

Kardiovaskuläre Phänotypisierung von Lipoma preferred  
partner-Knockoutmäusen

von Prisca Amayi Patricia Friede



Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde  
der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Kardiovaskuläre Phänotypisierung von Lipoma preferred  
partner-Knockoutmäusen

von Prisca Amayi Patricia Friede

aus Karlsruhe

München 2020



Aus dem Veterinärwissenschaftlichen Department der Tierärztlichen  
Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl für Anatomie, Histologie und Embryologie

Arbeit angefertigt unter der Leitung von:  
Priv.-Doz. Dr. Sven Reese

Angefertigt am Institut für Physiologie und Pathophysiologie  
Herz- und Kreislaufphysiologie  
der Universität Heidelberg

Mentor: Prof. Dr. Markus Hecker



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

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

Referent: Priv.-Doz. Dr. Sven Reese

Korreferent: Prof. Dr. Gerhard Wess

Tag der Promotion: 25. Juli 2020



Diese Arbeit widme ich allen wunderbaren Menschen, die auf ihre individuelle Weise  
mein Leben bereichern.



## INHALTSVERZEICHNIS

<b>I.</b>	<b>EINLEITUNG .....</b>	<b>1</b>
<b>II.</b>	<b>LITERATURÜBERSICHT .....</b>	<b>3</b>
<b>1.</b>	<b>Das kardiovaskuläre System .....</b>	<b>3</b>
1.1.	Das Herz.....	3
1.2.	Das Gefäßsystem.....	5
<b>2.</b>	<b>Biomechanik im kardiovaskulären System .....</b>	<b>6</b>
2.1.	Haemodynamische Kräfte im kardiovaskulären System .....	6
2.2.	Arterielle Hypertonie und DOCA-Salz .....	7
2.2.1.	Kardiale Umbauprozesse.....	8
2.2.2.	Vaskuläre Umbauprozesse .....	8
2.3.	Diagnostische Möglichkeiten.....	9
<b>3.</b>	<b>Lipoma Preferred Partner.....</b>	<b>12</b>
3.1.	LIM – Domäne Proteinfamilie des Zyxins.....	12
3.2.	LPP – lipoma preferred partner .....	12
3.2.1.	In vitro .....	12
3.2.1.1.	Lokalisation und Expression .....	14
3.2.1.2.	Interaktionspartner und mögliche Funktionen .....	14
3.2.2.	In vivo .....	17
3.3.	Zyxin .....	17
<b>III.</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>19</b>
<b>1.</b>	<b>Material.....</b>	<b>19</b>
1.1.	Standardlösungen .....	19
1.2.	Geräte und Verbrauchsmaterial.....	21
1.2.1.	Tierraum .....	21
1.2.2.	Histologie .....	21
1.2.3.	Sonstige Geräte .....	22
1.3.	Tiere .....	23
1.3.1.	Herkunft .....	23
1.3.2.	Haltungs-, Operations- & Narkose Material .....	24
1.4.	Software .....	25

---

<b>2.</b>	<b>Methoden.....</b>	<b>26</b>
2.1.	Haltung und Unterbringung der Tiere.....	26
2.2.	Versuchsablauf.....	26
2.3.	Dokumentation und Überwachung der Tierversuche.....	27
2.4.	Genotypisierung der Tiere.....	27
2.5.	Narkose & Narkoseüberwachung.....	28
2.6.	Blutdruckmessung.....	29
2.6.1.	Invasive Blutdruckmessung mittels intraarteriell implantierter Telemetrie-Sonden.....	29
2.6.2.	Nicht-invasive Blutdruckmessung mittels CODA® mouse tail-cuff system (Kent Scietific).....	30
2.7.	Deoxycorticosteronacetat (DOCA)-Salz-Implantation.....	30
2.8.	Echokardiographie und Duplex-Sonographie.....	31
2.9.	Tötung und Organentnahme.....	36
2.10.	Verarbeitung entnommener Gewebeproben.....	36
2.10.1.	Kryokonservierung.....	36
2.10.2.	PFA-Fixierung.....	36
2.11.	Histologie.....	37
2.11.1.	Einbettung und Schnitte.....	37
2.11.2.	Färbungen.....	37
2.11.2.1.	Elastika-Färbung.....	37
2.11.2.2.	Sirus-Rot-Färbung.....	37
2.11.2.3.	Aufnahmen mit dem Mikroskop.....	37
2.12.	Statistik.....	38
<b>IV.</b>	<b>ERGEBNISSE.....</b>	<b>41</b>
<b>1.</b>	<b>Verifizierung der Gendefizienz.....</b>	<b>41</b>
<b>2.</b>	<b>Tierexperimentelle Ergebnisse/ in vivo.....</b>	<b>41</b>
2.1.	Adspektorische Unterschiede.....	41
2.1.1.	LPP-Knockoutmäuse sind kleiner und leichter als altersgleiche Wildtypmäuse.....	41
2.1.2.	LPP-KO Tiere haben häufiger eine Kyphose.....	43
2.1.3.	Die Zyxin-Knockout Mäuse sind basal den WT Mäusen sehr ähnlich.....	44
2.2.	Blutdruck.....	45
2.2.1.	LPP-KO Tiere haben schon zu Versuchsbeginn einen höheren Blutdruck.....	45

2.3.	Ergebnisse der Echokardiographie und Duplex-Sonographie .....	46
2.3.1.	LPP-Knockoutmäuse zeigen Auffälligkeiten während der Narkose.....	46
2.3.2.	Kardiale Phänotypisierung .....	49
2.3.2.1.	LPP-Knockoutmäuse haben dünnwandigere Herzen bei gleichem Durchmesser.....	49
2.3.2.2.	LPP-Knockoutmäuse haben ein geringeres Herzgewicht .....	52
2.3.2.3.	Einfluss des Knockouts von LPP auf Funktionsparameter des Herzens....	53
2.3.2.4.	Ejektionszeiten bei den LPP-Knockoutmäusen .....	57
2.3.2.5.	Weitere Parameter, auf die der Genotyp möglicherweise Einfluss hat.....	57
2.3.2.6.	Sonographieergebnisse der Zyxin-Knockoutmäuse.....	58
2.3.3.	Vaskuläre Phänotypisierung.....	59
2.3.3.1.	Widerstandsindex – Einfluss von Alter und Genotyp.....	59
2.3.3.2.	Dehnungseigenschaft der Aorta und der Einfluss der LPP-Defizienz .....	60
2.4.	Besondere Befunde bei der Sektion .....	60
<b>3.</b>	<b>Untersuchungen der Gewebeproben .....</b>	<b>61</b>
3.1.	Histologische Untersuchungen der LPP-Knockoutmäuse im Hypertonie- Modell .....	61
3.1.1.	Kardiale Fibrose - Unterschiede zwischen den Genotypen .....	62
3.1.2.	Vaskuläre Histologie – Elastische Fasern .....	62
<b>V.</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>67</b>
<b>1.</b>	<b>Statistik, Gendefizienz und Tiere.....</b>	<b>67</b>
<b>2.</b>	<b>Tierversuche und Ergebnisse .....</b>	<b>69</b>
2.1.	Lipoma preferred partner-Knockoutmäuse .....	69
2.1.1.	Adspektorische Unterschiede.....	69
2.1.2.	Vaskuläre Aspekte – Blutdruck und Gefäßveränderungen.....	71
2.1.3.	Echokardiographie und Duplex-Sonographie .....	75
2.1.3.1.	Die Narkose und Narkose-Überwachung.....	75
2.1.3.2.	Herzgröße und Herzleistung.....	77
2.2.	Zyxin-Knockoutmäuse und Unterschiede zu den LPP-Knockouttieren ....	79
2.3.	Fazit und Ausblick .....	81
<b>VI.</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>83</b>
<b>VII.</b>	<b>SUMMARY.....</b>	<b>85</b>

---

<b>VIII.</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>87</b>
<b>IX.</b>	<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS .....</b>	<b>97</b>
<b>X.</b>	<b>TABELLENVERZEICHNIS .....</b>	<b>99</b>
<b>XI.</b>	<b>ANHANG .....</b>	<b>101</b>
1.1.	Sonstige Messungen .....	101
1.1.1.	Körpermasse .....	101
1.1.2.	Knochenlängen .....	102
1.1.3.	Blutdruck – alle Tiere .....	103
1.1.4.	Blutdruck – nur bis an das Versuchsende überlebende Tiere .....	104
1.1.5.	Herzfrequenz .....	105
1.1.6.	Isofluran .....	105
1.1.7.	Herzgewicht aus Sonographieaufnahmen .....	106
1.1.8.	Herzgewicht gewogen & Normalisierung .....	106
1.1.9.	Widerstandsindex .....	107
1.1.10.	Kyphose .....	108
1.2.	Sonographie .....	108
1.2.1.	12 Monate alte Mäuse .....	109
1.2.1.1.	Tag 0 .....	109
1.2.1.2.	Tag 10 .....	115
1.2.1.3.	Tag 21 .....	122
1.2.2.	18 Monate alte Mäuse .....	128
1.2.2.1.	Tag 0 .....	128
1.2.2.2.	Tag 10 .....	135
1.2.2.3.	Tag 21 .....	141
1.2.3.	6 Monate alte Mäuse .....	148
1.2.3.1.	Tag 0 .....	148
1.2.3.2.	Tag 21 .....	154
1.3.	Verallgemeinerte Schätzgleichungen .....	161
1.3.1.	LPP-KO und Tiere ab 12 Monaten .....	161
1.3.2.	Zyxin-KO & LPP-KO ab 6 Monate .....	166
1.4.	Methoden Vergleiche .....	168
1.5.	Abbruchkriterien der Tierversuches .....	169
<b>XII.</b>	<b>DANKSAGUNG .....</b>	<b>170</b>

**ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS**

°	Grad (eines Winkels)
A	Maximum der Einstromgeschwindigkeit der aktiven diastolischen Füllungsphase (Vorhofkontraktion)
A'	Maximum der Gewebebewegung der aktiven diastolischen Füllungsphase (Vorhofkontraktion) gemessen am septalen Anulus mitralis
A.	Arteria
AAo	aszendierende Aorta
AAT	Beschleunigungszeit des Aortenflusses (engl. aortic acceleration time)
Abb.	Abbildung
AET	Aortale Auswurfzeit (engl. aortic ejection time)
ANP	Atriales natriuretisches Peptid
Apic4	Apikaler Vierkammerblick (engl. apical four-chamber view)
AV-Knoten	Atrioventrikularknoten
B-mode	Bright Mode oder B-Modus
BNP	natriuretisches Peptid Typ B (oder brain natriuretic peptide)
bp	Basenpaare
bzw.	beziehungsweise
°C	Grad Celsius
C57BL/6J	C57 black 6J, spezieller Maus-Inzuchtstamm
ca.	circa
cm	Zentimeter
CO	Herzminutenvolumen (engl. cardiac output)
d	diastolisch
dB	dezibel
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTPs	Desoxynukleosidtriphosphate
DOCA-Salz	Deoxycorticosteronacetat-Salz
dt.	deutsch
E	Maximum der Einstromgeschwindigkeit der passiven diastolischen Phase
E'	Maximum der Gewebebewegung der passiven diastolischen Füllungsphase gemessen am septalen Anulus mitralis
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure (engl. ethylenediaminetetraacetic acid)
EDV	Enddiastolische Geschwindigkeit (engl. end diastolic velocity)
EF	Ejektionsfraktion (engl. ejection fraction)
EKG	Elektrokardiogramm
Endo	Endokard(ial)
EndoArea	Querschnittsfläche des linken Ventrikels mit dem Endokard als äußerer Begrenzung
EndoMajr	Linksventrikuläre Länge von der Aortenklappe bis zum Endokard des Herz-Apex
engl.	englisch
Epi	Epikard(ial)
EpiArea	Querschnittsfläche des linken Ventrikels mit dem Epikard als äußerer Begrenzung
EpiMajr	Linksventrikuläre Länge von der Aortenklappe bis zum Epikard des Herz-Apex
EZM	Extrazelluläre Matrix (engl. extracellular matrix)

FS	Verkürzungsfraction (engl. fractional shortening)
g	Gramm
GEE	generalisierte Schätzgleichungen (engl. Generalized estimating equation)
ggf.	gegebenenfalls
ggr.	geringgradige
h	Stunde(n)
HCl	Salzsäure
HEPES	Hydroxyethylpiperazin-Ethansulfonsäure(-Puffer)
HF	Herzfrequenz
HMV	Herzminutenvolumen (engl. CO, cardiac output)
IBF	Interfakultäre Biomedizinische Forschungseinrichtung
idR	in der Regel
IKT	Innere Körpertemperatur
Inj.	Injectionem
IVC	individuell belüftete Käfige (engl. individual ventilated cages)
IVCT	isovolumetrische Kontraktionszeit (engl. isovolumetric contraction time)
IVRT	Isovolumetrische Relaxationszeit (engl. isovolumetric relaxation time)
IVS	Interventrikuläres Septum, teils wegen leichter Auswertbarkeit verwendet statt LWAW
kb	Kilobasenpaare
kg	Kilogramm
KI	Konfidenzintervall
KO	Knockout
l	Liter
µl	Mikroliter
LIM	LIN-11, Isl1, MEC-3 (Cysteinreiche Sequenz eines Proteins)
LIMD1	LIM domain-containing protein 1
LOX 3	Lysiloxidase 3
LPP	Lipoma Preferred Partner
LV	Linker Ventrikel (engl. left ventricle)
LVAW	Vordere Herzwand (engl. Left ventricle anterior wall)
LVID	Durchmesser des linken Ventrikels (engl. left ventricle inner diameter)
LVPW	Hintere Herzwand (engl. left ventricle posterior wall)
LV-Trace	Automatisiertes Auswertungstool der Vevo® Software
M	Molar
max.	maximal
mg	Milligramm
MHz	Megahertz
Min.	Minute oder Minimum oder mindestens
ml	Milliliter
mM	millimolar
mm	Millimeter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule, Maßeinheit des statischen Druckes, hier des Blutdruckes
M-mode	Motion Mode oder M-Modus
mRNA	Boten-RNA (engl. messenger RNA)
MV	Mitralklappe (engl. mitral valve)
MV ET	Mitralklappen Auswurfzeit (engl. Mitral valve ejection time)
n	Anzahl der biologischen Replikate
NES	nukleäres Export Signal (engl. nuclear export signal)
NFT	Nicht-Füllungszeit des linken Ventrikels (engl. non filling time)
NO	Nitridoxid

obB	ohne besondere Beobachtung
OP	Operation oder operationem
p	Überschreitungswahrscheinlichkeit oder Signifikanzwert (engl. p-value von probability dt. Wahrscheinlichkeit)
PAT	Pulmonalarterien Beschleunigungszeit (engl. pulmonary acceleration time)
PBS	Phosphat-Natriumchlorid-Puffer (engl. phosphate buffered saline)
PCR	Polymerasekettenreaktion (engl. polymerase chain reaction)
PEA3	polyoma enhancer activator protein 3
PET	Pulmonale Auswurfzeit (engl. pulmonary ejection time)
PFA	Paraformaldehyd
PeakVel	max. Geschwindigkeit (engl. peak velocity)
PP2A	Protein-Phosphatase 2A
PSV	Maximale systolische Geschwindigkeit (engl. peak systolic velocity)
pH	Negativer dekadischer Logarithmus des dimensionslosen Betrages der Oxoniumionenaktivität in M (potentia hydrogenii)
PSLAX	Parasternale-Längachse (engl. parasternal longaxis) oder Parasternale-Längsachsen-Aufnahme
PV	Pulmonalklappe (engl. Pulmonary valve), bei der Messung von Blutflussgeschwindigkeiten die der Pulmonalarterie
PW-Doppler	Pulsed-wave-Doppler
RAAS	Renin-Angiotension-Aldosteron System
RI	Widerstandsindex (engl. resistance index)
RNA	Ribonukleinsäure
s	systolisch
s.	siehe
SAX	Kurzachse (engl. short axis) bzw. Kurzachsen-Aufnahme
sc.	subkutan
SD	Standardabweichung (engl. standard deviation)
SMC	glatte Muskelzellen (engl. smooth muscle cells)
s.o.	siehe oben
SRF	serum response factor
s.u.	siehe unten
SV	Schlagvolumen (engl. stroke volume)
T	Tag
Tab.	Tabelle
TBE	TRIS-Borat-EDTA-Puffer
TD	Gewebedoppler (engl. tissue-doppler)
TRIP6	thyroid receptor interacting partner 6
TPR	Totaler Peripherer Widerstand (engl. total peripheral resistance)
TRIS	Tris (hydroxymethyl)-aminomethan
TierSchG	Tierschutzgesetz
V	Volt
VASP	Vasodilatator-Stimuliertes Phosphoprotein (engl. vasodilatator stimulated phosphoprotein)
Vel	Geschwindigkeit (engl. velocity)
Vol	Volumen
VPR	Volumen-Druck-Verlauf basierte Messtechnik (engl. volume pressure recording)

---

vGMZ	vaskuläre glatte Gefäßmuskelzellen (engl. vascular smooth muscle cells, VSMC)
vs	versus
VTI	Geschwindigkeits-Zeit Integral (engl. velocity time integral)
Wnt/PCP	nichtkanonischer planarer Zellpolaritätspfad (engl. wnt/planar cell polarity)
WT	Wildtyp(en)
WTIP	wilms tumor protein 1-interacting protein
w/v	weight/volume (dt. Gewicht/Volumen)
ZP	Zeitpunkt

## I. EINLEITUNG

Bluthochdruck ist ein bedeutender Risikofaktor für viele Krankheiten bei Mensch und Tier, wie beispielsweise Herz-Kreislaufkrankungen (eine der häufigsten Todesursachen beim Menschen) oder (Hirn-)Blutungen, und führt über längere Zeit bestehend zur Manifestation von Endorganschäden wie beispielsweise Retinopathien, chronischer Niereninsuffizienz, ventrikuläre Hypertrophie oder Arteriosklerose<sup>1-7</sup>. Trotzdem weiß man nicht alles über den Mechanismus, der zur Wahrnehmung des Bluthochdruckes und zu bekannten Umbauprozessen wie etwa Fibrose und Hypertrophie führt<sup>8</sup>.

Wie registrieren Zellen die veränderten Druckbedingungen und leiten eine Anpassungsreaktion ein<sup>8</sup>? Nach unserer Arbeitshypothese spielt eine Gruppe von Proteinen mit LIM-Domäne (spezielle Proteinstruktur mit zwei Zinkfingern) eine wichtige Rolle bei der Weiterleitung einer mechanischen Deformation in den Zellkern (Mechanotransduktion). Die Zyxin-Familie, zu der neben Zyxin auch LPP (lipoma preferred partner) und TRIP6 (thyroid receptor interacting partner 6) gehören, steht im Zentrum dieser Untersuchungen<sup>9-12</sup>. Bei Zyxin-Knockout (KO) Mäusen in Hypertoniemodellen ist bekannt, dass sie eine deutliche Tendenz zur restriktiven Kardiomyopathie<sup>12</sup> entwickeln. In einer Gruppe von 18-monatigen Zyxin-KO Mäusen wurde unter Deoxycorticosteronacetat (DOCA)-Salz-Behandlung ein reduzierter peripherer Widerstand beschrieben<sup>13</sup>. Diese Beobachtungen führt der Autor Ghosh auf eine teils auch alters- oder zelltypabhängige Kompensation durch das sehr ähnlich aufgebaute Protein LPP zurück. In vitro konnte die Vermutung der Redundanz bestätigt werden<sup>12</sup>, weshalb es Ziel dieser Arbeit ist, den Phänotyp der Defizienz von LPP in alternden Mäusen zu untersuchen. Da es für Zyxin-KO Mäuse im DOCA-Salz-Modell nur Untersuchungen im Alter von 3, 12 und 18 Monate gibt, soll ergänzend eine Gruppe von 6-monatigen Zyxin-KO Tieren untersucht werden.



## II. LITERATURÜBERSICHT

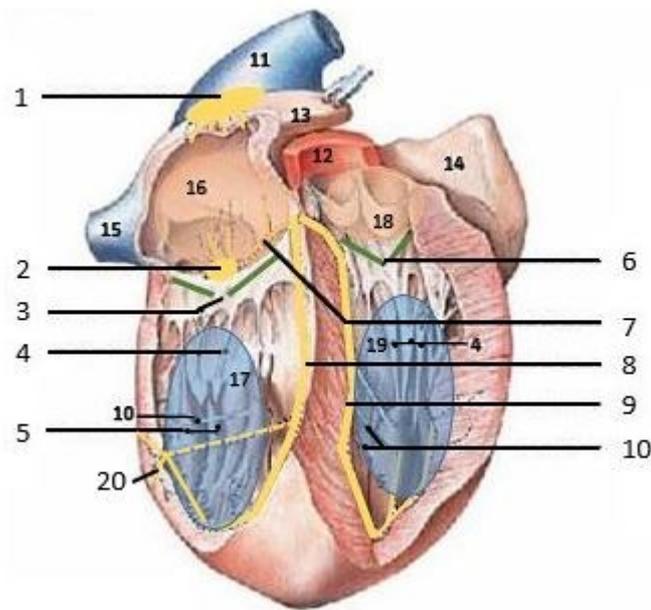
### 1. Das kardiovaskuläre System

Das kardiovaskuläre System setzt sich aus dem Herz (Cor) und den Gefäßen zusammen. Es ist mit Blut gefüllt, welches bei seiner Zirkulation durch den großen und kleinen Körperkreislauf den gesamten Organismus mit Atemgasen, Bestandteilen des Immunsystems, Hormonen, Nährstoffen und Neurotransmittern versorgt. Es ist an der Regulation der Körpertemperatur und des Blut-pH-Wertes beteiligt. Die muskuläre Pumpe Herz fördert das Blut über Arterien und Arteriolen bis in das Kapillarnetz, in dem der Stoffaustausch stattfindet: zurück zum Herzen gelangt es über Venolen und Venen.

#### 1.1. Das Herz

Das anatomisch in vier Kammern, zwei Vorhöfe (Atria) und zwei Hauptkammern (Ventrikuli), geteilte Hohlorgan Herz (Abb. 1) pumpt das Blut durch das Gefäßsystem.

Die Kontraktion des Herzens läuft in vier Phasen ab: In der Systole kontrahiert der Muskel, ohne das intraventrikuläre Volumen zu verändern (isovolumetrische Kontraktion (I)). Sobald der intraventrikuläre Druck höher als jener in der Ausstrombahn ist, öffnen die Taschenklappen (Valva aortae, Valva trunci pulmonalis) und die Auswurfphase (II) beginnt. Dieser Druck entspricht dem des totalen peripheren Widerstandes (TPR). Wenn die ventrikuläre Kontraktion endet, schließen die Taschenklappen und die Diastole beginnt mit der isovolumetrischen Relaxation (III). Ist der atriale Druck höher als der ventrikuläre, beginnt die Füllungsphase (IV) mit dem Öffnen der Segelklappen (Valva mitralis, Valva tricuspidalis). Blut strömt entlang des Druckgefälles in die Hauptkammern (passive Ventrikelfüllung). Anschließend folgt die Vorhofkontraktion (aktive Ventrikelfüllung), nach welcher die Segelklappen schließen und eine neue Systole beginnt<sup>14</sup>.



**Abbildung 1: Aufbau des Herzens:** gelb: Reizleitungssystem des Herzens, grün: angedeutete Ventilebene (Klappenebene) des Herzens, blau: Hauptkammern, beige: Vorhöfe, 1 – Sinusknoten (Nodus sinuatrialis), 2 – Atrioventrikularknoten (Nodus atrioventricularis), 3 – Trikuspidalklappe (Valva tricuspidalis), 4 – Chordae tendinae, 5 – Papillarmuskeln (Musculi papillares), 6 – Bikuspidalklappe (Valva bicuspidalis), 7 – Fasciolus atrioventricularis, 8 – rechter Tawara-Schenkel (Crus dextrum), 9 – linker Tawara-Schenkel (Crus sinistrum), 10 – Trabeculae septomarginales, 11 – vordere Hohlvene (V. cava cranialis), 12 – Aorta, 13 – rechtes Herzohr (Auriculo atrii dextra), 14 – linkes Herzohr (Auriculo atrii sinistra), 15 – hintere Hohlvene (V. cava caudalis), 16 – rechter Vorhof (Atrium dextrum), 17 – rechte Hauptkammer (Ventriculus dexter), 18 – linker Vorhof (Atrium sinistrum), 19 – linke Hauptkammer (Ventriculus sinister); 20 - Purkinje-Fasern; Abb. aus Atlas der Anatomie des Hundes, Kap. 4.9 Nervennerven (C. Pfarrer), 9. Auflage, 2012: Sven Reese et al.<sup>15</sup>;

Die elektromechanisch gekoppelte Kontraktion wird durch autorhythmische Schrittmacherzellen des Sinusknotens eingeleitet und die Erregung über Atria, Atrioventrikularknoten (AV)-Knoten, His-Bündel, Tawara-Schenkel und Myofibria conducens cardiaca auch bekannt als Purkinje-Fasern im Herzen verteilt und koordiniert<sup>16</sup>.

Um den vielfältigen Anforderungen des Organismus gerecht zu werden, wird das Herzkreislaufsystem dynamisch reguliert. Durch sympathische ( $\beta$ -adrenerge) Stimulation kann die Herzfrequenz (Chronotropie), die Erregungsweiterleitung (Dromotropie), die Pumpkraft (Inotropie) und die Relaxationsgeschwindigkeit (Lusitropie) gesteigert werden. Konträr wirkt die parasymphatische Stimulation<sup>16</sup>.

Langfristig kann eine gesteigerte Herzarbeit, beispielsweise ausgelöst durch

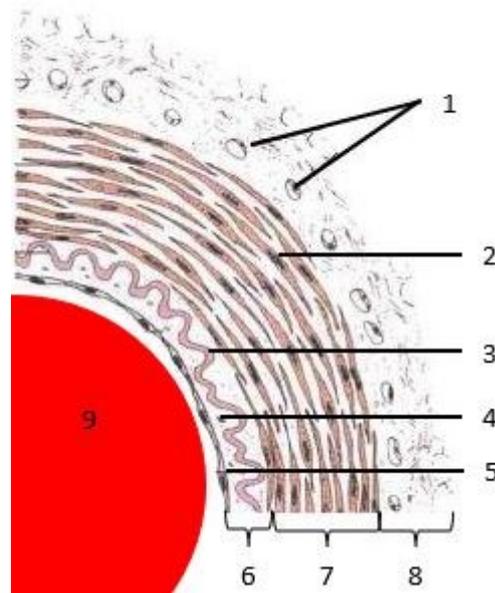
regelmäßiges Training, zu adaptivem Muskelwachstum (physiologische Hypertrophie) führen<sup>17</sup>. Langfristige Überlastung wie Hypertonie oder Tachykardie führen zu einer maladaptiven Anpassung in Form von hypertrophen Anpassungsreaktionen<sup>18</sup>.

Histologisch betrachtet ist das Herz in drei Schichten aufgebaut. Von innen nach außen sind dies: das Endokard, das Myokard und das Epikard. Das Endokard enthält neben dem Endothel ein bindegewebiges Stratum myoelasticum. Die Verbindung zum Myokard ist die Tela subendocardialis, welche Gefäße und Fasern des autonomen Erregungsleitungssystems enthält (Purkinje-Fasern, heute Myofibrilia conducens cardiaca). Das Myokard besteht aus Herzmuskelzellen und dem sie umgebenden bindegewebigen Netzwerk mit entsprechendem Kapillargeflecht. Der Herzmuskelfaserverlauf ist in drei Schichten angeordnet: innere spiralförmig angeordnete Längsfaser, mittlere Hauptfaserschicht mit zirkulärem Verlauf und äußere Längsfaserschicht. Das Epikard besitzt neben dem einschichtigen Epithel eine Tela subepicardia (oder subserosa)<sup>19</sup>.

## 1.2. Das Gefäßsystem

Das Gefäßsystem ist die Infrastruktur zur Verteilung des Blutes im gesamten Körper. Es ist beteiligt an der Regulierung der lokalen Durchblutung der Gewebe, der Körpertemperatur und es hält den Druck im Gefäßsystem aufrecht.

Ob Arterie, Arteriole, Vene oder Venole, aufgebaut sind die Gefäße, wie das Herz, in drei Schichten (Abb. 2): Die innere Auskleidung, auch Tunica interna, besteht aus dem einschichtigen Endothel, dem Stratum subendotheliale (bindegewebig) und der inneren elastischen Membran. Diese Schicht besitzt vielfältige Funktionen beispielsweise die Verhinderung des Blutaustrittes bei Verletzungen und den transvasalen Stofftransport. Im Stratum subendotheliale (auch Lamina propria) befinden sich unter anderem elastische und kollagene Fasern, Fibrozyten und glatte Gefäßmuskelzellen, sogenannte Mediazyten, die wenig differenziert sind, Fasern bilden und Fremdstoffe phagozytieren können<sup>19,20</sup>. Nach außen folgt die Tunica media mit glatten Gefäßmuskelzellen (vGMZ, engl. vascular smooth muscle cells, VSMC), kollagenen und elastischen Fasern und bei größeren Gefäßen einer Membrana elastica externa. Äußerste Schicht ist die Tunica externa auch Adventitia genannt. Sie ist die fibroelastische Verschiebeschicht zu angrenzenden Geweben<sup>19</sup>.



**Abbildung 2: Schematischer Aufbau eines Blutgefäßes:** 1 – Vasa vasorum, 2 – glatte Muskelzelle, 3 – Membrana elastica interna, 4 – Stratum subendotheliale, 5 – Lamina endothelialis/ Endothel, 6 – Tunica interna oder Intima, 7 – Tunica media, 8 – Tunica externa oder Adventitia, 9 – Gefäßlumen gefüllt mit Blut, Abbildung aus: Funktionelle Histologie der Haussäugetiere (H.-G. Liebich, S.133) , H.-G. Liebich et al.<sup>19</sup>

Innerviert werden die Blutgefäße durch sympathische, vegetative Nervenfasern, die Transmitter freisetzen. Dies führt im Falle der Stimulation von  $\alpha_1$ -Rezeptoren auf den vGMZ zur Vasokonstriktion und bei  $\beta_2$ -Rezeptoren, die auf das im Blut zirkulierende Adrenalin ansprechen, zur Vasodilatation. Auch viele andere Botenstoffe sind an der Regulation des Gefäßtonuses beteiligt, beispielsweise Angiotensin II, Histamin und v.a. das aus den Endothelzellen freigesetzte Stickstoffmonoxid (NO)<sup>19</sup>.

## 2. Biomechanik im kardiovaskulären System

### 2.1. Haemodynamische Kräfte im kardiovaskulären System

Die Hämodynamik beschreibt den Blutfluss in Herz und Gefäßen in Abhängigkeit von den dort wirkenden Kräften. Auf die Strömungsmechanik des Blutes nimmt unter anderem die Geometrie (Oberfläche, Durchmesser etc.), die Elastizität der Gefäße und des Herzens Einfluss, ebenso wie die Drücke, die Herzleistung, das Blutvolumen und die Viskosität des Blutes. Neuere Erkenntnisse zeigen, dass hämodynamische Kräfte einen wesentlichen Einfluss auf das Endothel und die glatten Gefäßmuskelzellen (vGMZ, engl. Vascular smooth muscle cells, VSMC) haben<sup>21</sup>. Änderungen des Blutdruckes und damit verbundenen Veränderungen der

Wandspannung werden v.a. von den vGMZ wahrgenommen und führen zu einer kurzfristigen Reaktion wie beispielsweise einer Konstriktion der vGMZ in der Tunica media, um der erhöhten Belastung entgegenzuwirken. Längerfristige Abweichungen vom physiologischen Zustand führen zu (mal-)adaptiven Anpassungsreaktionen wie dem Umbau der Extrazellulären Matrix (EZM, engl. extracellular matrix) oder der Entstehung von Arteriosklerose<sup>21,22</sup>. Durch die Erweiterung oder Verengung des Durchmessers von Blutgefäßen erfolgt im vaskulären Bereich die Anpassungen von (Blut-) Druck und Durchflussmenge in die Organe<sup>23,24</sup>.

## **2.2. Arterielle Hypertonie und DOCA-Salz**

Arterielle Hypertonie ist ein Krankheitsbild, das mit einem chronisch erhöhten Druck im arteriellen Gefäßsystem einhergeht. Je nach Ätiopathogenese kann sie primär oder sekundär (d.h. aufgrund einer anderen Primärerkrankung) auftreten und ist ein bedeutender Risikofaktor für Herz-Kreislauf-Erkrankungen<sup>3,5,25</sup>. Die Folge sind Umbauprozesse in Herz und Gefäßen, die langfristig zu Schäden in diversen Organen führen, hier seien beispielsweise Schlaganfall, chronische Niereninsuffizienz und insbesondere die Arteriosklerose mit ihren diversen Folgeerkrankungen genannt<sup>1,3,4</sup>. Zudem steigt<sup>25</sup> die Wahrscheinlichkeit, dass die Herzleistung bei langanhaltender Hypertonie sinkt. Um die Pathomechanismen für dieses Krankheitsbild zu erforschen, gibt es diverse, murine Modelle, welche die verschiedenen Ursachen für, Folgen von und Einflüsse auf den Bluthochdruck nachbilden<sup>26,27</sup>.

Für diese Studie ist das DOCA-Salz-Modell gewählt worden, welches einen moderaten Blutdruckanstieg bewirkt, zum einen durch Steigerung der renalen Natrium- und damit Wasserretention, zum anderen durch die zentrale Stimulation des Renin-Angiotension-Aldosteron Systems (RAAS)<sup>27</sup>. Die veränderte Reaktivität der Gefäßmuskelzellen<sup>26</sup> zusammen mit der gesteigerten Wasserretention führt zu einer Erhöhung des peripheren Widerstands, insbesondere des Blutvolumens; dadurch steigt sowohl die Vorlast (Hypervolämie) als auch die Nachlast (erhöhter diastolischer Blutdruck) im Herzen. Das bedeutet, dass die Vordehnung in der Diastole erhöht ist und in der Systole gegen einen erhöhten Widerstand angearbeitet werden muss. Beide zusammen erhöhen die Wandspannung im rechten und insbesondere im linken Ventrikel, welche hypertrophieren; gleichzeitig führt die Erhöhung des Schlagvolumens sowie des peripheren Widerstands zu einem

Hypertonie-induzierten arteriellen Remodelling und zu einer größeren Herzfrequenzvariabilität<sup>26,27</sup>.

### **2.2.1. Kardiale Umbauprozesse**

In dieser Arbeit sollte ein Hauptaugenmerk auf die Hypertrophie gelegt werden, da bei erhöhter Vorlast eine exzentrische und bei erhöhter Nachlast eine konzentrische Hypertrophie zu erwarten ist. Der quergestreifte Herzmuskel unterliegt, wie der Skelettmuskel, Anpassungsreaktionen. Bei vermehrter muskulärer Arbeit, wie beispielsweise bei Sport, wird, durch den erhöhten Sauerstoffbedarf, der Blutfluss durch Sympathikusenthemmung erhöht. Chronisch erhöhte Inotropie führt zu hypertrophem Muskelwachstum, das in seiner physiologischen Form, gleichmäßig im Längs- und Querschnitt ist. Unsymmetrisches Wachstum, welches als pathologisch gilt, mit vermehrter Querschnittszunahme, im Falle des Herzens mit Zunahme der Wanddicke im Verhältnis zum Durchmesser, wird als konzentrische Hypertrophie bezeichnet<sup>28,29</sup>. Die exzentrische Hypertrophie ist die überproportionale Längen- bzw. im Falle des Herzens Durchmesserzunahme. Die konzentrische Hypertrophie tritt vorzugsweise, wie bereits erwähnt, bei erhöhter Nachlast auf, die durch eine erhöhte Wandspannung am Ende der Systole infolge des erhöhten peripheren Widerstands charakterisiert ist. Die exzentrische Hypertrophie entsteht infolge der Hypervolämie, die eine erhöhte Wandspannung am Ende der Diastole zur Folge hat. Mischformen dieser Hypertrophien sind häufig zu finden. Aufgrund ihrer terminalen Differenzierung bleibt den Kardiomyozyten statt der Hypertrophie alternativ nur der Zelltod durch Apoptose<sup>28-30</sup>.

### **2.2.2. Vaskuläre Umbauprozesse**

Die Gefäße sind maßgeblich an der Bildung und Aufrechterhaltung des peripheren Widerstandes beteiligt. Über die Kontraktilität und ihrer sie umgebenden Matrix, halten sie den Druck im Gefäßsystem aufrecht und helfen somit bei der Verteilung des Blutes. Bei langfristig erhöhter Belastung, beispielsweise durch einen erhöhten Druck (vermehrte Dehnung), stehen den vGMZ prinzipiell die Möglichkeit zum Zellwachstum (Hypertrophie), zur Zellvermehrung (Hyperplasie), zum Zelltod (Apoptose), zur Reorganisation oder zur Veränderung ihres extrazellulären Umfeldes bzw. der extrazellulären Matrix (EZM, engl. extracellular matrix) zur Verfügung<sup>31</sup>. Dabei tendieren vGMZ in den größeren Leitungsarterien eher zur

Hypertrophie, während es in den Widerstandsgefäßen, insbesondere in den Arteriolen, auch zur Hyperplasie kommen kann. Typischerweise reagieren die vGMZ in der Tunica media, v.a. in den Widerstandsgefäßen, zunächst mit einer passageren Vasokonstriktion, um die erhöhte Wandspannung auf das Normalmaß zu reduzieren. Bei langfristiger Erhöhung des intravasalen Druckes reagieren sie ebenfalls mit einer Verdickung der Gefäßwand durch Hypertrophie bzw. Hyperplasie, die grundsätzlich einer proinflammatorischen Reaktion und damit einhergehend mit einer Reorganisation der extrazellulären Matrix verknüpft ist<sup>5,32,33</sup>. Diese Umbauprozesse lassen sich auf Grund der deutlich geringeren Dimensionen, im Vergleich zum Herzen, im Mausmodell nicht oder nur schwer direkt mittels Sonographie beobachten, allerdings verursachen sie eine Veränderung in der Elastizität und auch des Einflusswiderstands, welche sich mithilfe des hochauflösenden Kleintier-Ultraschall-Imagings beobachten lassen. Proteine mit LIM-Domäne sind an der Reaktion des Aktin-Zytoskelettes beteiligt<sup>34</sup>, von denen eines, das LPP, im Fokus dieser Arbeit steht.

### 2.3. Diagnostische Möglichkeiten

Es gibt einige Möglichkeiten Veränderungen in der Hämodynamik sowie der folgenden Umbauprozesse direkt oder indirekt nachzuweisen bzw. Hinweise darauf zu erlangen. Beispielsweise sei hier die Computertomographie<sup>35</sup>, die Magnetresonanztomographie<sup>36</sup>, die (direkte und indirekte) Blutdruckmessung<sup>37</sup> oder herzkatheterbasierte Verfahren<sup>38</sup> sowie die Sonographie<sup>39</sup> erwähnt. Hier wird ausschließlich auf die Sonographie und die Messung des arteriellen Blutdrucks Bezug genommen.

Die nichtinvasive Echokardiographie<sup>39</sup> hat sich als „Goldstandard“ zur Diagnostik kardialer Funktionen etabliert<sup>30,40-42</sup>. Es gibt mittlerweile einige Indikatoren, die sich zur Beurteilung der systolischen<sup>42-44</sup> und diastolischen<sup>44,45</sup> Funktion des Herzens eignen. Ohne die Integrität des untersuchten Tieres zu stören, kann das Herz und der Blutfluss durch die Reflexion von Schallwellen beobachtet und über die in Tabelle 1 genannten Parameter beurteilt werden. Zur Beurteilung der systolischen Funktion wird der zweidimensionale B-Mode (Bright-Mode) und der eindimensionale M-Mode (Motion-Mode) herangezogen. Letzterer ist die zeitliche Auflösung eines Querschnitts aus dem B-Mode und erlaubt somit ein leichteres und

reproduzierbares Auswerten. Strukturen und ein ‚Gesamtbild‘ sind leichter im B-Mode zu erfassen, weshalb beide Modi ausgewertet und betrachtet werden sollten. Die diastolische Funktion wird primär mit verschiedenen Doppler-Techniken erfasst. Der Pulsed-Wave Doppler (PWD) und der Tissue-Doppler (TD) stellen Blutfluss bzw. Gewebewegung dar. Durch Messung der frühdiastolischen passiven (E) und spätdiastolischen aktiven (A) Ventrikelfüllung bzw. deren Verhältnis (E/A) sowie den entsprechenden Gewebewegungen des Anulus mitralis (E', A') lassen sich Rückschlüsse auf die Relaxation der Ventrikel und die Compliance des Herzens ziehen<sup>30,44,45</sup>.

Da sich unter dem Einfluss der (DOCA-Salz) Hypertonie auch der periphere Widerstand sowie die Compliance ändert<sup>26</sup>, kann dieser mit dem Widerstandsindex (engl. Resistance Index, RI) abgeschätzt werden<sup>46,47</sup>. Ein erhöhter peripherer Widerstand ist ein Zeichen für den maldaptiven Umbau in den Widerstandsgefäßen<sup>48</sup>.

**Tabelle 1: Bedeutung ausgewählter Sonographie-Parameter<sup>30,42-45</sup>**

Bedeutung ausgewählter Sonographie-Parameter	
Parameter zur Beurteilung der systolischen Leistung	
Verkürzungsfraction (FS, engl. fractional shortening) in %	Prozentuale Verkürzung der Kurz-(bzw. Längs-) Achse des Herzens, Parameter für die globale systolische Funktion
Ejektionsfraction (EF, engl. ejection fraction) in %	Prozentuale Auswurfleistung des Herzens, Parameter für die globale systolische Funktion
Schlagvolumen (SV, engl. stroke volume) in $\mu\text{L}$	Konkrete Auswurfleistung des Herzens während eines Zyklus, Parameter für die globale systolische Funktion
Herzminutenvolumen (HMV, engl. Cardiac output, CO) in ml/min	Konkrete Auswurfleistung in 1 Minute, Parameter für die globale Herzleistung
Strain	Messung der regionalen Verformung; bei Auswertung vieler Punkte Beurteilung der globalen ventrikulären Funktion

<b>Bedeutung ausgewählter Sonographie-Parameter</b>	
<b>Parameter zur Beurteilung der diastolischen Leistung</b>	
Isovolumetrische Relaxationszeit (IVRT, engl. isovolumetric relaxation time)	Zeit zwischen Taschen- (Ausflustrakt-) klappenschluss und Öffnung der Segel- (Atrioventrikular-) klappen
E/A	Verhältnis von maximaler früh- zu maximaler spätdiastolischer Einflussgeschwindigkeit
E' / A'	Verhältnis von maximaler früh- zu maximaler spätdiastolischer Gewebebewegung am Anulus mitralis
<b>Parameter zur Beurteilung der Gefäße</b>	
Widerstands- bzw. Resistance Index (RI)	Änderungen des Widerstandes und der Compliance distal zum Untersuchungspunkt (A. femoralis), Parameter für den totalen peripheren Widerstand in den unteren Extremitäten

Der arterielle Blutdruck kann direkt (intraarteriell) oder indirekt gemessen werden<sup>37</sup>. Die direkten Methoden haben den Vorteil, dass sie genauer sind, über den ganzen Tag erhoben werden können<sup>49</sup> und, wenn sie implantiert sind, die Tiere nicht extra dafür gehandelt werden müssen. Die Aktivität und die Herzfrequenz der Mäuse kann so erhoben werden<sup>50</sup>. Nachteilig an diesen Methoden ist, neben den Kosten, die verhältnismäßig höhere Belastung, insbesondere durch die Operation, welche Risiken von Komplikationen oder Infektionen mit sich bringt. Die Operation an sich bedarf auch einiger Übung<sup>37,51</sup>. Um den arteriellen Blutdruck indirekt zu messen, gibt es diverse technische Möglichkeiten, wie beispielsweise photoelektrisch / oszillometrisch<sup>52,53</sup>, PWD<sup>54</sup>- oder Volumen-Druckverlaufbasierte<sup>55</sup> Verfahren. Nachteilig im Tier-Modell ist die Beeinflussung des Druckes durch den Stress der Tiere bei der Fixation bzw. dem Handling<sup>56-58</sup>, der thermische Stress<sup>59</sup>, da der Schwanz der Tiere eine gewisse Temperatur / Durchblutung haben muss sowie die hohe Herzfrequenz<sup>37</sup>. Auch die nur sehr kurze Messphase, die meist auch tagsüber, sprich für die Mäuse nachts, stattfindet, ist weniger repräsentativ für den durchschnittlichen Blutdruck<sup>37</sup>. Ebenso gestaltet sich die Erfassung des

diastolischen Blutdruckes mit indirekten Messmethoden schwierig<sup>37,54</sup>.

### **3. Lipoma Preferred Partner**

#### **3.1. LIM – Domäne Proteinfamilie des Zyxins**

Die LIM-Domäne (LIN-11, Isl1, MEC-3 Cysteinreiche Sequenz), ein doppeltes Zinkfingergebilde eines Proteins, besitzt keine katalytische Aktivität, sondern dient als Protein-Protein- oder Protein-DNA-Kontaktstelle<sup>34</sup>. Damit können die Proteine an regulatorischen Prozessen beteiligt sein, wie es bei der gewebespezifischen Genexpression, dem zytoskeletalem Auf- bzw. Abbau, der Adhäsion und der Signalübertragung in den Zellkern der Fall ist<sup>34,60</sup>. Von den Zyxin-Familie-Mitgliedern ist beispielsweise bekannt, dass sie an fokalen Adhäsionen und Stressfasern zu finden sind bzw. von den fokalen Adhäsionen zu den Stressfasern bzw. in den Zellkern translozieren können<sup>34</sup>, und so an der Veränderungen des Aktin-Zytoskeletts bzw. der Genexpression nach mechanischer Belastung der Zellen beteiligt sind<sup>34</sup>. Zu dieser Gruppe gehören Zyxin<sup>61</sup>, wilms tumor protein 1-interacting protein (WTIP)<sup>62</sup>, thyroid receptor interacting partner 6 (TRIP6)<sup>63</sup>, migfilin (auch filamin-binding LIM protein-1)<sup>64,65</sup>, lipoma preferred partner (LPP, auch LIM domain-containing preferred translocation partner in lipoma)<sup>66</sup>, LIM domain-containing protein 1 (LIMD1)<sup>67</sup> und Ajuba<sup>68</sup>. Von Interesse für diese Studie sind vor allem die Proteine LPP und Zyxin, auf welche nachfolgend genauer eingegangen wird.

#### **3.2. LPP – lipoma preferred partner**

##### **3.2.1. In vitro**

LPP wurde ursprünglich in Lipomen und später in Weichteiltumoren entdeckt<sup>66,69,70</sup>. Das für LPP kodierende Gen befindet sich auf Chromosom 3 (Band 3q28, Langer Arm des Chromosoms), und erstreckt sich von Basenpaar 188212933 bis 188890671<sup>71</sup>. Aufgebaut (Abb. 3) ist das Protein aus 612 Aminosäuren<sup>71</sup>. Aminoterminal hat es eine Prolin-reiche Region (etwa 2/3 des Proteins), mit  $\alpha$ -actinin Bindungsstelle, zwei Vasodilatator-stimuliertes Phosphoprotein (engl. vasodilatator stimulated phosphoprotein, VASP)-Bindungsmotiven (Act A repeats) und einem nuklären Exportsignal (NES), an das sich in Richtung

carboxyterminalem Ende drei LIM-Domänen anschließen<sup>71</sup>. Neben der ‚normalen‘ Form wird eine ‚kurze nukleäre‘ Form, die vor allem in den Hoden zu finden ist, beschrieben<sup>72</sup>.

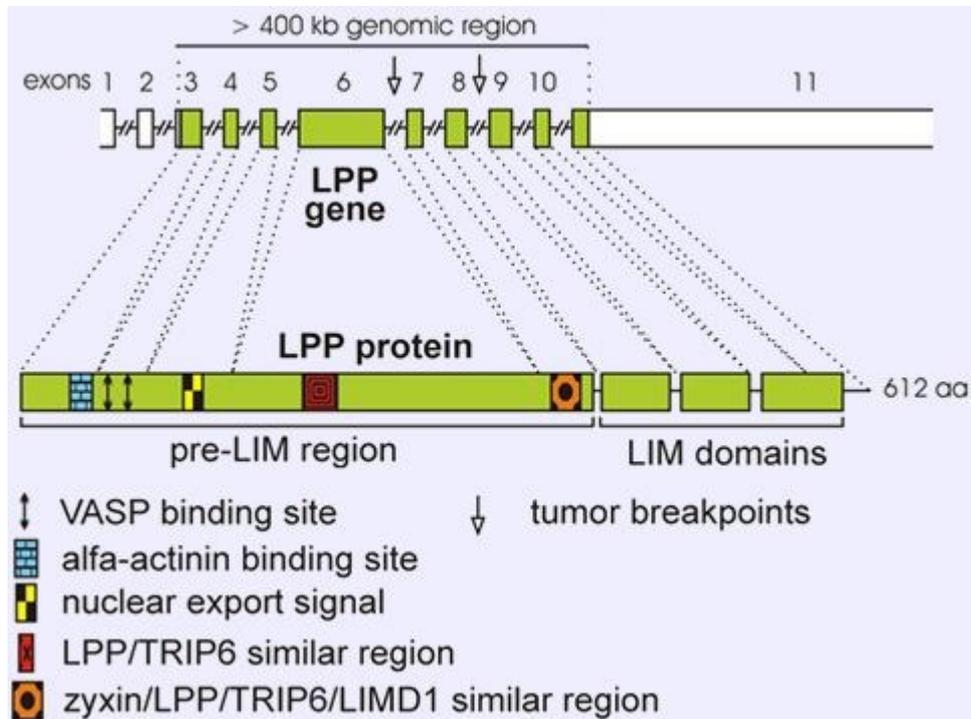


Abbildung 3: Aufbau des Proteins LPP: Quelle:

[http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/GC\\_LPP.html](http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/GC_LPP.html) (abgerufen am 03.07.2019)

Auffällig ist der sehr ähnliche Aufbau von Zyxin und LPP (Abb. 4), welcher, neben augenscheinlich gleichem Verhalten in Zellkultur, eine funktionelle Redundanz vermuten lässt<sup>12</sup>.

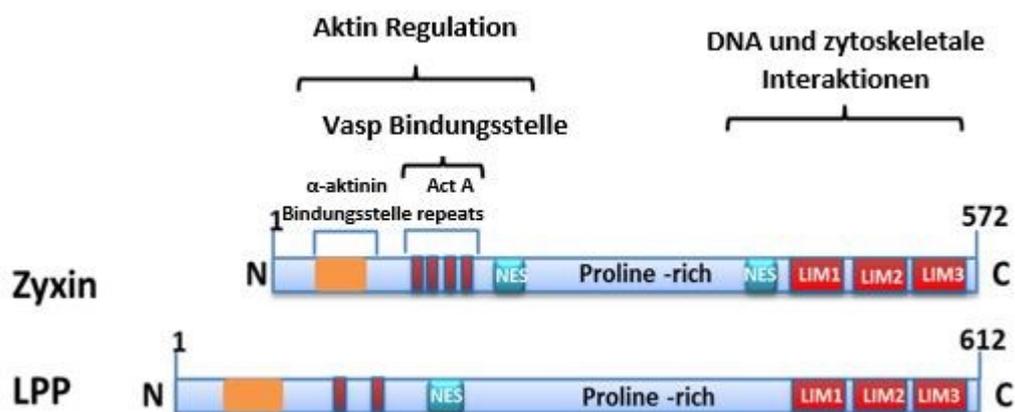


Abbildung 4: Vergleichender Aufbau LPP und Zyxin: NES – Nukleäres Export Signal; N – N-terminales Ende des Proteins, C – C-terminales Ende des Proteins, LIM – LIM-Domäne. Aus der Dissertation nach Nahar et al. 2017<sup>12</sup>;

### 3.2.1.1. Lokalisation und Expression

Man findet LPP in allen Geweben<sup>72</sup>, besonders in glatten Muskelzellen<sup>73</sup>, Fibroblasten<sup>74</sup>, epithelialen Zellen<sup>75</sup>, im Herzen<sup>72</sup> und eine besondere kurze Form in den Hoden<sup>72</sup>. In seiner Lokalisation innerhalb der Zelle, soll es sich wie Zyxin verhalten. Man findet es an fokalen Adhäsionspunkten, an Zell-Zell Kontakten sowie am Zytoskelett und es kann Bindungen mit Aktin-Stressfasern und  $\alpha$ -Actinin eingehen. Ansonsten ist es auch im Nukleus zu finden<sup>74,76-78</sup>. Vermutet wird auch eine Assoziation mit peripheren ‚dense bodies‘ in glatten Muskelzellen der Harnblase<sup>73</sup>. Es werden Kolokalisation mit Vinculin<sup>74</sup> und VASP<sup>75</sup> an fokalen Adhäsionen beschrieben, wo es u.a. mit der Protein-Phosphatase 2A (PP2A) kolokalisiert ist<sup>78</sup>.

Die Expression von LPP (gemessen an der mRNA-Konzentration) in großen arteriellen Leitungsgefäßen von Zyxin-Knockoutmäusen (im Gegensatz zu Wildtypmäusen) erreicht ihren Höhepunkt im Alter von 12 Monaten und sinkt dann wieder ab; auch auf Proteinebene nimmt die LPP-Menge in diesen Gefäßen altersabhängig ab<sup>12</sup>.

### 3.2.1.2. Interaktionspartner und mögliche Funktionen

Interaktionen mit  $\alpha$ -Actinin<sup>77</sup>, Palladin<sup>79</sup>, PEA 3<sup>76</sup>, der PP2A bzw. mit der deren regulatorischer Untereinheit PPP2R3A<sup>78</sup>, Scrib<sup>80</sup> und VASP<sup>76</sup> sind beschrieben<sup>77</sup>.

Die Regulation des LPP (und auch des Zyxin) erfolgt über ihre LIM Domänen<sup>75</sup>. Die Expression von LPP in glatten Muskelzellen steht unter der Kontrolle des Transkriptionsfaktors Serum Response Factor (SRF) und des Koaktivators Myocardin<sup>81</sup>. Auch Stickstoffmonoxid (NO) soll an der Expressionskontrolle beteiligt sein<sup>82</sup>.

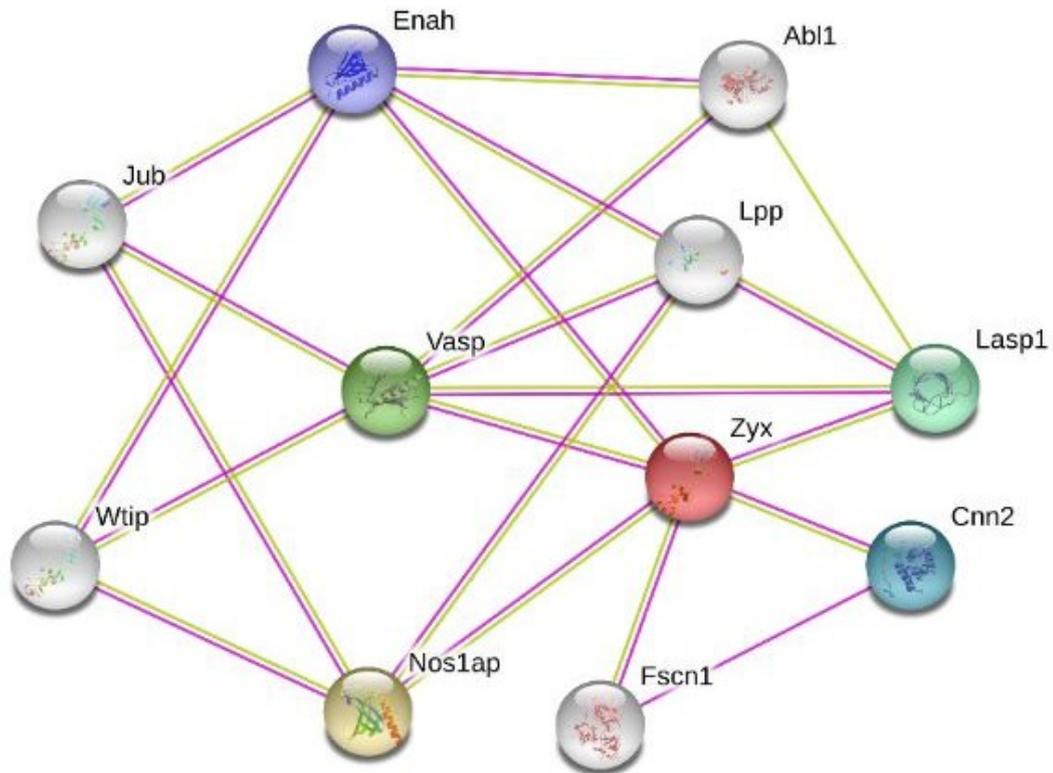
Werden vGMZ supraphysiologisch gedehnt, so transloziert LPP primär von den fokalen Adhäsionen zu den Aktin-Stressfasern und zu einem geringeren Teil in den Nukleus, es ist also mechanosensitiv<sup>12</sup>. Ist LPP in den Zellkern transloziert, kann es dort als Koaktivator von PEA 3 fungieren, einem Transkriptionsfaktor, der beispielsweise in der Onkogenese der Mamma (Brust) und der männlichen Fertilität von Bedeutung ist<sup>76,83-85</sup>.

Die ActA repeats von LPP (Zyxin), die als VASP-Bindungsstelle dienen, steuern die Zell-Zell-Adhäsion. Aktive Mutanten von LPP induzieren den Einbau von VASP in Aktin-Netzwerke<sup>75</sup>. Zusammen mit Palladin ist LPP am ‚adhesion

turnover‘ von migrierenden glatten Muskelzellen beteiligt<sup>79</sup>.

Eine katalytisch aktive Einheit bildet LPP mit der Untereinheit PR130 der Protein-Phosphatase 2A<sup>78</sup>, diese ist an diversen Stellen in der Zelle zu finden, wie z.B. an fokalen Kontakten. Explizit nicht anzutreffen ist der katalytische Komplex an festen fokalen Adhäsionen, an welchen LPP alleine zu finden ist<sup>78</sup>. In diesem Zusammenhang wurde auch eine geringere Migration und erhöhte Haftung von HT1080-Fibrosarkomzellen beschrieben, wenn die Untereinheit PR130 abgeschaltet ist. Somit ist LPP höchstwahrscheinlich auch in diesen Zellen an der Zelladhäsion und -migration beteiligt<sup>78</sup>.

Die Proliferation der vGMZ der Tunica media, inklusive des Verlustes des kontraktiven Phänotyps und anschließender Migration in die Intima, sind entscheidend an der Bildung arteriosklerotischer Plaques beteiligt<sup>31</sup>, und LPP reguliert u.a. die Migration der vGMZ<sup>81</sup>. Es gibt eine Koexpression von LPP und glattmuskelspezifischem  $\alpha$ -Aktin nach Gefäßverletzungen<sup>86</sup>. In Zellkulturversuchen mit vGMZ wurde bei Defizienz von LPP eine erhöhte 2D- und 3D-Migration sowie eine erhöhte Proliferation der Zellen beobachtet, praktisch eine Phänokopie des Knockouts von Zyxin in diesen Zellen. Dabei konnte die Ausprägung dieses synthetischen vGMZ-Phänotyps durch Überexpression von Zyxin bzw. umgekehrt durch Überexpression von LPP in Zyxin-defizienten vGMZ verhindert werden<sup>11,12</sup>. Diese funktionelle Redundanz wird auch von anderen Autoren beobachtet und beispielsweise in epithelialen Zellen beschrieben<sup>72,75</sup>. Abbildung 5 zeigt eine Übersicht über die Interaktionspartner von LPP, VASP und Zyxin.



**Abbildung 5: Molekulares Interaktionsnetzwerk von Zyxin, LPP und VASP in Mäusen:** pinke Linien – experimentell nachgewiesen, grüne Linien – aus Textdaten; Abkürzungen: Nos1ap, nitric oxide synthase-1; Fscn1, Fascin actin-bundling protein-1; Abl1, Abelson murine leukemia viral oncogenic homologue-1; Jub, Ajuba; Wtip, Wilms tumor-1 interacting protein; Lasp1, LIM and SH3 protein-1; Cnn2, calponin-2; Enah, enabled homolog; Vasp, vasodilator stimulated phosphoprotein. Quelle: Nahar et al. 2017<sup>12</sup>;

In Mausembryonen von LPP-Knockoutmäusen ist die Migrationskapazität der embryonalen Fibroblasten deutlich reduziert, die darüber hinaus eine geringere Lebensfähigkeit sowie Expression von LPP-Interaktionspartnern aufweisen<sup>72</sup>. Ein weiterer Interaktionspartner ist Scrib, welches an der Kontrolle von Zelladhäsionen und der planaren Zellpolarität beteiligt ist<sup>80,87,88</sup>. In diesem Zusammenhang wurde auch gefunden, dass ein Knockdown von LPP in Zebrafischembryonen schwerwiegende Defekte in der Konvergenz und Ausdehnung der Längsachse (engl. convergence and extension) während der Embryonalentwicklung verursacht<sup>72,89</sup>. Die Autoren vermuten eine Beteiligung an dem Wnt/PCP-Signalweg, einem nichtkanonischen planaren Zellpolaritätspfad, der für die Regulierung des Zytoskeletts und somit die Zellform verantwortlich ist<sup>89</sup>.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass LPP eine Rolle in der Migration, Proliferation und auch der Etablierung von Zell-Verbindungsstellen spielt. Es ist nicht nur direkt an der Aktin-Polymerisation<sup>82</sup> beteiligt, sondern auch im Zellkern als Koaktivator der Genexpression<sup>76</sup>. Oft wird aufgrund der sehr ähnlichen

Lokalisation, der Proteinstruktur und den Ergebnissen diverser Zellkultur-experimente eine funktionelle Redundanz mit Zyxin beschrieben<sup>11–13,72,75</sup>. Beide Proteine sind im Zellkern, am Zytoskelett und an der Zellmembran ebenso wie im Zytosol zu finden. Eine altersabhängige Expression<sup>12</sup> von LPP scheint gesichert zu sein, die bereits embryonal Einfluss auf die Entwicklung nimmt<sup>72,89</sup>.

### 3.2.2. In vivo

Es ist eine höhere Sterblichkeit bei weiblichen Embryonen und eine geringere Fertilität der adulten femininen Tiere beschrieben<sup>72</sup>. Die Autoren halten die Mäuse ansonsten makroskopisch für unauffällig. Untersuchungen an 3 Monate alten LPP-Knockoutmäusen zeigten einen niedrigeren Widerstandsindex der A. femoralis, eine höhere Blutdruckamplitude im DOCA-Salz-Hypertoniemodell und ein um 10% reduziertes Körpergewicht<sup>12</sup>. Die basale Herzfrequenz soll, der kleineren Körpergröße geschuldet, erhöht sein<sup>12</sup>.

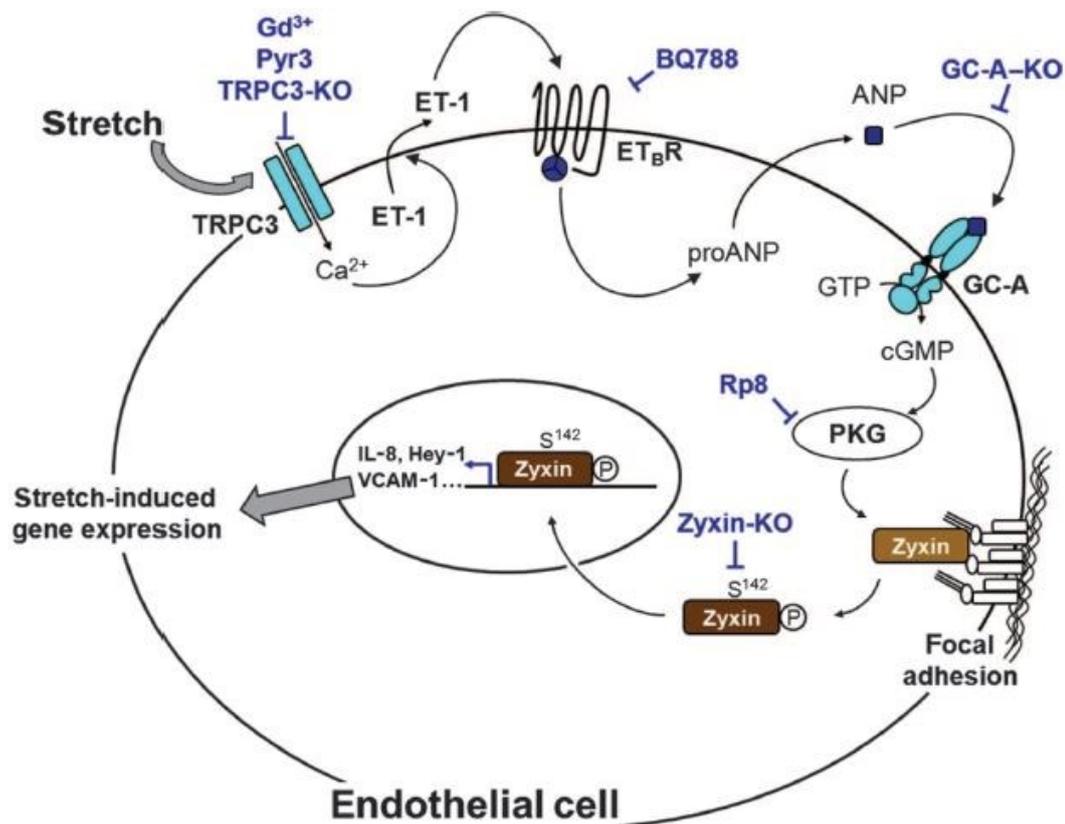
### 3.3. Zyxin

Zyxin ist dafür bekannt, dass es an fokalen Adhäsionen, im Zellkern und an Stressfasern (mit  $\alpha$ -Aktinin und VASP) zu finden ist<sup>34</sup>. Auch eine Beteiligung an der Registrierung von Kräften, die auf die Stressfasern wirken (Dehnung) und damit verbundener Genexpression, ist beschrieben<sup>9,90</sup>. Es ist ferner an der Regulierung des Auf- und Abbaus von Aktin sowie an der Reparatur beteiligt<sup>34</sup>. In supraphysiologisch gedehnten Endothelzellen transloziert Zyxin primär in den Zellkern, wo es als Transkriptionsfaktor für mechanosensitive Gene fungiert (siehe unten).

Im Mausmodell sind ohne Behandlung keine Unterschiede zwischen Zyxin-KO und Wildtyp-Tieren beschrieben<sup>91</sup>. Nach experimenteller Induktion eines Bluthochdrucks wird allerdings ein altersabhängiger Phänotyp beschrieben, der sich in jüngerem Alter mit einem kardialen Schwerpunkt, der im Alter erhalten bleibt, und im höheren Alter (18 Monate) mit vakulären Veränderungen präsentiert<sup>12,13</sup>. Bei der Untersuchung des Herzens fiel in der Echokardiographie eine Tendenz zur systolischen und diastolischen Dysfunktion im Sinne einer restriktiven Kardiomyopathie auf, welche in der Histologie mit exzessiver Fibrose und einer erhöhten Apoptose der Kardiomyozyten bestätigt werden konnte<sup>12,13</sup>. Die Autoren vermuten eine massive Zunahme der Fibrosierung durch eine *endothelial-to-mesenchymal transition* (EndoMT) infolge der Zyxin-Defizienz<sup>13</sup>. Vaskulär wird

ein geringerer peripherer Widerstand beschrieben, assoziiert mit einer Destabilisierung der extrazellulären Matrix, allerdings nur bei den 18 Monate alten Tieren<sup>13</sup>. Ursächlich für die Altersabhängigkeit soll die Kompensation durch LPP sein, welches zumindest in kultivierten vGMZ den Verlust von Zyxin kompensieren konnte<sup>12,13,90</sup>. Während die Hypertonie-assoziierten Blutdruckveränderungen der Tiere im Alter von 6 Monaten vergleichbar mit denen der Wildtypkontrollen sind, steigt mit 12 Monaten der systolische Blutdruck kaum noch an und im Alter von 18 Monaten bleiben sowohl der systolische als auch der diastolische Blutdruck der Zyxin-Knockoutmäuse deutlich hinter den Werten der altersgleichen Wildtypkontrollen zurück<sup>13,90</sup>.

Für Endothelzellen ist der Mechanismus der Zyxinaktivierung an den fokalen Adhäsionen und dessen Wirkung im Zellkern bereits geklärt (Abb. 6):



**Abbildung 6: Dehnungsbedingte Aktivierung von Zyxin in vaskulären Endothelzellen:** Blau gekennzeichnet sind Inhibitoren des jeweiligen Signalwegs bzw. die entsprechenden Knockoutmäuse, Quelle: Mechanism of Stretch-Induced Activation of the Mechanotransducer Zyxin in Vascular Cells (aus Babu SS et al. 2012)<sup>10</sup>.

### III. MATERIAL UND METHODEN

#### 1. Material

##### 1.1. Standardlösungen

Chemikalien wurden über das Chemikalienlager des Zentralbereichs im Neuenheimer Feld bzw. direkt beim Hersteller besorgt. Zulieferer sind die Firmen AppliChem (Darmstadt), Bio-Rad (Dreieich), Merck (Darmstadt), Roth (Karlsruhe), Sigma-Aldrich (gehört zu Merck; Darmstadt), Thermo Fisher (Dreieich). Standardchemikalien, die von jedem beliebigen Hersteller bezogen werden können, werden nicht weiter aufgeführt. Dasselbe gilt für Standardverbrauchsmaterial, wie beispielsweise Pipettenspitzen.

Im folgenden (Tab. 2) sind spezielle Chemikalien aufgelistet:

**Tabelle 2: spezielle Chemikalien:**

Chemikalien				
Chemikalie			Hersteller	Artikelnummer
<b>Färbungen</b>				
Elastika – Färbung, Kit (Eisenhämatoxilin Lösung A + B, Resorcin-Fuchsin-Lösung nach Weigert, van Gison Lösung)			Roth	X877
Mayers Hämalaun			Roth	T865
Sirius Rot				
<b>Genotypisierung</b>				
Desoxy-Nukleosidtriphosphate (dNTPs)			Bioron	110011
Primer (Bezeichnung, Sequenz)				
LPP	WT (KosB)	forward	5' TTCCAGTTTCTCAGCTTAG 3'	1000bp
		reverse	5' CTGGACTATTGCTTGGTGAC 3'	
	KO (LacZ)	forward	5' GCATCGAGCTGGGTAATAAGCGTTGGCAAT 3'	800bp
		reverse	5' GACACCAGACCAACTGGTAATGGTAGCGAC 3'	
Zyxin	WT (WTF, WTR)	forward	5' TACAAGGGCGAAGTCAGGGCGAGTG 3'	327bp
		reverse	5' TGGACGAAGTTTCCGTGTGTTG 3'	
	KO (Zyx/NEOTarget, WTR)	forward	5' GACCGCTTCCTCGTGCTTAC 3'	473bp
		reverse	5' TGGACGAAGTTTCCGTGTGTTG 3'	

Chemikalien		
Chemikalie	Hersteller	Artikelnummer
Proteinase K	Sigma-Aldrich	P4850
Taq Polymerase Kit (SuperHot TacPolymerase)	Bioron	

Verwendete, bzw. selbst gemischte Lösungen sind im Folgenden aufgeführt (Tab. 3):

**Tabelle 3: Lösungen:**

Lösungen	
Lösungen/ Puffer	Zusammensetzung
1,5% Argarose Gel	1,5% w/v Argarose, 4µl Ethidiumbromid in TBE
Biebricher Scharlach-Säure Fuchsin Lösung	1% Biebrich Scharlach 90ml, 1% Fuchsin Säure 10ml, Essigsäure 1ml
DNA Lysepuffer	1ml 10x Stammuffer (670 mM Tris-HCl pH 8,8, 166 nM Ammoniumsulfat, 65mM MgCl <sub>2</sub> ), 0,1ml (1% v/v) β-Mercaptoethanol, 50 µl (0,5% v/v) Triton X-100, ad 10ml steriles und doppeldestilliertes H <sub>2</sub> O
Hydroxyethylpiperazin-Ethansulfonsäure-Puffer (HEPES) - Tyrode Puffer	Pulvermedium auflösen und mit NaOH auf pH 7,2 einstellen
PCR Ladepuffer	10mM TRIS-HCl pH 7,5, 10mM EDTA pH 8,0, 30% v/v Glycerol, 0,01% Xylen Grün, 0,1% Bromophenolblau
PCR Replikationspuffer	2,5 µl 10x Complete buffer, 1µl dNTP, je 1µl Primer Vorwärts/Rückwärts, 0,2µl Taq Polymerase, 18,3µl steriles und doppeldestilliertes H <sub>2</sub> O
4% Paraformaldehyd (PFA)	4 % PFA, 96% 1 x PBS Puffer
Phosphatgepufferte Salzlösung (PBS), pH 7,4	10x: 1,37M Natriumchlorid, 27mM Kaliumchlorid, 81 mM Natriummonohydrogenphosphat, 15 mM Kaliumdihydrogenphosphat 1x: 10% 10x PBS
Phosphormolybdänsäure-Wolframatophosphorsäure Lösung	5% Phosphormolybdänsäure 35ml, 5% Phosphorwolframsäure /Wolframatophosphorsäure 35ml
Siriusrot-Färbelösung	0,1% Siriusrot in 1,3% Pikrinsäurelösung
TRIS-Borat-EDTA-Puffer (TBE)	10x TBE: 90mM TRIS-HCl, 73mM Borsäure, 3mM EDTA

## 1.2. Geräte und Verbrauchsmaterial

Verbrauchsmaterial und verwendete Geräte sind nach Methodik unterteilt.

### 1.2.1. Tierraum

Für die Tierversuche verwendete Geräte sind in Tabelle 4 aufgeführt:

**Tabelle 4: Geräte Tierraum:**

Geräteliste Tierraum		
Gerät	Hersteller	Typenbezeichnung
Absaugung	Groppler	LAS Lab Active Scavenger
Blutdruckmessung (nicht invasiv)	Kent Scientific	CODA High Throughput System
Blutdruckmessung (invasiv)	DSI, New Brighton MN, USA	Komplettes System & Sonden des Types PA-C10
Infrarotthermometer	VOLTCRAFT	IR 900-30S
Käfiganlage Mäuse	Tecniplast S.P.A.	GM500 DGM
Kamera (für das Mikroskop im Tierraum)	Canon Digital	IXUS 85 IS
Operationsmikroskop	Leica	Leica Wild M650
Oxygenator (Sauerstoffkonzentrator OxyCare)	Philips Respironics, Murrysvill/PA, USA	EverFlow #02
Rasierapparat	B. Braun Aesculap	Isis GT 4200
Sonographiegerät und Zubehör (Ultraschallsonden Halterung, Schienensystem, Wärmeplatte mit Elektroden)	FUJIFILM VisualSonics, Toronto/ON, CAN	Vevo® 2100 Imaging System und Imaging Station
Ultraschallsonde für die Echokardiographie	FUJIFILM VisualSonics, Toronto/ON, CAN	MicroScan™ MS550D und MS700
Verdampfer (Isofluran)	Groppler Medizintechnik, Deggendorf	UniVet Porta
Waage	Kern	PLS 8000-2A
Wärmelampe	Philips	Incandescent 230 V Par38E 10461
Wärmeplatte	Labotect	Hot Plate 062

### 1.2.2. Histologie

In Tab. 5 finden sich Geräte, die zur Herstellung und Untersuchung histologischer Präparate verwendet wurden.

**Tabelle 5: Geräte Histologie:**

<b>Geräteliste Histologie</b>		
<b>Gerät</b>	<b>Hersteller</b>	<b>Typenbezeichnung</b>
Heiz- und Rührplatte	Heidolph	MR2002
Kühlgerät (Paraffinblöcke)	Leica Biosystems	Leica EG 1140C
Laborabzug (Histologie)	Laborbau Grittmann	Abzug B120
Mikroskop (Lichtmikroskop)	Carl Zeiss	Axiovert 25
Mikroskop (Lichtmikroskop), automatisiert	TissueGnostics, TissueFAXS Vers. 4.2.1026	Objektiv NPL 25/0,35 (Zeiss), 20x Vergrößerung
Mikrotom	Leica Biosystems	Leica RM2124 RTS
Orbitalrührer	Biometra	WT12
Paraffin Schmelzer und Gießer	Leica Biosystems	Leica EG 1120
Wärmeschrank (Paraffin)	Memmert	UN30pa

Die verwendeten Materialien zur Fixation der Präparate finden sich, ausgenommen der Chemikalien (s. Tab. 3), in Tab. 6:

**Tabelle 6: Verbrauchsmaterial Histologie:**

<b>Verbrauchsmaterial Histologie (ausgenommen Standardmaterial)</b>		
<b>Verbrauchsmaterial</b>	<b>Hersteller</b>	<b>Artikelnummer</b>
Deckglas 15 mm	Thermo Scientific	10474379
Eindeckmedium Eukitt	Kindler GmbH	03989-100ML
Eindeckmedium Mowiol	Cal Biochem	475904
Objektträger	Thermo Scientific	AAAA000001##12E
Paraffin (Paraplast plus)	Leica	39602004

### 1.2.3. Sonstige Geräte

Sonstige Geräte, die für die Genotypisierung, Aufbewahrung der Proben sowie Datenverarbeitung und –speicherung gebraucht wurden finden sich nachfolgend (Tab. 7):

**Tabelle 7: Sonstige Geräte:**

Geräteliste		
Gerät	Hersteller	Typenbezeichnung
Autoklav	Tuttnauer	5050 EL
Bildschirm	Samsung Dell	SyncMaster 913TM 2009 WI
Durchmischer	Scientific Industries	Vortex-Genie 2
Kühl- und Gefrierschrank	Liebherr	CNP 4313
-80 C Gefrierschrank	Sanyo	Vip-series
Agarose Gelstation	Biometra	Power Pack 25
Mikrowelle	Samsung	MS 28 F 301 TFS
PC	Lenovo Lenovo	Laptop V110-15IAP ThinkCentre
PCR Geräte zur Detektion	Qiagen PeQLab	RotorGene Q Primus 96 advanced
Thermocycler	Eppendorf	Mastercycler personal
Waagen	Kern Kern Sartorius	EW 820-2NM PFB 600-2M BP121S
Zentrifuge	Thermo Electron Corporation	Heraeus Pico 21 Centrifuge

### 1.3. Tiere

Für diese Studie sind ausschließlich männliche Tiere verwendet worden. Die Wildtypen sind vom Inzuchtstamm C57BL/6J. Die Knockouts basieren auf demselben genetischen Hintergrund mit globaler Defizienz des jeweiligen Genes.

#### 1.3.1. Herkunft

Wildtyp (WT) Kontrollen C57BL/6J wurden zugekauft von Charles River Laboratories Germany GmbH und Janvier Labs.

Alle Knockout (KO) Mäuse stammen aus eigener Zucht und Haltung.

Die Zyxin-KO Mäuse sind: **Zyx<sup>tm1MbK</sup>** (ES-Zellen von 129SvJ/GS in Blastozysten von C57BL/6J), mindestens 12-mal auf den C57BL/6J-Hintergrund zurückgekreuzt. Es liegt eine ubiquitär fehlende Expression von Zyxin vor<sup>91</sup>.

Die LPP-KO Tiere sind: LPPko (ES-Zellen von 129SvJ/Ola E14 in Blastozysten von BL57BL/6J)<sup>72</sup>; diese als kryokonservierte heterozygote Embryonen erhaltenen Tiere wurden mindestens 10-mal auf den C57BL/6J-Hintergrund zurückgekreuzt.

Es liegt eine ubiquitär fehlende Expression von LPP vor. Bei der Generierung wurde eine Transkriptionsstop-Kassette in das Exon 5 inseriert.

### 1.3.2. Haltungs-, Operations- & Narkose Material

Folgendes Material wurde für die Tierversuche benötigt (Tab. 8):

**Tabelle 8: Tierversuchsverbrauchsmaterial:**

Operations- & Narkose Material		
Verbrauchsmaterial	Hersteller	Artikenummer
Spritzen	BD Plastipak	
Antiseptikum: Kodan Tinktur forte Jodsalbe (Braunovidon®)	Schülke & Mayr Braun, Melsungen	104012 1388955
Augensalbe (Augen- und Nasensalbe) Bepanthen®	Bayer Vital GmbH, Leverkusen	2182442
CO <sub>2</sub> Filter	Bickford inc.	
DOCA-Salz-Pellets (50mg)	Innovativ research of America, Sarasota, FL, USA	Cat. No. M-121
Einstreu (Käfig)	ABEDD Vertriebs GmbH	LTE E-002
ECG Gel (Skintact)	Leonhard Lang GmbH, Innsbruck, AUT	58322
Enthaarungscreme (Veet Haarentfernungs-Creme; Silk + Fresh sensible Haut)	Veet RB Healthcare	8218535
Faden (Seide) 6/0	FST	18020-60
Klebestreifen (Fixation der Tiere in Narkose)	Transpore 3M	1527-1
Futter	LASvendi, Soest	D.Rod 18-A07
Gewebehaken		selbst hergestellt
Gewebekleber (Truglue®)	Trusetal Verbandstoffwerk GmbH	
Gleitgel (Aquagel)	Parker Laboratories, Fairfield/NJ, USA	REF 57-05
Handschuhe	Semperguard	Ansell Nitrile
Handschuhe (steril)		

<b>Operations- &amp; Narkose Material</b>		
<b>Verbrauchsmaterial</b>	<b>Hersteller</b>	<b>Artikelnummer</b>
Isofluran	Isofluran Baxter	HAGG9623 Zulassungs-Nr. 30240.00.00
Kohlefilter Omincon flair (für Isofluran)	Bickford Lab Technologies	80120
Lokalanästhetikum: Xylocain-Spray	Astra Zeneca	Dosierung: 10mg/Sprühstoß
NaCl 0,9% ad Inj.	B. Braun Melsungen AG	
Nahtmaterial Prolene 6/0, 45cm, 3/8 Nadel schneidend	Ethicon	MPP 8695 H
Nicht-steroidales Antiphlogistikum: Carprofen 50mg/ml (Rimadyl ®)	Zoetis Deutschland GmbH, Berlin	Dosierung: 5-10mg/kg
Reinigungstücher „Cleanisept Wipes“	Dr. Schumacher GmbH	REF 00-208-D100
Tücher	Lucart Professional	Strong 100 V
Ultraschallgel	Dahlhausen	8825881
Wasser	Leitungswasser Heidelberg (INF)	
Wattestäbchen	Neo Lab ®	2-1021

#### 1.4. Software

Die zur Erhebung und Auswertung der generierten Daten verwendeten Computer-Programme finden sich in Tab. 9:

**Tabelle 9: Computer-Programme:**

<b>Programme</b>		
<b>Programm</b>	<b>Hersteller</b>	<b>Version</b>
<b>Statistik</b>		
Bias für Windows	Epsilon Verlag	11.01
IBM®SPSS Statistics 24.0.0.0 – 64bit	IBM	24.0.0.0 – 64bit
MedCalc©	MedCalc Software bvba	18.9.1 – 64bit
<b>Schreiben &amp; Abbildungen</b>		
Microsoft Office	Microsoft	Professional Plus 2016
GraphPad Prism	GraphPad Software San Diego, CA	GraphPad Prism 5

<b>Programme</b>		
<b>Programm</b>	<b>Hersteller</b>	<b>Version</b>
<b>Auswertung &amp; Aufnahmen</b>		
Auswertung der echokardiographischen Aufnahmen	FUJIFILM VisualSonics, Toronto/ON, CAN	Vevo LAB Version 3.1.1
Tissue Quest	TissueGnostics GmbH	4.01.0137
TissueFAXS		4.2.1026

## **2. Methoden**

Im Folgenden ist die Durchführung der Versuche beschrieben.

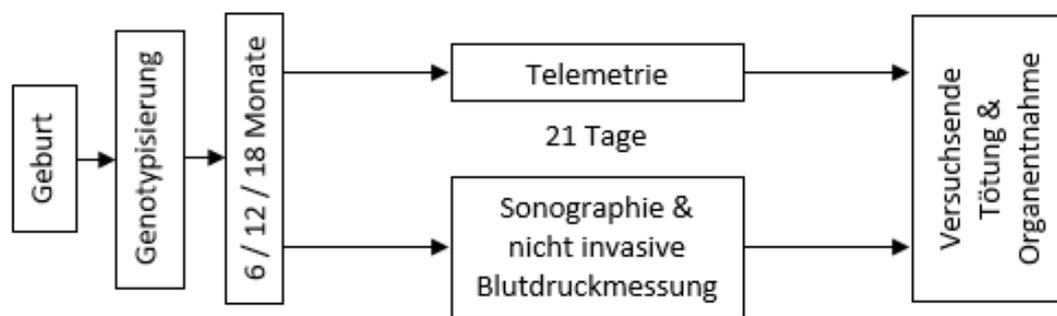
### **2.1. Haltung und Unterbringung der Tiere**

Die Züchtung und Unterbringung der Tiere (auch der zugekauften Tiere) erfolgte bis zwei Wochen vor Versuchsbeginn in der Interfakultären Biomedizinischen Forschungseinrichtung (IBF) der Universität Heidelberg. Für eine Eingewöhnungszeit von zwei Wochen und die Dauer der Versuche wurden die Mäuse in den Räumen des Instituts für Physiologie und Pathophysiologie, Abteilung Herz- und Kreislaufphysiologie, der Universität Heidelberg gehalten. Hier wurden die Böcke nach der DOCA-Salz-Implantation oder zuvor schon bei erkennbaren, das Wohlbefinden der Tiere einschränkenden, Rankämpfen einzeln gehalten. Die individuell belüfteten Käfige (engl. individual ventilated cages, IVC) wurden mit Futter und Wasser ad libitum, sowie Einstreu und Nestbaumaterial ausgestattet. Die Tiere wurden bei 22 – 24 °C, einem 12 h Lichtzyklus (von 6:20 – 18:20) und möglichst lärmarm gehalten. Beide genannten Einrichtungen (IBF, Physiologie) verfügen über die entsprechenden Genehmigungen nach §11 Tierschutzgesetz (TierSchG).

### **2.2. Versuchsablauf**

Die Tiere sollen ein Alter von 6 Monaten im Falle der Zyxin-KO Mäuse, und 12 bzw. 18 Monate im Falle des LPP-Knockouts samt entsprechender Vergleichsgruppe erreichen. Im entsprechenden Alter werden die Mäuse entweder einer intraarteriellen Blutdruckmessung (siehe Telemetrie) oder einer sonographischen Untersuchung (siehe Sonographie) unterzogen. Es soll der Ausgangszustand (basal, Tag 0) und unter Hypertonie (Tag 21), ausgelöst durch

eine DOCA-Salz-Behandlung, untersucht werden. Im Verlauf des Tierversuches wurde für die Ultraschallgruppen die Blutdruckmessung mit dem CODA-System nachbeantragt, ebenso ein zusätzlicher sonographischer Untersuchungszeitpunkt an Tag 10. Der Zyxin-Knockout wurde bereits in früheren Studien untersucht und da hier nur eine zusätzliche Altersgruppe nachträglich untersucht wird, findet sich im Ergebnisteil das Hauptaugenmerk auf der LPP-KO Gruppe. Alle Tierversuche wurden unter dem Aktenzeichen AZ35-9185.81/G217/14 geführt und vom Regierungspräsidium Karlsruhe genehmigt. Tötungen zu wissenschaftlichen Zwecken liefen unter dem Aktenzeichen AZ35-9185.81/T62/17. Abbruchkriterien siehe Anhang XI 1.5.



**Abbildung 7: Schematische Darstellung des Versuchablaufes:** von der Geburt bis zur Tötung und Organentnahme

### 2.3. Dokumentation und Überwachung der Tierversuche

Den Rechtsvorschriften entsprechend wurden Habitus und Haltungsbedingungen der Tiere täglich kontrolliert. Auf die im Tierversuchsantrag genannten Abbruchkriterien (S. XI 1.5) sowie die exakte Durchführung nach Genehmigung wurde besonders geachtet. Die entsprechenden Dokumentationen wurden geführt.

### 2.4. Genotypisierung der Tiere

Zur Kontrolle wurden die aus eigener Zucht stammenden Mäuse alle auf Existenz bzw. Absenz der betreffenden Gene sowohl kurz nach dem Absetzen vom Muttertier als auch nach Versuchsende untersucht. Ohrlochstanzen, vor 2018 auch Schwanzspitzenbiopsien, die bei der Tiermarkierung anfallen (bzw. für eine zweite Absicherung auch Leberstücke, die bei der Organentnahme konserviert wurden), wurden verwendet, um DNA zu gewinnen. Diese wurden mit 140 µl DNA Lysepuffer und 7 µl Proteinase K über Nacht bei 56 °C inkubiert. Darauf folgten 10 Minuten bei 95 °C mischen und anschließend zentrifugieren (13000rpm, 10min.). Der Überstand wurde abgenommen und, falls nicht gleich untersucht

wurde, zwischengelagert bei 7 °C. Für die Polymerase-Kettenreaktion (PCR vom engl. polymerase chain reaction) wurden je Probe 24 µl PCR Replikationspuffer und 1 µl DNA-Überstand zusammen pipettiert. Für die LPP-Genotypisierung siehe auch „Targeted disruption of the mouse Lipoma Preferred Partner gene“ (Vervenne et al.)<sup>72</sup> und für die Zyxin-Genotypisierung „Targeted Disruption of the Murine zyxin Gene“ (Hoffman et al.)<sup>91</sup>.

**Tabelle 10: Cycler Programme für die LPP / Zyxin Genotypisierung:**

Cycler Protokoll für Genotypisierungs-PCRs			
Reaktionsschritt	Dauer (LPP/Zyxin)	Temperatur	
Initiale Denaturierung	2 / 5 min	95 °C	
Denaturierung	30 / 30 sec	95 °C	36 / 35 Zyklen
Annealing	45 / 30 sec	59 / 58 °C	
Elongation	30 / 50 sec	72 °C	
Abschließende Elongation	5 / 3 min	72 °C	
Ende	∞	4 °C	

Nach der DNA-Replikation (Zyklen, Tab. 10) wurden dem Gemisch 5 µl PCR-Ladepuffer hinzugefügt und das Gemisch auf ein 1,5 % Argarosegel aufgetragen. Nach elektrophoretischer Auftrennung der DNA-Fragmente bei 120V wurden die Banden unter UV-Licht detektiert.

## 2.5. Narkose & Narkoseüberwachung

Die Narkose wurde mit einem Isofluran-Luftgemisch eingeleitet (3%) und mit ca. 1-2 % aufrechterhalten (siehe Ergebnisse). Die Tiere wurden unter Spontanatmung auf einer Wärmeplatte (37 °C) fixiert und bei abfallender Körpertemperatur zusätzlich mit Wärmelampen beleuchtet. Bei schmerzhaften Eingriffen oder erkennbaren Schmerzen wurde, wie im Tierversuchsantrag beschrieben, Carprofen in einer Dosierung von 10 mg/kg subkutan (sc.) verabreicht.

Zur Überwachung der Narkose wurde rektal die innere Körpertemperatur (IKT)

gemessen. Durch ein Elektrokardiogramm (EKG) wurde die elektrische Herzaktivität bzw. die Herzfrequenz überwacht. Die Vevo® Plattform ist zusätzlich in der Lage, die Atemfrequenz zu registrieren. Vor operativen Eingriffen wurde die chirurgische Toleranz mittels Zwischenzehen- und Lidschlussreflex getestet.

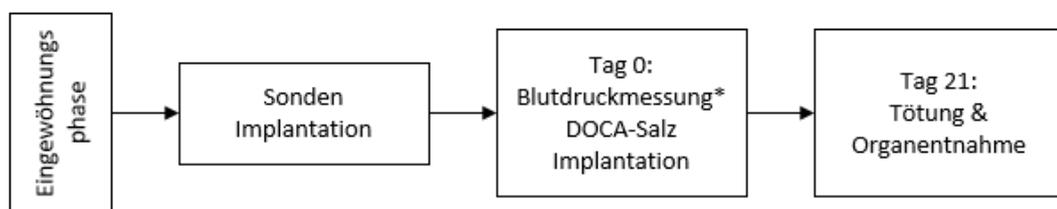
Protokolliert wurden Anfangs- und Endzeit, IKT, Medikation, Herz- und Atemfrequenz und etwaige Besonderheiten.

## 2.6. Blutdruckmessung

### 2.6.1. Invasive Blutdruckmessung mittels intraarteriell implantierter Telemetrie-Sonden

Zirka eine Woche vor der DOCA-Salz-Implantation wurde bei den für die invasive Blutdruckmessung vorgesehenen Mäusen eine Telemetriesonde PA-C10 von DSI, Frankfurt a.M., nach Herstellerempfehlung implantiert. Operationszugang ist die ventrale Halsseite mit medianem, ca. 1 cm langem Schnitt. Der Katheter wird durch die freigelegte und craniumnah ligierte linke A. carotis communis bis in den Aortenbogen vorgeschoben. Der Batterieteil wird bei den Mäusen gewichtsabhängig entweder rechts (< 30 g) oder links (> 30 g) in einer subkutanen Tasche in der Regio abdominalis media platziert. Als Analgesie wurde gemäß Tierversuchsantrag Carprofen (10 mg/kg) intraoperativ und alle 12-24 h bis zu zwei Tage post OP verabreicht.

Versuchsablauf der für die Telemetrie vorgesehenen Tiere:



**Abbildung 8: Übersicht Ablauf Telemetrie-Gruppen:** \* Kontinuierliche Blutdruckmessung bis Tag 21

Da die Arterie (A. carotis communis) beim Vorschieben des Katheters in den LPP-Knockoutmäusen oft riss oder es zu einer Dissektion kam, wurde der Versuch abgebrochen und auf die invasive Blutdruckmessung bei diesen Tieren verzichtet.

Bei den 6 Monate alten Zyxin-Knockoutmäusen bzw. Wildtypkontrollen funktionierte die Implantation der Telemetriesonden ohne größere Probleme, jedoch ließen technische Probleme der Katheter bzw. eine Thrombusbildung im Bereich des Katheters die Anzahl der verwertbaren Ergebnisse so stark schrumpfen, dass auch hier keine aussagekräftige Auswertung möglich war.

### **2.6.2. Nicht-invasive Blutdruckmessung mittels CODA® mouse tail-cuff system (Kent Scientific)**

Die nicht-invasive Blutdruckmessung wurde mittels Volumen-Druck-Verlauf basierter Messtechnik (Volume Pressure Recording, VPR) der Blutgefäße des Schwanzes durchgeführt. Wie vom Hersteller empfohlen, wurden die Tiere an die Restrainer, durchsichtige Plexiglasröhren zur Fixierung der Tiere, ab drei Tage vor Messbeginn gewöhnt. Es wurde zur Messung eine Schwanztemperatur über 32 °C eingehalten, die für die Tiergröße empfohlenen Messmanchetten benutzt und die empfohlenen Aufnahmemodalitäten eingestellt. Fünf Eingewöhnungszyklen und zwanzig reguläre Aufnahmezyklen sollten den Fehler durch etwaige Störfaktoren, wie etwa Bewegungsartefakte und andere fehlerhafte Zyklen, die von der Auswertung ausgeschlossen wurden, reduzieren. Mindestens zehn systolische und zehn diastolische Blutdruckwerte wurden gemittelt und so der Tageswert bestimmt. Es wurde bei der Ultraschall-Gruppe an Tag 0, 7, 14 und 21 gemessen. Da diese Blutdruckmessung im Laufe des Tierversuches nachbeantragt wurde, fehlen, insbesondere bei den Zyxin-KO Tieren, Daten.

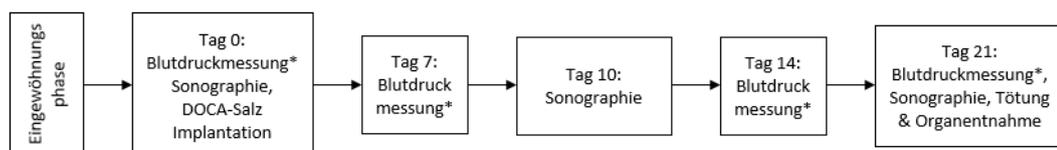
### **2.7. Deoxycorticosteronacetat (DOCA)-Salz-Implantation**

Die Tiere wurden in Narkose nach der Ultraschall-Untersuchung an Tag 0 (s. 2.8) bzw. ca. 1 Woche nach Telemetriesonden-Implantation (2.6.1) auf einer Wärmeplatte mittels Klebestreifen fixiert und auf chirurgische Toleranz getestet. Der Rücken wurde mit Enthaarungscreme (s. Tab. 8) enthaart, mit einem Antiseptikum desinfiziert und auf Freiheit von Haaren kontrolliert. Ein etwa 1 cm langer Hautschnitt wurde transvers auf Höhe der Lendenwirbelsäule gemacht und eine subkutane (sc.) Tasche nach kranial bis zwischen die Schulterblätter geformt. Die DOCA-Salz-Tablette wurde dort platziert, die Wunde mit 6/0 Prolene-Faden verschlossen und abschließend mit Povidon-Jod-haltiger Salbe desinfiziert. Lidocain-Spray wurde, sowie bei Bedarf (Anzeichen für bzw. zu erwartende

Schmerzen) Carprofen, zur Analgesie eingesetzt.

## 2.8. Echokardiographie und Duplex-Sonographie

Die Tiere wurden in Narkose rasiert und mit Enthaarungscreme (s. Tab. 8) enthaart in den Regiones costalis, sternalis, abdominalis cranialis sowie femoralis und an Tag 0 (T 0) zusätzlich noch in der Regio lumbalis. Auf der zum Echokardiographiegerät gehörenden Wärmeplatte wurden die Mäuse mittels Klebestreifen fixiert, auf relevante Stellen Ultraschallgel aufgetragen und die Narkose, wie oben (2.5) beschrieben, überwacht. Als Erstes wurde in der linken Arteria femoralis im 0° und 45° Winkel (Sonographiesonde zu Wärmeplatte) mittels Pulsed-wave-Doppler (PWD) der Blutfluss mit der MS 700 Ultraschallsonde aufgenommen. Der Winkel zwischen Arterie und Sonde betrug dabei max. 45°. Daraufhin wurde auf die Ultraschallsonde MS 550D gewechselt und das Herz in Kurz- und Langachse im Brightness- (B-Mode, s.u.) und Motion-Mode (M-Mode) aufgenommen. Anschließend wurde im apikalen Vierkammerblick der Mitralklappenblutfluss mittels PWD und die septumnahe Anulus Mitralis Bewegung mit Gewebe-Doppler (engl. Tissue-Doppler, TD) detektiert. Im rechten und linken Ausflusstrakt wurde mittels PWD der Blutfluss aufgezeichnet. Bei einigen Tieren wurde zusätzlich eine M-Mode Aufnahme der Aorta abdominalis aufgenommen. Übersicht des zeitlichen Ablaufs (Abb. 9):



**Abbildung 9: Übersicht Ablauf Sonographie-Gruppen:** \* nicht-invasive Blutdruckmessung mit dem CODA® System (s.o.),

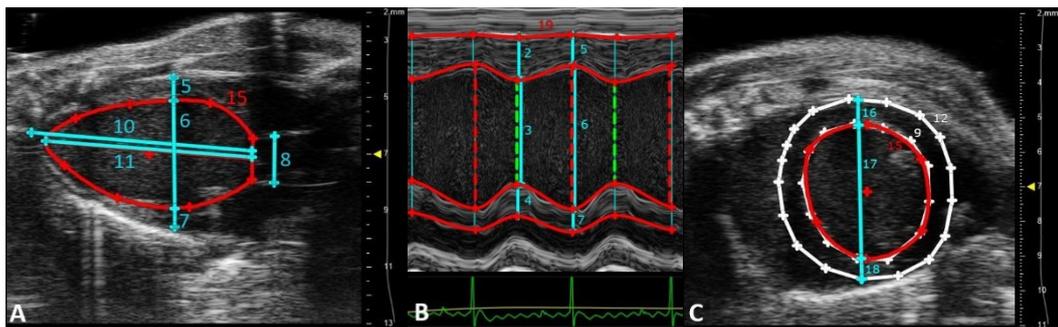
Nachfolgend sind die technischen Aufnahmeeinstellungen und Ausnahmemodi der Ultraschallaufnahmen für die verschiedenen Aufnahmeebenen der Gefäße bzw. des Herzen aufgeführt (Tab. 11):

**Tabelle 11: Aufnahmeeinstellungen der Sonographie:** A. – Arteria, PSLAX – Parasternale Längsachsen-Aufnahme, SAX – Kurzachsen-Aufnahme (engl. short axis), APIC4 – Apicaler 4 Kammerblick, AAo – ascendierende Aorta, PWD –

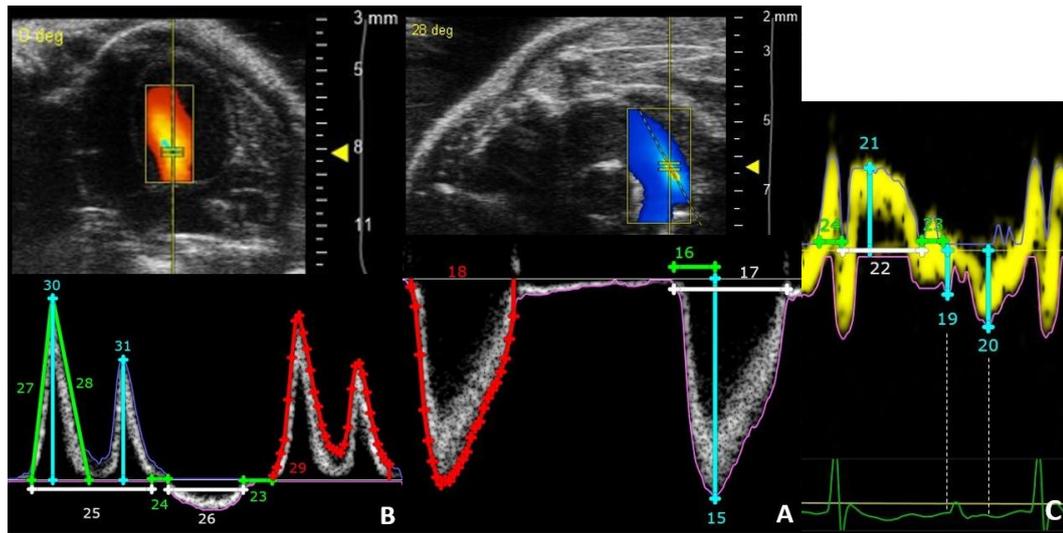
Pulsed wave Doppler, dB – Dezibel,

Aufnahmeeinstellungen		
Aufnahme	Modus	Einstellungen (Frequenz; Gain; ggf. Eindringtiefe x -breite; dynamischer Bereich; ggf. Winkel der Doppler- bzw. M-Modeachse)
A.femoralis	PWD	Variante 1: MHz; dB; dB; 0° Variante 2: MHz; dB; dB; 45°
PSLAX	B-Mode M-Mode	40MHz; 25dB; 13 x 12,08mm; 60dB 40MHz; 25dB; 60dB; 0°
SAX	B-Mode M-Mode	40MHz; 25dB; 11 x 09,08mm; 60dB 40MHz; 25dB; 60dB; 0°
APIC4	PWD TD	32MHz; 29dB; 35dB; 0° 32MHz; 25dB; 30dB; 0°
AAo	PWD	32MHz; 31dB; 30dB; 45°
A.pulmonalis	PWD	32MHz; 25dB; 35dB; 0-30°

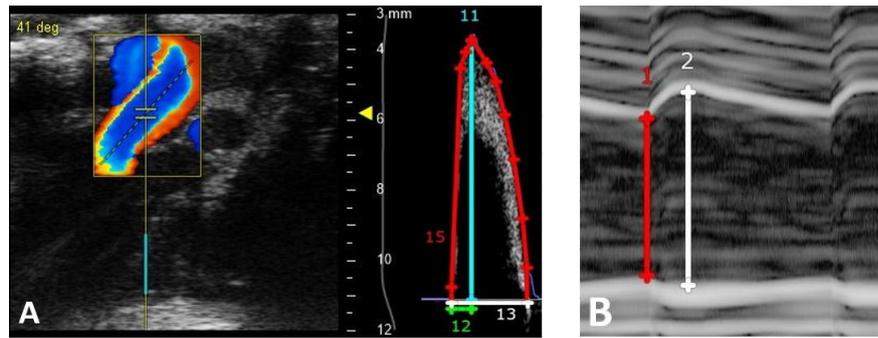
In Abb. 10 – 12 sind die Auswertungen anhand der Ultraschall-Aufnahmen gezeigt, sowie in Tab. 12 einige der daraus extrahierten Parameter aufgelistet:



**Abbildung 10: Beispielhafte Ultraschallaufnahme des Herzens mit entsprechenden Auswertungen:** A – PSLAX im B-Mode; B – PSLAX im M-Mode, C – SAX B-Mode, Erläuterungen zu den einzelnen Linien in aufsteigender Reihenfolge: 2 – Vordere Herzwand systolisch (engl. left ventricle anterior wall, LVAWs), 3 – Durchmesser des linken Ventrikels systolisch (engl. left ventricle inner diameter, LVIDs), 4 – Hintere Herzwand systolisch (engl. left ventricle posterior wall, LVPWs), 5 + 16 – Vordere Herzwand diastolisch (LVAWd), 6 + 17 – Durchmesser des linken Ventrikels diastolisch (LVIDd), 7 + 18 – Hintere Herzwand diastolisch (LVPWd), 8 – Durchmesser Aorta, 9 – Endokardiale Fläche diastolisch (EndoArea;d), 10 – Linksventrikuläre Länge von der Aortenklappe bis zum Epikard des Herz-Apex (EpiMajr;d), 11 – Linksventrikuläre Länge von der Aortenklappe bis zum Endokard des Herz-Apex (EndoMajr;d), 12 – Epikardiale Fläche diastolisch (EpiArea;d), 15 – LV-Trace (Automatisiertes Auswertungstool der Vevo® Software) der Kurz- bzw. Längsachse B-Mode, 19 – LV Trace des PSLAX M-Mode.



**Abbildung 11: Beispielhafte Ultraschallaufnahme der Pulmonalarterie und Mitralklappe mit entsprechenden Auswertungen:** A – Pulmonalarterie & Auswertung des Flusses; B – Apikaler 4-Kammerblick mit Auswertung des Mitralklappenflusses, C – Gewebedoppler Aufnahme (TD) des septalen Mitralklappengewebes, Erläuterungen zu den einzelnen Linien in aufsteigender Reihenfolge: 15 – Maximale Geschwindigkeit des Flusses der Pulmonalarterie (PV PeakVel), 16 – Pulmonalarterien Beschleunigungszeit (engl. pulmonary acceleration time, PAT), 17 – Pulmonale Auswurfzeit (engl. pulmonary ejection time, PET), 18 – Geschwindigkeits-Zeitintegral der Pulmonalarterie (engl. pulmonary valve velocity time integral, PV VTI), 19 – E' Geschwindigkeit der Gewebebewegung des frühdiastolischen Mitralklappeneinflusses, 20 – A' Geschwindigkeit der Gewebebewegung des spät-diastolischen Mitralklappeneinflusses, 21 – S-Welle (S-wave), 22 + 26 – Aortale Auswurfzeit (engl. aortic ejection time, AET), 23 – isovolumetrische Relaxationszeit (IVRT), 24 – isovolumetrische Kontraktionszeit (IVCT), 25 – Mitralklappen Auswurfzeit (engl. Mitral valve ejection time, MV ET) entspricht Füllungszeit des linken Ventrikels, 23 + 24 + 26 = Nicht-Füllungszeit des linken Ventrikels (engl. non filling time, NFT), 27 – Beschleunigung der E-Welle (Frühdiastolischer Einstrom), 28 – Verlangsamung der E-Welle (engl. Deceleration), 29 – Geschwindigkeits-Zeitintegral des Mitralklappenflusses (MV VTI), 30 – E-Welle (Frühdiastolischer, passiver Einstrom in den linken Ventrikel, E), 31 – A-Welle (spät-diastolische, aktive Füllung des linken Ventrikels, A).



**Abbildung 12: Beispielhafte Ultraschallaufnahme der Aorta mit entsprechenden Auswertungen:** A – links: Aorta ascendens und Auswertung des Flusses (kurz über der Aortenklappe aufgenommen, max. Aufnahme-Winkel  $45^\circ$ ), B – Aorta abdominalis, Erläuterungen zu den einzelnen Linien in aufsteigender Reihenfolge: 1 – Durchmesser diastolisch, 2 – Durchmesser systolisch, 11 – Maximale Geschwindigkeit des Aortenflusses (AV PeakVel), 12 – Beschleunigungszeit des Aortenflusses (engl. aortic acceleration time, AAT), 13 – Auswurfzeit der Aortenklappe (AET), 15 – Geschwindigkeits-Zeitintegral der Aorta (AV VTI).

**Tabelle 12: Formeln zur Berechnungen funktioneller Parameter:**

LVID;d bzw. LVID;s linksventrikulärer innerer Durchmesser; endsystolisch bzw. – diastolisch, LV Vol;d bzw. LV Vol;s s linksventrikuläres Volumen; endsystolisch bzw. –diastolisch, EPI – Epikard als äußere Grenze, Endo – Endokard als äußere Grenze, PSV – Max

imale systolische Geschwindigkeit, EDV – Enddiastolische Geschwindigkeit

<b>Übersicht der Berechnungen funktioneller Parameter</b>	
<b>Parameter</b>	<b>Berechnung</b>
Ejektionsfraktion in % (EF, engl. ejection fraction) bzw. Endokardiale - EF	$100 \times \frac{LV\ Vol;d - LV\ Vol;s}{LV\ Vol;d}$ $bzw. 100 \times \frac{Endo\ SV}{Endo\ Vol;d}$
Herzminutenvolumen (HMV, engl. Cardiac output, CO) in ml/min bzw. Endokardiales - HMV	$SV \cdot \left(\frac{Herzfrequenz}{1000}\right)$ $bzw. \frac{Endo\ SV \times HF}{1000}$
Verkürzungsfraction in % (FS, engl. fractional shortening) bzw. Endokardiale-FS	$100 \cdot \frac{LVID;d - LVID;s}{LVID;d}$ $bzw. 100 \times \frac{endoLänge;d - endoLänge;s}{endoLänge;d}$
Linksventrikuläre Masse (LV Mass) in mg	$1,053 \cdot [(LVID; d + LVPW; d + IVS; d)^3 - LVID; d^3]$ $Bzw. 1,05 \times \left[ \left\langle \frac{5}{6} \times EpiQuerschnittsfläche; d \times (EpiLänge; d + durchschnittliche\ Wanddicke) \right\rangle - \left\langle \frac{5}{6} \times EndoQuerschnittsfläche; d \times EndoLänge \right\rangle \right]$
Linksventrikuläres Volumen systolisch bzw. diastolisch (Vol;s, Vol;d) in $\mu$ l bzw. Endokardiales-Vol	Rotationsvolumen der Fläche des linken Ventrikels in der Endsystole bzw. –diastole, die äußere Grenze der Fläche ist das Endokard $bzw. \frac{5}{6} \times Länge \times Querschnittsfläche$
Schlagvolumen (SV, engl. stroke volume) in $\mu$ l bzw. Endokardiales-SV	$Vol; d - Vol; s$ der jeweiligen Aufnahme Ebene $bzw. \frac{5}{6} \times Länge \times Querschnittsfläche$
Widerstands- bzw. Resistance Index (RI)	$\frac{PSV - EDV}{PSV}$
Pulsatilitäts Index (PI)	$\frac{PSV - EDV}{Durchschnittliche\ Geschwindigkeit}$

## 2.9. Tötung und Organentnahme

Die Mäuse werden in Narkose tierschutzgerecht euthanasiert (mittels CO<sub>2</sub> oder Dekapitation) und im Anschluss der Exitus kontrolliert (Nichtvorhandensein der Reflexe, Apnoe für mind. 1 Minute, Relaxation der Muskeln, weite und lichtstarre Pupillen). Danach wird das Tier gewogen und zum Präparieren fixiert. Es erfolgt eine intrakardiale Blutentnahme. Es wird die Bauch- und Brusthöhle eröffnet und die Organe auf Lage in situ bzw. Abweichungen von der zu erwartenden makroskopischen Erscheinung kontrolliert. Die Perfusion mit HEPES-Tyrode-Puffer dient dem Ausspülen des restlichen Blutes. Folgende Organe wurden entnommen und fixiert (Tab. 13):

**Tabelle 13: Übersicht Organentnahme & Fixation:** A. – Arteria, Aa. Arteriae, PFA – 4% Paraformaldehyd Lösung,

Übersicht der entnommenen Proben und Konservierung	
Organ	Konservierung
Herz Herzapex	PFA-fixiert Kryokonserviert
Gefäße: - Aorta - A. carotis communis - A. femoralis - Aa. mesentericae	- Kryokonserviert - 1 x Kryokonserviert & 1 x PFA-fixiert - Kryokonserviert & proximaler Teil PFA-fixiert - PFA-fixiert
Leber, Niere	Kryokonserviert
Tibia, Femur	1 x Kryokonserviert & 1 x 70% Ethanol-fixiert

Große Unterstützung erhielt ich von Fr. Dr. Sens-Albert und Herrn Dr. Lont, die die Organentnahme und Konservierung in der Regel übernahmen.

## 2.10. Verarbeitung entnommener Gewebeproben

### 2.10.1. Kryokonservierung

Nach Präparation wurden die Gewebe für eine Sekunde in gekühltes Isopentan getaucht und anschließend in flüssigem Stickstoff schockgefroren. Gelagert wurden die Proben bei -80°C.

### 2.10.2. PFA-Fixierung

Nach der Organentnahme wurden die Proben für 24 Stunden in 4% PFA bei 7°C fixiert und anschließend in 70% Ethanol überführt bis zur Einbettung in Paraffin.

## **2.11. Histologie**

Alle Färbungen & Aufnahmen wurden von unserer technischen Assistentin Fr. Feiler durchgeführt.

### **2.11.1. Einbettung und Schnitte**

PFA-fixierte Gewebe wurden entwässert (je 3 Minuten Ethanol 70%, 85%, 96%, Isopropanol, 2-mal 5 Minuten Xylol) und in Paraffin eingebettet. Sie wurden mit einer Schnittdicke von 5µm geschnitten, über Nacht getrocknet und anschließend bis zum Färben bei Raumtemperatur gelagert.

### **2.11.2. Färbungen**

Die Proben wurden entparaffiniert (2-mal 5 Minuten Xylol, je 3 Minuten Isopropanol, Ethanol 96%, 85% und 70%) und anschließend gefärbt. Das Eindecken der gefärbten Gewebe erfolgte mit Eukitt.

#### **2.11.2.1. Elastika-Färbung**

Entparaffinierte Schnitte wurde 30 Minuten in der Resorcin-Fuchsin-Lösung gefärbt. Nach ca. 5 Minuten in 70% Ethanol wurde die Färbung der elastischen Fasern kontrolliert. Waren diese violett auf hellrosafarbenem Hintergrund, kamen die Schnitte für 2,5 Minuten in die Eisenhämatoxilin-Lösung. Darauf folgten 10 Minuten Bläuen unter Leitungswasser, 3 Minuten Färben in der van Gison-Lösung, Entwässern (je 3 Minuten Ethanol 70%, 85%, 96%, Isopropanol, 2-mal 5 Minuten Xylol) und Eindecken.

#### **2.11.2.2. Sirius-Rot-Färbung**

Die Zellkerne wurden 10 Minuten mit Hämalan angefärbt. Nach 5 Minuten Bläuen unter Leitungswasser kamen die Schnitte für 30 Minuten in die Sirius-Rot-Färbelösung. Anschließend folgte Waschen mit 1% Essigsäure, Entwässern (je 3 Minuten Ethanol 70%, 85%, 96%, Isopropanol, 2-mal 5 Minuten Xylol) und Eindecken.

#### **2.11.2.3. Aufnahmen mit dem Mikroskop**

Die Aufnahmen in 200x-Vergrößerung wurden mit der TissueFAXS Software automatisiert nach manuellem Weißabgleich erstellt. Bei größeren Gewebeaufnahmen wurden mehrere Aufnahmen zu einem Bild zusammengesetzt.

## 2.12. Statistik

Kategoriale Daten sind mit absoluter Häufigkeit angegeben. Vergleiche der kategorialen Daten, beispielsweise bei der Untersuchung der Häufigkeit des Auftretens der Kyphose, wurde mit Chi-Quadrat-Tests in SPSS® gerechnet und als p-Wert der des exakten Testes nach Fisher angegeben. Metrische Daten wurden visuell auf Normalverteilung geprüft. Als Kennwerte der Verteilung wurden Mittelwert, Standardabweichung, Minimum, Maximum, Median und der Standardfehler des Mittelwertes herangezogen. Zur unifaktoriellen Untersuchung, sprich zum Vergleich zweier unabhängiger Gruppen (Knockout versus Wildtyp), wurden zweiseitige Students t-Tests (parametrisch) und bei nicht-Normalverteilung der Mann-Whitney-U-Test (nichtparametrisch) durchgeführt. Da bei multiblem Testen die Fehlerwahrscheinlichkeit steigt, dies jedoch nur eine orientierende Studie mit geringen Fallzahlen ist, wurde auf die Bonferoni-Korrektur verzichtet. Ergänzend wurden multifaktorielle Untersuchungen der longitudinalen Daten (Zeit) in SPSS® mit Verallgemeinerten (generalisierten) Schätzgleichungen (engl. Generalized estimating equation, GEE) des linearen Modells durchgeführt, um den Einfluss von Genotyp, Alter, Messzeitpunkt und Überleben auf gemessene Parameter nachzuweisen (Tab. 14). Hierbei wird automatisch der Fehler durch multibles Testen berücksichtigt. Die Anzahl der biologischen Replikate (n) ist der Anzahl an Punkten in den Diagrammen bzw. dem Anhang zu entnehmen.

**Tabelle 14: Verallgemeinerte Schätzgleichung in SPSS:** Einstellungen, wie sie für die Anwendung angegeben wurden.

Verallgemeinerte Schätzgleichung (GEE) in SPSS	
Einstellung	
Subjektvariable(n)	Tier
Innersubjektvariable(n)	Zeitpunkt
Prädiktoren (Faktoren und Kovariate bzw. Modelleffekte)	Alter, Zeitpunkt, Genotyp, Überleben
Typ des Modells	Metrisch / Linear
Antwort (untersuchter Parameter)	z.B. Gewicht, systolischer Blutdruck

Als signifikant gilt eine Überschreitungswahrscheinlichkeit (p, auch Signifikanzwert genannt) kleiner 5% ( $p < 0,05$ ). Nicht signifikant (ns) bedeutet  $p > 0,05$ .

Als p-Wert ist, sofern nicht ausdrücklich anders gekennzeichnet, immer der des t-Tests bzw. in Tabellen mit GEE Ergebnissen der der GEE angegeben.

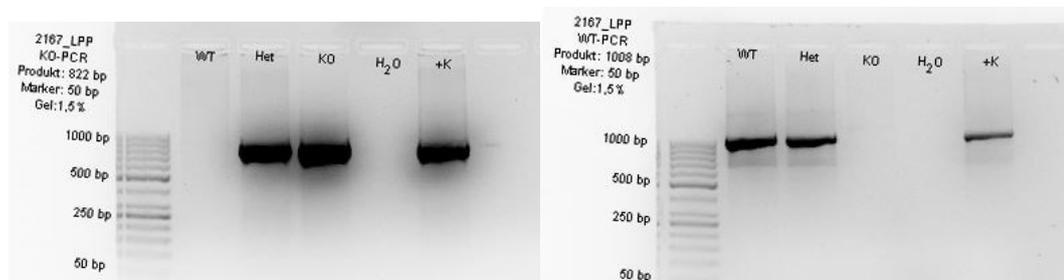
Alle Diagramme sind, wenn nicht ausdrücklich anders gekennzeichnet, mit integriertem Mittelwert und Standardabweichung dargestellt und wurden mit GraphPad Prism erstellt. \* bedeutet in diesem Zusammenhang  $p < 0,05$  auf eine weitere Unterteilung der Signifikanz in Abbildungen wurde verzichtet, da die Gruppengrößen hierfür (noch nicht) groß genug sind.



## IV. ERGEBNISSE

### 1. Verifizierung der Gendefizienz

Als Erstes sollte der Genotyp mithilfe eines qualitativen Nachweises aus genomischer DNA der Mäuse mithilfe der Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus-Analyse eines 800 bp Fragments im Falle der LPP-Defizienz und eines 1 kb Fragments im Falle des Wildtyps bestätigt werden, um den homozygoten Knockout des Gens der Tiere sicherzustellen (Abb. 13). War dies der Fall, konnten die Tiere in den Versuch genommen werden. In derselben Weise wurde mit den Zyxin-Knockoutmäusen verfahren. Dazu gab es immer eine Positiv- (DNA-Probe mit entsprechendem Genotyp) und eine Negativkontrolle (H<sub>2</sub>O).



**Abbildung 13: LPP-Genotypisierung mittels PCR:** (Links) LacZ Primer zur Amplifikation des inserierten Markergens, (rechts) Wildtyp-Primer zur Amplifikation eines Abschnitts des LPP-Gens<sup>72</sup>.

Ob der Verlust des LPP-Gens einen Einfluss auf die Tiere insbesondere deren Herzkreislaufsystem hat, soll im Folgenden eingehender untersucht werden.

### 2. Tierexperimentelle Ergebnisse/ in vivo

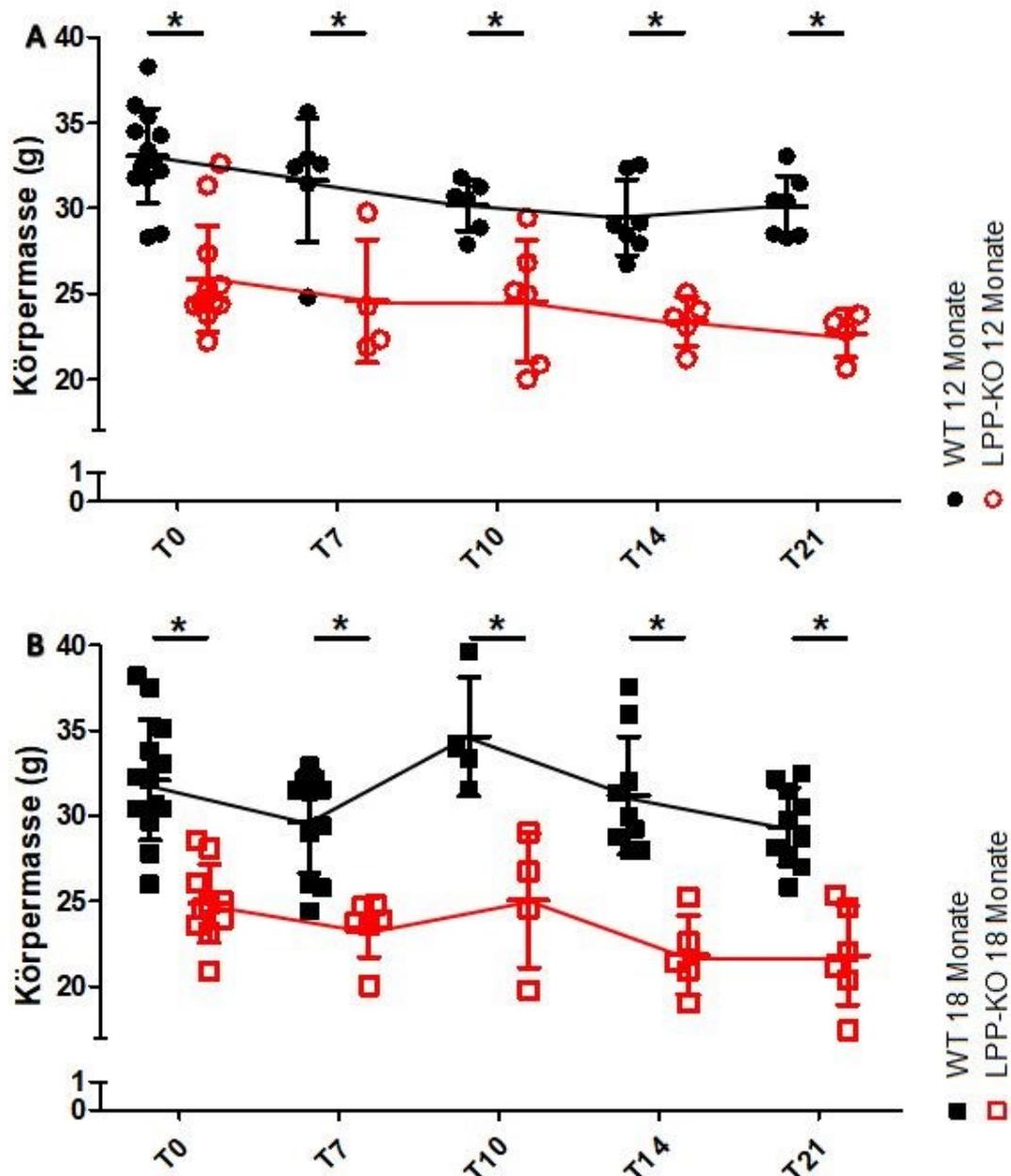
Sämtliche Befunde sind im Anhang aufgeführt. Im Folgenden wird nur auf zentrale Hauptpunkte eingegangen.

#### 2.1. Adspektorische Unterschiede

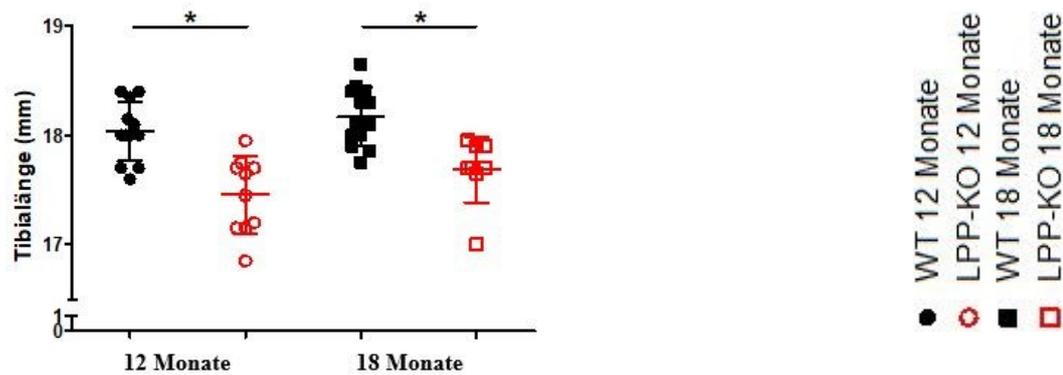
##### 2.1.1. LPP-Knockoutmäuse sind kleiner und leichter als altersgleiche Wildtypmäuse

Als Erstes wurde untersucht, ob sich die verschiedenen Genotypen bereits adspektorisch unterscheiden. Der subjektive Eindruck, dass die LPP-KO Tiere

kleiner sind, wird in einer um etwa 20 % reduzierten Körpermasse (Abb. 14) ebenso wie in einer um 5 % (2,7%) kürzeren Tibiallänge (Abb. 15) bei den 12 (18) Monate alten Tieren bestätigt. Zusätzlich fällt ein moderater Anstieg der Körpermasse am 10. Tag der Behandlung bei den 18 Monate alten Tieren auf, was möglicherweise auf der Bildung von Ödemen beruht.



**Abbildung 14: Körpermasse LPP-KO & WT:** Die Entwicklung des Körpergewichtes der (A) 12 Monate alten und (B) der 18 Monate alten Tiere im Verlaufe des Versuches; LPP-KO – Lipoma preferred partner-Knockout, T – Tag, WT – Wildtyp, \*  $p < 0,05$ , Dotplot mit Mittelwerten und Standardabweichung, n – siehe Anhang XI 1.1



**Abbildung 15: Länge der Tibia:** Vergleich der Tibia-Knochenlänge am Versuchsende (T21) von der Area intercondylaris bis zur Cochlea tibiae gemessen; LPP-KO – Lipoma preferred partner-Knockout, WT – Wildtyp, \*  $p < 0,05$ , Dotplot mit Mittelwerten und Standardabweichung, n – siehe Anhang XI 1.1

### 2.1.2. LPP-KO Tiere haben häufiger eine Kyphose

Auch in der Körperhaltung unterscheiden sich die Tiere. LPP-Knockoutmäuse im Alter von 18 Monaten ( $n = 6$ ) haben zu 66 % und damit deutlich häufiger eine fest verwachsene kyphotische Rückenlinie als die Vergleichsgruppe ( $n = 10$ ,  $p = 0,008$ ). Auch bei den 12 Monate alten Tieren zeigt sich die krankhafte Haltung bei den Knockoutmäusen gehäuft, wenn auch aufgrund der geringen Stichprobenanzahl nicht statistisch signifikant (Abb. 16, Tab. 15).

**Tabelle 15: Häufigkeit der Kyphose bei den in dieser Arbeit untersuchten Tieren:** LPP-KO Tiere wiesen, über beide Altersgruppen hinweg, deutlich häufiger Kyphosen auf als ihre Vergleichsgruppen. Die Tabelle gibt die Anzahl der betroffenen Tiere / Gesamtzahl der untersuchten Tiere an; LPP-KO – Lipoma preferred partner Knockout. \*  $p < 0,05$ , errechnet durch Chi-Quadrat-Tests in SPSS®, Exakter Test nach Fisher, nicht gerechnet wurde für die Gesamtanzahl, Anzahl Tiere mit Merkmal/ Gesamtzahl der untersuchten Tiere.

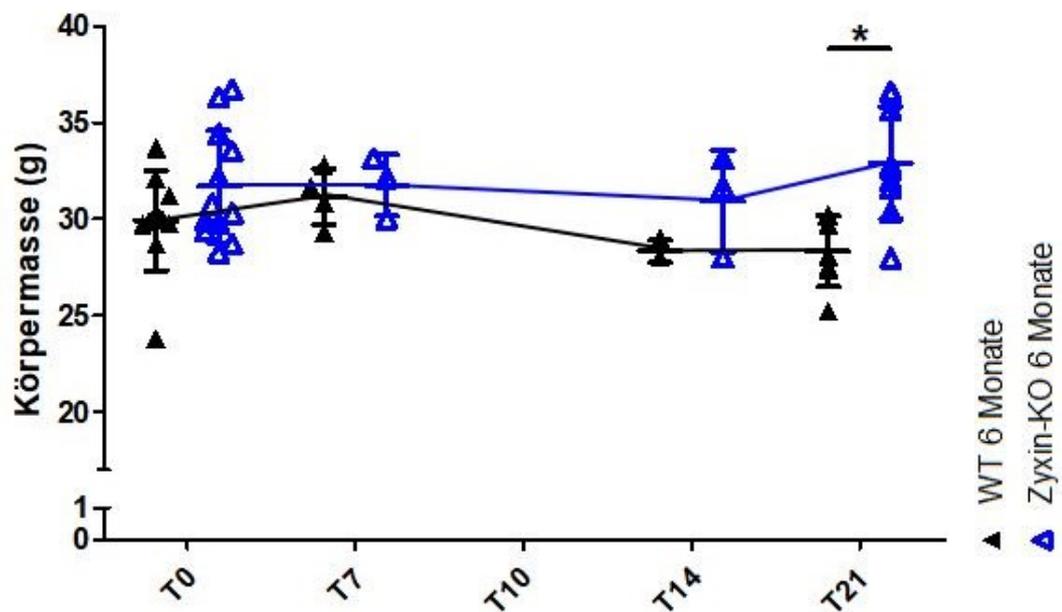
Alter	LPP-KO	Wildtyp
12 Monate	2 / 4	1 / 7
18 Monate*	4 / 6	0 / 10
Gesamt	6 / 10	1 / 17



**Abbildung 16: Kyphose:** (Links) LPP-Knockoutmaus mit Kyphose (beispielhafte Abbildung), (rechts) im Versuch verstorbene LPP-Knockoutmaus mit Kyphose (12 Monate alt). Bei der Sektion der rechten Maus wurde ein massiver Hämorthorax und ein Hämoperitoneum vorgefunden.

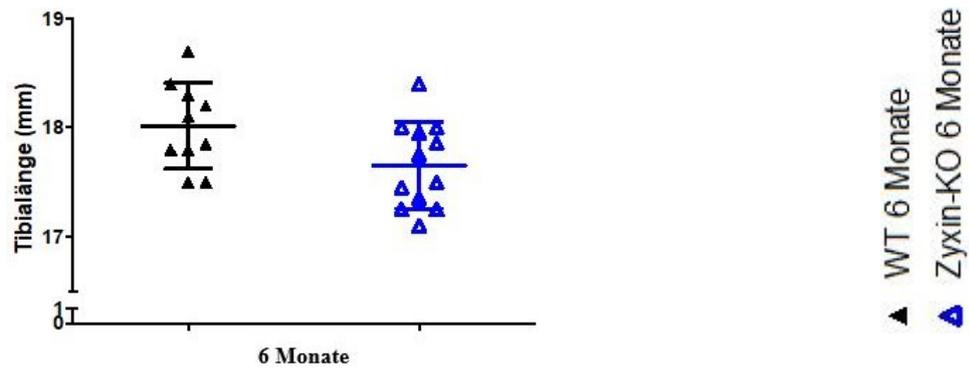
### 2.1.3. Die Zyxin-Knockout Mäuse sind basal den WT Mäusen sehr ähnlich

Konträr zu den LPP-KO Tieren, sind basal die Körpermassen der Zyxin-KO und WT Gruppen in der gleichen Größenordnung. Während der DOCA-Salz-Behandlung tendieren Zyxin-KO Tiere jedoch zur Zu- und WT Tiere zur Abnahme, weshalb am Ende des Versuches die KO Mäuse etwa 15% schwerer sind (Abb. 17). Adspektorisch sind die Zyxin-KO von den WT nicht zu unterscheiden, sie erscheinen gleich groß, was sich in vergleichbaren Tibialängen zeigt (Abb. 18).



**Abbildung 17: Körpermasse 6 Monate alter Zyxin-Knockoutmäuse und der entsprechenden Wildtypkontrollen im Vergleich:** Die Abbildung zeigt die Entwicklung des Körpergewichtes beider Genotypen im Verlaufe des 21-tägigen Versuchs (Kontrollbedingungen); KO – Knockout, T – Tag, WT – Wildtyp, \*  $p < 0,05$

0,05, Dotplot mit Mittelwerten und Standardabweichung, n – siehe Anhang XI 1.1



**Abbildung 18: Tibiallänge Zyxin-KO & WT:** Die Zyxin-KO und WT Tiere haben weitgehend gleichlange Tibiae; Knochenlänge gemessen von der Area intercondylaris bis zur Cochlea tibiae, KO – Knockout, WT – Wildtyp, Dotplot mit Mittelwerten und Standardabweichung, n – siehe Anhang XI 1.1

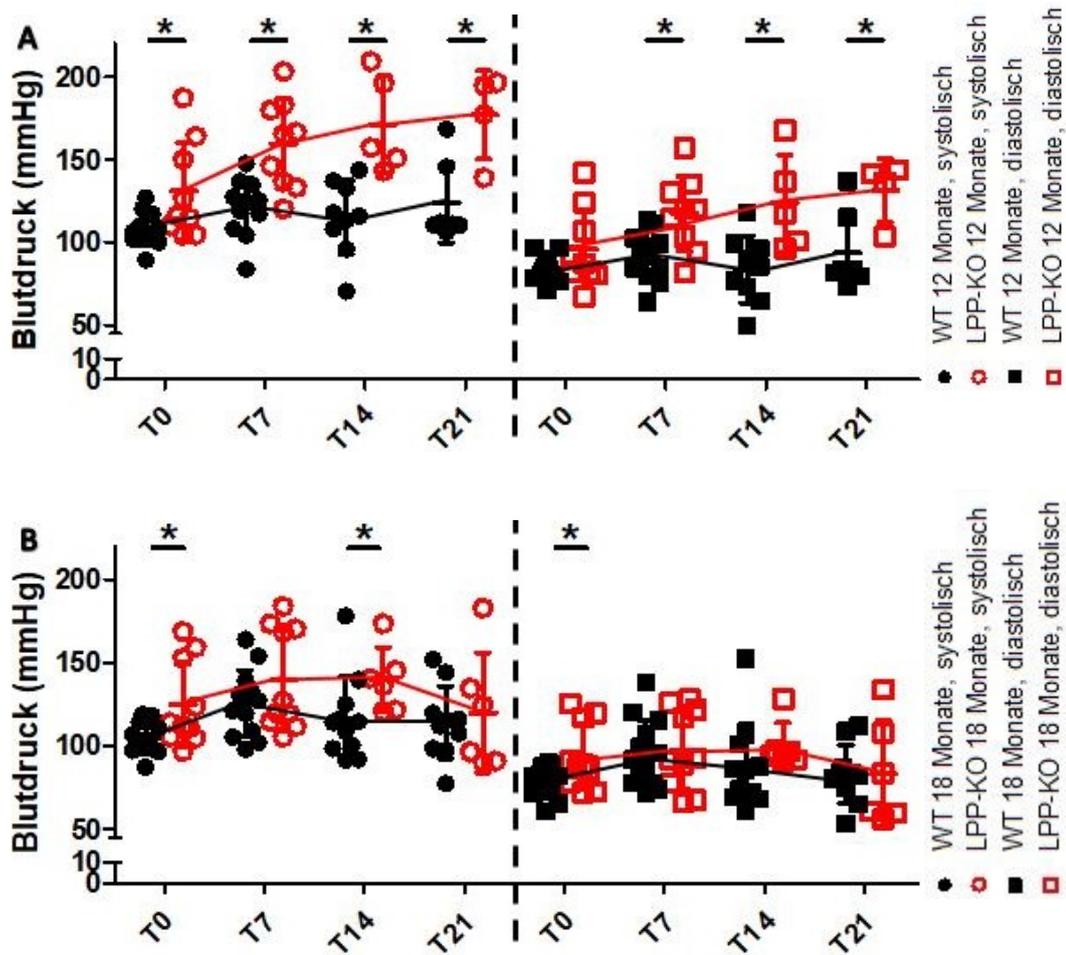
Zusätzlich zu den Untersuchungen der adspektorischen Unterschiede wurde bei den Mäusen nach mehrfachem Training auch der Blutdruck gemessen.

## 2.2. Blutdruck

### 2.2.1. LPP-KO Tiere haben schon zu Versuchsbeginn einen höheren Blutdruck

LPP-Knockoutmäuse haben altersunabhängig schon vor der DOCA-Salz-Behandlung einen im Vergleich zu den Wildtypkontrollen um 20% erhöhten Blutdruck, sowohl systolisch als auch diastolisch. Insbesondere die 12 Monate alten Knockouttiere zeigen einen deutlichen Anstieg des systolischen Blutdrucks um 20% (gleich alte Wildtypkontrollen um 12%), während dieser bei den 18 Monate alten Knockoutmäusen weniger stark ansteigt als bei den gleichaltrigen Wildtypkontrollen (12% versus 21%). Am Versuchsende nach 21 Tagen fällt der Blutdruck der 18 Monate alten LPP-Knockoutmäuse auf das Niveau der Wildtypkontrollen; ihnen scheint die Erhöhung des diastolischen Druckes (+ 4% an T21) im Vergleich zu den 12 Monate alten LPP-Knockoutmäusen (+ 22% an T21) zu fehlen (Abb. 19).

Die nichtinvasive Blutdruckmessung wurde zu einem Zeitpunkt genehmigt, an dem die Versuche mit den Zyxin-Knockoutmäusen praktisch abgeschlossen waren; insofern gibt es zu diesen Tieren nur wenige Vergleichsdaten (siehe Anhang XI-1.13).



**Abbildung 19: Systolischer und diastolischer Blutdruck von LPP-KO & WT Mäusen:** Verlauf des systolischen Blutdruckes (links) und diastolischen Blutdruckes (rechts) von (A) 12 bzw. (B) 18 Monate alten Mäusen unter DOCA-Salz-Behandlung, LPP-KO – Lipoma preferred partner Knockout, WT – Wildtyp, T – Tag, \*  $p < 0,05$ , Dotplot mit Mittelwerten und Standardabweichung, n – siehe Anhang XI 1.1

Um weitere kardiologische Untersuchungen durchführen zu können, wurden die Tiere in Narkose gelegt und anschließend mittels Sonographie die A. femoralis sowie das Herz in verschiedenen Ebenen aufgenommen.

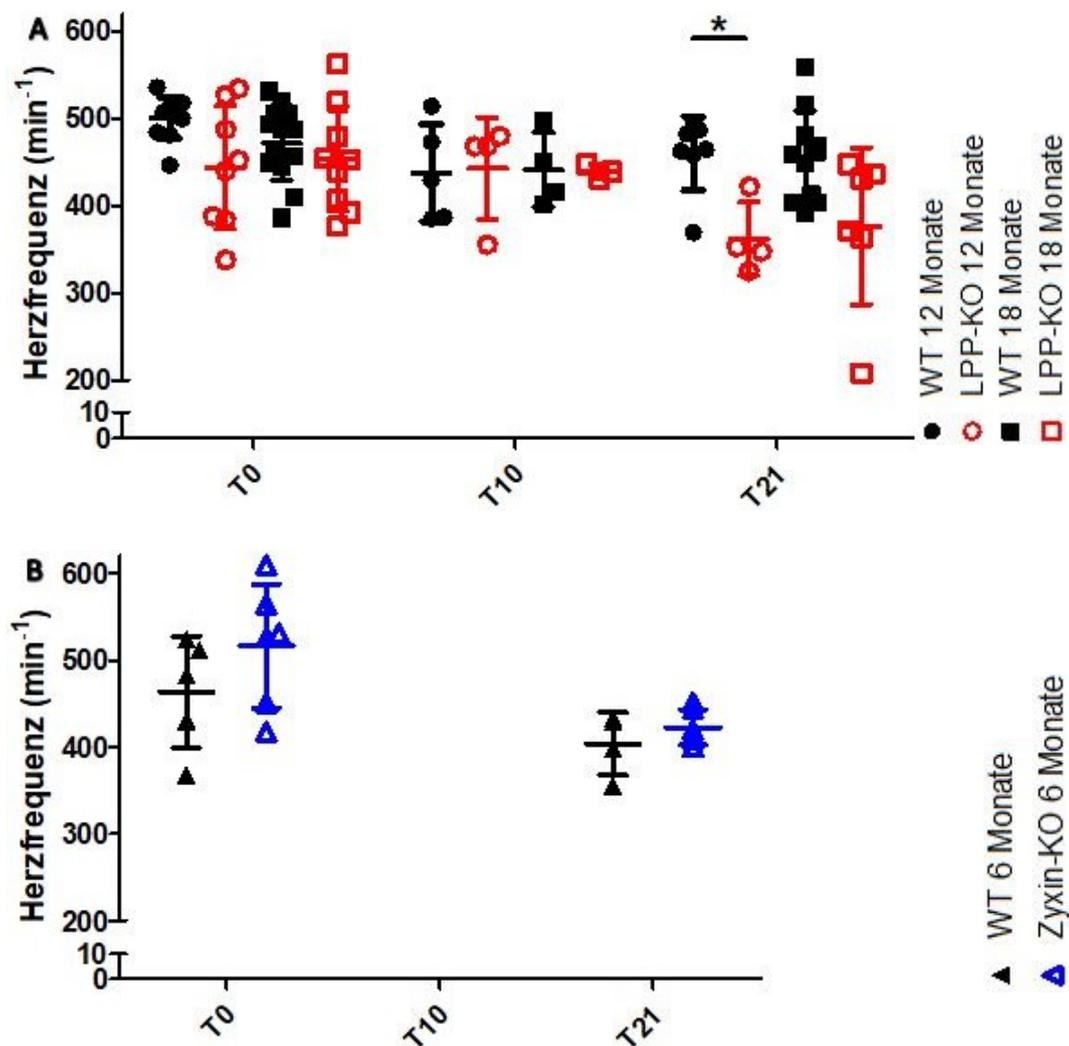
### 2.3. Ergebnisse der Echokardiographie und Duplex-Sonographie

#### 2.3.1. LPP-Knockoutmäuse zeigen Auffälligkeiten während der Narkose

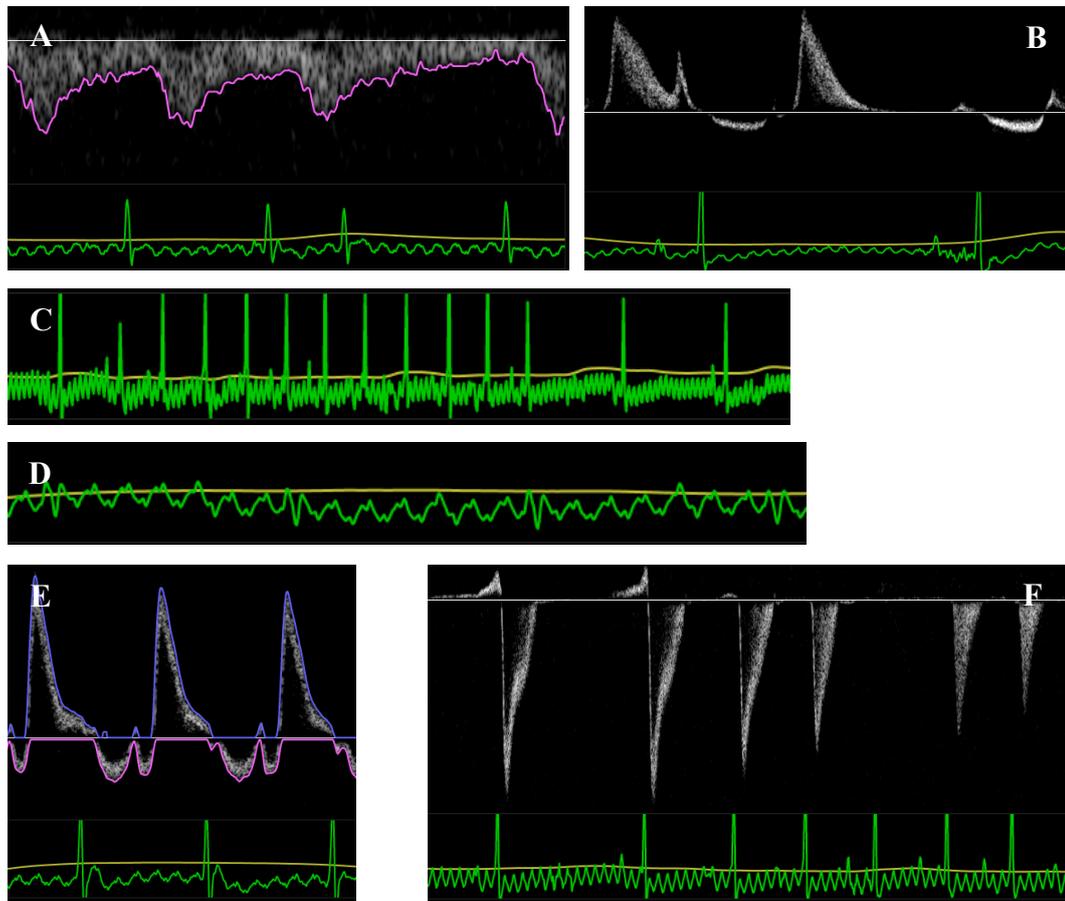
Zyxin-Knockout- und Wildtypmäuse liegen im Gegensatz zu den LPP-Knockoutmäusen ohne Komplikationen in Narkose. Die LPP-Knockoutmäuse haben besonders bei späteren Untersuchungszeitpunkten eine um 10 % reduzierte Herzfrequenz von nur 420 (18 Monate) bzw. 400 (12 Monate) Schlägen pro Minute (Abb. 20). Erwähnt werden sollen in diesem Zusammenhang auch einige auffällige Elektrokardiogramme, die jedoch nicht Bestandteil genauerer Untersuchungen waren und deshalb auch keine stichhaltigen Aussagen zu der Häufigkeit / Ursache

für die in Abbildung 21 gezeigten Veränderungen zulassen. Subjektiv empfunden häufen sich die Veränderungen bei späteren Untersuchungszeitpunkten und homozygot LPP-defizienten Mäusen.

Auffällig ist ebenfalls der geringere Narkosegas-Bedarf, der besonders bei den alten LPP-KO Mäusen verglichen mit den entsprechenden Wildtypkontrollen um bis zu 30 % differiert (Tab. 16). Bei den Zyxin-Knockoutmäusen fielen keine Unterschiede auf (s. Anhang XI-1.1.6).



**Abbildung 20: Herzfrequenzvariabilität:** (A) LPP-KO Mäuse und WT im Alter von 12 bzw. 18 Monaten; (B) Zyxin-KO Mäuse & WT im Alter von 6 Monaten. Tag 10 fehlt, da die Genehmigung für diese Versuche erst vorlag, als die Zyxin-KO Tiere schon untersucht waren. LPP-KO – Lipoma preferred partner Knockout, WT – Wildtyp, T – Tag, \*  $p < 0,05$ , Dotplot mit Mittelwerten und Standardabweichung, n – siehe Anhang XI 1.1



**Abbildung 21: Auffällige EKG-Änderungen:** Verschiedene EKG-Aufzeichnungen teils mit den dazugehörigen Ultraschallaufnahmen von LPP-Knockoutmäusen. (A) Supraventrikuläre Extrasystole mit Pulsdefizit, (B) bradykarde Rhythmusstörung, (C) unregelmäßiger Rhythmus, (D) deutlich reduzierte elektrische Amplitude, (E) fehlende P-Welle / Vorhofkontraktion, (F) Rhythmusstörungen mit Pulsdefizit.

**Tabelle 16: Narkosegas-Verbrauch:** Durchschnittsbedarf an Isofluran während der Narkose, LPP-KO – LPP-Knockout, n – Anzahl an Individuen in einer Gruppe, SD – (engl. Standard Deviation) Standardabweichung, T – Tag, p: p-Wert, ns: p nicht signifikant.

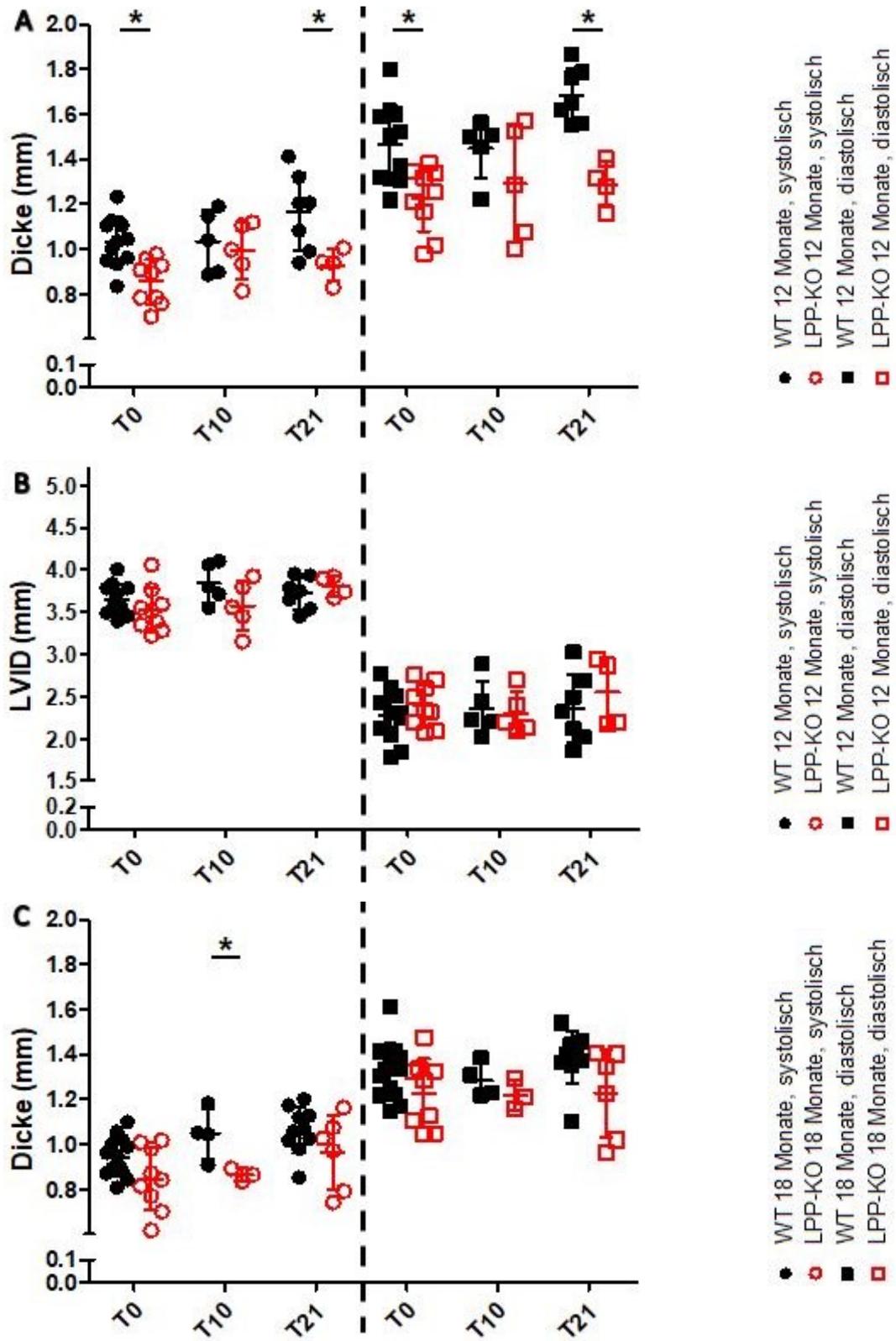
Narkosegas Isofluran Luftgemisch (V/V)						
		LPP-KO		Wildtyp		p
Alter	Zeitpunkt	n	Isofluran (%) Mittelwert ± SD	n	Isofluran (%) Mittelwert ± SD	
		12 Monate	T 0	10	1,52 ± 0,23	13
T 10	5		1,42 ± 0,13	5	1,66 ± 0,34	ns
T 21	3		1,37 ± 0,15	7	1,6 ± 0,13	0,037
18 Monate	T 0	10	1,44 ± 0,22	13	1,78 ± 0,14	0,001
	T 10	3	1,23 ± 0,47	4	1,65 ± 0,21	ns
	T 21	6	1,03 ± 0,3	10	1,56 ± 0,1	0,007

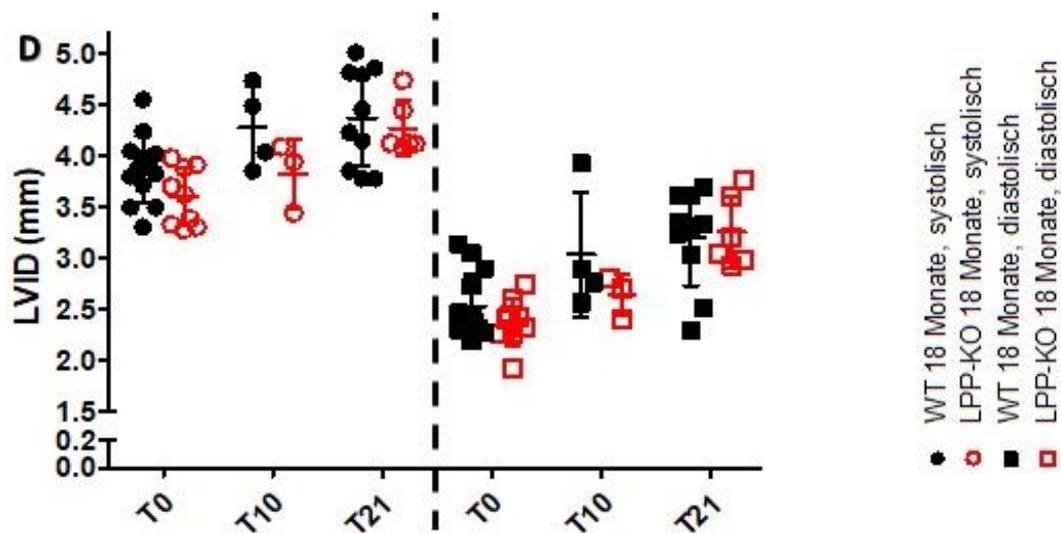
### 2.3.2. Kardiale Phänotypisierung

Nachdem die Tiere sicher in Narkose lagen, wurden die Ultraschalluntersuchung durchgeführt. Im Folgenden sind die besonderen Herz- und anschließend Gefäßbefunde aufgeführt.

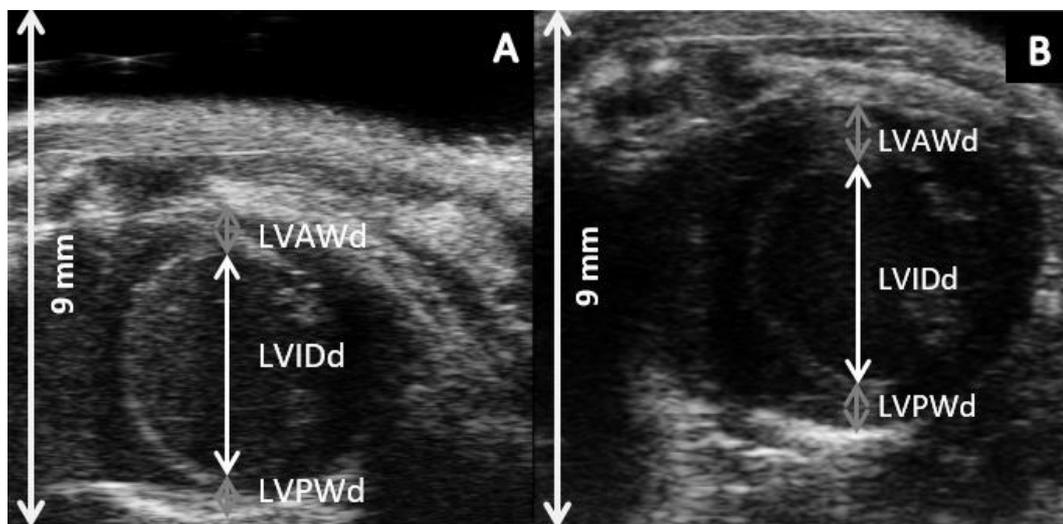
#### 2.3.2.1. LPP-Knockoutmäuse haben dünnwandigere Herzen bei gleichem Durchmesser

Die absoluten Herzwanddicken unterschieden sich um 20 % zwischen den Genotypen im Alter von 12 Monaten. Bei den 18 Monate alten Tieren konnte dieser Unterschied nicht bestätigt werden, eine Tendenz zu dünneren Herzwänden der LPP-Knockoutmäuse war jedoch auch hier zu sehen. Diese Ergebnisse ließen sich in allen Aufnahmen (B-Mode der PSLAX und SAX sowie M-Mode der PSLAX) bestätigen; nachfolgend sind beispielhaft die Werte der vorderen Herzwand aus dem M-Mode der parasternalen Langachse gezeigt (Abb. 22, weitere Werte siehe Anhang. XI-1.2.1 und XI-1.2.2). Zur visuellen Verdeutlichung wurde jeweils eine Aufnahme des Querschnitts der Herzen der verschiedenen Genotypen mit derselben Vergrößerung und demselben Innendurchmesser gewählt (Abb. 23).





**Abbildung 22: Herzmaße:** A, C Dicke der vorderen Herzwand & B, D Durchmesser des linken Ventrikels in der Diastole bzw. Systole; A, B: 12 Monate alte LPP-KO & WT; C, D: 18 Monate alte LPP-KO & WT; LPP – Lipoma preferred partner Knockout, LVID – Innendurchmesser des linken Ventrikels, WT – Wildtyp, T – Tag, \*  $p > 0,05$ , Dotplot mit Mittelwerten und Standardabweichung, n – siehe Anhang XI 1.2.1, XI 1.2.2



**Abbildung 23: B-Mode Aufnahme der Kurzachse:** am Tag 0 (basal), Ende der Diastole (d), die Bildhöhe entspricht 9 mm, die Innendurchmesser sind 3,8 mm; (A) LPP-Knockoutmaus (12 Monate), (B) Wildtypmaus (18 Monate), LVAW – Vordere Herzwand, LVID – Innendurchmesser des linken Ventrikels, LVPW – hintere Herzwand.

Neben dem Genotyp hängt die Herzwanddicke, bei steigender Vor- und Nachlast im DOCA-Salz-Modell, vom Untersuchungszeitpunkt ab. Zu beachten ist auch der Einfluss des LPP-Knockout auf den, bei diesen Tieren im Schnitt geringeren diastolischen, linksventrikulären Durchmesser. Zusätzlich offenbart die GEE

(Verallgemeinerte Schätzgleichung, s. Anhang XI-1.3) eine deutliche Altersabhängigkeit des Durchmessers. Die älteren Tiere reagierten auf die Hypertonie tendenziell mit einer etwas ausgeprägteren Dilatation (Abb. 22).

### 2.3.2.2. LPP-Knockoutmäuse haben ein geringeres Herzgewicht

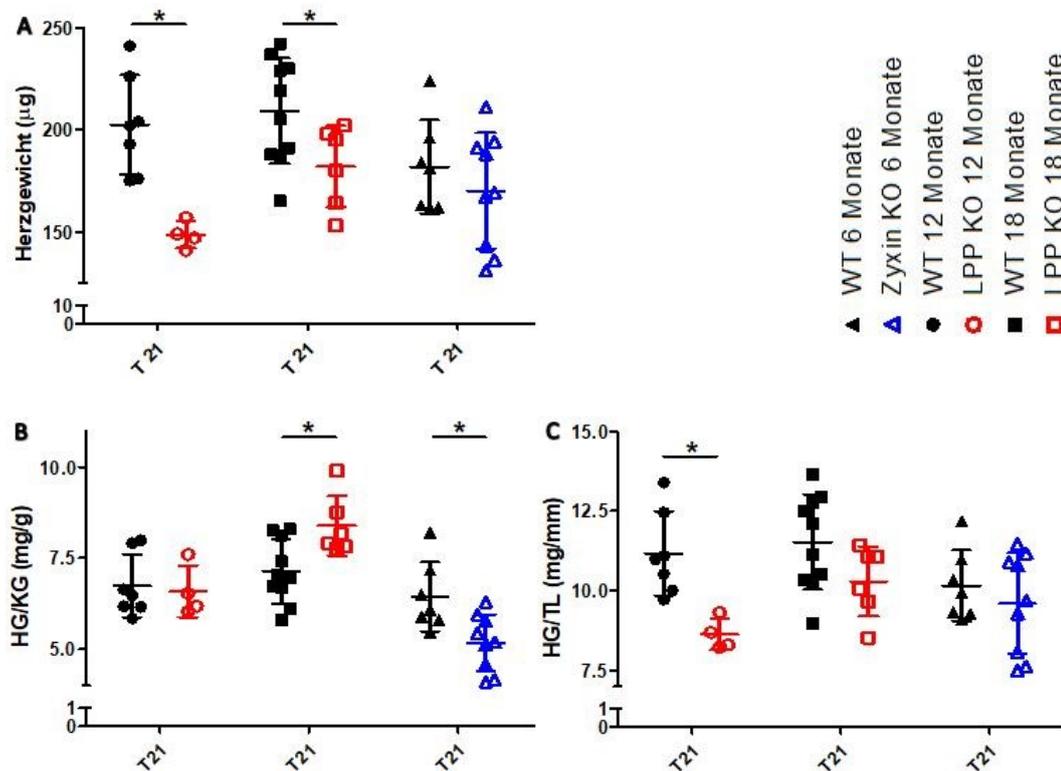
Die Unterschiede in den Dimensionen der Herzen spiegeln sich in den Differenzen zwischen den Herzmassen, die etwa 25 % an T0 bzw. 44 % (12 Monate) 17 % (18 Monate) an T 21 betragen. Besonders auffällig war, dass die 12 und 18 Monate alten Wildtypkontrollen sowie die 18 Monate alten LPP-Knockoutmäuse einen hypertoniebedingten Zuwachs der Herzmasse um 45-50 % zeigen, die Herzen der 12 Monate alten LPP-Knockoutmäuse dagegen nur um 28 % (Tab. 17). Errechnet wurde die linksventrikuläre Masse von der Auswertungssoftware des Ultraschallgeräteherstellers (s. Methoden III-2.8). Zur Kontrolle wurde eine verallgemeinerte Schätzgleichung durchgeführt, die die zu erwartenden Einflussfaktoren Zeitpunkt und Genotyp (LPP-Knockout) bestätigt (Anhang XI-1.3.1).

**Tabelle 17: Linksventrikuläre Herzmasse der Herzen errechnet von der Analysesoftware Vevo Lab®:** LPP-KO – Lipoma preferred partner Knockout, n – Anzahl an Individuen in einer Gruppe, SD (engl. Standard Deviation) Standardabweichung, T - Tag, p: p-Wert, ns: p nicht signifikant.

Herzmasse (mg)						
		LPP-KO		Wildtyp		p
Alter	Zeitpunkt	n	Herzgewicht (mg)	n	Herzgewicht (mg)	
			Mittelwert ± SD		Mittelwert ± SD	
12 Monate	T 0	9	91 ± 13	11	125 ± 12	< 0,001
	T 10	5	115 ± 31	5	143 ± 26	ns
	T 21	4	119 ± 9	7	171 ± 34	0,007
18 Monate	T 0	9	96 ± 15	13	125 ± 14	< 0,001
	T 10	3	109 ± 15	4	154 ± 43	ns
	T 21	6	148 ± 21	10	173 ± 28	0,07

Die an Tag 21 gewogenen Herzen (Abb. 24) waren 16,7 % schwerer als die mit der Vevo-Analysesoftware berechneten Massen der linken Ventrikel. Wie der Methodenvergleich in MedCalc zeigt, besteht eine starke Korrelation zwischen dem gewogenen und dem kalkulierten Wert (Werte s. Anhang XI-1.4).

Normalisiert man das gewogene Herzgewicht zur Tibiallänge, so zeigt sich, dass v.a. bei den 12 Monate alten LPP-Knockoutmäusen das Herz im Vergleich zu den altersentsprechenden Wildtypkontrollen leichter ist, da die Tibiallänge kürzer ist (vgl. IV-2.1.1). Auch bei den 18 Monate alten LPP-Knockoutmäusen ist eine solche Tendenz festzustellen. Normalisiert man das Herzgewicht zu den entsprechenden Körpergewichten am Tag 21, die jedoch insgesamt inkonstant waren (s. IV-2.1.1), erscheint das Herzgewicht der LPP-Knockoutmäuse im Alter von 18 Monaten gleich schwer bis schwerer, was an deren deutlich reduzierter Körpermasse liegen dürfte. Bei den Zyxin-Knockoutmäusen sieht man bei der entsprechenden Normalisierung ebenfalls das zu Versuchsende höhere Körpergewicht (s. IV-2.1.3), ansonsten erscheinen ihre Herzen, auch im Verhältnis zur Größe, gleich schwer (Abb. 24).

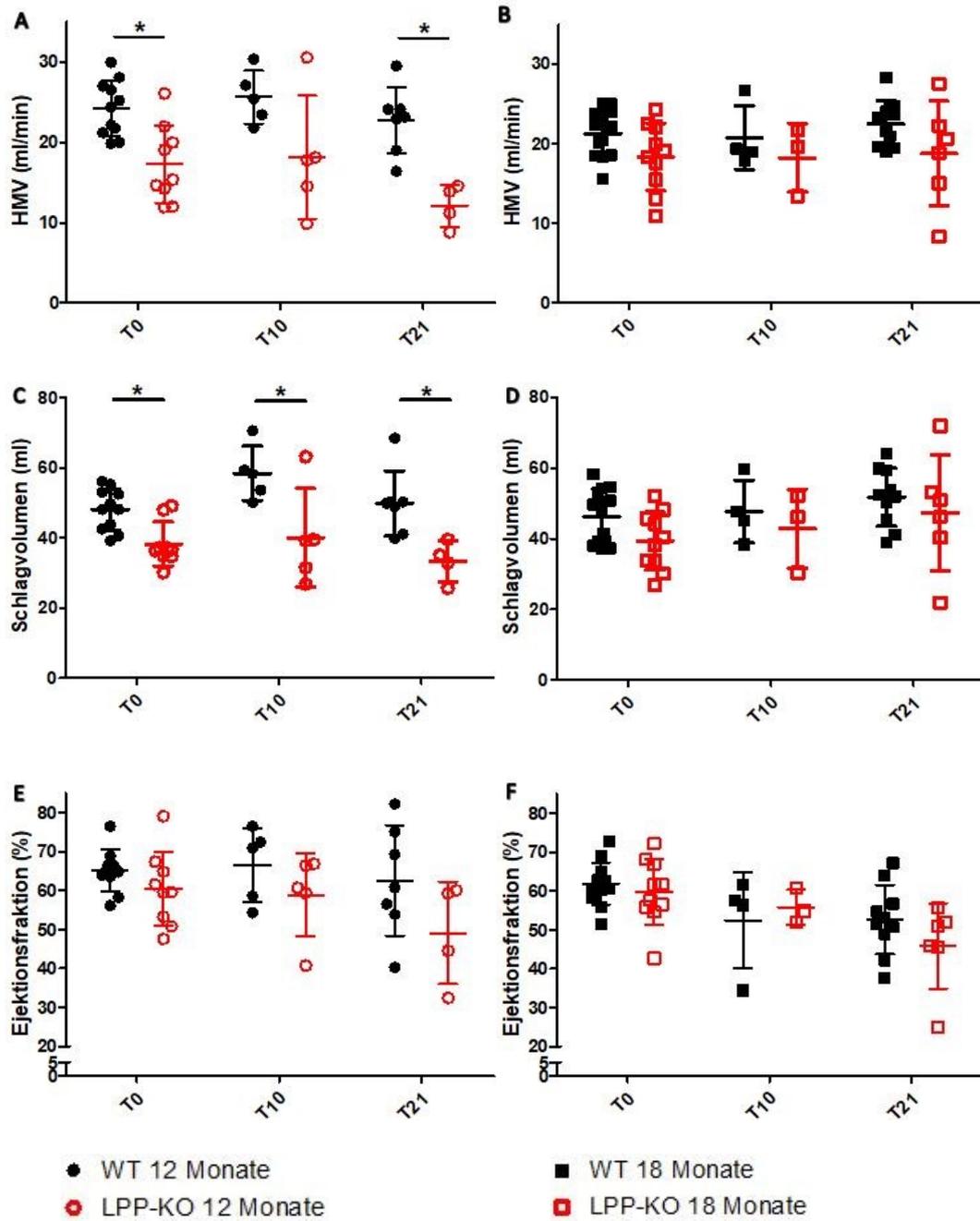


**Abbildung 24: Herzgewicht gewogen:** (A) am Versuchsende gewogene Herzmasse (mg), (B) Herzgewicht normalisiert zu Körpermasse, (C) Herzgewicht normalisiert Tibiallänge, LPP – Lipoma preferred partner, KO – Knockout, Mo – Monate, WT – Wildtyp, \*  $p < 0,05$ , Dotplot mit Mittelwerten und Standardabweichung, n – siehe Anhang XI 1.1

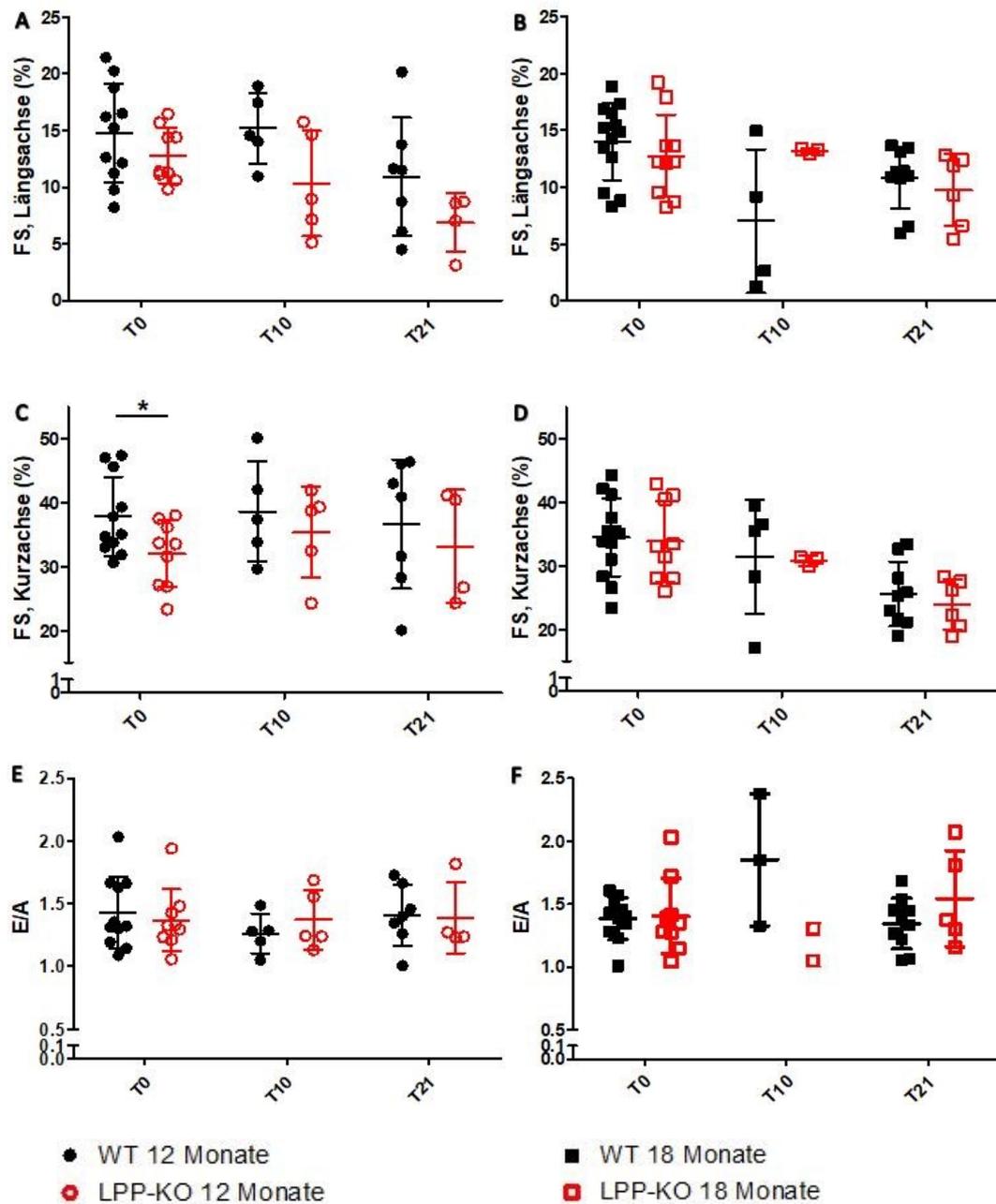
### 2.3.2.3. Einfluss des Knockouts von LPP auf Funktionsparameter des Herzens

Bei den ein Jahr alten DOCA-Salz-behandelten LPP-Knockoutmäusen war am Versuchsende das Herzminutenvolumen verglichen mit den entsprechenden

Wildtypkontrollen um ca. 45 % geringer. Auffällig war, dass das Herzminutenvolumen bei allen Versuchstieren in etwa konstant bleibt mit Ausnahme der 12 Monate alten LPP-Knockoutmäuse, deren Auswurfleistung um 30 % sinkt. Das resultiert aus einer Kombination von reduziertem Schlagvolumen (Abb. 25) und geringerer Herzfrequenz (vgl. Abb. 20). Um eine valide Aussage zur EF und FS der ein Jahr alten Tiere treffen zu können, müsste die Fallzahl erhöht werden (siehe FS bzw. EF der Abb. 25 und 26). Bei den 18 Monate alten Tieren zeigte sich keine wesentliche Änderung der systolischen Parameter (Abb. 25). Die diastolischen Funktionsparameter ( $E/A$ ,  $E'/A'$ ,  $E/E'$ ) unterschieden sich bei keiner der Altersgruppen (Abb. 26, Anhang XI-1.2).



**Abbildung 25: Funktionsparameter des Herzens – Teil 1:** links 12 Monate alte Tiere, rechts 18 Monate alte Tiere; A, B: Herzminutenvolumen (ml/min), das bei den 12 Monate alten LPP-KO Mäusen im Verlaufe des Versuches sinkt; C, D: Schlagvolumen ( $\mu$ l), das bei den 12 Monate alten LPP-KO geringer ist; E, F: Ejektionsfraktion; LPP-KO – Lipoma preferred partner Knockout, WT – Wildtyp, \*  $p < 0,05$ , Dotplot mit Mittelwerten und Standardabweichung, n – siehe Anhang XI 1.2.1, XI 1.2.2



**Abbildung 26: Funktionsparameter des Herzens – Teil 2:** links 12 Monate alte Tiere, rechts 18 Monate alte Tiere; A, B: Verkürzungsfraction (%) der Längsachse; C, D: Verkürzungsfraction (%) der Kurzachse; E, F: E/A Verhältnis (früh- zu spätdiastolischer Einflussgeschwindigkeit; LPP-KO – Lipoma preferred partner Knockout, WT – Wildtyp, \*  $p < 0,05$ , Dotplot mit Mittelwerten und Standardabweichung, n – siehe Anhang XI 1.2.1, XI 1.2.2

#### **2.3.2.4. Ejektionszeiten bei den LPP-Knockoutmäusen**

Es zeigte sich eine Tendenz zu etwa 10 – 20 % längeren Auswurfzeiten vor allem an Tag 21 bei den LPP-Knockoutmäusen (siehe Anhang XI-1.2), wenn auch im direkten Gruppenvergleich, mit Ausnahme der pulmonalen Auswurfzeit am Tag 21, die Anzahl an Versuchstieren nicht ausreichend ist, um zu einer statistisch belastbaren Aussage zu kommen.

#### **2.3.2.5. Weitere Parameter, auf die der Genotyp möglicherweise Einfluss hat**

Eine Übersicht aller Parameter findet sich im Anhang (XI), hier soll noch auf die erhöhte Sterberate von bis zu 50 % und mögliche erklärende Unterschiede eingegangen werden. Besonders bei den 1 Jahr alten Tieren fiel bei den LPP-Knockoutmäusen eine sehr hohe Mortalität während der DOCA-Salz-Behandlung auf. Um den Tag des Blutdruckmaximums lagen am nächsten Morgen, nach der aktiven Phase der Mäuse, überproportional viele Tiere tot im Käfig. Bei der Sektion war durchweg ein Hämathorax und/oder Hämoperitoneum auffällig. Daraufhin wurde nach Unterschieden zwischen den überlebenden LPP-Knockoutmäusen und allen LPP-Knockoutmäusen, die in die Versuchsserie eingeschlossen waren, gesucht. Demnach scheinen es die leichteren Tiere bzw. die mit kleineren und besser kontrahierenden Herzen zu sein, die unter der DOCA-Salz-Behandlung besser zurechtkommen (Tab. 18).

Ebenfalls auffällig, allerdings nicht durchgehend dokumentiert und deshalb nur als Randnotiz, soll noch erwähnt werden, dass die Mäuse teils 250 ml Leitungswasser, das mit 1 % NaCl versetzt war, innerhalb von 3-4 Tagen getrunken hatten mit dementsprechender Polyurie.

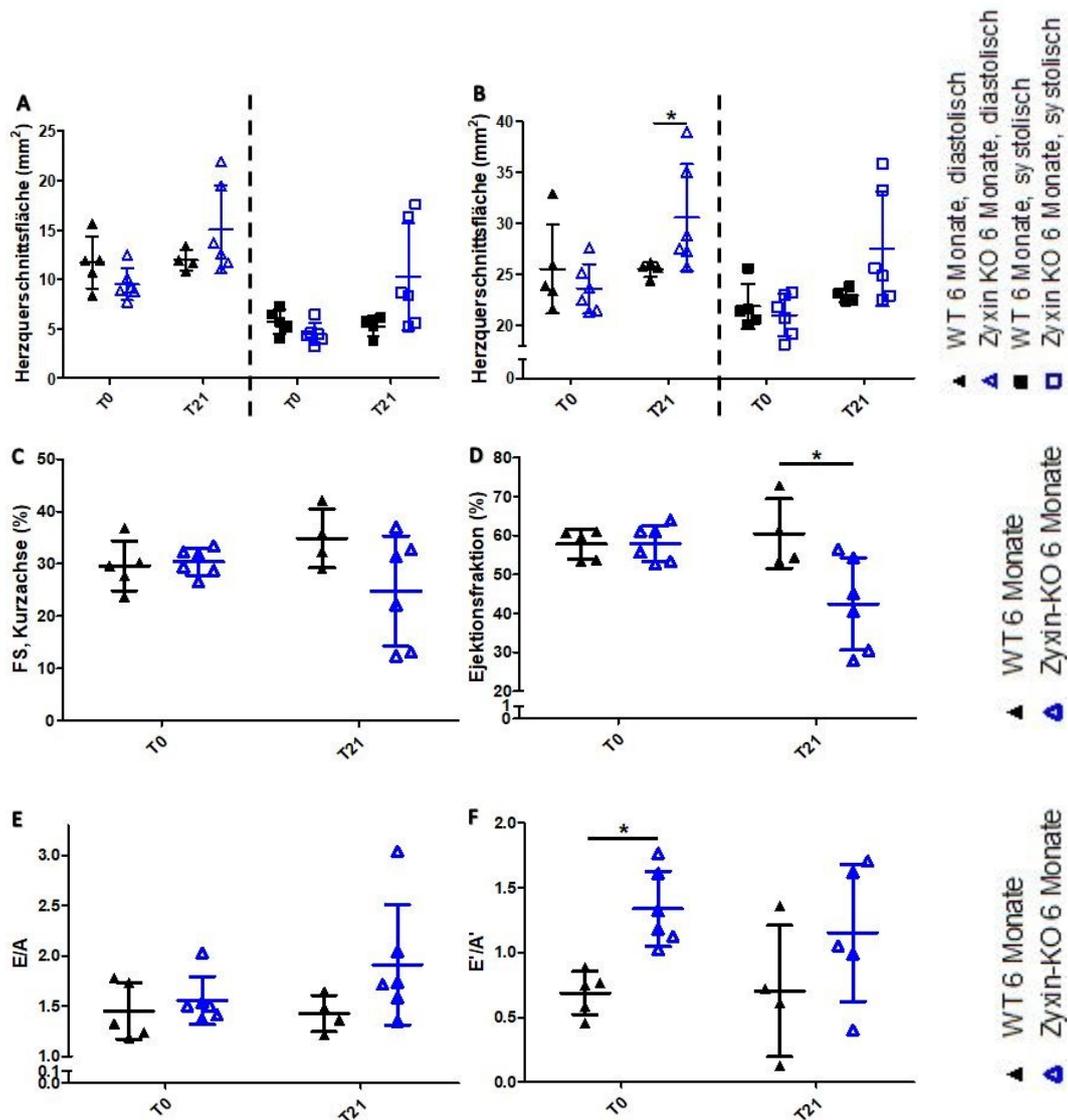
**Tabelle 18: disponierende Faktoren, die sich bei LPP-Knockoutmäuse unterscheiden, die vorzeitig gestorben sind:** n (lebend) = 4, n (alle) = 9, GEE – Verallgemeinerte Schätzgleichung, Pfeile: Wert der 12 Monate alten LPP-KO, die bis zum Versuchsende gelebt haben, ist im Vergleich zu allen LPP-KO dieser Altersgruppe größer/kleiner, in Klammern: Mittelwerte für 12-monatige nur überlebende vs. alle 12 Monate alten LPP-KO Tiere an Tag 0; LPP – Lipoma preferred partner, AAT – Beschleunigungszeit des Aortenauswurfes, IVCT – Isovolumetrische Kontraktionszeit, PAT – Beschleunigungszeit des Pulmonalarterienauswurfes, FS – % Verkürzung.

Mögliche Risikofaktoren	
Parameter	
Parameter, die nach GEE Einfluss auf das Überleben haben	LPP-KO, die bis zum Versuchsende gelebt haben, liegen im Vergleich zu allen gleichalten LPP-KO Mäusen:
Gewicht	↓ (23,7 vs. 25,9 g)
AAT	↑ (17,4 vs. 13,5 ms)
IVCT	↓ (10,1 vs. 12,2 ms)
PAT	↑ (20,9 vs. 19,5 ms)
Ventrikellänge (systolisch & diastolisch)	↓ (7,40 vs. 7,46 mm 7,81 vs. 7,86 mm)
Querschnittsfläche	↓ (15,8 vs. 16,8 mm <sup>2</sup> )
Volumen (systolisch & diastolisch)	↓ (24,38 vs. 25,55 µl 60,17 vs. 63,79 µl)
Wanddicke (durchschnittlich)	↓ (0,72 vs. 0,77 mm)
Herzmasse	↓ (81 vs. 91 mg)
FS - Quer	↑ (32,6 vs. 32 %)

### 2.3.2.6. Sonographieergebnisse der Zyxin-Knockoutmäuse

Die 6 Monate alten Mäuse gleichen basal in ihren systolischen Herzparametern (HMV, SV, s. Anhang XI-1.2.3) den altersentsprechenden Wildtypkontrollen. Diastolisch zeigte sich eine geringgradig langsamere, aber statistisch nicht signifikante, spätdiastolische aktive Füllung (A) und eine um ein Drittel signifikant reduzierte Geschwindigkeit der entsprechenden Gewebewegung (A'). Auffallend bei den Knockouttieren war ein  $E'/A' > 1$  und das E/A-Verhältnis, welches unter DOCA-Salz-Behandlung von 1,56 (Tag 0) auf 1,9 (Tag 21) steigt. Nach Induktion des Bluthochdrucks zeigte sich bei den Zyxin-Knockoutmäusen

eine um jeweils etwa 30 % verminderte Ejektionsfraktion und fraktionelle Verkürzung in der Kurzachse (Abb. 27).



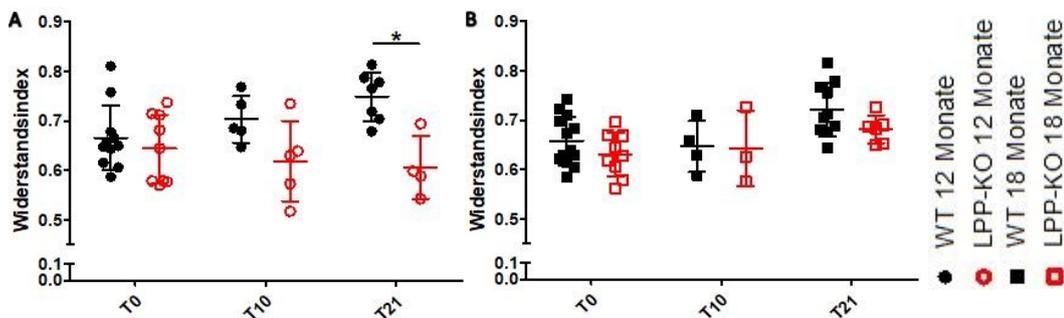
**Abbildung 27: Ausgewählte Parameter der Zyxin-KO Mäuse:** Oben: Die Flächenzunahme der Zyxin-KO Mäuse spricht für eine exzentrische Hypertrophie (A: Endokard als äußere Begrenzung der Fläche, B: Epikard als äußere Begrenzung der Fläche), C: FS & D: EF sind am Versuchsende bei Zyxin-KO Mäusen um etwa 30 % geringer, E: steigendes E/A-Verhältnis; F:  $E' < A'$  und somit  $E'/A' > 1$  bzw. Anzeichen für eine veränderte diastolische Herzfunktion, WT – Wildtyp, \*  $p < 0,05$ , Dotplot mit Mittelwerten und Standardabweichung, n – siehe Anhang XI 1.2.3

### 2.3.3. Vaskuläre Phänotypisierung

#### 2.3.3.1. Widerstandsindex – Einfluss von Alter und Genotyp

Es zeigte sich ein Einfluss des Genotyps auf den Widerstand distal zum Untersuchungspunkt in der A. femoralis (Abb. 28, vgl. auch GEE und

Sonographieergebnisse für die Zyxin-Knockoutmäuse im Anhang XI-1.2.3, XI-1.3). Der Widerstands-Index steht stellvertretend für den totalen peripheren Widerstand. Der Anstieg des peripheren Widerstandes fällt bei den 18 Monate alten LPP-Knockoutmäusen geringer aus als bei den altersentsprechenden Wildtypkontrollen, dieser Effekt war aber nicht signifikant (Abb. 28B). Bei den 6 Monate alten Zyxin-Knockoutmäusen ist dieser in etwa gleich dem der Wildtypkontrollen (siehe Anhang XI-1.3). Bei den 12 Monate alten LPP-Knockoutmäusen war der Widerstands-Index dagegen an Tag 21 deutlich und signifikant reduziert (Abb. 28A). Während sich die systolische Geschwindigkeit bei den WT kaum ändert, fällt diese bei den LPP-KO leicht. Diastolisch sinkt die Geschwindigkeit etwas geringer bei den LPP-Knockouts (siehe Anhang XI-1.2).



**Abbildung 28: Widerstands-Index:** (A) 12 Monate alte Tiere: Der Widerstand nimmt unter arterieller Hypertonie bei den WT zu im Gegensatz zu den LPP-KO; (B) 18 Monate alte Tiere: Der Widerstand nimmt unter arterieller Hypertonie bei den WT zu, bei den LPP-KO ebenfalls, aber in geringerem Maße; LPP-KO – Lipoma preferred partner-Knockout, WT – Wildtyp, T – Tag, \*  $p < 0,05$ , Dotplot mit Mittelwerten und Standardabweichung, n – siehe Anhang XI 1.2.1, XI 1.2.2

### 2.3.3.2. Dehnungseigenschaft der Aorta und der Einfluss der LPP-Defizienz

Bei den Wildtypen im Alter von 12 Monaten erweitert sich der Durchmesser der Aorta um 15 - 20 %, bei den LPP-Knockoutmäusen im selben Alter nur um 8 - 15 %. Aufgrund der geringen Anzahl an Stichproben (2 - 5 je Gruppe) wird hier auf eine genaue Auflistung der Werte verzichtet (siehe Anhang XI-1.2).

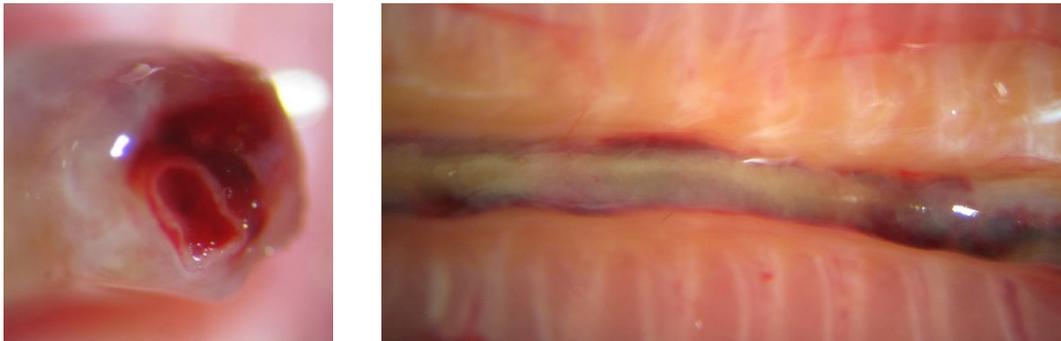
## 2.4. Besondere Befunde bei der Sektion

Neben den oben (siehe Kap. 2.3.2.5) erwähnten akuten Todesfällen mit Hämathothorax und Hämoperitoneum zeigten sich weitere Auffälligkeiten bei den Tieren in der Sektion am Versuchsende. Gefäßveränderungen (beispielhaft Abb. 29) konnten sowohl bei den Wildtypmäusen ab einem Alter von 12 Monaten als auch bei LPP-Knockoutmäusen festgestellt werden; mit einer gewissen Häufung bei den 18 Monate alten Tieren (Tab. 19). Einmalig konnte auch bei einer 18

Monate alten LPP-Knockoutmaus eine veränderte Leber (cremefarben, mit einer runden Umfangsvermehrung von ca. 4 x 2 mm) beobachtet werden. Subjektiv schienen die Knochen der LPP-Knockouttiere recht brüchig zu sein. Die 6 Monate alten Zyxin-Knockout- oder Wildtypmäuse waren dagegen unauffällig.

**Tabelle 19: Häufigkeit von Gefäßveränderungen:** LPP-KO – Lipoma preferred partner-Knockout, WT – Wildtyp, min. – mindestens.

Genotyp und Gefäßveränderungen	
Parameter	Einfluss von
Genotyp und Altersgruppe	Anzahl der Tiere die min. eine Gefäßveränderung hatten / Gesamtzahl untersuchter Tiere
LPP-KO, 12 Monate alt	3/4
WT, 12 Monate alt	4/7
LPP-KO, 18 Monate alt	4/6
WT, 18 Monate alt	7/10



**Abbildung 29: Typische Gefäßveränderungen:** links: Querschnitt eines Aortenbogens einer LPP-Knockoutmaus mit einem neuen Lumen (Dissektion), rechts: periaortale Einblutungen bei einer Wildtypmaus.

### 3. Untersuchungen der Gewebeproben

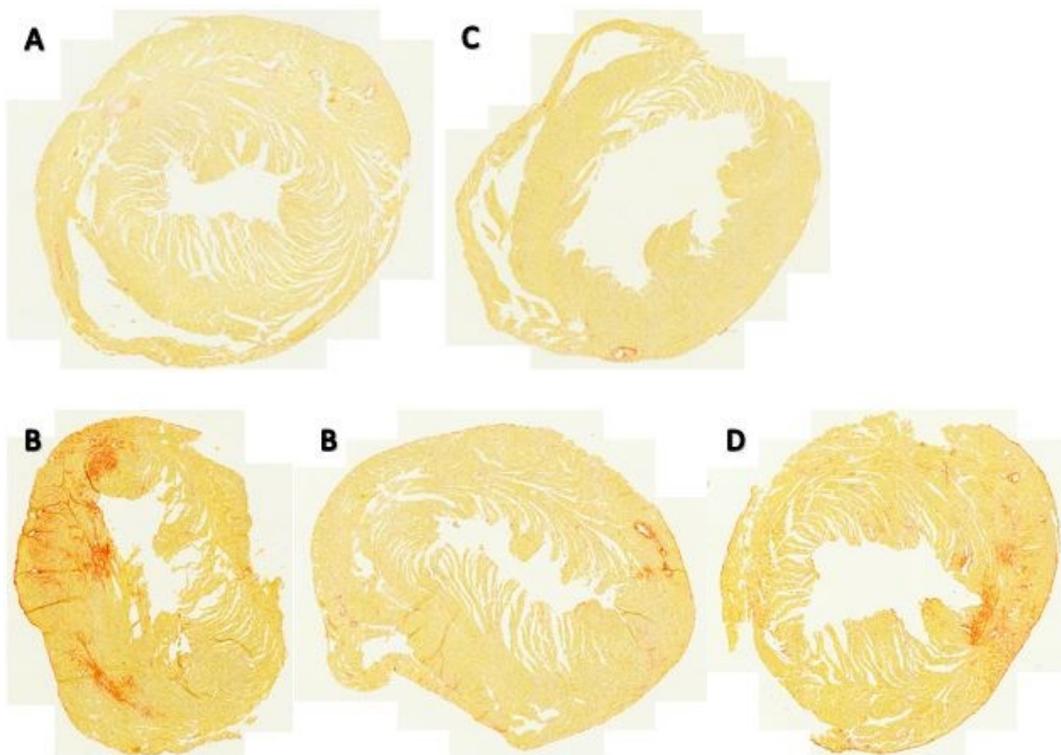
Am Versuchsende wurden die Tiere, noch in Narkose liegend, tierschutzgerecht euthanasiert, um u.a. Gefäße und Herzen für weitere Untersuchungen entnehmen zu können. Erste histologische Untersuchungen sind nachfolgend gezeigt.

#### 3.1. Histologische Untersuchungen der LPP-Knockoutmäuse im Hypertonie-Modell

Im Folgenden sind erste Beobachtungen dargestellt, die rein subjektiv beschrieben und nicht objektiv ausgewertet sind.

### 3.1.1. Kardiale Fibrose - Unterschiede zwischen den Genotypen

Die in Abbildung 30 gezeigten Herzmuskelgewebeschnitte sind von Tieren nach DOCA-Salz-Behandlung. Die 12 Monate alten LPP-Knockoutmäuse zeigten kaum bis keine fibrotischen Areale im Herzen (Abb. 30A) im Gegensatz zu den gleich alten Wildtypkontrollen, bei denen dies teilweise deutlicher zu sehen war (Abb. 30B). Die 18 Monate alten LPP-Knockoutmäuse zeigten eine milde Fibrose, vor allem in perivaskulären Bereich (Abb. 30C), jedoch geringer ausgeprägt als bei gleich alten Wildtypkontrollen (Abb. 30D).



**Abbildung 30: Sirius-Rotfärbung von Herzen:** (A) Herz einer 12 Monate alten LPP-KO Maus ohne erkennbare Fibrose, (B) Herzen von 12 Monate alten Wildtyp Mäusen mit unterschiedlich hohem Anteil an Fibrose, (C) Herz einer 18 Monate alten LPP-KO Maus mit geringgradiger (ggr.) perivaskulärer Fibrose, (D) Herz einer 18 Monate alten Wildtyp Maus mit ggr. Fibrose; die Aufnahmen sind mit 200x Vergrößerung auf dem Kamerasensor aufgenommen, Panoramabildverfahren, nicht maßstabgetreu auf ca. gleiche Größe skaliert (Größe siehe Ultraschallergebnisse, Kap. 2.3.2.1).

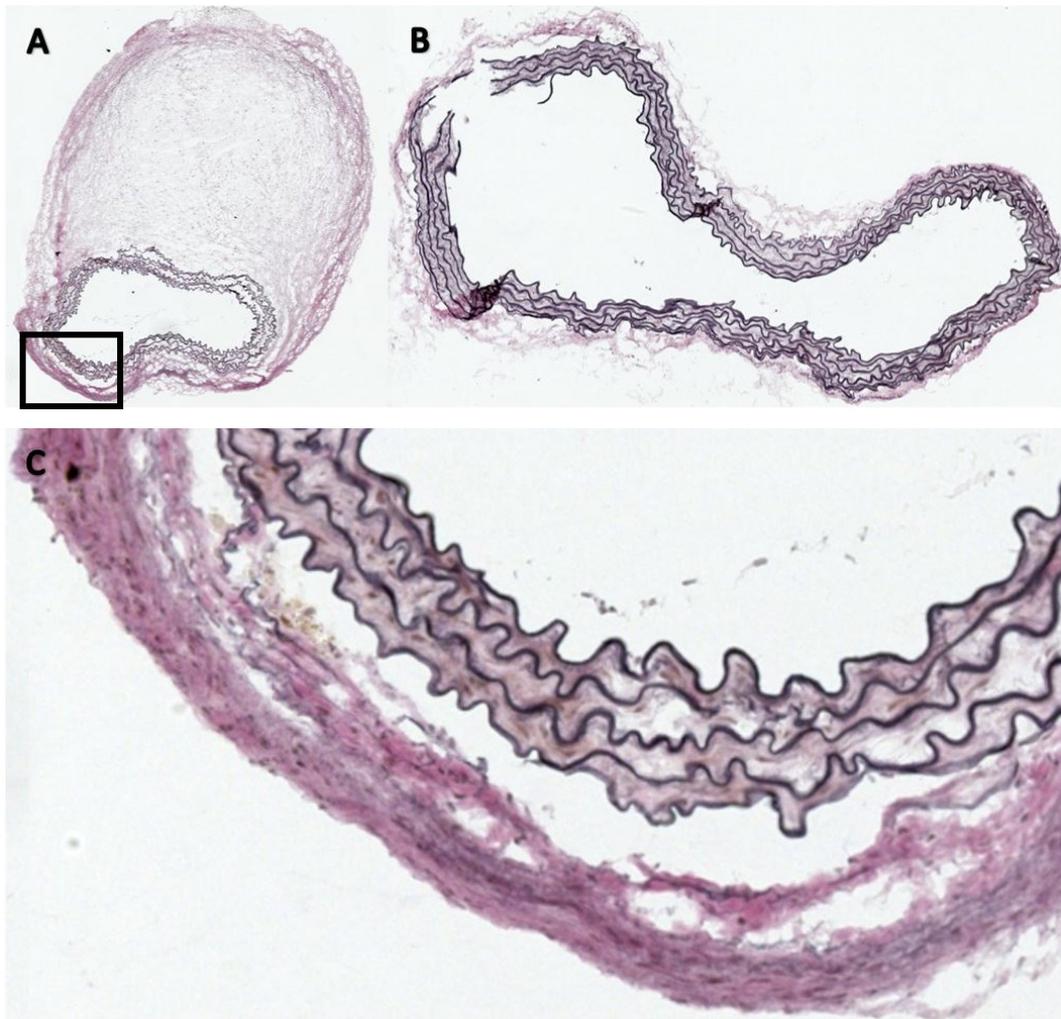
### 3.1.2. Vaskuläre Histologie – Elastische Fasern

Die eigentlich wellenförmig erscheinenden elastischen Fasern in der Aorta (vgl. Abb. 32) waren bei manchen LPP-Knockoutmäusen eher „langgezogen“ (Abb. 31). Sowohl bei den ab 12 Monate alten Wildtypkontrollen und insbesondere bei den LPP-Knockoutmäusen (Abb. 33) finden sich Gefäßaussackungen und –veränderungen, wie bereits oben (Kap. 2.4 Auffälligkeiten bei der Sektion, inkl.

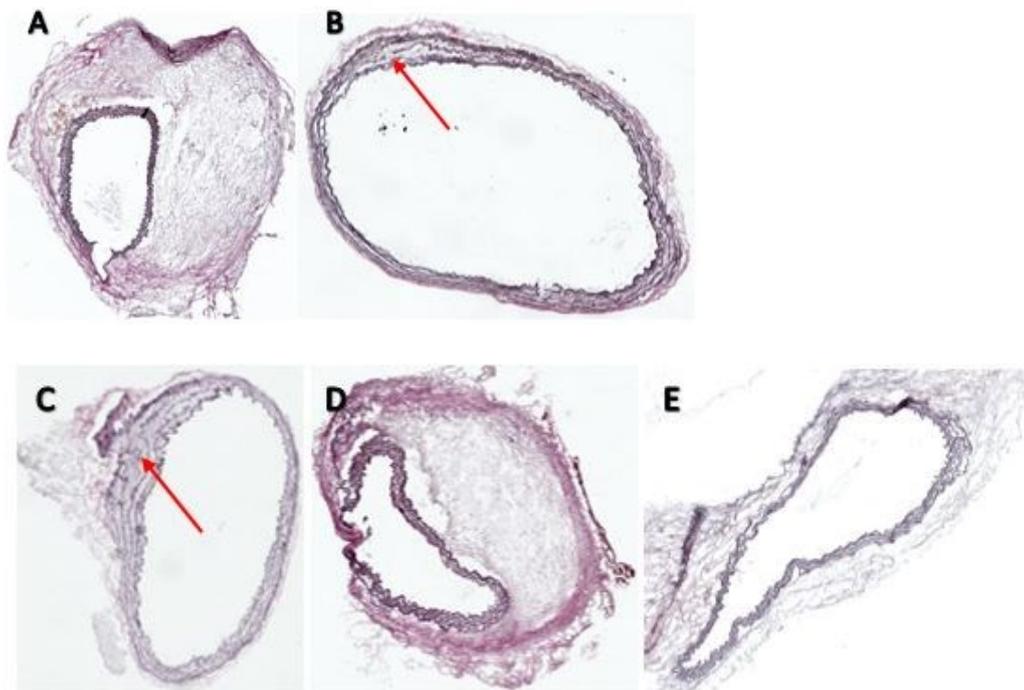
Häufigkeit) beschrieben; darunter befinden sich auch Strangbrüche in der *Elastica membrana interna* (Abb. 33).



**Abbildung 31: Elastica-van Gieson-Färbung der Aorta von 12 Monate alten LPP-Knockoutmäusen (A – C): (D) mit vergrößertem Bildausschnitt von A bzw. (E) mit vergrößertem Bildausschnitt von D; die elastischen Fasern erscheinen „langgezogen“ (E). Die Aufnahmen sind mit 200x Vergrößerung auf dem Kamerasensor aufgenommen, Panoramabildverfahren, nicht maßstabsgetreu (A – C) auf ca. gleiche Größe skaliert, (D, E) vergrößerte Bildausschnitte.**



**Abbildung 32: Elastica-van Gieson-Färbung der Aorta von 12 Monate alten Wildtypmäusen:** (A, B) Übersichtsbild mit (C) vergrößertem Bildausschnitt von A; die elastischen Fasern liegen wellenförmig. Für Details vgl. Legende zu Abb. 31.



**Abbildung 33: Elastica-van Gieson-Färbung der Aorta von 18 Monate alten LPP-Knockoutmäusen (A, B) und den altersentsprechenden Wildtypkontrollen (C-E): A, D mit Einblutungen; B, C mit Strangbrüchen der elastischen Fasern (rote Pfeile), (B) die elastischen Fasern erscheinen „langgezogen“; Für Details vgl. Legende zu Abb. 31.**



## V. DISKUSSION

Nachfolgend werden die Ergebnisse diskutiert. Die Diskussion ist thematisch aufgeteilt in allgemeines zur Statistik und den Tieren (1.) und den Ergebnissen (2.). Da die Ergebnisse der Tierversuche umfangreich waren, ist dieser Punkt weiter untergliedert nach Genotyp bzw. Herz und Gefäße. Abschließend folgt ein kurzes Fazit.

### 1. Statistik, Gendefizienz und Tiere

Als Erstes soll kurz auf die Durchführung der statistischen Berechnungen eingegangen werden, da diese tragender sowie sensibler Teil einer jeden Auswertung von Daten ist.

Die statistischen Berechnungen wurden für alle und ein zweites Mal nur für bis zum Versuchsende überlebende Tiere gerechnet, um Unterschiede zu erkennen. Dies ist auch bei den verallgemeinerten Schätzgleichungen für den Einflussfaktor „Überleben“ zu finden. Stichprobenweise wurden die Methoden (z.B. Herzgewicht gewogen und im Ultraschall gemessen) zur Überprüfung der eigenen Arbeitsweise verglichen. Die Ergebnisse waren durchgehend plausibel, sodass methodische Fehler weitgehend auszuschließen sind. Um bei der ohnehin geringen Anzahl an Versuchstieren nicht noch eine weitere Reduktion der Probenzahl in Kauf nehmen zu müssen und um ein möglichst realistisches Bild der verfügbaren Daten zu haben, wurde nicht auf statistische Ausreißer getestet bzw. diese bewusst in den gezeigten Daten belassen. Vergleiche zwischen den Tendenzen zweier Stichproben wurden grundsätzlich mit t-Test (Normalverteilung) bzw. Mann-Whitney-U-Test (keine Normalverteilung) gerechnet, damit ein Fehler durch die Auswertungsmethode, die nicht zur Verteilung der Daten passt, ausgeschlossen werden konnte. Generell ist zu sagen, dass die vorliegende Arbeit als orientierende Studie gedacht war und deshalb alle Ergebnisse unter der Berücksichtigung der geringen Anzahl an Versuchstieren pro Gruppe zu betrachten sind, deshalb wurde auch auf eine Adjustierung mit Bonferonikorrektur verzichtet. Es sollten primär potentielle Effekte erkannt werden und nicht signifikante Unterschiede, welche jedoch erfreulicherweise trotz der geringen Anzahl an Versuchstieren teils zu erkennen waren. Die zentralen Befunde müssten in größeren, hypothesenbasierten Studien bestätigt werden.

Der rein rechnerische Ausgangspunkt soll im Folgenden um die verwendeten Tiere, deren beispielsweise genetischer Hintergrund bekanntermaßen einen nicht unerheblichen Einfluss auf Untersuchungen haben kann, und generelle Fehler-Prävention ergänzt werden<sup>92</sup>.

Um Varianzen, die durch Geschlechtsunterschiede bedingt sind<sup>93,94</sup>, auszuschließen, wurde nur auf männliche Tiere zurückgegriffen. Aufgrund der limitierten Verfügbarkeit älterer (12 bzw. 18 Monate alt) CL57BL/6J-Kontrollmäuse musste auf mindestens zwei Anbieter zurückgegriffen werden. Insofern sind Varianzen bei diesen Wildtyptieren unvermeidlich. Da nur C57BL/6J-Mäuse gekauft wurden und die Knockouttiere denselben genetischen Hintergrund haben, konnten Inzuchtlinien-bedingte Unterschiede minimiert werden<sup>94</sup>. Die Unterbringung und Versorgung im institutseigenen Tierraum während der Versuchsphase erfolgte für alle Tiere identisch und sowohl die Wildtypmäuse als auch die Knockouttiere wurden im Laufe des Versuches handzahn, was für einen guten und stressfreien Umgang spricht.

Um sicherzustellen, dass nur Tiere mit richtigem Genotyp in die Auswertung aufgenommen werden, wurde bei den Knockoutmäusen, die den Versuch bis zum Ende überlebt haben, erneut DNA-Proben genommen und genotypisiert. So sollten mögliche Fehler, die in der Haltung von bis zu anderthalb Jahren auftreten können (z.B. Verwechslung von Käfigkarten oder Käfigen), Wechsel des Probenmaterials von Schwanzspitzen zu Ohrlochstanzen, Mitarbeiterwechsel und übliche Laborfehler (z.B. Fehler beim Pipetieren, versehentlich Proben vertauschen), weitgehend ausgeschlossen sein. Bei den zugekauften Mäusen wurde auf die Zuverlässigkeit der Züchter vertraut, allerdings bestand auch hier die Möglichkeit der Überprüfung mittels PCR bei aufkommenden Zweifeln.

Die Haltung der Tiere erfolgte nach Empfehlungen der GV-SOLAS (Gesellschaft für Versuchstierkunde)<sup>95</sup>.

## **2. Tierversuche und Ergebnisse**

Dieser Teil ist gegliedert nach Genotyp und abschließend ein kurzes Fazit.

### **2.1. Lipoma preferred partner-Knockoutmäuse**

Da das Hauptaugenmerk dieser Arbeit auf den LPP-Knockoutmäusen liegt, wird auf diese besonders eingegangen. Die aufgefallenen adspektorischen, herz- und vaskulaturassoziierten Befunde werden nachfolgend eingehender diskutiert.

#### **2.1.1. Adspektorische Unterschiede**

Obwohl bisherige Berichte von unauffälligem Habitus bei Absenz des Lipoma preferred partner-Gens in adulten Tieren ausgehen<sup>72</sup>, zeigten sich in neueren Versuchen mit 3 Monate alten LPP-Knockouttieren ein um 10 % reduziertes Körpergewicht<sup>12</sup>. Grund für diesen Unterschied könnte sein, dass die in Referenz 72 (Vervenne et al. 2009) beschriebenen Tiere auf einem gemischten genetischen Hintergrund (129S1xC57BL/6J) gezüchtet waren, die in Ref. 12 (Nahar 2017) wie auch in dieser Arbeit verwendeten Knockoutmäuse aber vollständig auf den C57BL/6J-Hintergrund zurückgekreuzt waren. In dieser Arbeit konnte eine um 20 % reduzierte Körpermasse der mindestens 12 Monate alten Knockoutmäuse beobachtet werden, sowie eine mit zunehmendem Alter häufiger vorkommende kyphotische Rückenlinie, welche fest verwachsen war. Beides ist auffallend häufig bei den LPP-Knockouttieren. Da diese Beobachtungen bei jungen Tieren nicht oder in nur geringerem Umfang gemacht wurden, könnte eine Altersabhängigkeit bestehen. Dass im höheren Alter beim Menschen oft das hinlänglich bekannte Problem des Gewichtsverlustes auftritt und dies vielfältige Ursachen und Folgen hat, ist bekannt<sup>96</sup>. Auch bei Mäusen treten im Alter vermehrt Veränderungen ein<sup>97</sup>. Gewichtsveränderungen können aber auch ein Hinweis auf Erkrankungen sein<sup>98</sup>. Generell waren die hier untersuchten Knockoutmäuse kleiner, somit ist ein reduziertes Gewicht im Vergleich zur Kontrollgruppe schlüssig. Ob das die einzige Ursache ist, bedarf weiterer Untersuchungen, insbesondere auf Erkrankungen und auch auf Tumoren, da LPP bereits mehrfach diesbezüglich beschrieben ist<sup>70,99,100</sup>. Die verhältnismäßig häufigeren Kyphosen lassen sich damit nicht erklären. Hier könnten Defekte im Binde- und Stützgewebe oder ganz generell in der Entwicklung sein. Jedenfalls gibt es Hinweise in der Literatur, dass LPP in der Entwicklung und der Zellpolarität von Bedeutung ist<sup>89</sup>, auch andere Ursachen wie beispielsweise Osteoporose müssten ausgeschlossen werden<sup>101</sup>. Ob die Tiere schneller altern, ihr

Wachstum früher beendet oder generell verändert ist, bedarf weiterer Studien. Um bereits entwicklungsbedingte Defizite für zukünftige Untersuchungen zu vermeiden, könnten induzierbare Knockoutmäuse von großem Vorteil sein. Untersuchungen der wichtigsten Wachstumshormone sowie Osteoporosemarker oder der Histologie des Bewegungsapparates, insbesondere der Wirbelsäule könnten Hinweise auf mögliche Ursachen liefern.

Die beobachtete Gewichtszunahme an Tag 10 bei den 18 Monate alten Knockouttieren könnte durch Unterhautödeme bedingt sein, welche bei DOCA-Salz-Behandlung bereits beschrieben sind<sup>102</sup>. Ödeme können aber auch ein Symptom diverser Erkrankungen sein<sup>103</sup>. Da die sonographische Untersuchung an Tag 10 erst im Laufe des Versuches nachbeantragt wurde und der Fokus nicht auf der Rechtsherz- bzw. Lungen-Untersuchung lag, kann dies als (Stauungs-) Ödemursache nicht ausgeschlossen werden; ebenso müsste auf Stoffwechsel- oder Lebererkrankungen sowie venöse Hypertension und mögliche lymphatische Probleme untersucht werden<sup>103,104</sup>. Zumindest wäre bei den LPP-KO Tieren aber auch ein Defekt der Gefäße bzw. des Bindegewebes in Betracht zu ziehen, der mit einer erhöhten Durchlässigkeit für Flüssigkeit in den Extravasalraum einhergeht (Gefäßpermeabilität). Dies könnte auch ihre Fragilität bei der Implantation der Telemetriesonden (siehe Methoden III 2.6.1) bzw. die häufigen Todesfälle infolge Gefäßruptur erklären. Dazu passt die bereits beschriebene reduzierte Lebensfähigkeit und Migration der embryonalen Fibroblasten aus LPP-Knockoutmäusen<sup>72</sup>, die zu Veränderungen in allen Geweben (die Fibroblasten enthalten) führen können, was eine möglicherweise reduzierte Festigkeit des Gewebes und damit womöglich erhöhte Durchlässigkeit nicht unwahrscheinlicher macht, und auch die Veränderungen des Stützgewebes, wie die Länge der Röhrenknochen, Kyphose und die subjektiv empfundene erhöhte Fragilität der Knochen (mit-)erklären könnte.

Der beobachtete Gewichtsverlust unter DOCA-Salz-Behandlung könnte an einer erhöhten Stressanfälligkeit, reduzierter Futteraufnahme oder durch den hohen Blutdruck und damit einhergehend durch die höhere Herzleistung bei gleichzeitig relativ hohem Alter liegen. Beschrieben wurde bereits ein reduziertes Wachstum von Ratten unter DOCA-Salz-Behandlung<sup>105</sup>. In der genannten Veröffentlichung wird Anorexie aufgrund der Elektrolytverschiebung als Ursache der mangelnden Entwicklung gemutmaßt<sup>105</sup>. Warum aber vor allem die LPP-Knockoutmäuse

darunter leiden und weniger die Wildtyptiere, bleibt offen. Vielleicht ist der Stoffwechsel erhöht (verhältnismäßig erhöhter Metabolismus bei kleineren Tieren<sup>106</sup>), die Futtermittelaufnahme (verhältnismäßig) geringer, die Verdauung schlechter, der Energieumsatz ineffektiver, die Elektrolytverschiebung größer bzw. die Nierentätigkeit beeinträchtigt oder die Muskulatur hat einen vergleichsweise höheren Arbeitsumsatz. Weitere Untersuchungen könnten Aufschluss darüber geben, insbesondere ob der Energieverbrauch beispielsweise durch „Mittesser“ wie Tumoren erhöht ist. Dieser Aspekt erscheint besonders interessant, da LPP in einigen Tumorarten beschrieben ist und dort auch erstmalig entdeckt wurde<sup>66,69,70</sup>. Allerdings wurde makroskopisch nur bei einer Knockoutmaus eine Umfangsvermehrung beobachtet. Auch entwicklungsbedingte Unterschiede sind in Anbetracht der embryonalen Auffälligkeiten eine Möglichkeit<sup>72,89</sup>. Ebenso könnte Energie über die Nieren verloren gehen, jedenfalls traten teilweise erhebliche Polyurien auf und bei längeranhaltender Hypertonie ist eine Schädigung der Nieren (Niereninsuffizienz) nicht unwahrscheinlich. Auch der Elektrolythaushalt wäre ergänzend zu berücksichtigen<sup>105</sup>. Bei zukünftigen Studien sollte die Futtermittelaufnahme dokumentiert werden, um quantitative Mangelernährung bzw. Anorexie als Ursache auszuschließen. Diese Liste der möglichen Ursachen ist lang und bedarf weiterer eingehenderer Untersuchungen.

### **2.1.2. Vaskuläre Aspekte – Blutdruck und Gefäßveränderungen**

Das auffälligste Problem der LPP-Knockoutmäuse mit den erwähnten Gefäßrupturen, Ödemen, reduzierter Anpassung an den höheren Blutdruck, indirekt über den Widerstandsindex gemessen, und in ersten histologischen Bildern erscheinenden Veränderungen der Architektur der Gefäße sowie den Sektionsbefunden liegt im vaskulären Bereich. Die häufigen Todesfälle bei den LPP-Knockouttieren sind höchstwahrscheinlich durch die Gefäßinstabilität bedingt, welche sich ebenso bei dem Versuch der Implantation der Telemetriesonden gezeigt hat. Auch eine gewisse Neigung zu Dissektionen bzw. Aneurysmen in den großen arteriellen Leitungsgefäßen war bei den LPP-Knockoutmäusen nicht zu übersehen. Tatsächlich ist eine veränderte Expression des Proteins bei der Bildung atherosklerotischer Plaques bzw. bei Gefäßverletzungen beschrieben<sup>107</sup>. Diese Veränderungen genauer zu untersuchen, ist mithilfe der durchgängig asservierten arteriellen Blutgefäße aus diesen Tieren möglich und sollte weitere Aufschlüsse zum Gefäßstatus liefern. Besonders ob rein

bindegewebige strukturelle Unterschiede bestehen oder Stoffe wie beispielsweise LDL-Cholesterin bzw. lipid droplets vermehrt in die Gefäßwand eingelagert werden, wäre besonders interessant zu untersuchen, da wie erwähnt LPP möglicherweise an der Arteriosklerosebildung beteiligt ist<sup>107</sup>. Da Gefäßveränderungen und Todesfälle auch bei den Wildtypkontrollen auftraten, dürften diese Phänome nicht durch die LPP-Defizienz alleine zu erklären sein. Hier kämen u.a. auch das Alter, die Hypertonie und der genetische Hintergrund CL57BL/6J infrage<sup>25,92,94,108</sup>.

Die bereits bei drei Monate alten LPP-Knockoutmäusen beschriebene, unter Behandlung mit DOCA-Salz auftretende, systolische Blutdruckerhöhung<sup>12</sup> war bei den 12 und 18 Monate alten Tieren bereits zu Versuchsbeginn vorhanden. Arterielle Hypertonie ist ein weit verbreiteter gesundheitlicher Risikofaktor, der langfristig zu diversen Folgeschäden wie Herz-Kreislauferkrankungen, (Hirn-)Blutungen und zur Manifestation von Endorganschäden wie beispielsweise Retinopathien, chronischer Niereninsuffizienz, ventrikuläre Hypertrophie oder Arteriosklerose führen kann<sup>1-7,109</sup>. Auch 2016 waren Herz-Kreislauferkrankungen wieder die häufigste Todesursache in Deutschland<sup>110</sup> und somit Hypertonie von herausragender gesundheitlicher Bedeutung. Vor allem bei den 12 Monate alten Knockouttieren fiel eine im Vergleich zu den altersentsprechenden Wildtypkontrollen sehr deutliche Hypertonie auf. Technisch bedingt könnte diese Diskrepanz eventuell durch die bei diesen Tieren häufiger benutzten kleineren Blutdruckmanschetten erklären werden, was jedoch unwahrscheinlich ist, da bei den 18 Monate alten Knockoutmäusen kein derartiger Effekt zu sehen war. Auch die im Vergleich zu den altersentsprechenden Wildtypkontrollen erhöhte Dosis an Desoxycorticosteron-Acetat, Stichwort Gewichtsdiskrepanz, scheidet als Erklärung aus, da die 18 Monate alten Knockoutmäuse noch leichter sind und praktisch eine ohnehin supramaximale Dosis verwendet worden ist. Wahrscheinlicher erscheinen die vorgenannten, entwicklungsbedingten Unterschiede oder altersabhängige unterschiedliche Kompensationsmöglichkeiten beispielsweise durch Zyxin, die *in vitro* und auch *ex vivo* existieren<sup>12,13</sup>. Da LPP in glatten Gefäßmuskelzellen (vGMZ) ähnlich wie Zyxin für die Registrierung der Wandspannung bzw. der Weiterleitung dieses Signals in den Zellkern (mit-)verantwortlich zu sein scheint<sup>23</sup>, könnte eine veränderte Perzeption bzw. Transduktion des Dehnungsreizes auf allen Ebenen der Signalübertragung in den LPP-defizienten Mäusen vorliegen. Die Rolle von Zyxin

bei der Mechanotransduktion in Endothelzellen wurde bereits im Detail beschrieben<sup>9,10</sup>. Auch für die Signaltransduktion in den glatten Gefäßmuskelzellen gibt es erste konkrete Hinweise<sup>13</sup>. Für LPP gibt es bisher keine detaillierteren Untersuchungen zu den beteiligten Signalperzeptions- und Transduktionsmechanismen weder in Endothelzellen noch in glatten Gefäßmuskelzellen; hier besteht also eindeutig weiterer Forschungsbedarf. Eventuell wäre diesbezüglich auch noch der Funktionszustand der Nieren zu prüfen, um diese als Ursache der massiven Hypertonie auszuschließen (Stichwort: Polyurie, Ödeme), insbesondere da LPP in der Niere hoch exprimiert wird<sup>72</sup>.

Wie auch die 3 Monate alten Tiere<sup>12</sup> zeigen die älteren LPP-Knockoutmäuse nur einen geringeren (18 Monate alte Tiere) oder keinen (12 Monate alte Tiere) Anstieg des peripheren Widerstandes unter DOCA-Salz-Behandlung, was ebenfalls auf eine veränderte Regulation bzw. ein verändertes Reaktionsvermögen oder ausbleibende Wahrnehmung gegenüber den veränderten hämodynamischen Bedingungen der glatten Gefäßmuskelzellen schließen lässt. Möglicherweise sind die 18 Monate alten Tiere etwas widerstandsfähiger bzw. haben stabilere Gefäße, da sie einer altersbedingten Zunahme an Bindegewebe unterliegen könnten<sup>111</sup>. Nicht unerwähnt bleiben soll in diesem Zusammenhang, dass die Auswurfleistung des Herzens der 12 Monate alten LPP-Knockoutmäuse, im Gegensatz zu den 18 Monate alten Tieren, deren Herzminutenvolumen konstant blieb, unter DOCA-Salz-Behandlung abnimmt und dies ebenso zu einer Reduzierung des Widerstandsindex führen könnte. Zumindest in dieser Studie wurde stets die Blutflussmessung in den Aa. femorales vor der eigentlichen Echokardiographie durchgeführt, um der Gefahr einer Zentralisation des Kreislaufes zuvorzukommen, die beispielweise durch das Abkühlen der Extremitäten auftreten kann und die Vergleichbarkeit der Ergebnisse dieser Messung negativ beeinflussen könnte. Eine weitere Möglichkeit wäre auch eine funktionelle Kompensation oder Einflussnahme durch Zyxin, wie bereits in Zellkulturversuchen beschrieben<sup>11,12</sup>, die alters-, zelltyp- und konzentrationsabhängig sein könnte. Diese Möglichkeit sollte ebenfalls weiter untersucht werden.

Die möglicherweise reduzierte Dehnbarkeit bzw. Elastizität der Aorta zusammen mit den preliminären histologischen Analysen und der reduzierten bzw. fehlenden Erhöhung des peripheren Widerstandes sprechen ebenfalls für einen deutlich veränderten Aufbau der Gewebe, insbesondere in Bezug auf deren Stabilität. Alternativ käme eine maximal erhöhte Wandspannung dieser Gefäße, verursacht

durch eine supraphysiologische Druck- bzw. Volumenbelastung, in Betracht, welcher die glatten Gefäßmuskelzellen nichts mehr entgegenzusetzen haben. Auch hierfür müssten allerdings noch die Nieren bzw. der Wasser- und Elektrolythaushalt als Verursacher (Stichwort Volumenüberladung, Regulationsvermögen) eindeutig ausgeschlossen werden, wie das z.B. für Zyxin bereits gemacht worden ist<sup>11,13</sup>. Dann stellt sich die Frage insbesondere nach der Vernetzung mit bzw. Verankerung der glatten Gefäßmuskelzellen in der extrazellulären Matrix (EZM) sowie der Funktion der kontraktilen Elemente, die für eine noch ausreichende Kontraktion notwendig sind. Alternativ käme, wie bereits erwähnt, auch ein Nichtregistrieren der erhöhten Druckbelastung oder ein Defekt der Signalweiterleitung in den Zellkern in Betracht. In jedem Falle könnten eingehendere histologische Untersuchungen sowie Analysen der Gen- bzw. Proteinexpression, insbesondere mit Schwerpunkt auf die vGMZ-EZM-Interaktion sowie die Interaktion von LPP mit den fokalen Adhäsionen bzw. dem Aktinzytoskelett und der daran beteiligten Proteinkinasen bzw. -phosphatasen, Hinweise auf wichtige Zielmoleküle von LPP für die Aufrechterhaltung der Gefäßstabilität liefern. Ferner wäre es hilfreich den genauen molekularbiologischen Mechanismus und vor allem die (nicht) redundanten oder gegenseitig kompensierbaren Signaltransduktionsmechanismen von LPP bzw. Zyxin zu kennen. Auch Untersuchungen zur Kontraktilität der arteriellen Gefäße *ex vivo* (z.B. myogene Antwort, passives Druck-Durchmesser-Verhalten) würden weitere wichtige Hinweise zum Funktionszustand dieser Gefäße bei LPP-Defizienz liefern. Die auf den ersten Blick verändert erscheinenden elastischen Fasern sprechen ebenso für einen Defekt in der extrazellulären Matrix in der Gefäßwand und sollten in jedem Falle detailliert untersucht und ausgewertet werden.

Auch eine Publikation, die beschreibt, dass nur LPP und nicht Zyxin in Kombination mit der Protein-Phosphatase 2A die Verfestigung von Zell-EZM-Verbindungen einleitet und die (intrazelluläre) Präsenz von LPP an diesen Verbindungen für eine solide Haftung dieser Zellen sorgt, könnte in diesem Zusammenhang ein Hinweis auf die Problematik der LPP-Defizienz in den glatten Gefäßmuskelzellen sein<sup>78</sup>. Ebenso sollten die Fibroblasten in der Gefäßwand, die offenbar embryonal bereits verändert sind,<sup>51</sup> genauer untersucht werden. Auch sie könnten einen Einfluss auf die strukturelle Integrität und Stabilität der Gefäßwand, insbesondere bei einer supraphysiologischen Druckbelastung haben.

Ein anderer Aspekt, gerade im Bezug auf die Gefäßwandveränderungen, wäre noch die Untersuchung der Gefäßwände und ggf. des Blutes auf das Vorhandensein proinflammatorischer Zytokine bzw. Chemokine, wie sie während der Pathogenese der Arteriosklerose zu finden sind<sup>112</sup>, und inwieweit es hier deutliche Unterschiede zwischen den verschiedenen Genotypen gibt. In Zellkulturversuchen wurde bereits herausgefunden, dass LPP für die Reparatur von Gefäßen vermehrt synthetisiert wird<sup>107</sup>, sodass dessen Fehlen eine deutliche Einschränkung der Aufrechterhaltung der Gefäßintegrität vermuten lässt. Auch die substratabhängige, durch oxidativen Stress verursachte bzw. Compliance-abhängige Translokation von LPP in den Zellkern, die auf eine Rolle bei der Atherogenese schließen lassen<sup>107</sup>, ist aufgrund der relativ häufigen Gefäßrupturen in den LPP-Knockoutmäusen wahrscheinlich. So steht umgekehrt zu vermuten, dass LPP in einem gewissen Maß vor derartigen Gefäßdefekten bzw. Umbauprozessen schützt. Auch der mehrfach beobachtete Effekt einer Beeinflussung der mechanosensitiven Genexpression in glatte Gefäßmuskelzellen durch LPP<sup>12,82,107</sup> deckt sich mit dem phänotypischen Erscheinungsbild der arteriellen Leitungsgefäße im Tierversuch. Das Protein ist, möglicherweise zellspezifisch und/ oder altersabhängig, essentiell und dessen Verlust kann vermutlich nicht vollständig kompensiert werden.

### **2.1.3. Echokardiographie und Duplex-Sonographie**

#### **2.1.3.1. Die Narkose und Narkose-Überwachung**

Interessant war der sehr viel niedrigere Narkosegasbedarf der LPP-Knockoutmäuse. Die Tatsache, dass dieser altersabhängig sank, ist hingegen nichts Neues<sup>113</sup>. Vielleicht ist das Fettgewebe bei diesen Tieren verändert, die Verteilung des Narkosegases Isofluran anderweitig erleichtert oder die LPP-Defizienz bedingt eine höhere Sensibilität für Isofluran. Es stand im Rahmen dieser Arbeit nicht im Mittelpunkt den Grund für die deutlich leichtere Anästhesie dieser Tiere weiter aufzuklären. Dies bedürfte genauerer Untersuchungen und Dokumentation sowie ggf. Zuführung der Narkosegase mittels endotrachealer Intubation, um Ungenauigkeiten durch mangelnde Dichtigkeit der gebastelten Masken (modifizierte Mikroreaktionsgefäße) auszuschließen.

Die deutlich reduzierte Herzfrequenz der LPP-Knockoutmäuse, die in dieser Arbeit im Gegensatz zu früheren Beobachtungen<sup>12</sup>, die allerdings auf telemetrisch erhobenen Daten beruhen, festgestellt wurde, ist insofern erstaunlich, da man bei

kleineren Tieren eher eine höhere Herzfrequenz vermuten würde<sup>114</sup>. Möglicherweise spielt hier zum einen das höhere Alter der untersuchten Tiere eine Rolle<sup>115</sup>, zum anderen der Untersuchungszeitpunkt sowie der Umgang mit den Tieren. Denn sowohl der Isofluranverbrauch als auch die Herzfrequenz sanken im Laufe der DOCA-Salz-Behandlung. Sicher war eine Gewöhnung der Tiere an den Untersucher und eine deutlich geringere panische Reaktion zu beobachten; ob dies alleine aber den Grund für die deutlich geringere Herzfrequenz darstellt, ist fraglich<sup>116</sup>. Eine modellbedingte weitere Streuung der Herzfrequenz<sup>26,27</sup> kann auch nicht die Erklärung sein und trat bei den entsprechenden Wildtypkontrolltieren nicht mit dieser Tendenz auf. Geschlechts- und altersbedingte Einflüsse sind aufgrund der Kontrolltiere und der ausschließlichen Verwendung männlicher Mäuse ebenfalls weitgehend auszuschließen<sup>115</sup>. Auch die circadiane Rhythmik scheidet aufgrund der abwechselnden Untersuchung von Wildtypkontrollen und LPP-Knockoutmäusen sowie der immer zur selben Tageszeit durchgeführten Untersuchung eher aus<sup>117</sup>. Zum Ausschluss methodischer Fehler wäre eine fortlaufende Überprüfung der Körpertemperatur während der Narkose sicherlich ein Aspekt, der nochmals geprüft werden könnte, obwohl auf das Warmhalten der Tiere auf Körperkerntemperatur während der Narkose geachtet wurde. Da aber schon geringe Absenkungen der Körpertemperatur, Stichwort Messgenauigkeit, eine Reduzierung der Herzfrequenz bewirken<sup>118</sup>, kann diese Möglichkeit nicht ausgeschlossen werden. Auch ist die Genauigkeit der Herzfrequenzmessung des Ultraschallgerätes im Vergleich zur Telemetrie eher ungenau und fehleranfällig, wie beispielsweise die Signalübertragung an den EKG-Elektroden.

Eine weitere Möglichkeit ist eine Veränderung in der Elektrophysiologie des Herzens bei den LPP-Knockoutmäusen. Der Untersuchungsschwerpunkt lag zwar nicht auf diesem Thema, doch gab es immer wieder auffällige Elektrokardiogramme, die es wert wären, genauer analysiert zu werden. Diesbezüglich wäre möglicherweise auch eine Analyse der Elektrolytzusammensetzung der extrazellulären Flüssigkeit bei den LPP-Knockoutmäusen hilfreich, um die Bedeutung elektrolytbedingter Ursachen für die Rhythmusstörungen abzuklären. So nimmt insbesondere das verwendete DOCA-Salz-Hypertoniemodell Einfluss auf den Elektrolythaushalt, wie beispielsweise eine vermehrte Natriumretention und Kaliumsekretion sowie Veränderungen im zentralen RAAS-System.<sup>26,27,93</sup> Ebenso bietet sich eine Überprüfung der

Schilddrüsenfunktion bei diesen Tieren an, die diverse Veränderungen des Blutdrucks, der Wachstums- und Entwicklungsbedingungen wie auch im EKG bewirken könnte. Im Hinblick auf die beobachteten Ödeme, die Nieren- und Herzfunktion könnten auch die Spiegel an atrialem natriuretischen Peptid bzw. *brain natriuretic peptide* (BNP) gemessen werden, um eine bessere Einschätzung der Volumenverhältnisse in den Vorhöfen vornehmen zu können, da es bei Hypervolämie bzw. Stauungsinsuffizienz zu einem deutlichen Anstieg dieser natriuretischen Peptide im Blutplasma kommt.

### 2.1.3.2. Herzgröße und Herzleistung

Bei den 12 Monate alten LPP-Knockoutmäusen waren die geringere Herzgröße und das Herzgewicht auffällig, was zu der geringeren Körpergröße der Tiere passt. Das aus dem kleineren Herzen resultierende verminderte enddiastolische Volumen und damit einhergehend das verminderte Schlagvolumina und das reduzierte Herzminutenvolumen lassen das Gesamtbild auf den ersten Blick schlüssig erscheinen. Allerdings nahmen die Herzwanddicken unter der DOCA-Salz-Behandlung nicht in dem Maße zu, wie es bei den Wildtypkontrollen der Fall war und modellbedingt, durch die erhöhte Druckbelastung, auch zu erwarten gewesen wäre<sup>25,27,119</sup>. Bei den 12 Monate alten LPP-Knockoutmäusen sank sogar das Herzminutenvolumen während der DOCA-Salz-Behandlung, was auf ein eingeschränktes Adaptationsvermögen der Tiere schließen lässt. Möglicherweise sind die älteren Tiere aufgrund des Alters und der damit verbundenen Neigung zu einer stärkeren Fibrosierung<sup>111,120</sup> oder eines anderen altersabhängigen Kompensationsmechanismus eher in der Lage sich zu adaptieren. Diesbezüglich wäre es von besonderem Interesse bei diesen Tieren den altersabhängigen Verlauf der Expression von Zyxin nicht nur im Herzen, sondern auch in den arteriellen Leitungsgefäßen zu analysieren, was bisher noch nicht gemacht worden ist. Die tendenziell reduzierte Ejektionsfraktion und geringere radiale Verkürzungsfraktion der 12 Monate alten LPP-Knockoutmäuse zu Beginn der DOCA-Salz-Behandlung könnten ein Hinweis auf geringere Kontraktionskraft sein. Ob das an zu wenigen kontraktilen Elementen, deren Unvermögen zu kontrahieren, einer unzureichenden elektromechanischen Kopplung, einer zu großen Vordehnung oder einer schlechten Verankerung der Kardiomyozyten mit der extrazellulären Matrix und der damit eingeschränkten Kraftübertragung liegt, bedarf weiterer Untersuchungen. Unwahrscheinlich ist eine Fibrosierung des Herzmuskels als Ursache der

geringeren Kontraktionskraft, da dies mit dem geringeren Gewicht der Herzen, sowohl real als auch normalisiert zur Tibiallänge, sowie der nichtvorhandenen diastolischen Dysfunktion nicht vereinbar wäre. Auch die dünneren Herzwanddicken passen nicht zu dieser Hypothese. In jedem Fall scheinen insbesondere die 12 Monate alten LPP-Knockoutmäuse dem im Vergleich höheren arteriellen Blutdruck und damit Widerstand im linksventrikulären Ausflusstrakt nicht genug Herzleistung entgegensetzen zu können. Möglicherweise ist dies aber auch ein Grund für das Überleben der Tiere, da die (instabileren) Blutgefäße dem sonst noch höheren Perfusionsdruck höchstwahrscheinlich nicht standhalten könnten.

Im Vergleich zu den vaskulären Auffälligkeiten sind die kardialen eher gering, sodass die Ursache für die häufigen Todesfälle bei experimenteller Hypertonie eher in den Gefäßen der LPP-Knockouttiere zu finden sein sollte. Auch eine unterschiedliche Bedeutung oder Funktion von LPP in den verschiedenen Geweben bzw. Zelltypen ist nicht unwahrscheinlich. Dies wurde bereits für Zyxin festgestellt<sup>10,12,13</sup> und auch die Expression von LPP ist nicht homogen in den verschiedenen Organen<sup>72,73</sup>. Altersabhängige Komponenten sind ebenso wahrscheinlich, denn die ein Jahr alten Tiere haben deutlich größere Herzkreislaufprobleme als die 18 Monate alten Knockoutmäuse. Ob dies an mit zunehmenden Alter nachlassenden oder unterschiedlichen Kompensationsmöglichkeiten liegt, wie es beispielsweise für die Zyxin-Knockoutmäuse, bei denen die vaskuläre LPP-Expression im Alter von 18 Monaten stark gegenüber den 12 Monate alten Tieren abnimmt, vermutet wird, kann momentan nur vermutet werden. Hierzu müsste, wie erwähnt, die Expression von Zyxin im Herzen und in den arteriellen Leitungsgefäßen der LPP-Knockoutmäuse altersabhängig bestimmt werden. Interessant wäre aber auch die Zusammensetzung und insbesondere die Stabilität (Quervernetzung) der extrazellulären Matrix in den Gefäßen der LPP-Knockoutmäuse altersabhängig zu analysieren, ebenso wie deren kontraktile Kapazität bzw. Druckbelastbarkeit. Vergleichbare Analysen müssten auch für das Herz dieser Tiere durchgeführt werden. Vor allem die Tatsache, dass die LPP-Knockoutmäuse keine diastolische Dysfunktion zeigen, die Herzwanddicke nicht zunimmt und die Herzen nicht dilatieren, unterscheidet sie deutlich von den Zyxin-Knockoutmäusen, die bereits im Alter von 6 Monaten einen derartigen kardialen Phänotyp zeigen, dessen Schweregrad altersabhängig weiter zunimmt.

## 2.2. Zyxin-Knockoutmäuse und Unterschiede zu den LPP-Knockouttieren

Basal sind im Gegensatz zu den LPP-Knockoutmäusen die 6 Monate alten Zyxin-Knockouttiere makroskopisch unauffällig. Sie nehmen unter DOCA-Salz-Behandlung an Gewicht zu, was die beiden Genotypen ebenfalls deutlich unterscheidet und die Zyxin-Knockoutmäuse auch von den altersentsprechenden Wildtypkontrollen differenziert. Auch hier wären weitere Untersuchungen des Stoffwechsels bzw. der Verdauung nötig, um diese Gewichtszunahme zu erklären. Die Nierenfunktion scheint bei den Zyxin-Knockoutmäusen dagegen nicht verändert zu sein.<sup>13</sup>

Zu Versuchsbeginn sind die 6 Monate alten Zyxin-Knockoutmäuse, wie bereits in anderen Modellen bzw. im Alter von 12 oder 18 Monaten beschrieben, in ihrem Herzgewicht und der systolischen Leistung mit den entsprechenden Wildtypkontrollen vergleichbar<sup>12,13,90</sup>. Allerdings hatten die 6 Monate alten Zyxin-Knockoutmäuse, entgegen Beobachtungen im Angiotensin II-Modell<sup>12</sup>, bereits basal ein erhöhtes  $E'/A'$ -Verhältnis, was für eine pseudonormale Füllung und damit für eine eingeschränkte diastolische Herzleistung bzw. Compliance spricht. Unter DOCA-Salz-Behandlung sank die Kontraktilität der 6 Monate alten Zyxin-Knockoutmäuse deutlich um ca. 30%, was zusammen mit der veränderten Ventrikelfüllung während der Diastole auf eine, bereits von den 12 und 18 Monate alten Zyxin-Knockoutmäusen im Angiotensin II-Modell bekannte, restriktive Kardiomyopathie hinweist und zu der bereits beschriebenen, massiven Fibrosierung des Herzens passt<sup>12,13</sup>. Die histologische Untersuchung der 6 Monate alten Zyxin-Knockoutmäuse aus dieser Arbeit steht noch aus. Die im Angiotensin II-Modell beschriebenen, geringeren realen frühen bzw. späten Einstromgeschwindigkeiten konnten bei den 6 Monate alten Zyxin-Knockoutmäusen im DOCA-Salz-Modell hier nicht beobachtet werden. Für das DOCA-Salz-Modell sind diese Einstromgeschwindigkeiten leider nur für die 12 bzw. 18 Monate alten Tiere bekannt. Möglicherweise ist der hier beobachtete Unterschied modellbedingt. Nichtsdestotrotz scheinen die Beobachtungen dieser Arbeit die Vermutung aus den früheren Untersuchungen zu bestätigen, dass Zyxin das Herz vor einer übermäßigen Fibrosierung bewahrt<sup>12,13</sup>.

Im DOCA-Salz-Modell wird bei den 18 Monate alten Zyxin-Knockoutmäusen ein reduzierter Widerstandsindex beschrieben<sup>13</sup>, der u.a. auf eine verringerte

systolische Herzfunktion zurückgeführt wird. In dieser Arbeit wurde bei den 6 Monate alten Tieren eine den Wildtypkontrollen vergleichbare Zunahme beobachtet, trotz Einbußen bei der systolischen Herzfunktion. Allerdings ist im Alter von 6 Monaten bei den Zyxin-Knockoutmäusen nur die Kontraktionsfähigkeit reduziert, jedoch nicht das Herzminutenvolumen, welches offenbar durch eine geringgradig höhere Herzfrequenz kompensiert wird. Zusammenfassend weisen auch die mit den 6 Monate alten Zyxin-Knockoutmäusen im DOCA-Salz-Modell erzielten Ergebnisse auf einen altersabhängig ausgeprägten kardialen Phänotyp dieser Tiere hin<sup>12,13</sup>.

Aufgrund der Datenlage in dieser Arbeit ist es nicht möglich, statistisch valide Aussagen über den Blutdruck der 6 Monate alten Zyxin-Knockoutmäuse zu treffen, dessen Verlauf im DOCA-Salz-Modell scheint aber eher dem der Wildtypkontrollen vergleichbar zu sein. In früheren Studien wurden auch erst im Alter von 12 Monaten für den systolischen Blutdruck (assoziiert mit der veränderten Herzfunktion) und im Alter von 18 Monaten für den systolischen und den diastolischen Blutdruck eine deutliche Beeinflussung der Hypertonieentwicklung im DOCA-Salz-Modell durch die Zyxin-Defizienz festgestellt<sup>12,13</sup>.

Zusammenfassend lässt sich also bei diversen Aspekten ein konträres Verhalten der Knockouttiere beobachten. Während die Zyxin-Knockoutmäuse eher an Gewicht zulegen, generell schwerer sind und nach Induktion des Bluthochdrucks deutlich an Herzleistung verlieren, fibrosieren, zunächst einen höheren peripheren Widerstand aufweisen und keine rupturbedingten Todesfälle zu verzeichnen haben, weisen die LPP-Knockoutmäuse zumindest basal deutlich leichtere Herzen auf und sind kardial betrachtet weitgehend unauffällig mit und ohne experimentelle Hypertonie. Auch wenn sich glatte Gefäßmuskelzellen aus der Aorta von 3 Monate alten LPP- oder Zyxinknockoutmäusen in der Zellkultur sehr ähnlich verhalten und einen primär synthetischen Phänotyp zeigen, der wechselseitig durch Überexpression des jeweils anderen Zyxin-Familienmitglieds revertiert werden kann, sodass zumindest in diesen Zellen eine funktionelle Redundanz zu vermuten ist<sup>12</sup>, so scheinen die beiden Genotypen sich *in vivo* im Hinblick auf ihre Reaktion auf einen experimentell erzeugten, arteriellen Blutdruckanstieg doch sehr deutlich und teilweise sogar gegenläufig zu unterscheiden. Aus diesen Unterschieden, die im Detail weiter analysiert werden müssen, ergibt sich die Chance nicht nur auf die

wahrscheinliche organspezifisch unterschiedliche funktionelle Bedeutung dieser strukturell nahe verwandten LIM-Domänenproteine zu schließen, sondern auch die dabei beteiligten Signaltransduktionsprozesse in den verschiedenen vaskulären bzw. kardialen Zellen aufzuklären. Während letztere für Zyxin in Endothelzellen im Detail<sup>9</sup> und in glatten Gefäßmuskelzellen größtenteils<sup>11,13</sup> bekannt ist, ist dies für LPP noch weitgehend unbekannt. Um die funktionelle Bedeutung des jeweiligen Proteins im Tierversuch zu klären, ohne eine mögliche Kompensation durch das andere Zyxin-Familienmitglied, wäre ein induzierbarer und zellspezifischer Knockout für LPP bzw. Zyxin in adulten Mäusen hilfreich. Während die dafür notwendigen *Lpp<sup>lox/lox</sup>*-Mäuse bereits in Heidelberg verfügbar sind, müssen die entsprechenden *Zyx<sup>lox/lox</sup>*-Mäuse noch generiert werden. So könnten etwaige Kompensationsmechanismen und bereits während der Entwicklung auftretende Probleme durch den Knockout ausgeschlossen werden. Zusätzlich sollten die hier vorgestellten Untersuchungen zusätzlich mit 6 Monate alten globalen LPP-Knockoutmäusen wiederholt werden, denn aufgrund der Altersunterschiede ist ein direkter Vergleich zwischen den globalen Knockoutmäusen in dieser Arbeit schwierig und nur unter Bezug auf historische Daten, die von anderen Untersuchern erhoben wurden, möglich. Spannend in diesem Zusammenhang ist der bei den globalen Zyxin-Knockoutmäusen beobachtete kardiale Phänotyp im Alter von 6 (und 12) Monaten sowie der vaskuläre Phänotyp, der primär bei den 18 Monate alten Tieren auftritt<sup>12,13</sup>.

### 2.3. Fazit und Ausblick

Konkludierend kann gesagt werden, dass das Zyxin-Familienmitglied LPP eine protektive Rolle im Bezug auf Bluthochdruck und Gefäßintegrität bzw. -stabilität zu haben scheint, während Zyxin im Vergleich dazu eher eine kardioprotektive Funktion bei einer hypertoniebedingten Drucküberlastung des Herzens hat. Schwierigkeiten in der Aufklärung der Funktion dieser nahe verwandten LIM-Domänenproteine bereiten die Alterskomponente, die zellspezifischen Aufgaben und der sehr ähnliche Aufbau sowie die Lokalisation dieser Proteine. Auch die bei den globalen LPP-Knockoutmäusen beschriebenen<sup>72</sup> und auch im Rahmen dieser Arbeit beobachteten entwicklungsbedingten Probleme sowie andere erstmalig beobachtete Auffälligkeiten wie Gefäßrupturen, Mortalität, EKG-Veränderungen, Größenunterschiede oder Bradykardie stellen eine Hürde für die weitere Erforschung der funktionellen Bedeutung von LPP *in vivo* dar. Insofern bedarf es

weiterführender Studien mit induzierbaren zellspezifischen LPP-Knockoutmäusen sowie mechanistischer Untersuchungen mit LPP-defizienten murinen bzw. humanen vaskulären Zellen, um den vaskulären Phänotyp des LPP-Knockouts und damit der funktionellen Bedeutung dieses LIM-Domänenproteins zu klären. Möglicherweise erweist sich LPP dabei als ein mögliches therapeutisches Zielmolekül für die Behandlung von Gefäßanomalien, die auf eine Instabilität der extrazellulären Matrix zurückzuführen sind.

## VI. ZUSAMMENFASSUNG

Bluthochdruck ist ein bedeutender Risikofaktor für viele Krankheiten beim Menschen und Tier, wie beispielsweise Herz-Kreislaufkrankungen (eine der häufigsten Todesursachen beim Menschen) oder (Hirn-)Blutungen, und führt über längere Zeit bestehend zur Manifestation von Endorganschäden wie beispielsweise Retinopathien, chronischer Niereninsuffizienz, Herzinsuffizienz oder Arteriosklerose. Ein genaueres Verständnis der Mechanismen, die zu solchen (mal-)adaptiven Anpassungsreaktionen führen, würde helfen neue Therapieansätze zu finden. Ziel dieser Studie war es, den Phänotyp von globalen Knockoutmäusen für lipoma preferred partner (LPP), ein an der Mechanotransduktion in vaskulären Zellen und insbesondere in glatten Gefäßmuskelzellen beteiligtes zytoskelettales Protein, in vivo näher zu untersuchen.

Dabei zeigte sich, dass sich die strukturell sehr ähnlichen LIM-Domänenproteine Zyxin und LPP funktionell deutlich unterscheiden müssen. Der Knockout von LPP, so zeigt diese Studie, führt bei 12 bzw. 18 Monate alten Mäusen, in denen mithilfe einer Deoxycorticosteronacetat (DOCA)-Salz-Behandlung ein experimenteller Bluthochdruck erzeugt worden ist, eher zu einem vaskulären Phänotyp. Häufige Gefäßdissektionen bzw. -rupturen, eine teilweise massive Hypertonie sowie die Unfähigkeit, den Gefäßwiderstand aktiv an die Bluthochdrucksituation anzupassen, waren dabei die primären Merkmale. Auch die bereits angedeuteten, entwicklungsbedingten Unterschiede zu gleichaltrigen Wildtypmäusen konnten hier in Form von kleineren Tieren mit deutlich reduziertem Gewicht und häufig auftretenden Kyphosen bestätigt werden. Weiterhin auffällig, aber nicht im Fokus der hier vorgestellten Untersuchungen, bleiben mögliche elektrophysiologische oder renale Pathologien bei diesen Tieren. Mit Ausnahme einer ausgeprägten Bradykardie und einem reduzierten Herzminutenvolumen bei den 12 Monate alten LPP-Knockoutmäusen scheinen die Tiere keinen auffälligen kardialen Phänotyp zu entwickeln.

Dies steht im Gegensatz zu den ebenfalls untersuchten Zyxin-Knockoutmäusen, die bereits im Alter von 6 Monaten einen deutlichen kardialen Phänotyp im Sinne einer restriktiven Kardiomyopathie mit z.B. eingeschränkter systolischer ebenso wie diastolischer Funktion nach Erzeugung der Hypertonie entwickeln, nicht aber einen

vaskulären Phänotyp. Somit konnten Ergebnisse aus Studien mit älteren Zyxin-Knockoutmäusen in Bluthochdruck-Modell bestätigt werden.

Es bleibt erheblicher Forschungsbedarf, was den zellspezifischen Mechanismus bei einem Ausfall von LPP betrifft, welches wahrscheinlich eine wichtige gefäßschützende Wirkung bei arterieller Hypertonie hat und insofern auch im Hinblick auf die Arterioskleroseentstehung und -progression von therapeutischem Interesse sein könnte.

## VII. SUMMARY

High blood pressure is a significant risk factor for many diseases in humans and animals, such as cardiovascular diseases (one of the most common causes of death in humans) or (brain) haemorrhage, and when persisting over a long period of time leads to the manifestation of end organ damage such as retinopathies, chronic renal failure, heart failure or arteriosclerosis. A better understanding of the mechanisms leading to such (mal)adaptive reactions would help to find new therapeutic approaches. The aim of this study was to further investigate the phenotype of mice with a global knockout for lipoma preferred partner (LPP), a cytoskeletal protein involved in mechanotransduction in vascular cells and especially in vascular smooth muscle cells, *in vivo*.

It was shown that the structurally very similar LIM-domain proteins zyxin and LPP must be functionally rather different. The knockout of LPP, as this study shows, promotes a vascular phenotype in 12- and 18-month-old mice in which experimental hypertension was induced by deoxycorticosterone acetate (DOCA)-salt treatment. Frequent vascular dissections or ruptures, sometimes massive hypertension and the inability to actively adapt vascular resistance to the hypertensive condition were the most characteristic features. The developmental differences to wild type mice of the same age, as already indicated, were also confirmed in the form of smaller animals with significantly reduced weight and frequent kyphosis. Still conspicuous but not in the focus of this study remain possible electrophysiological or renal pathologies in these animals. Apart from bradycardia and reduced cardiac output in the 12-month old LPP knockout mice, the animals do not appear to develop a relevant cardiac phenotype.

This contrasts with the also investigated zyxin knockout mice, which already at the age of 6 months develop a distinct cardiac phenotype in the sense of a restrictive cardiomyopathy with e.g. restricted systolic as well as diastolic function after induction of hypertension, but no obvious vascular phenotype. Thus, results from studies with older zyxin knockout mice in the DOCA salt model of experimental hypertension could be confirmed.

Considerable research remains to be done on the cell-specific mechanism of LPP loss of function, which probably has an important vasoprotective effect in arterial

hypertension and could therefore be of therapeutic interest regarding the development and progression of arteriosclerosis.

## VIII. LITERATURVERZEICHNIS

1. Blutdruck – Bluthochdruck und seine Folgen 31© Deutsche Hochdruckliga e.V. DHL ®Deutsche Hypertonie Gesellschaft Deutsches Kompetenzzentrum Bluthochdruck, ed. Bluthochdruck und seine Folgen. :31.
2. Deutsche Herzstiftung e.V. Herzbericht 2018.
3. ANDERS HIMMELMANN DL THOMAS HEDNER, LENNART HANSSON, CHRISTOPHER J O'DONNELL. Isolated Systolic Hypertension: an Important Cardiovascular Risk Factor. *Blood Press.* 1998;7(4):197-207. doi:10.1080/080370598437222
4. Kannel WB. Framingham Study Insights into Hypertensive Risk of Cardiovascular Disease. *Hypertens Res.* 1995;18(3):181-196. doi:10.1291/hypres.18.181
5. Kocemba J, Kawecka-Jaszcz K, Gryglewska B, Grodzicki T. Isolated systolic hypertension: pathophysiology, consequences and therapeutic benefits. *J Hum Hypertens.* 1998;12(9):621-626.
6. Maggio F, DeFrancesco TC, Atkins CE, Pizzirani S, Gilger BC, Davidson MG. Ocular lesions associated with systemic hypertension in cats: 69 cases (1985-1998). *J Am Vet Med Assoc.* 2000;217(5):695-702.
7. Thomas WB. Cerebrovascular disease. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 1996;26(4):925-943.
8. Lorell BH, Carabello BA. Left ventricular hypertrophy: pathogenesis, detection, and prognosis. *Circulation.* 2000;102(4):470-479.
9. Wójtowicz Agnieszka, Babu Sahana Suresh, Li Li, Gretz Norbert, Hecker Markus, Cattaruzza Marco. Zyxin Mediation of Stretch-Induced Gene Expression in Human Endothelial Cells. *Circ Res.* 2010;107(7):898-902. doi:10.1161/CIRCRESAHA.110.227850
10. Babu SS, Wojtowicz A, Freichel M, Birnbaumer L, Hecker M, Cattaruzza M. Mechanism of Stretch-Induced Activation of the Mechanotransducer Zyxin in Vascular Cells. *Sci Signal.* 2012;5(254):ra91-ra91. doi:10.1126/scisignal.2003173
11. Ghosh S, Kollar B, Nahar T, et al. Loss of the Mechanotransducer Zyxin Promotes a Synthetic Phenotype of Vascular Smooth Muscle Cells. *J Am Heart Assoc.* 2015;4(6):e001712. doi:10.1161/JAHA.114.001712
12. Nahar T. ROLE OF THE LIM-DOMAIN PROTEINS LPP AND ZYXIN IN HYPERTENSION-INDUCED CARDIOVASCULAR REMODELING. doi:DOI:10.11588/heidok.00023649
13. Ghosh S. Role of the focal adhesion protein zyxin in hypertension-induced cardiovascular remodelling. doi:DOI:10.11588/heidok.00018067

14. König HE, Liebich H-G. *Anatomie der Haussäugetiere*. 3. Stuttgart, New York: Schattauer GmbH; 2005.
15. Reese S, Mülling C, Pfarrer C, Kölle S, Budras K-D. *Atlas der Anatomie des Hundes*. 9. Auflage. Schlütersche Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG; 2012.
16. von Engelhardt W, Breves G, Diener M, Gäbel G. *Physiologie der Haustiere*. 5. vollständig überarbeitete Auflage. Enke; 2015.
17. Maillet M, van Berlo JH, Molkentin JD. Molecular basis of physiological heart growth: fundamental concepts and new players. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2013;14(1):38-48. doi:10.1038/nrm3495
18. van Berlo JH, Maillet M, Molkentin JD. Signaling effectors underlying pathologic growth and remodeling of the heart. *J Clin Invest*. 2013;123(1):37-45. doi:10.1172/JCI62839
19. Liebich H-G. *Funktionelle Histologie der Haussäugetiere: Lehrbuch und Farbatlas für Studium und Praxis*. 4. Auflage. Stuttgart: Schattauer GmbH; 2004.
20. Feil S, Fehrenbacher B, Lukowski R, et al. Transdifferentiation of vascular smooth muscle cells to macrophage-like cells during atherogenesis. *Circ Res*. 2014;115(7):662-667. doi:10.1161/CIRCRESAHA.115.304634
21. Gimbrone MA, García-Cardeña G. Vascular endothelium, hemodynamics, and the pathobiology of atherosclerosis. *Cardiovasc Pathol Off J Soc Cardiovasc Pathol*. 2013;22(1):9-15. doi:10.1016/j.carpath.2012.06.006
22. Topper JN, Gimbrone MA. Blood flow and vascular gene expression: fluid shear stress as a modulator of endothelial phenotype. *Mol Med Today*. 1999;5(1):40-46.
23. Qiu J, Zheng Y, Hu J, et al. Biomechanical regulation of vascular smooth muscle cell functions: from in vitro to in vivo understanding. *JR Soc Interface*. 2014;11(90). doi:10.1098/rsif.2013.0852
24. Segal SS. Regulation of Blood Flow in the Microcirculation. *Microcirculation*. 2005;12(1):33-45. doi:10.1080/10739680590895028
25. Kokubo Y, Matsumoto C. Hypertension Is a Risk Factor for Several Types of Heart Disease: Review of Prospective Studies. *Adv Exp Med Biol*. 2017;956:419-426. doi:10.1007/5584\_2016\_99
26. Lee L-K, Kim M-Y, Kim J-H, et al. A review of deoxycorticosterone acetate-salt hypertension and its relevance for cardiovascular physiotherapy research. *J Phys Ther Sci*. 2015;27(1):303-307. doi:10.1589/jpts.27.303
27. Basting T, Lazartigues E. DOCA-Salt Hypertension: an Update. *Curr Hypertens Rep*. 2017;19(4):32. doi:10.1007/s11906-017-0731-4
28. Kehat Izhak, Molkentin Jeffery D. Molecular Pathways Underlying Cardiac Remodeling During Pathophysiological Stimulation. *Circulation*. 2010;122(25):2727-2735. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.110.942268

29. Hunter JJ, Chien KR. Signaling Pathways for Cardiac Hypertrophy and Failure. *N Engl J Med.* 1999;341(17):1276-1283. doi:10.1056/NEJM199910213411706
30. Trogisch FA. Beeinflussung der Herzfunktion und kardialer Umbauprozesse durch endogene Proteasom-Regulation im murinen Hypertoniemodell. February 2018.
31. Schwartz SM. Perspectives series: cell adhesion in vascular biology. Smooth muscle migration in atherosclerosis and restenosis. *J Clin Invest.* 1997;99(12):2814-2816. doi:10.1172/JCI119472
32. Versari D, Daghini E, Virdis A, Ghiadoni L, Taddei S. Endothelium-dependent contractions and endothelial dysfunction in human hypertension. *Br J Pharmacol.* 2009;157(4):527-536. doi:10.1111/j.1476-5381.2009.00240.x
33. Pfisterer L, König G, Hecker M, Korff T. Pathogenesis of varicose veins - lessons from biomechanics. *Vasa.* 2014;43(2):88-99. doi:10.1024/0301-1526/a000335
34. Smith M, Hoffman L, Beckerle M. LIM Proteins in Actin Cytoskeleton Mechanoresponse. *Trends Cell Biol.* 2014;24(10):575-583. doi:10.1016/j.tcb.2014.04.009
35. Achenbach S. Klinischer Stellenwert der Cardio-CT-Koronarangiographie. *Herz.* 2003;28(2):119-125. doi:10.1007/s00059-003-2442-7
36. [Cardio-MRT. The multimodal functional analysis of the future] - Abstract - Europe PMC. <https://europepmc.org/article/med/15085365>. Accessed February 22, 2020.
37. Kurtz TW, Griffin KA, Bidani AK, Davisson RL, Hall JE. Recommendations for Blood Pressure Measurement in Humans and Experimental Animals: Part 2: Blood Pressure Measurement in Experimental Animals. A Statement for Professionals From the Subcommittee of Professional and Public Education of the American Heart Association Council on High Blood Pressure Research. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25(3):e22-e33. doi:10.1161/01.ATV.0000158419.98675.d7
38. Morrow AG, Braunwald E, Ross J. Left Heart Catheterization: An Appraisal of Techniques and Their Applications in Cardiovascular Diagnosis. *AMA Arch Intern Med.* 1960;105(4):645-655. doi:10.1001/archinte.1960.00270160143018
39. Zhou Y-Q, Foster FS, Nieman BJ, Davidson L, Chen XJ, Henkelman RM. Comprehensive transthoracic cardiac imaging in mice using ultrasound biomicroscopy with anatomical confirmation by magnetic resonance imaging. *Physiol Genomics.* 2004;18(2):232-244. doi:10.1152/physiolgenomics.00026.2004

40. Rottman JN, Ni G, Brown M. Echocardiographic Evaluation of Ventricular Function in Mice. *Echocardiography*. 2007;24(1):83-89. doi:10.1111/j.1540-8175.2006.00356.x
41. Scherrer-Crosbie M, Thibault HB. Echocardiography in Translational Research: Of Mice and Men. *J Am Soc Echocardiogr Off Publ Am Soc Echocardiogr*. 2008;21(10):1083-1092. doi:10.1016/j.echo.2008.07.001
42. Gao S, Ho D, Vatner DE, Vatner SF. Echocardiography in Mice. *Curr Protoc Mouse Biol*. 2011;1:71-83. doi:10.1002/9780470942390.mo100130
43. Ram R, Mickelsen DM, Theodoropoulos C, Blaxall BC. New approaches in small animal echocardiography: imaging the sounds of silence. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011;301(5):H1765-1780. doi:10.1152/ajpheart.00559.2011
44. Stypmann J, Engelen MA, Troatz C, Rothenburger M, Eckardt L, Tiemann K. Echocardiographic assessment of global left ventricular function in mice. *Lab Anim*. 2009;43(2):127-137. doi:10.1258/la.2007.06001e
45. Khouri SJ, Maly GT, Suh DD, Walsh TE. A practical approach to the echocardiographic evaluation of diastolic function. *J Am Soc Echocardiogr*. 2004;17(3):290-297. doi:10.1016/j.echo.2003.08.012
46. Bude RO, Rubin JM. Relationship between the Resistive Index and Vascular Compliance and Resistance. *Radiology*. 1999;211(2):411-417. doi:10.1148/radiology.211.2.r99ma48411
47. Bude RO, Rubin JM. Effect of downstream cross-sectional area of an arterial bed on the resistive index and the early systolic acceleration. *Radiology*. 1999;212(3):732-738. doi:10.1148/radiology.212.3.r99se13732
48. Seiler S, Colbus SM, Lucisano G, et al. Ultrasound renal resistive index is not an organ-specific predictor of allograft outcome. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc*. 2012;27(8):3315-3320. doi:10.1093/ndt/gfr805
49. Vliet BNV, Chafe LL, Montani J-P. Characteristics of 24 h Telemetered Blood Pressure in eNOS-Knockout and C57Bl/6J Control Mice. *J Physiol*. 2003;549(1):313-325. doi:10.1113/jphysiol.2003.041897
50. Mills PA, Huetteman DA, Brockway BP, et al. A new method for measurement of blood pressure, heart rate, and activity in the mouse by radiotelemetry. *J Appl Physiol*. 2000;88(5):1537-1544. doi:10.1152/jappl.2000.88.5.1537
51. Kramer K, Kinter L, Brockway BP, Voss H-P, Remie R, Van Zutphen BLM. The Use of Radiotelemetry in Small Laboratory Animals: Recent Advances. <https://www.ingentaconnect.com/content/aalas/jaalas/2001/00000040/00000001/art00002>. Published January 2001. Accessed February 23, 2020.
52. Mandigers P. [Non-invasive blood pressure measurement in dogs and cats]. *Tijdschr Diergeneeskd*. 2005;130(7):198-201.

53. Jamieson MJ, Gonzales GM, Jackson TI, et al. Evaluation of the IITC tail cuff blood pressure recorder in the rat against intraarterial pressure according to criteria for human devices. *Am J Hypertens*. 1997;10(2):209-216. doi:10.1016/S0895-7061(96)00321-4
54. Reddy AK, Taffet GE, Madala S, Michael LH, Entman ML, Hartley CJ. Noninvasive blood pressure measurement in mice using pulsed Doppler ultrasound. *Ultrasound Med Biol*. 2003;29(3):379-385. doi:10.1016/S0301-5629(02)00746-9
55. Daugherty A, Rateri D, Hong L, Balakrishnan A. Measuring blood pressure in mice using volume pressure recording, a tail-cuff method. *J Vis Exp JoVE*. 2009;(27). doi:10.3791/1291
56. Gross V, Luft FC. Exercising Restraint in Measuring Blood Pressure in Conscious Mice. *Hypertension*. 2003;41(4):879-881. doi:10.1161/01.HYP.0000060866.69947.D1
57. Popovic V. Adaptation to restraint in the rat. *The Physiologist*. 1988;31(1 Suppl):S65-6.
58. Irvine RJ, White J, Chan R. The influence of restraint on blood pressure in the rat. *J Pharmacol Toxicol Methods*. 1997;38(3):157-162. doi:10.1016/S1056-8719(97)00081-6
59. Buñag R D, Butterfield J. Tail-cuff blood pressure measurement without external preheating in awake rats. *Hypertension*. 1982;4(6):898-903. doi:10.1161/01.HYP.4.6.898
60. Kadrmaz JL, Beckerle MC. The LIM domain: from the cytoskeleton to the nucleus. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2004;5(11):920-931. doi:10.1038/nrm1499
61. Beckerle MC. Identification of a new protein localized at sites of cell-substrate adhesion. *J Cell Biol*. 1986;103(5):1679-1687. doi:10.1083/jcb.103.5.1679
62. Srichai MB, Konieczkowski M, Padiyar A, et al. A WT1 Co-regulator Controls Podocyte Phenotype by Shuttling between Adhesion Structures and Nucleus. *J Biol Chem*. 2004;279(14):14398-14408. doi:10.1074/jbc.M314155200
63. Yi J, Beckerle MC. The HumanTRIP6Gene Encodes a LIM Domain Protein and Maps to Chromosome 7q22, a Region Associated with Tumorigenesis. *Genomics*. 1998;49(2):314-316. doi:10.1006/geno.1998.5248
64. Tu Y, Wu S, Shi X, Chen K, Wu C. Migfilin and Mig-2 Link Focal Adhesions to Filamin and the Actin Cytoskeleton and Function in Cell Shape Modulation. *Cell*. 2003;113(1):37-47. doi:10.1016/S0092-8674(03)00163-6
65. Takafuta T, Saeki M, Fujimoto T-T, Fujimura K, Shapiro SS. A New Member of the LIM Protein Family Binds to Filamin B and Localizes at Stress Fibers. *J Biol Chem*. 2003;278(14):12175-12181. doi:10.1074/jbc.M209339200
66. Petit MMR, Mols R, Schoenmakers EFPM, Mandahl N, Van de Ven WJM. LPP, the Preferred Fusion Partner Gene of HMGIC in Lipomas, Is a Novel

- Member of the LIM Protein Gene Family. *Genomics*. 1996;36(1):118-129. doi:10.1006/geno.1996.0432
67. Kiss H, Kedra D, Yang Y, et al. A novel gene containing LIM domains (LIMD1) is located within the common eliminated region 1 (C3CER1) in 3p21.3. *Hum Genet*. 1999;105(6):552-559. doi:10.1007/s004399900188
68. Goyal RK, Lin P, Kanungo J, Payne AS, Muslin AJ, Longmore GD. Ajuba, a Novel LIM Protein, Interacts with Grb2, Augments Mitogen-Activated Protein Kinase Activity in Fibroblasts, and Promotes Meiotic Maturation of Xenopus Oocytes in a Grb2- and Ras-Dependent Manner. *Mol Cell Biol*. 1999;19(6):4379-4389. doi:10.1128/MCB.19.6.4379
69. Dahlén A, Mertens F, Rydholm A, et al. Fusion, disruption, and expression of HMGA2 in bone and soft tissue chondromas. *Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc*. 2003;16(11):1132-1140. doi:10.1097/01.MP.0000092954.42656.94
70. Petit MMR, Swarts S, Bridge JA, Ven WJMV de. Expression of Reciprocal Fusion Transcripts of the HMGIC and LPP Genes in Parosteal Lipoma. *Cancer Genet Cytogenet*. 1998;106(1):18-23. doi:10.1016/S0165-4608(98)00038-7
71. LPP (lipoma preferred partner). [http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/GC\\_LPP.html](http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/GC_LPP.html). Accessed July 3, 2019.
72. Vervenne HBVK, Crombez KRMO, Delvaux EL, Janssens V, Van de Ven WJM, Petit MMR. Targeted disruption of the mouse Lipoma Preferred Partner gene. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009;379(2):368-373. doi:10.1016/j.bbrc.2008.12.074
73. Gorenne I, Nakamoto RK, Phelps CP, Beckerle MC, Somlyo AV, Somlyo AP. LPP, a LIM protein highly expressed in smooth muscle. *Am J Physiol - Cell Physiol*. 2003;285(3):C674-C685. doi:10.1152/ajpcell.00608.2002
74. Petit MMR, Meulemans SMP, Ven WJMV de. The Focal Adhesion and Nuclear Targeting Capacity of the LIM-containing Lipoma-preferred Partner (LPP) Protein. *J Biol Chem*. 2003;278(4):2157-2168. doi:10.1074/jbc.M206106200
75. Hansen MDH, Beckerle MC. Opposing roles of zyxin/LPP ACTA repeats and the LIM domain region in cell-cell adhesion. *J Biol Chem*. 2006;281(23):16178-16188. doi:10.1074/jbc.M512771200
76. Petit MMR, Fradelizi J, Golsteyn RM, et al. LPP, an Actin Cytoskeleton Protein Related to Zyxin, Harbors a Nuclear Export Signal and Transcriptional Activation Capacity. *Mol Biol Cell*. 2000;11(1):117-129. doi:10.1091/mbc.11.1.117
77. Li B, Zhuang L, Reinhard M, Trueb B. The lipoma preferred partner LPP interacts with  $\alpha$ -actinin. *J Cell Sci*. 2003;116(7):1359-1366. doi:10.1242/jcs.00309

78. Janssens V, Zwaenepoel K, Rossé C, Petit MMR, Goris J, Parker PJ. PP2A binds to the LIM domains of lipoma-preferred partner through its PR130/B" subunit to regulate cell adhesion and migration. *J Cell Sci.* 2016;129(8):1605-1618. doi:10.1242/jcs.175778
79. Jin L, Kern MJ, Otey CA, Wamhoff BR, Somlyo AV. Angiotensin II, Focal Adhesion Kinase, and PRX1 Enhance Smooth Muscle Expression of Lipoma Preferred Partner and its Newly Identified Binding Partner Palladin to Promote Cell Migration. *Circ Res.* 2007;100(6):817-825. doi:10.1161/01.RES.0000261351.54147.de
80. Petit MM, Meulemans SM, Alen P, Ayoubi TA, Jansen E, Van de Ven WJ. The tumor suppressor Scrib interacts with the zyxin-related protein LPP, which shuttles between cell adhesion sites and the nucleus. *BMC Cell Biol.* 2005;6(1):1. doi:10.1186/1471-2121-6-1
81. Petit MMR, Lindskog H, Larsson E, et al. Smooth Muscle Expression of Lipoma Preferred Partner Is Mediated by an Alternative Intronic Promoter That Is Regulated by Serum Response Factor/Myocardin. *Circ Res.* 2008;103(1):61-69. doi:10.1161/CIRCRESAHA.108.177436
82. Hooper CL, Dash PR, Boateng SY. Lipoma preferred partner is a mechanosensitive protein regulated by nitric oxide in the heart. *FEBS Open Bio.* 2012;2:135-144. doi:10.1016/j.fob.2012.05.005
83. Guo B, Sallis RE, Greenall A, et al. The LIM Domain Protein LPP Is a Coactivator for the ETS Domain Transcription Factor PEA3. *Mol Cell Biol.* 2006;26(12):4529-4538. doi:10.1128/MCB.01667-05
84. Shepherd TG, Kockeritz LK, Szrajber MR, Muller WJ, Hassell JA. The pea3 subfamily ets genes are required for HER2/Neu-mediated mammary oncogenesis. *Curr Biol.* 2001;11:1739-1748. doi:10.1016/S0960-9822(01)00536-X
85. Laing MA, Coonrod S, Hinton BT, et al. Male sexual dysfunction in mice bearing targeted mutant alleles of the PEA3 ets gene. *Mol Cell Biol.* 2000;20(24):9337-9345. doi:10.1128/mcb.20.24.9337-9345.2000
86. Gorenne I., Jin L., Yoshida T., et al. LPP Expression During In Vitro Smooth Muscle Differentiation and Stent-Induced Vascular Injury. *Circ Res.* 2006;98(3):378-385. doi:10.1161/01.RES.0000202802.34727.fd
87. Montcouquiol M, Rachel RA, Lanford PJ, Copeland NG, Jenkins NA, Kelley MW. Identification of Vangl2 and Scrb1 as planar polarity genes in mammals. *Nature.* 2003;423(6936):173-177. doi:10.1038/nature01618
88. Wada H, Iwasaki M, Sato T, et al. Dual roles of zygotic and maternal Scribble1 in neural migration and convergent extension movements in zebrafish embryos. *Dev Camb Engl.* 2005;132(10):2273-2285. doi:10.1242/dev.01810

89. Vervenne HBVK, Crombez KRMO, Lambaerts K, et al. Lpp is involved in Wnt/PCP signaling and acts together with Scrib to mediate convergence and extension movements during zebrafish gastrulation. *Dev Biol.* 2008;320(1):267-277. doi:10.1016/j.ydbio.2008.05.529
90. Wójtowicz A. The focal adhesion protein zyxin mediates wall tension-induced signalling in vascular cells. <http://archiv.ub.uni-heidelberg.de/volltextserver/8701/>. Published 2008. Accessed May 18, 2017.
91. Hoffman LM, Nix DA, Benson B, et al. Targeted Disruption of the Murine zyxin Gene. *Mol Cell Biol.* 2003;23(1):70-79. doi:10.1128/MCB.23.1.70-79.2003
92. Enríquez JA. Mind your mouse strain. *Nat Metab.* 2019;1(1):5-7. doi:10.1038/s42255-018-0018-3
93. Gürgen D. Geschlechtsspezifik myokardialer Adaptation im normotensiven DOCA-Salz-Modell der Maus: Rolle der Östrogenrezeptorisoform abhängigen Mechanismen. <https://d-nb.info/1022195832/34>. Accessed May 17, 2018.
94. Simon MM, Greenaway S, White JK, et al. A comparative phenotypic and genomic analysis of C57BL/6J and C57BL/6N mouse strains. *Genome Biol.* 2013;14(7):R82. doi:10.1186/gb-2013-14-7-r82
95. GV SOLAS, Haemisch A. Tiergerechte Haltung von Labormäusen. August 2014:25.
96. Ärzteblatt DÄG Redaktion Deutsches. Der ungewollte Gewichtsverlust des alten Menschen. Deutsches Ärzteblatt. <https://www.aerzteblatt.de/archiv/64649/Der-ungewollte-Gewichtsverlust-des-alten-Menschen>. Published May 15, 2009. Accessed February 24, 2020.
97. Pettan-Brewer C, Treuting PM. Practical pathology of aging mice. *Pathobiol Aging Age-Relat Dis.* 2011;1(1):7202. doi:10.3402/pba.v1i0.7202
98. Ullman-Culler MH. Body Condition Scoring: A Rapid and Accurate Method for Assessing Health Status in Mice. *Lab Anim Sci.* 1999;49(3):5.
99. Leung CS, Yeung T-L, Yip K-P, et al. Cancer-associated fibroblasts regulate endothelial adhesion protein LPP to promote ovarian cancer chemoresistance. doi:10.1172/JCI95200
100. Grunewald TGP, Pasedag SM, Butt E. Cell Adhesion and Transcriptional Activity — Defining the Role of the Novel Protooncogene LPP. *Transl Oncol.* 2009;2(3):107-116. doi:10.1593/tlo.09112
101. Hasty P, Vijg J. Accelerating aging by mouse reverse genetics: a rational approach to understanding longevity. *Aging Cell.* 2004;3(2):55-65. doi:10.1111/j.1474-9728.2004.00082.x
102. Relman AS, Schwartz WB. The Effect of DOCA on Electrolyte Balance in Normal Man and its Relation to Sodium Chloride Intake. *Yale J Biol Med.* 1952;24(6):540-558.

103. Cho S, Atwood JE. Peripheral edema. *Am J Med.* 2002;113(7):580-586. doi:10.1016/S0002-9343(02)01322-0
104. Friedli, Mahler. Phlebödem und Lymphödem – das dicke Bein aus angiologischer Sicht. *Ther Umsch.* 2004;61(11):643-647. doi:10.1024/0040-5930.61.11.643
105. Fujita T, Sato Y. Natriuretic and antihypertensive effects of potassium in DOCA-salt hypertensive rats. *Kidney Int.* 1983;24(6):731-739. doi:10.1038/ki.1983.220
106. Kleiber M. Body size and metabolic rate. *Physiol Rev.* 1947;27(4):511-541. doi:10.1152/physrev.1947.27.4.511
107. Jin L, Hastings NE, Blackman BR, Somlyo AV. Mechanical properties of the extracellular matrix alter expression of smooth muscle protein LPP and its partner palladin; relationship to early atherosclerosis and vascular injury. *J Muscle Res Cell Motil.* 2009;30(1-2):41-55. doi:10.1007/s10974-009-9173-1
108. Benetos A, Waeber B, Izzo J, et al. Influence of age, risk factors, and cardiovascular and renal disease on arterial stiffness: clinical applications. *Am J Hypertens.* 2002;15(12):1101-1108. doi:10.1016/S0895-7061(02)03029-7
109. Janhsen K, Strube H, Starker A, Koch-Institut R. Gesundheitsberichterstattung des Bundes. :38.
110. Statistisches Jahrbuch 2019. 2019:36.
111. Horn MA, Trafford AW. Aging and the cardiac collagen matrix: Novel mediators of fibrotic remodelling. *J Mol Cell Cardiol.* 2016;93:175-185. doi:10.1016/j.yjmcc.2015.11.005
112. Pearson Thomas A., Mensah George A., Alexander R. Wayne, et al. Markers of Inflammation and Cardiovascular Disease. *Circulation.* 2003;107(3):499-511. doi:10.1161/01.CIR.0000052939.59093.45
113. Mapleson WW. Effect of age on MAC in humans: a meta-analysis. *Br J Anaesth.* 1996;76(2):179-185. doi:10.1093/bja/76.2.179
114. Westerhof N, Elzinga G. Why smaller animals have higher heart rates. *Adv Exp Med Biol.* 1993;346:319-323. doi:10.1007/978-1-4615-2946-0\_31
115. Jensen-Urstad K, Storck N, Bouvier F, Ericson M, Lindbland LE, Jensen-Urstad M. Heart rate variability in healthy subjects is related to age and gender. *Acta Physiol Scand.* 1997;160(3):235-241. doi:10.1046/j.1365-201X.1997.00142.x
116. Effect of restraint and injection methods on heart rate and body temperature in mice. *Lab Anim.* 2006;40(4):382-391. doi:10.1258/002367706778476370
117. Stauss HM. Heart rate variability. *Am J Physiol-Regul Integr Comp Physiol.* 2003;285(5):R927-R931. doi:10.1152/ajpregu.00452.2003

- 
118. Davies P, Maconochie I. The relationship between body temperature, heart rate and respiratory rate in children. *Emerg Med J EMJ*. 2009;26(9):641-643. doi:10.1136/emj.2008.061598
  119. Lorell Beverly H., Carabello Blase A. Left Ventricular Hypertrophy. *Circulation*. 2000;102(4):470-479. doi:10.1161/01.CIR.102.4.470
  120. Horn MA, Graham HK, Richards MA, et al. Age-related divergent remodeling of the cardiac extracellular matrix in heart failure: Collagen accumulation in the young and loss in the aged. *J Mol Cell Cardiol*. 2012;53(1):82-90. doi:10.1016/j.yjmcc.2012.03.011

## IX. ABBILDUNGSVERZEICHNIS

<i>Abbildung 1: Aufbau des Herzens:</i> .....	4
<i>Abbildung 2: Schematischer Aufbau eines Blutgefäßes:</i> .....	6
<i>Abbildung 3: Aufbau des Proteins LPP:</i> .....	13
<i>Abbildung 4: Vergleichender Aufbau LPP und Zyxin:</i> .....	13
<i>Abbildung 5: Molekulares Interaktionsnetzwerk von Zyxin, LPP und VASP in Mäusen:</i> .....	16
<i>Abbildung 6: Dehnungsbedingte Aktivierung von Zyxin in vaskulären Endothelzellen:</i> .....	18
<i>Abbildung 7: Schematische Darstellung des Versuchablaufes:</i> .....	27
<i>Abbildung 8: Übersicht Ablauf Telemetrie-Gruppen:</i> .....	29
<i>Abbildung 9: Übersicht Ablauf Sonographie-Gruppen:</i> .....	31
<i>Abbildung 10: Beispielhafte Ultraschallaufnahme des Herzens mit entsprechenden Auswertungen:</i> .....	32
<i>Abbildung 11: Beispielhafte Ultraschallaufnahme der Pulmonalarterie und Mitralklappe mit entsprechenden Auswertungen:</i> .....	33
<i>Abbildung 12: Beispielhafte Ultraschallaufnahme der Aorta mit entsprechenden Auswertungen:</i> .....	34
<i>Abbildung 13: LPP-Genotypisierung mittels PCR:</i> .....	41
<i>Abbildung 14: Körpermasse LPP-KO &amp; WT:</i> .....	42
<i>Abbildung 15: Länge der Tibia:</i> .....	43
<i>Abbildung 16: Kyphose:</i> .....	44
<i>Abbildung 17: Körpermasse 6 Monate alter Zyxin-Knockoutmäuse und der entsprechenden Wildtypkontrollen im Vergleich:</i> .....	44
<i>Abbildung 18: Tibialänge Zyxin-KO &amp; WT:</i> .....	45
<i>Abbildung 19: Systolischer und diastolischer Blutdruck von LPP-KO &amp; WT Mäusen:</i> .....	46
<i>Abbildung 20: Herzfrequenzvariabilität:</i> .....	47
<i>Abbildung 21: Auffällige EKG-Änderungen:</i> .....	48
<i>Abbildung 23: B-Mode Aufnahme der Kurzachse:</i> .....	51
<i>Abbildung 24: Herzgewicht gewogen:</i> .....	53
<i>Abbildung 25: Funktionsparameter des Herzens – Teil 1:</i> .....	55
<i>Abbildung 26: Funktionsparameter des Herzens – Teil 2:</i> .....	56

---

<i>Abbildung 27: Ausgewählte Parameter der Zyxin-KO Mäuse:</i> .....	59
<i>Abbildung 28: Widerstands-Index:</i> .....	60
<i>Abbildung 29: Typische Gefäßveränderungen:</i> .....	61
<i>Abbildung 30: Sirius-Rotfärbung von Herzen:</i> .....	62
<i>Abbildung 31: Elastica-van Gieson-Färbung der Aorta von 12</i> <i>Monate alten LPP-Knockoutmäusen (A – C):</i> .....	63
<i>Abbildung 32: Elastica-van Gieson-Färbung der Aorta von 12 Monate alten</i> <i>Wildtypmäusen:</i> .....	64
<i>Abbildung 33: Elastica-van Gieson-Färbung der Aorta von 18 Monate alten LPP-</i> <i>Knockoutmäusen (A, B) und den altersentsprechenden</i> <i>Wildtypkontrollen (C-E):</i> .....	65

## X. TABELLENVERZEICHNIS

<i>Tabelle 1: Bedeutung ausgewählter Sonographie-Parameter:</i> .....	10
<i>Tabelle 2: spezielle Chemikalien:</i> .....	19
<i>Tabelle 3: Lösungen:</i> .....	20
<i>Tabelle 4: Geräte Tierraum:</i> .....	21
<i>Tabelle 5: Geräte Histologie:</i> .....	22
<i>Tabelle 6: Verbrauchsmaterial Histologie:</i> .....	22
<i>Tabelle 7: Sonstige Geräte:</i> .....	23
<i>Tabelle 8: Tierversuchsverbrauchsmaterial:</i> .....	24
<i>Tabelle 9: Computer-Programme:</i> .....	25
<i>Tabelle 10: Cyclor Programme für die LPP / Zyxin Genotypisierung:</i> .....	28
<i>Tabelle 11: Aufnahmeeinstellungen der Sonographie:</i> .....	31
<i>Tabelle 12: Formeln zur Berechnungen funktioneller Parameter:</i> .....	35
<i>Tabelle 13: Übersicht Organentnahme &amp; Fixation:</i> .....	36
<i>Tabelle 14: Verallgemeinerte Schätzgleichung in SPSS:</i> .....	38
<i>Tabelle 15: Häufigkeit der Kyphose bei den in dieser Arbeit untersuchten Tieren:</i> .....	43
<i>Tabelle 16: Narkosegas-Verbrauch:</i> .....	49
<i>Tabelle 17: Linksventrikuläre Herzmasse der Herzen errechnet von der Analysesoftware Vevo Lab®:</i> .....	52
<i>Tabelle 18: disponierende Faktoren, die sich bei LPP-Knockoutmäuse unterscheiden, die vorzeitig gestorben sind:</i> .....	58
<i>Tabelle 19: Häufigkeit von Gefäßveränderungen:</i> .....	61



**XI. ANHANG****1.1. Sonstige Messungen****1.1.1. Körpermasse**

Körpermasse (g)							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
Körpermasse	n	Mittelwert	SD	n	Mittelwert	SD	
12 Monate							
ZP 0	12	25,86	3,11	13	33,04	2,78	< 0,001
ZP 7	4	24,56	3,61	6	31,62	3,62	0,016
ZP 10	6	24,54	3,57	6	30,16	1,49	0,01
ZP 14	5	23,39	1,43	7	29,44	2,2	< 0,001
ZP 21	4	22,65	1,39	7	30,08	1,8	< 0,001
18 Monate							
ZP 0	10	24,88	2,28	13	32,08	3,52	< 0,001
ZP 7	6	23,47	1,75	11	29,65	2,97	< 0,001
ZP 10	4	25,05	3,94	4	34,64	3,48	0,011
ZP 14	5	21,86	2,3	9	31,19	3,45	< 0,001
ZP 21	6	21,83	2,9	10	29,37	2,27	< 0,001
Parameter	Zyxin-KO			Wildtyp			p
Körpermasse	n	Mittelwert	SD	n	Mittelwert	SD	
ZP 0	12	31,68	2,9	10	29,90	2,57	ns
ZP 7	3	31,75	1,59	4	31,15	1,48	ns
ZP 14	3	30,91	2,63	3	28,33	0,58	ns
ZP 21	9	32,89	2,92	7	28,32	1,85	0,002

## 1.1.2. Knochenlängen

Länge (mm) an Tag 21							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
Femur Länge	n	Mittelwert	SD	n	Mittelwert	SD	
12 Monate	3	15,13	0,31	5	15,76	0,4	0,052
18 Monate	5	15,37	0,98	10	15,31	0,68	ns
Tibia Länge							
12 Monate	4	17,21	0,35	7	18,13	0,29	0,001
18 Monate	6	17,68	0,36	10	18,17	0,24	0,006
Parameter	Zyxin-KO			Wildtyp			p
Femur Länge	5	15,18	0,5	7	15,4	0,2	ns
Tibia Länge	9	17,7	0,41	7	17,86	0,34	ns

## 1.1.3. Blutdruck – alle Tiere

Blutdruck (mmHg) gemessen mit dem CODA ® System									
Parameter	LPP-KO			Zyxin-KO			Wildtyp		
Sys/Dia Blutdruck	n	Mittelwert	SD	n	Mittelwert	SD	n	Mittelwert	SD
6 Monate	p								
ZP 0		ns/ns		3	110/80	14/9	4	98/69	11/10
ZP 7		ns/ns		3	100/75	6/7	4	99/72	4/6
ZP 14		0,025/ns		3	97/68	3/6	3	115/81	6/9
ZP 21		ns/ns		3	102/76	5/5	3	105/71	16/15
12 Monate	n	Mittelwert	SD	p					
ZP 0	9	131/96	29/24	0,034*/ns			12	108/83	10/8
ZP 7	9	159/117	27/22	0,003*/0,007*			11	121/91	17/15
ZP 14	5	171/124	29/29	0,002*/0,012*			9	115/84	22/20
ZP 21	4	177/131	27/19	0,017/0,020			7	123/93	24/23
18 Monate				p					
ZP 0	10	125/93	26/20	0,034/0,035			13	104/77	9/9
ZP 7	10	139/98	30/24	ns/ns			11	126/96	20/20
ZP 14	6	140/100	19/14	0,027*/ns			11	116/88	25/26
ZP 21	6	120/83	36/32	ns/ns			10	114/83	22/18

**Tabelle Nichtinvasive Blutdruck Messung mit dem CODA ® System:** LPP – Lipoma preferred partner, KO – Knockout, n – Anzahl an Individuen in einer Gruppe, SD (engl. Standard Deviation) Standardabweichung, ZP – Zeitpunkt, p: p-Wert, x:  $p > 0,05$ ; \* Mann-Whitney-U-Test

**1.1.4. Blutdruck – nur bis an das Versuchsende überlebende Tiere**

Nur bis zum Versuchsende überlebende Tiere inkludiert

Blutdruck (mmHg) gemessen mit dem CODA ® System							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
Sys/Dia Blutdruck	n	Mittelwert	SD	n	Mittelwert	SD	
12 Monate							
ZP 0	4	151/113	35/26	7	111/86	10/8	ns/ns
ZP 7	4	178/134	24/17	7	121/90	18/16	0,008/0,006
ZP 14	4	176/131	31/29	7	112/82	24/23	0,015/0,031
ZP 21	4	177/131	27/19	7	123/93	24/23	0,017/0,020
18 Monate							
ZP 0	6	126/93	24/20	10	106/79	10/10	ns/ns
ZP 7	6	132/90	29/25	10	127/96	21/22	ns/ns
ZP 14	6	140/100	19/14	10	118/90	26/25	ns/ns
ZP 21	6	120/83	36/32	10	114/83	22/18	ns/ns

**Tabelle Nichtinvasive Blutdruck Messung mit dem CODA ® System:** hier nur mit Tieren, die bis an das Versuchsende überlebt haben; LPP – Lipoma preferred partner, KO – Knockout, n – Anzahl an Individuen in einer Gruppe, SD (engl. Standard Deviation) Standardabweichung, ZP – Zeitpunkt, p: p-Wert, x:  $p > 0,05$ ; \* Mann-Whitney-U-Test

### 1.1.5. Herzfrequenz

Herzfrequenz (Schläge/Minute)							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
Herzfrequenz	n	Mittelwert	SD	n	Mittelwert	SD	
12 Monate							
ZP 0	9	460	81	11	502	25	ns
ZP 10	5	427	57	5	453	34	ns
ZP 21	4	418	48	7	462	41	0,042
18 Monate							
ZP 0	9	432	56	13	472	36	0,08
ZP 10	3	470	30	4	448	44	ns
ZP 21	6	395	44	10	450	43	0,026

**Herzfrequenz:** gemessen während der Gewebedoppleraufnahme, LPP-KO – Lipoma preferred partner Knockout, n – Anzahl an Individuen in einer Gruppe, SD (engl. Standard Deviation) Standardabweichung, ZP – Zeitpunkt, p: p-Wert, x:  $p > 0,05$

### 1.1.6. Isofluran

Narkosegas Isofluran Luftgemisch (V/V)							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
Isofluran Konzentration	n	Mittelwert	SD	n	Mittelwert	SD	
12 Monate							
ZP 0	10	1,52	0,23	13	1,88	0,11	< 0,001
ZP 10	5	1,42	0,13	5	1,66	0,34	ns
ZP 21	3	1,37	0,15	7	1,6	0,13	0,037
18 Monate							
ZP 0	10	1,44	0,22	13	1,78	0,14	0,001
ZP 10	3	1,23	0,47	4	1,65	0,21	ns
ZP 21	6	1,03	0,3	10	1,56	0,1	0,007

**Narkosegas-Verbrauch:** Durchschnittsbedarf während der Narkose, LPP-KO – Lipoma preferred partner Knockout, n – Anzahl an Individuen in einer Gruppe, SD (engl. Standard Deviation) Standardabweichung, ZP – Zeitpunkt, p: p-Wert, x:  $p > 0,05$

### 1.1.7. Herzgewicht aus Sonographieaufnahmen

Herzmasse (mg)							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
Herzmasse	n	Mittelwert	SD	n	Mittelwert	SD	
12 Monate							
ZP 0	9	91	13	11	125	12	< 0,001
ZP 10	5	115	31	5	143	26	ns
ZP 21	4	119	9	7	171	34	0,007
18 Monate							
ZP 0	9	96	15	13	125	14	< 0,001
ZP 10	3	109	15	4	154	43	ns
ZP 21	6	148	21	10	173	28	0,07
Parameter	Zyxin-KO			Wildtyp			p
6 Monate							
ZP 0	6	128	15	5	132	30	ns
ZP 21	6	151	22,20	4	127	7,45	0,049

Herzmasse errechnet von der Analyse Software Vevo Lab®: LVAW – Vordere Herzwand, LPP-KO – Lipoma preferred partner Knockout, n – Anzahl an Individuen in einer Gruppe, SD (engl. Standard Deviation) Standardabweichung, ZP – Zeitpunkt, p: p-Wert, x:  $p > 0,05$

### 1.1.8. Herzgewicht gewogen & Normalisierung

Herzgewicht (mg) an Tag 21									
Parameter	LPP-KO			Zyxin-KO			Wildtyp		
Körpermasse	n	Mittelwert	SD	n	Mittelwert	SD	n	Mittelwert	SD
6 Monate				9	170	28,4	7	181,7	22,8
12 Monate	4	148,5	6,6				7	202,4	24,4
18 Monate	6	182	20				10	209,2	25,9

Herzgewicht (mg)/Körpermasse (g) an Tag 21									
Parameter	LPP-KO			Zyxin-KO			Wildtyp		
	n	Mittelwert	SD	n	Mittelwert	SD	n	Mittelwert	SD
6 Monate				9	5,17	0,78	7	6,44	0,95
12 Monate	4	6,59	0,71				7	6,74	0,86
18 Monate	6	8,39	0,83				10	7,14	0,88

### 1.1.9. Widerstandsindex

Widerstandsindex							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
	n	Mittelwert	SD	n	Mittelwert	SD	
12 Monate							
ZP 0	9	0,64	0,07	11	0,67	0,07	ns
ZP 10	5	0,62	0,08	5	0,70	0,05	0,09
ZP 21	4	0,61	0,06	7	0,75	0,05	0,002
18 Monate							
ZP 0	9	0,63	0,04	13	0,66	0,05	ns
ZP 10	3	0,64	0,08	4	0,65	0,05	ns
ZP 21	6	0,68	0,03	10	0,72	0,05	0,07
Parameter	Zyxin-KO			Wildtyp			P
6 Monate							
ZP 0	5	0,62	0,09	4	0,71	0,06	ns
ZP 21	6	0,73	0,06	4	0,7	0,04	ns

**RI - Resistance Index:** LPP – Lipoma preferred partner, KO – Knockout, WT – Wildtyp, n – Anzahl an Individuen in einer Gruppe, SD (engl. Standard Deviation) Standardabweichung, ZP – Zeitpunkt, p: p-Wert,

### 1.1.10. Kyphose

Alter	LPP-KO	Wildtyp
12 Monate	2 / 4 (nur überlebende)	1 / 7
	4 / 12 (alle)	1 / 13
18 Monate*	4 / 6 (nur überlebende) *(0,008)	0 / 10
	8 / 10 (alle) *( $<0,000$ )	0 / 13
Gesamt	6 / 10 (nur überlebende)	1 / 17
	12 / 22 (alle)	1 / 26

Anzahl Tiere mit Kyphose / Gesamtzahl der untersuchten Tiere; nach GEE ist der Genotyp LPP-KO mit  $p = 0,002$  Einflussfaktor auf den Parameter Kyphose. \*  $p < 0,05$  (Wert nach: Exakter Test nach Fisher in Chi-Quadrat-Tests, SPSS ®), nicht getestet: Gesamtzahl

### 1.2. Sonographie

Abkürzungen: AA – Abdominale Aorta, A – Arteria, AAT Aortenklappenfluss Beschleunigungszeit, Acc – Beschleunigung, AET – Aortenklappen Auswurf Zeit, Ao – Aorta, AoV – Aortenklappe, Area - Fläche, CO Herzminutenvolumen, Decel – abnehmende Beschleunigung/ Verlangsamung, Dia oder d – diastolisch, du – durchschnittlich, EDV – End Dia Geschwindigkeit, EF – Ejektionsfraktion, ENDO – Endookard(iale), EPI – Epikard(iale), ET – Auswurfzeit, FS – Fractional shortening, Grad – Gradient, HF Herzfrequenz, IVCT - Isovolumetrische Kontraktionszeit, IVRT – Isovolumetrische Relaxationszeit, L-B Langachse B-Mode, LFA – linke A. femoralis (n negativ aufgenommen, p positiver Fluss aufgenommen), L-M Langachse M-Mode, LV – Linker Ventrikel, LV T – LVTrace, majr – Längesachse, mean – mittlerer, MPAP – mittlerer Pulmonalarterien Druck ( $79-(0,45*PAT)$ ), MPI – Myokardialer Performance Index, MV – Mitralklappe, NFT – Nicht Füllungs Zeit, PAT – PV Beschleunigungszeit, PET – PV Auswurfzeit, PHT – Press half Time, Pres – Druck, PSV – Max. Sys Geschwindigkeit, PV- Pulmonal Klappe, S-B Kurzachse B-Mode, SV Schlag Volumen, Sys oder s – Systolisch, TD – Gewebe-Doppler, Vcf – Circumferentieller Strain, Vol oder V – Volumen, VTI – Geschwindigkeits-Zeit Integral

## 1.2.1. 12 Monate alte Mäuse

### 1.2.1.1. Tag 0

Ultraschallergebnisse, Tag 0, 12 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
	n	Mittelwert	SD	n	Mittelwert	SD	
Aorten Bewegung (AA DiamS/AA DiamD)	5	1,15	0,08	4	1,21	0,03	ns
AA Diam D	5	0,99	0,06	5	1,12	0,06	0,006
AA Diam S	5	1,14	0,06	5	1,34	0,07	0,001
Ao-AAT	7	13,45	5,09	11	11,42	1,67	ns
AET	7	51,10	9,07	11	45,84	4,83	ns
AI PHT-Acc	7	120655	69832	11	129354	37549	ns
AI PHT-Time	7	13,72	5,62	11	11,71	1,79	ns
AoV VTI	7	45,60	7,57	11	43,79	10,18	ns
AoV MeanVel	7	968	187	11	1023	243	ns
AoV MeanGrad	7	3,87	1,56	11	4,40	2,02	ns
AoV PeakVel	7	1376	290	11	1464	352	ns
AoV PeakGrad	7	7,86	3,31	11	9,03	4,03	ns
AV Peak Vel	7	1379	289	11	1466	356	ns
AAT/AET	7	0,26	0,07	11	0,25	0,06	ns
AV PeakPres	7	7,89	3,30	11	9,06	4,08	ns
MV-A'	9	-26,40	4,01	11	-25,46	6,83	ns
MV-AET	9	48,69	9,31	11	42,77	4,40	0,11
MV-E'	9	-21,27	6,46	11	-21,73	4,95	ns
TD-AET	8	50,38	8,46	10	46,45	4,24	ns
IVCT-TD	8	11,00	2,10	10	11,32	1,62	ns
IVCT	9	12,15	3,00	11	11,09	2,95	ns
IVRT-TD	8	17,02	3,10	10	15,21	4,14	ns
IVRT	9	14,43	3,66	11	12,82	3,22	ns
MV A	9	469	75	11	447	80	ns
MV DecelAcc	9	-29316	9493	11	-30253	7706	ns
MV Decel-Time	9	23,17	5,71	11	21,58	5,02	ns

Ultraschallergebnisse, Tag 0, 12 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
MV E	9	627	57	11	621	58	ns
MV ET	9	62,48	18,54	11	56,04	5,18	ns
MV Acc	9	43198	4884	11	41230	6411	ns
MV AccTime	9	14,66	1,01	11	15,29	2,35	ns
MV VTI	9	20,11	3,45	11	19,92	2,77	ns
MV MeanVel	9	370	61	11	385	44	ns
MV MeanGrad	9	0,56	0,19	11	0,60	0,14	ns
MV PeakVel	9	625	67	11	614	61	ns
MV PeakGrad	9	1,58	0,34	11	1,53	0,29	ns
MV NFT	9	74	13	11	64	7	0,065
S WAVE	9	24,00	5,47	10	25,96	4,41	ns
A/E'	9	1,35	0,48	11	1,24	0,42	ns
E/A'	9	0,83	0,30	11	0,95	0,51	ns
LV MPI IV	9	0,53	0,09	11	0,53	0,10	ns
LV MPI NFT	9	0,53	0,09	11	0,51	0,10	ns
MV Area	9	15,07	1,05	11	14,74	2,52	ns
MV Area (simpl)	9	34,97	10,29	11	37,06	9,28	ns
MV E/A	9	1,37	0,25	11	1,43	0,29	ns
MV E/E'	9	-31,88	9,71	11	-29,94	7,60	ns
MV PHT (simpl)	9	6,72	1,66	11	6,26	1,46	ns
IVCT/IVRT	9	0,88	0,29	11	0,90	0,28	ns
HR (PW)	9	460	84	11	498	36	ns
HR (TD)	9	460	81	11	502	25	ns
RR interval	9	0,13	0,03	11	0,12	0,01	ns
AET (corrected)	9	132	13	11	123	10	ns
RV PAT	7	19,49	2,06	9	18,04	2,00	ns
RV PET	7	60,71	7,73	9	55,99	3,15	ns
PV PeakVel	7	-742	65	9	-682	82	ns
PV VTI	7	28,87	4,71	9	24,51	2,55	ns
PV MeanVel	7	-508	38	9	-463	58	0,089

Ultraschallergebnisse, Tag 0, 12 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
PV MeanGrad	7	1,04	0,16	9	0,87	0,22	ns
PV PeakVel	7	-732	67	9	-680	82	ns
PV PeakGrad	7	2,16	0,39	9	1,88	0,46	ns
MPAP (common)	7	70,23	0,92	9	70,88	0,90	ns
MPAP (PAT &lt; 120 ms)	7	77,92	1,27	9	79	1,24	ns
PAT/PET	7	0,32	0,05	9	0,32	0,04	ns
PV Peak Pressure	7	2,22	0,38	9	1,88	0,46	ns
L-B-Ao Sinus	9	1,52	0,10	11	1,62	0,19	ns
L-B-ENDOmajr;d	9	7,46	0,16	11	7,86	0,26	0,001
L-B-ENDOmajr;s	9	6,50	0,22	11	6,69	0,23	0,046*
L-B-EPImajr;d	9	7,89	0,17	11	8,28	0,25	0,001
L-B-EPImajr;s	9	7,00	0,22	11	7,27	0,20	0,012
L-B-LVAW;d	9	0,85	0,09	11	1,06	0,12	< 0,001
L-B-LVAW;s	9	1,24	0,08	11	1,47	0,22	0,007
L-B-LV T-HF	9	446	71	11	502	21	0,049
L-B-LV T-Area	9	14,52	3,95	11	16,01	5,15	ns
L-B-LV T-AreaS	9	12,46	1,51	11	12,32	1,12	ns
L-B-LV T-AreaD	9	19,95	2,25	11	21,74	1,25	0,02*
L-B-LV T-Vol	9	27,90	13,14	11	32,99	18,67	ns
L-B-LVID;d	9	3,47	0,35	11	3,70	0,18	0,46*
L-B-LVID;s	9	2,45	0,28	11	2,44	0,31	ns
L-B-LVPW;d	9	0,80	0,10	11	0,88	0,10	0,073
L-B-LVPW;s	9	1,03	0,19	11	1,32	0,11	0,002
L-B-LV T-Area;d	9	19,95	2,25	11	21,74	1,25	0,02*
L-B-LV T-Area;s	9	12,46	1,51	11	12,32	1,12	ns
L-B-LV T-CO	9	11,50	3,46	11	16,64	2,71	0,002
L-B-EF	9	57,25	6,59	11	63,38	8,88	0,094
L-B-LV T-EF	9	54,65	5,23	11	62,51	5,46	0,003*
L-B-Endol FS	9	12,79	2,44	11	14,76	4,33	ns

Ultraschallergebnisse, Tag 0, 12 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
L-B-LV T-FS	9	12,96	2,33	11	14,84	4,08	ns
L-B-FS;diam	9	29,46	4,39	11	34,13	6,59	0,075
L-B-Mass	9	98,44	24,13	11	136,53	17,14	0,001
L-B-Mass Cor	9	78,75	19,30	11	109,23	13,71	0,001
L-B-Vol;d	9	50,67	12,76	11	58,46	6,80	0,046*
L-B-Vol;s	9	21,62	6,29	11	21,65	6,41	ns
L-B-LV T-SV	9	25,80	6,82	11	33,19	5,39	0,014
L-B-LV T-V;d	9	46,81	10,11	11	53,01	6,42	ns
L-B-LV T-V;s	9	21,01	4,07	11	19,82	3,44	ns
L-B-HR	9	446	71	11	458	147	ns
L-B-RR interval	9	0,14	0,02	11	0,39	0,89	ns
L-B-AET (corrected)	9	131	16	11	115	32	ns
L-B-Vcf	9	6,30	1,66	11	7,60	1,08	0,063
L-B-Vcf cor	9	2,30	0,49	11	3,43	2,53	ns
L-M-LVAW;d	9	0,85	0,10	11	1,03	0,11	0,002
L-M-LVAW;s	9	1,22	0,15	11	1,47	0,18	0,003
L-M-LV T-HF	9	446	74	11	500	23	0,063
L-M-LV T-LVAWs	9	1,23	0,16	11	1,47	0,17	0,005
L-M-LV T-LVAWd	9	0,85	0,10	11	1,03	0,11	0,002
L-M-LV T-LWPWs	9	1,03	0,17	11	1,32	0,10	0,001
L-M-LV T-LVPWd	9	0,74	0,13	11	0,87	0,07	0,019
L-M-LVID;d	9	3,52	0,26	11	3,65	0,19	ns
L-M-LVID;s	9	2,39	0,25	11	2,27	0,31	ns
L-M-LVPW;d	9	0,75	0,12	11	0,87	0,08	0,021
L-M-LVPW;s	9	1,02	0,18	11	1,31	0,10	0,001
L-M-LV T-CO	9	13,90	4,06	11	18,98	2,37	0,006
L-M-LV T-DiaD	9	3,51	0,27	11	3,64	0,18	ns
L-M-LV T-DiamS	9	2,40	0,27	11	2,27	0,31	ns
L-M-EF	9	60,85	7,55	11	68,42	7,59	0,038
L-M-LV T-EF	9	60,35	8,01	11	68,20	7,79	0,04

Ultraschallergebnisse, Tag 0, 12 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
L-M-FS	9	32,02	5,17	11	37,87	6,18	0,036
L-M-LV T-FS	9	31,68	5,45	11	37,71	6,32	0,037
L-M-Mass	9	97	23	11	129	17	0,002
L-M-Mass Cor	9	77,45	18,59	11	103	13	0,002
L-M-LV T-Mass	9	95	23	11	128	16	0,002
L-M-LV T-MassCor	9	76,37	18,61	11	103	13	0,002
L-M-Vol;d	9	52,05	9,59	11	56,44	7,11	ns
L-M-Vol;s	9	20,39	5,34	11	18,10	5,94	ns
L-M-LV T-SV	9	31,10	7,11	11	37,92	4,22	0,026
L-M-LV T-VolD	9	51,60	9,92	11	55,99	6,84	ns
L-M-LV T-VolS	9	20,50	5,66	11	18,07	5,91	ns
L-M-HR	9	446	74	11	500	23	0,063
L-M-RR interval	9	0,14	0,02	11	0,12	0,01	0,055
L-M-ET (corrected)	9	131	15	11	123	11	ns
L-M-Vcf	9	6,88	1,99	11	8,93	1,62	0,025
L-M-LV T-Vcf	9	6,81	2,01	11	8,89	1,67	0,025
L-M-Vcf cor	9	2,50	0,55	11	3,09	0,55	0,028
L-M-LV T-Vcf cor	9	2,47	0,56	11	3,08	0,57	0,028
S-B-ENDOarea;d	9	10,26	1,27	11	11,25	0,73	0,06
S-B-ENDOarea;s	9	4,70	1,43	11	4,60	0,75	ns
S-B-EPIarea;d	9	20,83	2,30	11	25,14	1,63	< 0,001
S-B-EPIarea;s	9	16,80	2,09	11	21,99	1,95	< 0,001
S-B-LVAW;d	9	0,79	0,11	11	1,00	0,09	< 0,001
S-B-LVAW;s	9	1,20	0,13	11	1,43	0,09	< 0,001*
S-B-LV T-HF	9	454	72	11	501	23	0,092
S-B-LV T-Area	9	6,97	3,20	11	5,78	2,79	ns
S-B-LV T-FS	9	53,82	11,07	11	58,47	5,46	ns
S-B-LVID;d	9	3,58	0,25	11	3,72	0,19	ns
S-B-LVID;s	9	2,44	0,36	11	2,51	0,26	ns
S-B-LVPW;d	9	0,72	0,13	11	0,85	0,10	0,022

Ultraschallergebnisse, Tag 0, 12 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
S-B-LVPW;s	9	1,00	0,18	11	1,29	0,13	0,001
S-B-duEPIradius;d	9	2,57	0,14	11	2,83	0,09	< 0,001
S-B-LV T-AreaD	9	9,95	1,29	11	10,91	0,69	0,068
S-B-LV T-AreaS	9	4,63	1,40	11	4,54	0,71	ns
S-B-duENDOradius;d	9	1,80	0,11	11	1,89	0,06	0,056
S-B-EndoAreaChange	9	5,55	1,16	11	6,64	0,65	0,012*
S-B-Endo-CO	9	17,24	4,82	11	24,17	3,44	0,003
S-B-Endo-EF	9	60,40	9,55	11	65,17	5,30	ns
S-B-Endo-FAC	9	54,49	11,17	11	59,16	5,65	ns
S-B-Endo-FS	9	12,79	2,44	11	14,76	4,33	ns
S-B-Endo-SV	9	38,24	6,24	11	48,09	5,88	0,002
S-B-Endo-Vd	9	63,79	8,65	11	73,75	6,55	0,012
S-B-Endo-Vs	9	25,55	8,08	11	25,67	4,25	ns
S-B-LV T-FAC	9	53,82	11,07	11	58,47	5,46	ns
S-B-Mass;d	9	91,07	12,78	11	125	12	< 0,001
S-B-duWanddicke;d	9	0,77	0,06	11	0,94	0,06	< 0,001
S-B-Vol;d	9	54,19	9,04	11	59,03	7,53	ns
S-B-Vol;s	9	21,68	7,59	11	22,83	5,46	ns
S-B-EF	9	60,82	9,36	11	61,34	8,43	ns
S-B-FS	9	32,18	6,44	11	32,61	6,13	ns
S-B-HR	9	454	72,41	11	501	23	0,092
S-B-RR interval	9	0,14	0,02	11	0,12	0,01	0,082
S-B-AET (corrected)	9	132	15	11	123	10	ns
S-B-Vcf	9	6,92	2,16	11	7,64	1,37	ns
S-B-Vcf cor	9	2,48	0,62	11	2,64	0,46	ns
pLFA EDV	9	32,94	20,99	11	30,55	11,31	ns
pLFA PSV	9	97,82	78,09	11	89,27	21,85	ns
pLFA VTI	9	8,52	8,13	11	6,53	1,68	ns
pLFA meanVel	9	59,98	43,18	11	55,78	16,33	ns
pLFA MeanGrad	9	0,02	0,04	11	0,01	0,01	ns

Ultraschallergebnisse, Tag 0, 12 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
pLFA PeakVel	9	98,32	78,37	11	89,80	22,14	ns
pLFA PeakGrad	9	0,06	0,11	11	0,03	0,02	ns
pLFA PI	9	1,03	0,18	11	1,09	0,20	ns
pLFA RI	9	0,64	0,07	11	0,67	0,07	ns
nLFA EDV	9	-24,54	9,02	11	-27,21	8,42	ns
nLFA PSV	9	-72,03	30,10	11	-78,11	18,99	ns
nLFA VTI	9	6,05	3,13	11	5,72	1,51	ns
nLFA meanVel	9	-44,92	16,06	11	-48,98	12,31	ns
nLFA MeanGrad	9	0,01	0,01	11	0,01	0,00	ns
nLFA PeakVel	9	-72,82	29,88	11	-78,46	18,96	ns
nLFA PeakGrad	9	0,02	0,02	11	0,03	0,01	ns
nLFA PI	9	1,03	0,24	11	1,05	0,17	ns
nLFA RI	9	0,64	0,09	11	0,65	0,06	ns

\* Mit M-W-Test

### 1.2.1.2. Tag 10

Ultraschallergebnisse, Tag 10, 12 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
	n	Mittelwert	SD	n	Mittelwert	SD	
Aorten Bewegung (AA DiamS/AADiamD)	2	1,09	0,07	3	1,15	0,02	ns
AA Diam D	4	1,17	0,10	3	1,33	0,12	ns
AA Diam S	4	1,31	0,09	3	1,52	0,12	0,043
Ao-AAT	4	14,31	4,16	5	12,50	1,98	ns
AET	4	49,99	7,86	5	47,75	4,14	ns
AI PHT-Acc	4	105562	45677	5	117059	18023	ns
AI PHT-Time	4	14,03	4,10	5	12,91	2,05	ns
AoV VTI	4	43,09	12,70	5	49,44	16,31	ns

Ultraschallergebnisse, Tag 10, 12 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
AoV MeanVel	4	958	307	5	1110	281	ns
AoV MeanGrad	4	3,96	2,26	5	5,18	2,80	ns
AoV PeakVel	4	1351	427	5	1495	309	ns
AoV PeakGrad	4	7,85	4,28	5	9,24	3,68	ns
AV Peak Vel	4	1354	432	5	1504	309	ns
AAT/AET	4	0,28	0,05	5	0,26	0,04	ns
AV PeakPres	4	7,90	4,32	5	9,35	3,70	ns
MV-A'	5	-21,82	6,62	5	-29,64	9,61	ns
MV-AET	5	44,95	6,85	5	50,64	9,45	ns
MV-E'	5	-23,85	7,83	5	-19,06	10,77	ns
TD-AET	4	48,48	4,62	5	49,59	5,20	ns
IVCT-TD	4	13,11	4,13	5	13,42	3,65	ns
IVCT	5	14,62	4,50	5	14,92	3,48	ns
IVRT-TD	4	12,90	5,72	5	18,89	4,61	ns
IVRT	5	18,09	0,90	5	16,80	1,72	ns
MV A	5	454	58	5	569	105	0,056*
MV DecelAcc	5	-25170	4457	5	-31178	12332	ns
MV Decel-Time	5	24,70	2,36	5	24,49	5,86	ns
MV E	5	614	65	5	707	78	0,056*
MV ET	5	55,53	7,04	5	53,72	10,63	ns
MV Acc	5	46313	10065	5	47694	15982	ns
MV AccTime	5	13,52	1,62	5	15,76	3,35	ns
MV VTI	5	20,13	1,00	5	23,40	2,49	0,039
MV MeanVel	5	396	39	5	476	72	0,032*
MV MeanGrad	5	0,63	0,13	5	0,93	0,27	0,032*
MV PeakVel	5	613	68	5	700	74	0,09
MV PeakGrad	5	1,52	0,33	5	1,98	0,40	0,081
MV NFT	5	75,87	10,37	5	77,39	8,13	ns
S WAVE	4	24,95	7,32	5	28,10	9,01	ns
A'/E'	5	0,94	0,23	5	2,09	1,56	ns

Ultraschallergebnisse, Tag 10, 12 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
E/A'	5	1,11	0,25	5	0,70	0,40	0,093
LV MPI IV	5	0,69	0,09	5	0,57	0,16	ns
LV MPI NFT	5	0,69	0,08	5	0,55	0,17	ns
MV Area	5	16,47	2,02	5	14,56	3,64	ns
MV Area (simpl)	5	30,96	2,99	5	32,93	10,25	ns
MV E/A	5	1,37	0,24	5	1,26	0,16	ns
MV E/E'	5	-27,63	7,43	5	-46,45	22,57	ns
MV PHT (simpl)	5	7,16	0,69	5	7,10	1,70	ns
IVCT/IVRT	5	0,81	0,27	5	0,90	0,26	ns
HR (PW)	5	413	69	5	454	38	ns
HR (TD)	5	427	57	5	453	34	ns
RR interval	5	0,14	0,02	5	0,13	0,01	ns
AET (corrected)	5	120	22	5	139	24	ns
RV PAT	5	16,83	2,35	5	20,50	4,96	ns
RV PET	5	59,44	2,85	5	60,74	6,85	ns
PV PeakVel	5	-710	200	5	-776	60	ns
PV VTI	5	28,27	11,35	5	30,07	4,08	ns
PV MeanVel	5	-464	183	5	-534	32	ns
PV MeanGrad	5	0,97	0,83	5	1,15	0,13	ns
PV PeakVel	5	-709	197	5	-772	58	ns
PV PeakGrad	5	2,13	1,19	5	2,39	0,35	ns
MPAP (common)	5	71,43	1,06	5	69,78	2,23	ns
MPAP (PAT < 120 ms)	5	79,56	1,46	5	77,29	3,08	ns
PAT/PET	5	0,28	0,03	5	0,34	0,06	ns
PV Peak Pressure	5	2,15	1,22	5	2,42	0,37	ns
L-B-Ao Sinus	5	1,61	0,18	5	1,63	0,19	ns
L-B-ENDOmajr;d	5	7,63	0,51	5	8,10	0,29	ns
L-B-ENDOmajr;s	5	6,83	0,45	5	6,86	0,26	ns
L-B-EPImajr;d	5	7,98	0,48	5	8,56	0,35	0,062

Ultraschallergebnisse, Tag 10, 12 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
L-B-EPImajr;s	5	7,29	0,47	5	7,39	0,28	ns
L-B-LVAW;d	5	0,99	0,14	5	1,01	0,10	ns
L-B-LVAW;s	5	1,29	0,26	5	1,43	0,12	ns
L-B-LV T-HF	5	446	41	5	441	52	ns
L-B-LV T-Area	5	14,05	2,49	5	15,30	5,63	ns
L-B-LV T-AreaS	5	12,35	1,87	5	13,44	1,07	ns
L-B-LV T-AreaD	5	21,33	2,80	5	23,86	1,24	ns
L-B-LV T-Vol	5	26,84	6,74	5	30,31	21,30	ns
L-B-LVID;d	5	3,63	0,41	5	3,93	0,26	ns
L-B-LVID;s	5	2,35	0,33	5	2,51	0,24	ns
L-B-LVPW;d	5	0,85	0,19	5	0,89	0,17	ns
L-B-LVPW;s	5	1,21	0,18	5	1,35	0,12	ns
L-B-LV T-Area;d	5	21,33	2,80	5	23,86	1,24	ns
L-B-LV T-Area;s	5	12,35	1,87	5	13,44	1,07	ns
L-B-LV T-CO	5	13,85	5,14	5	16,61	0,88	ns
L-B-EF	5	63,82	12,21	5	65,63	8,58	ns
L-B-LV T-EF	5	58,25	9,48	5	62,72	3,42	ns
L-B-Endol FS	5	10,32	4,66	5	15,18	3,11	0,093
L-B-LV T-FS	5	10,61	3,58	5	15,19	3,13	0,064
L-B-FS;diam	5	34,75	9,71	5	35,93	6,82	ns
L-B-Mass	5	125	39	5	144	24	ns
L-B-Mass Cor	5	100	31	5	115	19	ns
L-B-Vol;d	5	56,50	14,67	5	67,45	10,68	ns
L-B-Vol;s	5	19,74	7,00	5	22,85	5,50	ns
L-B-LV T-SV	5	30,55	9,49	5	37,98	3,79	ns
L-B-LV T-V;d	5	52,00	11,71	5	60,55	4,85	ns
L-B-LV T-V;s	5	21,46	5,51	5	22,57	2,68	ns
L-B-HR	5	446	41	5	441	52	ns
L-B-RR interval	5	0,14	0,01	5	0,14	0,02	ns
L-B-AET (corrected)	5	122	15	5	136	21	ns

Ultraschallergebnisse, Tag 10, 12 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
L-B-Vcf	5	8,15	3,67	5	7,18	1,24	ns
L-B-Vcf cor	5	2,97	1,29	5	2,66	0,45	ns
L-M-LVAW;d	5	0,99	0,13	5	1,03	0,14	ns
L-M-LVAW;s	5	1,29	0,26	5	1,45	0,13	ns
L-M-LV T-HF	5	446	43	5	440	51	ns
L-M-LV T-LVAWs	5	1,30	0,26	5	1,45	0,13	ns
L-M-LV T-LVAWd	5	1,00	0,13	5	1,04	0,13	ns
L-M-LV T-LWPWs	5	1,21	0,20	5	1,35	0,10	ns
L-M-LV T-LVPWd	5	0,82	0,19	5	0,89	0,15	ns
L-M-LVID;d	5	3,57	0,30	5	3,84	0,23	ns
L-M-LVID;s	5	2,30	0,25	5	2,36	0,33	ns
L-M-LVPW;d	5	0,83	0,19	5	0,89	0,15	ns
L-M-LVPW;s	5	1,21	0,20	5	1,35	0,11	ns
L-M-LV T-CO	5	15,79	5,73	5	18,75	2,99	ns
L-M-LV T-DiaD	5	3,56	0,31	5	3,81	0,24	ns
L-M-LV T-DiamS	5	2,30	0,24	5	2,35	0,33	ns
L-M-EF	5	65,18	9,88	5	68,98	9,47	ns
L-M-LV T-EF	5	64,77	9,56	5	68,72	9,48	ns
L-M-FS	5	35,37	7,11	5	38,62	7,89	ns
L-M-LV T-FS	5	35,02	6,87	5	38,40	7,90	ns
L-M-Mass	5	119	34	5	143	23	ns
L-M-Mass Cor	5	95,56	26,86	5	114	18	ns
L-M-LV T-Mass	5	118	33	5	141	21	ns
L-M-LV T-MassCor	5	94,40	26,03	5	113	17	ns
L-M-Vol;d	5	53,94	10,67	5	63,97	9,25	ns
L-M-Vol;s	5	18,48	5,24	5	19,82	7,31	ns
L-M-LV T-SV	5	34,94	10,60	5	43,21	9,54	ns
L-M-LV T-VolD	5	53,45	11,15	5	62,79	9,37	ns
L-M-LV T-VolS	5	18,51	5,14	5	19,58	7,13	ns
L-M-HR	5	446	43	5	440	51	ns

Ultraschallergebnisse, Tag 10, 12 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
L-M-RR interval	5	0,14	0,01	5	0,14	0,02	ns
L-M-ET (corrected)	5	122	15	5	136,11	21,39	ns
L-M-Vcf	5	8,18	2,68	5	7,78	1,76	ns
L-M-LV T-Vcf	5	8,09	2,62	5	7,73	1,72	ns
L-M-Vcf cor	5	2,98	0,91	5	2,88	0,62	ns
L-M-LV T-Vcf cor	5	2,95	0,88	5	2,86	0,61	ns
S-B-ENDOarea;d	5	10,56	1,95	5	13,11	1,60	ns
S-B-ENDOarea;s	5	4,83	1,38	5	5,24	1,91	ns
S-B-EPIarea;d	5	23,67	4,42	5	28,22	3,19	0,099
S-B-EPIarea;s	5	19,86	2,90	5	22,98	2,75	ns
S-B-LVAW;d	5	1,00	0,16	5	1,00	0,14	ns
S-B-LVAW;s	5	1,30	0,26	5	1,41	0,12	ns
S-B-LV T-HF	5	443	51	5	438	56	ns
S-B-LV T-Area	5	4,76	1,29	5	9,51	5,46	ns
S-B-LV T-FS	5	54,18	10,00	5	60,52	10,97	ns
S-B-LVID;d	5	3,69	0,30	5	3,96	0,20	ns
S-B-LVID;s	5	2,42	0,41	5	2,54	0,38	ns
S-B-LVPW;d	5	0,83	0,18	5	0,87	0,18	ns
S-B-LVPW;s	5	1,23	0,15	5	1,36	0,09	ns
S-B-duEPIradius;d	5	2,74	0,25	5	2,99	0,17	0,093
S-B-LV T-AreaD	5	10,35	1,89	5	12,70	1,52	0,056*
S-B-LV T-AreaS	5	4,72	1,26	5	5,08	1,81	ns
S-B-duENDOradius;d	5	1,83	0,17	5	2,04	0,13	0,053
S-B-EndoAreaChange	5	5,74	1,64	5	7,87	1,32	0,053
S-B-Endo-CO	5	18,14	7,68	5	25,60	3,30	0,098
S-B-Endo-EF	5	58,81	10,65	5	66,56	9,52	ns
S-B-Endo-FAC	5	54,25	10,29	5	60,59	10,97	ns
S-B-Endo-FS	5	10,32	4,66	5	15,18	3,11	0,093
S-B-Endo-SV	5	40,04	14,00	5	58,39	7,75	0,041
S-B-Endo-Vd	5	67,49	15,91	5	88,65	12,59	0,048

Ultraschallergebnisse, Tag 10, 12 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
S-B-Endo-Vs	5	27,45	7,82	5	30,26	11,93	ns
S-B-LV T-FAC	5	54,18	10,00	5	60,52	10,97	ns
S-B-Mass;d	5	115	31	5	143	26	ns
S-B-duWanddicke;d	5	0,91	0,12	5	0,95	0,10	ns
S-B-Vol;d	5	58,21	10,57	5	68,66	8,21	ns
S-B-Vol;s	5	21,43	9,28	5	24,03	8,92	ns
S-B-EF	5	63,48	12,32	5	64,99	12,03	ns
S-B-FS	5	34,44	8,91	5	35,80	9,18	ns
S-B-HR	5	443	51	5	438	56	ns
S-B-RR interval	5	0,14	0,02	5	0,14	0,02	ns
S-B-AET (corrected)	5	121	14	5	136	21	ns
S-B-Vcf	5	8,05	3,31	5	7,25	2,23	ns
S-B-Vcf cor	5	2,93	1,12	5	2,69	0,79	ns
pLFA EDV	5	34,02	20,42	5	22,43	4,62	ns
pLFA PSV	5	84,68	37,64	5	76,39	16,46	ns
pLFA VTI	5	6,80	3,16	5	5,97	1,18	ns
pLFA meanVel	5	55,06	27,50	5	46,12	10,37	ns
pLFA MeanGrad	5	0,01	0,01	5	0,01	0,00	ns
pLFA PeakVel	5	84,79	37,44	5	76,61	16,52	ns
pLFA PeakGrad	5	0,03	0,03	5	0,02	0,01	ns
pLFA PI	5	0,99	0,21	5	1,17	0,14	ns
pLFA RI	5	0,62	0,08	5	0,70	0,05	0,09
nLFA EDV	5	-32,14	20,90	5	-24,34	4,96	ns
nLFA PSV	5	-80,05	51,33	5	-77,44	14,57	ns
nLFA VTI	5	6,58	4,10	5	5,97	1,01	ns
nLFA meanVel	5	-53,31	36,18	5	-46,37	9,64	ns
nLFA MeanGrad	5	0,02	0,02	5	0,01	0,00	ns
nLFA PeakVel	5	-79,68	52,08	5	-77,81	13,68	ns
nLFA PeakGrad	5	0,03	0,05	5	0,02	0,01	ns
nLFA PI	5	0,93	0,18	5	1,15	0,17	0,094

Ultraschallergebnisse, Tag 10, 12 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
nLFA RI	5	0,60	0,07	5	0,68	0,05	0,082

\* Mit M-W-Test

### 1.2.1.3. Tag 21

Ultraschallergebnisse, Tag 21, 12 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
	n	Mittelwert	SD	n	Mittelwert	SD	
Aorten Bewegung (AA DiamS/AADiamD)	3	1,09	0,06	3	1,18	0,05	0,11
AA Diam D	3	1,07	0,23	3	1,06	0,15	ns
AA Diam S	3	1,17	0,27	3	1,25	0,13	ns
Ao-AAT	3	19,44	4,20	7	16,13	2,86	ns
AET	3	56,48	4,25	7	51,21	7,44	ns
AI PHT-Acc	3	65775	28711	7	92207	20207	ns
AI PHT-Time	3	19,26	4,03	7	16,11	3,06	ns
AoV VTI	3	43,65	5,78	7	44,77	6,71	ns
AoV MeanVel	3	834	140	7	985	176	ns
AoV MeanGrad	3	2,83	0,90	7	4,00	1,46	ns
AoV PeakVel	3	1192	277	7	1440	241	ns
AoV PeakGrad	3	5,89	2,61	7	8,50	2,94	ns
AV Peak Vel	3	1192	276	7	1439	241	ns
AAT/AET	3	0,34	0,05	7	0,32	0,06	ns
AV PeakPres	3	5,88	2,60	7	8,49	2,95	ns
MV-A'	4	-22,83	8,55	7	-29,95	7,35	ns
MV-AET	4	54,03	3,47	7	48,44	5,93	0,08
MV-E'	4	-23,85	6,05	7	-18,88	4,83	ns
TD-AET	4	54,42	4,01	6	51,08	2,80	ns
IVCT-TD	4	16,99	6,07	6	16,56	3,47	ns
IVCT	4	13,07	0,76	7	14,71	2,87	ns
IVRT-TD	4	18,21	1,79	6	16,74	3,53	ns

Ultraschallergebnisse, Tag 21, 12 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
IVRT	4	16,25	4,27	7	17,22	6,75	ns
MV A	4	425	100	7	476	46	ns
MV DecelAcc	4	-21949	2443	7	-32851	11840	0,042*
MV Decel-Time	4	25,97	1,08	7	21,73	4,43	0,046
MV E	4	572	66	7	668	110	0,1
MV ET	4	64,44	18,81	7	52,50	7,29	ns
MV Acc	4	36451	6515	7	42316	5425	0,073*
MV AccTime	4	15,76	1,42	7	15,74	1,42	ns
MV VTI	4	18,83	1,41	7	20,03	2,94	ns
MV MeanVel	4	347	89	7	421	66	0,073*
MV MeanGrad	4	0,51	0,25	7	0,73	0,21	0,073*
MV PeakVel	4	565	64	7	663	108	0,09
MV PeakGrad	4	1,29	0,28	7	1,80	0,53	0,067
MV NFT	4	87,71	7,04	7	79,68	10,55	ns
S WAVE	4	24,90	6,33	7	26,23	5,54	ns
A'E'	4	0,94	0,17	7	1,64	0,49	0,009
E'A'	4	1,09	0,19	7	0,66	0,21	0,008
LV MPI IV	4	0,62	0,04	7	0,65	0,17	ns
LV MPI NFT	4	0,62	0,04	7	0,65	0,17	ns
MV Area	4	14,04	1,20	7	14,07	1,27	ns
MV Area (simpl)	4	29,26	1,21	7	36,63	9,94	0,073*
MV E/A	4	1,39	0,29	7	1,41	0,24	ns
MV E/E'	4	-24,75	4,57	7	-36,54	7,49	0,01
MV PHT (simpl)	4	7,53	0,31	7	6,30	1,28	0,046
IVCT/IVRT	4	0,84	0,19	7	0,95	0,35	ns
HR (PW)	4	403	62	7	459	43	0,073*
HR (TD)	4	418	48	7	462	41	0,042*
RR interval	4	0,14	0,02	7	0,13	0,01	0,042*
AET (corrected)	4	142	6	7	134	12	ns
RV PAT	3	23,47	5,84	5	22,64	3,13	ns

Ultraschallergebnisse, Tag 21, 12 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
RV PET	3	69,79	1,08	5	59,67	3,50	0,002
PV PeakVel	3	-597	77	5	-872	191	0,031
PV VTI	3	27,59	3,59	5	31,14	6,08	ns
PV MeanVel	3	-415	64	5	-571	122	0,057
PV MeanGrad	3	0,70	0,21	5	1,35	0,61	0,077
PV PeakVel	3	-597	77	5	-867	194	0,035
PV PeakGrad	3	1,44	0,36	5	3,13	1,47	0,036*
MPAP (common)	3	68,44	2,63	5	68,81	1,41	ns
MPAP (PAT &lt; 120 ms)	3	75,45	3,62	5	75,96	1,94	ns
PAT/PET	3	0,34	0,09	5	0,38	0,07	ns
PV Peak Pressure	3	1,44	0,36	5	3,16	1,47	0,036*
L-B-Ao Sinus	4	1,56	0,08	6	1,62	0,16	ns
L-B-ENDOmajr;d	4	7,68	0,25	7	7,96	0,53	ns
L-B-ENDOmajr;s	4	7,15	0,13	7	7,08	0,55	ns
L-B-EPImajr;d	4	8,13	0,22	7	8,52	0,51	ns
L-B-EPImajr;s	4	7,57	0,11	7	7,70	0,56	ns
L-B-LVAW;d	4	0,93	0,09	7	1,13	0,17	0,039
L-B-LVAW;s	4	1,25	0,05	7	1,66	0,15	< 0,001
L-B-LV T-HF	4	375	77	7	457	33	ns
L-B-LV T-Area	4	20,09	6,26	7	18,37	5,79	ns
L-B-LV T-AreaS	4	14,63	2,71	7	13,41	3,66	ns
L-B-LV T-AreaD	4	22,35	3,11	7	22,58	2,92	ns
L-B-LV T-Vol	4	48,76	24,31	7	42,77	21,89	ns
L-B-LVID;d	4	3,79	0,21	7	3,77	0,24	ns
L-B-LVID;s	4	2,60	0,52	7	2,57	0,40	ns
L-B-LVPW;d	4	0,79	0,13	7	1,04	0,16	0,028
L-B-LVPW;s	4	1,13	0,17	7	1,53	0,13	0,002
L-B-LV T-Area;d	4	22,35	3,11	7	22,58	2,92	ns
L-B-LV T-Area;s	4	14,63	2,71	7	13,41	3,66	ns

Ultraschallergebnisse, Tag 21, 12 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
L-B-LV T-CO	4	10,78	2,04	7	15,00	3,01	0,023
L-B-EF	4	59,49	14,44	7	59,51	13,94	ns
L-B-LV T-EF	4	52,49	10,80	7	59,53	11,22	ns
L-B-Endol FS	4	6,86	2,62	7	10,91	5,23	ns
L-B-LV T-FS	4	6,86	2,63	7	10,92	5,48	ns
L-B-FS;diam	4	31,77	9,99	7	31,80	9,51	ns
L-B-Mass	4	119	10	7	166	34	0,01
L-B-Mass Cor	4	95,13	8,10	7	133	27	0,01
L-B-Vol;d	4	61,84	8,04	7	61,12	9,08	ns
L-B-Vol;s	4	25,91	12,27	7	24,79	9,86	ns
L-B-LV T-SV	4	29,94	8,86	7	33,00	7,31	ns
L-B-LV T-V;d	4	56,90	13,45	7	56,55	12,25	ns
L-B-LV T-V;s	4	26,97	9,05	7	23,55	10,91	ns
L-B-HR	4	375	77	7	457	323	ns
L-B-RR interval	4	0,16	0,03	7	0,13	0,01	ns
L-B-AET (corrected)	4	135	17	7	133	11	ns
L-B-Vcf	4	5,84	1,64	7	6,69	2,04	ns
L-B-Vcf cor	4	2,33	0,59	7	2,42	0,73	ns
L-M-LVAW;d	4	0,93	0,07	7	1,16	0,17	0,012
L-M-LVAW;s	4	1,29	0,10	7	1,69	0,12	< 0,001
L-M-LV T-HF	4	377	75	7	458	35	0,12
L-M-LV T-LVAWs	4	1,28	0,10	7	1,68	0,12	0,001
L-M-LV T-LVAWd	4	0,93	0,07	7	1,15	0,16	0,013
L-M-LV T-LVPWs	4	1,15	0,23	7	1,55	0,12	0,031
L-M-LV T-LVPWd	4	0,79	0,14	7	1,06	0,16	0,024
L-M-LVID;d	4	3,81	0,12	7	3,72	0,19	ns
L-M-LVID;s	4	2,55	0,42	7	2,36	0,41	ns
L-M-LVPW;d	4	0,80	0,16	7	1,06	0,17	0,03
L-M-LVPW;s	4	1,16	0,22	7	1,55	0,12	0,029
L-M-LV T-CO	4	14,29	4,26	7	17,63	4,25	ns

Ultraschallergebnisse, Tag 21, 12 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
L-M-LV T-DiaD	4	3,80	0,14	7	3,71	0,19	ns
L-M-LV T-DiamS	4	2,56	0,42	7	2,38	0,41	ns
L-M-EF	4	61,74	12,51	7	66,03	13,88	ns
L-M-LV T-EF	4	61,18	12,36	7	65,42	13,78	ns
L-M-FS	4	33,21	8,88	7	36,64	10,09	ns
L-M-LV T-FS	4	32,79	8,71	7	36,13	9,85	ns
L-M-Mass	4	120	12	7	169	36	0,01
L-M-Mass Cor	4	96	9,29	7	136	29	0,01
L-M-LV T-Mass	4	119	10,5	7	167	35	0,01
L-M-LV T-MassCor	4	95,46	8,40	7	134	28	0,01
L-M-Vol;d	4	62,26	4,72	7	59,17	7,15	ns
L-M-Vol;s	4	24,24	9,51	7	20,21	8,80	ns
L-M-LV T-SV	4	37,41	4,44	7	38,38	8,97	ns
L-M-LV T-VolD	4	61,95	5,39	7	58,91	7,22	ns
L-M-LV T-VolS	4	24,54	9,71	7	20,53	8,78	ns
L-M-HR	4	377	75	7	458	35	0,12
L-M-RR interval	4	0,16	0,03	7	0,13	0,01	0,1
L-M-ET (corrected)	4	135	16	7	133	11	ns
L-M-Vcf	4	6,12	1,48	7	7,71	2,35	ns
L-M-LV T-Vcf	4	6,05	1,46	7	7,62	2,36	ns
L-M-Vcf cor	4	2,44	0,47	7	2,78	0,80	ns
L-M-LV T-Vcf cor	4	2,41	0,48	7	2,74	0,80	ns
S-B-ENDOarea;d	4	10,88	1,50	7	12,25	1,75	ns
S-B-ENDOarea;s	4	6,12	2,41	7	5,19	2,25	ns
S-B-EPIarea;d	4	24,29	1,42	7	30,27	4,85	0,017
S-B-EPIarea;s	4	21,85	2,42	7	26,79	5,03	0,056
S-B-LVAW;d	4	0,89	0,05	7	1,13	0,14	0,005
S-B-LVAW;s	4	1,27	0,13	7	1,70	0,17	0,002
S-B-LV T-HF	4	362	42	7	460	42	0,005
S-B-LV T-Area	4	7,25	1,95	7	9,60	4,65	ns

Ultraschallergebnisse, Tag 21, 12 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
S-B-LV T-FS	4	45,03	15,43	7	57,86	14,64	ns
S-B-LVID;d	4	3,78	0,15	7	3,82	0,23	ns
S-B-LVID;s	4	2,68	0,38	7	2,49	0,55	ns
S-B-LVPW;d	4	0,80	0,13	7	1,02	0,16	0,042*
S-B-LVPW;s	4	1,16	0,15	7	1,55	0,13	0,001
S-B-duEPIradius;d	4	2,78	0,08	7	3,10	0,25	0,017
S-B-LV T-AreaD	4	10,57	1,51	7	11,90	1,70	ns
S-B-LV T-AreaS	4	5,96	2,39	7	5,13	2,25	ns
S-B-duENDOradius;d	4	1,86	0,13	7	1,97	0,14	ns
S-B-EndoAreaChange	4	4,76	1,13	7	7,06	1,46	0,024
S-B-Endo-CO	4	12,11	2,64	7	22,72	4,15	0,001
S-B-Endo-EF	4	49,09	13,17	7	62,56	14,13	ns
S-B-Endo-FAC	4	45,15	15,05	7	58,57	13,94	ns
S-B-Endo-FS	4	6,86	2,62	7	10,91	5,23	ns
S-B-Endo-SV	4	33,29	5,83	7	49,81	9,33	0,011
S-B-Endo-Vd	4	69,80	11,55	7	81,13	12,02	ns
S-B-Endo-Vs	4	36,50	14,52	7	31,31	15,91	ns
S-B-LV T-FAC	4	45,03	15,43	7	57,86	14,64	ns
S-B-Mass;d	4	119	9,41	7	171	34	0,007
S-B-duWanddicke;d	4	0,92	0,09	7	1,12	0,14	0,018
S-B-Vol;d	4	61,44	5,64	7	63,05	9,16	ns
S-B-Vol;s	4	27,17	9,26	7	23,76	13,30	ns
S-B-EF	4	56,55	11,26	7	62,22	19,70	ns
S-B-FS	4	29,44	7,46	7	34,68	13,93	ns
S-B-HR	4	362	42	7	460	42	0,005
S-B-RR interval	4	0,17	0,02	7	0,13	0,01	0,005
S-B-AET (corrected)	4	133	13	7	133	11	ns
S-B-Vcf	4	5,44	1,29	7	7,33	2,91	ns
S-B-Vcf cor	4	2,20	0,42	7	2,62	1,01	ns
pLFA EDV	4	26,81	8,11	7	24,73	10,93	ns

Ultraschallergebnisse, Tag 21, 12 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
	n	Mittelwert	SD	n	Mittelwert	SD	
pLFA PSV	4	69,39	21,58	7	97,07	26,36	0,042*
pLFA VTI	4	6,79	1,59	7	6,37	2,04	ns
pLFA meanVel	4	43,24	12,48	7	55,18	17,14	ns
pLFA MeanGrad	4	0,01	0,00	7	0,01	0,01	ns
pLFA PeakVel	4	69,34	21,71	7	97,68	26,09	0,042*
pLFA PeakGrad	4	0,02	0,01	7	0,04	0,02	0,042*
pLFA PI	4	0,97	0,18	7	1,33	0,15	0,005
pLFA RI	4	0,61	0,06	7	0,75	0,05	0,002
nLFA EDV	4	-22,01	4,92	7	-33,25	28,93	ns
nLFA PSV	4	-57,33	16,57	7	-115	76	0,012*
nLFA VTI	4	5,69	1,44	7	7,87	5,38	ns
nLFA meanVel	4	-36,40	9,81	7	-67,87	47,70	0,042*
nLFA MeanGrad	4	0,01	0,00	7	0,03	0,04	0,042*
nLFA PeakVel	4	-57,74	16,84	7	-115	75	0,012*
nLFA PeakGrad	4	0,01	0,01	7	0,07	0,11	0,012*
nLFA PI	4	0,95	0,13	7	1,26	0,11	0,003
nLFA RI	4	0,60	0,06	7	0,73	0,04	0,003

\* Mit M-W-Test

## 1.2.2. 18 Monate alte Mäuse

### 1.2.2.1. Tag 0

Ultraschallergebnisse, Tag 0, 18 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
	n	Mittelwert	SD	n	Mittelwert	SD	
Aorten Bewegung (AA DiamS/AADiamD)	2	1,22	0,01	2	1,18	0,00	0,031
AA Diam D	2	0,90	0,10	4	1,18	0,25	ns
AA Diam S	2	1,10	0,11	4	1,34	0,23	ns
Ao-AAT	7	13,02	4,16	12	11,93	2,03	ns
AET	7	50,96	4,30	12	48,07	5,11	ns

Ultraschallergebnisse, Tag 0, 18 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
AI PHT-Acc	7	101498	37859	12	118907	29029	ns
AI PHT-Time	7	13,41	4,01	12	12,22	2,04	ns
AoV VTI	7	40,16	6,73	12	44,17	8,60	ns
AoV MeanVel	7	843	153	12	992	153	0,057
AoV MeanGrad	7	2,92	1,04	12	4,02	1,17	0,056
AoV PeakVel	7	1236	214	12	1402	244	ns
AoV PeakGrad	7	6,27	2,09	12	8,08	2,66	ns
AV Peak Vel	7	1237	211	12	1405	239	ns
AAT/AET	7	0,25	0,07	12	0,25	0,05	ns
AV PeakPres	7	6,27	2,06	12	8,10	2,61	ns
MV-A'	9	-21,92	4,48	11	-28,15	6,60	0,027
MV-AET	9	49,90	5,64	13	44,37	4,33	0,009*
MV-E'	9	-23,11	6,76	13	-22,28	8,70	ns
TD-AET	9	53,19	6,50	13	48,30	5,00	0,051*
IVCT-TD	9	12,53	3,05	13	15,14	4,74	ns
IVCT	9	14,26	3,77	13	13,36	3,99	ns
IVRT-TD	9	17,10	4,53	13	14,65	3,01	ns
IVRT	9	16,03	3,47	13	15,14	3,42	ns
MV A	9	506	92	11	493	74	ns
MV DecelAcc	9	-27475	8964	13	-33694	6170	0,036*
MV Decel-Time	9	26,89	6,51	13	20,80	3,84	0,011*
MV E	9	691	75	13	676	51	ns
MV ET	9	64,03	13,13	13	53,89	9,55	0,068
MV Acc	9	44184	7467	13	48673	8930	ns
MV AccTime	9	15,90	2,07	13	14,32	2,47	ns
MV VTI	9	23,52	2,72	13	20,10	2,72	0,009
MV MeanVel	9	417	78	13	417	55	ns
MV MeanGrad	9	0,72	0,27	13	0,71	0,19	ns
MV PeakVel	9	683	76	13	673	53	ns
MV PeakGrad	9	1,89	0,43	13	1,82	0,28	ns

Ultraschallergebnisse, Tag 0, 18 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
MV NFT	9	76,05	7,28	13	73,72	8,08	ns
S WAVE	9	24,28	5,18	13	25,77	4,85	ns
A/E'	9	1,01	0,33	11	1,75	1,33	0,02*
E/A'	9	1,08	0,32	11	0,74	0,28	0,02
LV MPI IV	9	0,53	0,08	13	0,66	0,13	0,008
LV MPI NFT	9	0,53	0,08	13	0,66	0,13	0,008
MV Area	9	14,03	1,73	13	15,76	2,58	0,075
MV Area (simpl)	9	30,01	8,80	13	37,72	7,38	0,038
MV E/A	9	1,40	0,30	11	1,38	0,17	ns
MV E/E'	9	-32,82	12,76	13	-36,92	21,55	ns
MV PHT (simpl)	9	7,80	1,89	13	6,03	1,11	0,011*
IVCT/IVRT	9	0,94	0,36	13	0,89	0,20	ns
HR (PW)	9	445	57	13	473	36	ns
HR (TD)	9	432	56	13	473	36	0,051*
RR interval	9	0,14	0,02	13	0,13	0,01	0,051*
AET (corrected)	9	133	11	13	124	9	0,037
RV PAT	5	17,71	2,39	8	18,97	1,75	ns
RV PET	5	57,78	5,75	8	56,13	5,67	ns
PV PeakVel	5	-767	121	8	-702	65	ns
PV VTI	5	27,34	2,69	8	25,87	3,28	ns
PV MeanVel	5	-511,61	65,25	8	-483	40	ns
PV MeanGrad	5	1,06	0,26	8	0,94	0,15	ns
PV PeakVel	5	-761	123	8	-697	61	ns
PV PeakGrad	5	2,37	0,76	8	1,96	0,34	ns
MPAP (common)	5	71,03	1,08	8	70,46	0,79	ns
MPAP (PAT < 120 ms)	5	79,02	1,48	8	78,24	1,08	ns
PAT/PET	5	0,31	0,04	8	0,34	0,05	ns
PV Peak Pressure	5	2,40	0,76	8	1,99	0,37	ns
L-B-Ao Sinus	9	1,58	0,11	13	1,60	0,12	ns

Ultraschallergebnisse, Tag 0, 18 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
L-B-ENDOmajr;d	9	7,74	0,46	13	7,80	0,35	ns
L-B-ENDOmajr;s	9	6,75	0,55	13	6,70	0,30	ns
L-B-EPImajr;d	9	8,18	0,45	13	8,25	0,34	ns
L-B-EPImajr;s	9	7,24	0,54	13	7,22	0,31	ns
L-B-LVAW;d	9	0,86	0,14	13	0,96	0,11	0,091
L-B-LVAW;s	9	1,24	0,18	13	1,35	0,11	ns
L-B-LV T-HF	9	460	50	13	463	39	ns
L-B-LV T-Area	9	17,71	4,22	13	16,29	5,41	ns
L-B-LV T-AreaS	9	13,39	2,09	13	13,62	1,54	ns
L-B-LV T-AreaD	9	21,24	2,96	13	22,37	2,13	ns
L-B-LV T-Vol	9	38,87	14,65	13	35,01	20,91	ns
L-B-LVID;d	9	3,58	0,35	13	3,86	0,35	0,081
L-B-LVID;s	9	2,45	0,25	13	2,58	0,26	ns
L-B-LVPW;d	9	0,74	0,11	13	0,89	0,09	0,001
L-B-LVPW;s	9	1,16	0,21	13	1,25	0,09	ns
L-B-LV T-Area;d	9	21,24	2,96	13	22,37	2,13	ns
L-B-LV T-Area;s	9	13,39	2,09	13	13,62	1,54	ns
L-B-LV T-CO	9	12,46	4,57	13	14,41	3,19	ns
L-B-EF	9	59,14	11,36	13	62,04	7,10	ns
L-B-LV T-EF	9	51,92	9,38	13	55,96	7,94	ns
L-B-Endol FS	9	12,82	3,83	13	14,00	3,35	ns
L-B-LV T-FS	9	13,14	3,44	13	13,93	3,27	ns
L-B-FS;diam	9	31,20	7,94	13	33,12	5,32	ns
L-B-Mass	9	98,03	16,14	13	137	24	< 0,001
L-B-Mass Cor	9	78,43	12,92	13	110	19	< 0,001
L-B-Vol;d	9	54,51	12,63	13	65,17	14,45	0,089
L-B-Vol;s	9	21,58	5,37	13	24,49	6,61	ns
L-B-LV T-SV	9	27,09	9,64	13	31,32	7,30	ns
L-B-LV T-V;d	9	51,08	11,79	13	55,58	8,99	ns
L-B-LV T-V;s	9	23,99	5,27	13	24,26	4,93	ns

Ultraschallergebnisse, Tag 0, 18 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
L-B-HR	9	460	50	13	428	131	ns
L-B-RR interval	9	0,13	0,01	13	0,48	1,27	ns
L-B-AET (corrected)	9	138	13	13	115	29	0,002*
L-B-Vcf	9	6,36	1,84	13	7,47	1,31	ns
L-B-Vcf cor	9	2,29	0,62	13	3,56	3,03	0,043*
L-M-LVAW;d	9	0,85	0,14	13	0,94	0,09	0,089
L-M-LVAW;s	9	1,23	0,15	13	1,32	0,13	ns
L-M-LV T-HF	9	455	57	13	466	40	ns
L-M-LV T-LVAWs	9	1,22	0,15	13	1,33	0,13	0,098
L-M-LV T-LVAWd	9	0,86	0,15	13	0,95	0,09	ns
L-M-LV T-LVPWs	9	1,11	0,19	13	1,27	0,10	0,04
L-M-LV T-LVPWd	9	0,75	0,13	13	0,89	0,09	0,014
L-M-LVID;d	9	3,60	0,28	13	3,86	0,33	0,064
L-M-LVID;s	9	2,37	0,23	13	2,53	0,31	ns
L-M-LVPW;d	9	0,73	0,11	13	0,89	0,09	0,002
L-M-LVPW;s	9	1,11	0,19	13	1,26	0,10	0,059
L-M-LV T-CO	9	15,45	4,81	13	19,25	3,75	0,043*
L-M-LV T-DiaD	9	3,56	0,31	13	3,86	0,33	0,047
L-M-LV T-DiamS	9	2,37	0,23	13	2,52	0,32	ns
L-M-EF	9	63,20	8,39	13	63,83	8,36	ns
L-M-LV T-EF	9	62,51	8,17	13	64,39	7,31	ns
L-M-FS	9	33,87	6,28	13	34,50	6,11	ns
L-M-LV T-FS	9	33,30	6,11	13	34,83	5,16	ns
L-M-Mass	9	97,37	17,62	13	135	24	< 0,001
L-M-Mass Cor	9	77,90	14,10	13	108	20	< 0,001
L-M-LV T-Mass	9	98,11	18,25	13	136	24	0,001
L-M-LV T-MassCor	9	78,49	14,60	13	109	19	0,001
L-M-Vol;d	9	54,78	10,34	13	65,04	13,28	0,067
L-M-Vol;s	9	19,87	4,64	13	23,51	7,65	ns
L-M-LV T-SV	9	33,88	9,75	13	41,60	8,70	0,066

Ultraschallergebnisse, Tag 0, 18 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
L-M-LV T-VolD	9	53,72	10,98	13	64,91	13,24	0,05
L-M-LV T-VolS	9	19,83	4,72	13	23,31	7,81	ns
L-M-HR	9	455	57	13	466	40	ns
L-M-RR interval	9	0,13	0,02	13	0,13	0,01	ns
L-M-ET (corrected)	9	137	12	13	123	9	0,006
L-M-Vcf	9	6,90	1,65	13	7,84	1,52	ns
L-M-LV T-Vcf	9	6,78	1,59	13	7,96	1,60	ns
L-M-Vcf cor	9	2,49	0,50	13	2,81	0,51	ns
L-M-LV T-Vcf cor	9	2,45	0,49	13	2,85	0,50	0,077
S-B-ENDOarea;d	9	10,39	1,11	13	11,50	1,67	0,077
S-B-ENDOarea;s	9	4,76	1,15	13	5,12	1,22	ns
S-B-EPIarea;d	9	21,20	1,84	13	25,29	2,32	< 0,001
S-B-EPIarea;s	9	17,96	1,82	13	21,16	1,54	< 0,001*
S-B-LVAW;d	9	0,85	0,12	13	0,96	0,10	0,017*
S-B-LVAW;s	9	1,22	0,18	13	1,35	0,11	0,078
S-B-LV T-HF	9	454	60	13	472	43	ns
S-B-LV T-Area	9	6,97	3,22	13	9,21	2,64	0,11
S-B-LV T-FS	9	53,32	8,50	13	55,17	5,52	ns
S-B-LVID;d	9	3,69	0,28	13	3,86	0,28	ns
S-B-LVID;s	9	2,49	0,24	13	2,54	0,24	ns
S-B-LVPW;d	9	0,72	0,10	13	0,89	0,07	< 0,001*
S-B-LVPW;s	9	1,12	0,17	13	1,26	0,08	0,043*
S-B-duEPIradius;d	9	2,60	0,11	13	2,83	0,13	< 0,001
S-B-LV T-AreaD	9	10,13	1,11	13	11,18	1,56	0,081
S-B-LV T-AreaS	9	4,75	1,07	13	5,04	1,16	ns
S-B-duENDOradius;d	9	1,82	0,10	13	1,91	0,13	0,078
S-B-EndoAreaChange	9	5,63	1,03	13	6,38	0,85	0,076
S-B-Endo-CO	9	18,65	4,36	13	21,26	2,92	ns
S-B-Endo-EF	9	60,13	8,77	13	61,92	5,39	ns
S-B-Endo-FAC	9	54,39	9,19	13	55,79	5,46	ns

Ultraschallergebnisse, Tag 0, 18 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
S-B-Endo-FS	9	12,82	3,83	13	14,00	3,35	ns
S-B-Endo-SV	9	40,36	8,03	13	46,23	7,74	ns
S-B-Endo-Vd	9	67,18	9,81	13	74,93	12,93	ns
S-B-Endo-Vs	9	26,82	6,94	13	28,69	7,44	ns
S-B-LV T-FAC	9	53,32	8,50	13	55,17	5,52	ns
S-B-Mass;d	9	96,05	15,10	13	125	14	< 0,001
S-B-duWanddicke;d	9	0,78	0,10	13	0,93	0,07	0,002
S-B-Vol;d	9	58,26	10,24	13	64,71	11,14	ns
S-B-Vol;s	9	22,48	5,42	13	23,59	5,66	ns
S-B-EF	9	61,10	8,12	13	63,35	6,52	ns
S-B-FS	9	32,37	5,80	13	34,02	4,93	ns
S-B-HR	9	454	60	13	472	43	ns
S-B-RR interval	9	0,13	0,02	13	0,13	0,01	ns
S-B-AET (corrected)	9	136	12	13	124	9	0,007*
S-B-Vcf	9	6,56	1,36	13	7,73	1,22	0,048
S-B-Vcf cor	9	2,38	0,43	13	2,75	0,39	0,049
pLFA EDV	9	25,04	7,43	13	26,16	4,52	ns
pLFA PSV	9	68,08	18,81	13	77,12	12,18	ns
pLFA VTI	9	5,81	1,84	13	5,99	0,75	ns
pLFA meanVel	9	43,82	13,07	13	47,69	7,23	ns
pLFA MeanGrad	9	0,01	0,01	13	0,01	0,00	ns
pLFA PeakVel	9	67,81	18,73	13	76,90	12,31	ns
pLFA PeakGrad	9	0,02	0,01	13	0,02	0,01	ns
pLFA PI	9	0,99	0,12	13	1,07	0,12	ns
pLFA RI	9	0,63	0,04	13	0,66	0,05	ns
nLFA EDV	10	-21,54	6,98	13	-23,25	5,04	ns
nLFA PSV	10	-62,84	14,48	13	-68,51	15,27	ns
nLFA VTI	10	5,14	1,27	13	5,33	1,10	ns
nLFA meanVel	10	-39,50	9,71	13	-42,23	9,82	ns
nLFA MeanGrad	10	0,01	0,00	13	0,01	0,00	ns

Ultraschallergebnisse, Tag 0, 18 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
nLFA PeakVel	10	-62,98	14,41	13	-67,41	15,59	ns
nLFA PeakGrad	10	0,02	0,01	13	0,02	0,01	ns
nLFA PI	10	1,07	0,25	13	1,07	0,11	ns
nLFA RI	10	0,66	0,09	13	0,66	0,04	ns

\* Mit M-W-Test

### 1.2.2.2. Tag 10

Ultraschallergebnisse, Tag 10, 18 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
	n	Mittelwert	SD	n	Mittelwert	SD	
Aorten Bewegung (AA DiamS/AADiamD)	1	1,09		3	1,10	0,04	ns
AA Diam D	1	0,88		4	1,22	0,31	ns
AA Diam S	1	0,95		4	1,32	0,34	ns
Ao-AAT	2	12,36	2,16	4	11,94	3,31	ns
AET	2	50,83	0,39	4	51,11	6,92	ns
AI PHT-Acc	2	122017	44555	4	111650	37204	ns
AI PHT-Time	2	12,50	1,96	4	12,01	3,40	ns
AoV VTI	2	50,11	10,58	4	41,28	9,28	ns
AoV MeanVel	2	1042	208	4	859	188	ns
AoV MeanGrad	2	4,43	1,74	4	3,06	1,30	ns
AoV PeakVel	2	1475	313	4	1259	264	ns
AoV PeakGrad	2	8,89	3,69	4	6,55	2,63	ns
AV Peak Vel	2	1481	323	4	1260	272	ns
AAT/AET	2	0,24	0,04	4	0,23	0,05	ns
AV PeakPres	2	8,99	3,83	4	6,57	2,71	ns
MV-A'	2	-26,76	1,12	4	-15,90	11,52	ns
MV-AET	3	48,61	7,84	4	48,25	5,92	ns
MV-E'	3	-27,07	10,16	4	-21,25	10,80	ns
TD-AET	3	52,99	8,89	4	52,24	3,70	ns

Ultraschallergebnisse, Tag 10, 18 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
IVCT-TD	3	13,16	2,18	4	20,38	5,17	0,062
IVCT	3	12,31	3,54	4	16,42	4,17	ns
IVRT-TD	3	15,47	5,23	4	20,09	3,36	ns
IVRT	3	17,44	6,46	4	16,30	0,42	ns
MV A	2	530	123	4	338	168	ns
MV DecelAcc	3	-50823	17935	4	-35065	11158	ns
MV Decel-Time	3	15,19	6,59	4	22,46	3,99	ns
MV E	3	686	135	4	732	117	ns
MV ET	3	51,48	7,06	4	51,00	10,43	ns
MV Acc	3	55961	8897	4	53426	12037	ns
MV AccTime	3	12,48	2,69	4	13,91	1,07	ns
MV VTI	3	17,52	3,16	4	18,44	2,18	ns
MV MeanVel	3	392,93	55,60	4	427,15	83,98	ns
MV MeanGrad	3	0,63	0,17	4	0,75	0,28	ns
MV PeakVel	3	686	134	4	725	119	ns
MV PeakGrad	3	1,93	0,77	4	2,14	0,68	ns
MV NFT	3	76,57	14,15	4	83,60	5,42	ns
S WAVE	3	20,48	3,10	4	22,56	3,23	ns
A/E'	2	1,27	0,22	4	1,08	0,95	ns
E'/A'	2	0,80	0,14	4	2,69	3,10	ns
LV MPI IV	3	0,57	0,05	4	0,75	0,16	ns
LV MPI NFT	3	0,57	0,05	4	0,75	0,16	ns
MV Area	3	18,28	4,50	4	15,89	1,26	ns
MV Area (simpl)	3	56,84	24,49	4	34,50	5,31	ns
MV E/A	2	1,17	0,18	4	3,09	2,52	ns
MV E/E'	3	-26,86	7,48	4	-41,15	18,56	ns
MV PHT (simpl)	3	4,40	1,91	4	6,51	1,16	ns
IVCT/IVRT	3	0,76	0,26	4	1,01	0,26	ns
HR (PW)	3	466	35	4	450	41	ns
HR (TD)	3	470	30	4	448	44	ns

Ultraschallergebnisse, Tag 10, 18 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
RR interval	3	0,13	0,01	4	0,13	0,01	ns
AET (corrected)	3	136	18	4	131	12	ns
RV PAT	3	17,20	2,81	3	19,81	1,60	ns
RV PET	3	63,03	12,29	3	60,56	2,47	ns
PV PeakVel	3	-689	116	3	-613	26	ns
PV VTI	3	26,55	8,66	3	24,45	3,51	ns
PV MeanVel	3	-449	65	3	-426	42	ns
PV MeanGrad	3	0,82	0,23	3	0,73	0,15	ns
PV PeakVel	3	-674	115	3	-604	25	ns
PV PeakGrad	3	1,85	0,60	3	1,46	0,12	ns
MPAP (common)	3	71,26	1,27	3	70,08	0,72	ns
MPAP (PAT &lt; 120 ms)	3	79,34	1,74	3	77,71	0,99	ns
PAT/PET	3	0,27	0,03	3	0,33	0,01	0,073
PV Peak Pressure	3	1,94	0,62	3	1,51	0,13	ns
L-B-Ao Sinus	3	1,78	0,04	4	1,94	0,28	ns
L-B-ENDOmajr;d	3	7,81	0,79	4	7,84	0,77	ns
L-B-ENDOmajr;s	3	6,78	0,67	4	7,28	0,84	ns
L-B-EPImajr;d	3	8,27	0,77	4	8,31	0,75	ns
L-B-EPImajr;s	3	7,30	0,67	4	7,80	0,81	ns
L-B-LVAW;d	3	0,89	0,02	4	1,01	0,10	ns
L-B-LVAW;s	3	1,14	0,08	4	1,28	0,07	0,054
L-B-LV T-HF	3	428	12	4	437	45	ns
L-B-LV T-Area	3	15,03	2,55	4	20,68	6,79	ns
L-B-LV T-AreaS	3	14,73	3,29	4	18,19	5,54	ns
L-B-LV T-AreaD	3	22,34	3,91	4	25,59	4,86	ns
L-B-LV T-Vol	3	30,04	7,71	4	50,21	26,06	ns
L-B-LVID;d	3	3,76	0,36	4	4,24	0,43	ns
L-B-LVID;s	3	2,80	0,15	4	3,04	0,67	ns
L-B-LVPW;d	3	0,85	0,05	4	0,96	0,08	0,072

Ultraschallergebnisse, Tag 10, 18 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
L-B-LVPW;s	3	1,12	0,09	4	1,23	0,19	ns
L-B-LV T-Area;d	3	22,34	3,91	4	25,59	4,86	ns
L-B-LV T-Area;s	3	14,73	3,29	4	18,19	5,54	ns
L-B-LV T-CO	3	12,04	2,08	4	14,07	3,93	ns
L-B-EF	3	50,65	5,14	4	55,02	14,48	ns
L-B-LV T-EF	3	49,78	6,64	4	46,14	12,43	ns
L-B-Endol FS	3	13,18	0,25	4	7,02	6,30	ns
L-B-LV T-FS	3	13,16	0,17	4	7,13	5,95	ns
L-B-FS;diam	3	25,34	3,33	4	28,81	8,70	ns
L-B-Mass	3	119	13	4	173	38	0,057
L-B-Mass Cor	3	95	11	4	138	30	0,057
L-B-Vol;d	3	60,87	13,48	4	81,28	19,74	ns
L-B-Vol;s	3	29,57	3,83	4	38,36	22,25	ns
L-B-LV T-SV	3	28,21	5,63	4	32,36	8,92	ns
L-B-LV T-V;d	3	57,60	14,50	4	72,43	21,14	ns
L-B-LV T-V;s	3	29,39	10,39	4	40,07	19,81	ns
L-B-HR	3	428	12	4	437,24	45	ns
L-B-RR interval	3	0,14	0,00	4	0,14	0,01	ns
L-B-AET (corrected)	3	130	19	4	130	11	ns
L-B-Vcf	3	5,24	0,45	4	6,09	2,12	ns
L-B-Vcf cor	3	1,96	0,16	4	2,24	0,71	ns
L-M-LVAW;d	3	0,86	0,03	4	1,05	0,11	0,042
L-M-LVAW;s	3	1,22	0,07	4	1,28	0,08	ns
L-M-LV T-HF	3	428	15	4	441	49	ns
L-M-LV T-LVAWs	3	1,22	0,07	4	1,29	0,08	ns
L-M-LV T-LVAWd	3	0,87	0,03	4	1,05	0,11	0,042
L-M-LV T-LWPWs	3	1,11	0,09	4	1,25	0,19	ns
L-M-LV T-LVPWd	3	0,85	0,02	4	0,93	0,06	0,058
L-M-LVID;d	3	3,82	0,34	4	4,28	0,41	ns
L-M-LVID;s	3	2,64	0,21	4	3,03	0,61	ns

Ultraschallergebnisse, Tag 10, 18 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
L-M-LVPW;d	3	0,85	0,02	4	0,93	0,06	0,072
L-M-LVPW;s	3	1,11	0,08	4	1,25	0,19	ns
L-M-LV T-CO	3	15,64	3,41	4	19,59	5,09	ns
L-M-LV T-DiaD	3	3,80	0,34	4	4,26	0,40	ns
L-M-LV T-DiamS	3	2,65	0,19	4	3,03	0,60	ns
L-M-EF	3	59,23	0,89	4	55,84	14,27	ns
L-M-LV T-EF	3	58,25	1,73	4	55,56	14,24	ns
L-M-FS	3	30,86	0,83	4	29,42	8,96	ns
L-M-LV T-FS	3	30,20	1,39	4	29,22	8,95	ns
L-M-Mass	3	120	13	4	177	41	0,061
L-M-Mass Cor	3	96	10	4	142	33	0,061
L-M-LV T-Mass	3	119	13	4	177	40	0,057
L-M-LV T-MassCor	3	95,52	10,09	4	141,91	32,04	0,057
L-M-Vol;d	3	63,27	13,06	4	82,79	18,48	ns
L-M-Vol;s	3	25,72	4,84	4	37,72	19,74	ns
L-M-LV T-SV	3	36,64	8,46	4	44,61	11,22	ns
L-M-LV T-VolD	3	62,65	12,90	4	82,27	18,17	ns
L-M-LV T-VolS	3	26,01	4,44	4	37,66	19,43	ns
L-M-HR	3	428	15	4	441	49	ns
L-M-RR interval	3	0,14	0,01	4	0,14	0,01	ns
L-M-ET (corrected)	3	130	19	4	130	11	ns
L-M-Vcf	3	6,45	0,92	4	6,16	1,87	ns
L-M-LV T-Vcf	3	6,30	0,78	4	6,11	1,84	ns
L-M-Vcf cor	3	2,41	0,30	4	2,26	0,64	ns
L-M-LV T-Vcf cor	3	2,35	0,25	4	2,25	0,64	ns
S-B-ENDOarea;d	3	11,78	2,72	4	14,33	2,90	ns
S-B-ENDOarea;s	3	6,08	1,87	4	7,53	3,26	ns
S-B-EPIarea;d	3	23,77	3,30	4	30,80	6,08	ns
S-B-EPIarea;s	3	19,76	4,04	4	25,65	5,44	ns
S-B-LVAW;d	3	0,83	0,04	4	0,99	0,09	0,03

Ultraschallergebnisse, Tag 10, 18 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
S-B-LVAW;s	3	1,17	0,02	4	1,28	0,09	0,082
S-B-LV T-HF	3	439	8	4	441	42	ns
S-B-LV T-Area	3	5,90	1,83	4	10,21	5,41	ns
S-B-LV T-FS	3	49,30	6,78	4	48,45	10,45	ns
S-B-LVID;d	3	3,77	0,31	4	4,22	0,42	ns
S-B-LVID;s	3	2,78	0,27	4	3,07	0,70	ns
S-B-LVPW;d	3	0,82	0,09	4	0,94	0,13	ns
S-B-LVPW;s	3	1,10	0,10	4	1,22	0,22	ns
S-B-duEPiradius;d	3	2,75	0,19	4	3,12	0,32	ns
S-B-LV T-AreaD	3	11,46	2,47	4	13,94	2,84	ns
S-B-LV T-AreaS	3	5,91	1,88	4	7,40	3,07	ns
S-B-duENDOradius;d	3	1,93	0,23	4	2,13	0,21	ns
S-B-EndoAreaChange	3	5,70	0,93	4	6,80	0,82	ns
S-B-Endo-CO	3	18,22	4,31	4	20,74	4,00	ns
S-B-Endo-EF	3	55,83	4,43	4	52,49	12,26	ns
S-B-Endo-FAC	3	49,11	5,24	4	49,06	11,42	ns
S-B-Endo-FS	3	13,18	0,25	4	7,02	6,30	ns
S-B-Endo-SV	3	42,81	11,21	4	47,66	8,90	ns
S-B-Endo-Vd	3	77,85	24,35	4	94,96	28,38	ns
S-B-Endo-Vs	3	35,04	13,33	4	47,30	26,64	ns
S-B-LV T-FAC	3	49,30	6,78	4	48,45	10,45	ns
S-B-Mass;d	3	109	15	4	154	43	ns
S-B-duWanddicke;d	3	0,82	0,04	4	0,99	0,14	0,086
S-B-Vol;d	3	61,03	11,52	4	80,34	19,09	ns
S-B-Vol;s	3	29,24	6,60	4	39,24	23,15	ns
S-B-EF	3	52,22	4,89	4	53,69	15,45	ns
S-B-FS	3	26,29	2,98	4	27,98	9,10	ns
S-B-HR	3	439	8	4	441	42	ns
S-B-RR interval	3	0,14	0,00	4	0,14	0,01	ns
S-B-AET (corrected)	3	131	21	4	130	11	ns

Ultraschallergebnisse, Tag 10, 18 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
	n	Mittelwert	SD	n	Mittelwert	SD	
S-B-Vcf	3	5,56	1,40	4	5,94	2,31	ns
S-B-Vcf cor	3	2,05	0,51	4	2,17	0,77	ns
pLFA EDV	3	37,66	29,68	4	33,62	20,76	ns
pLFA PSV	3	107	78	4	93	45	ns
pLFA VTI	3	8,74	6,32	4	7,67	3,78	ns
pLFA meanVel	3	67,74	51,00	4	57,81	30,43	ns
pLFA MeanGrad	3	0,03	0,03	4	0,02	0,02	ns
pLFA PeakVel	3	106	77	4	92	45	ns
pLFA PeakGrad	3	0,06	0,07	4	0,04	0,04	ns
pLFA PI	3	1,03	0,18	4	1,05	0,16	ns
pLFA RI	3	0,64	0,08	4	0,65	0,05	ns
nLFA EDV	3	-38,03	30,27	4	-35,61	9,64	ns
nLFA PSV	3	-109	80	4	-96	15	ns
nLFA VTI	3	8,95	6,82	4	8,03	1,12	ns
nLFA meanVel	3	-66,96	51,91	4	-60,86	12,23	ns
nLFA MeanGrad	3	0,03	0,03	4	0,02	0,01	ns
nLFA PeakVel	3	-109	81	4	-96	17	ns
nLFA PeakGrad	3	0,07	0,08	4	0,04	0,01	ns
nLFA PI	3	1,07	0,20	4	1,01	0,14	ns
nLFA RI	3	0,65	0,08	4	0,63	0,05	ns

\* Mit M-W-Test

### 1.2.2.3. Tag 21

Ultraschallergebnisse, Tag 21, 18 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
	n	Mittelwert	SD	n	Mittelwert	SD	
Aorten Bewegung (AA DiamS/AADiamD)	3	1,14	0,06	3	1,16	0,03	ns
AA Diam D	3	0,80	0,05	3	1,11	0,16	0,071
AA Diam S	3	0,91	0,08	3	1,28	0,17	0,046

Ultraschallergebnisse, Tag 21, 18 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
Ao-AAT	5	15,91	2,30	10	11,93	2,95	0,008*
AET	5	57,43	6,25	10	49,73	8,01	0,068
AI PHT-Acc	5	78311	17332	10	136680	34682	0,001
AI PHT-Time	5	16,13	2,50	10	12,28	3,20	0,013*
AoV VTI	5	45,55	12,82	10	52,28	8,75	ns
AoV MeanVel	5	859	273	10	1124	141	0,096
AoV MeanGrad	5	3,19	2,15	10	5,12	1,32	ns
AoV PeakVel	5	1246	384	10	1579	187	ns
AoV PeakGrad	5	6,69	4,40	10	10,10	2,43	ns
AV Peak Vel	5	1253	378	10	1586	190	ns
AAT/AET	5	0,28	0,05	10	0,24	0,06	ns
AV PeakPres	5	6,74	4,35	10	10,19	2,46	ns
MV-A'	5	-23,63	8,78	10	-23,22	12,16	ns
MV-AET	6	55,70	11,70	10	47,20	7,73	ns
MV-E'	6	-18,42	7,38	10	-20,11	9,64	ns
TD-AET	6	59,19	6,50	10	51,91	6,19	0,042
IVCT-TD	6	17,63	5,35	10	16,90	4,52	ns
IVCT	6	18,19	5,08	10	14,67	4,58	ns
IVRT-TD	6	19,48	6,55	10	20,68	5,40	ns
IVRT	6	21,46	3,42	10	18,85	3,75	ns
MV A	5	453	75	10	544	144	ns
MV DecelAcc	6	-35447	16675	10	-34840	15980	ns
MV Decel-Time	6	23,25	7,15	10	23,03	6,62	ns
MV E	6	736	160	10	710	119	ns
MV ET	6	61,41	8,60	10	52,96	14,34	ns
MV Acc	6	44674	20126	10	57588	18511	ns
MV AccTime	6	17,71	3,96	10	13,09	2,57	0,036
MV VTI	6	21,75	3,83	10	20,39	4,88	ns
MV MeanVel	6	413	51	10	438	97	ns
MV MeanGrad	6	0,69	0,17	10	0,80	0,33	ns

Ultraschallergebnisse, Tag 21, 18 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
MV PeakVel	6	739	164	10	703	115	ns
MV PeakGrad	6	2,28	1,03	10	2,03	0,65	ns
MV NFT	6	90,94	14,92	10	80,23	11,23	ns
S WAVE	6	22,84	6,26	10	23,87	4,95	ns
A'/E'	5	1,51	0,51	10	1,68	1,58	ns
E'/A'	5	0,73	0,26	10	1,23	0,98	ns
LV MPI IV	6	0,64	0,08	10	0,71	0,17	ns
LV MPI NFT	6	0,64	0,08	10	0,71	0,17	ns
MV Area	6	13,02	3,26	10	17,56	4,33	0,042*
MV Area (simpl)	6	36,81	17,14	10	36,77	15,42	ns
MV E/A	5	1,54	0,38	10	1,34	0,20	ns
MV E/E'	6	-44,31	15,86	10	-43,15	21,93	ns
MV PHT (simpl)	6	6,74	2,07	10	6,68	1,92	ns
IVCT/IVRT	6	0,84	0,16	10	0,79	0,21	ns
HR (PW)	6	392	50	10	454	58	0,046
HR (TD)	6	395	44	10	451	43	0,026
RR interval	6	0,15	0,02	10	0,13	0,01	0,053
AET (corrected)	6	141	21	10	128	17	ns
RV PAT	3	18,15	5,17	8	21,52	3,30	ns
RV PET	3	69,44	7,82	8	56,97	7,29	0,035
PV PeakVel	3	-732	157	8	-746	81	ns
PV VTI	3	30,51	6,22	8	27,41	5,38	ns
PV MeanVel	3	-471	59	8	-515	84	ns
PV MeanGrad	3	0,90	0,22	8	1,08	0,36	ns
PV PeakVel	3	-723	151	8	-737	81	ns
PV PeakGrad	3	2,17	0,88	8	2,20	0,48	ns
MPAP (common)	3	70,83	2,33	8	69,32	1,49	ns
MPAP (PAT < 120 ms)	3	78,75	3,21	8	76,66	2,05	ns
PAT/PET	3	0,26	0,08	8	0,38	0,07	0,034

Ultraschallergebnisse, Tag 21, 18 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
PV Peak Pressure	3	2,21	0,92	8	2,25	0,49	ns
L-B-Ao Sinus	6	1,70	0,16	10	1,90	0,10	0,016*
L-B-ENDOmajr;d	6	8,29	0,41	10	8,37	0,26	ns
L-B-ENDOmajr;s	6	7,48	0,27	10	7,46	0,26	ns
L-B-EPImajr;d	6	8,70	0,44	10	8,86	0,30	ns
L-B-EPImajr;s	6	7,91	0,24	10	8,06	0,31	ns
L-B-LVAW;d	6	1,01	0,19	10	1,07	0,10	ns
L-B-LVAW;s	6	1,22	0,20	10	1,39	0,12	0,1
L-B-LV T-HF	6	396	35	10	438	47	0,042*
L-B-LV T-Area	6	25,21	5,07	10	24,66	3,91	ns
L-B-LV T-AreaS	6	18,42	2,36	10	18,89	3,26	ns
L-B-LV T-AreaD	6	27,00	3,22	10	27,75	3,68	ns
L-B-LV T-Vol	6	72,28	28,63	10	66,10	18,33	ns
L-B-LVID;d	6	4,22	0,33	10	4,37	0,51	ns
L-B-LVID;s	6	3,26	0,30	10	3,20	0,55	ns
L-B-LVPW;d	6	0,96	0,13	10	1,01	0,08	ns
L-B-LVPW;s	6	1,20	0,15	10	1,39	0,09	0,022*
L-B-LV T-Area;d	6	27,00	3,22	10	27,75	3,68	ns
L-B-LV T-Area;s	6	18,42	2,36	10	18,89	3,26	ns
L-B-LV T-CO	6	15,04	5,05	10	16,48	5,19	ns
L-B-EF	6	46,10	5,78	10	51,92	12,48	ns
L-B-LV T-EF	6	47,39	10,39	10	46,99	11,07	ns
L-B-Endol FS	6	9,76	3,16	10	10,82	2,66	ns
L-B-LV T-FS	6	9,24	3,20	10	10,82	2,64	ns
L-B-FS;diam	6	22,83	3,29	10	26,95	8,45	ns
L-B-Mass	6	170	19	10	197	42	0,094
L-B-Mass Cor	6	136	15	10	158	33	ns
L-B-Vol;d	6	80,09	15,20	10	87,73	23,73	ns
L-B-Vol;s	6	43,26	9,63	10	42,63	14,94	ns
L-B-LV T-SV	6	38,38	14,30	10	37,70	11,98	ns

Ultraschallergebnisse, Tag 21, 18 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
L-B-LV T-V;d	6	80,09	21,05	10	80,54	19,55	ns
L-B-LV T-V;s	6	41,71	11,99	10	42,84	12,83	ns
L-B-HR	6	396	35	10	438	47	0,042*
L-B-RR interval	6	0,15	0,01	10	0,14	0,02	0,042*
L-B-AET (corrected)	6	143	28	10	127	17	ns
L-B-Vcf	6	4,22	0,95	10	6,13	3,32	ns
L-B-Vcf cor	6	1,64	0,37	10	2,24	1,11	ns
L-M-LVAW;d	6	0,96	0,16	10	1,06	0,10	ns
L-M-LVAW;s	6	1,23	0,20	10	1,39	0,12	ns
L-M-LV T-HF	6	372	85	10	439	45	ns
L-M-LV T-LVAWs	6	1,24	0,18	10	1,38	0,11	ns
L-M-LV T-LVAWd	6	0,97	0,17	10	1,06	0,11	ns
L-M-LV T-LVPWs	6	1,20	0,17	10	1,37	0,11	0,031*
L-M-LV T-LVPWd	6	0,94	0,10	10	1,02	0,08	0,086
L-M-LVID;d	6	4,27	0,26	10	4,37	0,48	ns
L-M-LVID;s	6	3,25	0,35	10	3,19	0,47	ns
L-M-LVPW;d	6	0,94	0,11	10	1,02	0,08	ns
L-M-LVPW;s	6	1,21	0,17	10	1,38	0,09	0,016*
L-M-LV T-CO	6	14,09	3,00	10	19,63	5,80	0,025
L-M-LV T-DiaD	6	4,28	0,28	10	4,36	0,49	ns
L-M-LV T-DiamS	6	3,28	0,37	10	3,20	0,47	ns
L-M-EF	6	47,93	6,71	10	52,37	9,90	ns
L-M-LV T-EF	6	47,05	6,72	10	51,90	9,65	ns
L-M-FS	6	23,98	3,94	10	27,01	6,49	ns
L-M-LV T-FS	6	23,44	3,87	10	26,68	6,27	ns
L-M-Mass	6	165	14	10	196	40	0,045
L-M-Mass Cor	6	132	12	10	157	32	0,045
L-M-LV T-Mass	6	166	12	10	196	40	0,046
L-M-LV T-MassCor	6	132	10	10	157	32	0,046
L-M-Vol;d	6	82,10	12,36	10	87,67	22,29	ns

Ultraschallergebnisse, Tag 21, 18 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
L-M-Vol;s	6	43,28	11,52	10	42,04	13,27	ns
L-M-LV T-SV	6	38,14	2,18	10	44,98	13,22	ns
L-M-LV T-VolD	6	82,45	12,98	10	87,32	22,85	ns
L-M-LV T-VolS	6	44,31	12,67	10	42,34	13,53	ns
L-M-HR	6	372	85	10	437	45	ns
L-M-RR interval	6	0,17	0,06	10	0,14	0,01	ns
L-M-ET (corrected)	6	135	8	10	127	17	ns
L-M-Vcf	6	4,48	1,23	10	6,08	2,73	ns
L-M-LV T-Vcf	6	4,40	1,24	10	6,01	2,65	ns
L-M-Vcf cor	6	1,79	0,36	10	2,23	0,91	ns
L-M-LV T-Vcf cor	6	1,75	0,36	10	2,20	0,88	ns
S-B-ENDOarea;d	6	14,66	2,11	10	14,45	3,02	ns
S-B-ENDOarea;s	6	8,70	1,42	10	7,87	2,63	ns
S-B-EPIarea;d	6	30,25	1,74	10	32,02	4,85	ns
S-B-EPIarea;s	6	25,12	2,58	10	27,89	4,56	ns
S-B-LVAW;d	6	1,01	0,20	10	1,06	0,09	ns
S-B-LVAW;s	6	1,22	0,20	10	1,39	0,12	ns
S-B-LV T-HF	6	376	90	10	454	54	0,056*
S-B-LV T-Area	6	9,42	2,73	10	9,72	3,80	0,056*
S-B-LV T-FS	6	41,06	9,63	10	46,93	9,03	ns
S-B-LVID;d	6	4,26	0,23	10	4,38	0,49	ns
S-B-LVID;s	6	3,28	0,27	10	3,18	0,53	ns
S-B-LVPW;d	6	0,94	0,13	10	0,99	0,07	ns
S-B-LVPW;s	6	1,20	0,15	10	1,40	0,09	0,007*
S-B-duEPIradius;d	6	3,10	0,09	10	3,18	0,25	ns
S-B-LV T-AreaD	6	14,30	1,96	10	14,02	2,90	ns
S-B-LV T-AreaS	6	8,38	1,37	10	7,64	2,53	ns
S-B-duENDOradius;d	6	2,16	0,15	10	2,13	0,24	ns
S-B-EndoAreaChange	6	5,96	1,96	10	6,58	0,91	ns
S-B-Endo-CO	6	18,76	6,55	10	22,46	2,91	ns

Ultraschallergebnisse, Tag 21, 18 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
S-B-Endo-EF	6	45,84	10,96	10	52,66	8,92	ns
S-B-Endo-FAC	6	40,16	10,46	10	47,03	9,16	ns
S-B-Endo-FS	6	9,76	3,16	10	10,82	2,66	ns
S-B-Endo-SV	6	47,37	16,42	10	51,71	8,17	ns
S-B-Endo-Vd	6	102	19	10	101	23	ns
S-B-Endo-Vs	6	54,40	10,22	10	49,30	17,59	ns
S-B-LV T-FAC	6	41,06	9,63	10	46,93	9,03	ns
S-B-Mass;d	6	148	21	10	173	28	0,074
S-B-duWanddicke;d	6	0,95	0,16	10	1,05	0,08	ns
S-B-Vol;d	6	81,66	10,72	10	88,15	22,71	ns
S-B-Vol;s	6	43,87	8,57	10	41,87	14,71	ns
S-B-EF	6	46,52	5,83	10	53,56	9,66	0,091
S-B-FS	6	23,11	3,40	10	27,76	6,43	0,08
S-B-HR	6	376	90	10	454	54	0,056*
S-B-RR interval	6	0,17	0,06	10	0,13	0,02	0,056*
S-B-AET (corrected)	6	136	9	10	129	16	ns
S-B-Vcf	6	4,26	0,93	10	6,27	2,82	0,061
S-B-Vcf cor	6	1,72	0,32	10	2,24	0,86	ns
pLFA EDV	6	43,42	21,67	10	32,13	14,61	ns
pLFA PSV	6	133	56	10	113	45	ns
pLFA VTI	6	11,60	6,16	10	8,01	3,26	ns
pLFA meanVel	6	79,62	35,66	10	66,41	27,68	ns
pLFA MeanGrad	6	0,03	0,03	10	0,02	0,02	ns
pLFA PeakVel	6	132	57	10	114	45	ns
pLFA PeakGrad	6	0,08	0,07	10	0,06	0,05	ns
pLFA PI	6	1,17	0,10	10	1,25	0,17	ns
pLFA RI	6	0,68	0,03	10	0,72	0,05	0,084
nLFA EDV	6	-30,37	20,11	10	-32,35	13,80	ns
nLFA PSV	6	-92	53	10	-111	42	ns
nLFA VTI	6	8,84	6,24	10	8,37	3,30	ns

Ultraschallergebnisse, Tag 21, 18 Monate alte Tiere							
Parameter	LPP-KO			Wildtyp			p
	n	Mittelwert	SD	n	Mittelwert	SD	
nLFA meanVel	6	-53,39	31,54	10	-64,90	24,22	ns
nLFA MeanGrad	6	0,01	0,02	10	0,02	0,01	ns
nLFA PeakVel	6	-91	52	10	-110	42	ns
nLFA PeakGrad	6	0,04	0,04	10	0,05	0,04	ns
nLFA PI	6	1,18	0,09	10	1,22	0,20	ns
nLFA RI	6	0,68	0,03	10	0,71	0,06	ns

\* Mit M-W-Test

### 1.2.3. 6 Monate alte Mäuse

#### 1.2.3.1. Tag 0

Ergebnisse, Tag 0, 6 Monate alte Tiere							
Parameter	Zyxin-KO			Wildtyp			p
	n	Mittelwert	SD	n	Mittelwert	SD	
Blutdruck systolisch	3	110	14	4	98	11	ns
Blutdruck diastolisch	3	79,74	9,34	4	69,14	9,83	ns
Ao-AAT	6	11,91	2,54	5	10,04	2,34	ns
AET	6	39,83	6,06	5	42,18	4,29	ns
AI PHT-Acc	6	130172	51982	5	151173	31944	ns
AI PHT-Time	6	12,08	2,38	5	10,15	2,23	ns
AoV VTI	6	42,46	20,09	5	42,66	9,22	ns
AoV MeanVel	6	1117	506	5	1061	132	ns
AoV MeanGrad	6	5,84	5,94	5	4,56	1,12	ns
AoV PeakVel	6	1526	636	5	1479	184	ns
AoV PeakGrad	6	10,67	9,89	5	8,86	2,12	ns
AV Peak Vel	6	1519	631	5	1485	185	ns
AAT/AET	6	0,30	0,04	5	0,24	0,04	0,033
AV PeakPres	6	10,56	9,78	5	8,93	2,16	ns
MV-A'	5	-18,72	5,56	5	-29,99	7,73	0,032
MV-AET	6	38,86	5,71	5	42,52	4,27	ns

Ergebnisse, Tag 0, 6 Monate alte Tiere							
Parameter	Zyxin-KO			Wildtyp			p
MV-E'	5	-24,01	4,20	5	-20,68	7,61	ns
TD-AET	5	44,31	7,07	5	51,74	8,34	ns
IVCT-TD	5	10,87	3,74	5	10,71	1,38	ns
IVCT	6	12,17	2,65	5	10,83	2,79	ns
IVRT-TD	5	15,10	2,53	5	17,45	2,59	ns
IVRT	6	13,77	3,47	5	14,92	1,23	ns
MV A	6	384,00	43,24	5	401,97	75,77	ns
MV DecelAcc	6	-35210	7842	5	-31222	13116	ns
MV Decel-Time	6	17,41	3,10	5	19,92	4,69	ns
MV E	6	591	57	5	580	145	ns
MV ET	6	53,49	3,73	5	60,24	16	ns
MV Acc	6	45773	5385	5	44427	14108	ns
MV AccTime	6	13,04	1,46	5	13,34	1,42	ns
MV VTI	6	16,58	1,46	5	17,35	2,44	ns
MV MeanVel	6	340	28	5	339	98	ns
MV MeanGrad	6	0,47	0,08	5	0,49	0,29	ns
MV PeakVel	6	588	58	5	576	145	ns
MV PeakGrad	6	1,40	0,27	5	1,40	0,70	ns
MV NFT	6	62,63	9,48	5	68,01	5,89	ns
S WAVE	5	25,51	6,05	5	27,48	5,70	ns
A'/E'	5	0,78	0,18	5	1,53	0,42	0,013
E'/A'	5	1,34	0,33	5	0,69	0,17	0,007
LV MPI IV	6	0,61	0,04	5	0,60	0,05	ns
LV MPI NFT	6	0,61	0,04	5	0,60	0,05	ns
MV Area	6	17,04	1,84	5	16,64	1,82	ns
MV Area (simpl)	6	44,86	8,61	5	39,72	8,77	ns
MV E/A	6	1,56	0,24	5	1,45	0,28	ns
MV E/E'	5	-24,72	4,47	5	-32,34	17,97	ns
MV PHT (simpl)	6	5,05	0,90	5	5,78	1,36	ns
IVCT/IVRT	6	0,93	0,30	5	0,73	0,23	ns

Ergebnisse, Tag 0, 6 Monate alte Tiere							
Parameter	Zyxin-KO			Wildtyp			p
HR (PW)	6	521	52	5	475	69	ns
HR (TD)	6	520	53	5	474	70	ns
RR interval	6	0,12	0,01	5	0,13	0,02	ns
AET (corrected)	6	114	11	5	119	6	ns
L-B-Ao Sinus	6	1,49	0,20	5	1,56	0,16	ns
L-B-ENDOmajr;d	6	7,84	0,35	5	8,13	0,61	ns
L-B-ENDOmajr;s	6	7,02	0,33	5	7,03	0,52	ns
L-B-EPImajr;d	6	8,33	0,36	5	8,66	0,65	ns
L-B-EPImajr;s	6	7,60	0,42	5	7,60	0,58	ns
L-B-LVAW;d	6	0,99	0,10	5	0,93	0,06	ns
L-B-LVAW;s	6	1,35	0,10	5	1,36	0,08	ns
L-B-LV T-HF	6	486	72	5	463	65	ns
L-B-LV T-Area	6	16,50	4,28	5	19,89	7,60	ns
L-B-LV T-AreaS	6	14,77	1,62	5	15,34	1,76	ns
L-B-LV T-AreaD	6	21,61	2,34	5	24,29	3,89	ns
L-B-LV T-Vol	6	33,70	14,88	5	48,27	29,27	ns
L-B-LVID;d	6	3,71	0,32	5	3,95	0,39	ns
L-B-LVID;s	6	2,67	0,26	5	2,95	0,25	ns
L-B-LVPW;d	6	0,93	0,09	5	0,83	0,12	ns
L-B-LVPW;s	6	1,32	0,09	5	1,15	0,12	0,037
L-B-LV T-Area;d	6	21,61	2,34	5	24,29	3,89	ns
L-B-LV T-Area;s	6	14,77	1,62	5	15,34	1,76	ns
L-B-LV T-CO	6	11,82	4,12	5	15,83	5,86	ns
L-B-EF	6	53,75	14,23	5	48,73	16,72	ns
L-B-LV T-EF	6	45,98	7,92	5	52,35	6,91	ns
L-B-Endol FS	6	10,46	1,80	5	13,53	2,29	0,035
L-B-LV T-FS	6	10,44	1,96	5	13,55	2,26	0,037
L-B-FS;diam	6	27,73	8,31	5	24,89	9,59	ns
L-B-Mass	6	135	21	5	132	26	ns
L-B-Mass Cor	6	108	17	5	106	21	ns

Ergebnisse, Tag 0, 6 Monate alte Tiere							
Parameter	Zyxin-KO			Wildtyp			p
L-B-Vol;d	6	59	13	5	69	16	ns
L-B-Vol;s	6	26,68	6,41	5	33,82	6,97	ns
L-B-LV T-SV	6	24,17	6,85	5	34,33	11,24	0,095
L-B-LV T-V;d	6	52,08	9,95	5	64,42	16,41	ns
L-B-LV T-V;s	6	27,91	5,18	5	30,09	6,01	ns
L-B-HR	6	486	72	5	463	65	ns
L-B-RR interval	6	0,13	0,02	5	0,13	0,02	ns
L-B-AET (corrected)	6	110	14	5	117	5	ns
L-B-Vcf	6	7,37	2,64	5	5,80	2,22	ns
L-B-Vcf cor	6	2,59	0,87	5	2,10	0,78	ns
L-M-LVAW;d	6	0,98	0,10	5	0,92	0,09	ns
L-M-LVAW;s	6	1,35	0,10	5	1,35	0,09	ns
L-M-LV T-HF	6	487	68	5	460	66	ns
L-M-LV T-LVAWs	6	1,35	0,10	5	1,35	0,10	ns
L-M-LV T-LVAWd	6	0,97	0,08	5	0,91	0,09	ns
L-M-LV T-LVPWs	6	1,32	0,08	5	1,16	0,15	0,071
L-M-LV T-LVPWd	6	0,93	0,08	5	0,82	0,10	0,063
L-M-LVID;d	6	3,76	0,51	5	3,93	0,46	ns
L-M-LVID;s	6	2,62	0,37	5	2,77	0,40	ns
L-M-LVPW;d	6	0,95	0,08	5	0,82	0,11	0,061
L-M-LVPW;s	6	1,32	0,08	5	1,15	0,14	0,056
L-M-LV T-CO	6	18,14	6,02	5	17,27	5,37	ns
L-M-LV T-DiaD	6	3,79	0,42	5	3,90	0,47	ns
L-M-LV T-DiamS	6	2,62	0,38	5	2,76	0,41	ns
L-M-EF	6	58,49	3,96	5	57,05	7,05	ns
L-M-LV T-EF	6	59,39	6,44	5	56,59	6,80	ns
L-M-FS	6	30,36	2,57	5	29,62	4,75	ns
L-M-LV T-FS	6	31,12	4,50	5	29,28	4,50	ns
L-M-Mass	6	138	23	5	128	26	ns
L-M-Mass Cor	6	110	18	5	103	20,53	ns

Ergebnisse, Tag 0, 6 Monate alte Tiere							
Parameter	Zyxin-KO			Wildtyp			p
L-M-LV T-Mass	6	138	23	5	126	25	ns
L-M-LV T-MassCor	6	110	18	5	101	20	ns
L-M-Vol;d	6	61,86	19,23	5	68,21	18,33	ns
L-M-Vol;s	6	25,84	8,49	5	29,53	10,46	ns
L-M-LV T-SV	6	36,85	9,10	5	37,67	10,14	ns
L-M-LV T-VolD	6	62,65	16,64	5	67,00	18,40	ns
L-M-LV T-VolS	6	25,80	8,61	5	29,33	10,46	ns
L-M-HR	6	487	68	5	460	66	ns
L-M-RR interval	6	0,13	0,02	5	0,13	0,02	ns
L-M-ET (corrected)	6	110	13	5	117	5	ns
L-M-Vcf	6	7,99	1,61	5	7,05	1,47	ns
L-M-LV T-Vcf	6	8,20	1,89	5	6,98	1,43	ns
L-M-Vcf cor	6	2,80	0,41	5	2,54	0,39	ns
L-M-LV T-Vcf cor	6	2,87	0,52	5	2,51	0,37	ns
S-B-ENDOarea;d	6	9,51	1,64	5	11,71	2,62	ns
S-B-ENDOarea;s	6	4,50	1,08	5	5,70	1,23	ns
S-B-EPIarea;d	6	23,61	2,42	5	25,54	4,37	ns
S-B-EPIarea;s	6	21,04	2,04	5	21,88	2,17	ns
S-B-LVAW;d	6	0,95	0,09	5	0,91	0,08	ns
S-B-LVAW;s	6	1,35	0,10	5	1,37	0,10	ns
S-B-LV T-HF	6	517	71	5	463	64	ns
S-B-LV T-Area	6	5,07	1,95	5	5,64	1,22	ns
S-B-LV T-FS	6	52,73	5,60	5	50,76	4,62	ns
S-B-LVID;d	6	3,69	0,32	5	3,86	0,47	ns
S-B-LVID;s	6	2,55	0,37	5	2,80	0,29	ns
S-B-LVPW;d	6	0,90	0,08	5	0,82	0,10	ns
S-B-LVPW;s	6	1,31	0,13	5	1,13	0,15	0,057
S-B-a;d	6	2,74	0,14	5	2,84	0,24	ns
S-B-LV T-AreaD	6	9,36	1,56	5	11,52	2,53	ns
S-B-LV T-AreaS	6	4,45	1,10	5	5,66	1,24	ns

Ergebnisse, Tag 0, 6 Monate alte Tiere							
Parameter	Zyxin-KO			Wildtyp			p
S-B-b;d	6	1,73	0,15	5	1,92	0,21	ns
S-B-EndoAreaChange	6	5,02	0,76	5	6,00	1,58	ns
S-B-Endo-CO	6	17,49	4,16	5	21,71	8,56	ns
S-B-Endo-EF	6	57,94	4,66	5	57,76	3,83	ns
S-B-Endo-FAC	6	53,04	4,94	5	51,12	4,54	ns
S-B-Endo-FS	6	10,46	1,80	5	13,53	2,29	0,035
S-B-Endo-SV	6	35,88	6,07	5	46,54	15,52	ns
S-B-Endo-Vd	6	62,30	12,25	5	80,13	23,67	ns
S-B-Endo-Vs	6	26,41	7,13	5	33,59	8,82	ns
S-B-LV T-FAC	6	52,73	5,60	5	50,76	4,62	ns
S-B-Mass;d	6	128	15	5	132	30	ns
S-B-T;d	6	1,00	0,06	5	0,92	0,08	0,094
S-B-Vol;d	6	58,18	12,38	5	65,44	18,77	ns
S-B-Vol;s	6	24,21	9,44	5	29,98	7,45	ns
S-B-EF	6	58,70	10,76	5	52,44	13,17	ns
S-B-FS	6	30,84	7,24	5	26,95	8,24	ns
S-B-HR	6	516,54	71,20	5	463,41	64,36	ns
S-B-RR interval	6	0,12	0,02	5	0,13	0,02	ns
S-B-AET (corrected)	6	113,54	16,72	5	117,31	4,91	ns
S-B-Vcf	6	8,23	2,69	5	6,33	1,94	ns
S-B-Vcf cor	6	2,81	0,91	5	2,28	0,64	ns
pLFA EDV	3	15,87	2,50	4	15,86	4,40	ns
pLFA PSV	3	46,15	13,99	4	56,83	18,46	ns
pLFA VTI	3	3,84	0,89	4	4,15	2,07	ns
pLFA meanVel	3	28,65	7,43	4	31,77	11,48	ns
pLFA PeakVel	3	46,82	14,86	4	56,93	19,53	ns
pLFA PI	3	1,02	0,20	4	1,29	0,19	ns
pLFA RI	3	0,64	0,09	4	0,71	0,06	ns
nLFA EDV	2	-31,76	14,16	1	-7,68		ns
nLFA PSV	2	-75,95	15,68	1	-39,75		ns

Ergebnisse, Tag 0, 6 Monate alte Tiere							
Parameter	Zyxin-KO			Wildtyp			p
	n	Mittelwert	SD	n	Mittelwert	SD	
nLFA VTI	2	5,58	1,60	1	2,38		ns
nLFA meanVel	2	-49,56	15,95	1	-23,09		ns
nLFA PeakVel	2	-76,06	15,21	1	-40,81		ns
nLFA PI	2	0,94	0,27	1	1,39		ns
nLFA RI	2	0,59	0,10	1	0,81		ns

\* Mit M-W-Test

### 1.2.3.2. Tag 21

Ergebnisse, Tag 21, 6 Monate alte Tiere							
Parameter	Zyxin-KO			Wildtyp			p
	n	Mittelwert	SD	n	Mittelwert	SD	
HG/KG	9	5,17	0,78	7	6,44	0,95	0,011
HG/Tibiallänge	9	9,60	1,57	7	10,15	1,11	ns
Blutdruck systolisch	3	102	5	3	105	16	ns
Blutdruck diastolisch	3	76	5	3	71	15	ns
Ao-AAT	6	17,78	5,45	4	14,18	2,74	ns
AET	6	51,61	8,72	4	51,71	10,29	ns
AI PHT-Acc	6	92728	24966	4	104916	16567	ns
AI PHT-Time	6	17,81	5,42	4	14,14	2,78	ns
AoV VTI	6	59,57	29,98	4	50,99	11,83	ns
AoV MeanVel	6	1170	461	4	1049	134	ns
AoV MeanGrad	6	6,18	4,82	4	4,46	1,15	ns
AoV PeakVel	6	1603	606	4	1463	214	ns
AoV PeakGrad	6	11,51	8,61	4	8,70	2,52	ns
AV Peak Vel	6	1611	607	4	1457	206	ns
AAT/AET	6	0,34	0,09	4	0,28	0,04	ns
AV PeakPres	6	11,61	8,65	4	8,62	2,40	ns
MV-A'	6	-21,29	7,98	4	-29,34	9,74	ns
MV-AET	6	50,61	9,18	4	49,66	5,86	ns

Ergebnisse, Tag 21, 6 Monate alte Tiere							
Parameter	Zyxin-KO			Wildtyp			p
MV-E'	6	-22,44	5,92	4	-17,58	9,01	ns
TD-AET	6	58,15	6,65	4	59,35	7,51	ns
IVCT-TD	6	19,70	6,37	4	16,38	4,30	ns
IVCT	6	21,87	3,58	4	16,84	4,76	0,091
IVRT-TD	6	20,29	4,26	4	15,67	8,43	ns
IVRT	6	17,04	3,57	4	15,17	6,96	ns
MV A	6	357	125	4	508	136	ns
MV DecelAcc	6	-27368	6850	4	-31124	7593	ns
MV Decel-Time	6	23,46	3,59	4	23,28	3,32	ns
MV E	6	624,52	99,85	4	710,87	142,07	ns
MV ET	6	73,10	13,21	4	71,21	13,59	ns
MV Acc	6	50395	10836	4	59822	24410	ns
MV AccTime	6	12,74	2,19	4	12,88	3,29	ns
MV VTI	6	19,40	3,60	4	24,08	3,92	0,087
MV MeanVel	6	313	79	4	391	99	ns
MV MeanGrad	6	0,41	0,19	4	0,64	0,27	ns
MV PeakVel	6	614	93	4	709	142	ns
MV PeakGrad	6	1,54	0,43	4	2,08	0,75	ns
MV NFT	6	84,86	12,80	4	80,35	13,24	ns
S WAVE	6	20,38	3,27	4	26,46	7,08	ns
A'/E'	6	1,07	0,71	4	2,94	3,39	ns
E'/A'	6	1,18	0,48	4	0,70	0,51	ns
LV MPI IV	6	0,69	0,19	4	0,61	0,12	ns
LV MPI NFT	6	0,69	0,19	4	0,61	0,12	ns
MV Area	6	17,83	3,92	4	17,97	4,72	ns
MV Area (simpl)	6	33,05	5,60	4	33,07	4,43	ns
MV E/A	6	1,91	0,60	4	1,42	0,18	ns
MV E/E'	6	-29,66	10,22	4	-71,04	80,36	ns
MV PHT (simpl)	6	6,80	1,04	4	6,75	0,96	ns
IVCT/IVRT	6	1,35	0,42	4	1,28	0,66	ns

Ergebnisse, Tag 21, 6 Monate alte Tiere							
Parameter	Zyxin-KO			Wildtyp			p
HR (PW)	6	389	51	4	400	61	ns
HR (TD)	6	382	57	4	392	109	ns
RR interval	6	0,16	0,02	4	0,17	0,06	ns
AET (corrected)	6	126	17	4	125	21	ns
L-B-Ao Sinus	6	1,60	0,16	4	1,70	0,08	ns
L-B-ENDOmajr;d	6	8,23	0,72	4	8,21	0,56	ns
L-B-ENDOmajr;s	6	7,38	0,64	4	7,27	0,51	ns
L-B-EPImajr;d	6	8,75	0,76	4	8,65	0,56	ns
L-B-EPImajr;s	6	7,94	0,65	4	7,74	0,53	ns
L-B-LVAW;d	6	0,93	0,23	4	0,91	0,06	ns
L-B-LVAW;s	6	1,17	0,30	4	1,30	0,08	ns
L-B-LV T-HF	6	443	45	4	393	42	ns
L-B-LV T-Area	6	26,64	7,15	4	22,61	7,71	ns
L-B-LV T-AreaS	6	20,11	4,73	4	16,15	2,73	ns
L-B-LV T-AreaD	6	27,73	5,03	4	24,91	4,65	ns
L-B-LV T-Vol	6	77,78	32,76	4	57,81	31,50	ns
L-B-LVID;d	6	4,49	0,49	4	3,96	0,47	ns
L-B-LVID;s	6	3,59	0,79	4	2,76	0,28	0,052
L-B-LVPW;d	6	0,89	0,10	4	0,85	0,15	ns
L-B-LVPW;s	6	1,30	0,17	4	1,39	0,07	ns
L-B-LV T-Area;d	6	27,73	5,03	4	24,91	4,65	ns
L-B-LV T-Area;s	6	20,11	4,73	4	16,15	2,73	ns
L-B-LV T-CO	6	14,25	3,58	4	14,03	5,46	ns
L-B-EF	6	41,12	18,03	4	57,85	5,15	0,074
L-B-LV T-EF	6	40,62	10,49	4	52,97	7,81	0,067
L-B-Endol FS	6	10,29	4,75	4	11,48	4,42	ns
L-B-LV T-FS	6	10,44	4,11	4	11,18	4,59	ns
L-B-FS;diam	6	20,66	10,23	4	30,10	3,54	0,078
L-B-Mass	6	170	31	4	132	24	0,074
L-B-Mass Cor	6	136	25	4	105	19	0,074

Ergebnisse, Tag 21, 6 Monate alte Tiere							
Parameter	Zyxin-KO			Wildtyp			p
L-B-Vol;d	6	93,38	24,23	4	69,32	19,70	ns
L-B-Vol;s	6	57,55	30,97	4	28,87	7,51	0,038*
L-B-LV T-SV	6	32,16	7,79	4	35,77	13,41	ns
L-B-LV T-V;d	6	81,94	24,47	4	66,59	20,40	ns
L-B-LV T-V;s	6	49,78	21,82	4	30,81	8,62	0,097
L-B-HR	6	443	45,21	4	393	42	ns
L-B-RR interval	6	0,14	0,01	4	0,15	0,02	ns
L-B-AET (corrected)	6	137	24	4	127	18	ns
L-B-Vcf	6	4,19	2,44	4	6,07	0,44	ns
L-B-Vcf cor	6	1,57	0,94	4	2,39	0,29	0,097
L-M-LVAW;d	6	0,93	0,22	4	0,90	0,05	ns
L-M-LVAW;s	6	1,18	0,31	4	1,32	0,08	ns
L-M-LV T-HF	6	442	34,97	4	393	43	0,085
L-M-LV T-LVAWs	6	1,18	0,32	4	1,30	0,08	ns
L-M-LV T-LVAWd	6	0,93	0,22	4	0,89	0,06	ns
L-M-LV T-LVPWs	6	1,28	0,14	4	1,38	0,05	ns
L-M-LV T-LVPWd	6	0,91	0,07	4	0,85	0,12	ns
L-M-LVID;d	6	4,52	0,56	4	4,00	0,48	ns
L-M-LVID;s	6	3,44	0,89	4	2,60	0,35	0,076
L-M-LVPW;d	6	0,90	0,07	4	0,85	0,13	ns
L-M-LVPW;s	6	1,28	0,13	4	1,38	0,05	ns
L-M-LV T-CO	6	18,39	3,09	4	17,73	5,68	ns
L-M-LV T-DiaD	6	4,51	0,55	4	3,99	0,48	ns
L-M-LV T-DiamS	6	3,43	0,89	4	2,60	0,36	0,076
L-M-EF	6	47,98	17,76	4	64,30	7,34	0,085
L-M-LV T-EF	6	48,17	17,99	4	64,13	7,50	0,093
L-M-FS	6	24,78	10,54	4	34,83	5,61	0,087
L-M-LV T-FS	6	24,91	10,68	4	34,70	5,73	0,098
L-M-Mass	6	171	29	4	133	24	0,06
L-M-Mass Cor	6	137	23	4	106	19	0,06

Ergebnisse, Tag 21, 6 Monate alte Tiere							
Parameter	Zyxin-KO			Wildtyp			p
L-M-LV T-Mass	6	172	27	4	132	23	0,043
L-M-LV T-MassCor	6	138	22	4	106	19	0,043
L-M-Vol;d	6	95,06	28	4	71,02	20,85	ns
L-M-Vol;s	6	53,13	32,85	4	25,22	8,08	0,094
L-M-LV T-SV	6	41,95	8,23	4	45,39	14,42	ns
L-M-LV T-VolD	6	94,84	27,79	4	70,61	20,74	ns
L-M-LV T-VolS	6	52,89	32,89	4	25,22	8,22	0,097
L-M-HR	6	442	35	4	393	43	0,085
L-M-RR interval	6	0,14	0,01	4	0,15	0,02	ns
L-M-ET (corrected)	6	137	24	4	127	18	ns
L-M-Vcf	6	4,99	2,40	4	7,00	0,51	0,097
L-M-LV T-Vcf	6	5,01	2,41	4	6,97	0,52	ns
L-M-Vcf cor	6	1,85	0,92	4	2,74	0,20	0,066
L-M-LV T-Vcf cor	6	1,86	0,93	4	2,73	0,20	0,072
S-B-ENDOarea;d	6	15,06	4,48	4	11,94	1,05	ns
S-B-ENDOarea;s	6	10,28	5,38	4	5,29	1,03	0,073
S-B-EPIarea;d	6	30,55	5,23	4	25,51	0,75	0,065
S-B-EPIarea;s	6	27,51	5,62	4	22,95	0,68	0,1
S-B-LVAW;d	6	0,91	0,21	4	0,90	0,04	ns
S-B-LVAW;s	6	1,17	0,31	4	1,30	0,08	ns
S-B-LV T-HF	6	423	20	4	404	36	ns
S-B-LV T-Area	6	10,98	4,76	4	8,42	4,09	ns
S-B-LV T-FS	6	36,09	15,50	4	54,69	7,07	0,036
S-B-LVID;d	6	4,31	0,62	4	3,92	0,27	ns
S-B-LVID;s	6	3,54	0,89	4	2,74	0,26	0,081
S-B-LVPW;d	6	0,91	0,06	4	0,84	0,15	ns
S-B-LVPW;s	6	1,28	0,15	4	1,38	0,04	ns
S-B-a;d	6	3,11	0,26	4	2,85	0,04	0,058
S-B-LV T-AreaD	6	14,84	4,52	4	11,65	1,03	ns
S-B-LV T-AreaS	6	9,99	5,23	4	5,28	0,94	0,079

Ergebnisse, Tag 21, 6 Monate alte Tiere							
Parameter	Zyxin-KO			Wildtyp			p
S-B-b;d	6	2,17	0,32	4	1,95	0,09	ns
S-B-EndoAreaChange	6	4,78	1,21	4	6,65	1,17	0,041
S-B-Endo-CO	6	18,23	3,30	4	19,79	5,59	ns
S-B-Endo-EF	6	42,44	11,84	4	60,50	8,93	0,026
S-B-Endo-FAC	6	35,23	15,94	4	55,66	8,29	0,03
S-B-Endo-FS	6	10,29	4,75	4	11,48	4,42	ns
S-B-Endo-SV	6	41,14	5,34	4	49,87	11,56	ns
S-B-Endo-Vd	6	105	40	4	82	13	ns
S-B-Endo-Vs	6	64,02	36,93	4	32,22	7,61	0,09
S-B-LV T-FAC	6	36,09	15,50	4	54,69	7,07	0,036
S-B-Mass;d	6	151	22,20	4	127	7,45	0,049
S-B-T;d	6	0,94	0,08	4	0,90	0,10	ns
S-B-Vol;d	6	85,72	30,92	4	67,07	11,47	ns
S-B-Vol;s	6	56,46	34,64	4	28,26	6,44	0,1
S-B-EF	6	37,90	18,96	4	57,97	6,33	0,05
S-B-FS	6	18,78	10,31	4	30,21	4,31	0,046
S-B-HR	6	423	20	4	404	36	ns
S-B-RR interval	6	0,14	0,01	4	0,15	0,01	ns
S-B-AET (corrected)	6	134	22	4	129	18	ns
S-B-Vcf	6	3,80	2,36	4	6,07	0,33	0,065
S-B-Vcf cor	6	1,43	0,89	4	2,35	0,15	0,052
pLFA EDV	6	13,77	4,09	4	16,06	2,79	ns
pLFA PSV	6	50,03	6,59	4	52,99	6,77	ns
pLFA VTI	6	3,80	0,58	4	4,34	0,76	ns
pLFA meanVel	6	28,62	4,89	4	30,08	4,64	ns
pLFA PeakVel	6	51,37	7,20	4	53,74	7,04	ns
pLFA PI	6	1,29	0,20	4	1,24	0,15	ns
pLFA RI	6	0,73	0,06	4	0,70	0,04	ns
nLFA EDV	3	-11,43	6,98	3	-19,80	3,81	ns
nLFA PSV	3	-38,89	7,80	3	-64,93	8,58	0,018

Ergebnisse, Tag 21, 6 Monate alte Tiere							
Parameter	Zyxin-KO			Wildtyp			p
nLFA VTI	3	3,11	0,91	3	5,48	1,04	0,042
nLFA meanVel	3	-23,30	5,71	3	-38,88	5,48	0,027
nLFA PeakVel	3	-39,74	7,87	3	-64,84	8,91	0,022
nLFA PI	3	1,22	0,33	3	1,16	0,05	ns
nLFA RI	3	0,72	0,14	3	0,70	0,02	ns

\* Mit M-W-Test

### 1.3. Verallgemeinerte Schätzgleichungen

#### 1.3.1. LPP-KO und Tiere ab 12 Monaten

Verallgemeinerte Schätzgleichungen (GEE)					
Parameter	Einfluss von				
Bei $p < 0,000$ : 0, $p > 0,05$ : x	LPP-KO/WT	Zeitpunkt (0 – 10)	Zeitpunkt (0-21)	Alter (12 – 18)	Überleben
Gewicht	< 0,001	ns	< 0,001	ns	< 0,001
Herzgewicht	< 0,001	ns	0,001	0,057	
HG/Körpergewicht	0,137	ns	< 0,001	0,006	
Femurlänge	ns	ns	ns	ns	
Tibiallänge	< 0,001	ns	ns	ns	
Isofluranverbrauch	< 0,001	0,027	< 0,001	0,038	0,12
Blutdruck Systolisch	< 0,001		0,016	0,059	0,107
Blutdruck Diastolisch	0,002		0,181	0,057	0,086
Aorten Bewegung	0,041	< 0,001	ns	ns	ns
AA Diameter Dia	< 0,001	0,075	ns	0,057	ns
AA Diameter Sys	< 0,001	ns	ns	0,006	ns
Ao-AAT	< 0,001	ns	0,04	0,02	0,019
AET	< 0,001	ns	ns	ns	ns
AoV VTI	ns	ns	ns	ns	ns
AoV MeanVel	0,052	ns	ns	ns	ns
AoV MeanGrad	0,064	ns	ns	ns	ns
AoV PeakVel	0,084	ns	ns	ns	ns
AoV PeakGrad	0,094	ns	ns	ns	ns
AoV Peak Vel	0,084	ns	ns	ns	ns
AAT/AET	ns	ns	ns	0,009	0,062
AV PeakPres	0,094	ns	ns	ns	ns
MV-A'	ns	ns	ns	ns	ns
MV-AET	0,013	ns	< 0,001	ns	ns
MV-E'	Ns	ns	ns	ns	ns
TD-AET	0,005	ns	< 0,001	0,033	ns

Verallgemeinerte Schätzgleichungen (GEE)					
Parameter	Einfluss von				
IVCT-TD	0,084	0,016	< 0,001	0,001	ns
IVCT	ns	0,021	0,002	0,013	0,034
IVRT-TD	ns	ns	< 0,001	ns	ns
IVRT	ns	0,001	< 0,001	0,029	ns
MV A	ns	ns	ns	ns	ns
MV DecelAcc	ns	ns	ns	0,025	ns
MV Decel-Time	0,069	ns	ns	ns	ns
MV E	ns	0,08	ns	0,003	ns
MV ET	0,011	0,022	ns	ns	ns
MV Acc	ns	0,016	ns	0,001	ns
MV AccTime	ns	ns	ns	ns	ns
MV VTI	ns	ns	ns	ns	ns
MV MeanVel	0,055	0,068	ns	0,091	ns
MV MeanGrad	0,049	0,073	ns	0,087	ns
MV PeakVel	ns	0,073	ns	0,003	ns
MV PeakGrad	ns	0,068	ns	0,003	ns
MV NFT	0,037	0,017	< 0,001	0,031	ns
S WAVE	ns	ns	ns	ns	ns
A/E'	0,022	ns	ns	ns	ns
E'/A'	ns	ns	ns	ns	ns
LV MPI	0,06	0,007	< 0,001	0,03	ns
MV Area	ns	ns	ns	0,88	ns
MV E/A	ns	ns	ns	ns	ns
MV E/E'	0,089	ns	0,074	0,052	ns
MV PHT (simplified)	0,069	ns	ns	ns	ns
IVRT/IVCT	ns	ns	ns	ns	ns
HF (TD)	0,002	0,098	0,001	ns	ns
Intervall (60/HF)	0,002	ns	0,003	ns	ns
AET (corrected)	ns	ns	0,002	ns	ns
RV PAT	ns	ns	0,019	ns	0,013

Verallgemeinerte Schätzgleichungen (GEE)					
Parameter	Einfluss von				
RV PET	0,001	ns	0,036	ns	ns
PV PeakVel	ns	ns	ns	ns	ns
PV VTI	ns	ns	0,041	ns	ns
PV MeanVel	ns	ns	ns	ns	ns
PV MeanGrad	ns	ns	ns	ns	ns
PV PeakVel	ns	ns	ns	ns	ns
PV PeakGrad	ns	ns	ns	ns	ns
MPAP	ns	ns	0,019	ns	0,013
PAT/PET	0,004	0,044	ns	ns	0,019
PV Peak Pressure	ns	ns	ns	ns	ns
L-B-Ao Sinus	0,004	0,001	< 0,001	< 0,001	0,069
L-B-ENDOmajr;d	0,039	0,093	< 0,001	0,059	0,027
L-B-ENDOmajr;s	ns	0,002	< 0,001	0,006	0,001
L-B-EPImajr;d	0,014	0,09	< 0,001	0,057	0,019
L-B-EPImajr;s	0,041	0,002	< 0,001	0,008	< 0,001
L-B-LV T-Area	ns	ns	< 0,001	< 0,001	ns
L-B-LV T-AreaS	ns	0,008	< 0,001	< 0,001	0,001
L-B-LV T-AreaD	0,018	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,003
L-B-LV T-Vol	ns	ns	< 0,001	< 0,001	ns
L-B-LV T-Area;d	0,018	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,003
L-B-LV T-Area;s	ns	0,008	< 0,001	< 0,001	0,001
L-B-LV T-CO	0,001	ns	ns	ns	ns
L-B-EF	ns	ns	0,003	0,019	ns
L-B-LV T-EF	0,047	ns	0,015	< 0,001	ns
L-B-Längsachsen FS	ns	0,048	< 0,001	ns	0,013
L-B-LV T-FS	ns	0,037	< 0,001	ns	0,015
L-B-FS	ns	ns	0,008	0,033	ns
L-B-Vol;d	0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,013
L-B-Vol;s	ns	0,028	< 0,001	< 0,001	0,002
L-B-LV T-SV	0,04	0,031	0,007	ns	ns

Verallgemeinerte Schätzgleichungen (GEE)					
Parameter	Einfluss von				
L-B-LV T-V;d	0,079	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,004
L-B-LV T-V;s	ns	0,009	< 0,001	< 0,001	0,002
L-B-Vcf	0,02	ns	0,01	0,056	ns
L-B-Vcf cor	0,027	ns	0,021	ns	0,06
L-M-LVAW;d	< 0,001	0,018	< 0,001	0,077	ns
L-M-LVAW;s	< 0,001	ns	0,006	0,001	ns
L-M-LV T-HF	0,002	0,034	< 0,001	ns	ns
L-M-LVID;d	0,004	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,095
L-M-LVID;s	ns	0,021	< 0,001	< 0,001	0,062
L-M-LVPW;d	< 0,001	0,019	< 0,001	ns	0,024
L-M-LVPW;s	< 0,001	ns	< 0,001	ns	ns
L-M-LV T-CO	< 0,001	ns	ns	ns	ns
L-M-LV T-DiaD	0,005	< 0,001	< 0,001	< 0,001	ns
L-M-LV T-DiamS	ns	0,018	< 0,001	< 0,001	0,065
L-M-EF	ns	ns	< 0,001	0,002	ns
L-M-LV T-EF	0,079	ns	< 0,001	0,002	ns
L-M-FS	0,093	ns	0,001	0,004	ns
L-M-LV T-FS	0,055	ns	< 0,001	0,004	ns
L-M-LV T-SV	0,001	0,053	0,08	0,079	ns
L-M-LV T-VolD	0,006	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,09
L-M-LV T-VolS	ns	0,031	< 0,001	< 0,001	0,045
L-M-HF	0,002	0,034	< 0,001	ns	ns
L-M-RR interval	0,003	0,09	0,003	ns	ns
L-M-Vcf	0,005	ns	< 0,001	0,003	ns
L-M-Vcf cor	0,019	ns	0,002	0,003	ns
S-B-ENDOarea;d	0,004	< 0,001	< 0,001	0,002	0,12
S-B-ENDOarea;s	ns	0,017	< 0,001	0,001	0,094
S-B-EPIarea;d	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,003	< 0,001
S-B-EPIarea;s	< 0,001	< 0,001	< 0,001	ns	0,002
S-B-duEPIradius;d	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,031	< 0,001

Verallgemeinerte Schätzgleichungen (GEE)					
Parameter	Einfluss von				
S-B-LV T-AreaD	0,004	< 0,001	< 0,001	0,001	0,007
S-B-LV T-AreaS	ns	0,02	< 0,001	< 0,001	0,077
S-B-duENDOradius;d	0,003	< 0,001	< 0,001	0,003	0,016
S-B-EndoAreaChange	< 0,001	0,035	ns	ns	ns
S-B-Endo-CO	< 0,001	ns	ns	ns	ns
S-B-Endo-EF	0,033	ns	< 0,001	0,023	ns
S-B-Endo-FAC	0,033	ns	0,001	0,02	ns
S-B-Endo-FS	ns	0,048	< 0,001	ns	0,013
S-B-Endo-SV	0,001	0,027	0,031	ns	ns
S-B-Endo-Vd	0,006	< 0,001	< 0,001	0,002	0,007
S-B-Endo-Vs	ns	0,014	< 0,001	< 0,001	0,035
S-B-LV T-FAC	0,038	ns	0,002	0,022	ns
S-B-Mass;d	< 0,001	< 0,001	< 0,001	ns	< 0,001
S-B-duWanddicke;d	< 0,001	0,002	< 0,001	ns	< 0,001
S-B-Vol;d	0,003	0,001	< 0,001	< 0,001	0,051
S-B-Vol;s	ns	0,037	< 0,001	< 0,001	0,025
S-B-EF	ns	ns	0,002	0,066	ns
S-B-FS	ns	ns	0,007	0,068	ns
LFA EDV	0,122	ns	ns	ns	ns
LFA PSV	ns	ns	0,079	ns	ns
LFA VTI	0,101	ns	ns	ns	ns
LFA meanVel	ns	ns	ns	ns	ns
LFA MeanGrad	ns	ns	ns	ns	ns
LFA PeakVel	ns	ns	0,079	ns	ns
LFA PeakGrad	ns	ns	ns	ns	ns
LFA PI	0,008	ns	< 0,001	ns	ns
LFA RI	0,003	ns	0,001	ns	ns

\* Mit M-W-Test

## 1.3.2. Zyxin-KO &amp; LPP-KO ab 6 Monate

Verallgemeinerte Schätzgleichungen (GEE)						
Parameter	Einfluss von					
Bei $p < 0,000$ : 0, $p > 0,05$ : ns	Zyxin/WT	LPP/WT	Zeitpunkt (0 – 10)	Zeitpunkt (0-21)	Alter (6 zu 12 / 18)	Überleben
Gewicht	0,006	< 0,001	0,07	< 0,001	0,062/0,056	< 0,001
Herzgewicht	ns	< 0,001		< 0,001	0,056/0,000	
Tibialänge	0,033	< 0,001	ns	ns	ns/ns	
Kyphose	ns	0,002	-	-	ns	-
EDV + D	ns	0,137	ns	ns	< 0,001/< 0,001	0,113
PSV + D	0,006	ns	ns	0,098	< 0,001/< 0,001	0,1
RI	ns	0,004	ns	< 0,001	ns/ns	ns
Ao-AAT	0,092	< 0,001	ns	< 0,001	0,006/ns	0,048
AET	ns	< 0,001	ns	< 0,001	0,089/0,079	ns
AI PHT-Acc	ns	0,023	ns	0,012	ns/ns	ns
AAT/AET	0,038	0,13	ns	0,019	ns/ns	ns
MV-A'	0,023	ns	ns	ns	ns/ns	ns
MV-E'	0,09	ns	ns	0,078	ns/ns	ns
IVCT	< 0,001	ns	0,001	< 0,001	ns/0,127	0,019
IVRT	ns	ns	< 0,001	< 0,001	ns/ns	ns
MV A	0,016	ns	ns	ns	ns/0,085	ns
MV DecelAcc	ns	ns	ns	ns	ns/0,068	ns
MV E	ns	ns	ns	0,065	ns/0,003	ns
MV ET	ns	0,012	ns	ns	0/0,001	ns
MV Acc	ns	ns	0,071	0,1	ns/ns	ns
MV NFT	ns	0,041	0,001	< 0,001	ns/ns	ns
A'/E'	0,049	0,018	ns	ns	ns/ns	ns
E'/A'	0,001	ns	ns	ns	ns/0,026	ns
LV MPI IV	ns	0,066	0,009	<0,000	ns/ns	ns

Verallgemeinerte Schätzgleichungen (GEE)						
Parameter	Einfluss von					
MV E/A	0,022	ns	ns	ns	ns/ns	ns
MV E/E'	ns	0,082	ns	0,033	ns/ns	ns
MV E/A	0,022	ns	ns	ns	ns/ns	ns
MV E/E'	ns	0,082	ns	0,033	ns/ns	ns
HR (TD)	ns	0,003		< 0,001	0,017/ns	ns
AET (corrected)	ns	ns	ns	0,001	0,027/0,061	ns
L-B-ENDOmajr;d	ns	0,029	0,035	< 0,001	ns/ns	0,07
L-B-ENDOmajr;s	ns	ns	< 0,001	< 0,001	0,058/ns	0,007
L-M-LVAW;d	ns	< 0,001	0,033	0,001	< 0,001/0,011	ns
L-M-LVAW;s	ns	< 0,001	ns	ns	< 0,001/ns	ns
L-M-LVID;d	ns	0,004	< 0,001	< 0,001	ns/ns	ns
L-M-LVID;s	ns	ns	0,002	< 0,001	0,021/ns	ns
L-M-LVPW;d	0,034	< 0,001	0,11	< 0,001	0,02/0,004	ns
L-M-LVPW;s	ns	< 0,001	ns	< 0,001	0,024/ns	ns
S-B-ENDOarea;d	ns	0,005	< 0,001	< 0,001	ns/ns	0,056
S-B-ENDOarea;s	ns	ns	0,002	< 0,001	0,099/0,09	ns
S-B-EPIarea;d	ns	< 0,001	< 0,001	< 0,001	ns/0,014	0,002
S-B-EPIarea;s	ns	< 0,001	< 0,001	< 0,001	ns/0,03	0,01
S-B-EndoAreaChange	0,005	< 0,001	0,062	ns	ns/ns	ns
S-B-Endo-CO	ns	< 0,001	ns	ns	ns/ns	ns
S-B-Endo-EF	0,003	0,029	0,038	< 0,001	0,022/ns	ns
S-B-Endo-FAC	0,009	0,032	0,083	< 0,001	0,028/ns	ns
S-B-Endo-FS	ns	0,084	0,026	< 0,001	ns/ns	0,055
S-B-Endo-SV	0,04	0,001	0,025	0,009	ns/ns	ns
S-B-Endo-Vd	ns	0,007	< 0,001	< 0,001	ns/ns	0,04
S-B-Endo-Vs	ns		0,002	< 0,001	0,072/ns	0,047
S-B-Mass;d	ns	< 0,001	< 0,001	< 0,001	ns/0,027	0,001

## 1.4. Methoden Vergleiche

Abkürzungen Siehe Anhang 1.2 – Sonographie

Methodenvergleich					
Parameter					
	Variante Erfassung 1	Variante Erfassung 2	Wert (real)	Wert in %	Anzahl Stichproben vgl.
HG	gewogen	US (L-B)	22,6	12,7	25
	gewogen	US (S-B)	30,9	16,7	25
IVCT	MV	TD	0,2	7,4	70
IVRT	MV	TD	-0,6	-8,5	70
RI	pLFA RI max	pLFA RI	0,007		117
	pLFA RI	nLFA RI	0,00		109
AET	Ao AET	MV AET	2,6	4,8	68
	Ao AET	TD AET	-0,4		63
CO	L-B-CO	L-M-CO	-3,1	(-29,7)	75
	L-B-CO	S-B-EndoCO	-6,9		75
FS Lang- gegen Kurzachse	L-B	S-B-EndoFS	-21,5	-225,3	75
FS	L-B	L-M	-1,2		75
EF	L-B	L-M	-7,6		75
	L-B	S-B-EndoEF	-4,1		75
SV	L-B	L-M	-6,9		75
	L-B-SV	S-B-EndoSV	-14,6		75

### 1.5. Abbruchkriterien der Tierversuches

Aus dem Tierversuchsantrag, Punkt 1.6.7 Benennung versuchsspezifischer, konkreter Abbruchkriterien:

<b>Benennung versuchsspezifischer, konkreter Abbruchkriterien</b>	
<b>Parameter</b>	<b>Kriterium des Abbruches</b>
OP-Wunde/ Nahtstelle	Infektion, Entzündung
Abnormes Verhalten	Häufiges Kratzen (OP-Wundenbereich), Apathie
Gewicht	> 10 % Abnahme
Exerieur	Struppiges Fell

Bei Beobachtung solcher Symptome durch die für die Pflege der Tiere verantwortlichen Personen werden diese, nach vorheriger Rücksprache mit der zuständigen tierschutzbeauftragten Tierärztin durch zervikale Dislokation getötet.

## **XII. DANKSAGUNG**

Mein besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. med. vet. Sven Reese, der mein Doktorvater ist, mich betreute und jederzeit mit Unterstützung, fachlichem Wissen und Ratschlägen zur Verfügung stand. Ebenso Herrn Prof. Dr. rer. nat. Markus Hecker, der zusätzlich dieses Projekt erst möglich machte und neben den materiellen Voraussetzungen auch regelmäßige fachliche Diskussionen beisteuerte.

Ich möchte mich bei meiner gesamten Familie, vor allem meinen Eltern Thorsten und Saskia mit Sven, meinem Bruder Felix und den Großeltern und -tanten, sowie meinem Lebensgefährten Marco bedanken, die mir sowohl das Studium als auch die Dissertation durch ihre Unterstützung jeglicher Art erst ermöglicht haben und mich mit ihrer Geduld und motivierenden Taten und Worten durch diese Zeit brachten.

Die lieb gewonnenen Arbeitskollegen (die zahlreich waren und die ich deshalb nicht alle nennen kann), die in allen Lebenslagen und Phasen der Arbeit mit Rat und Tat und Unterstützung aller Art für mich da waren. Hier möchte ich insbesondere Dr. Carla Sens-Albert, Dr. Konstanze Michel, Dr. Jaafar Al-Hasani, Julian Friemann, Dr. Christoph Hangel, Dr. Sebastian Lont, Fr. Feuchter und Dr. Caroline Arnold erwähnen, welche auch methodische und/oder fachliche Unterstützung boten und so zum Gelingen beitrugen. Der Dank gilt auch unseren Tierschutzbeauftragten, die jederzeit hilfsbereit waren und Weiterbildung abseits der Dissertation ermöglichten. Ebenso sollen unsere ‚guten Feen‘ des Labores und der Verwaltung, unter anderen Barbara, Felicia, Renate, Rebecca, Stefanie, Cathrin, Anne-Maria und Franziska nicht unerwähnt bleiben.

Auch meine lieben Freunde, ehemaligen Kommilitonen und Bekannte, die den regelmäßigen Kontakt pflegen, möchte ich noch erwähnen. Es hilft einem ungemein zu wissen, dass es euch gibt, man wirklich alles fragen kann und dass, wenn das Projekt mal nicht so läuft wie erhofft, man hört, dass andere auch nur mit Wasser kochen...

Und nicht vergessen möchte ich alle, die ich bis dato nicht erwähnt habe... ihr wisst, ich denke auch an euch.