeler K, Weinert H, Wißmann A (2020) Möglichkeiten der Belastungsbeurteilung im Tierversuch. View article 2020.

Durst MS, Arras M, Palme R, Talbot SR, Jirkof P. Lidocaine and bupivacaine as part of multimodal pain management in a C57BL/6J laparotomy mouse model. *Sci Rep* 2021; 11: 10918.

Eisend M, Kuß A. Generalisierbarkeit von Untersuchungsergebnissen. In: Grundlagen empirischer Forschung: Zur Methodologie in der Betriebswirtschaftslehre Wiesbaden: Springer Fachmedien Wiesbaden 2017: 203-17.

Ekman P, Friesen WV (1978) Facial Action Coding System. Consulting Psychologists Press.

Ernst L, Kopaczka M, Schulz M, Talbot SR, Struve B, Häger C, Bleich A, Durst M, Jirkof P, Arras M, van Dijk RM, Miljanovic N, Potschka H, Merhof D, Tolba RH. Semi-automated generation of pictures for the Mouse Grimace Scale: A multi-laboratory analysis (Part 2). *Lab Anim* 2020a; 54: 92-8.

Ernst L, Kopaczka M, Schulz M, Talbot SR, Zieglowski L, Meyer M, Bruch S, Merhof D, Tolba RH. Improvement of the Mouse Grimace Scale set-up for implementing a semi-automated Mouse Grimace Scale scoring (Part 1). *Lab Anim* 2020b; 54: 83-91.

Evangelista MC, Watanabe R, Leung VSY, Monteiro BP, O'Toole E, Pang DSJ, Steagall PV. Facial expressions of pain in cats: the development and validation of a Feline Grimace Scale. *Sci Rep* 2019; 9: 19128.

Fares R, Flénet T, Vial J, Ravaz M, Roger V, Bory C, Baudet S. Non invasive jacketed telemetry in socially-housed rats for a combined assessment of respiratory system, electrocardiogram and activity using the DECRO system. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2022; 117: 107195.

Fares RP, Boire A, Eynard C, Flénet T. Simultaneous non-invasive telemetric electrocardiogram and respiratory measurement with a connected jacket (DECRO system) in rats. 2020.

Ferguson SA, Maier KL. A review of seasonal/circannual effects of laboratory rodent behavior. *Physiol Behav* 2013; 119: 130-6.

Fonck C, Easter A, Pietras MR, Bialecki RA. CNS Adverse Effects: From Functional Observation Battery/Irwin Tests to Electrophysiology. *Handb Exp Pharmacol* 2015; 229: 83-113.

Gaidica M, Dantzer B. Quantifying the Autonomic Response to Stressors—One Way to Expand the Definition of “Stress” in Animals. *Integrative and Comparative Biology* 2020; 60: 113-25.

Gaskill BN, Karas AZ, Garner JP, Pritchett-Corning KR. Nest building as an indicator of health and welfare in laboratory mice. *J Vis Exp* 2013: 51012.

Gehrmann J, Hammer PE, Maguire CT, Wakimoto H, Triedman JK, Berul CI. Phenotypic screening for heart rate variability in the mouse. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 2000; 279: H733-H40.

Genewsky A, Heinz DE, Kaplick PM, Kilonzo K, Wotjak CT. A simplified microwave-based motion detector for home cage activity monitoring in mice. *J Biol Eng* 2017; 11: 36.

Gilbert CA, Lilley CM, Craig KD, McGrath PJ, Court CA, Bennett SM, Montgomery CJ. Postoperative pain expression in preschool children: validation of the child facial coding system. *Clin J Pain* 1999; 15: 192-200.

Glaserapp A, Bankstahl JP, Bähre H, Glage S, Bankstahl M. Subcutaneous and orally self-administered high-dose carprofen shows favorable pharmacokinetic and tolerability profiles in male and female C57BL/6J mice. *Front Vet Sci* 2024; 11: 1430726.

Grieco F, Bernstein BJ, Biemans B, Bikovski L, Burnett CJ, Cushman JD, van Dam EA, Fry SA, Richmond-Hacham B, Homberg JR, Kas MJH, Kessels HW, Koopmans B, Krashes MJ, Krishnan V, Logan S, Loos M, McCann KE, Parduzi Q, Pick CG, Prevot TD, Riedel G, Robinson L, Sadighi M, Smit AB, Sonntag W, Roelofs RF, Tegelenbosch RAJ, Noldus L. Measuring Behavior in the Home Cage: Study Design, Applications, Challenges, and Perspectives. *Front Behav Neurosci* 2021; 15: 735387.

Groenink L, van der Gugten J, Zethof T, van der Heyden J, Olivier B. Stress-induced hyperthermia in mice: hormonal correlates. *Physiol Behav* 1994; 56: 747-9.

Gross D, Tolba RH. Ethics in Animal-Based Research. *Eur Surg Res* 2015; 55: 43-57.

Häger C, Biernot S, Buettner M, Glage S, Keubler LM, Held N, Bleich EM, Otto K, Müller CW, Decker S, Talbot SR, Bleich A. The Sheep Grimace Scale as an indicator of post-operative distress and pain in laboratory sheep. *PLoS One* 2017; 12: e0175839.

Häger C, Keubler LM, Talbot SR, Biernot S, Weegh N, Buchheister S, Buettner M, Glage S, Bleich A. Running in the wheel: Defining individual severity levels in mice. *PLoS Biol* 2018; 16: e2006159.

Hampshire V, Robertson S. Using the facial grimace scale to evaluate rabbit wellness in post-procedural monitoring. *Lab Anim (NY)* 2015; 44: 259-60.

Harrer M, Cuijpers P, Furukawa TA, Ebert DD. 3.4.1 Small Sample Bias. In: *Doing Meta-Analysis With R: A Hands-On Guide*, 1st edn Boca Raton, FL and London: Chapman & Hall/CRC Press 2021.

Hayes KE, Raucci JA, Jr., Gades NM, Toth LA. An evaluation of analgesic regimens for abdominal surgery in mice. *Contemp Top Lab Anim Sci* 2000; 39: 18-23.

Helgers SOA, Talbot SR, Riedesel AK, Wassermann L, Wu Z, Krauss JK, Häger C, Bleich A, Schwabe K. Body weight algorithm predicts humane endpoint in an intracranial rat glioma model. *Sci Rep* 2020; 10: 9020.

Helwig BG, Ward JA, Blaha MD, Leon LR. Effect of intraperitoneal radiotelemetry instrumentation on voluntary wheel running and surgical recovery in mice. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 2012; 51: 600-8.

Hidaka N, Suemaru K, Li B, Araki H. Effects of repeated electroconvulsive seizures on spontaneous alternation behavior and locomotor activity in rats. *Biol Pharm Bull* 2008; 31: 1928-32.

Hobson L, Bains RS, Greenaway S, Wells S, Nolan PM. Phenotyping in Mice Using Continuous Home Cage Monitoring and Ultrasonic Vocalization Recordings. *Curr Protoc Mouse Biol* 2020; 10: e80.

Hohlbaum K, Bert B, Dietze S, Palme R, Fink H, Thöne-Reineke C. Severity classification of repeated isoflurane anesthesia in C57BL/6JRj mice-Assessing the degree of distress. *PLoS One* 2017; 12: e0179588.

Hoit BD, Kiatchoosakun S, Restivo J, Kirkpatrick D, Olszens K, Shao H, Pao YH, Nadeau JH. Naturally occurring variation in cardiovascular traits among inbred mouse strains. *Genomics* 2002; 79: 679-85.

Hong W, Kennedy A, Burgos-Artizzu XP, Zelikowsky M, Navonne SG, Perona P, Anderson DJ. Automated measurement of mouse social behaviors using depth sensing, video tracking, and machine learning. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2015; 112: E5351-60.

Iannello F. Non-intrusive high throughput automated data collection from the home cage. *Heliyon* 2019; 5: e01454.

iMouse. iMouse (intelligent Monitoring & operation system in use within a standardized environment): The Solution. 2025a: <https://imouse.info/our-solution/>. 08.06.2025.

iMouse. iMouse Solution: Info. 2025b: <https://imouse.info>. 11.06.2025.

Irwin S. Comprehensive observational assessment: Ia. A systematic, quantitative procedure for assessing the behavioral and physiologic state of the mouse. *Psychopharmacologia* 1968; 13: 222-57.

Jirkof P, Cesarovic N, Rettich A, Nicholls F, Seifert B, Arras M. Burrowing behavior as an indicator of post-laparotomy pain in mice. *Front Behav Neurosci* 2010; 4: 165.

Jirkof P, Fleischmann T, Cesarovic N, Rettich A, Vogel J, Arras M. Assessment of postsurgical distress and pain in laboratory mice by nest complexity scoring. *Lab Anim* 2013; 47: 153-61.

Jirkof P. Burrowing and nest building behavior as indicators of well-being in mice. *J Neurosci Methods* 2014; 234: 139-46.

Jirkof P, Rudeck J, Lewejohann L. Assessing Affective State in Laboratory Rodents to Promote Animal Welfare-What Is the Progress in Applied Refinement Research? *Animals (Basel)* 2019; 9.

Jirkof P, Abdelrahman A, Bleich A, Durst M, Keubler L, Potschka H, Struve B, Talbot SR, Vollmar B, Zechner D, Häger C. A safe bet? Inter-laboratory variability in behaviour-based severity assessment. *Lab Anim* 2020; 54: 73-82.

Kahnau P, Habedank A, Diederich K, Lewejohann L. Behavioral Methods for Severity Assessment. *Animals (Basel)* 2020; 10.

Kahnau P, Mieske P, Wilzopolski J, Kalliokoski O, Mandillo S, Hölter SM, Voikar V, Amfim A, Badurek S, Bartelik A, Caruso A, Čater M, Ey E, Golini E, Jaap A, Hrnčić D, Kyrk A, Lang B, Loncarevic-Vasiljkovic N, Meziane H, Radzevičienė A, Rivalan M, Scattoni ML, Torquet N, Trifkovic J, Ulfhake B, Thöne-Reineke C, Diederich K, Lewejohann L, Hohlbaum K. A systematic review of the development and application of home cage monitoring in laboratory mice and rats. *BMC Biol* 2023; 21: 256.

Keubler LM, Hoppe N, Potschka H, Talbot SR, Vollmar B, Zechner D, Häger C, Bleich A. Where are we heading? Challenges in evidence-based severity assessment. *Lab Anim* 2020; 54: 50-62.

Klein C, Budiman T, Homberg JR, Verma D, Keijer J, van Schothorst EM. Measuring Locomotor Activity and Behavioral Aspects of Rodents Living in the Home-Cage. *Front Behav Neurosci* 2022; 16: 877323.

Kobayashi K, Shimizu N, Matsushita S, Murata T. The assessment of mouse spontaneous locomotor activity using motion picture. *J Pharmacol Sci* 2020; 143: 83-8.

Kolbe T, Palme R, Tichy A, Rülcke T. Lifetime Dependent Variation of Stress Hormone Metabolites in Feces of Two Laboratory Mouse Strains. *PLoS One* 2015; 10: e0136112.

Koresh O, Kaplan Z, Zohar J, Matar MA, Geva AB, Cohen H. Distinctive cardiac autonomic dysfunction following stress exposure in both sexes in an animal model of PTSD. *Behav Brain Res* 2016; 308: 128-42.

Koska I, van Dijk RM, Seiffert I, Di Liberto V, Möller C, Palme R, Hellweg R, Potschka H. Toward evidence-based severity assessment in rat models with repeated seizures: II. Chemical post-status epilepticus model. *Epilepsia* 2019; 60: 2114-27.

Kramer K, Kinter LB. Evaluation and applications of radiotelemetry in small laboratory animals. *Physiol Genomics* 2003; 13: 197-205.

Kreitmair K. Consciousness and the Ethics of Human Brain Organoid Research. *Camb Q Healthc Ethics* 2023: 1-11.

Kumstel S, Vasudevan P, Palme R, Zhang X, Wendt EHU, David R, Vollmar B, Zechner D. Benefits of non-invasive methods compared to telemetry for distress analysis in a murine model of pancreatic cancer. *J Adv Res* 2020; 21: 35-47.

Kunczik J, Barbosa Pereira C, Zieglowski L, Tolba R, Wassermann L, Hager C, Bleich A, Janssen H, Thum T, Czaplik M. Remote vitals monitoring in rodents using video recordings. *Biomed Opt Express* 2019; 10: 4422-36.

LaChapelle DL, Hadjistavropoulos T, Craig KD. Pain measurement in persons with intellectual disabilities. *Clin J Pain* 1999; 15: 13-23.

Lakens D. Equivalence Tests: A Practical Primer for t Tests, Correlations, and Meta-Analyses. *Soc Psychol Personal Sci* 2017; 8: 355-62.

Langford DJ, Bailey AL, Chanda ML, Clarke SE, Drummond TE, Echols S, Glick S, Ingrao J, Klassen-Ross T, Lacroix-Fralish ML, Matsumiya L, Sorge RE, Sotocinal SG, Tabaka JM, Wong D, van den Maagdenberg AM, Ferrari MD, Craig KD, Mogil JS. Coding of facial expressions of pain in the laboratory mouse. *Nat Methods* 2010; 7: 447-9.

Larson CM, Wilcox GL, Fairbanks CA. The Study of Pain in Rats and Mice. *Comp Med* 2019; 69: 555-70.

Laz M, Lampe M, Connor I, Shestachuk D, Ludwig M, Müller U, Strauch OF, Suendermann N, Lüth S, Kah J. The iMouse System – A Visual Method for Standardized Digital Data Acquisition Reduces Severity Levels in Animal-Based Studies. *Journal of Pharmacy and Pharmacology Research* 2023; 7 (2023): 256-73.

Lee DK. Alternatives to P value: confidence interval and effect size. *Korean J Anesthesiol* 2016; 69: 555-62.

Lee KH, Lee DW, Kang BC. The 'R' principles in laboratory animal experiments. *Lab Anim Res* 2020; 36: 45.

Leon LR, Walker LD, DuBose DA, Stephenson LA. Biotelemetry transmitter implantation in rodents: impact on growth and circadian rhythms. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004; 286: R967-74.

Lepschy M, Touma C, Hruby R, Palme R. Non-invasive measurement of adrenocortical activity in male and female rats. *Lab Anim* 2007; 41: 372-87.

Lewes D, Hill DW. Application of multipoint electrodes to telemetry in patient-monitoring and during physical exercise. *British Heart Journal* 1967; 29: 689-99.

Lim MA, Defensor EB, Mechanic JA, Shah PP, Jaime EA, Roberts CR, Hutto DL, Schaevitz LR. Retrospective Analysis of the Effects of Identification Procedures and Cage Changing by Using Data from Automated, Continuous Monitoring. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 2019; 58: 126-41.

Lints-Martindale AC, Hadjistavropoulos T, Barber B, Gibson SJ. A Psychophysical Investigation of the Facial Action Coding System as an Index of Pain Variability among Older Adults with and without Alzheimer's Disease. *Pain Medicine* 2007; 8: 678-89.

Lisk RD, Pretlow RA, 3rd, Friedman SM. Hormonal stimulation necessary for elicitation of maternal nest-building in the mouse (*Mus musculus*). *Anim Behav* 1969; 17: 730-7.

MacArthur Clark J. The 3Rs in research: a contemporary approach to replacement, reduction and refinement. *Br J Nutr* 2018; 120: S1-s7.

Mähler M, Berard M, Feinstein R, Gallagher A, Illgen-Wilcke B, Pritchett-Corning K, Raspa M. FELASA recommendations for the health monitoring of mouse, rat, hamster, guinea pig and rabbit colonies in breeding and experimental units. *Lab Anim* 2014; 48: 178-92.

Malik M, Bigger JT, Camm AJ, Kleiger RE, Malliani A, Moss AJ, Schwartz PJ. Heart rate variability: Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. *European Heart Journal* 1996; 17: 354-81.

Mallien AS, Häger C, Palme R, Talbot SR, Vogt MA, Pfeiffer N, Brandwein C, Struve B, Inta D, Chourbaji S, Hellweg R, Vollmayr B, Bleich A, Gass P. Systematic analysis of severity in a widely used cognitive depression model for mice. *Laboratory Animals* 2020; 54: 40-9.

Mallien AS, Pfeiffer N, Brandwein C, Inta D, Sprengel R, Palme R, Talbot SR, Gass P. Comparative Severity Assessment of Genetic, Stress-Based, and Pharmacological Mouse Models of Depression. *Front Behav Neurosci* 2022; 16: 908366.

Mandal J, Parija SC. Ethics of involving animals in research. *Trop Parasitol* 2013; 3: 4-6.

Mathiasen JR, Moser VC. The Irwin Test and Functional Observational Battery (FOB) for Assessing the Effects of Compounds on Behavior, Physiology, and Safety Pharmacology in Rodents. *Curr Protoc* 2023; 3: e780.

Mathis A, Mamidanna P, Cury KM, Abe T, Murthy VN, Mathis MW, Bethge M. DeepLabCut: markerless pose estimation of user-defined body parts with deep learning. *Nat Neurosci* 2018; 21: 1281-9.

Mathis MW, Mathis A. Deep learning tools for the measurement of animal behavior in neuroscience. *Curr Opin Neurobiol* 2020; 60: 1-11.

Matos HC, Koike BDV, Pereira WDS, de Andrade TG, Castro OW, Duzzioni M, Kodali M, Leite JP, Shetty AK, Gitaí DLG. Rhythms of Core Clock Genes and Spontaneous Locomotor Activity in Post-Status Epilepticus Model of Mesial Temporal Lobe Epilepsy. *Front Neurol* 2018; 9: 632.

Matsumiya LC, Sorge RE, Sotocinal SG, Tabaka JM, Wieskopf JS, Zaloum A, King OD, Mogil JS. Using the Mouse Grimace Scale to reevaluate the efficacy of postoperative analgesics in laboratory mice. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 2012; 51: 42-9.

McCoy ES, Park SK, Patel RP, Ryan DF, Mullen ZJ, Nesbitt JJ, Lopez JE, Taylor-Blake B, Vanden KA, Krantz JL, Hu W, Garriss RL, Snyder MG, Lima LV, Sotocinal SG, Austin JS, Kashlan AD, Shah S, Trocinski AK, Pudipeddi SS, Major RM, Bazick HO, Klein MR, Mogil JS, Wu G, Zylka MJ. Development of PainFace software to simplify, standardize, and scale up mouse grimace analyses. *Pain* 2024; 165: 1793-805.

Merck KGaA. Merck Group: Geschäftsethik - Marseiller Erklärung zur weltweiten Einführung hoher Standards bei der internen und externen Tierhaltung und -nutzung für wissenschaftliche Zwecke durch die Pharmaindustrie. 2025a: <https://www.merckgroup.com/de/sustainability/business-ethics/marseille-declaration.html>. 26.01.2025.

Merck KGaA. Merck Group: Animal Ethics - The Marseille Declaration. 2025b: <https://www.merckgroup.com/en/sustainability/business-ethics/animal-ethics.html>. 26.01.2025.

Meyer CW, Ootsuka Y, Romanovsky AA. Body Temperature Measurements for Metabolic Phenotyping in Mice. *Front Physiol* 2017; 8: 520.

Miller A, Kitson G, Skalkoyannis B, Leach M. The effect of isoflurane anaesthesia and buprenorphine on the mouse grimace scale and behaviour in CBA and DBA/2 mice. *Appl Anim Behav Sci* 2015; 172: 58-62.

Miller AL, Leach MC. The Mouse Grimace Scale: A Clinically Useful Tool? *PLoS One* 2015; 10: e0136000.

Mingrone A, Kaffman A, Kaffman A. The Promise of Automated Home-Cage Monitoring in Improving Translational Utility of Psychiatric Research in Rodents. *Front Neurosci* 2020; 14: 618593.

Mogil JS. Qualitative sex differences in pain processing: emerging evidence of a biased literature. *Nat Rev Neurosci* 2020; 21: 353-65.

Möller C, van Dijk RM, Wolf F, Keck M, Schönhoff K, Bierling V, Potschka H. Impact of repeated kindled seizures on heart rate rhythms, heart rate variability, and locomotor activity in rats. *Epilepsy Behav* 2019; 92: 36-44.

Moore JL, Kennedy J, Hassan AA. Automated home cage monitoring of an aging colony of mice-Implications for welfare monitoring and experimentation. *Front Neurosci* 2024; 18: 1489308.

Morton DB, Griffiths P. Guidelines on the recognition of pain, distress and discomfort in experimental animals and an hypothesis for assessment. *Vet Rec* 1985; 116: 431-6.

Moscardo E, Maurin A, Dorigatti R, Champeroux P, Richard S. An optimised methodology for the neurobehavioural assessment in rodents. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2007; 56: 239-55.

Mösch L, Kunczik J, Breuer L, Merhof D, Gass P, Potschka H, Zechner D, Vollmar B, Tolba R, Häger C, Bleich A, Czaplik M, Pereira CB. Towards substitution of invasive telemetry: An integrated home cage concept for unobtrusive monitoring of objective physiological parameters in rodents. *PLoS One* 2023; 18: e0286230.

Mota-Rojas D, Olmos-Hernández A, Verduzco-Mendoza A, Hernández E, Martínez-Burnes J, Whittaker AL. The Utility of Grimace Scales for Practical Pain Assessment in Laboratory Animals. *Animals (Basel)* 2020; 10.

Müller K (2017) HeimtierSkills: Praxisleitfaden zu Diagnose und Therapie bei kleinen Heimtieren. In: Maus. Schattauer, Stuttgart.

Munk A, Philippi V, Buchecker V, Bankstahl M, Glasenapp A, Blutke A, Michelakaki E, Talbot SR, Huwyler J, Jirkof P, Kopaczka M, Merhof D, Palme R, Potschka H. Refining pain management in mice by comparing multimodal analgesia and NSAID monotherapy for neurosurgical procedures. *Sci Rep* 2024; 14: 18691.

Murphy P, Burnham WM. The effect of kindled seizures on the locomotory behavior of Long-Evans rats. *Exp Neurol* 2003; 180: 88-92.

Myung SK. How to review and assess a systematic review and meta-analysis article: a methodological study (secondary publication). *J Educ Eval Health Prof* 2023; 20: 24.

National Research Council Committee on Guidelines for the Humane Transportation of Laboratory Animals. The National Academies Collection: Reports funded by National Institutes of Health. In: Guidelines for the Humane Transportation of Research Animals Washington (DC): National Academies Press (US). Copyright © 2006, National Academy of Sciences. 2006.

National Research Council Committee on Guidelines for the Use of Animals in Neuroscience and Behavioral Research. The National Academies Collection:

Reports funded by National Institutes of Health. In: Guidelines for the Care and Use of Mammals in Neuroscience and Behavioral Research Washington (DC): National Academies Press (US). Copyright © 2003, National Academy of Sciences. 2003.

National Research Council Committee on Recognition and Alleviation of Pain in Laboratory Animals. The National Academies Collection: Reports funded by National Institutes of Health. In: Recognition and Alleviation of Pain in Laboratory Animals Washington (DC): National Academies Press (US). Copyright © 2009, National Academy of Sciences. 2009.

Neuhaus W, Reininger-Gutmann B, Rinner B, Plasenzotti R, Wilflingseder D, De Kock J, Vanhaecke T, Rogiers V, Jírová D, Kejlová K, Knudsen LE, Nielsen RN, Kleuser B, Kral V, Thöne-Reineke C, Hartung T, Pallocca G, Leist M, Hippenstiel S, Lang A, Retter I, Krämer S, Jedlicka P, Ameli K, Fritsche E, Tigges J, Buettner M, Bleich A, Baumgart N, Baumgart J, Meinhardt MW, Spanagel R, Chourbaji S, Kränzlin B, Seeger B, von Köckritz-Blickwede M, Sánchez-Morgado JM, Galligioni V, Ruiz-Pérez D, Movia D, Prina-Mello A, Ahluwalia A, Chiono V, Gutleb AC, Schmit M, van Golen B, van Weereld L, Kienhuis A, van Oort E, van der Valk J, Smith A, Roszak J, Stępnik M, Sobańska Z, Olsson IAS, Franco NH, Sevastre B, Kandarova H, Capdevila S, Johansson J, Cederroth CR, Sandström J, Ragan I, Bubalo N, Spielmann H. The Rise of Three Rs Centres and Platforms in Europe*. *Alternatives to Laboratory Animals* 2022; 50: 90-120.

Nikita KS (2014) Introduction to Biomedical Telemetry.

Noldus. Noldus PhenoTyper. 2025a: <https://noldus.com/phenotyper>. 06.06.2025.

Noldus. Noldus PhenoTyper applications. 2025b: <https://noldus.com/phenotyper/applications>. 06.06.2025.

Noldus. Noldus EthoVision applications. 2025c: <https://noldus.com/ethovision-xt/applications>. 06.06.2025.

Okayama T, Goto T, Toyoda A. Assessing nest-building behavior of mice using a 3D depth camera. *J Neurosci Methods* 2015; 251: 151-7.

Onuma K, Watanabe M, Sasaki N. The grimace scale: a useful tool for assessing pain in laboratory animals. *Exp Anim* 2024; 73: 234-45.

Palme R, Fischer P, Schildorfer H, Ismail MN. Excretion of infused ¹⁴C-steroid hormones via faeces and urine in domestic livestock. *Animal Reproduction Science* 1996; 43: 43-63.

Pasquarelli N, Voehringer P, Henke J, Ferger B. Effect of a change in housing conditions on body weight, behavior and brain neurotransmitters in male C57BL/6J mice. *Behav Brain Res* 2017; 333: 35-42.

Pastrick A, Diaz M, Adaya G, Montinola V, Arzbecker M, Joye DAM, Evans JA. Biological Sex Influences Daily Locomotor Rhythms in Mice Held Under Different Housing Conditions. *J Biol Rhythms* 2024; 39: 351-64.

Percie du Sert N, Hurst V, Ahluwalia A, Alam S, Avey MT, Baker M, Browne WJ, Clark A, Cuthill IC, Dirnagl U, Emerson M, Garner P, Holgate ST, Howells DW, Karp NA, Lazic SE, Lidster K, MacCallum CJ, Macleod M, Pearl EJ, Petersen OH, Rawle F, Reynolds P, Rooney K, Sena ES, Silberberg SD, Steckler T, Würbel H. The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. *PLoS Biol* 2020; 18: e3000410.

Pereira C, Kunczik J, Bleich A, Haeger C, Kiessling F, Thum T, Tolba R, Lindauer U, Treue S, Czaplik M. Perspective review of optical imaging in welfare assessment in animal-based research. *J Biomed Opt* 2019; 24: 1-11.

Pereira CB, Kunczik J, Zieglowski L, Tolba R, Abdelrahman A, Zechner D, Vollmar B, Janssen H, Thum T, Czaplik M. Remote Welfare Monitoring of Rodents Using Thermal Imaging. *Sensors (Basel)* 2018; 18.

Pernold K, Iannello F, Low BE, Rigamonti M, Rosati G, Scavizzi F, Wang J, Raspa M, Wiles MV, Ulfhake B. Towards large scale automated cage monitoring - Diurnal rhythm and impact of interventions on in-cage activity of C57BL/6J mice recorded 24/7 with a non-disrupting capacitive-based technique. *PLoS One* 2019; 14: e0211063.

Pichl A, Ranisch R, Altinok OA, Antonakaki M, Barnhart AJ, Bassil K, Boyd JL, Chinaia AA, Diner S, Gaillard M, Greely HT, Jowitt J, Kreitmair K, Lawrence D, Lee TN, McKeown A, Sachdev V, Schick Tanz S, Sugarman J, Trettenbach K, Wiese L, Wolff H, Árnason G. Ethical, legal and social aspects of human cerebral organoids and their governance in Germany, the United Kingdom and the United States. *Front Cell Dev Biol* 2023; 11: 1194706.

Poh WT, Stanslas J. The new paradigm in animal testing - "3Rs alternatives". *Regul Toxicol Pharmacol* 2024; 153: 105705.

R Core Team (2023) R: A Language and Environment for Statistical Computing R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

R Core Team (2024) R: A Language and Environment for Statistical Computing R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

Rajendram EA, Brain PF, Parmigiani S, Mainardi M. Effects of ambient temperature on nest construction in four species of laboratory rodents. *Bollettino di zoologia* 1987; 54: 75-81.

Reiber M, von Schumann L, Buchecker V, Boldt L, Gass P, Bleich A, Talbot SR, Potschka H. Evidence-based comparative severity assessment in young and adult mice. *PLoS One* 2023; 18: e0285429.

Reiber M, Stirling H, Ahuis TP, Arias W, Aulehner K, Dreßler U, Kas MJH, Kela J, Kerker K, Kuosmanen T, Lorenz H, Pennington AT, von Rüden EL, Schauerte H, Seiffert I, Talbot SR, Torturo C, Virtanen S, Waldron AM, Ramboz S, Potschka H. A systematic assessment of robustness in CNS safety pharmacology. *Br J Pharmacol* 2025; 182: 530-45.

Reijgwart ML, Schoemaker NJ, Pascuzzo R, Leach MC, Stodel M, de Nies L, Hendriksen CFM, van der Meer M, Vinke CM, van Zeeland YRA. The composition and initial evaluation of a grimace scale in ferrets after surgical implantation of a telemetry probe. *PLoS One* 2017; 12: e0187986.

Robertson TL, Ellis M, Bratcher-Petersen N, Ruidiaz ME, Harada K, Toburen D, Oberhauser JP, Grzenda D, Peltier NE, Raza M, Benway J, Kiros J, Kumar V. An integrated and scalable rodent cage system enabling continuous computer vision-based behavioral analysis and AI-enhanced digital biomarker development. *bioRxiv* 2025: 2024.12.18.629281.

Roux S, Sablé E, Porsolt RD. Primary observation (Irwin) test in rodents for assessing acute toxicity of a test agent and its effects on behavior and physiological function. *Curr Protoc Pharmacol* 2005; Chapter 10: Unit 10.

Russell WMS, Burch RL (1959) The principles of humane experimental technique. Methuen.

Salem G, Krynitsky J, Kirkland B, Lin L, Chan A, Anfinrud S, Anderson S, Garmendia-Cedillos M, Belayachi R, Alonso-Cruz J, Yu J, Iano-Fletcher A, Dold G, Talbot T, Kravitz A, Mitchell J, Wu G, Dennis J, Hayes M, Branson K, Pohida T (2016) Scalable Vision System for Mouse Homecage Ethology. In: International Conference on Advanced Concepts for Intelligent Vision Systems 2016, Lecture Notes in Computer Science 10016. Ed J. Blanc-Talon et al. Springer International Publishing AG. 626-37.

Salem G, Cope N, Garmendia M, Pu A, Somenhalli A, Krynitsky J, Cubert N, Jones T, Dold G, Fletcher A, Kravitz A, Pohida T, Dennis J. MouseVUER: video based open-source system for laboratory mouse home-cage monitoring. *Scientific Reports* 2024; 14: 2662.

Salem GH, Dennis JU, Krynitsky J, Garmendia-Cedillos M, Swaroop K, Malley JD, Pajevic S, Abuhatzira L, Bustin M, Gillet JP, Gottesman MM, Mitchell JB, Pohida TJ. SCORHE: a novel and practical approach to video monitoring of laboratory mice housed in vivarium cage racks. *Behav Res Methods* 2015; 47: 235-50.

Sanchez-Alavez M, Alboni S, Conti B. Sex- and age-specific differences in core body temperature of C57Bl/6 mice. *Age (Dordr)* 2011; 33: 89-99.

Schauberger P, Walker A. openxlsx: Read, Write and Edit xlsx Files. R package version 4.2.8, <https://github.com/ycphs/openxlsx>. Comprehensive R Archive Network (CRAN), 2025.

Schreiber T, Koopmann I, Brandstetter J, Talbot SR, Goldstein L, Hoffmann L, Schildt A, Joks M, Krause B, Jaster R, Palme R, Zechner D, Vollmar B, Kumstel S. Evidence-Based Severity Assessment of Animal Models for Pancreatic Cancer. *Biomedicines* 2024; 12.

Schwabe K, Boldt L, Bleich A, van Dijk RM, Helgers SOA, Häger C, Nowakowska M, Riedesel AK, Schönhoff K, Struve B, Wittek J, Potschka H. Nest-building performance in rats: impact of vendor, experience, and sex. *Lab Anim* 2020; 54: 17-25.

Schweitzer A (1923) *Civilization and Ethics*. A. & C. Black, London.

Seiffert I, van Dijk RM, Koska I, Di Liberto V, Möller C, Palme R, Hellweg R, Potschka H. Toward evidence-based severity assessment in rat models with repeated seizures: III. Electrical post-status epilepticus model. *Epilepsia* 2019; 60: 1539-51.

Shemesh Y, Sztainberg Y, Forkosh O, Shlapobersky T, Chen A, Schneidman E. High-order social interactions in groups of mice. *Elife* 2013; 2: e00759.

Sherwin CM. Observations on the prevalence of nest-building in non-breeding TO strain mice and their use of two nesting materials. *Laboratory Animals* 1997; 31: 125-32.

Silbernagl S, Despopoulos A, Draguhn A (2018) Taschenatlas Physiologie. In: Herz und Kreislauf, 9., vollständig überarbeitete Auflage edn. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.

Singer P (1990) *Animal Liberation*, 2nd ed. Cape, London.

Singh S, Bermudez-Contreras E, Nazari M, Sutherland RJ, Mohajerani MH. Low-cost solution for rodent home-cage behaviour monitoring. *PLoS One* 2019; 14: e0220751.

Smith D, Anderson D, Degryse AD, Bol C, Criado A, Ferrara A, Franco NH, Gyertyan I, Orellana JM, Ostergaard G, Varga O, Voipio HM. Classification and reporting of severity experienced by animals used in scientific procedures: FELASA/ECLAM/ESLAV Working Group report. *Lab Anim* 2018; 52: 5-57.

Sorge RE, Martin LJ, Isbester KA, Sotocinal SG, Rosen S, Tuttle AH, Wieskopf JS, Acland EL, Dokova A, Kadoura B, Leger P, Mapplebeck JC, McPhail M, Delaney A, Wigerblad G, Schumann AP, Quinn T, Frasnelli J, Svensson CI, Sternberg WF, Mogil JS. Olfactory exposure to males, including men, causes stress and related analgesia in rodents. *Nat Methods* 2014; 11: 629-32.

Sotocinal SG, Sorge RE, Zaloum A, Tuttle AH, Martin LJ, Wieskopf JS, Mapplebeck JC, Wei P, Zhan S, Zhang S, McDougall JJ, King OD, Mogil JS. The Rat Grimace Scale: a partially automated method for quantifying pain in the laboratory rat via facial expressions. *Mol Pain* 2011; 7: 55.

Souza TKF, Nucci MP, Mamani JB, da Silva HR, Fantacini DMC, de Souza LEB, Picanço-Castro V, Covas DT, Vidoto EL, Tannús A, Gamarra LF. Image and motor behavior for monitoring tumor growth in C6 glioma model. *PLoS One* 2018; 13: e0201453.

Spackman DH, Riley V. Corticosterone concentrations in the mouse. *Science* 1978; 200: 87.

Stewart LS, Leung LS. Temporal lobe seizures alter the amplitude and timing of rat behavioral rhythms. *Epilepsy Behav* 2003; 4: 153-60.

Strech D, Dirnagl U. 3Rs missing: animal research without scientific value is unethical. *BMJ Open Science* 2019; 3.

Sündermann NE, Lampe M, Kah J. Digitalisierung und künstliche Intelligenz in der Tierhaltung. *Die Fachzeitschrift der berliner kompaktkurse - Versuchstierkunde kompakt* 12/24 2024: 10-7.

Swan J, Boyer S, Westlund K, Bengtsson C, Nordahl G, Törnqvist E. Decreased levels of discomfort in repeatedly handled mice during experimental procedures, assessed by facial expressions. *Front Behav Neurosci* 2023; 17: 1109886.

Swoap SJ, Overton JM, Garber G. Effect of ambient temperature on cardiovascular parameters in rats and mice: a comparative approach. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 2004; 287: R391-R6.

Talbot SR, Biernot S, Bleich A, van Dijk RM, Ernst L, Häger C, Helgers SOA, Koegel B, Koska I, Kuhla A, Miljanovic N, Müller-Graff F-T, Schwabe K, Tolba R, Vollmar B, Weegh N, Wölk T, Wolf F, Wree A, Ziegowski L, Potschka H, Zechner D. Defining body-weight reduction as a humane endpoint: a critical appraisal. *Laboratory Animals* 2020; 54: 99-110.

Talbot SR, Struve B, Wassermann L, Heider M, Weegh N, Knappe T, Hofmann MCJ, von Knethen A, Jirkof P, Häger C, Bleich A. RELSA-A multidimensional procedure for the comparative assessment of well-being and the quantitative determination of severity in experimental procedures. *Front Vet Sci* 2022; 9: 937711.

Talbot SR, Kumstel S, Schulz B, Tang G, Abdelrahman A, Seume N, Wendt EHU, Eichberg J, Häger C, Bleich A, Vollmar B, Zechner D. Robustness of a multivariate composite score when evaluating distress of animal models for gastrointestinal diseases. *Sci Rep* 2023; 13: 2605.

Tang X, Orchard SM, Liu X, Sanford LD. Effect of varying recording cable weight and flexibility on activity and sleep in mice. *Sleep* 2004; 27: 803-10.

Tanguy S, Cambier A, Fontana-Pires L, Flenet T, Eynard C, Fontecave-Jalon J, Gumery PY, Boucher F. Jacketed telemetry in rats: a novel non-invasive method for cardiorespiratory phenotyping during treadmill exercise. *Lab Anim* 2025; 59: 215-25.

Tannenbaum J, Bennett BT. Russell and Burch's 3Rs then and now: the need for clarity in definition and purpose. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 2015; 54: 120-32.

Tappe-Theodor A, Kuner R. Studying ongoing and spontaneous pain in rodents--challenges and opportunities. *Eur J Neurosci* 2014; 39: 1881-90.

Tecott LH, Nestler EJ. Neurobehavioral assessment in the information age. *Nat Neurosci* 2004; 7: 462-6.

The Jackson Laboratory. JAX Envision™ Software – Empowered Digital In Vivo Monitoring and Analytics. 2025a: <https://www.jax.org/envision>. 08.06.2025.

The Jackson Laboratory. Envision™: A New Paradigm Toward Rigorous Understanding of Mouse Behavior and Physiology. 2025b: <https://resources.jax.org/jax-on-demand/envision-a-new-paradigm-toward-rigorous-understanding-of-mouse-behavior-and-physiology-02252025>. 08.06.2025.

Thireau J, Zhang BL, Poisson D, Babuty D. Heart rate variability in mice: a theoretical and practical guide. *Experimental Physiology* 2008; 93: 83-94.

Toledo M, Busquets S, Sirisi S, Serpe R, Orpí M, Coutinho J, Martínez R, López-Soriano FJ, Argilés JM. Cancer cachexia: physical activity and muscle force in tumour-bearing rats. *Oncol Rep* 2011; 25: 189-93.

Touma C, Sachser N, Möstl E, Palme R. Effects of sex and time of day on metabolism and excretion of corticosterone in urine and feces of mice. *Gen Comp Endocrinol* 2003; 130: 267-78.

Touma C, Palme R, Sachser N. Analyzing corticosterone metabolites in fecal samples of mice: a noninvasive technique to monitor stress hormones. *Horm Behav* 2004; 45: 10-22.

Touma C, Palme R. Measuring fecal glucocorticoid metabolites in mammals and birds: the importance of validation. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1046: 54-74.

Turner PV, Pang DS, Lofgren JL. A Review of Pain Assessment Methods in Laboratory Rodents. *Comp Med* 2019; 69: 451-67.

Tuttle AH, Molinaro MJ, Jethwa JF, Sotocinal SG, Prieto JC, Styner MA, Mogil JS, Zylka MJ. A deep neural network to assess spontaneous pain from mouse facial expressions. *Mol Pain* 2018; 14: 1744806918763658.

Ullman-Cullere MH, Foltz CJ. Body condition scoring: a rapid and accurate method for assessing health status in mice. *Lab Anim Sci* 1999; 49: 319-23.

van Dijk RM, Koska I, Bleich A, Tolba R, Seiffert I, Möller C, Di Liberto V, Talbot SR, Potschka H. Design of composite measure schemes for comparative severity assessment in animal-based neuroscience research: A case study focussed on rat epilepsy models. *PLoS One* 2020; 15: e0230141.

Veening JG, Bouwknecht JA, Joosten HJ, Dederen PJ, Zethof TJ, Groenink L, van der Gugten J, Olivier B. Stress-induced hyperthermia in the mouse: c-fos expression, corticosterone and temperature changes. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2004; 28: 699-707.

Verwey M, Robinson B, Amir S. Recording and analysis of circadian rhythms in running-wheel activity in rodents. *J Vis Exp* 2013.

ViewPoint Behavior Technology. Rodents behavior monitoring - PhenoRack. 2025: <https://www.viewpoint.fr/product/rodent/rodents-behavior-monitoring/phenorack>. 07.06.2025.

Voikar V, Gaburro S. Three pillars of automated home-cage phenotyping of mice: novel findings, refinement, and reproducibility based on literature and experience. *Frontiers in behavioral neuroscience* 2020; 14: 575434.

Vu PA, Tucker LB, Liu J, McNamara EH, Tran T, Fu AH, Kim Y, McCabe JT. Transient disruption of mouse home cage activities and assessment of orexin immunoreactivity following concussive- or blast-induced brain injury. *Brain Res* 2018; 1700: 138-51.

Weich K, Hohlbaum K, Zintzsch A. Belastungsbeurteilung im Tierversuch – ist das eigentlich ethisch? Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift 2020; 133.

Weinert D, Waterhouse J. Diurnally changing effects of locomotor activity on body temperature in laboratory mice. *Physiol Behav* 1998; 63: 837-43.

Whittaker AL, Liu Y, Barker TH. Methods Used and Application of the Mouse Grimace Scale in Biomedical Research 10 Years on: A Scoping Review. *Animals (Basel)* 2021; 11.

Wickham H, Averick M, Bryan J, Chang W, D'Agostino McGowan L, François R, Grolemund G, Hayes A, Henry L, Hester J, Kuhn M, Lin Pedersen T, Miller E, Milton Bache S, Müller K, Ooms J, Robinson D, Seidel D, Spinu V, Takahashi K, Vaughan D, Wilke C, Woo K, Yutani H. Welcome to the Tidyverse. *Journal of Open Source Software* 2019; 4: 1686.

Williams WO, Baneux P. Humane Intervention Points: Refining endpoint terminology to incorporate non-euthanasia intervention options to improve animal welfare and preserve experimental outcomes. *Lab Anim* 2022; 56: 482-9.

Willigenburg NW, Poolman RW. The difference between statistical significance and clinical relevance. The case of minimal important change, non-inferiority trials, and smallest worthwhile effect. *Injury* 2023; 54 Suppl 5: 110764.

Zechner D, Schulz B, Tang G, Abdelrahman A, Kumstel S, Seume N, Palme R, Vollmar B. Generalizability, Robustness and Replicability When Evaluating Wellbeing of Laboratory Mice with Various Methods. *Animals (Basel)* 2022; 12.

Zentrich E, Talbot SR, Bleich A, Häger C. Automated Home-Cage Monitoring During Acute Experimental Colitis in Mice. *Front Neurosci* 2021; 15: 760606.

Zieglowski L, Kümmecke A, Ernst L, Schulz M, Talbot SR, Palme R, Czaplik M, Tolba RH. Severity assessment using three common behavioral or locomotor tests after laparotomy in rats: a pilot study. *Lab Anim* 2020; 54: 525-35.

Zieglowski L, Kümmecke AM, Ernst L, Palme R, Weiskirchen R, Talbot SR, Tolba RH. Assessing the severity of laparotomy and partial hepatectomy in male rats-A multimodal approach. *PLoS One* 2021; 16: e0255175.

X. ANHANG

1. Abbildungsverzeichnis

<i>Abbildung 1: Studiendesign zur Validierung eines kamerabasierten Heimkäftigmonitoringsystems</i>	<i>76</i>
<i>Abbildung 2: ETA-F10 Telemetrietransmitter der Firma DSI (Data Science International, St. Paul, MN, USA)</i>	<i>85</i>
<i>Abbildung 3: R-Zacken Detektion nach Anwendung des EKG-Analyse-Moduls in Ponemah® 6.60.....</i>	<i>87</i>
<i>Abbildung 4: Darstellung von bad data marks (rot gestrichelte Linien) im EKG-Analyse-Modul</i>	<i>88</i>
<i>Abbildung 5: Einstellungen im EKG-Analyse-Modul zur individuellen R-Zacken-Detektion</i>	<i>88</i>
<i>Abbildung 6: Darstellung von bad data marks (rot gestrichelte Linien) im Temperatur-Analyse-Modul.....</i>	<i>90</i>
<i>Abbildung 7: Effektstärken - Intraperitoneale Transmitterimplantation bei Mäusen</i>	<i>106</i>
<i>Abbildung 8: Effektstärken - Subkutane Transmitterimplantation bei Mäusen..</i>	<i>106</i>
<i>Abbildung 9: Effektstärken - Partielle Hepatektomie bei Ratten.....</i>	<i>108</i>
<i>Abbildung 10: Effektstärken - Pankreaskarzinom bei Mäusen.....</i>	<i>109</i>
<i>Abbildung 11: Effektstärken - Chemisch induziertes Post-Status-Epilepticus-Modell bei Ratten.....</i>	<i>110</i>
<i>Abbildung 12: Effektstärken - Elektrisch induziertes Post-Status-Epilepticus-Modell bei Ratten.....</i>	<i>111</i>
<i>Abbildung 13: Effektstärken - Amygdala-Kindling-Modell bei Ratten.....</i>	<i>112</i>
<i>Abbildung 14: Effektstärken - Intrakranielles Gliom bei Ratten (Humaner Endpunkt)</i>	<i>113</i>
<i>Abbildung 15: Effektstärken - Nicht-kabelgebundene vs. kabelgebundene Aufzeichnungen bei Ratten.....</i>	<i>114</i>
<i>Abbildung 16: Effektstärken - Chemisch induziertes Post-Status-Epilepticus-Modell bei Mäusen.....</i>	<i>121</i>
<i>Abbildung 17: Effektstärken - Chemisch induziertes Post-Status-Epilepticus-Modell bei Ratten.....</i>	<i>122</i>

<i>Abbildung 18: Effektstärken - Elektrisch induziertes Post-Status-Epilepticus-Modell bei Ratten.....</i>	<i>123</i>
<i>Abbildung 19: Effektstärken - Amygdala-Kindling-Modell bei Ratten.....</i>	<i>125</i>
<i>Abbildung 20: Herzfrequenz und NN-Intervall.....</i>	<i>135</i>
<i>Abbildung 21: Herzfrequenz</i>	<i>136</i>
<i>Abbildung 22: NN-Intervall</i>	<i>137</i>
<i>Abbildung 23: Herzratenvariabilitätsparameter SDNN und RMSSD</i>	<i>140</i>
<i>Abbildung 24: Herzratenvariabilitätsparameter NN6 und pNN6.....</i>	<i>141</i>
<i>Abbildung 25: Herzratenvariabilitätsparameter SDNN</i>	<i>142</i>
<i>Abbildung 26: Herzratenvariabilitätsparameter RMSSD.....</i>	<i>143</i>
<i>Abbildung 27: Herzratenvariabilitätsparameter NN6.....</i>	<i>144</i>
<i>Abbildung 28: Herzratenvariabilitätsparameter pNN6.....</i>	<i>145</i>
<i>Abbildung 29: Aktivität</i>	<i>148</i>
<i>Abbildung 30: Aktivität</i>	<i>149</i>
<i>Abbildung 31: Temperatur.....</i>	<i>151</i>
<i>Abbildung 32: Temperatur.....</i>	<i>152</i>
<i>Abbildung 33: Körpergewicht.....</i>	<i>155</i>
<i>Abbildung 34: Rektaltemperatur.....</i>	<i>157</i>
<i>Abbildung 35: Nestbauverhalten</i>	<i>160</i>
<i>Abbildung 36: Neuro-Score</i>	<i>162</i>
<i>Abbildung 37: MGS</i>	<i>164</i>
<i>Abbildung 38: Harmonisierter klinischer Score</i>	<i>167</i>
<i>Abbildung 39: FCM</i>	<i>170</i>
<i>Abbildung 40: Aktivitätsdaten - Subkutane Transmitterimplantation bei Mäusen</i>	<i>247</i>
<i>Abbildung 41: Aktivitätsdaten - Partielle Hepatektomie bei Ratten.....</i>	<i>248</i>

2. Tabellenverzeichnis

<i>Tabelle 1: Übersicht zu den in den Aktivitätsanalysen berücksichtigten Studien inklusive rechtlicher Aspekte sowie zugrundeliegender Förderungen</i>	<i>63</i>
<i>Tabelle 2: Übersicht zu methodischen Details der verwendeten Tiere, zur Haltung und Pflege der Tiere und zu den Kategorien der Referenzdaten der in den Aktivitätsanalysen berücksichtigten Studien</i>	<i>65</i>
<i>Tabelle 3: Übersicht zu methodischen Details der klinischen Scoring-Systeme der</i>	

<i>in den Aktivitätsanalysen berücksichtigten Studien</i>	67
<i>Tabelle 4: Übersicht zu methodischen Details der Telemetrieaufzeichnungen der in den Aktivitätsanalysen berücksichtigten Studien</i>	70
<i>Tabelle 5: Bewertungsbogen für den harmonisierten klinischen Score</i>	99
<i>Tabelle 6: Effektstärken der telemetrisch erfassten Dunkelphasenaktivität basierend auf Vergleichen mit Daten von Referenztagen</i>	115
<i>Tabelle 7: Effektstärken der mit klinischen Scoring-Systemen erfassten Aktivität basierend auf Vergleichen mit Daten von Referenztagen</i>	118
<i>Tabelle 8: Effektstärken der telemetrisch erfassten Hell- und Dunkelphasenaktivität basierend auf Vergleichen mit Daten von einer Referenzgruppe</i>	126
<i>Tabelle 9: Effektstärken der mit klinischen Scoring-Systemen erfassten Aktivität basierend auf Vergleichen mit Daten von einer Referenzgruppe</i>	128
<i>Tabelle 10: Direktionalität der mit aktivitäts-assoziierten Parametern erfassten Aktivität basierend auf Vergleichen mit Daten von Referenztagen</i>	129
<i>Tabelle 11: Direktionalität der mit aktivitäts-assoziierten Parametern erfassten Aktivität basierend auf Vergleichen mit Daten von einer Referenzgruppe</i>	132
<i>Tabelle 12: Herzfrequenz und NN-Intervall</i>	138
<i>Tabelle 13: Herzratenvariabilitätsparameter SDNN und RMSSD</i>	146
<i>Tabelle 14: Herzratenvariabilitätsparameter NN6 und pNN6</i>	147
<i>Tabelle 15: Aktivität</i>	150
<i>Tabelle 16: Temperatur</i>	153
<i>Tabelle 17: Körpergewicht</i>	156
<i>Tabelle 18: Rektaltemperatur</i>	158
<i>Tabelle 19: Nestbauverhalten</i>	161
<i>Tabelle 20: Neuro-Score</i>	163
<i>Tabelle 21: Anzahl der Tiere, die individuelle Scores der Neuro-Score-Parameter erreichten</i>	163
<i>Tabelle 22: MGS</i>	165
<i>Tabelle 23: Übersicht zu den Fällen, in denen MGS-action units oder Bilder nicht evaluiert werden konnten</i>	166
<i>Tabelle 24: Harmonisierter klinischer Score</i>	168
<i>Tabelle 25: Anzahl der Tiere, die individuelle Scores bei Parametern des harmonisierten klinischen Scores erreichten</i>	169
<i>Tabelle 26: FCM</i>	170

<i>Tabelle 27: Übersicht Geräte</i>	<i>240</i>
<i>Tabelle 28: Übersicht Software</i>	<i>241</i>
<i>Tabelle 29: Übersicht Medikamente und Substanzen</i>	<i>242</i>
<i>Tabelle 30: Erläuterung der Einzelparameter des Neuro-Scores</i>	<i>244</i>
<i>Tabelle 31: Aktivitätsdaten der klinischen Scores</i>	<i>248</i>

3. Geräte

Tabelle 27: Übersicht Geräte

Geräte	Hersteller
Acorn® Temp JKT Thermocouple Thermometer	Oakton, Vernon Hills, IL, USA
Analysenwaage ATILON ATL-2202-I	Acculab, Edgewood, NY, USA
Analysenwaage CPA124S-0CE	Sartorius Weighing Technology GmbH, Göttingen, Deutschland
Cisco Small Business Switch	Data Sciences International, St. Paul, MN, USA
Externe Festplatten (WD Elements™ Portable 2 TB)	Western Digital Corporation, San José, CA, USA
Luxmeter (Light meter, MS 1300, Voltcraft®)	Conrad Electronic SE, Hirschau, Deutschland
Matrix MX 2.0	Data Sciences International, St. Paul, MN, USA
Personal Computer	Diverse
Raspberry Pi 4 Model B	Raspberry PI Foundation, Cambridge, England
Receiver RPC-1	Data Sciences International, St. Paul, MN, USA
Schüttler (Unimax 1010)	Heidolph Scientific Products GmbH, Schwabach, Deutschland
Tischwaage FCB 3KO.1	Kern & Sohn GmbH, Balingen, Deutschland
Transmitter ETA-F10	Data Science International, St. Paul, MN, USA
(Video-) Kameras	FLIR BOSON 320 50° FOV, Teledyne FLIR LLC, Wilsonville, OR, USA; FLIR Lepton 3.5, Teledyne FLIR LLC, Wilsonville, OR, USA; Lumix DMC-LF1, Panasonic Corporation, Kadoma, Japan;

	Pi Camera Module 2 NoIR (3 Stück), Raspberry PI Foundation, Cambridge, England; Spiegelreflexkamera EOS 800D Digitalkamera + EF-S 18-55 mm f/4-5,6 IS STM Objektiv, Canon Inc., Tokyo, Japan
Wärmematte (RightTemp® JR)	Kent Scientific Corporation, Torrington, CT, USA
Wärmeschrank (Typ U30)	Memmert, Schwabach, Deutschland
Zentrifuge (MIKRO 200)	Andreas Hettich GmbH, Tuttlingen, Deutschland

4. Software

Tabelle 28: Übersicht Software

Software	Hersteller
GraphPad Prism 10 (GraphPad Software, Version 10.4.1 (627), 64 Bit)	GraphPad Software, Boston, MA, USA; RRID:SCR_002798
Kompressionstool für die Daten der Pi-Kameras	Kooperationspartner: Priv.-Doz. Dr. med. Michael Czaplík, Klinik für Anästhesiologie, Universitätsklinikum Aachen
Microsoft 365 MSO, Version 2503 Build 16.0.18623.20266, 64 Bit für Windows	Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA
MGS-Tool für die Bildverarbeitung und das Scoren	Kooperationspartner: Prof. Dr.-Ing. Dorit Merhof, Lehrstuhl für Bildverarbeitung, RWTH Aachen
Ponemah® 5.20 und 6.60	Data Sciences International, St. Paul, MN, USA; RRID:SCR_017107
R Version 4.3.2 und 4.3.3	(R CORE TEAM, 2023, 2024)

R-packages:	
1) Effectsize	1) (BEN-SHACHAR et al., 2020)
2) gridExtra	2) (AUGUIE und ANTONOV, 2017)
3) openxlsx	3) (SCHAUBERGER und WALKER, 2025)
4) tidyverse	4) (WICKHAM et al., 2019)

Zur Literaturrecherche wurde z. T. ergänzend die kostenlose Basisversion von Elicit (Elicit Research PBC, Covina, CA, USA) verwendet. Des Weiteren wurden ChatGPT Version 3.5 (OpenAI, San Francisco, CA, USA) oder Copilot (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA) für die Umformulierung vereinzelter Sätze und zur Anpassung der im Rahmen dieser Dissertation verwendeten R-Skripte verwendet.

5. Medikamente und Substanzen

Tabelle 29: Übersicht Medikamente und Substanzen

Medikamente	Hersteller
Aqua iniectabilia	B. Braun SE, Melsungen, Deutschland
Bepanthen® Augen- und Nasensalbe	Bayer Vital GmbH, Leverkusen, Deutschland
Bupivacain (Carbostesin 0,25 %ige Injektionslösung)	Aspen Germany GmbH, München, Deutschland
Carprofen (Rimadyl® 50 mg/ml Injektionslösung für Hunde und Katzen)	Zoetis Deutschland GmbH, Berlin, Deutschland
Isofluran CP® (Isofluran 1 ml/ml)	CP-Pharma Handelsgesellschaft mbH, Burgdorf, Deutschland
Natriumchlorid-Lösung, isoton	B. Braun SE, Melsungen, Deutschland
Octenisept®	Schülke & Mayr GmbH, Norderstedt, Deutschland
Pentobarbital (Narkodorm®)	CP-Pharma Handelsgesellschaft mbH, Burgdorf, Deutschland
Ringer-Laktat-Infusionslösung	B. Braun SE, Melsungen, Deutschland

Substanzen	Hersteller
Actril®, cold sterilant	Medivators Inc., Minneapolis, MN, USA
Methanol $\geq 99,5$ %	VWR International S.A.S., Briare, Frankreich

6. Neuro-Score

Tabelle 30: Erläuterung der Einzelparameter des Neuro-Scores

Parameter	Score	Erläuterung
Adspektion im Heimkäfig		
Körperlage	-2	Flach, liegend auf der Seite oder auf dem Bauch, kein Muskeltonus
	-1	Teilweise konservierter Muskeltonus, gelegentliche posturale Korrekturen
	0	Normale Haltung
	1	Starre oder verkrampfte Haltung (z. B. Opisthotonus)
	2	Tiere zeigen keine Ruheposition, können daher nicht ausgewertet werden
Beckenhöhe	-1	Abgeflacht
	0	Kaum verändert
	1	Etwas erhöht
Schwanzhöhe	-1	Nachschleifen des Schwanzes beim Gehen
	0	Normale Schwanzposition
	1	Aufgestellter Schwanz (max. 90 ° Winkel) während Ruhe und Aktivitätsperiode, teilweise Schwanzschlagen
	2	Schwanz über dem Körper aufgestellt (Straub-Phänomen)
Beinrotation (nach außen)	0	Nicht vorhanden
	1	Leicht
	2	Deutlich
Lokomotorische Aktivität	-2	Keine Aktivität
	-1	Verminderte Bewegung, gelegentliches Putzverhalten
	0	Normale Aktivität
	1	Erhöhte, kraftvolle, winklige Bewegungen
	2	Ruheloser Bewegungstyp
Ptoxis (zu unterscheiden von Kneifen der Augen)	0	Augenlider geöffnet
	1	Augenlider partiell geöffnet
	2	Augenlider geschlossen
Exophthalmus	0	Kein Exophthalmus
	1	Leichter Exophthalmus
	2	Ausgeprägter Exophthalmus
Lakrimation	0	Nicht vorhanden
	2	Vorhanden
Hypersalivation	0	Nicht vorhanden
	1	Vorhanden
Atemfrequenz	-2	Schnappatmung, akute Atemnot
	-1	Verminderte, unregelmäßige, angespannte Atmung
	0	Normale Atmung
	1	Erhöhte Atemfrequenz
	2	Erhöhte Atemfrequenz, aber auch während der Ruheperiode

Piloerektion	0	Nicht vorhanden
	2	Vorhanden
Hautdurchblutung	-2	Schwanz und Pfoten bläulich verfärbt: Zyanose
	-1	Fast weiße Ohrmuschel, Pfoten oder Schwanz mit kaum sichtbaren Gefäßen
	0	Normale Hautdurchblutung
	1	Pfoten dunkelrosa, Schwanz stark hellrosa
	2	Pfoten, Ohrmuschel oder Schwanz rot
Ataxie	0	Keine Ataxie
	1	Koordinationsprobleme beim Laufen
	2	Verlust der Bewegungskoordination
Stereotypien	0	Nicht vorhanden
	2	Vorhanden
Freezing	0	Kein Freezing
	1	Leichtes Freezing sichtbar
	2	Deutliches, abruptes Freezing
Zittern	0	Nicht vorhanden
	2	Vorhanden
Zuckungen	0	Nicht vorhanden
	2	Vorhanden
Krämpfe	0	Nicht vorhanden
	2	Vorhanden
Vokalisation (ohne Handling)	0	Keine Vokalisation
	1	Zeitweise spontan auftretendes, leises Piepsen
	2	Häufiges spontan auftretendes, stärkeres Piepsen
Fäzes	-1	Kein oder kaum Kot im Käfig
	0	Kotbeschaffenheit und Menge normal
	1	Kotmenge deutlich erhöht
	2	Fast flüssiger Kot, Durchfall
Implantatbereich	-2	Hochgradige nekrotische Veränderungen im Implantatbereich
	-1	Leichte nekrotische Veränderungen im
	0	Unauffälliger Implantatbereich
	1	Kleine Entzündung im Implantatbereich
	2	Hochgradige Entzündung im Implantatbereich
Nach Herausnahme der Käfigschale aus dem Smart-Homecage-System		
Neugier (auf präsentieren eines Objektes (z. B. Stift) ca. 3 cm vor der Nase)	-2	Keine Reaktion
	-1	Verminderte Neugier
	0	Normal, Interesse an präsentiertem Objekt
	1	Ruckartige Verfolgung, keine Anpassung auch bei wiederholtem Entzug
	2	Angriffsverhalten
Berührungsreaktion (auf dreimal leichtes Streichen über den Rücken)	-2	Ausfall, auch stärkere Reize bleiben ohne Reaktion
	-1	Nach mehrfachem oder verstärktem Stimulus langsame, abgeschwächte Reaktion (Ducken, Entweichen)
	0	Normale Reaktion auf leichte Berührung
	1	Ausweichen oder Ducken auf leichte Berührung

	2	Flucht über größere Distanz, Angriffsverhalten, Vokalisierung auf leichte Berührung
Außerhalb des Käfigs (Fixation und Handling)		
Reizbarkeit (Beißneigung beim Handling)	0	Keine
	1	Leichte
	2	Deutlich
Körpertonus	-2	Völlig schlaff
	-1	Reduzierter Tonus
	0	Normaler Muskeltonus
	1	Erhöhter Tonus
	2	Steif
Bauchdeckenspannung	-1	Reduzierter Muskeltonus
	0	Normal
	1	Erhöhte Muskelspannung
Harnabsatz	0	Nicht vorhanden
	1	Vorhanden
Kotabsatz	0	Nicht vorhanden
	1	Vorhanden
Stellreflex (wenn das Tier kontinuierlich liegt)	-2	Nicht vorhanden
	-1	Reduziert
	0	Keine Änderung

7. Aktivitätsdaten für den retrospektiven Vergleich zwischen telemetrisch erfassten Aktivitätsdaten und klinischen Scoring-Systemen

Die für die retrospektiven Datenanalysen verwendeten telemetrisch erfassten Aktivitätsdaten können den originalen Publikationen entnommen werden. Entsprechende Referenzen finden sich in der Tabelle 1. Im Folgenden sind nur telemetrisch erfasste Aktivitätsdaten inkludierter Datensätze visualisiert, welche noch nicht publiziert wurden. Die Stichprobengröße pro Gruppe und Zeitpunkt, sowie eine entsprechende Abweichung, kann den in den Graphen individuell dargestellten Einzeltierwerten entnommen werden.

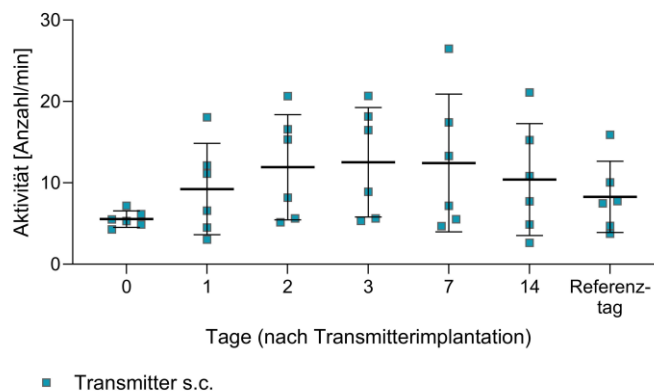


Abbildung 40: Aktivitätsdaten - Subkutane Transmitterimplantation bei Mäusen

Graphische Darstellung der mittleren telemetrisch erfassten Dunkelphasenaktivität ($M \pm SD$) nach subkutaner (s.c.) Transmitterimplantation bei Mäusen in Anzahl pro Minute je Experimentaltag. (Referenztag: postoperativer Tag 21).

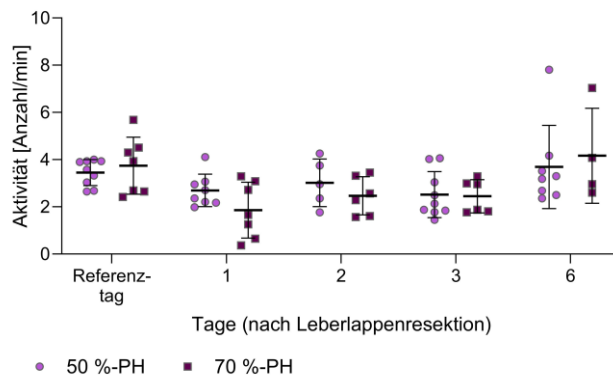


Abbildung 41: Aktivitätsdaten - Partielle Hepatektomie bei Ratten

Graphische Darstellung der mittleren telemetrisch erfassten Dunkelphasenaktivität ($M \pm SD$) nach 50 %iger oder 70 %iger partieller Hepatektomie (PH) bei Ratten in Anzahl pro Minute je Experimentaltag. (Referenztag: Tag -2 vor PH).

In der Tabelle 31 wurden die Daten zur Erfassung der aktivitäts-assoziierten Parameter der klinischen Scoring-Systeme der inkludierten Datensätze zusammengefasst.

Tabelle 31: Aktivitätsdaten der klinischen Scores

Tabellarische Darstellung der Anzahl der Tiere in den Experimentalgruppen, welche an Experimentaltagen eine aktivitäts-assoziierte Änderung im klinischen Score zeigten (inklusive Direktionalität der Veränderungen). In dieser Tabelle wurden lediglich inkludierte Modelle und Interventionen aufgeführt, bei denen an mindestens einem Zeitpunkt in mindestens einer Experimentalgruppe entsprechende Änderungen auftraten. Bei allen hier nicht aufgeführten inkludierten Modellen und Interventionen wurden entsprechende aktivitäts-assoziierte Änderungen zu keinem Zeitpunkt und in keiner Experimentalgruppe festgestellt. (* = Experimentaltage, an denen keine Änderungen der mit den klinischen Scoring-Systemen erfassten Aktivität auftraten und an denen der Stichprobenumfang entsprechend gleich ausfiel, wurden in einer Zeile zusammengefasst, RT = Referenztag).

Modell/ Intervention	Tag[e]*	Experimentalgruppe	Stichprobenumfang (n)	Anzahl der Tiere mit aktivitäts-assoziierten Veränderungen im klinischen Score	Direktionalität der aktivitäts-assoziierten Veränderungen
Partielle Hepatektomie (PH) (Ratte)	-2 (RT)	50 %-PH	10	0	↔
		70 % PH	7	0	↔
	1	50 %-PH	10	3	↓
		70 % PH	7	1	↓
	2	50 % PH	10	0	↔
		70 % PH	7	1	↓
	3, 6	50 % PH	10	0	↔

		70 % PH	7	0	↔
Pankreas-karzinom (Maus)	-1 (RT)	Pankreastumor	10	0	↔
	0	Pankreastumor	9	5	↓
	1, 2, 3	Pankreastumor	9	0	↔
	4, 18, 34	Pankreastumor	7	0	↔
Chemisch induziertes Post- Status-Epilepticus-Modell (Maus)	1	Kontrolle	8	0	↔
		Sham	8	0	↔
		Kainat SE	12	12	↓
	2, 3, 4, 14- 15, 28-19	Kontrolle	8	0	↔
		Sham	8	0	↔
		Kainat SE	12	0	↔
Intrakranielles Gliom (Ratte)	-17 (RT)	Gliom	7	0	↔
	-8, -7, -6, -5, -4, -3	Gliom	7	0	↔
	-2	Gliom	7	2	↓
	-1	Gliom	7	4	↓
	0 (Endpunkt)	Gliom	7	7	↓
↓ = reduzierte Aktivität; ↔ = keine Aktivitätsänderung					

8. R-Skripte

Die folgenden R-Skripte wurden mit Hilfe von M.D. PhD Daniel Perez-Perez erstellt oder angepasst:

Erstellung der LOESS-Regression inklusive der 95 % Konfidenzintervalle für telemetrisch erfasste Parameter

```
#Load packages
library("tidyverse")
library("gridExtra")
library("openxlsx")

#Remove old data from the environment
rm(list=ls())

#Set the working directory
setwd("")

theme_new <- function(){
  theme_bw() %+replace%
  theme(axis.line = element_line(colour = "black"),
        panel.grid.major = element_blank(),
        panel.grid.minor = element_blank(),
        legend.key = element_blank(),
        strip.background = element_blank(),
        #strip.text.x = element_blank(),
        plot.margin=margin(10,10,10,50))
}

#Load the data
d <- read.xlsx("") # add raw data path

#Day0
path <- "" #add raw data file name

#Change sheet number according to the day
data_day0 <- readxl::read_excel(path, sheet = 1) |>
  janitor::clean_names() |>
  pivot_longer(cols = -time_cet) |>
  mutate(exp_day = 0)

#Define the start and end time of the dark phase
dark_phase_start <- ymd_hms("yyyy-mm-dd 17:00:00")
dark_phase_end <- ymd_hms("yyyy-mm-dd 05:00:00")

#Set the limits for the x-axis
start_time <- ymd_hms("yyyy-mm-dd 07:00:00")
end_time <- ymd_hms("yyyy-mm-dd 07:00:00")

#Define the breaks and labels
breaks <- c(ymd_hms("yyyy-mm-dd 07:00:00"),
            ymd_hms("yyyy-mm-dd 17:00:00"),
```

```

      ymd_hms("yyyy-mm-dd 05:00:00"))
labels <- c("07:00Uhr", "17:00Uhr", "05:00Uhr")

p0 <- data_day0 |>
  ggplot(aes(x = time_cet, y = value)) +
  geom_rect(aes(xmin = dark_phase_start, xmax = dark_phase_end, ymin = -Inf, ymax =
Inf), fill = "grey80", alpha = 0.5) +
  geom_point(color = "lightsteelblue3") +
  geom_smooth(alpha=0.25, span = 0.15, method = "loess", fill = "grey20", color =
"navyblue") +
  facet_wrap(vars(exp_day), scales = "free") +

  #Start x-axis at 5:00am
  scale_x_datetime(limits = c(start_time, end_time), breaks = breaks, labels = labels,
expand = c(0, 0)) +
  #Scale and name y-axis (change according to needs for parameter)
  scale_y_continuous(limits = c(400, 800), name = "Herzfrequenz [Schläge/min]", expand
= c(0, 0)) +
  coord_cartesian(xlim = c(start_time, end_time), ylim = c(400, 800)) +
  #Name y- and x-axis (change according to needs for parameter)
  labs(title = NULL, y = "Herzfrequenz [Schläge/min]", x = "Tag 0") +
  theme_new()+
  theme(
    axis.text.x = element_text(size = 14, margin = margin(t = 8)),
    axis.text.y = element_text(size = 14),
    axis.title.y = element_text(size = 18),
    axis.title.x = element_text(size = 18, face = "bold"),
    strip.text = element_blank()
  )

#Save the plot as pdf and jpg file
setwd("") # Set the working directory
pdf(file=".pdf", width=15, height=16) #add output file name
grid.arrange(p, layout_matrix = matrix(c(1), ncol = 1))
dev.off()
jpeg(file = ".jpg", width = 1500, height = 1600, res = 300) #add output file name
grid.arrange(p, layout_matrix = matrix(c(1), ncol = 1))
dev.off()

## Repeat the steps for each day and parameter

```

Kalkulation der Effektstärke Cohen's h und der 95 % Konfidenzintervalle für die Daten der klinischen Scores im Vergleich zu einem Referenztag oder einer Referenzgruppe

```

#Load package
library("effectsize")

#Remove old data from the environment
rm(list = ls())

```

```
## Example on how to add the sample size to compare an intervention day vs. reference
day or group
```

```
##
```

```
## Response   Intervention day      Reference day/group
```

```
## Scored     Group A              Group C
```

```
## Non scored  Group B              Group D
```

```
## Day 1 after hepatectomy a total of 3 animals were scored in the 50 % PH group regarding
activity related changes within the clinical score while none were scored on the reference
day.
```

```
##
```

```
## Response   Day 1              Reference day
```

```
## Scored     3                  0
```

```
## Non scored      7                  10
```

```
##
```

```
##Add sample sizes according to the example above
```

```
result <- cohens_h(matrix(
```

```
  c(
```

```
    3, # Group A
```

```
    7, # Group B
```

```
    0, # Group C
```

```
    10), # Group D
```

```
  ncol = 2))
```

```
## Repeat the steps for each comparison
```

XI. PUBLIKATIONSLISTE

Teile dieser Dissertation wurden auf wissenschaftlichen Konferenzen vorgestellt:

Kontinuierliches Monitoring von Labornagern - Konzept für ein Smart-Homecage-System.

Buchecker V, **Lehmann M**, Mösch L, Breuer L, Bleich A, Czaplik M, Kopaczka M, Mededovic E, Barbosa Pereira C, Schulz M, Stegmaier J, Tolba R, Potschka H.; 29. Internationale Fachtagung zum Thema Tierschutz; München, Deutschland; 2024; Poster.

Continuous monitoring of laboratory rodents - a concept for a smart home-cage system.

Maihöfner M, Buchecker V, Mösch L, Breuer L, Bleich A, Czaplik M, Kopaczka M, Mededovic E, Munk A, Pereira CB, Schulz M, Stegmaier J, Tolba R, Potschka H; 33. VetPharm-Symposium; Leipzig, Deutschland; 2024; Poster.

XII. DANKSAGUNG

An erster Stelle möchte ich mich besonders bei meiner Doktormutter Prof. Dr. Heidrun Potschka bedanken, die mir diese Dissertation ermöglicht hat und mir damit diese spannenden Studien übertragen hat. Durch diese Chance konnte ich an den lehrreichen Herausforderungen wachsen und mich sowohl fachlich als auch persönlich weiterentwickeln. Vielen Dank für das in mich gesetzte Vertrauen und dafür, dass du dir stets Zeit für deine Doktoranden und Doktorandinnen nimmst. Zudem möchte ich mich für die Förderung meiner Fort- und Weiterbildung und insbesondere die übergangsweise Fortführung meiner Weiterbildung zum Fachtierarzt bedanken.

Außerdem möchte ich der DFG-Forschungsgruppe FOR 2591 für den stetigen Austausch und die spannenden Diskussionen danken. Insbesondere Dr. Anne Mallien, die sich zusätzlich stets um einen regen Austausch und Treffen der Jungwissenschaftler der Forschungsgruppe bemüht hat. Hiermit möchte ich mich auch bei der DFG für die Finanzierung bzw. Unterstützung dieser Projekte bedanken. Ebenso möchte ich mich bei allen weiteren Kooperationspartnern für die gute Zusammenarbeit bedanken.

Ein großer Dank gilt auch dem gesamten Team des Instituts. Ich hatte eine tolle Zeit mit allen und jeder einzelne des Teams hatte immer ein offenes Ohr.

Ich möchte mich ganz herzlich bei Dr. Verena Buchecker, Dr. Vanessa Philippi, Dr. Anna Munk und M.D. PhD Daniel Perez-Perez für die großartige Betreuung und kontinuierliche Unterstützung bei meinen Projekten bedanken. Danke, dass ich mich jederzeit an euch wenden durfte. Auf euch war immer Verlass und ich konnte mit euch jegliche Hürden überwinden. Dr. Verena Buchecker und Dr. Anna Munk möchte ich zusätzlich für das Korrekturlesen dieser Dissertation danken. Dr. Vanessa Philippi danke ich auch sehr für die Annahme meiner versuchstierkundlichen Weiterbildung. Ich möchte mich auch bei Dr. Maria Reiber bedanken, die stets bei fachlichen Fragen verfügbar war. Für die exzellente technische Unterstützung im Labor, der Hauswerkstatt und der Tierhaltung möchte ich mich insbesondere bei Lisa Cieslik, Sarah Glisic, Tamara Lindemann, Andreas Kutschka, Uwe Roßberg und Sabine Vican bedanken.

Ich möchte mich zudem innständig bei meinen lieben Mitdoktorandinnen bedanken. Ich weiß unseren Zusammenhalt, den gegenseitigen Support, die

schönen Gespräche und auch die zahlreichen Aktivitäten und Unternehmungen außerhalb der Arbeit sehr zu schätzen.

Des Weiteren möchte ich mich bei meinen Freunden bedanken. Danke für die Ablenkung und die Aufmunterung sowie für euer Verständnis und eure Rücksichtnahme.

Zudem möchte ich mich bei meinen Schwestern, meinen Eltern und Schwiegereltern bedanken, die mich immer unterstützt haben und mir Rückhalt gegeben haben. Meiner Schwägerin möchte ich vor allem für die Korrektur von Teilen meiner Dissertation danken. Zuletzt möchte ich meinem Ehemann danken, der mir immer den Rücken freigehalten hat. Du warst mein größter Unterstützer und Fels in der Brandung. Danke für dein Verständnis und deine Geduld.