

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Medizinische Klinik und Poliklinik C
Kardiologie und Angiologie

- Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. G. Breithardt -

**Geschlechts- und altersspezifische Normalwerte für die transthorakale Doppler-
Echokardiographie bei Wildtyp-Mäusen (Swiss Type)**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung des doctor medicinae
der Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von
Epping, Constanze Hedwig
aus Münster
2005

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. H. Jürgens

1. Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. med. G. Breithardt
2. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. M. Rothenburger

Tag der mündlichen Prüfung: 08.12.2005

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Medizinische Klinik und Poliklinik C
Kardiologie und Angiologie
- Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. G. Breithardt -

Referent: Univ.-Prof. Dr. med. G. Breithardt
Koreferent: Priv.-Doz. Dr. med. M. Rothenburger

ZUSAMMENFASSUNG

Geschlechts- und altersspezifische Normalwerte für die transthorakale Doppler-Echokardiographie bei Wildtyp-Mäusen (Swiss Type)

Constanze Hedwig Epping

Die Doppler-echokardiographische Untersuchung hat sich zu einem zuverlässigen, schnell und einfach durchführbaren, nicht-invasiven Verfahren für die kardiovaskuläre Phänotypisierung der Maus entwickelt. Das Mausmodell bietet sich wegen großer kardiovaskulärer Ähnlichkeiten im Vergleich zum Menschen, der relativ einfachen Durchführbarkeit genetischer Manipulationen, des kurzen Reproduktionszyklus und niedriger Haltungskosten im Vergleich zum Großtierversuch als Studienobjekt für genetische bedingte kardiovaskuläre Erkrankungen an. Verbesserungen der Gerätetechnik mit Optimierung der zeitlichen und räumlichen Auflösung zur Darstellung des nur ca. 5 mm großen Mäuseherzens bei einer Herzfrequenz von ca. 500 bpm, sowie verbesserte serielle Ruhe- und Stressuntersuchungsprotokolle und die Einführung inhalativer Narkosen haben die Aussagekraft echokardiographischer Untersuchungen muriner Modelle deutlich verbessert. Eine Reihe von echokardiographischen Untersuchungen zu kardiovaskulären Pathologien bei Mäusen wurden bereits durchgeführt, eine Normwerterstellung, wie sie in der Humanmedizin etabliert ist, wurde jedoch bisher nicht durchgeführt. Weiterhin wurde auch die Frage nach echokardiographischen Unterschieden zwischen männlichen und weiblichen Tieren, sowie verschiedenen Altersgruppen bisher nicht beantwortet.

In der vorgelegten Arbeit wurde eine solche echokardiographische Normwerterstellung für die Swiss-Type-CD-1-Maus unter Xylamin/Ketamin-Narkose durchgeführt. Weiterhin wurden verschiedene Alters- und Geschlechtsgruppen miteinander verglichen. Die echokardiographische Untersuchung umfasste hier sowohl sono-morphologische wie auch funktionelle Parameter. Zur Überprüfung der Zuverlässigkeit der Methode wurden die Inter-, sowie Intra-Observer-Variabilitäten bestimmt. Die Studie wurde dem Veterinär- und Lebensmittelüberwachungsamt der Stadt Münster angezeigt und am 15.04.1999 unter dem Aktenzeichen 23.0835.1.0 (G 41/99) genehmigt.

Aus den Daten ergab sich eine gute Korrelation für die Inter- und Intra-Observer-Variabilitäten. Zwischen den verschiedenen Alters- und Geschlechtsgruppen konnten im Wesentlichen keine großen Unterschiede festgestellt werden. Bedeutsam scheint für das Herzzeitvolumen und die linksventrikuläre Masse vor allem das Körpergewicht der Tiere. Hier macht es, wie es auch in der humanmedizinischen Echokardiographie durchgeführt wird, Sinn, die Werte als Indizes im Bezug auf das Körpergewicht oder, wie in anderen Arbeiten, im Vergleich zur Tibia-Länge anzugeben.

Für zukünftige echokardiographische Datenerhebungen bei Mäusen können die hier erhobenen Daten als Referenzwerte verwendet werden und liefern so eine gute Basis für neue Untersuchungen zum Beispiel an gentechnischen Mausmodellen für kardiovaskuläre Erkrankungen.

Tag der mündlichen Prüfung: 08.12.2005

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1	Einleitung 3
1.1	Kardiovaskuläre Erkrankungen heute 3
1.2	Die Echokardiographie 3
1.2.1	Kurzer geschichtlicher Überblick über den kardialen Ultraschall 3
1.2.2	Physikalisch-technische Grundlagen..... 6
1.2.2.1	M-Mode..... 9
1.2.2.2	Zweidimensionales B-Bild 10
1.2.2.3	Dopplertechnik 11
1.2.3	Die Rolle der Echokardiographie in der medizinischen Diagnostik 13
1.3	Die Maus als Modell 14
1.3.1	Warum ein Maus-Modell?..... 14
1.3.2	Echokardiographie bei der Maus 16
1.3.3	Narkose bei der Maus 20
2	Material und Methoden..... 21
2.1	Material..... 21
2.1.1	Geräte 21
2.1.2	Medikamente und andere Verbrauchsmaterialien 21
2.1.3	Verwendete Narkoselösung 21
2.1.4	Tiere..... 22
2.2	Erhebung der Werte..... 22
2.2.1	Vorbereitung des Echokardiographiegerätes 23
2.2.2	Vorbereitung der Versuchstiere 24
2.2.3	Messungen..... 24
2.2.3.1	B-Bild 25
2.2.3.2	M-Mode..... 25
2.2.3.3	Dopplermessungen..... 26
2.2.4	Abdominelle Sonographie 28
2.2.5	Inter- und Intra-Observer-Variabilität 30
2.3	Tötung der Tiere und Organpräparation..... 30
2.4	Berechnung der Werte 30
2.5	Statistische Auswertungen..... 33
3	Ergebnisse 35
3.1	Alters- und Geschlechtsunterschiede 35
3.1.1	Grundmessgrößen..... 35
3.1.2	Echokardiographie..... 37
3.1.2.1	Messungen im B-Bild 37
3.1.2.2	Messungen im M-Mode 40
3.1.2.3	Doppler-Messungen 41
3.1.2.4	Messungen der Funktionsparameter 44
3.1.2.5	Messungen der Nieren..... 48
3.2	Intra-Observer-Variabilitäten..... 51
3.2.1	Grundmessgrößen..... 51
3.2.2	Echokardiographie..... 53
3.2.2.1	Messungen im B-Bild 53
3.2.2.2	Messungen im M-Mode 56
3.2.2.3	Doppler-Messungen 57
3.2.2.4	Messungen der Funktionsparameter 59

3.3	Inter-Observer-Variabilitäten.....	62
3.3.1	Grundmessgrößen.....	62
3.3.2	Echokardiographie.....	64
3.3.2.1	Messungen im B-Bild	64
3.3.2.2	Messungen im M-Mode	68
3.3.2.3	Doppler-Messungen	69
3.3.2.4	Messungen der Funktionsparameter	73
4	Diskussion.....	76
4.1	Geschlechts- und Altersunterschiede	77
4.1.1	Grundmessgrößen.....	77
4.1.2	Echokardiographie.....	77
4.1.2.1	Messungen im B-Bild	77
4.1.2.2	Messungen im M-Mode	78
4.1.2.3	Doppler-Messungen	79
4.1.2.4	Messungen der Funktionsparameter	80
4.1.2.5	Messungen der Nieren.....	80
4.2	Intra-Observer-Variabilitäten.....	81
4.3	Inter-Observer-Variabilitäten.....	81
4.4	Echokardiographie versus Nekrotomie	82
4.5	Narkose bei der Maus	83
4.6	Studienbegrenzungen	85
5	Zusammenfassung	87
6	Literaturverzeichnis	89
7	Abkürzungen.....	98
8	Lebenslauf	100
9	Danksagungen.....	101

1 Einleitung

1.1 Kardiovaskuläre Erkrankungen heute

Kardiovaskuläre Erkrankungen spielen in der Todesursachenstatistik eine bedeutende Rolle. Wie das Statistische Bundesamt mitteilt, starben im Jahr 2001 in Deutschland nach vorläufigen Ergebnissen der Todesursachenstatistik insgesamt 828 500 Personen (383 900 Männer und 444 600 Frauen. Bei nahezu jedem zweiten Verstorbenen (160 200 Männer und 231 100 Frauen) wurde der Tod durch eine Erkrankung des Kreislaufsystems ausgelöst. Infolge von Kreislaufkrankungen starben insbesondere ältere Menschen, ca. 90% der Verstorbenen waren über 65 Jahre alt. Frauen starben häufiger an Kreislaufkrankungen, weil sie im Durchschnitt älter wurden als Männer. Von den 71 000 Personen, die infolge eines Herzinfarkts verstarben, waren hingegen 55% Männer und 45% Frauen [68].

Der Anteil von Herz-Kreislauf-Erkrankungen an allen Todesursachen betrug im Jahr 2001 31,8%.

Mögliche genetische Ursachen sind hierbei bisher weitgehend ungeklärt. Als Modell für die Diagnose und Entwicklung von Präventions- und Therapieverfahren möglicher genetischer Ursachen bietet sich, wie im folgenden erläutert werden soll, die Maus als Versuchstier an. Zur nicht-invasiven kardiologischen Diagnostik wurde in der vorliegenden Arbeit die echokardiographische Untersuchung bei Wildtyp-Mäusen durchgeführt.

Ziel der vorgelegten Arbeit war eine umfassende Erstellung von Normwerten Dopplerechokardiographischer Daten für die Wildtypmaus, die als Grundlage für den späteren Vergleich mit kardiovaskulär veränderten Mäusen herangezogen werden können.

Die Arbeit entstand in Zusammenarbeit mit der Zentralen Projektgruppe 4 (ZPG 4, Kleintierdiagnostik) des Interdisziplinären Zentrums für Klinische Forschung (IZKF) der Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms Universität (WWU) Münster.

1.2 Die Echokardiographie

1.2.1 Kurzer geschichtlicher Überblick über den kardialen Ultraschall

Seit der Entdeckung der Röntgenstrahlen durch W. K. Röntgen war die Ultraschalluntersuchung des Herzens der wichtigste Fortschritt in der kardiologischen Diagnostik. Ihre Entwicklung verlief nahezu parallel zu den rasanten Fortschritten in der Elektronik und der

Computertechnologie und ist so ein Beispiel für das Zusammenspiel verschiedener Entdeckungen von Ingenieuren, Physikern und Klinikern.

Die Existenz des Ultraschalls wurde von L. Spallanzani (1729 – 1799) entdeckt. Er zeigte, dass Fledermäuse, die blind sind, sich mit Hilfe der Echoreflexion von Tönen orientieren können, die für das menschliche Ohr nicht hörbar sind. 1880 entdeckten Jacques und Pierre Curie den piezoelektrischen Effekt, der zur Grundlage für die Anfänge der Untersuchungen zum Ultraschall wurde. Später wurden die piezoelektrischen Kristalle durch ferroelektrische Materialien ersetzt. Die Technologie für die Nutzung des Ultraschalls auf medizinischem Gebiet kam jedoch aus dem SONAR (sound navigation and ranging)-System.

Der Österreicher K. T. Dussik war 1941 der erste, der den Ultraschall in der medizinischen Diagnostik einsetzte. Er versuchte, die Ventrikel des Gehirns mit Echodurchdringung darzustellen und publizierte seine Ergebnisse im selben Jahr in der Zeitschrift für Neurologie unter dem Titel „Über die Möglichkeit, Hochfrequente Mechanische Schwingungen als Diagnostisches Hilfsmittel zu verwerten“ [57].

1950 führte der Deutsche W. D. Keidel die erste Ultraschalluntersuchung des Herzens durch. Sein Ziel war hierbei die Bestimmung des kardialen Auswurfes [57].

Die ersten Experimente, die zur Untersuchung des Herzens die Echoreflexion benutzten, wurden von I. Edler und C. H. Hertz in Lund, Schweden durchgeführt. Sie erstellten 1953 das erste Echokardiogramm des Herzens und veröffentlichten ihre Ergebnisse im Folgejahr unter dem Titel „The use of ultrasonic reflectoscope for continuous recording of the movements of heart walls“ in der schwedischen Zeitschrift *Kungliga Fysiografiska Sällskapets i Lund förhandlingar*. Bei ihren Untersuchungen erwies sich das Bewegungsmuster der Mitralklappe bei Mitralklappenstenose im M-Mode als so charakteristisch, dass es eine sofortige und sichere Diagnose der Mitralklappenstenose ermöglichte [49].

Neben Edler und Hertz zählt der Deutsche Sven Effert zu den Vätern der klinischen Echokardiographie. 1959 gelang ihm mit dieser Methode die Erstbeschreibung eines Vorhofmyxoms [26].

In den späten 60er Jahren wurde der fiberoptische Rekorder eingeführt, der es nun gestattete, alle Strukturen entlang des Ultraschallstrahls aufzuzeichnen. Dies stellte den definitiven Durchbruch in der Echokardiographie dar. Auch heute noch ist die M-Mode-Echokardiographie wegen ihrer guten zeitlichen Auflösung ein wichtiger Teil der kompletten Herzultraschalluntersuchung.

Zur gleichen Zeit ergaben sich große Fortschritte durch die Entwicklung von zweidimensionalen Echtzeit-Echokardiogrammen. Nach der frühen Pionierarbeit von J. J. Wild

und J. M. Reid in den frühen 50er Jahren führten europäische und japanische Wissenschaftler auf verschiedenen Prinzipien (s.u.) basierende 2D-Echtzeit-Instrumente ein [57] [58]. Der praktische Nutzen dieser Instrumente war jedoch begrenzt. 1968 hatte J. Somer den ersten elektronischen Phased-Array-Scanner gebaut. J. Griffith und W. Henry führten 1974 den mechanischen Sektorscanner ein, im gleichen Jahr, in dem F. J. Thurstone und O. T. von Ramm ihren elektronischen Phased-Array-Scanner ähnlich dem von Somer gebauten Modell konstruiert hatten [57]. Heute sind solche Phased-Array-Scanner die am weitesten verbreiteten Bildgebungsinstrumente in der kardiologischen Diagnostik.

In der Entwicklung der Doppler-Technologie spielte zunächst deren Namensgeber, der Österreicher Christian Johann Doppler (1803 – 1853) eine bedeutende Rolle. Er stellte fest, dass das Frequenzspektrum des von Sternen ausgesandten Lichts durch die Bewegung der Sterne eine Änderung erfährt: Bei Sternen, die sich auf die Erde zubewegen, wird das Frequenzspektrum höher, es wird im Mittel gering nach Ultraviolett verschoben.; bei Sternen, die sich von der Erde wegbewegen, wird die Frequenz der Lichtwellen im Mittel niedriger, es findet eine Rotverschiebung des Spektrums statt. Der gleiche Effekt wurde später auch bei anderen Wellen, z. B. bei Schallwellen beobachtet. Die Verschiebung, die das Frequenzspektrum durch die Bewegung der Schallquelle erfährt, wird als Dopplershift bezeichnet [1].

Doppler arbeitete die mathematische Beziehung zwischen Frequenzveränderungen des Schalls und der relativen Bewegung der Schallquelle (und des Untersuchers) aus und veröffentlichte seine Forschungsergebnisse „Über das farbige Licht der Dopplersterne und einiger anderer Gestirne des Himmels“ im Jahr 1843 in den Abhandlungen der Königlich-Böhmischen Gesellschaft der Wissenschaften [1]. Seine Theorie wurde 1845 von C. H. D. Buys Ballot (1817 – 1890) in Utrecht in der Praxis untersucht [57].

Die Erforschung der Blutflußgeschwindigkeiten mit den Dopplerfrequenzen begann mit S. Sotomura und seinen Mitarbeitern 1957. Die gepulste Dopplertechnik wurde beinahe gleichzeitig von P. N. T. Wells, P. A. Peronneau et al. und D. W. Baker eingeführt [57]. Diese Methode erlaubte es, eine Tiefeneinstellung für die Frage nach Blutflüssen vorzunehmen, der größere Fortschritt für ihre klinische Akzeptanz war ihre Kombination mit der Bildgebung: Der Duplexscanner wurde 1974 von F. E. Barber et al. [57] [58] publiziert. Diese Entwicklung führte schließlich zur Integration des gepulsten Dopplers in das zweidimensionale Phased-Array-System und erlaubte es, den Blutfluss in einer ausgewählten Region des Bildfeldes zu messen. Die Bernouilli-Gleichung ist die Grundlage der Doppleruntersuchungen kardialer

Hämodynamik und wurde 1738 von dem gebürtigen Holländer D. Bernoulli (1700 – 1782) in seiner Abhandlung „Hydrodynamica“ publiziert.

J. Holen et al. zeigten 1976 mit der Arbeit „Determination of pressure gradient in mitral stenosis with a noninvasive ultrasound Doppler technique“, dass diese Gleichung, die das Verhältnis vom Druckabfall zur Flußrate an einer Obstruktionsstelle im Inneren eines Rohres beschreibt, auch auf die Dopplertechnik anwendbar ist [49]. Die endgültige klinische Etablierung der Dopplermethode erfolgte in den späten 70er Jahren vor allem durch die Arbeit von L. Hatle und seinen norwegischen Mitarbeitern [49].

1978 produzierte der Schweizer M.A. Brandestini mit seinen Mitarbeitern ein digitales 128-Kanal Multigate-Dopplerinstrument, das es ermöglichte, kardiale Strukturen und Blutflüsse in Farbe und Echtzeit darzustellen [57]. C. Kasai et al. [36] konstruierten 1982 das revolutionäre Farbdoppler-Bildgebungssystem, das es ermöglichte, ein nicht-invasives „Angiogramm“ normaler und pathologischer Blutflüsse auf einer Schlag-zu-Schlag-Basis anzufertigen.

Zur Zeit werden M-Mode, 2D-Bildgebung, Spektraler Doppler (Pulsed-wave-, Continuous-wave-Doppler) und Farbdoppler in einer diagnostischen Säule kombiniert und repräsentieren die kompletteste Art kardialer Diagnostik durch Bereitstellung von integrierten strukturellen, funktionellen und hämodynamischen Informationen. Ein modernes Echo- und Doppler-Labor kann heutzutage als „nicht-invasives Bild- und Hämodynamiklabor“ bezeichnet werden [57] [58] [49]. Neuere Doppler-Entwicklungen beinhalten Tissue Doppler Imaging, Power Doppler Strain und Strain Rate, die jedoch in der vorliegenden Arbeit nicht zur Anwendung gekommen sind.

1.2.2 Physikalisch-technische Grundlagen

Ultraschall ist eine Bezeichnung für mechanische Wellen einer Frequenz von $18000 - 10^{10}$ Hz, die jenseits der menschlichen Hörfähigkeit liegt. In der medizinischen Diagnostik werden Frequenzen der Größenordnung von 1 – 10 MHz verwendet.

Frequenzbereich (Hz)	Bezeichnung
0 – 16 Hz	Infraschall
16 – 18000 Hz	Hörschall
18000 - 10^{10} Hz	Ultraschall
mehr als 10^{10} Hz	Hyperschall

Tabelle 1-1: Frequenzeinteilung der Schallwellen [47]

Ultraschallwellen können mit piezoelektrischen (polargebauten) Kristallen erzeugt werden. Hierbei kommt es in einem Kristall bei Anlegen einer elektrischen Wechselspannung entsprechend den wechselnden Feldrichtungen zu periodischen Änderungen der Kristalldicke. Bei Reflexion des ausgesandten Ultraschallstrahls kann derselbe Kristall als Empfänger dienen und auf umgekehrtem Wege ein elektrisches Signal erzeugen. Bei einer üblichen Impulsfrequenz von 1000 Impulsen/s und einer Impulsdauer von 1 μ s steht dem Kristall pro Impuls eine Empfangszeit von 999 μ s zur Verfügung. Die Schallgeschwindigkeit errechnet sich nach der Gleichung:

$$v = \lambda \cdot f$$

λ =Wellenlänge, f = Frequenz

Sie ist abhängig von der spezifischen Dichte des entsprechenden Mediums. Während die Schallgeschwindigkeit in Luft 330 m/s beträgt, ist sie in Wasser mit 1497 m/s und in biologischen Geweben mit 1560 m/s anzunehmen.

Medium	Schallgeschwindigkeit m/s	Dichte g/cm ³	Schallwellenwiderstand g/cm ² x 10 ⁵
Wasser	1483 – 1502	0,997	1,490 x 10 ⁻⁵
Luft	331	0,0012	41,3 x 10 ⁻⁵
Gewebe	1490 – 1610	1,060	1,58 – 1,70 x 10 ⁻⁵
Knochen	3360 – 4080	1,85	6,200 x 10 ⁻⁵

Tabelle 1-2: Akustische Größen verschiedener Medien (nach Otto)[47]

An Grenzflächen mit unterschiedlicher akustischer Eigenschaft (Impedanz) kommt es zu einer differentiellen Reflexion, die abhängig ist von der Schallgeschwindigkeit, der Dichte und dem Schallwellenwiderstand des einzelnen Gewebes. So ist z.B. der Impedanzsprung zwischen Wasser und Luft bzw. zwischen Wasser und Knochen aufgrund der verschiedenen Dichten und Schallwellengeschwindigkeiten ganz erheblich.

Aufgrund dieser Phänomene entstehen an luftgefüllten (gashaltigen) Organen und an Knochengeweben „systematische Bildfehler“, welche wegen der starken oder totalen Reflexion bzw. Absorption zu einer so starken Schwächung des Ultraschalls führen, dass keine Energie mehr in die tieferen Zonen gelangt. Daher kehren aus diesem Raum keine Echos zurück („schalltote Zone“ oder „Schallschatten“).

In Flüssigkeiten ist die Schwächung des Ultraschallimpulses so gering, dass es an der dahinterliegenden Zone zu einer übermäßigen Verstärkung infolge der starken Bremsung bzw. der verstärkten Reflexion zur sog. „Überstrahlung“ oder „Schallverstärkung“ kommt.

Die Interpretation eines sonographischen Bildes ergibt sich aus den reflektierten Echomustern. Echos entstehen nicht nur an den Grenzen von beispielsweise zwei Organen, sondern auch in den Organen selbst. Es wird also nicht nur der Umriß eines Organs, sondern auch seine Strukturen auf dem Monitor abgebildet [47].

In Kenntnis der mittleren Schallgeschwindigkeit im Körpergewebe und der gemessenen Zeit zwischen Abgabe des Impulses und Empfang des reflektierten Signals kann die Entfernung der Grenzfläche zum Schallkopf errechnet werden [14].

Die axiale Auflösung einer Ultraschallregistrierung ist definiert als die Fähigkeit, zwei auf einer Achse des Ultraschallstrahls hintereinander liegende Punkte als zwei Punkte zu erkennen. Sie ist um so besser, je kleiner die Wellenlänge ist. Eine konstante Schallgeschwindigkeit in biologischem Gewebe vorausgesetzt, ergibt sich eine Verminderung der Wellenlänge bei Zunahme der Frequenz. Um eine bessere axiale Auflösung zu erreichen, ist also eine hohe Schallfrequenz anzustreben. Da jedoch die Eindringtiefe in umgekehrt proportionaler Beziehung zur Frequenz steht, müssen bei der Auswahl der Ultraschallfrequenz die Erfordernisse einer guten axialen Auflösung und eine ausreichende Eindringtiefe in Einklang gebracht werden. Bei Erwachsenen kommen in der Echokardiographie meistens 2,25- bis 3,5-MHz-Schallköpfe zum Einsatz, während die Ultraschalldiagnostik bei Kindern in der Regel mit 5-MHz-Transducern und die Doppleruntersuchungen von Gefäßen mit 10-MHz-Transducern durchgeführt werden.

Mit lateraler Auflösung wird die Fähigkeit bezeichnet, zwei senkrecht zum Schallstrahl nebeneinander liegende Punkte zu differenzieren. Sie wird durch die Breite des Schallstrahls bestimmt. Die Ausbreitung des Ultraschalls erfolgt innerhalb einer bestimmten Distanz, dem Nahfeld, zunächst parallel und divergiert dann im so genannten Fernfeld. Da die Ausdehnung des Nahfeldes sich nach der Formel

$$l = \frac{r^2}{\lambda}$$

r = Radius des Schallkopfes

errechnet, kann eine Verlängerung des Nahfeldes durch Verkürzung der Wellenlänge oder Vergrößerung des Schallkopfs erreicht werden. Der Divergenzwinkel des Ultraschallstrahls im Fernfeld ergibt sich aus der Beziehung

$$\frac{0,61 \cdot \lambda}{r}$$

Das Ausmaß der Divergenz kann durch Fokussierung der Schallköpfe vermindert werden. In der Regel werden Schallköpfe verwendet, die auf 5, 7 oder 10 cm fokussiert sind.

Die bildliche Darstellung der reflektierten Ultraschallimpulse kann mit einem Oszillographen nach folgenden Methoden erfolgen:

- Das Verfahren der Amplitudenmodulation (A-Mode) stellt die reflektierten Ultraschallimpulse als senkrechte Linien dar, deren Amplitude zur Intensität der Echosignale proportional ist.
- Die Brightness-Modulation (B-Mode) ermöglicht die Bildwiedergabe der Echos in Form von Lichtpunkten, deren Helligkeit zur Intensität der reflektierten Ultraschallsignale proportional ist. Eine Vielzahl B-modulierter Echos in einer Ebene erlaubt die Darstellung eines zweidimensionalen Bildes.
- Das M-Mode-Verfahren entsteht durch Ablenkung der Lichtpunkte des B-Mode mit einer konstante Geschwindigkeit über den B-Mode-Bildschirm. Dadurch werden bewegliche Strukturen als Wellenlinien dargestellt.

Auf die zwei derzeit gebräuchlichen Verfahren soll im Folgenden noch kurz eingegangen werden.

1.2.2.1 M-Mode

M-Mode (Motion-Mode) = 1D = Time Motion (engl.: time = Zeit, motion = Bewegung) = TM-Verfahren.

Diese Methode arbeitet nach dem Prinzip des Weg-Zeit-Verfahrens. Das an einem Kristall angelegte Spannungsfeld wird nach entsprechender Verstärkung einem Kathodenstrahloszillographen zugeführt und bewirkt eine vertikale Auslenkung (= Amplitude) des Elektronenstrahls. Die Echos werden als Bildpunkte dargestellt. Die Leuchtdichte ist von der Höhe der Amplitude abhängig. Durch zeitliches „Aneinanderreihen“ von aneinanderfolgenden Echozeilen auf einem Speicher (Monitor) oder auf lichtempfindlichem Papier wird der zeitliche Ablauf von Bewegungen im durchschallten Organ erkennbar.

Die eindimensionale M-Mode-Echokardiographie wird in der Diagnostik zur Beurteilung der Herztätigkeit angewandt und ist heute mit den 2D-Verfahren eine der wichtigsten diagnostischen Methoden der Kardiologie.

1.2.2.2 Zweidimensionales B-Bild

B-Bild = Brightness-Scan (engl.: brightness = Helligkeit) = B-Scan = 2D-Verfahren.

Das B-Bild ermöglicht eine wesentlich bessere Darstellung der echogebenden Strukturen. Die reflektierten und verstärkten Impulse werden zur Herstellung des Elektronenstrahls benutzt, wobei die Echos als Lichtpunkte aufgezeichnet werden. Der Wandler wird senkrecht über die Hautfläche des Patienten geführt und die den Echos entsprechenden Lichtpunkte reihen sich aneinander und ergeben einen Umriß des zu untersuchenden Organs auf dem Monitor. Es entsteht die räumliche (2D-)Struktur, die eine wirkliche Darstellung des Organs und auch eine reale Beurteilung in der zweiten Dimension zulässt.

Unter den B-Scannern gibt es zwei verschiedene Arten:

Statische B-Scanner (z. B. Compoundscanner) haben einen langsamen Bildaufbau, der nach Sekunden zu einem eingefrorenen, nicht beweglichen Bild führt (heute kaum noch in Anwendung).

Dynamische B-Scanner (Real-Time-Scanner) (engl.: real = echt, time = Zeit): Schnittbildverfahren („schnelles B-Bild“), die einen schnellen Bildaufbau des zu untersuchenden Gebietes in ca. 70 ms zeigen. Dadurch ist eine schnelle Bildfolgefrequenz (15 – 40 Bilder/s) möglich, die eine fortlaufende, zeitlich reale („Real-time“-) Registrierung des zu untersuchenden Organs zulässt [47].

Die ersten Schallköpfe dieser Art bestanden aus parallel ausgerichteten Kristallen, die entsprechende lineare Bilder erzeugten. Sie sind für die Untersuchung des Herzens jedoch nicht geeignet, da der Linearschallkopf mit seiner großen Aufsatzfläche durch die Rippen keine adäquate Schallkopfposition erlaubt. Es wurden deshalb Systeme entwickelt, bei denen mit kleineren Schallköpfen Bildausschnitte erzeugt werden. Hierbei wird durch einen Ultraschallstrahl ein Bildsektor abgetastet. Diese Methode der schnellen Bildabtastung beruht in erster Linie auf zwei Prinzipien:

1. Bei mechanischen Sektorscannern erfolgt die Bildabtastung durch die Drehbewegung eines Schallgebers um eine Achse in einem vorgegebenen Winkel oder durch die Rotation von 3 bis 4 Schallelementen auf einem Rad. Bei einer Bildfolge von 30 Bildern/s kann ein Sektor von 45 – 90° dargestellt werden.
2. Das Phased-Array-Prinzip besteht in der elektronisch verzögerten Ansteuerung von nebeneinander angeordneten Einzelkristallen, durch die ein Bildsektor bis zu 90° aufgebaut werden kann. In Abhängigkeit von der gewählten Tiefe ist eine Bildfolge von bis zu 30 Bildern/s möglich. Durch elektronische Fokussierung wird eine gute laterale Auflösung erreicht. Ein weiterer Vorteil dieses Systems liegt in der

vergleichsweise geringen Größe des Schallkopfs. Weiterhin ist im Gegensatz zur mechanischen zweidimensionalen Echokardiographie im Phased-Array-System eine simultane M-Mode-Registrierung entlang eines Ultraschallstrahls des Bildsektors möglich [14].

1.2.2.3 Dopplertechnik

Alle Techniken der ultraschallbasierten Darstellung von Blut in Gefäßen und Organen bedienen sich der Echofrequenz f_{received} , welche von sich bewegendenden Blutzellen als Antwort auf die mittlere Frequenz des transmittierten Ultraschalls $f_{\text{transmitted}}$ erhalten wird. Die Änderung der Frequenz einer Ultraschallquelle zwischen dem gesendeten und dem empfangenen Schall infolge der Bewegung (v) der roten Blutkörperchen im Vergleich zur Geschwindigkeit des Schalls (c) im Gewebe ist bekannt als Dopplereffekt. Abhängig von der Richtung des Blutflusses und dem Beschallungswinkel α kann f_{received} höher oder niedriger sein als $f_{\text{transmitted}}$, was in einem meßbaren positiven oder negativen mittleren Dopplerfrequenzshift f_D resultiert:

$$f_D = f_{\text{received}} - f_{\text{transmitted}} = 2 \cdot f_{\text{transmitted}} \cdot \frac{v}{c} \cdot \cos(\alpha).$$

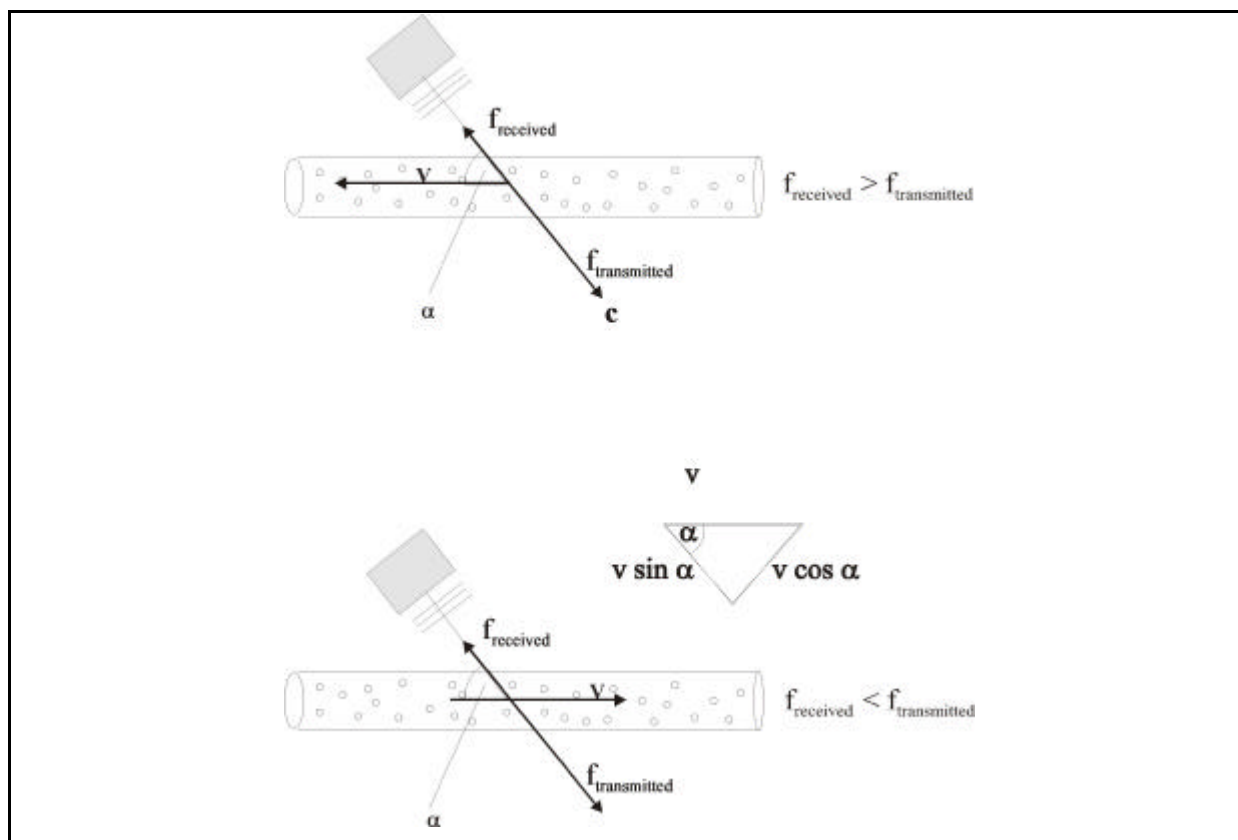


Abbildung 1-1: Bestimmung der Echofrequenz f_{received} eines zufälligen Ultraschallstrahls im Blut durch den Dopplereffekt und den Dopplerwinkel [38]

Die Echosignale der roten Blutkörperchen sind 100 – 1000 mal niedriger als die Echosignale von umgebenden Gefäßwänden oder Organen. Daher erfordert die Signalprozessierung eine Unterscheidung zwischen den niedrigeren Blut- und den höheren Gewebssignallevels [38].

Unter den Dopplerverfahren unterscheidet man nun zunächst zwei verschiedene Arten: Den CW- (kontinuierlichen, engl. continuous-wave-) Doppler und den PW- (gepulsten, engl. pulsed-wave-) Doppler. Diese unterscheiden sich grundsätzlich in der Methode der Signalerzeugung und Detektion des Dopplershifts.

Die *CW-Dopplersonde* benutzt zwei getrennte piezoelektrische Elemente. Eines sendet ständig, das zweite ist kontinuierlich auf Empfang geschaltet. Es interessiert ausschließlich die Frequenzdifferenz zwischen ausgesandtem und empfangenem Schall, der Dopplershift. Die Frequenzverschiebung Δf wird meist über einen Nulldurchgangszähler („zero-crossing detector“) analysiert und graphisch wiedergegeben. Sie kann aber auch als akustisches Signal dargestellt werden, da der Dopplershift im Kilohertz-, und damit Hörbereich liegt. Auf diese Weise kann auch das menschliche Ohr als Frequenzanalysator eingesetzt werden [84].

Die Herkunft des Dopplersignals ist beim CW-Doppler-Verfahren zunächst unbekannt. Eine gleichzeitige Schnittbilddarstellung des untersuchten Organs oder Gefäßes ist nicht möglich. Das CW-Flußsignal besteht immer aus einem breiten Frequenzspektrum, da Reflexe von unterschiedlich rasch strömenden Blutkörperchen entlang der Ausbreitungsrichtung des Schallstrahls empfangen werden [1].

Beim *PW-Doppler* wird indessen *ein* piezoelektrisches Element abwechselnd als Sender und Empfänger benutzt. Die Schallsonde sendet entlang einer definierbaren Ultraschallachse kurze, gepulste Dopplersignale in rascher Folge mit einer der Schalltiefe angepaßten Pulsrepetitionsfrequenz (PRF) aus. Auf diese Weise kann festgestellt werden, aus welcher Tiefe das interessierende Strömungssignal stammt. Das zurückkehrende Frequenzsignal wird also nicht nur hinsichtlich seines Frequenzspektrums, sondern auch hinsichtlich seiner Laufzeit analysiert. Die PW-Methode gestattet es, die Doppleruntersuchung mit dem Schnittbild oder dem M-Mode-Echokardiogramm zu kombinieren (Duplex-Verfahren). Dadurch können gezielt Messungen an bestimmten Stellen innerhalb des Herzens durchgeführt werden. Über Torschalter kann das System in definierten Zeitabständen auf Empfang geschaltet werden. Dadurch entsteht ein umschriebenes Meßtor (Gate), das in der Größe variiert werden kann (Meßvolumen, engl. sample volume). Das PW-Flußsignal besteht nur aus einem schmalen Frequenzspektrum, da nur Reflexe von annähernd gleich schnell strömenden Blutkörperchen von einem Punkt des Schallstrahls empfangen werden [1].

Verschiedene Methoden der Spektrumsanalyse erlauben eine genauere Beurteilung des Dopplersignals. Die am häufigsten verwendete Fast-Fourier-Transformation (FFT) zerlegt das empfangene und demodulierte Frequenzgemisch in ein Spektrum von Grundschwingungen und digitalisiert sie über einen mathematischen Algorithmus annähernd in Echtzeit.

Die graphische Darstellung des analysierten Dopplersignals erfolgt in der Regel als Frequenz-Zeit-Spektrum und enthält drei Dimensionen:

- Doppler-Frequenzverschiebung (= Strömungsgeschwindigkeit) auf der Ordinate
- Zeitliche Änderung der Frequenzverschiebung auf der Abszisse
- Amplitude als Punktdichte bzw. Farbintensität auf der Ordinate (= Anzahl der durch den Schallstrahl tretenden Erythrozyten, Intensität, Volumen)

Aus dem Frequenz-Zeit-Spektrum können bei bekanntem Dopplerwinkel folgende wichtige Parameter berechnet werden:

- systolische Maximalfrequenz (-geschwindigkeit, V_{max})
- mittlere Frequenz (Geschwindigkeit, V_{mean})
- früh-/enddiastolische Maximalfrequenz (-geschwindigkeit, V_{min}).

1.2.3 Die Rolle der Echokardiographie in der medizinischen Diagnostik

Die Echokardiographie spielt heute in der kardiologischen Basisdiagnostik eine bedeutende Rolle. Sie ist die zur Zeit am weitesten verbreitete Methode zur Beurteilung der kardialen Anatomie und Funktion [49].

Als einfache und schnell durchzuführende Methode mit großer Kosteneffizienz findet sie bei nahezu allen kardiologischen Patienten Anwendung. Dennoch sollte sie stets als ein Teil der gesamten kardiologischen Diagnostik betrachtet werden und durch andere geeignete Verfahren ergänzt werden, denn erst in der Zusammenschau mehrerer kardiologischer Untersuchungsverfahren ergibt sich ein umfassendes Bild des kardiologischen Befundes eines Patienten.

Mittels Echokardiographie können heute vielfältige Fragestellungen bearbeitet werden. So ermöglicht es die Echokardiographie, Aussagen über Größenverhältnisse des Herzens, sowie seiner Bestandteile, Klappenfunktionen und deren Schädigungen, wie Insuffizienzen oder Stenosen, aber auch Vegetationen und Dismorphien zu treffen. Weiterhin gibt die Methode Auskunft über Störungen in der Wandbewegung des Herzens, sowie über Unregelmäßigkeiten in der Morphologie. Mit den Dopplerverfahren ist es möglich, Fluß- und Druckverhältnisse

im Herzen zu messen, sowie mit dem Farbdoppler Richtungsänderungen von Flüssen zu erkennen.

All dies hat dazu geführt, dass die Echokardiographie aus der heutigen kardiologischen Diagnostik nicht mehr wegzudenken ist.

Zum Einsatz kommen in der klinischen Diagnostik im Wesentlichen zwei Verfahren: Die transthorakale Echokardiographie als Basisuntersuchung und die transösophageale Echokardiographie, die vor allem zur Darstellung der Vorhöfe und zum Ausschluß von Klappenvegetationen und Vorhofthromben benutzt wird.

Weiterhin gibt es die Möglichkeit, im Rahmen einer Koronarangiographie über einen Katheter einen intrakoronaren Ultraschall (intravaskulärer Ultraschall, IVUS) durchzuführen, der Aussagen über die subendotheliale Wandbeschaffenheit der Koronararterien zulässt.

1.3 Die Maus als Modell

1.3.1 Warum ein Maus-Modell?

Die Manipulation des Genoms von Säugern mit transgenen Techniken hat sich zu einer leistungsfähigen Methode für die Identifizierung der molekularen Mechanismen entwickelt, die der Entwicklung und Funktion des Herzens zugrunde liegen. Obwohl eine Vielzahl von Tieren bisher schon für transgene Experimente benutzt wurde, ist die Maus dabei am eingehendsten untersucht worden [32].

Für die Bevorzugung des Mausmodells gibt es demnach verschiedene Gründe:

Zunächst ist die Maus eine Tierart mit einem vergleichsweise kleinen Genom. Dadurch läßt sich relativ leicht an ihrem genetischen Material experimentieren. Die Manipulation an Stammzellen von Maus-Embryonen hat sich als reproduzierbare Methode mit hoher Erfolgsrate erwiesen [10]. Die erste erfolgreiche genetische Manipulation der Maus wurde 1980 mit einer direkten Injektion fremder DNA-Fragmente in fertilisierte Eizellen durchgeführt. Ein bedeutender Fortschritt in der Genauigkeit genetischer Veränderungen des Mausgenoms ergab sich durch die Technik der homologen Rekombination, die embryonale Stammzellen benutzte, um Mutationen an spezifischen DNA-Sequenzzielen auszulösen. Zur Zeit werden neuere Techniken entwickelt, mit denen es möglich sein wird, Genmanipulation in einer räumlich und zeitlich spezifischen Art und Weise so durchzuführen, dass das interessierte Gen im Herzen zu jeder beliebigen Zeit und an jeder beliebigen Stelle ausgeschaltet werden kann [4]. In der Zukunft wird es möglich sein, genetische Defekte, die kardiale Erkrankungen auslösen können, bei

Mäusen gezielt zu erzeugen und an diesem Modell den Verlauf der jeweiligen Erkrankungen zu beobachten, sowie Präventions- und Therapieverfahren zu entwickeln.

Für die Bevorzugung des Mausmodells ist weiterhin von Bedeutung, dass in den vergangenen Jahren einige chirurgische Techniken entwickelt worden sind, die Bedingungen für kardiale Funktionseinschränkungen bei der Maus imitieren. Diese erlauben es, die physiologischen und morphologischen Antworten auf diese Modelle zu untersuchen und dadurch Rückschlüsse auf das menschliche Herz zu ziehen.

So entwickelten Rockman et al. [56] mit einem thorakalen Aortic Banding eine linksventrikuläre konzentrische Hypertrophie durch Druckbelastung des linken Ventrikels, sowie [54] [55] mittels pulmonalem Banding eine rechtsventrikuläre konzentrische Hypertrophie. Tanaka et al. [73] benutzten eine arteriovenöse Fistel zur Erzeugung einer exzentrischen Hypertrophie über eine kardiale Volumenbelastung und Michael et al. [45] erzeugten über die Ligatur einer Koronararterie eine regionale myokardiale Ischämie [4]. Tarnavski et al. [74] beschrieben detailliert die Verfahrensweise für Operationen am kardiovaskulären System der Maus. Diese chirurgischen Interventionen zusammen mit genetischen Veränderungen an den Mäusen und das Verhalten dieser Mäuse unter den Bedingungen kardialer Erkrankungen im Vergleich mit ihren nichtmanipulierten Artgenossen wird in Zukunft neue Erkenntnisse über die Mechanismen kardialer Erkrankungen und Entwicklungen erbringen.

Für die praktische Handhabung im Tierversuch ist weiter von Bedeutung, dass, verglichen mit anderen Versuchstieren, Mäuse eine relativ kurze Generationszeit besitzen und dadurch leicht verfügbar sind. Außerdem spielen finanzielle Gründe für die Bevorzugung des Mausmodells eine Rolle: Aufgrund ihrer Größe entstehen für Futter und Unterbringung der Tiere nur geringe Kosten.

Somit erscheint die Maus als ideales Versuchstier für genetische Versuche im medizinischen Bereich.

Trotz der Vorteile des Mausmodells wird die funktionelle Untersuchung der lebenden Tiere durch ihre kleine Größe und insbesondere die kardiale Untersuchung durch die schnelle Herzfrequenz deutlich eingeschränkt. Glücklicherweise haben die Miniaturisierung und Verfeinerung von Techniken, die zur kardialen Untersuchung bei größeren Tieren benutzt werden, diesen Wettbewerb aufgenommen. So kann heute der phänotypische Einfluß eines bestimmten Genes (und die Interaktion mit anderen Genen) in der genetisch veränderten Maus im In-Vivo-Kontext verstanden werden [31].

1.3.2 Echokardiographie bei der Maus

Die meisten Herzerkrankungen beim Menschen werden basierend auf funktionellen Parametern klassifiziert. Diese Erkrankungen hängen regelmäßig damit zusammen, dass das Herz nicht in der Lage ist, den nötigen Auswurf und Druck unter Ruhebedingungen oder unter Belastung aufrecht zu halten. Veränderungen in Größe und Form der Herzkammern während Systole und Diastole geben wichtige Informationen über Herzerkrankungen und phänotypischen Veränderungen des Herzens. Die Möglichkeit, die kardiale Funktion bei genetisch manipulierten Mäusen zu untersuchen, führt zu unerwarteten Möglichkeiten für die Entdeckung der Herzerkrankungen zugrundeliegenden Mechanismen [4].

Für die Diagnostik solcher Mechanismen am Tiermodell hat sich die Echokardiographie wegen ihrer einfachen, nicht-invasiven und schnellen Durchführbarkeit als besonders geeignet erwiesen. Durch die Weiterentwicklung der Technik der Echokardiographiegeräte ist es heute möglich, auch bei sehr kleinen Tieren wie der Maus mit sehr schnellen Herzfrequenzen echokardiographische Untersuchungen mit guter Validität durchzuführen und so als Hilfsmittel für die weitere Erforschung kardiovaskulärer Erkrankungen zu nutzen.

Echokardiographische Untersuchungen an der Maus wurden in der Literatur bereits von mehreren Arbeitsgruppen durchgeführt. Hierbei wurden jedoch häufig sehr kleine Anzahlen von Mäusen, insbesondere von Wildtypmäusen untersucht und nur Teile einer vollständigen echokardiographischen Untersuchung durchgeführt.

Eine Zusammenstellung der in der Literatur angegebenen echokardiographischen Untersuchungen zeigt Tabelle 1-3. Hierbei wurden Artikel mit einer Anzahl an untersuchten Wildtypmäusen unter 5 nicht berücksichtigt.

Autoren	- Mausart und –anzahl - Technische Ausstattung - Narkose	echokardiographisch untersuchte Daten
Bueno et al. (2000) [2]	- 6 Wildtyp- und 6 transgene Mäuse, Alter: 8 Wochen - HP Sonos 5500, Schallkopf: 15 MHz - Isofluran (2%)	- M-Mode
Cho et al.(1999) [3]	- 11 + 9 Wildtyp- und 13 +13 transgene Mäuse, Alter: 7 und 14 Wochen - ATL HDI 5000, Schallkopf nicht angegeben	- M-Mode

	- Avertin 2,5% (14 µl/g i.p.)	
Cittadini et al. (1999) [5]	- 30 Wildtyp und 30 transgene Mäuse, männlich, 12 Wochen - Hewlett-Packard Sonos 2500, Schallkopf 7.5-MHz - Ketamin (100 mg/kg)+ Xylazin (5 mg/kg)	- M-Mode
Colbert et al. (1997) [6]	- 10 Wildtyp- und 12 transgene Mäuse - HP Sonos 2500, Schallkopf: 7,5 MHz - Ketamin (50 µg/g) + Thiobarbital (100 µg/g) oder Isofluran	- M-Mode
Collins et al. (2001) [7]	- 38 Wildtyp-, 44 aortic banded und 9 transgene Mäuse - HP Sonos 5500, Schallkopf: 15 MHz - Isofluran 5%	- M-Mode - 2-D
Ding et al. (2000) [9]	- Wildtypmäuse und Mäuse mit Aortenstenose (n= 12 – 16 /Gruppe), Gewicht 12 – 15 g - HP, Schallkopf 12 MHz - Ketamin (50mg/kg) + Xylazin (2.5mg/kg)	- M-Mode
Du et al. (2000) [11]	- 12 + 11 + 13 Wildtyp und 10 + 12 + 11 transgene Mäuse beider Geschlechter - HP Sonos 5500, Schallkopf: 12 MHz - Ketamin (8 mg/100 g) + Xylazin (2 mg/100 g)	- M-Mode - 2-D
Du et al. (2000) [12]	- 26 Wildtyp- und 26 transgene Mäuse verschiedener Altersgruppen - HP Sonos 5500, Schallkopf: 12 MHz - Ketamin (6mg/100g) + Xylazin (1,2mg/100g)	- M-Mode
Esposito et al. (2000) [15]	- 10 Wildtyp- und 10 transgene Mäuse - ATL HDI 5000 - Avertin (2.5%, 14 ml/g)	- M-Mode
Feldmann et al. (2000) [18]	- 18 CD-1-Mäuse - HP Sonos 5500, Schallkopf: 12 MHz - Methoxyfluran	- M-Mode - Doppler
Fentzke et al. (1998) [19]	- 10 männliche und weibliche CD-1 Mäuse, Alter: 10 – 25 Wochen, Gewicht: 23,3 – 47 g - HP Sonos 2500, Schallkopf: 7,5/5,5 MHz	- M-Mode - Doppler

	- Intubationsnarkose mit Halothan (2 – 5%)	
Gao et al. (1999) [23]	- transgene und Wildtypmäuse - Apogee CX, Schallkopf: 9 MHz - Ketamin (50 mg/kg) + Xylazin (100 mg/kg)	- M-Mode - 2-D
Gardin et al. (1995) [24]	- 33 Mäuse (Wildtyp, transgene, aortic banded) - Acuson XP-10 , Schallkopf: 7 MHz - Avertin 2.5% (0.015 mL/g body mass IP).	- M-Mode
Gottshall et al. (1997) [25]	- Wildtyp- und transgene Mäuse - Apogee CX, Schallkopf: 9 MHz - Ketamin (100 mg/kg) + Xylazin (5 mg/kg)	- M-Mode - Doppler
Hart et al. (2001) [28]	- männliche Wildtypmäuse, Alter: 10 – 25 Wochen, Gewicht: 28 – 44 g, 6 mit Avertin, 7 mit Ketamin/Xylazin narkotisiert - Vingmed, Schallkopf: 10 MHz - Ketamin(100 mg/ml)- Xylazin(20 mg/ml) i.m. (0,01 – 1,6 ml) oder Avertin (1 ml)	- M-Mode
Hoit et al. (1997) [31]	- FVB/N, Männchen und Weibchen 10 – 12 Wochen, 23 – 40 g - Apogee X-200, Schallkopf 9 MHz - Avertin	- M-Mode
Kadambi et al. (1996) [35]	- 14 Wildtyp- und 15 transgene Mäuse, Alter: 12 – 13 Wochen, Gewicht: 28 – 51 g - Apogee X-200, Schallkopf: 5 – 7,5 MHz - Ketamin + Xylazin + Azepromazin	- M-Mode - Doppler
Liao et al. (2001) [40]	- 7 Wildtyp- und 7 transgene Mäuse - k. A. - k. A.	- M-Mode
McConnell et al. (2001) [43]	- Wildtyp und transgene Mäuse - HP Sonos 5500, Schallkopf 12 MHz - k. A.	- M-Mode
Meguro et al. (1999) [44]	- 6 CD-1-Männchen, Alter: 12 Wochen, Gewicht: 33 – 38 g - Apogee X-200, Schallkopf 9 MHz - Ketamin + Xylazin + Azepromazin	- M-Mode

Minamisawa et al. (1999) [46]	<ul style="list-style-type: none"> - 10 Wildtyp und 17 transgene Mäuse - k. A. - Avertin 	<ul style="list-style-type: none"> - M-Mode
Oberst et al. (1998) [48]	<ul style="list-style-type: none"> - 24 Mäuse, davon 6 Wildtyp-Mäuse - Schallkopf 10 MHz - Pentobarbital 	<ul style="list-style-type: none"> - M-Mode - Doppler
Scorsin et al. (1998) [64]	<ul style="list-style-type: none"> - 8 transgene und 10 Wildtyp-Mäuse - LA 14, Schallkopf 10 – 13 MHz - Ketamin 	<ul style="list-style-type: none"> - M-Mode
Strauch et al. (2003) [69]	<ul style="list-style-type: none"> - 19 Mäuse, davon 9 Wildtyp-Mäuse - HP Sonos 5500, Schallkopf: 12 – 15 MHz - Ketamin (50 µg/g), Xylazin(5 µg/g) 	<ul style="list-style-type: none"> - M-Mode - 2-D - Doppler
Stypmann et al. (2002) [70]	<ul style="list-style-type: none"> - 40 transgene Mäuse - HP Sonos 5500, Schallkopf: 12 – 15 MHz - Ketamin (50 µg/g), Xylazin(5 µg/g) 	<ul style="list-style-type: none"> - M-Mode - 2-D - Doppler
Tiemann (2003) [75]	<ul style="list-style-type: none"> - 35 männliche und 34 weibliche C57BL/6-Mäuse - HDI 5000, Philips, Schallkopf: 15 MHz - Isofluran/Sevofluran-Inhalationsanästhesie 	<ul style="list-style-type: none"> - M-Mode - 2-D
Tsoporis et al. (1998) [78]	<ul style="list-style-type: none"> - je 4 CD-1-Mäuse, Alter: 8 Wochen - HP , nicht näher bezeichnet, Schallkopf 12 MHz - k. A. 	<ul style="list-style-type: none"> - M-Mode

Tabelle 1-3: Bisher erhobene Werte an Wildtypmäusen

Die Tabelle zeigt die zum Teil im Vergleich mit der vorliegenden Studie geringen Fallzahlen. Weiterhin wurden in vielen Studien lediglich M-Mode-Daten erhoben. Eine umfassende Erstellung von Referenzwerten eines Mausstammes ist bisher nicht erfolgt.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist eine solche Aufstellung von Referenzwerten für die CD-1 Maus der Firma Charles River WIGA (Deutschland) GmbH, Sulzfeld. Hierbei wurden sowohl M-Mode, B-Bild, sowie Doppler-Verfahren angewendet. Weiterhin wurden zur Überprüfung der Reproduzierbarkeit der Untersuchungen Inter- und Intra-Observer-Variabilitäten berechnet. In der Arbeit wurden zudem die Nieren sonographisch ausgemessen. In der Literatur finden sich hierfür keine entsprechenden Referenzwerte. Die aufgestellten Referenzwerte sollen in Zukunft als Vergleichsgrundlage für weitere Versuche mit pathologisch veränderten Mäusen dienen.

1.3.3 Narkose bei der Maus

Für die echokardiographischen Untersuchungen bei den Mäusen ist es nötig, die Tiere in Narkose zu versetzen. In der Literatur sind verschiedene Arten von Narkosen hierfür beschrieben. So führten Fentzke et al. [19] eine Inhalationsnarkose mit Halothan (zur Narkoseeinleitung 5% in 80% Raumluft/20% O₂, dann unter Reduktion auf 2% Halothan Intubation und Beatmung mit 0,75 – 1,5 % Halothan im Raumluft/O₂-Gemisch mit (80/20 %), 130 Atemzüge/min und einem Tidalvolumen von 0,8 – 1,2 ml) durch, Scorsin et al. [64] benutzten für die Narkose eine intraperitoneale Injektion von 50 mg/kg KG Ketamin, Gao et al.[23] und Du et al. [11] [12] kombinierten Ketamin mit Xylazin, wobei Gao 100 mg/kg KG Ketamin + 5 mg/kg KG Xylazin verwendete und Du 6 mg/100 g Ketamin + 1,2 mg/100 g Xylazin. Meguro et al. [44], Iwase et al. [34] und Kadambi et al. [35] favorisierten für die Narkose bei ihren echokardiographischen Untersuchungen die Kombination aus Ketamin, Xylazin und Azepromazin, wobei Meguro und Iwase eine Mischung aus Ketamin 0,065 mg/g, Xylazin 0,013 mg/g und Azepromazin 0,002 mg/g und Kadambi et al. 0,1 ml/mg KG einer Mischung aus 65 % Ketamin, 22 % Azepromazin, 13 % Xylazin (mit einer Konzentration von 10 mg/ml) benutzten. Oberst et al. [48] beschrieben die Narkose mit intraperitonealer Applikation von Pentobarbital 10 µg/ml mit einer Dosierung von 10 µl/g KG. Minamisawa et al. [46] und Hoit et al. [31] verwendeten Avertin zur Narkotisierung der Tiere, Minamisawa 20 ml einer 2,5 % igen Lösung/kg KG und Hoit 250 µg/g KG intraperitoneal.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Narkose mit einem intraperitoneal appliziertem Ketamin/Xylazin-Gemisch (siehe unter 2. Material und Methoden) durchgeführt. Auf die hiermit verbundenen Einflüsse auf die echokardiographische Untersuchung soll später noch eingegangen werden.

2 Material und Methoden

2.1 Material

2.1.1 Geräte

Haraeus Christ GmbH, Osterode: Ultrazentrifuge Labofuge III

Agilent Technologies (vormals Hewlett Packard), Palo Alto, Ca, USA: Ultraschallgerät Typ
Sonos 5500, Schallkopf 8-12 MHz, Softwareversion 1b

Philips Medical Systems; Bothell, Washington, US: S12 Schallkopf 5-12 MHz Mod. Nr.
21380A

Clinicon Corp., Carlsbad, California, USA: Wärmeplatte Precitherm PFV

Magneto- Optical Disk: Magneto-optische Platte (MOD)

2.1.2 Medikamente und andere Verbrauchsmaterialien

Parker Laboratories Inc., Orange, New Jersey, USA: Ultraschallgel Aquasonic 100

Einmalhandschuhe und Fingerlinge

AMEFA, Limburg: 10 ml, Einmalspritze

Becton Dickinson S.A.: Insulinspritzen, 1 ml

ABBOTT, Irland: Butterfly, Größe 17 G

Sanofi-Ceva, Düsseldorf, Deutschland: Xylazin 2% (20 mg/ml)

Sanofi-Ceva, Düsseldorf, Deutschland: Ketanest S 25 mg/ml

NaCl 100 ml

EKG-Elektroden

2.1.3 Verwendete Narkoselösung

Die Mäuse wurden mit einer intraperitonealen Injektion von 50 µg/g KG Ketamin und 5 µg/g KG Xylazin 2% narkotisiert. Anschließend wurde bis zum vollständigen Narkoseeintritt gewartet bis mit den echokardiographischen Untersuchungen begonnen wurde.

Die intraperitoneale Injektion eines Ketamin-Xylazin-Gemisches ist in der Literatur zur echokardiographischen Untersuchung bei Mäusen bereits mehrfach erfolgreich durchgeführt worden [25] [66] [38] [82]. (siehe auch Tabelle 1-3)

2.1.4 Tiere

Für die Untersuchungen wurden insgesamt 100 Swiss Type CD-1[®]-Mäusen der Firma Charles River WIGA (Deutschland) GmbH, Sulzfeld verwendet. Die Tiere setzten sich wie folgt zusammen:

- 25 männliche Mäuse, Alter: 8 Wochen
- 25 weibliche Mäuse, Alter: 8 Wochen
- 25 männliche Mäuse, Alter: 52 Wochen
- 25 weibliche Mäuse, Alter: 52 Wochen

Eine Einteilung der Versuchstiere erfolgte in die vier Gruppen:

- männliche Mäuse
- weibliche Mäuse
- junge Mäuse
- alte Mäuse

Die Tiere wurden unter konventionellen Bedingungen in der Zentralen Tierexperimentellen Einrichtung der Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität in Gruppen zu je 5 Tieren in Mäusekäfigen gehalten. Sie erhielten Standardnahrung (Altromin 1324, Altromin, Lage, Deutschland) sowie Wasser ad libitum. Bei Kunstlicht wurden sie in einem 12/12 Stunden Hell-/Dunkelzyklus gehalten. Die Raumtemperatur betrug 20 bis 24°C, die Luftfeuchtigkeit ca. 60% mit einem 10 bis 12fachen Luftwechsel.

Während der Versuchszeit wurden die Tiere von Fachpflegekräften der Zentralen Tierexperimentellen Abteilung der Medizinischen Einrichtungen der Westfälische Wilhelms-Universität Münster versorgt. Eine regelmäßige tierärztliche Inspektion erfolgte durch Herrn Prof. Dr. med. vet. K.-D. Richter, Leiter der Zentralen Tierexperimentellen Einrichtung der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster.

Die Studie wurde dem Veterinär- und Lebensmittelüberwachungsamt der Stadt Münster angezeigt und am 15.04.1999 unter dem Aktenzeichen 23.0835.1.0 (G 41/99) genehmigt.

2.2 Erhebung der Werte

Alle Messungen wurden auf dem Hewlett Packard SONOS 5500 Ultraschallgerät der Firma Agilent (vormals Hewlett Packard), Palo Alto, Ca, USA, Software-Version 1B, erhoben und als digitale Bilder auf einer magneto-optischen Platte (Magneto-Optical Disc, MOD) gespeichert.

In zahlreichen Studien (siehe Tabelle 1-3) hat sich dieses Gerät für die echokardiographischen Untersuchungen bei Mäuse bereits als geeignet erwiesen [11] [12] [13] [17] [22] [43] [59] [70] [72] [81]. Für die Untersuchungen wurde ein S12 Schallkopf mit 5-12 MHz (Ultrasound Sector Transducer S12 Model Nr. 21380A, Philips Medical Systems; Bothell, WA) verwendet, der üblicherweise in der Pädiatrie Anwendung findet und feine kardiale Strukturen in einer Tiefe von 0-4 cm abbildet. Dieser Schallkopf ermöglichte eine vertikale Auflösung von 90- 100 μm im B-Mode [75]. Für eine optimale Bildqualität wurden

1. der Fokussierungsbereich auf eine Tiefe von 4 cm eingestellt,
2. der Sektorwinkel von dem üblicherweise verwendeten 90°-Sektor auf ca. 30° verschmälert und
3. die Erhebung der Messwerte im Zoom- Modus durchgeführt.

Für die Untersuchungen wurde eine Framerate von 120 bis 350 Hz gewählt, die eine detaillierte Darstellung des Herzzyklus der Mäuse ermöglichte.

Um für die Auswertung gleiche Bedingungen zu erhalten, wurde besonders darauf geachtet, dass die Einstellungen bezüglich Fokussierungstiefe, Sektorwinkel und Zoom-Modus bei allen Messungen gleich waren (s.o.). Die Auswertung der erhobenen Daten erfolgte zum großen Teil durch die dem HP Sonos 5500 eigene Software. Die Erhebung der M-Mode- und dopplerechokardiographischen Daten erfolgte unter 2-D-Kontrolle Hierbei wurden die Bilder bei einer Vorschubgeschwindigkeit von 150 mm/s vermessen. Im M- Mode bestanden die Bilder aus 1000 Linien pro Sekunde [17].

2.2.1 Vorbereitung des Echokardiographiegerätes

Zur Erhebung der Meßwerte wurde zunächst der Schallkopf vorbereitet, indem ein Fingerling bzw. ein Mittelfinger eines Latexhandschuhs Größe M mit ca. 2 ml Ultraschallgel befüllt und anschließend zusammen mit Ultraschallgel-befüllten Spritzen über 10 Minuten in einer Ultrazentrifuge bei 3.000 U/min zentrifugiert wurde Hierdurch wurde das Gel von Luftblasen befreit, was die Qualität der Abbildung später stark verbesserte. Der so vorbereitete Fingerling wurde über den Schallkopf gestülpt und mit Klebeband so befestigt, dass ein Polster von 1,5 cm zwischen dem Ende des Schallkopfes und dem Ende des Polsters bestand. Hiermit konnte eine Vorlaufstrecke für die Ultraschalluntersuchungen erreicht werden, die es ermöglichte, die Strukturen der Maus in einer für die Abbildungen günstigeren Tiefe abzubilden.

2.2.2 Vorbereitung der Versuchstiere

Die Mäuse wurden unmittelbar vor der Untersuchung zunächst gewogen und anschließend gewichtsadaptiert durch intraperitoneale Applikation der oben genannten Narkoselösung narkotisiert. Nach Einsetzen der Narkosewirkung wurden sie mit einer Schermaschine auf Thorax und Abdomen rasiert. Danach wurden die Tiere auf einer zuvor auf 41° C vorgeheizten Wärmeplatte mittels Klebestreifen fixiert und auf den zu untersuchenden Stellen mit Wasser befeuchtet, um die restliche, noch im Fell verbleibende Luft zu beseitigen und so ein besseres Ultraschallbild zu erhalten. Anschließend wurde zuvor ebenfalls zentrifugiertes Ultraschallgel ca. 1,5 cm dick auf die zu untersuchenden Stellen aufgebracht.

Zur kardialen Überwachung der Mäuse und zur Synchronisierung der echokardiographischen Messungen wurde an den zur besseren Leitung zuvor mit Elektrodengel benetzten Pfoten der Tiere ein 1-Kanal-EKG angelegt.

Nachdem die Heizplatte mit der Maus linksseitig etwa 10 cm angehoben und so ein Winkel von etwa 45° eingestellt wurde, wurde der Schallkopf auf der linken Thoraxhälfte der sich somit nun in Linksseitenlage befindenden Maus platziert. Hierbei wurde streng darauf geachtet, zu starken Druck auf den Thorax zu vermeiden, um nicht die Ausmaße des Herzens artifiziell zu verändern oder (durch vagale Stimulation oder Rückflussbehinderung) mögliche Herz-Kreislaufprobleme bei den Mäusen auszulösen.

2.2.3 Messungen

Alle Messungen wurden entsprechend den Richtlinien der American Society of Echocardiography nach der „Leading-Edge-Methode“ (Messung von der Vorderkante eines Echos zur Vorderkante des folgenden Echos) durchgeführt. Für jeden Wert wurden mindestens 5 Messungen durchgeführt, von welchen anschließend der Mittelwert gebildet wurde. Die Abstände zwischen jeweils zwei R-Zacken (Ao-R-R) im EKG wurden ausgemessen, um daraus zusätzlich zu der vom Gerät angegebenen Herzfrequenz diese zu errechnen (HF aus Ao-R-R).

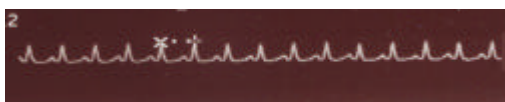


Abbildung 2-1: typisches EKG und Abstand zweier R-Zacken voneinander (EKG R-R, im Folgenden als Ao R-R bezeichnet)

2.2.3.1 B-Bild

Das B-Bild wurde in parasternal langer Achse eingestellt. Hierbei wurden die Bilder als ausreichend gut für die Messung beurteilt, wenn die Darstellung der langen Achse mindestens 80% der endokardialen Grenze zeigte und die Mitralklappe, sowie das Septum und der LVOT sich gut darstellten. Unter diesen Voraussetzungen wurden enddiastolisch die Länge des linken Ventrikels (LV-Länge) zwischen Herzspitze und Mitralklappenansatzring, die Ausmaße des linksventrikulären Ausflußtraktes (LVOT), der Aortenwurzel (AoV) und des linken Vorhofes (LA), sowie - bei Beurteilbarkeit - des rechten Ventrikels (RV) bestimmt.

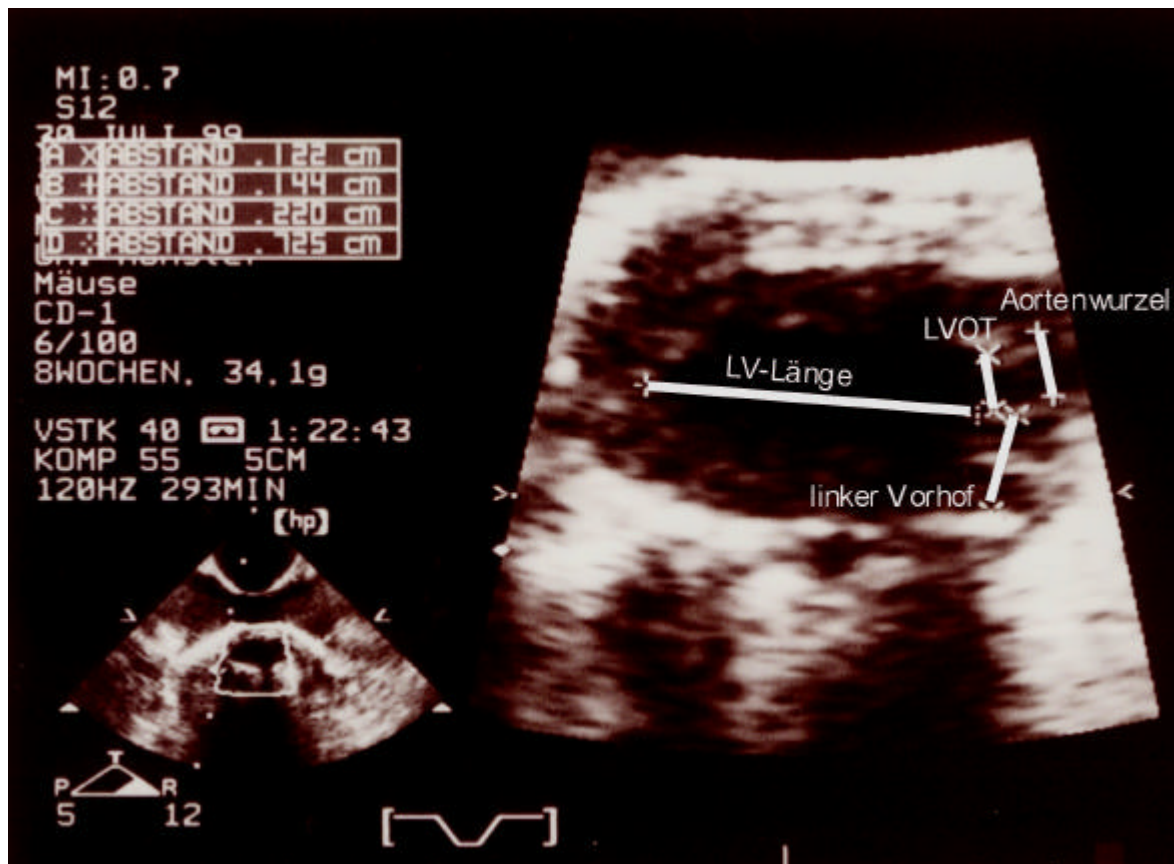


Abbildung 2-2: Typisches B-Bild: parasternale Längsachse mit LV-Längen Bestimmung, LVOT-, Aortenwurzel- und linkem Vorhofdurchmesser

2.2.3.2 M-Mode

Anschließend wurde ein M-Mode senkrecht zum interventrikulären Septum und zur Hinterwand durch die Papillarmuskelebene direkt unterhalb der Spitzen der Mitralklappensegel gelegt. Hier wurden zunächst die enddiastolische Dicke des interventrikulären Septums (IVS), der linksventrikuläre enddiastolische Durchmesser (LVEDD) und der enddiastolische Durchmesser der linksventrikulären Hinterwand (engl.: posterior wall enddiastolic diameter,

PWEDD) bestimmt. Hierfür wurde unter Zuhilfenahme des EKGs der Beginn des QRS-Komplexes als Messzeitpunkt festgelegt. Abschließend wurde der linksventrikuläre endsystolische Durchmesser (LVESD) als der kleinste vorhandene Durchmesser ausgemessen. Hierbei wurde streng darauf geachtet, dass

- das interventrikuläre Septum und die Hinterwand sich über den gesamten Herzzyklus scharf abgrenzbar darstellten,
- der Mitralklappenansatzring deutlich zu erkennen war und
- die Herzspitze im B-Bild durchgängig zusehen war.

Nur unter diesen optimalen Bedingungen wurden die Messungen der entsprechenden M-Mode-Darstellung als gültige Werte in die Berechnungen der Daten aufgenommen.

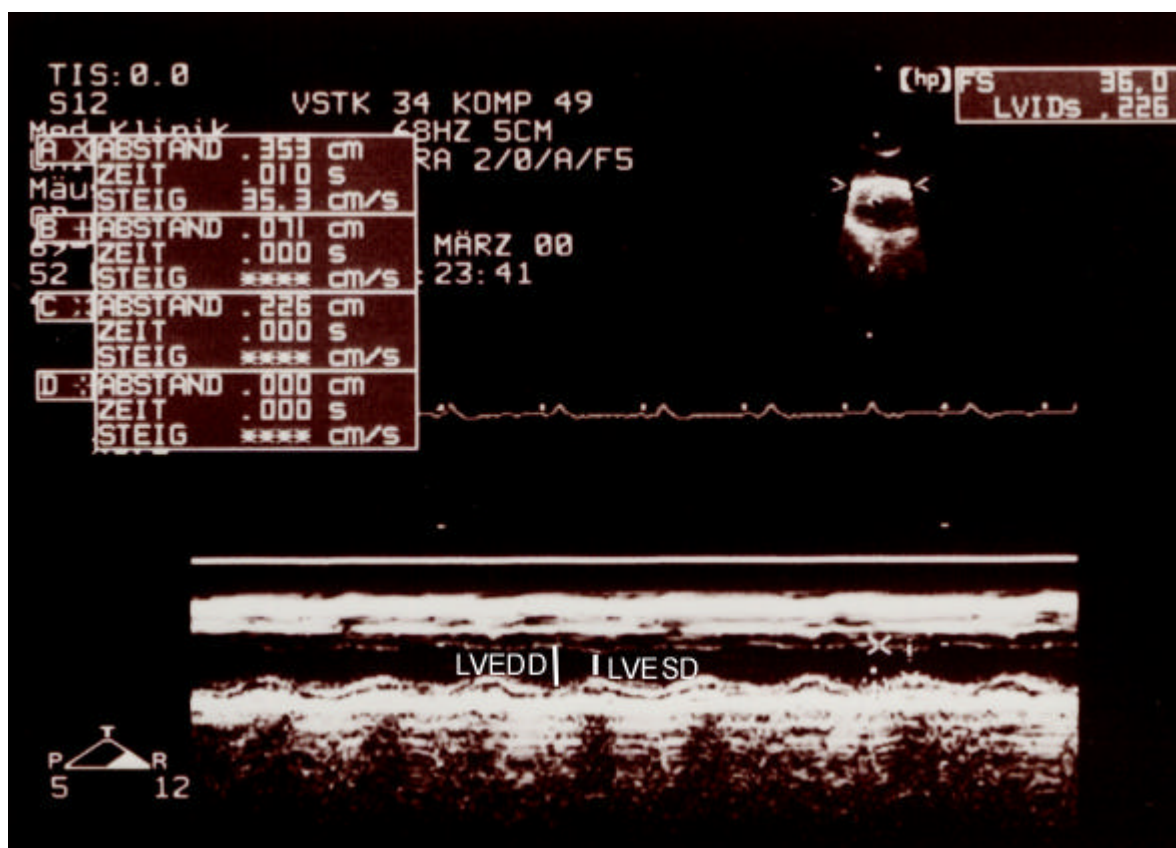


Abbildung 2-3: typischer M-Mode bei Anlotung in der parasternalen Längsachse mit oben dargestelltem EKG und Messpunkten zur Bestimmung des linksventrikulären enddiastolischen (LVEDD) und endsystolischen (LVESD) Durchmessers

2.2.3.3 Dopplermessungen

Dopplersonographisch wurden mit dem PW-Doppler die Flußgeschwindigkeiten und Druckgradienten über Aortenklappe (Ao Vmax, Ao PGmean, Ao PGmax) und Mitralklappe

(MV PGmean, MV PGmax, MV E-Welle, MV A-Welle) gemessen. Hierbei wurde streng darauf geachtet, dass sich alle Dopplerkurven randscharf abzeichneten und so auf ein exaktes Signal schließen ließen. Auch die Dopplermessungen wurden als Mittelwerte aus 5 Einzelmessungen berechnet.

Zur Bestimmung der Flüsse über die Aortenklappe wurde der Dopplerstrahl möglichst in einem Winkel von 0° oder 180° zur Flußrichtung in der Aortenklappe in den im parallel angezeigten B-Bild sichtbaren Bereich der Klappe gelegt. Zur Bestimmung der Flußwerte wurde jeweils die größte der dargestellten Kurven ausgemessen und in die Berechnung des Mittelwertes aufgenommen.

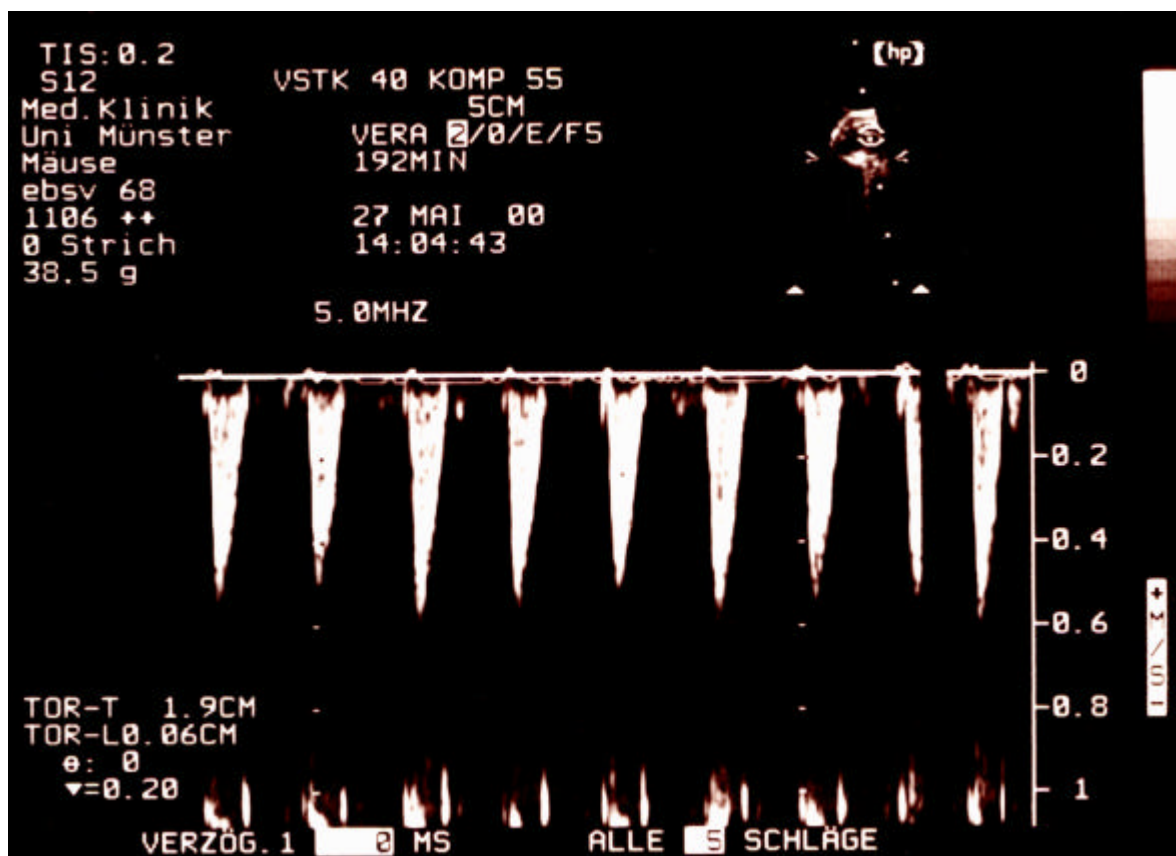


Abbildung 2-4: Dopplerechokardiographische Darstellung des systolischen Ausstroms aus dem linken Ventrikel

Analog zu den Aortenklappenflüssen wurden die Mitralklappenflüsse gemessen. Hierbei wurde besonders darauf geachtet, dass sich sowohl die durch den passiven Bluteinstrom in den linken Ventrikel ergebende E-Welle, wie auch die durch aktive Vorhofkontraktion entstehende A-Welle in der Dopplerkurve gut darstellten.

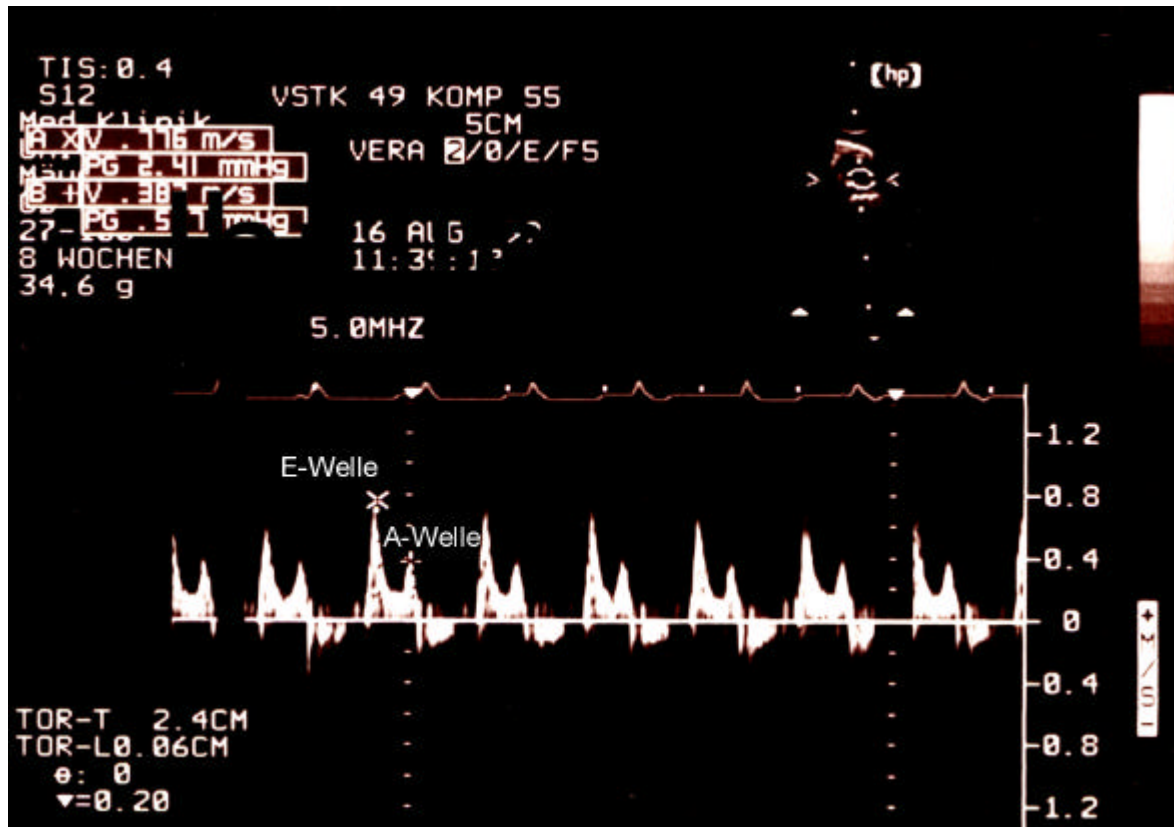


Abbildung 2-5: Doppler-echokardiographische Darstellung der frühdiastolischen Einstromgeschwindigkeit (E-Welle) und spätdiastolischen Einstromgeschwindigkeit (A-Welle) an der Mitralklappe.

2.2.4 Abdominelle Sonographie

Zur echokardiographischen Darstellung der Nieren wurde abschließend der Schallkopf auf dem mit Ultraschallgel benetzten Abdomen der Maus platziert. Die linke Niere wurde mit dem Schallkopf im linken unteren Abdomendrittel mit Schallrichtung nach rechts kranial in einem Winkel von etwa 45° dargestellt.

Zur Abbildung der rechten Niere erwies sich die transhepatische Darstellung in beinahe sagittaler Schallkopfposition im mittleren rechten Abdomen der Darstellung von weiter lateral als überlegen. Hierbei war jedoch die Schallbarkeit der rechten Niere im Vergleich zur linken leicht reduziert. Es ließen sich jedoch bei allen Mäusen die Nieren darstellen und ausmessen.

Bei beiden Nieren wurden jeweils die Länge, -Breite, wie auch die Abmessungen der Nierenrinde und des Nierenmarks bestimmt.

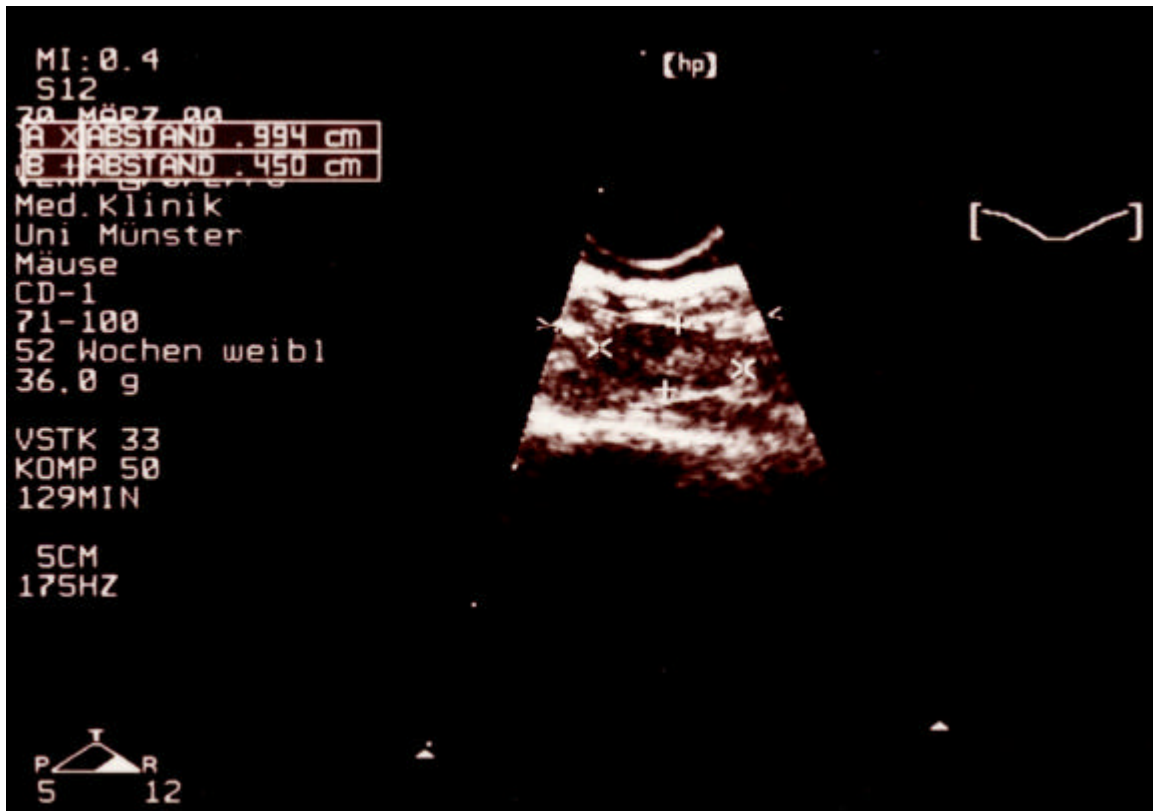


Abbildung 2-6: sonographische Darstellung der linken Niere mit Messpunkten zur Bestimmung der Länge (L) und Breite (B) der Niere, Darstellung von abdominal

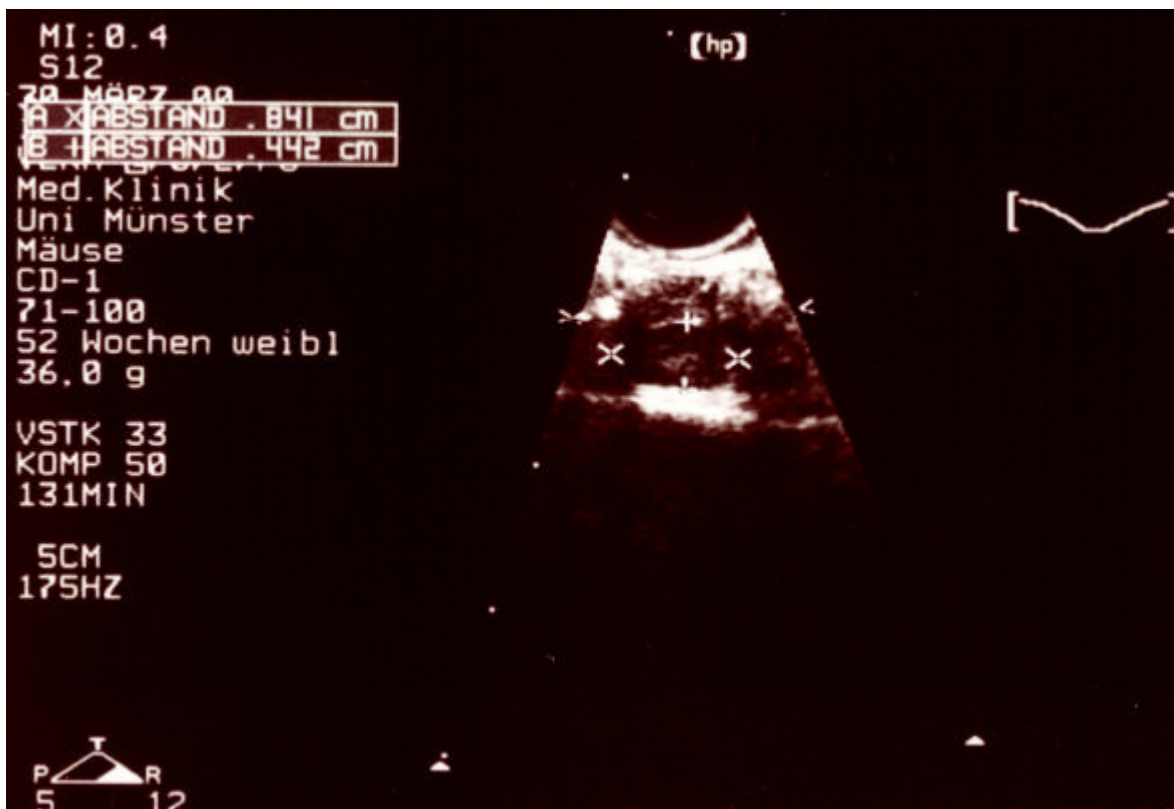


Abbildung 2-7: sonographische Darstellung der rechten Niere mit Messpunkten zur Bestimmung der Länge (L) und Breite (B) der Niere, transhepatische Anschallrichtung

2.2.5 Inter- und Intra-Observer-Variabilität

Für die Bestimmung der Inter-Observer-Variabilität untersuchten zwei Untersucher nacheinander die gleiche Maus, wobei sie die zuvor erhobenen Werte nicht kannten. Zusätzlich wiederholte einer der Untersucher seine Messungen an der gleichen Maus, ohne die zuvor erhobenen Werte zu kennen, womit die Intra-Observer-Variabilität bestimmt werden konnte.

2.3 Tötung der Tiere und Organpräparation

Unmittelbar nach der Untersuchung wurden die Tiere, noch in tiefer Narkose, getötet. Anschließend wurden über eine mediane Thorakotomie das Herz entnommen. Nach Entfernung des Peri- und Epikards wurde es kurz in NaCl 0,9% gewaschen, sorgfältig getrocknet, anschließend gewogen und in Formalinlösung eingelegt. Diese Werte dienten als Grundlage zum späteren Vergleich der echokardiographisch ermittelten mit den Pathologie-Daten.

2.4 Berechnung der Werte

Die Herzfrequenz der Mäuse wurde zusätzlich zu der vom Echokardiographiegerät angegebenen noch aus den im EKG ausgemessenen Abständen zweier R-Zacken (Ao R-R) bestimmt. Hierbei galt:

$$\text{HF aus AoR - R} = \frac{60.000}{\text{AoR} - \text{R}}$$

Die linksventrikuläre Masse wurde vom Gerät nach der Area-Length-Methode wie folgt berechnet:

$$\text{LV - Mass} = 1,05 \left(\frac{5}{6} (A_1 (L + t)) - \frac{5}{6} A_2 L \right),$$

hierbei stellt 1,05 das spezifische Gewicht des Mausmyokards dar, A_1 entspricht der enddiastolisch gemessenen linksventrikulären epikardialen Fläche auf Papillarmuskelebene direkt oberhalb des Überganges in die Sehnenfäden, A_2 der linksventrikulären, enddiastolischen und in der kurzen Achse auf Papillarmuskelebene erhobenen Fläche, L entspricht der enddiastolischen Länge des linken Ventrikels in der langen Achse und t steht für die repräsentative myokardiale Wanddicke, die sich mit folgender Formel berechnen lässt:

$$\sqrt{\frac{A_1}{\pi}} - \sqrt{\frac{A_2}{\pi}}$$

[34] [42] [86]

Aus der nach der Area-Length-Methode berechneten LV-Masse wurde außerdem der LV-Mass-Index bestimmt:

$$\text{LV – Mass – Index} = \frac{\text{LV – Mass}}{\text{KG(g)}}$$

Für die Berechnungen der Doppler-Meßwerte ist zunächst wichtig, dass die Flußgeschwindigkeit V nach Umstellung der Dopplergleichung:

$$fd = \frac{2ft \cdot V \cdot \cos \theta}{c}$$

mit folgender Formel berechnet werden kann:

$$V = \frac{fd \cdot c}{2ft \cdot \cos \theta}$$

Hierbei ist fd der Doppler-Frequenzshift, ft die gesendete Ultraschallfrequenz, V die Geschwindigkeit der sich bewegenden Teile (z.B. rote Blutkörperchen), cos θ der Winkel zwischen ausgesendetem Ultraschallstrahl und der Richtung des sich bewegenden Blutflusses und c eine Konstante, die die Geschwindigkeit von Schall in weichem Gewebe darstellt.

Die Flussparameter wurden, basierend auf diesen Gleichungen auf folgende Weise ermittelt:

Das Fluß-Zeit-Integral (oder Fluß-Integral, englisch velocity time integral, VTI) ist das Integral des spektralen Doppler-Flusses über die gesamte Zeit (T). Das Integral wird angenähert berechnet mit der Formel:

$$VTI = \sum_{i=1}^N V_i \cdot t_i ,$$

wobei die Summe aller t_i das gesamte Zeitintervall T ergibt.

Die maximale Geschwindigkeit an der Aortenklappe (Ao Vmax) wurde während des Umfahrens der Dopplerkurve als maximale Flussgeschwindigkeit ermittelt.

Der maximale Druckgradient an der Aortenklappe (Ao PGmax) wurde nach der vereinfachten Bernoulli- Gleichung berechnet:

$$AoPG_{\max} = 4 \cdot \left(\frac{AoV_{\max}}{100} \right)^2$$

Der mittlere Druckgradient an der Aortenklappe berechnet sich wie folgt:

$$AoPG_{\text{mean}} = \frac{4}{10.000T} \sum_{i=1}^N AoV_i^2 \cdot t_i$$

hierbei ist V_i die Flussgeschwindigkeit über die Zeit (t_i) und T die Summe aller Zeitintervalle (t_i), 4 ist der Korrekturfaktor der Bernoulli-Gleichung und 10.000 der Umrechnungsfaktor für die Umrechnung von Quadratzentimetern in Quadratmeter.

Analog zu den Berechnungen für die Druckgradienten an der Aortenklappe wurden auch die Berechnungen für die Mitralklappe durchgeführt. An der Mitralklappe ergibt sich jedoch als Besonderheit, dass das Strömungsmuster durch den zunächst passiven Einstrom des Blutes aus dem linken Vorhof in die linke Kammer und den anschließenden, durch die Kontraktion des linken Vorhofes bedingten, aktiven Einstrom von Blut zweigipfelig erscheint, wobei die erste Kurve als E- und die zweite als A-Welle bezeichnet wird.

Der maximale Druckgradient an der Mitralklappe errechnet sich analog dem an der Aortenklappe wie folgt:

$$MVPG_{\text{max}} = 4 \left(\frac{MVV_{\text{max}}}{100} \right)^2$$

Der mittlere Druckgradient errechnet sich mit der folgenden Formel:

$$MVPG_{\text{mean}} = \frac{4}{10.000T} \sum_{i=1}^N MVV_i^2 \cdot t_i$$

Die maximalen Geschwindigkeiten der E- und der A-Welle wurden als Maximalwerte der jeweiligen Peaks der Kurven angegeben.

Zur Bestimmung des Verhältnisses von frühdiastolischer passiver und spätdiastolischer aktiver Einströmungsgeschwindigkeit in den linken Ventrikel wurde das E- zu A-Verhältnis berechnet:

$$E/A - \text{Ratio} = \frac{V_E \text{ max}}{V_A \text{ max}}$$

Dieser Wert lässt Rückschlüsse auf das Füllungsverhalten und die diastolische Funktion des linken Ventrikels zu.

Die Verkürzungsfraktion (FS) des linken Ventrikels berechnete sich aus den M-Mode-Daten folgendermaßen:

$$FS(\%) = \left[\left(\frac{LVEDD - LVESD}{LVEDD} \right) \right] \cdot 100$$

Die linksventrikuläre Auswurfraction wurde nach der Teichholz-Formel berechnet:

$$LV - EF = \frac{\left(\left(\frac{7}{2,4 + LVEDD} \right) \cdot LVEDD^3 \right) - \left(\left(\frac{7}{2,4 + LVESD} \right) \cdot LVESD^3 \right)}{\left(\left(\frac{7}{2,4 + LVEDD} \right) \cdot LVEDD^3 \right)}$$

Das Herzminutenvolumen wurde mit Hilfe der Dopplermessungen bestimmt. Die Flußgeschwindigkeit wurde hierbei im linksventrikulären Ausflußtrakt (LVOT) bestimmt, das Fluß-Zeit-Integral (VTI, s.o.) gebildet und der LVOT-Durchmesser bestimmt. Das Herzminutenvolumen (engl.: Cardiac Output, CO) [ml/min] wurde anschließend wie folgt berechnet:

$$CO = VTI \cdot HF \cdot A ,$$

wobei VTI das Fluß-Zeit-Integral der jeweiligen Dopplerkurve, HF die Herzfrequenz und A die durchströmte Fläche, die nach folgender Formel berechnet wurde,

$$A = \pi \cdot \left(\frac{LVOT}{2} \right)^2$$

darstellt.

Der Herzindex (Cardiac Index, CI) [ml/min*g] wurde aus dem CO und dem Körpergewicht der Maus (KG) [g] berechnet:

$$CI = \frac{CO}{KG}$$

2.5 Statistische Auswertungen

Die Meßergebnisse jeder Maus sind jeweils Mittelwerte aus 5 Einzelmessungen. Die statistischen Auswertungen wurden mit SPSS durchgeführt. Zur Analyse von Unterschieden zwischen den Gruppen wurde die einfaktorielle ANOVA-Varianzanalyse durchgeführt. Die Ergebnisse wurden in Excel dargestellt und die Graphiken mit SPSS erstellt. Die Daten sind als Mittelwerte \pm Standardabweichung angegeben. Als signifikant wurden Unterschiede

zwischen den Gruppen gewertet, wenn sich für p ein Wert $\leq 0,05$ ergab. Die Ergebnisse wurden jeweils als Säulendiagramme mit das 95%-Konfidenzintervall angehenden Fehlerbalken dargestellt.

Inter- und Intra-Observer-Variabilität wurden mit dem Bonferroni-korrigierten Student's T Test für gepaarte Stichproben berechnet. Hierbei wurden die Signifikanzniveaus zwischen den einzelnen Gruppen wie folgt festgelegt: $p > 0,05$: nicht signifikant (n.s.), $p < 0,05$: schwach signifikant (s.s.), $p < 0,01$: signifikant (s.), $p < 0,001$: hoch signifikant (h.s.). Graphisch wurden diese Werte in Form eines Säulendiagramms mit Fehlerbalken für das 95%-Konfidenzintervall, sowie in Form von Korrelationsgeraden mit Korrelationskoeffizienten dargestellt.

3 Ergebnisse

Von insgesamt 100 Tieren, die zu Versuchsbeginn zur Verfügung standen, wurden 60 untersucht. Von den jungen Tieren verstarben 4 Männchen und 1 Weibchen während des Versuches an einem Herz-Kreislauf-Versagen unklarer Ursache. Bei den alten Tieren waren die Verluste während der langen Haltungszeit deutlich höher, da es bei den alten Männchen Probleme im Verhalten untereinander gab und sie bei Haltung zu 5 Männchen pro Käfig dazu neigten, sich gegenseitig schwer zu verletzen und in Einzelhaltung jedoch schnell eingingen. Zwei Mäuse mit Klappendysfunktion wurden ausgeschlossen, davon jeweils eine Maus mit Mitrallappeninsuffizienz und Aortenklappeninsuffizienz.

Die Ergebnisse aller Vergleiche werden im Folgenden als Mittelwerte mit Standardabweichungen in Tabellen wiedergegeben und bei signifikanten Unterschieden zwischen den Gruppen graphisch dargestellt. Weiterhin wurden Analysen zur Vergleichbarkeit der Messungen zweier verschiedener Untersucher an der selben Maus (Inter-Observer-Variabilität), sowie der Messung der selben Maus zu einem späteren Zeitpunkt durch den selben Untersucher (Intra-Observer-Variabilität) durchgeführt. Abschließend wurde zur Evaluierung der linksventrikulären Masse ein Vergleich mit Nekrotomiedaten der entsprechenden Mäuse durchgeführt. Auch diese Daten wurden in Tabellen als Mittelwerte mit Standardabweichungen wiedergegeben und graphisch als Blockdiagramme, sowie mit Regressionsgeraden dargestellt.

3.1 Alters- und Geschlechtsunterschiede

3.1.1 Grundmessgrößen

Die Grunddaten der Mäuse sind in Tabelle 3-1, sowie in den Abbildungen 3-1 und 3-2 zusammengestellt. Hierbei unterschritten die 8 Wochen alten Mäuse das geforderte Liefergewicht von 35 g, während die 52 Wochen alten Mäuse darüber lagen. So waren die jungen Mäuse zum Untersuchungszeitpunkt signifikant leichter als die älteren Mäuse. Außerdem waren auch die Männchen etwas schwerer als die Weibchen.

Die Herzfrequenzen der Mäuse zu Beginn der echokardiographischen Untersuchungen lagen bei den 8 Wochen alten Mäusen mit 368 ± 79 bpm bei gleicher Dosierung der Anästhetika signifikant höher als bei den 52 Wochen alten Mäusen (277 ± 103 bpm). Zwischen Männchen und Weibchen konnte hier kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Analog dazu

verhielten sich auch die zur Überprüfung der vom Gerät angegebenen Herzfrequenzen aus den jeweiligen Abständen zwischen zwei R-Zacken im EKG (Ao R-R) berechneten Herzfrequenzen. Entsprechend war das Verhältnis bei den R-R-Abstände genau entgegengesetzt.

Alters- und Geschlechtsvergleiche Grundmessgrößen

(\$ (p<0,05) zu jungen Mäusen , * (p<0,05) zu alten Mäusen, § (p<0,05) zu Männchen, # (p<0,05) zu Weibchen)

Mäuse gesamt	gesamt							
	junge Mäuse		alte Mäuse		Männchen		Weibchen)	
	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD
Gewicht(g)	32,4	±1,8*	39,0	±4,4\$	37,6	±5,7	34,5	±4,7
HF(bpm)	368	±79*	277	±103\$	321	±84	324	±92
HF aus Ao R-R (bpm)	379	±66*	261	±76\$	316	±58	336	±109

Tabelle 3-1: Alters- und Geschlechtsvergleiche Grundmessgrößen

(HF = Herzfrequenz, Ao R-R = Abstand zwischen zwei R-Zacken im EKG, HF aus Ao R-R = aus Ao R-R Ao R-R berechnete HF (HF = 60.000/Ao R-R))

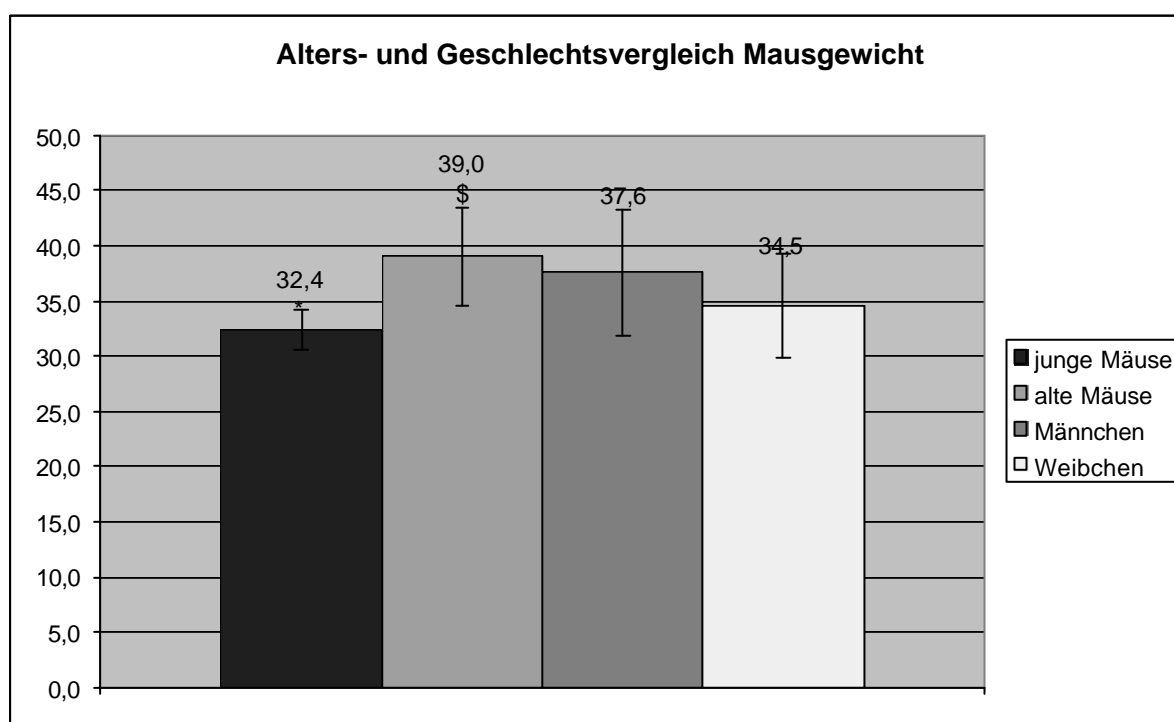


Abbildung 3-1: Mausegewichte der nach Alter und Geschlecht zugeordneten Gruppen zum Untersuchungszeitpunkt

(\$ (p<0,05) zu jungen Mäusen , * (p<0,05) zu alten Mäusen, § (p<0,05) zu Männchen, # (p<0,05) zu Weibchen) Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert +/- 1 Standardabweichung

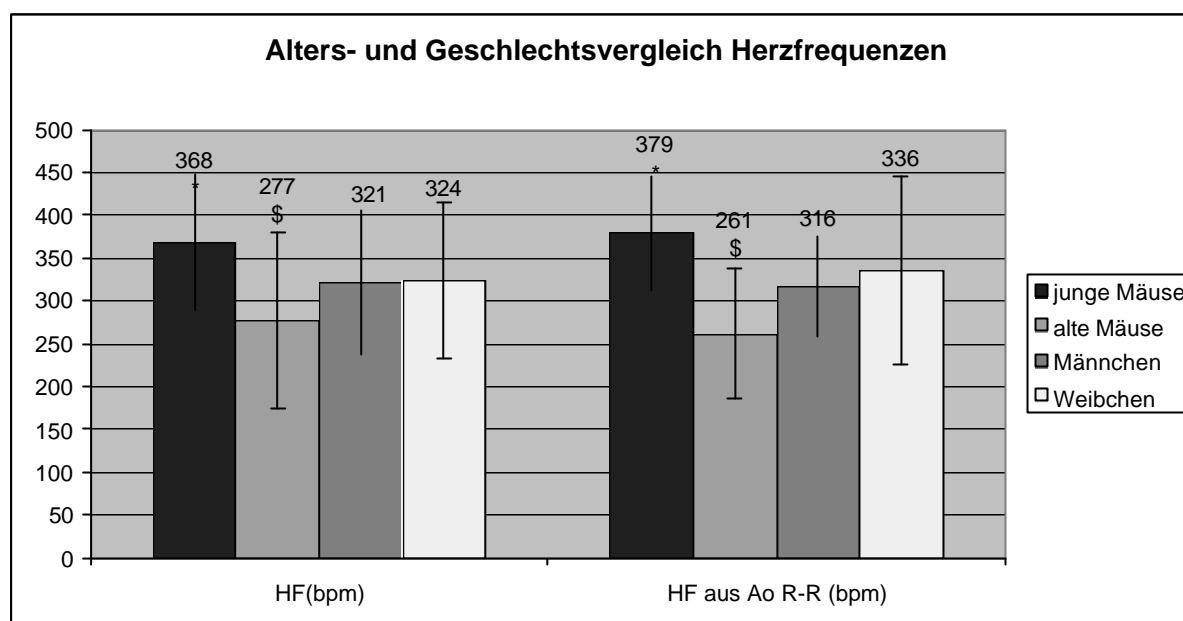


Abbildung 3-2: Herzfrequenzen der nach Alter und Geschlecht zugeordneten Gruppen zum Untersuchungszeitpunkt

(HF = Herzfrequenz, Ao R-R = Abstand zwischen zwei R-Zacken im EKG, HF aus Ao R-R = aus Ao R-R Ao R-R berechnete HF ($HF = 60.000/Ao\ R-R$))

(\$ ($p < 0,05$) zu jungen Mäusen, * ($p < 0,05$) zu alten Mäusen, § ($p < 0,05$) zu Männchen, # ($p < 0,05$) zu Weibchen)
Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert \pm 1 Standardabweichung

3.1.2 Echokardiographie

3.1.2.1 Messungen im B-Bild

Im zweidimensionalen B-Bild zeigten die Ergebnisse bis auf einen schwach signifikanten Unterschied für den Durchmesser des linksventrikulären Ausflußtraktes keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen (siehe Tabelle 3-2 und Abbildungen 3-3 bis 3-5).

Der Durchmesser des LVOT war hier bei den jungen Mäusen ($1,21 \pm 0,06$ mm) kleiner als bei den älteren Tieren ($1,29 \pm 0,14$; $p=0,05$).

Die linksventrikulären Masse (LV-Mass) unterschied sich in den einzelnen Gruppen nicht signifikant, der LV-Mass-Index zeigte jedoch signifikant höhere Werte bei den jungen Mäusen ($2,92 \pm 0,28$ mg/g) im Vergleich zu ihren älteren Artgenossen ($2,45 \pm 0,47$ mg/g).

Bei insgesamt fünf Tieren konnte auch der rechte Ventrikel dargestellt und hier der Durchmesser bestimmt werden. Es ergab sich bei insgesamt 4 jungen Tieren ein RV-Durchmesser von $1,06 \pm 0,06$ mm und bei einem alten Tier ein Durchmesser von 1,06 mm.

Alters- und Geschlechtsvergleiche Herzmaße

(\$ (p<0,05) zu jungen Mäusen, * (p<0,05) zu alten Mäusen, § (p<0,05) zu Männchen, # (p<0,05) zu Weibchen)

Mäuse gesamt	gesamt							
	junge Mäuse		alte Mäuse		Männchen		Weibchen	
	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD
LA(mm)	2,24	±0,35	2,25	±0,17	2,24	±0,38	2,25	±0,18
LV-Länge(mm)	6,68	±0,51	6,70	±0,53	6,82	±0,62	6,66	±0,43
LVOT(mm)	1,21	±0,06*	1,29	±0,14\$	1,28	±0,17	1,22	±0,05
AoV(mm)	1,34	±0,10	1,40	±0,14	1,35	±0,16	1,37	±0,09
LV-Masse (mg)	95,6	±10,2	96,6	±15,6	90,7	±12,5	91,3	±12,4
LV-Mass-Index (mg/g)	2,92	±0,28	2,45	±0,47	2,70	±0,49	2,68	±0,44
Patho-Herzgewicht (mg)	195	±31,6	194	±51,6	234	±38,1	170	±16,3

Tabelle 3-2: Alters- und Geschlechtsvergleiche Herzmaße

(LA = linker Vorhof (engl.: left atrium), LV = linker Ventrikel, LVOT = linksventrikulärer Ausflußtrakt (engl.: left ventricular outflow tract, AoV = Durchmesser der Aortenwurzel (engl.: Aortal valve), LV-Mass = Masse des linken Ventrikels, LV-Mass-Index = LV-Mass/Körpergewicht der Maus, LVMe = echokardiographisch bestimmte linksventrikuläre Masse)

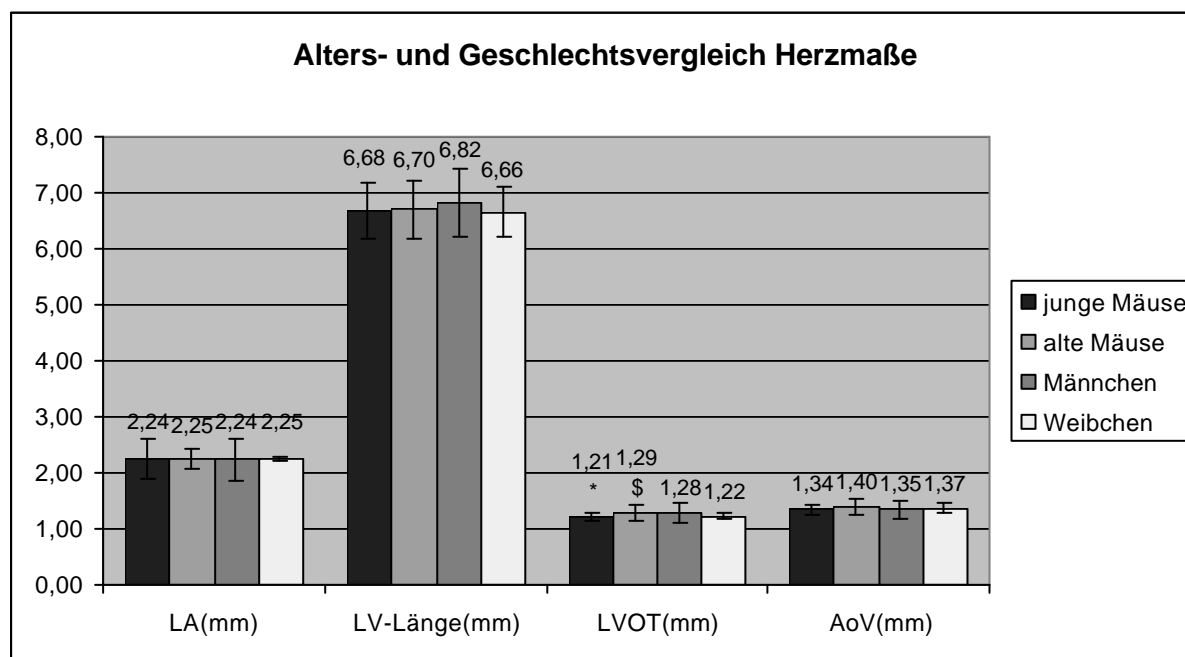


Abbildung 3-3: Herzmaße der nach Alter und Geschlecht zugeordneten Gruppen

(LA = linker Vorhof (engl.: left atrium), LV = linker Ventrikel, LVOT = linksventrikulärer Ausflußtrakt (engl.: left ventricular outflow tract, AoV = Durchmesser der Aortenwurzel (engl.: Aortal valve)
 (\$ (p<0,05) zu jungen Mäusen, * (p<0,05) zu alten Mäusen, § (p<0,05) zu Männchen, # (p<0,05) zu Weibchen)
 Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert +/- 1 Standardabweichung

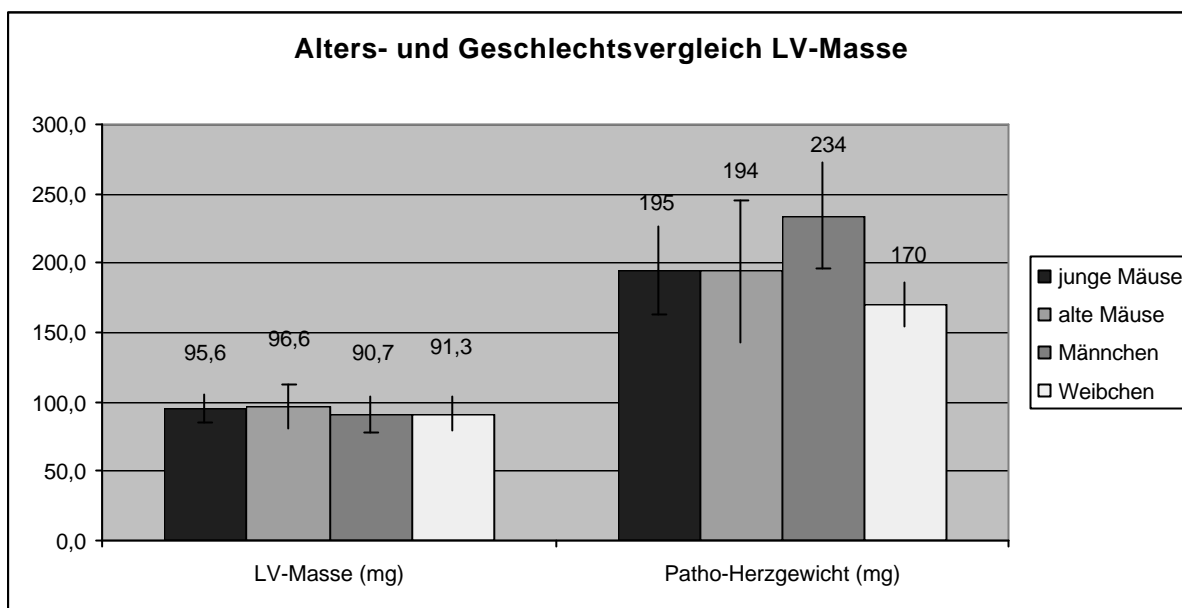


Abbildung 3-4: linksventrikuläre Masse der nach Alter und Geschlecht zugeordneten Gruppen

(LV-Mass = Masse des linken Ventrikels, Patho-Herzgewicht = ausgewogenes Herzgewicht)

(\$ (p<0,05) zu jungen Mäusen , * (p<0,05) zu alten Mäusen, § (p<0,05) zu Männchen, # (p<0,05) zu Weibchen)

Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert +/- 1 Standardabweichung

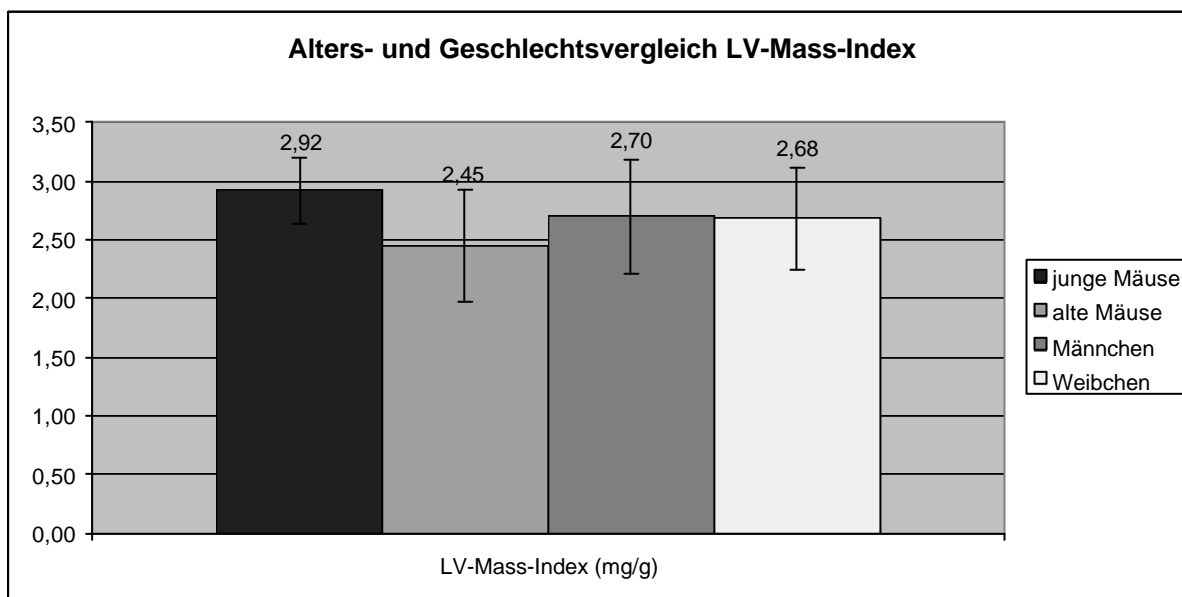


Abbildung 3-5: LV-Mass-Index der nach Alter und Geschlecht zugeordneten Gruppen

(LV-Mass-Index = LV-Mass/Körpergewicht der Maus)

(\$ (p<0,05) zu jungen Mäusen , * (p<0,05) zu alten Mäusen, § (p<0,05) zu Männchen, # (p<0,05) zu Weibchen)

Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert +/- 1 Standardabweichung

3.1.2.2 Messungen im M-Mode

Im M-Mode zeigten die Ergebnisse keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. (Tabelle 3-3 und Abbildung 3-6)

Alters- und Geschlechtsvergleiche M-Mode

(\$ (p<0,05) zu jungen Mäusen , * (p<0,05) zu alten Mäusen, § (p<0,05) zu Männchen, # (p<0,05) zu Weibchen)

Mäuse gesamt	gesamt							
	junge Mäuse		alte Mäuse		Männchen		Weibchen	
	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD
IVS(mm)	0,83	±0,07	0,87	±0,08	0,87	±0,08	0,84	±0,07
LVEDD(mm)	4,07	±0,28	3,94	±0,18	4,07	±0,18	3,96	±0,27
LVESD(mm)	2,57	±0,30	2,37	±0,45	2,59	±0,41	2,40	±0,36
PWEDD(mm)	0,85	±0,09	0,82	±0,12	0,84	±0,08	0,83	±0,12

Tabelle 3-3: Alters- und Geschlechtsvergleiche M-Mode

(IVS = Durchmesser des interventrikulären Septums, LVEDD = linksventrikulärer enddiastolischer Durchmesser, LVESD = linksventrikulärer endsystolischer Durchmesser, PWEDD = enddiastolischer Durchmesser der linksventrikulären posterioren Wand (engl.: posterior wall enddiastolic diameter))

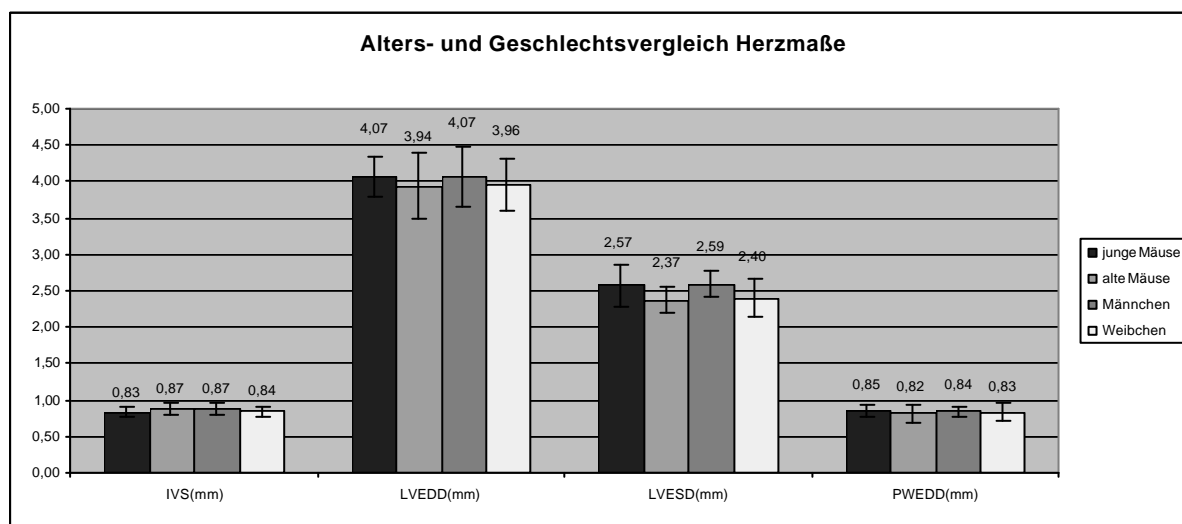


Abbildung 3-6: M-Mode-Daten der nach Alter und Geschlecht zugeordneten Gruppen

(IVS = Durchmesser des interventrikulären Septums, LVEDD = linksventrikulärer enddiastolischer Durchmesser, LVESD = linksventrikulärer endsystolischer Durchmesser, PWEDD = enddiastolischer Durchmesser der linksventrikulären posterioren Wand (engl.: posterior wall enddiastolic diameter))
 (\$ (p<0,05) zu jungen Mäusen , * (p<0,05) zu alten Mäusen, § (p<0,05) zu Männchen, # (p<0,05) zu Weibchen)

Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert +/- 1 Standardabweichung

3.1.2.3 Doppler-Messungen

Weiterhin konnten keine Unterschiede der funktionellen Parameter weder zwischen jungen und alten Tieren, noch zwischen Männchen und Weibchen gefunden werden (Tabelle 3-4; Abbildungen 3-7 bis 3-11).

Alters- und Geschlechtsvergleiche Flüsse

(\$ (p<0,05) zu jungen Mäusen , * (p<0,05) zu alten Mäusen, § (p<0,05) zu Männchen, # (p<0,05) zu Weibchen)

Mäuse gesamt	gesamt							
	junge Mäuse		alte Mäuse		Männchen		Weibchen	
	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD
Ao Vmax(cm/s)	73,2	±8,18	74,2	±14,03	77,1	±15,13	71,5	±7,65
Ao PGmax(mmHg)	2,17	±0,46	2,27	±0,91	2,46	±0,97	2,06	±0,44
Ao PGmean(mmHg)	0,99	±0,24	1,07	±0,35	1,05	±0,35	1,01	±0,25
MV PGmax(mmHg)	1,42	±0,65	1,85	±0,67	1,38	±0,67	1,79	±0,67
MV PGmean(mmHg)	0,47	±0,22	0,48	±0,26	0,44	±0,21	0,50	±0,26
MV E-Welle(cm/s)	62,0	±14,82	65,6	±14,56	58,7	±15,58	67,1	±13,23
MV A-Welle(cm/s)	25,7	±8,01	29,9	±19,08	28,4	±19,58	27,4	±10,74
MV E/A-Ratio	2,55	±0,70	2,62	±0,91	2,44	±0,78	2,68	±0,82

Tabelle 3-4: Alters- und Geschlechtsvergleiche Flüsse

(Ao Vmax = maximale Flußgeschwindigkeit über der Aortenklappe, Ao PGmax = maximaler Druck über der Aortenklappe, Ao PGmean = mittlerer Druck über der Aortenklappe, MV PGmax = maximaler Druck über der Mitralklappe, MV PGmean = mittlerer Druck über der Mitralklappe, MV E-Welle = maximale Flußgeschwindigkeit der E-Welle, MV A-Welle = maximale Flußgeschwindigkeit der A-Welle, MV E/A-Ratio = Verhältnis von E- zu A-Welle)

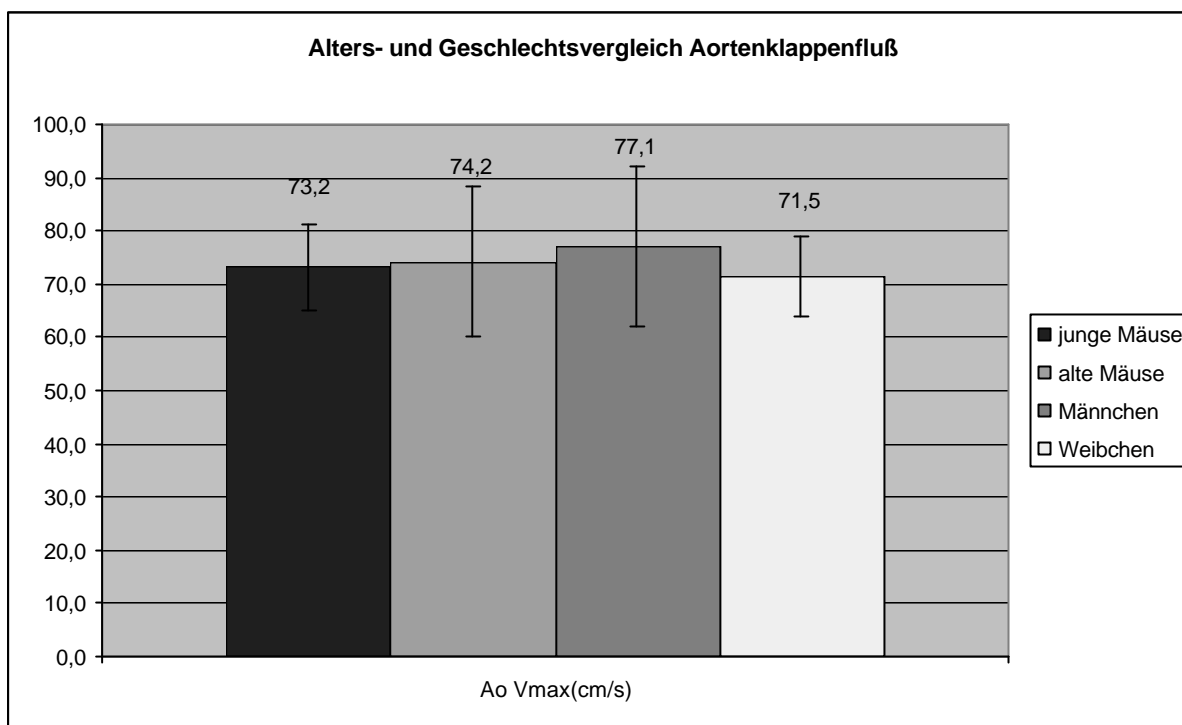


Abbildung 3-7: maximaler Aortenklappenfluß der nach Alter und Geschlecht zugeordneten Gruppen

(Ao Vmax = maximale Flußgeschwindigkeit über der Aortenklappe)

(\$ (p<0,05) zu jungen Mäusen, * (p<0,05) zu alten Mäusen, § (p<0,05) zu Männchen, # (p<0,05) zu Weibchen)
 Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert +/- 1 Standardabweichung

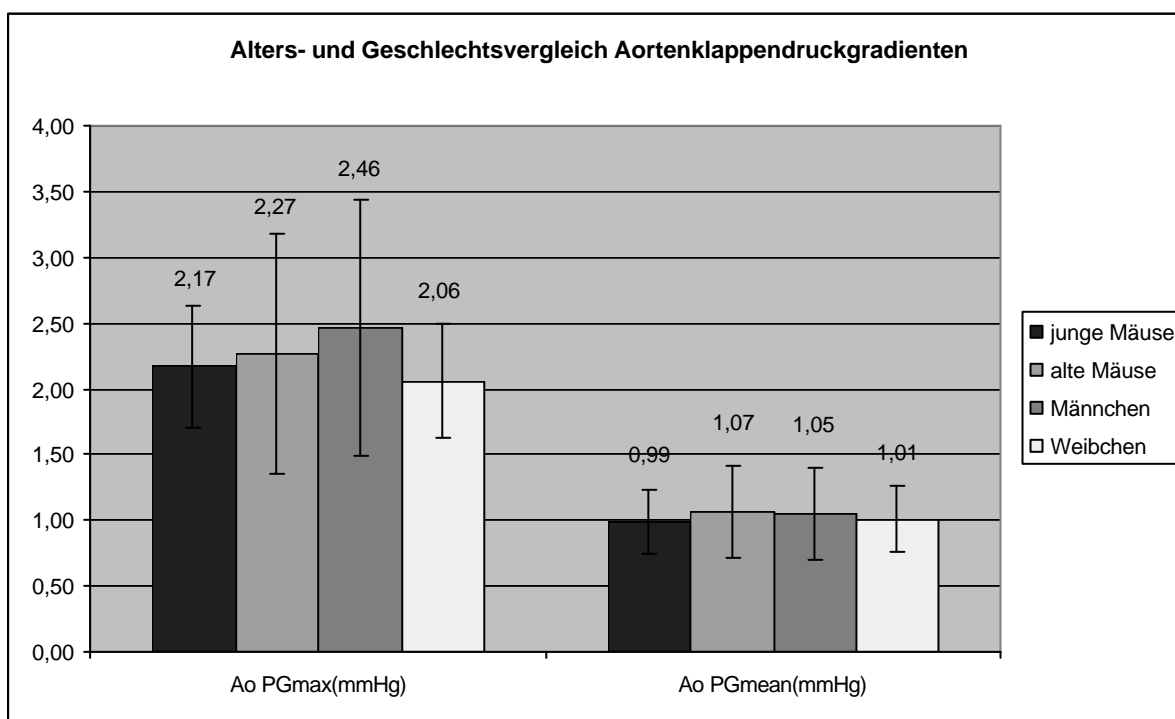


Abbildung 3-8: Aortenklappendruckgradienten der nach Alter und Geschlecht eingeteilten Gruppen

(Ao PGmax = maximaler Druck über der Aortenklappe, Ao PGmean = mittlerer Druck über der Aortenklappe)

(\$ (p<0,05) zu jungen Mäusen, * (p<0,05) zu alten Mäusen, § (p<0,05) zu Männchen, # (p<0,05) zu Weibchen)
 Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert +/- 1 Standardabweichung

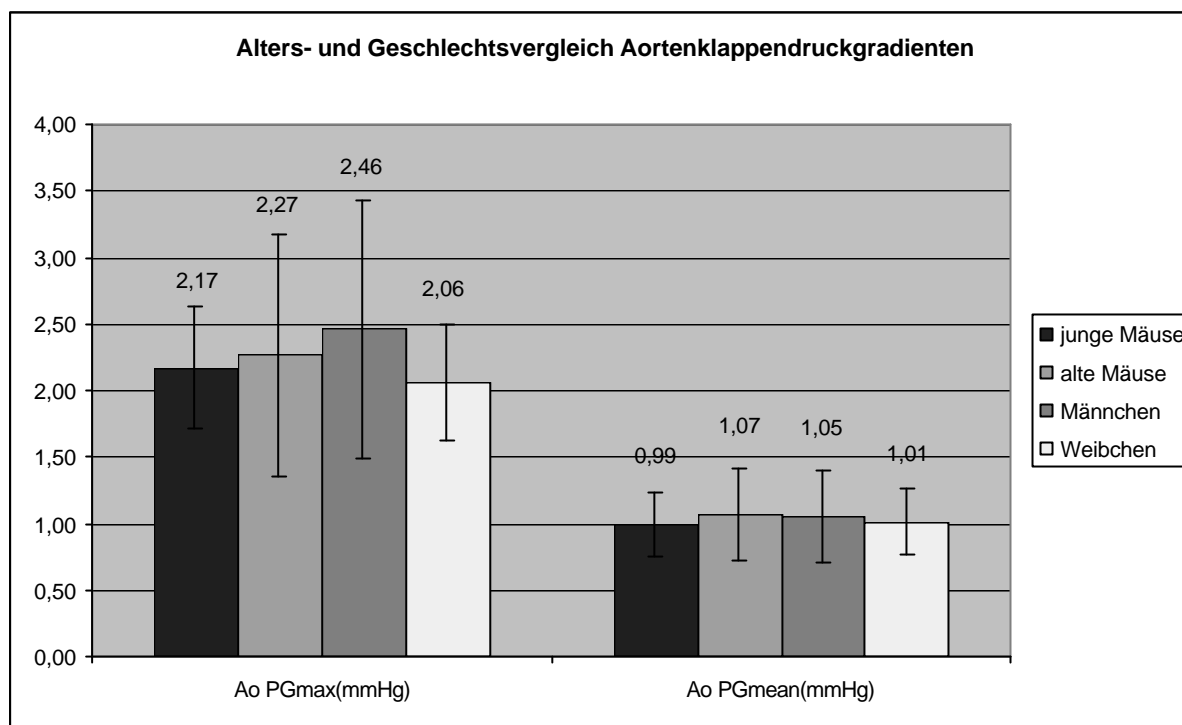


Abbildung 3-9: Mitralklappendruckgradienten der nach Alter und Geschlecht eingeteilten Gruppen

(MV PGmax = maximaler Druck über der Mitralklappe, MV PGmean = mittlerer Druck über der Mitralklappe)
 (§ (p<0,05) zu jungen Mäusen, * (p<0,05) zu alten Mäusen, § (p<0,05) zu Männchen, # (p<0,05) zu Weibchen)
 Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert +/- 1 Standardabweichung

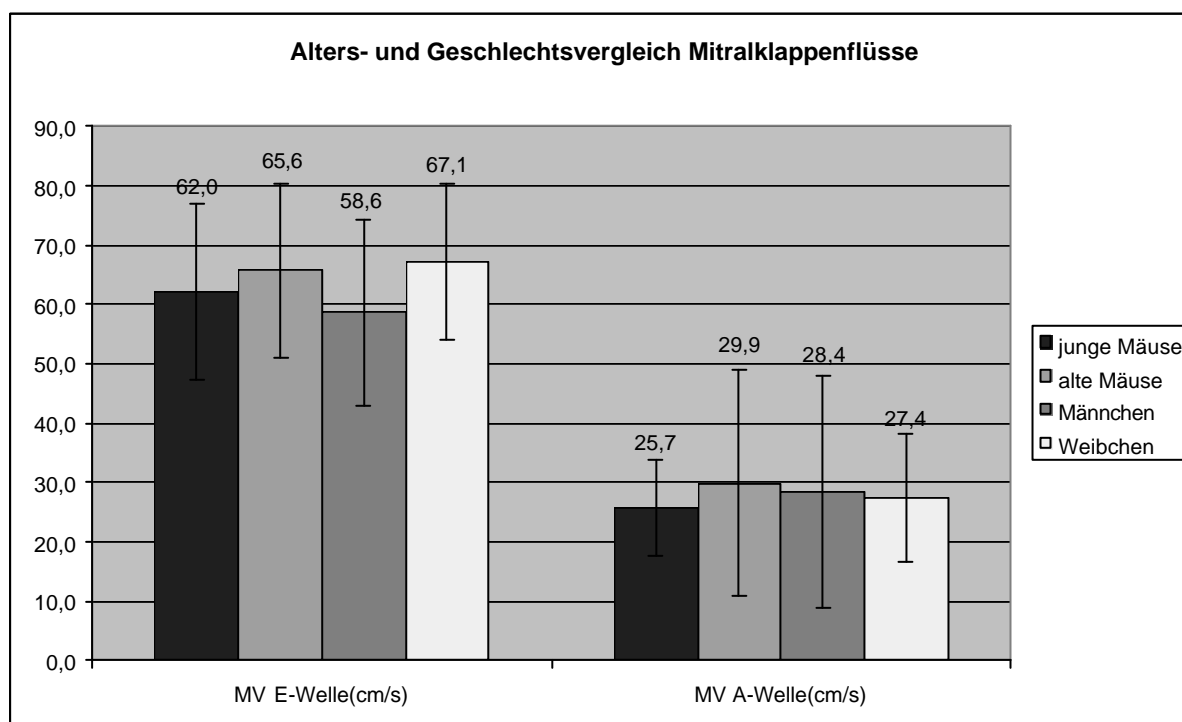


Abbildung 3-10: Mitralklappenflüsse der nach Alter und Geschlecht eingeteilten Gruppen

(MV E-Welle = maximale Flußgeschwindigkeit der E-Welle, MV A-Welle = maximale Flußgeschwindigkeit der A-Welle)
 (§ (p<0,05) zu jungen Mäusen, * (p<0,05) zu alten Mäusen, § (p<0,05) zu Männchen, # (p<0,05) zu Weibchen)
 Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert +/- 1 Standardabweichung

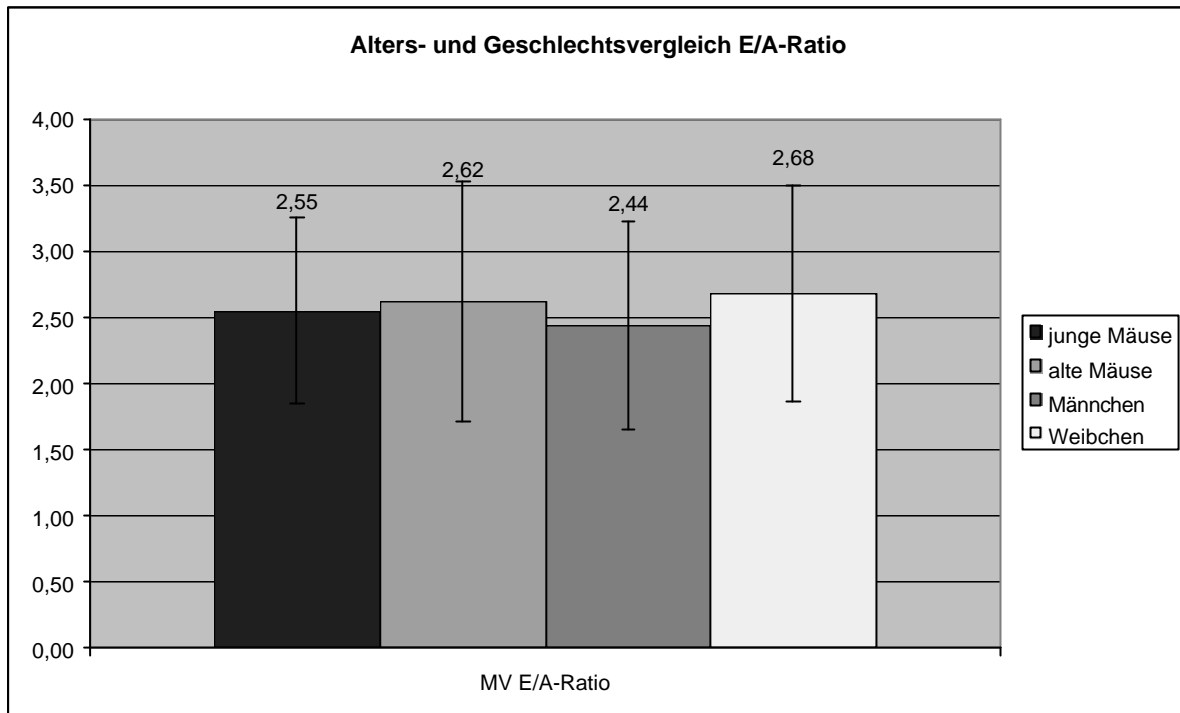


Abbildung 3-11: E- zu A-Verhältnis der nach Alter und Geschlecht eingeteilten Gruppen

(MV E/A-Ratio = Verhältnis von E- zu A-Welle)

(\$ (p<0,05) zu jungen Mäusen, * (p<0,05) zu alten Mäusen, § (p<0,05) zu Männchen, # (p<0,05) zu Weibchen)

Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert +/- 1 Standardabweichung

3.1.2.4 Messungen der Funktionsparameter

Das Herzminutenvolumen, die Verkürzungsfraction des linken Ventrikels, sowie die Auswurfraction, wie auch die Auswurfzeit veränderten sich nicht mit dem Alter der Mäuse und unterschieden sich auch nicht zwischen den Geschlechtern, wohingegen sich jedoch ein klarer Trend zu einem reduzierten Herzindex bei den älteren Mäusen im Vergleich mit den jüngeren Tieren ergab (siehe Tabelle3-5 und Abbildungen 3-12 bis 3-16).

Alters- und Geschlechtsvergleiche Funktionsparameter

(\$ (p<0,05) zu jungen Mäusen , * (p<0,05) zu alten Mäusen, § (p<0,05) zu Männchen, # (p<0,05) zu Weibchen)

Mäuse gesamt	gesamt							
	junge Mäuse		alte Mäuse		Männchen		Weibchen	
	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD
FS(%)	36,9	±4,7	39,9	±10,4	36,6	±8,7	39,6	±7,7
LVET(ms)	94,0	±13	93,0	±12	88,0	±8,9	96,7	±13,5
LV-EF (%)	60,0	±6	63,0	±11	59,0	±9,9	62,9	±8,1
CO(ml/min)	16,7	±4,0	16,2	±5,2	18,4	±5,2	15,2	±3,8
CI (ml/min*g)	0,52	±0,13*	0,42	±0,14§	0,49	±0,14	0,45	±0,14

Tabelle 3-5: Alters- und Geschlechtsvergleiche Funktionsparameter

FS = Verkürzungsfraction (engl.: Fractional Shortening), LVET = linksventrikuläre Auswurfzeit (engl.: left ventricular ejection time), LV-EF = linksventrikuläre Auswurfraction (engl.: left ventricular ejection fraction), CO = Herzminutenvolumen (engl. Cardiac Output), CI = Herzindex (engl.: Cardiac Index) = CO/KG der Maus

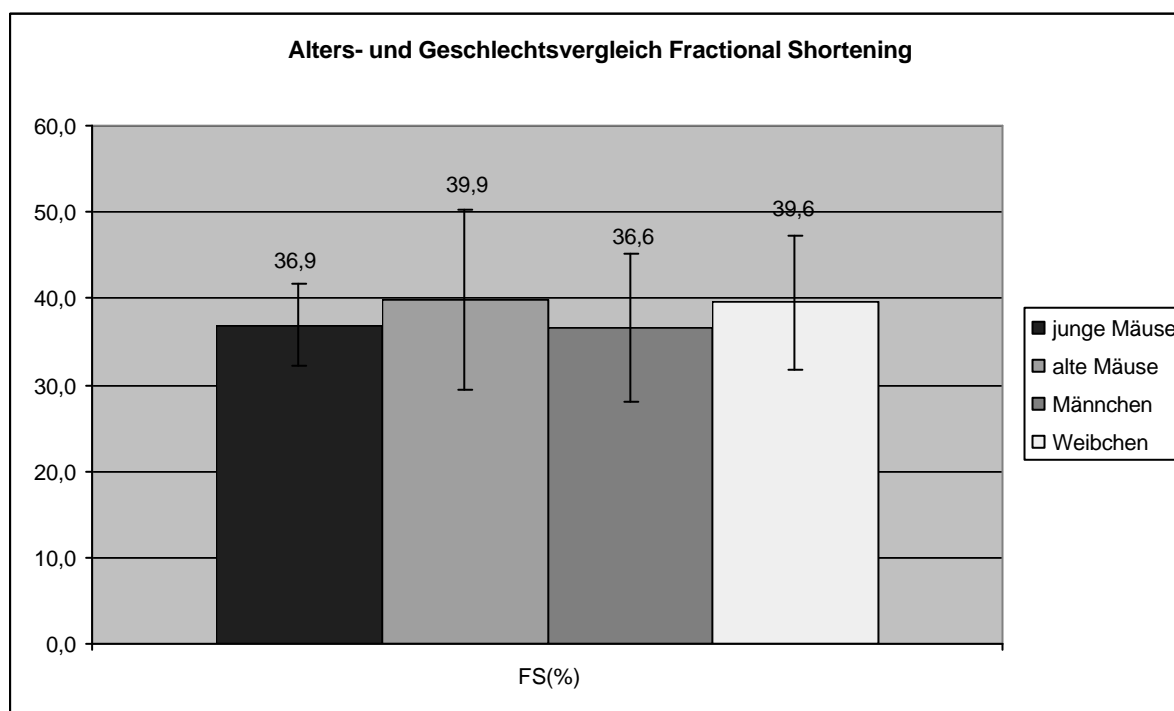


Abbildung 3-12: Verkürzungsfraction des linken Ventrikels der nach Alter und Geschlecht eingeteilten Gruppen

FS = Verkürzungsfraction (engl.: Fractional Shortening)

(\$ (p<0,05) zu jungen Mäusen , * (p<0,05) zu alten Mäusen, § (p<0,05) zu Männchen, # (p<0,05) zu Weibchen)
Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert +/- 1 Standardabweichung

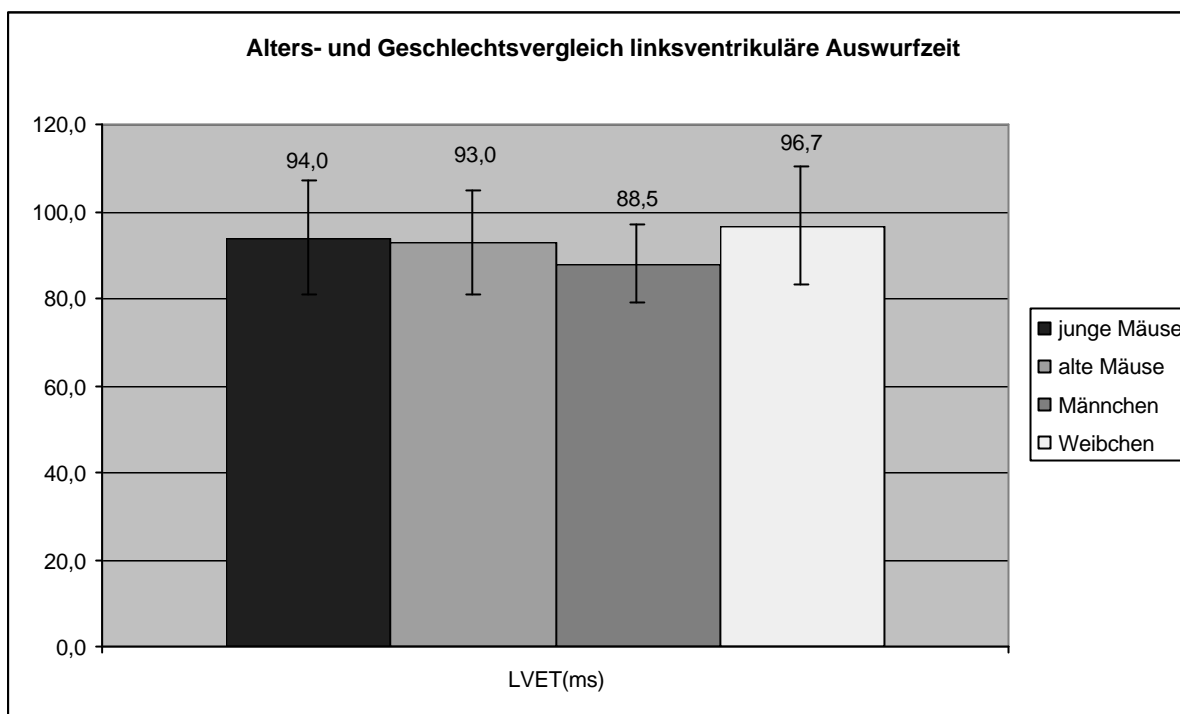


Abbildung 3-13: linksventrikuläre Auswurfzeit der nach Alter und Geschlecht eingeteilten Gruppen

LVET = linksventrikuläre Auswurfzeit (engl.: left ventricular ejection time)

(\$ (p<0,05) zu jungen Mäusen, * (p<0,05) zu alten Mäusen, § (p<0,05) zu Männchen, # (p<0,05) zu Weibchen)

Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert +/- 1 Standardabweichung

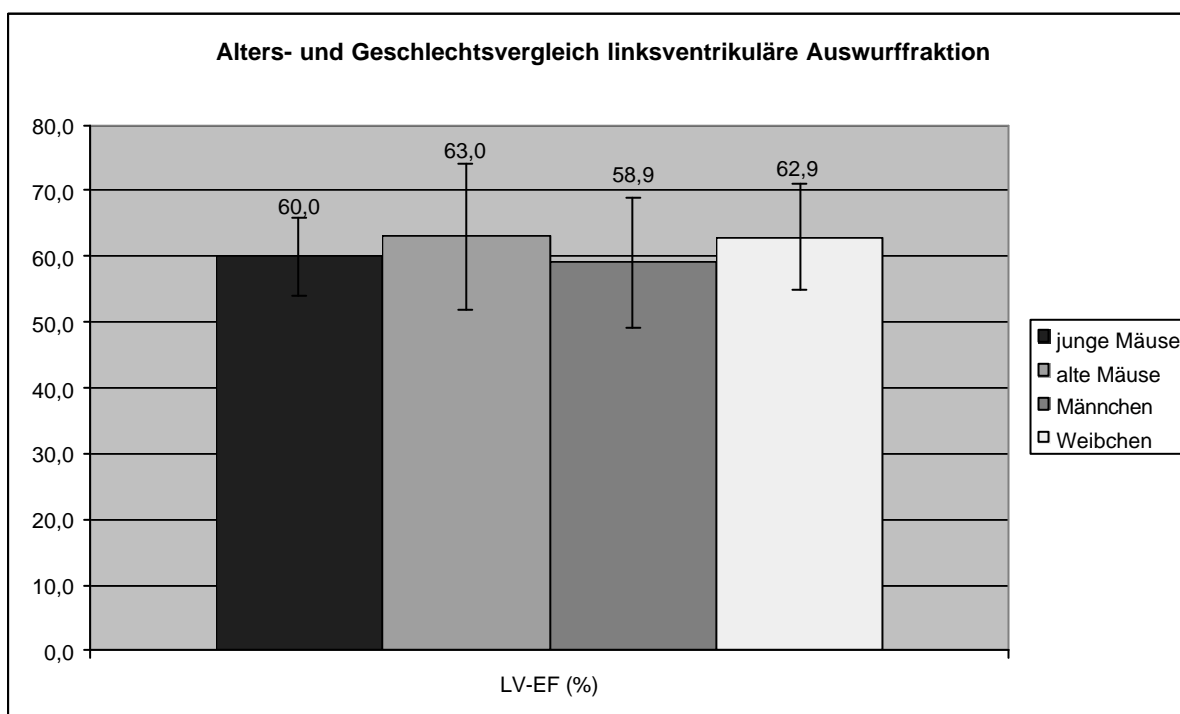


Abbildung 3-14: linksventrikuläre Auswurfraction der nach Alter und Geschlecht eingeteilten Gruppen

LV-EF = linksventrikuläre Auswurfraction (engl.: left ventricular ejection fraction)

(\$ (p<0,05) zu jungen Mäusen, * (p<0,05) zu alten Mäusen, § (p<0,05) zu Männchen, # (p<0,05) zu Weibchen)

Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert +/- 1 Standardabweichung

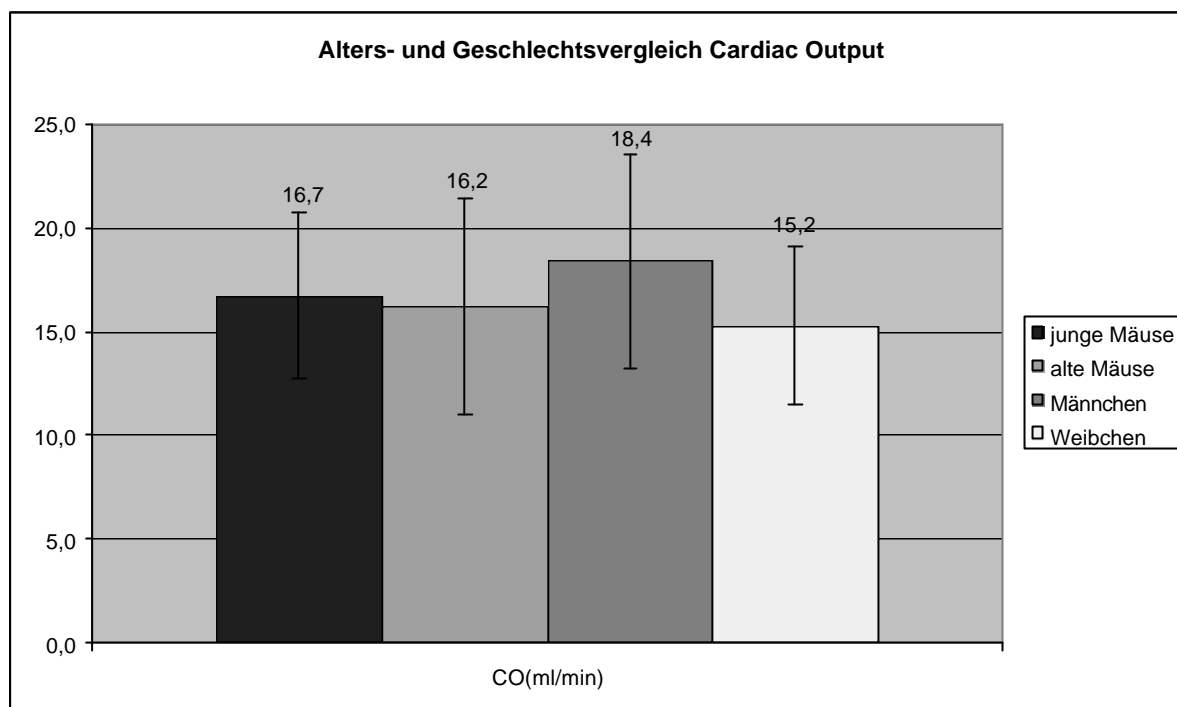


Abbildung 3-15: Herzminutenvolumen der nach Alter und Geschlecht eingeteilten Gruppen

CO = Herzminutenvolumen (engl. Cardiac Output)

(\$ (p<0,05) zu jungen Mäusen, * (p<0,05) zu alten Mäusen, § (p<0,05) zu Männchen, # (p<0,05) zu Weibchen)

Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert +/- 1 Standardabweichung

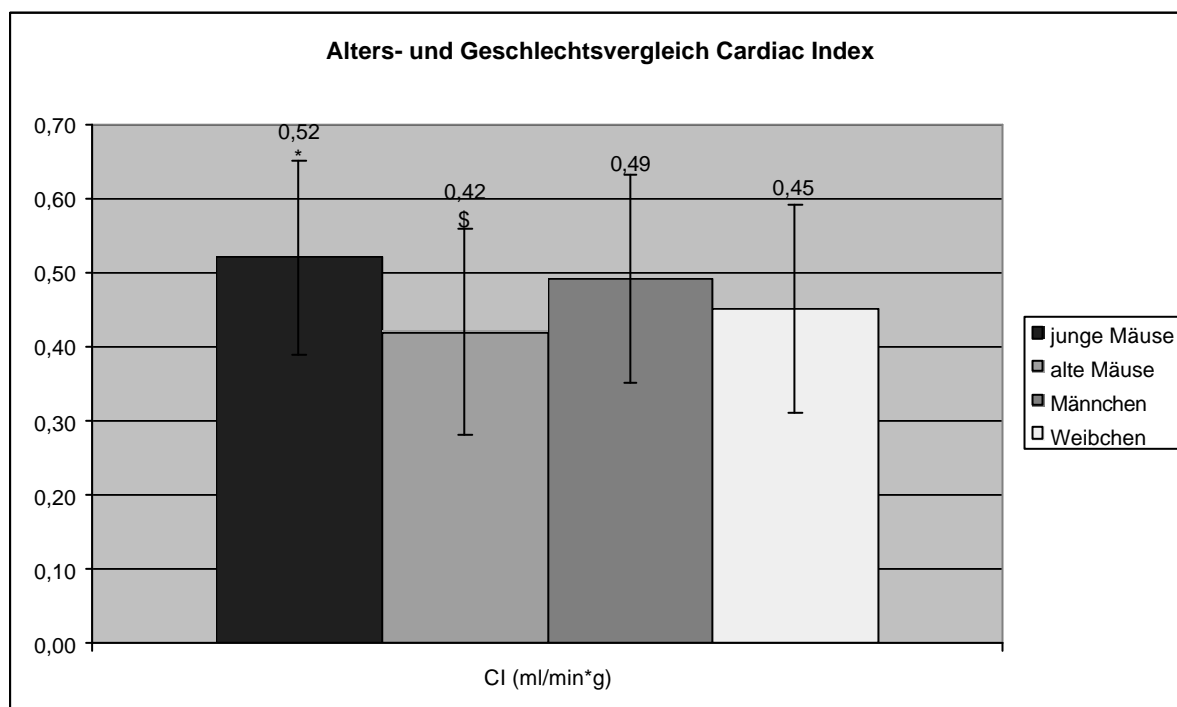


Abbildung 3-16: Herzindex der zu Versuchsbeginn eingeteilten Gruppen

CI = Herzindex (engl.: Cardiac Index) = CO/KG der Maus

(\$ (p<0,05) zu jungen Mäusen, * (p<0,05) zu alten Mäusen, § (p<0,05) zu Männchen, # (p<0,05) zu Weibchen)

Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert +/- 1 Standardabweichung

3.1.2.5 Messungen der Nieren

Bei den Messungen der Nieren ergaben sich folgende Resultate:

Die Länge der linken Niere lag bei den jungen Tieren (Männchen: $9,94 \pm 1,00$ mm; Weibchen: $10,36 \pm 0,51$ mm) signifikant niedriger als bei den älteren Tieren (Männchen: $11,69 \pm 0,67$ mm; Weibchen: $11,00 \pm 1,09$ mm). Bei den jungen Weibchen traf dies jedoch nur im Vergleich mit den älteren Männchen zu. In der Gesamtbetrachtung ergab sich ebenfalls ein Unterschied zwischen den jungen ($10,16 \pm 0,80$ mm) und den alten ($11,25 \pm 1,00$ mm) Mäusen.

Für die Nierenbreite dieser Niere ergab sich eine signifikante Differenz für die beiden Gruppen mit den alten Tieren (Männchen: $6,30 \pm 0,66$ mm; Weibchen: $5,61 \pm 0,48$ mm) zu jeweils allen anderen Gruppen und für die Gruppen der jungen Tiere (Männchen: $4,69 \pm 0,48$ mm; Weibchen: $5,0 \pm 0,38$ mm) zu denen der alten Mäuse. Auch hier zeigte sich im Gesamtvergleich eine signifikant niedrigere Nierenbreite bei den jungen Mäusen (junge Mäuse: $4,88 \pm 0,47$ mm; alte Mäuse: $5,85 \pm 0,63$ mm).

Für die linke Nierenrinde zeigten die zu Versuchsbeginn eingeteilten Gruppen keine signifikanten Unterschiede. Im Alters- und Geschlechtsvergleich konnte jedoch gezeigt werden, dass die Männchen ($1,25 \pm 0,27$ mm) mit Ihren Werten signifikant höher lagen als die Weibchen ($1,11 \pm 0,21$ mm).

Die Werte für das linke Nierenmark ergaben einen signifikant niedrigeren Wert der Gruppe der jungen Männchen ($2,06 \pm 0,31$ mm) zu denen der Weibchen (8 Wochen: $2,42 \pm 0,42$ mm; 52 Wochen: $2,42 \pm 0,41$ mm), zu den alten Männchen ($2,29 \pm 0,65$ mm) war die Differenz nicht signifikant und auch die Alters- und Geschlechtsgruppen unterschieden sich hier nicht.

Bei den Messwerten der rechten Nierenlänge ergab sich lediglich ein signifikanter Unterschied zwischen den jungen Männchen ($9,99 \pm 0,95$ mm) und den alten Weibchen ($10,94 \pm 1,26$ mm). Die übrigen Werte lagen zwischen diesen beiden. Insgesamt zeigte sich auch für die Männchen ($9,93 \pm 1,99$ mm) ein kleinerer Wert als für die Weibchen ($10,75 \pm 1,04$ mm).

Bei der Breite der rechten Niere lag die Gruppe der alten Männchen mit $6,77 \pm 0,50$ mm signifikant über allen anderen Gruppen, weiter lag die Gruppe der jungen Männchen ($4,87 \pm 0,76$ mm) mit ihren Werten signifikant unter denen der alten Tiere. Im Gesamtvergleich zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen jungen ($5,12 \pm 0,71$ mm) und alten Tieren ($5,87 \pm 0,77$ mm).

Für die rechte Nierenrinde konnten signifikante Unterschiede der alten Weibchen ($1,07 \pm 0,15$ mm) zu den beiden Gruppen mit den jungen Tieren (Männchen: $1,35 \pm 0,22$ mm; Weibchen: $1,23 \pm 0,21$ mm) nachgewiesen werden. Für diesen Parameter unterschieden sich auch im Alters- und Geschlechtsvergleich die miteinander verglichenen Gruppen signifikant (junge Mäuse: $1,30 \pm 0,22$ mm; alte Mäuse: $1,11 \pm 0,18$ mm; Männchen: $1,29 \pm 0,23$ mm; Weibchen: $1,17 \pm 0,21$ mm)

Bei den Messwerten des rechten Nierenmarks ergaben sich keine signifikanten Unterschiede der Gruppen untereinander.

Alters- und Geschlechtsvergleiche Nierenmaße

(\$ (p<0,05) zu jungen Mäusen , * (p<0,05) zu alten Mäusen, § (p<0,05) zu Männchen, # (p<0,05) zu Weibchen)

Mäuse gesamt	gesamt							
	junge Mäuse		alte Mäuse		Männchen		Weibchen	
	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD
Niere li L(mm)	10,16	±0,80*	11,25	±1,00\$	10,56	±1,22	10,68	±0,90
Niere li B(mm)	4,88	±0,47*	5,85	±0,63\$	5,26	±0,96	5,33	±0,51
Nierenrinde li(mm)	1,20	±0,24	1,13	±0,25	1,25	±0,27#	1,11	±0,21§
Nierenmark li(mm)	2,25	±0,41	2,46	±0,64	2,22	±0,66	2,42	±0,41
Niere re L(mm)	10,30	±0,89	10,58	±2,12	9,93	±1,99#	10,75	±1,04§
Niere re B(mm)	5,12	±0,71*	5,87	±0,77\$	5,51	±1,14	5,40	±0,52
Nierenrinde re(mm)	1,30	±0,22*	1,11	±0,18\$	1,29	±0,23#	1,17	±0,21§
Nierenmark re(mm)	2,38	±0,52	2,42	±0,60	2,36	±0,73	2,42	±0,40

Tabelle 3-6: Vergleich der Nierenmaße bei den nach Alter und Geschlecht eingeteilten Gruppen

(li = links; re = rechts; L =Länge; B = Breite)

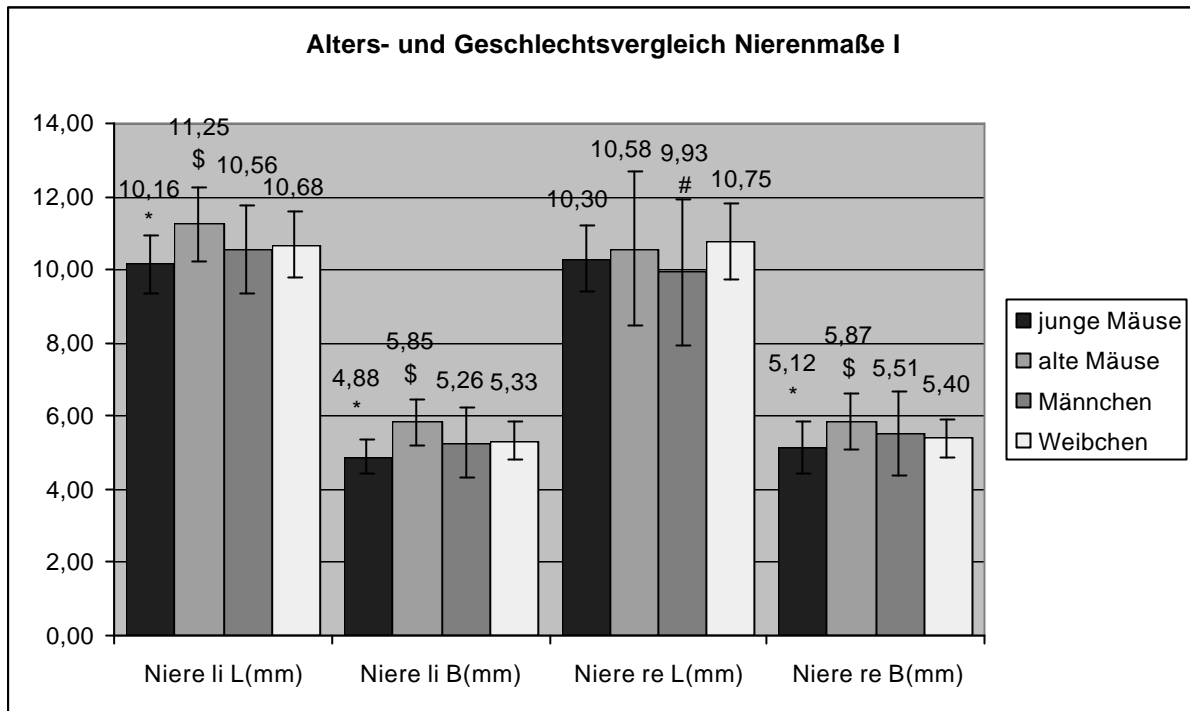


Abbildung 3-17: Vergleich der Nierenmaße I bei den nach Alter und Geschlecht eingeteilten Gruppen

(li = links; re = rechts; L =Länge; B = Breite)

(\$ (p<0,05) zu jungen Mäusen , * (p<0,05) zu alten Mäusen, § (p<0,05) zu Männchen, # (p<0,05) zu Weibchen)

Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert +/- 1 Standardabweichung

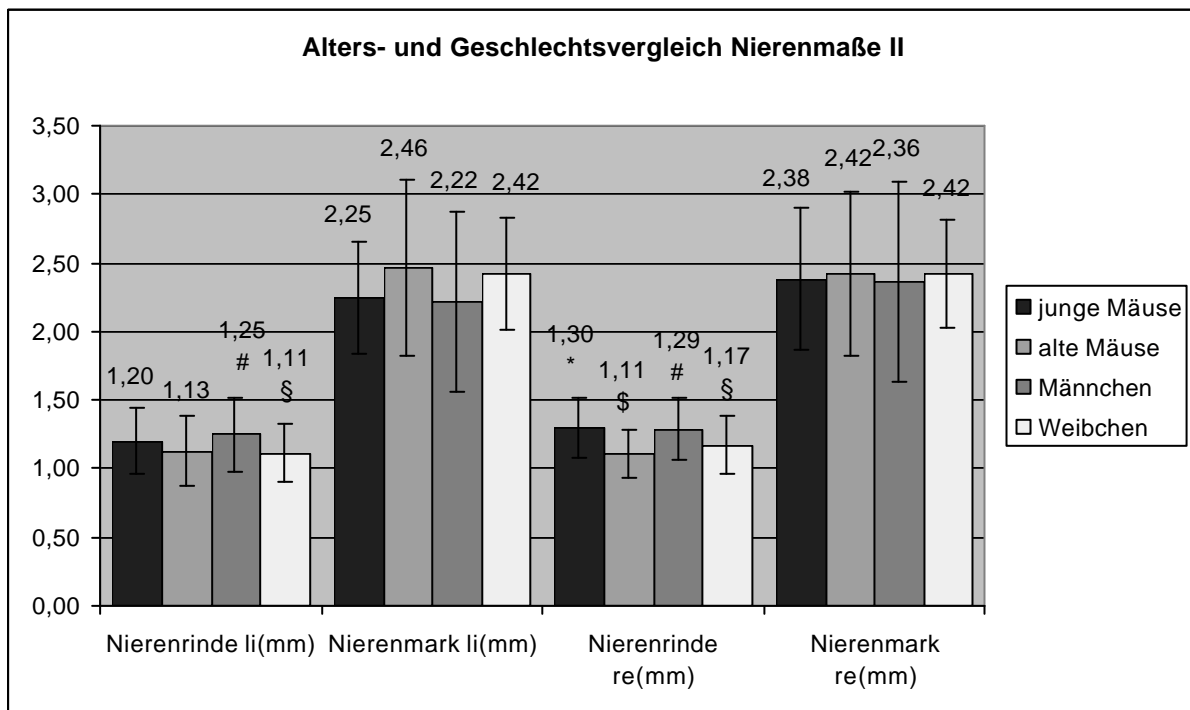


Abbildung 3-18: Vergleich der Nierenmaße II bei den nach Alter und Geschlecht eingeteilten Gruppen

(li = links; re = rechts; L =Länge; B = Breite)

(\$ (p<0,05) zu jungen Mäusen , * (p<0,05) zu alten Mäusen, § (p<0,05) zu Männchen, # (p<0,05) zu Weibchen)

Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert +/- 1 Standardabweichung

3.2 Intra-Observer-Variabilitäten

Zur Feststellung der Wiederholbarkeit der Untersuchung durch den selben Untersucher zu einem anderen Zeitpunkt wurden die Intra-Observer-Variabilitäten bestimmt. Die Ergebnisse hierfür werden im Folgenden in Tabellen wiedergegeben und graphisch dargestellt.

3.2.1 Grundmessgrößen

Das Gewicht der Mäuse unterschied sich zu beiden Zeitpunkten auf einem schwach signifikantem Niveau, die übrigen Grundmessgrößen ergaben keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Untersuchungszeitpunkten. (Tabelle 3-7, Abbildungen 3-19 – 3-20)

Intra-Observer-Vergleich Grundmessgrößen

Mäuse gesamt (n=40)	1. Messung (n=20)		2. Messung (n=20)		p
	MW	SD	MW	SD	
Gewicht(g)	36,0	±4,6	37,0	±5,5	s.s.
HF(bpm)	331	±74	321	±95	n.s.
HF aus Ao R-R (bpm)	327	±104	325	±99	n.s.

n.s. = nicht signifikant ($p > 0,05$), s.s. = schwach signifikant ($p < 0,05$), s. = signifikant ($p < 0,01$), h.s. = hoch signifikant ($p < 0,001$)

Tabelle 3-7: Intra-Observer-Vergleich der Grundmessgrößen

(HF = Herzfrequenz, Ao R-R = Abstand zwischen zwei R-Zacken im EKG, HF aus Ao R-R = aus Ao R-R Ao R-R berechnete HF ($HF = 60.000/Ao R-R$))

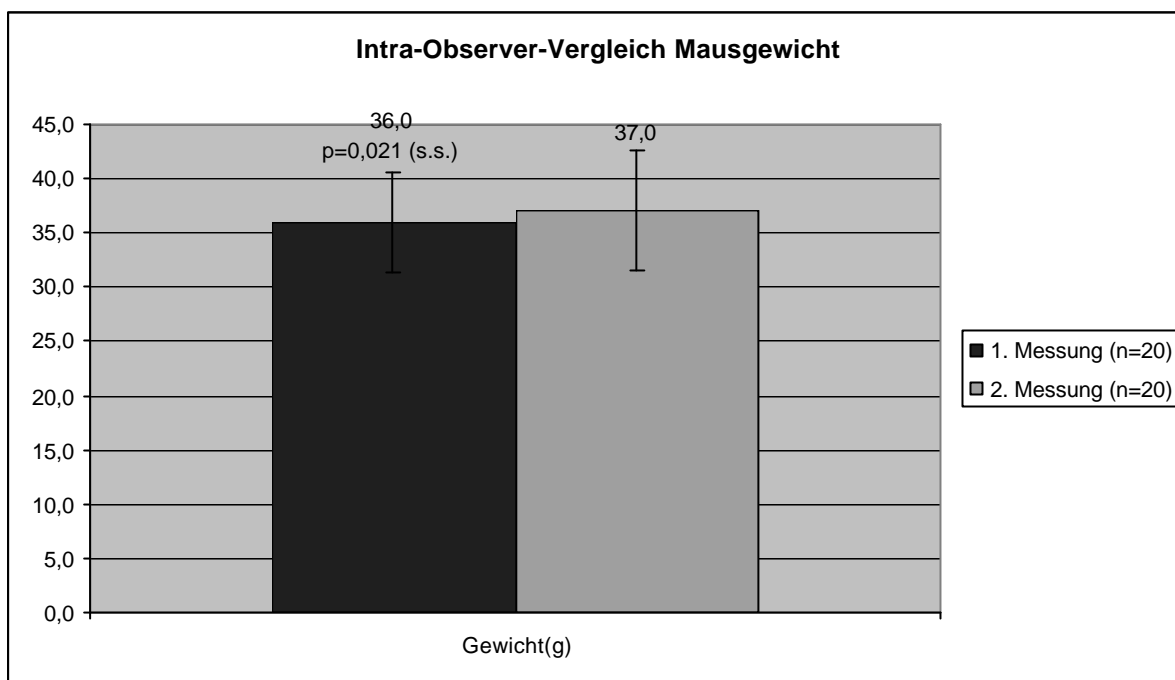


Abbildung 3-19: Intra-Observer-Vergleich der Mausgewichte

Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert +/- 1 Standardabweichung

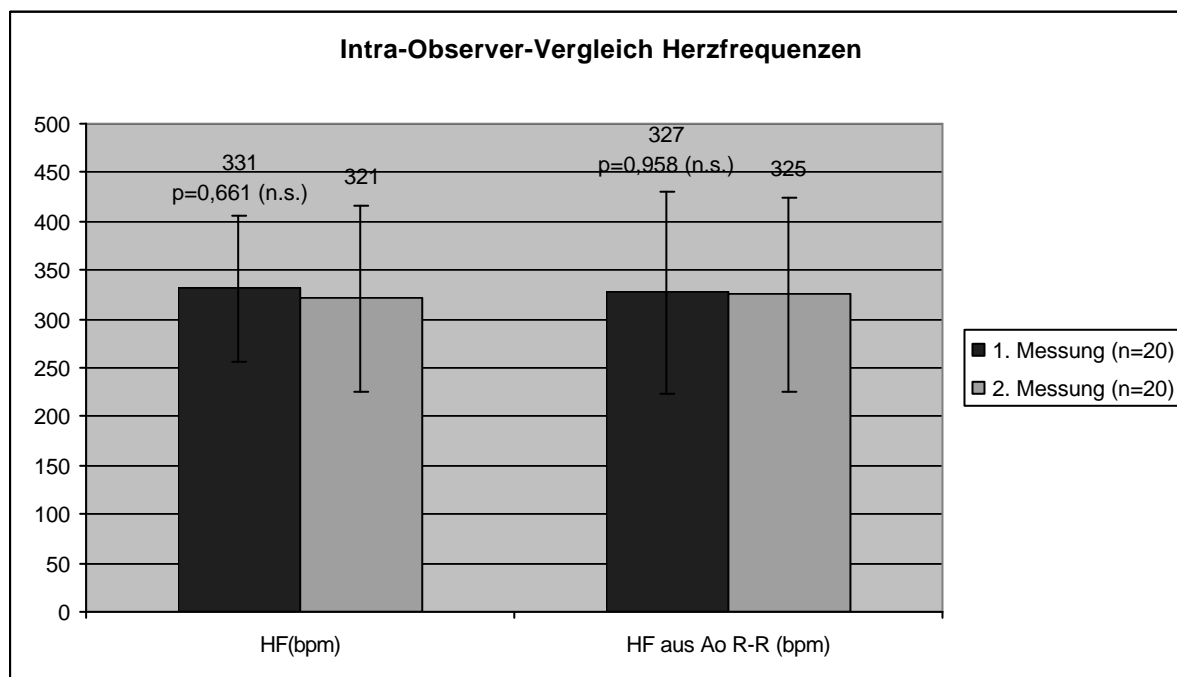


Abbildung 3-20: Intra-Observer-Vergleich der Herzfrequenzen

(HF = Herzfrequenz, Ao R-R = Abstand zwischen zwei R-Zacken im EKG, HF aus Ao R-R = aus Ao R-R berechnete HF (HF = 60.000/Ao R-R))

Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert +/- 1 Standardabweichung

3.2.2 Echokardiographie

3.2.2.1 Messungen im B-Bild

Auch für alle Messungen im B-Bild zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Untersuchungszeitpunkten. (Tabelle 3-8, Abbildungen 3-21 – 3-24)

Intra-Observer-Vergleich Herzmaße

Mäuse gesamt (n=40)	1. Messung (n=20)		2. Messung (n=20)		p
	MW	SD	MW	SD	
LA(mm)	2,27	±0,21	2,23	±0,25	n.s.
LV-Länge(mm)	6,61	±0,36	6,46	±0,66	n.s.
LVOT(mm)	1,28	±0,12	1,30	±0,14	n.s.
AoV(mm)	1,40	±0,11	1,43	±0,12	n.s.
LV-Mass (mg)	100	±20	102	±23	n.s.
LV-Mass-Index	2,83	±0,72	2,85	±0,84	n.s.

n.s. = nicht signifikant ($p > 0,05$), s.s. = schwach signifikant ($p < 0,05$), s. = signifikant ($p < 0,01$), h.s. = hoch signifikant ($p < 0,001$)

Tabelle 3-8: Intra-Observer-Vergleich der Herzmaße

(LA = linker Vorhof (engl. left atrium), LV = linker Ventrikel, LVOT = linksventrikulärer Ausflußtrakt (engl.: left ventricular outflow tract, AoV = Durchmesser der Aortenwurzel (engl.: Aortal valve), LV-Mass = Masse des linken Ventrikels, LV-Mass-Index = LV-Mass/Körpergewicht der Maus)

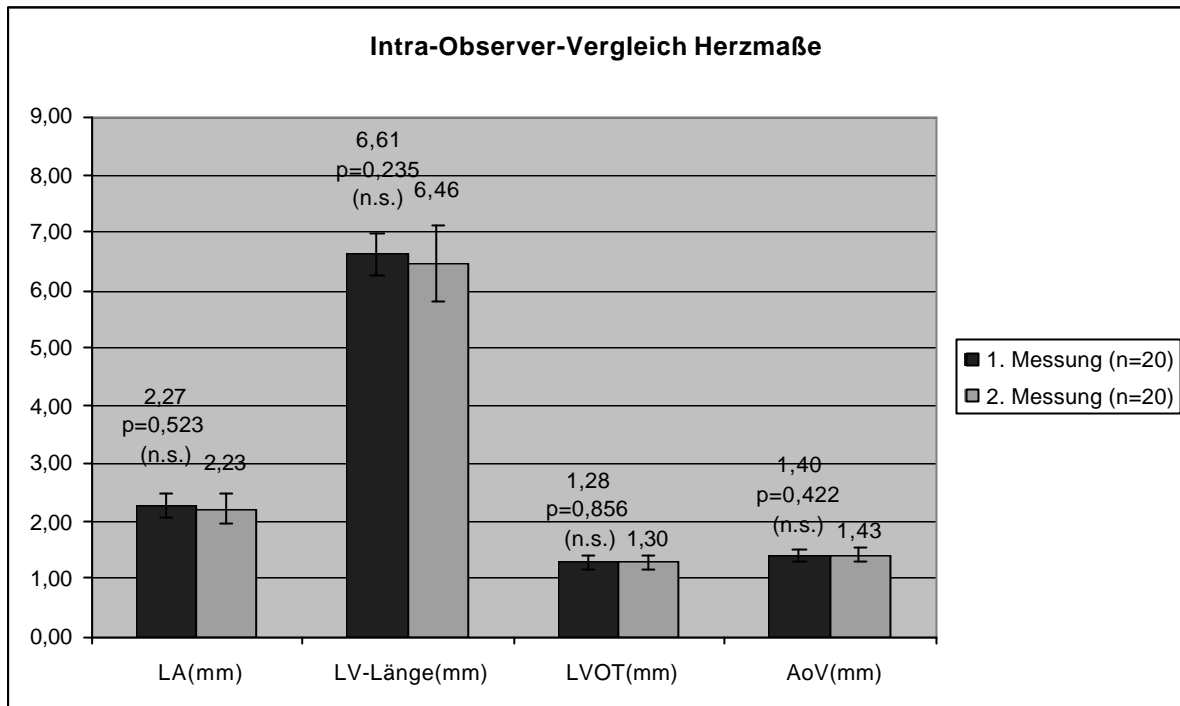


Abbildung 3-21: Intra-Observer Vergleich der Herzmaße der zu Untersuchungsbeginn eingeteilten Gruppen (LA = linker Vorhof (engl. left atrium), LV = linker Ventrikel, LVOT = linksventrikulärer Ausflusstrakt (engl.: left ventricular outflow tract, AoV = Durchmesser der Aortenwurzel (engl.: Aortal valve) Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert +/- 1 Standardabweichung

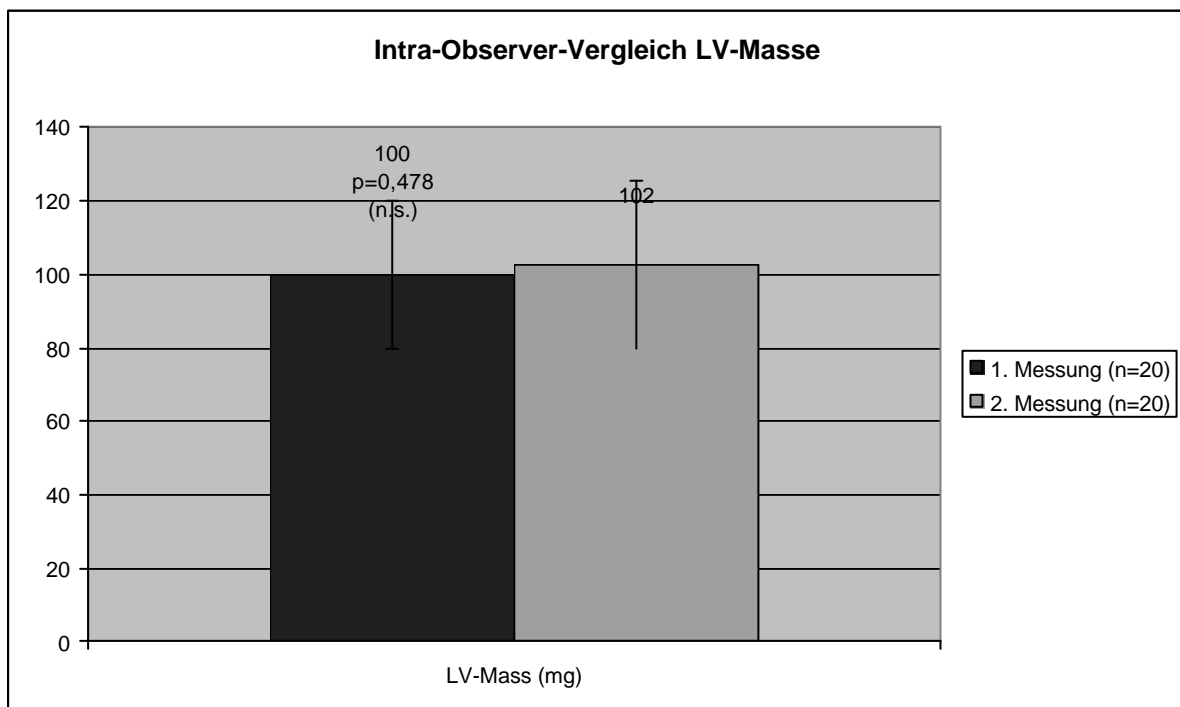


Abbildung 3-22: Intra-Observer-Vergleich der Herzmasse

(LV-Mass = Masse des linken Ventrikels)

Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert +/- 1 Standardabweichung

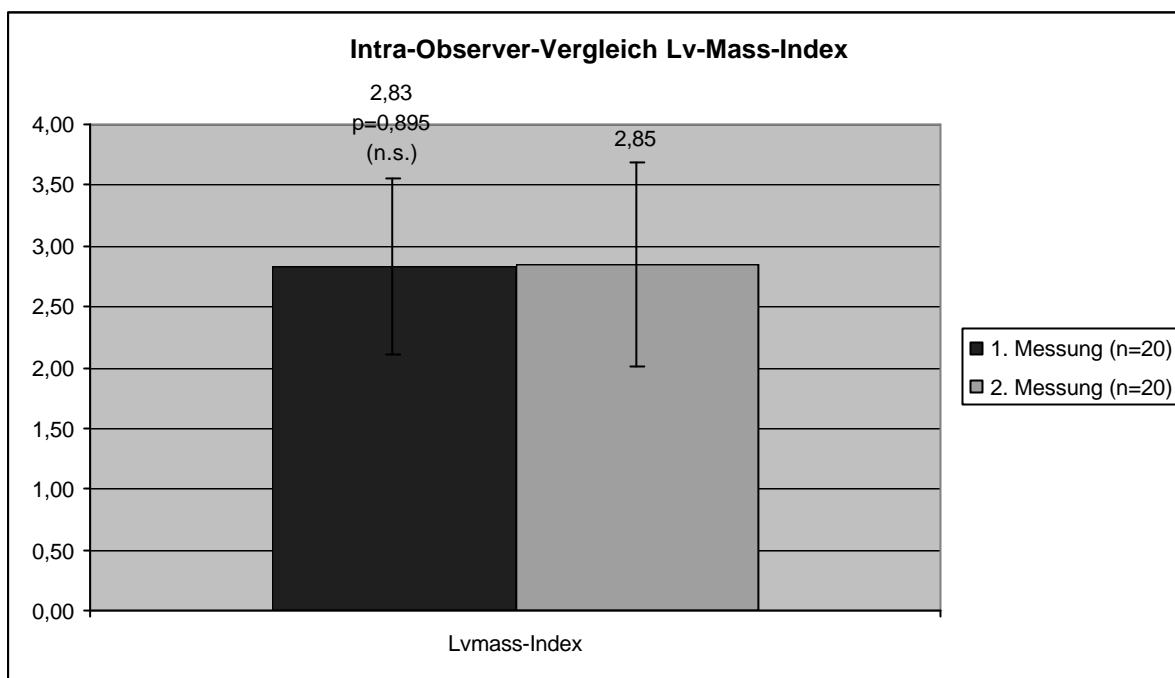


Abbildung 3-23: Intra-Observer-Vergleich des LV-Mass-Index

(LV-Mass-Index = LV-Mass/Körpergewicht der Maus)

Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert +/- 1 Standardabweichung

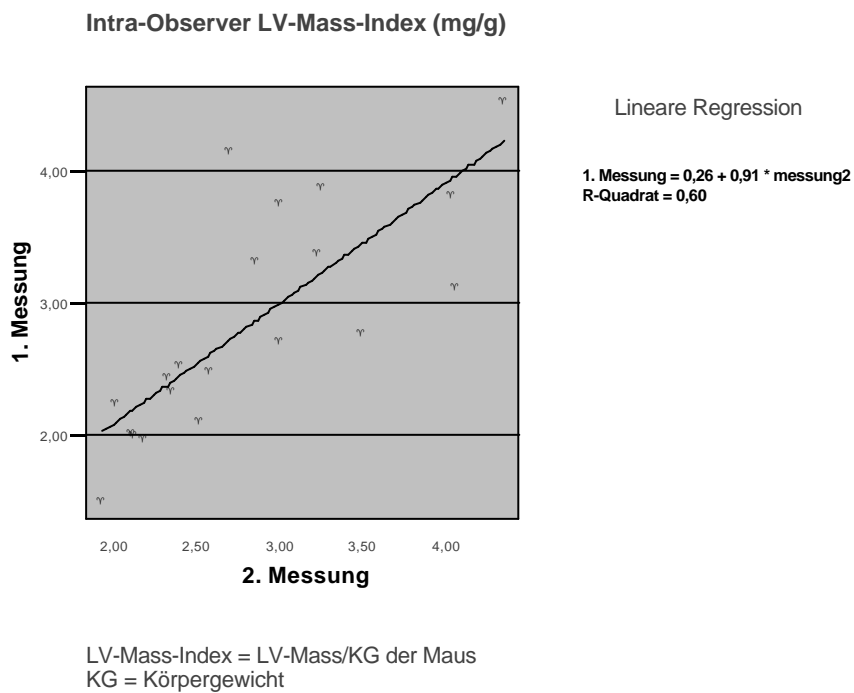


Abbildung 3-24: Regressionsgerade: Intra-Observer-Vergleich des LV-Mass-Index

3.2.2.2 Messungen im M-Mode

Im M-Mode unterschieden sich die Ergebnisse der beiden mit einander verglichenen Zeitpunkte nicht signifikant. (Tabelle 3-9, Abbildung 3-25)

Intra-Observer-Vergleich M-Mode

Mäuse gesamt (n=40)	1. Messung (n=20)		2. Messung (n=20)		p
	MW	SD	MW	SD	
IVS(mm)	0,83	±0,08	0,86	±0,10	n.s.
LVEDD(mm)	4,29	±0,54	4,27	±0,70	n.s.
LVESD(mm)	2,77	±0,36	2,81	±0,53	n.s.
PWEDD(mm)	0,86	±0,08	0,90	±0,10	n.s.

n.s. = nicht signifikant ($p > 0,05$), s.s. = schwach signifikant ($p < 0,05$), s. = signifikant ($p < 0,01$), h.s. = hoch signifikant ($p < 0,001$)

Tabelle 3-9: Intra-Observer-Vergleich der M-Mode-Daten

(IVS = Durchmesser des interventrikulären Septums, LVEDD = linksventrikulärer enddiastolischer Durchmesser, LVESD = linksventrikulärer endsystolischer Durchmesser, PWEDD = enddiastolischer Durchmesser der linksventrikulären posterioren Wand (engl.: posterior wall enddiastolic diameter))

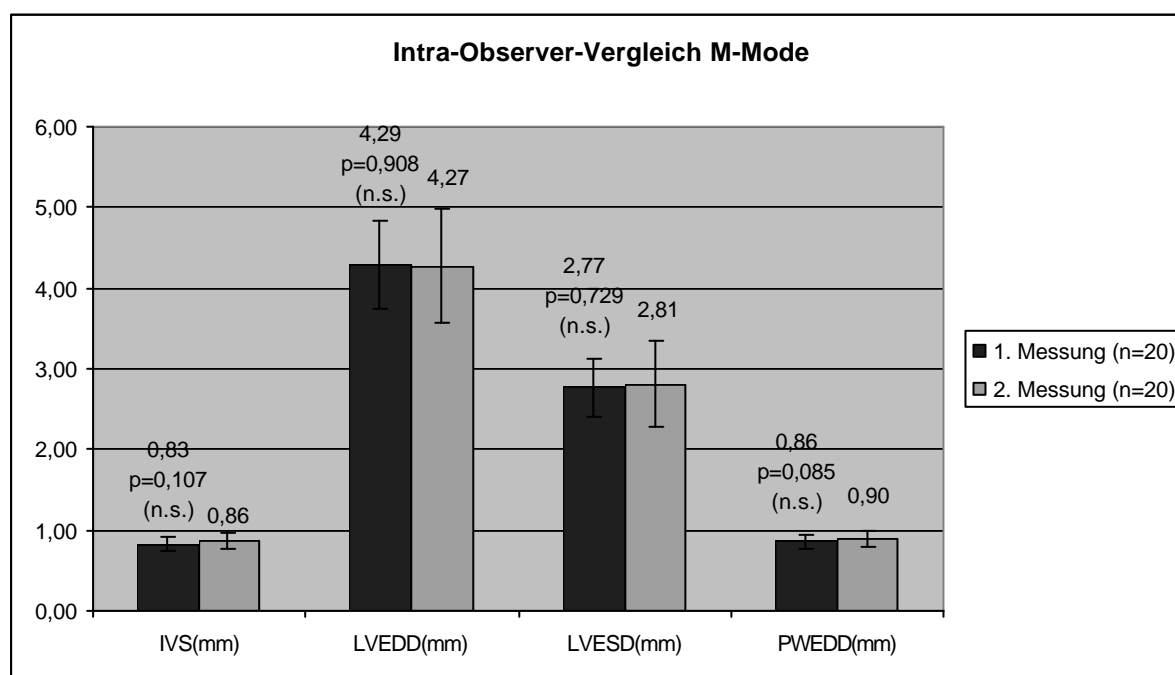


Abbildung 3-25: Intra-Observer-Vergleich der M-Mode-Daten

(IVS = Durchmesser des interventrikulären Septums, LVEDD = linksventrikulärer enddiastolischer Durchmesser, LVESD = linksventrikulärer endsystolischer Durchmesser, PWEDD = enddiastolischer Durchmesser der linksventrikulären posterioren Wand (engl.: posterior wall enddiastolic diameter))

Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert \pm 1 Standardabweichung

3.2.2.3 Doppler-Messungen

Bei den Doppler-Messungen zeigte sich ein hoch signifikanter Unterschied für den mittleren Druckgradienten über der Mitralklappe (MV PGmean), die übrigen Werte waren nicht signifikant different. (Tabelle.3-10, Abbildungen.3-26 und 3-27)

Intra-Observer-Vergleich Flüsse

Mäuse gesamt (n=40)	1. Messung (n=20)		2. Messung (n=20)		p
	MW	SD	MW	SD	
Ao Vmax(cm/s)	73,1	±9,3	70,4	±12,6	n.s.
Ao PGmax(mmHg)	2,13	±0,49	2,04	±0,78	n.s.
Ao PGmean(mmHg)	1,17	±0,31	1,06	±0,38	n.s.
MV PGmax(mmHg)	1,61	±0,61	1,45	±0,53	n.s.
MV PGmean(mmHg)	0,53	±0,21	0,40	±0,15	h.s.
MV E-Welle(cm/s)	63,2	±10,9	60,2	±10,5	n.s.
MV A-Welle(cm/s)	24,5	±7,5	24,7	±6,4	n.s.
MV E/A-Ratio	2,6	±0,79	2,8	±0,84	n.s.

n.s. = nicht signifikant ($p > 0,05$), s.s. = schwach signifikant ($p < 0,05$), s. = signifikant ($p < 0,01$), h.s. = hoch signifikant ($p < 0,001$)

Tabelle 3-10: Intra-Observer-Vergleich der Dopplermessungen

(Ao Vmax = maximale Flußgeschwindigkeit über der Aortenklappe, Ao PGmax = maximaler Druck über der Aortenklappe, Ao PGmean = mittlerer Druck über der Aortenklappe, MV PGmax = maximaler Druck über der Mitralklappe, MV PGmean = mittlerer Druck über der Mitralklappe, MV E-Welle = maximale Flußgeschwindigkeit der E-Welle, MV A-Welle = maximale Flußgeschwindigkeit der A-Welle, MV E/A-Ratio = Verhältnis von E- zu A-Welle)

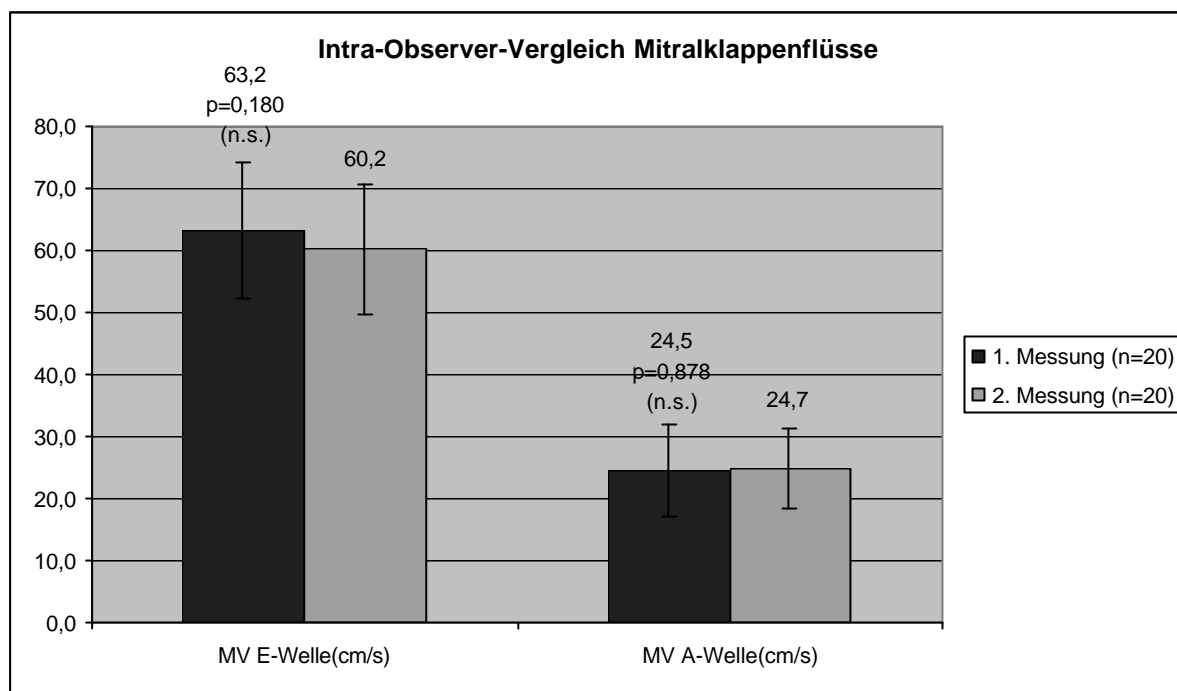


Abbildung 3-26: Intra-Observer-Vergleich der Dopplermessungen

(MV E-Welle = maximale Flußgeschwindigkeit der E-Welle, MV A-Welle = maximale Flußgeschwindigkeit der A-Welle)

Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert +/- 1 Standardabweichung

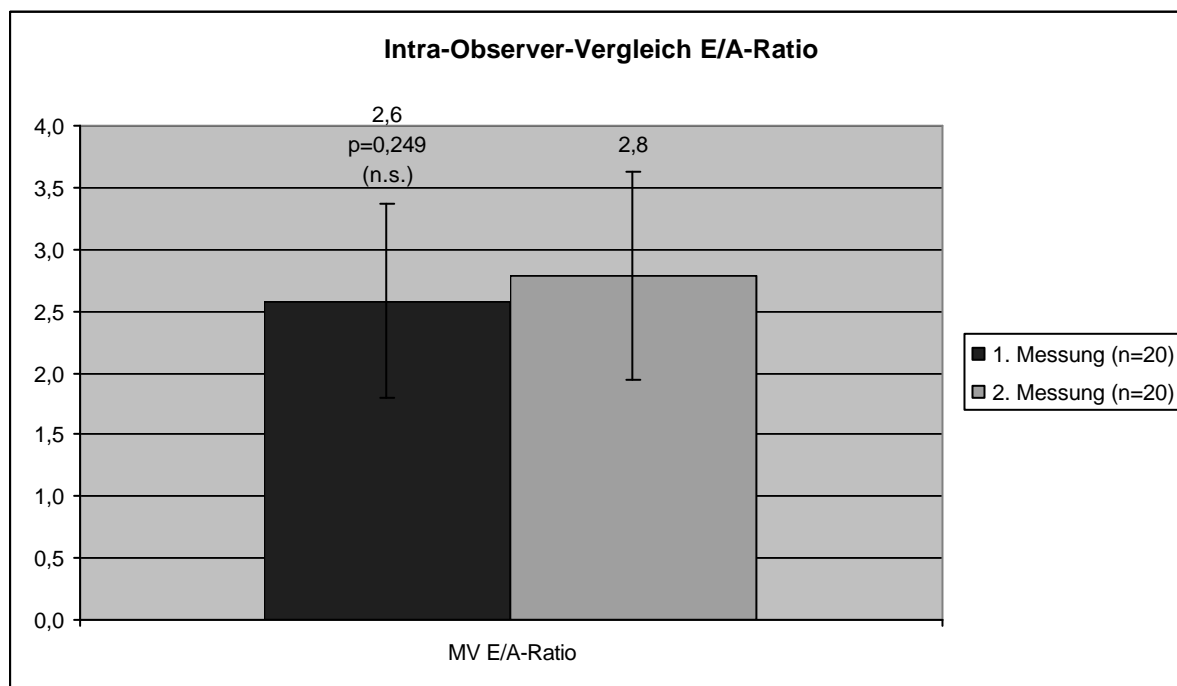


Abbildung 3-27: Intra-Observer-Vergleich der Dopplermessungen

(MV E/A-Ratio = Verhältnis von E- zu A-Welle)

Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert +/- 1 Standardabweichung

3.2.2.4 Messungen der Funktionsparameter

Bei den Messwerten für die Funktionsparameter unterschieden sich die beiden Versuchsreihen für den Herzindex (CI) auf schwach signifikantem Niveau. Für die übrigen Werte lagen die Unterschiede im nichtsignifikanten Bereich. (Tabelle.3-11, Abbildungen 3-28 – 3-33)

Intra-Observer-Vergleich Funktionsparameter

Mäuse gesamt (n=40)	1. Messung (n=20)		2. Messung (n=20)		p
	MW	SD	MW	SD	
FS(%)	35,3	±3,4	34,3	±4,5	n.s.
LVET(ms)	91,3	±16,8	91,2	±8,5	n.s.
LV-EF (%)	58,1	±4,4	56,7	±5,7	n.s.
CO(ml/min)	16,4	±4,1	15,6	±4,4	n.s.
CI (ml/min*g)	0,46	±0,10	0,42	±0,11	s.s.

n.s. = nicht signifikant ($p > 0,05$), s.s. = schwach signifikant ($p < 0,05$), s. = signifikant ($p < 0,01$), h.s. = hoch signifikant ($p < 0,001$)

Tabelle 3-11: Intra-Observer-Vergleich der Funktionsparameter

(FS = Verkürzungsfraction (engl.: Fractional Shortening), LVET = linksventrikuläre Auswurfzeit (engl.: left ventricular ejection time), LV-EF = linksventrikuläre Auswurfraction (engl.: left ventricular ejection fraction), CO = Herzminutenvolumen (engl. Cardiac Output), CI = Herzindex (engl.: Cardiac Index) = CO/KG der Maus)

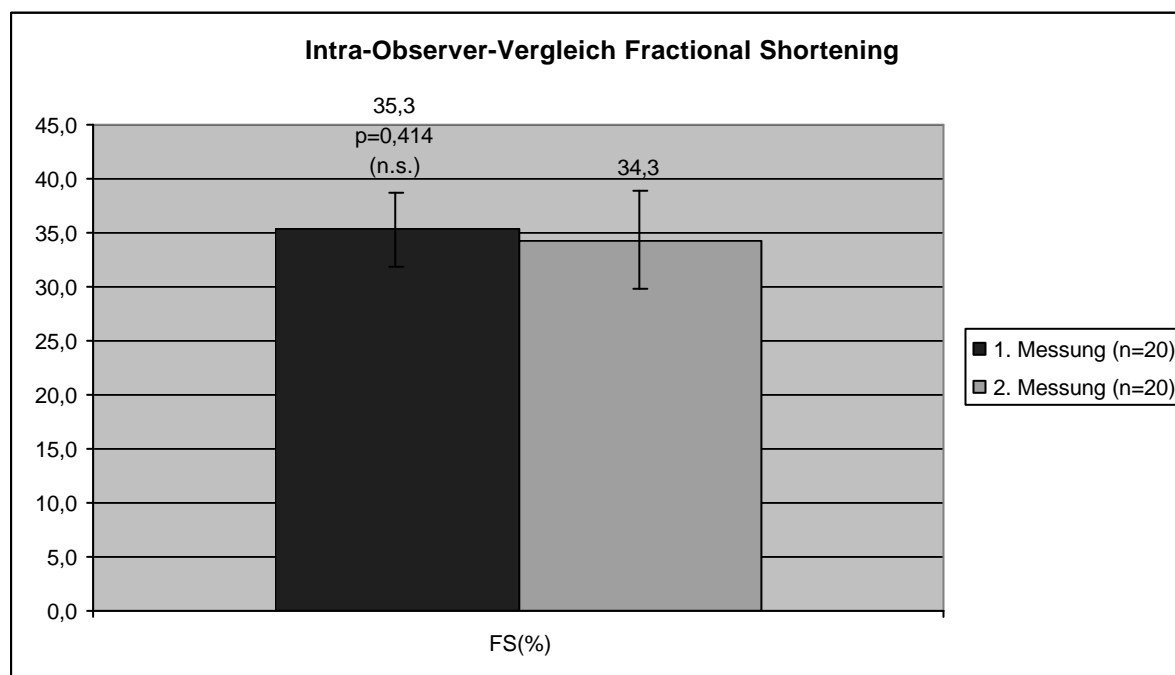


Abbildung 3-28: Intra-Observer-Vergleich der Verkürzungsfraction

(FS = Verkürzungsfraction (engl.: Fractional Shortening))

Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert +/- 1 Standardabweichung

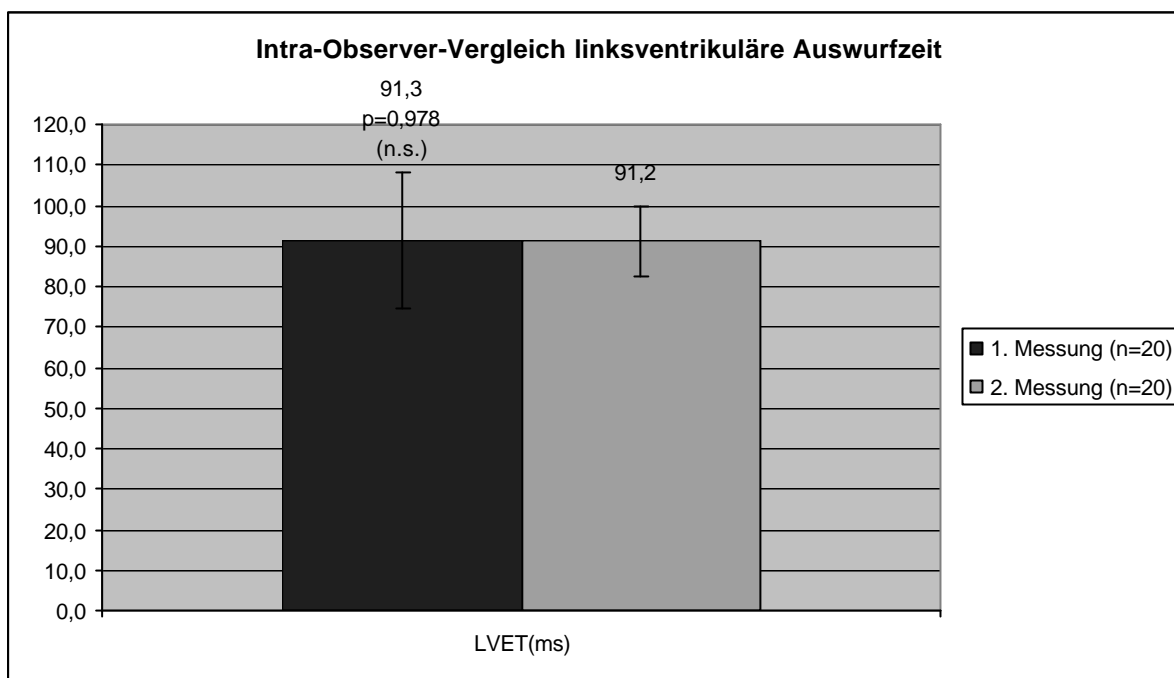


Abbildung 3-29: Intra-Observer-Vergleich der linksventrikulären Auswurfzeit

(LVET = linksventrikuläre Auswurfzeit (engl.: left ventricular ejection time))

Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert +/- 1 Standardabweichung

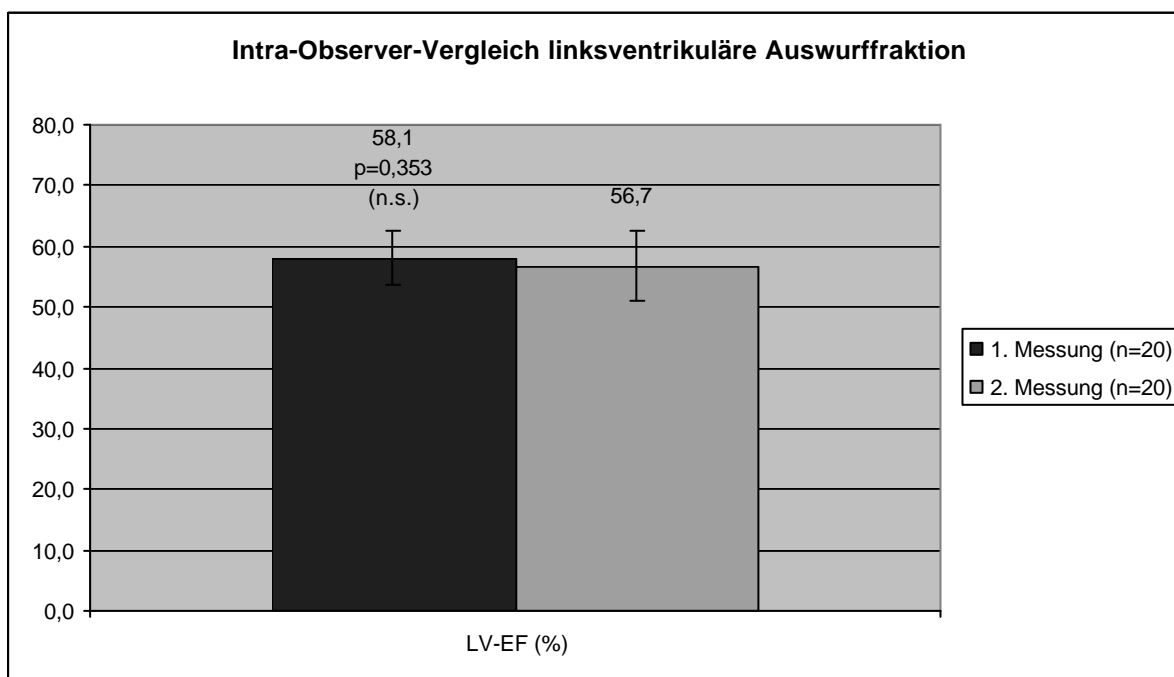


Abbildung 3-30: Intra-Observer-Vergleich der linksventrikulären Auswurfraction

(LV-EF = linksventrikuläre Auswurfraction (engl.: left ventricular ejection fraction))

Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert +/- 1 Standardabweichung

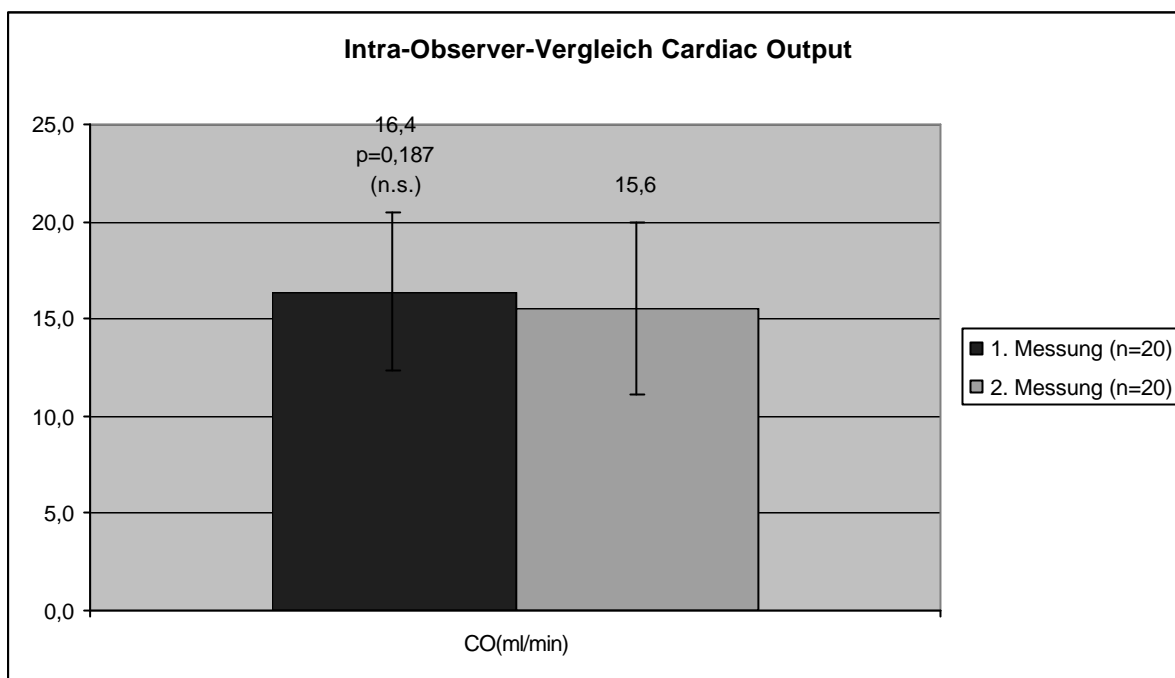
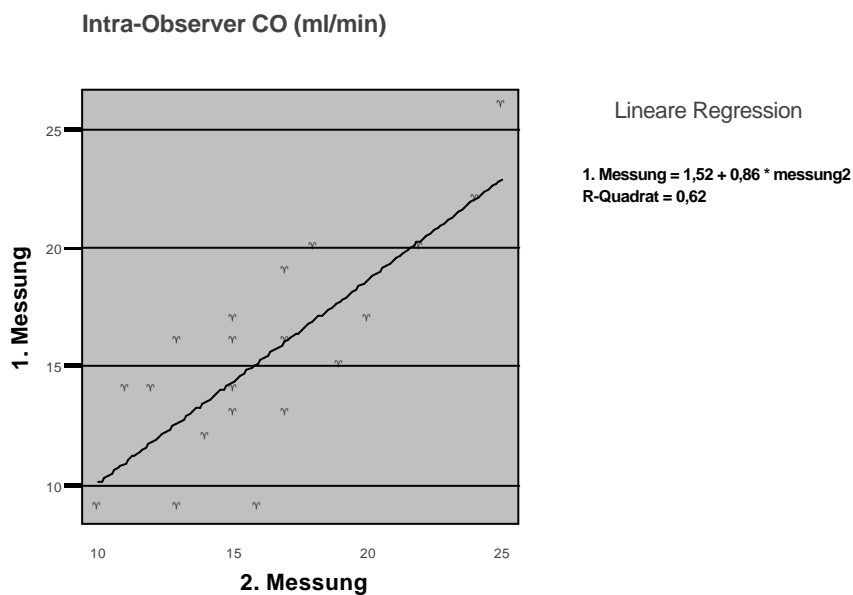


Abbildung 3-31: Intra-Observer-Vergleich des Herzminutenvolumens

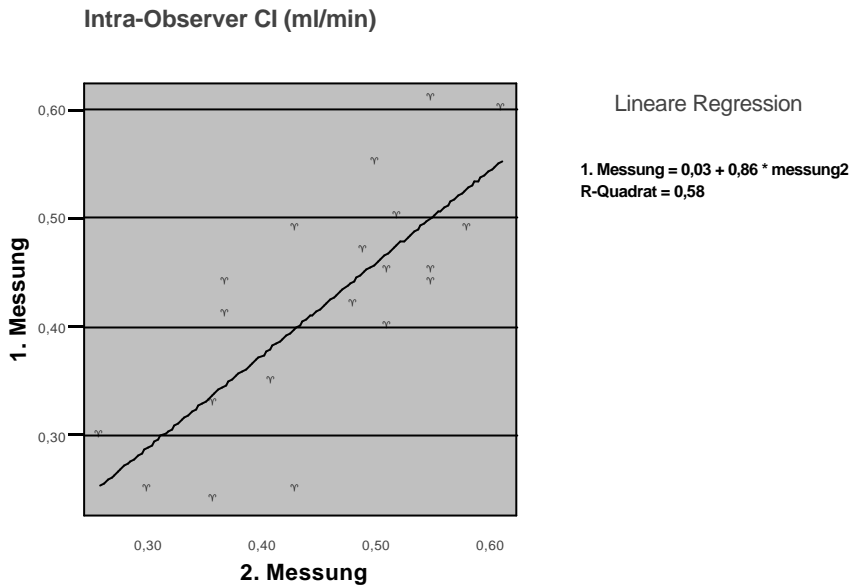
(CO = Herzminutenvolumen (engl. Cardiac Output))

Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert +/- 1 Standardabweichung



CO = Herzminutenvolumen (engl.: Cardiac Output)

Abbildung 3-32: Regressionsgerade: Intra-Observer-Vergleich des Herzminutenvolumens



CI = Herzindex (engl.: Cardiac Index) = Herzminutenvolumen/ KG ,
KG = Körpergewicht

Abbildung 3-33: Regressionsgerade: Intra-Observer-Vergleich des Herzindex

3.3 Inter-Observer-Variabilitäten

Zur Feststellung der Wiederholbarkeit der Untersuchung durch einen anderen Untersucher zum selben Zeitpunkt wurden die Inter-Observer-Variabilitäten bestimmt.

3.3.1 Grundmessgrößen

Das Gewicht der Mäuse war hier zum gleichen Zeitpunkt bei den Mäusen natürlich gleich und bleibt hier unberücksichtigt, die übrigen Grundmessgrößen ergaben keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Untersuchern. (Tabelle 3-12, Abbildungen 3-34)

Inter-Observer-Vergleich Grundmessgrößen

Mäuse gesamt (n=40)	1. Untersucher (n=20)		2. Untersucher (n=20)		p
	MW	SD	MW	SD	
Gewicht(g)	36,7	±4,5	36,7	±4,5	entfällt
HF(bpm)	322	±105	318	±105	n.s.
HF aus Ao R-R (bpm)	342	±132	352	±122	n.s.

n.s. = nicht signifikant ($p > 0,05$), s.s. = schwach signifikant ($p < 0,05$), s. = signifikant ($p < 0,01$), h.s. = hoch signifikant ($p < 0,001$)

Tabelle 3-12: Inter-Observer-Vergleich der Grundmessgrößen

(HF = Herzfrequenz, Ao R-R = Abstand zwischen zwei R-Zacken im EKG, HF aus Ao R-R = aus Ao R-R Ao R-R berechnete HF ($HF = 60.000/Ao R-R$))

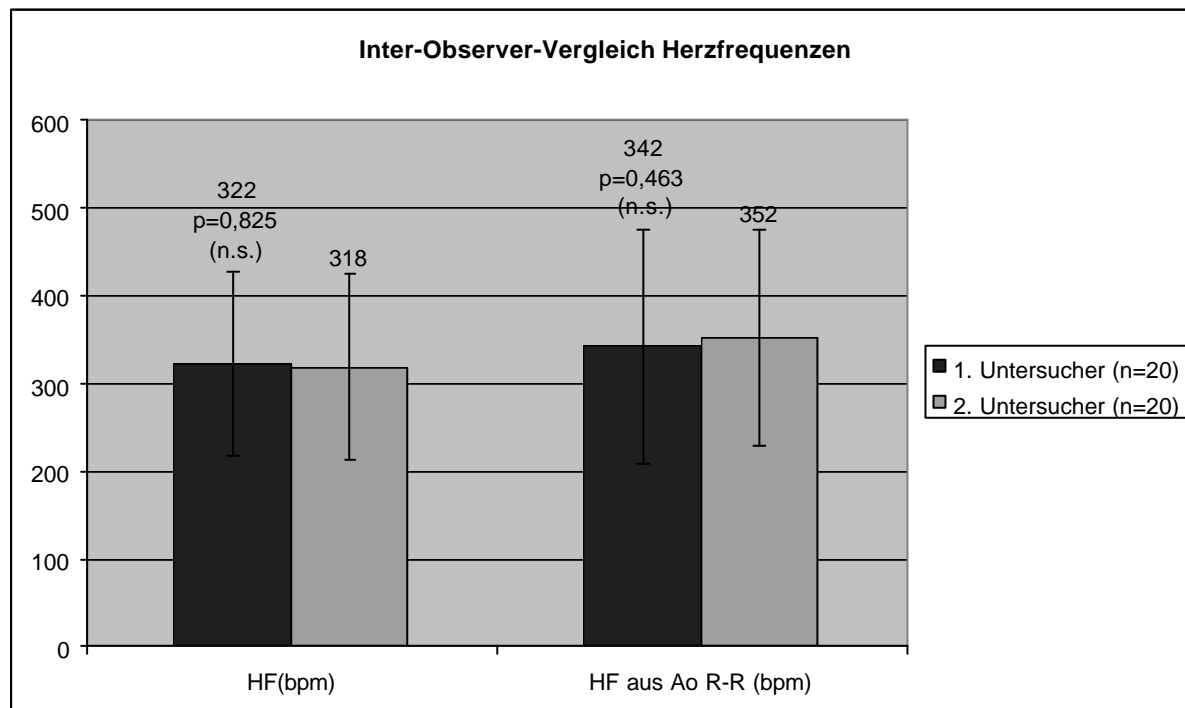


Abbildung 3-34: Inter-Observer-Vergleich der Herzfrequenzen

(HF = Herzfrequenz, Ao R-R = Abstand zwischen zwei R-Zacken im EKG, HF aus Ao R-R = aus Ao R-R Ao R-R berechnete HF ($HF = 60.000/Ao R-R$))

Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert \pm 1 Standardabweichung

3.3.2 Echokardiographie

3.3.2.1 Messungen im B-Bild

Bis auf die Werte für den Durchmesser des linken Vorhofs, die beim ersten Untersucher etwas höher lagen, zeigten sich für die Messungen im B-Bild keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Untersuchern (siehe Tabelle 3-13 und Abbildungen 3-35 bis 3-40).

Inter-Observer-Vergleich Herzmaße

Mäuse gesamt (n=40)	1. Untersucher (n=20)		2. Untersucher (n=20)		p
	MW	SD	MW	SD	
LA(mm)	2,27	±0,26	2,16	±0,29	s.s.
LV-Länge(mm)	6,51	±0,34	6,38	±0,41	n.s.
LVOT(mm)	1,29	±0,11	1,29	±0,12	n.s.
AoV(mm)	1,41	±0,09	1,42	±0,08	n.s.
LV-Mass (mg)	86	±13	89	±22	n.s.
LV-Mass-Index (mg/g)	2,39	±0,52	2,47	±0,76	n.s.

n.s. = nicht signifikant ($p > 0,05$), s.s. = schwach signifikant ($p < 0,05$), s. = signifikant ($p < 0,01$), h.s. = hoch signifikant ($p < 0,001$)

Tabelle 3-13: Inter-Observer-Vergleich der Herzmaße

(LA = linker Vorhof (engl. left atrium), LV = linker Ventrikel, LVOT = linksventrikulärer Ausflußtrakt (engl.: left ventricular outflow tract, AoV = Durchmesser der Aortenwurzel (engl.: Aortal valve, LV-Mass = Masse des linken Ventrikels, LV-Mass-Index = LV-Mass/Körpergewicht der Maus)

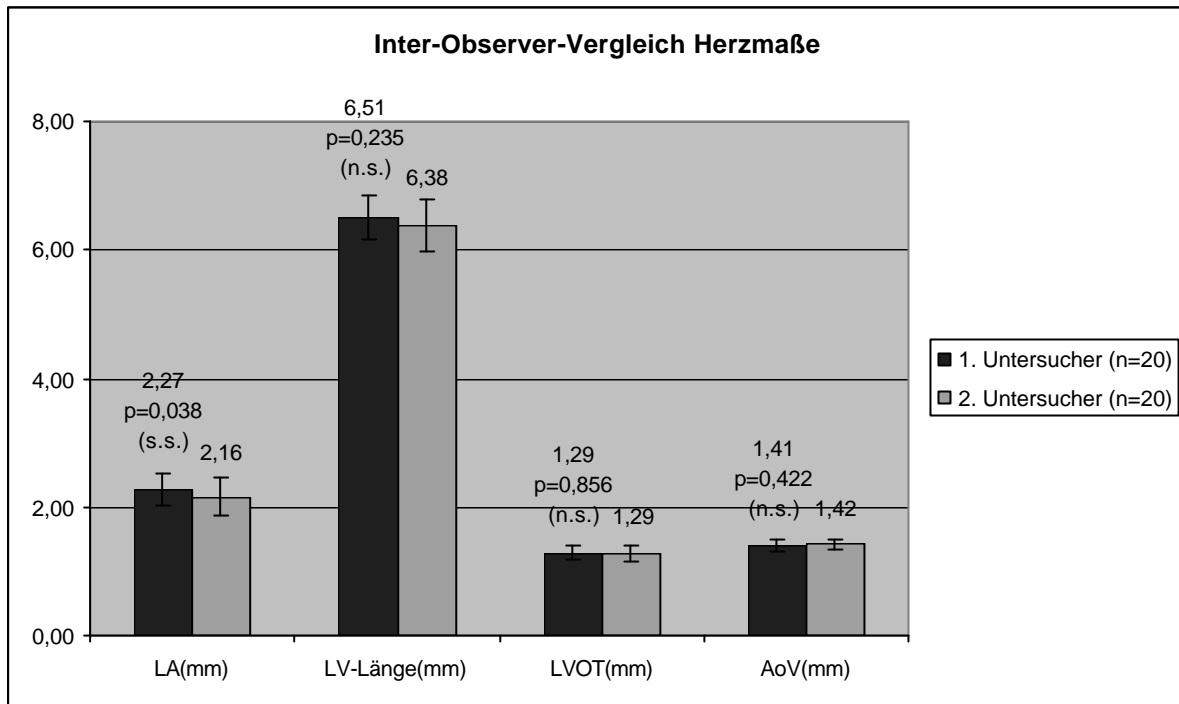
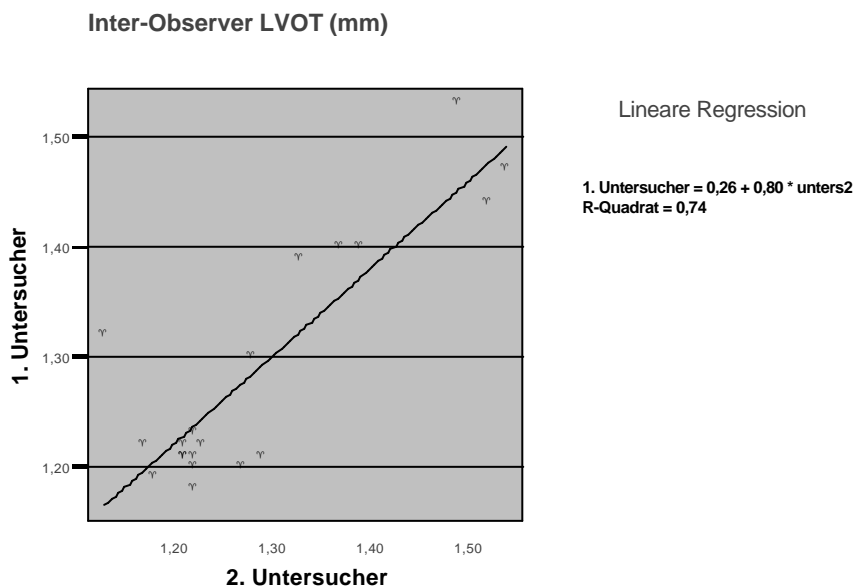


Abbildung 3-35: Inter-Observer-Vergleich der Herzmaße

Hier unterscheiden sich lediglich die LA -Werte schwach signifikant voneinander (LA = linker Vorhof (engl. left atrium), LV = linker Ventrikel, LVOT = linksventrikulärer Ausflußtrakt (engl.: left ventricular outflow tract, AoV = Durchmesser der Aortenwurzel (engl.: Aortal valve))
 Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert +/- 1 Standardabweichung



LVOT = linksventrikulärer Ausflußtrakt

Abbildung 3-36: Regressionsgerade für den Inter-Observer-Vergleich des linksventrikulären Ausflusstraktes (left ventricular outflow tract, LVOT)

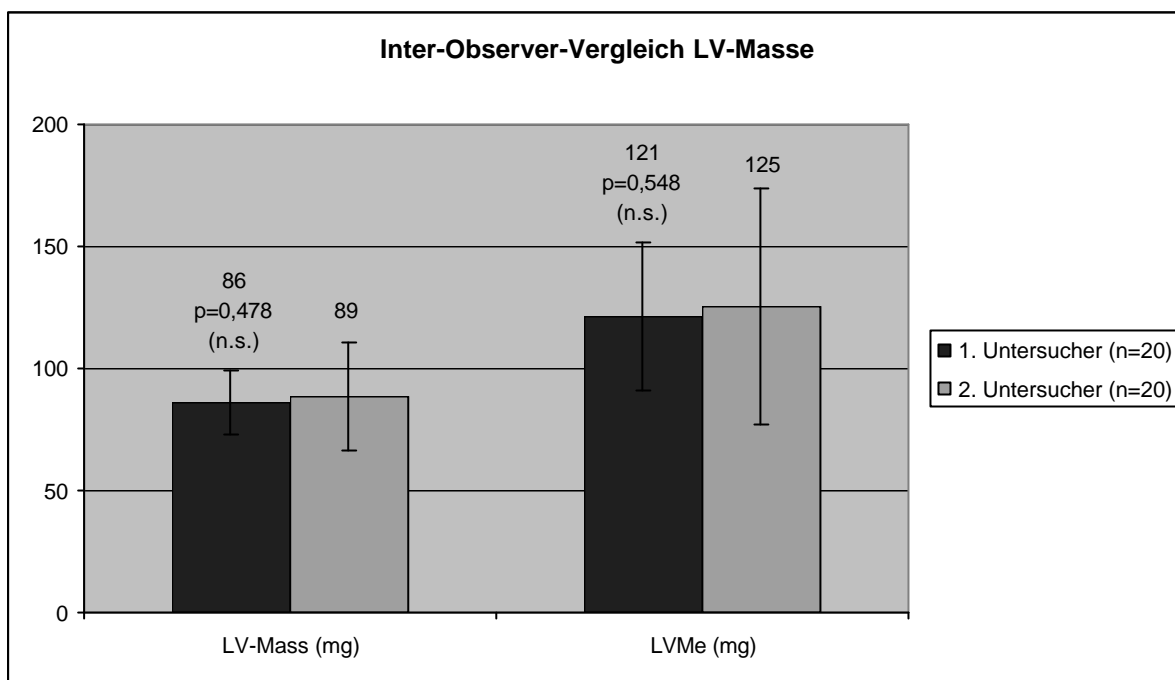


Abbildung 3-37: Inter-Observer-Vergleich der Herzmaße

Die linksventrikulären Massen unterscheiden sich nicht signifikant (LV-Mass = Masse des linken Ventrikels, LVMe = echokardiographisch bestimmte linksventrikuläre Masse) Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert +/- 1 Standardabweichung

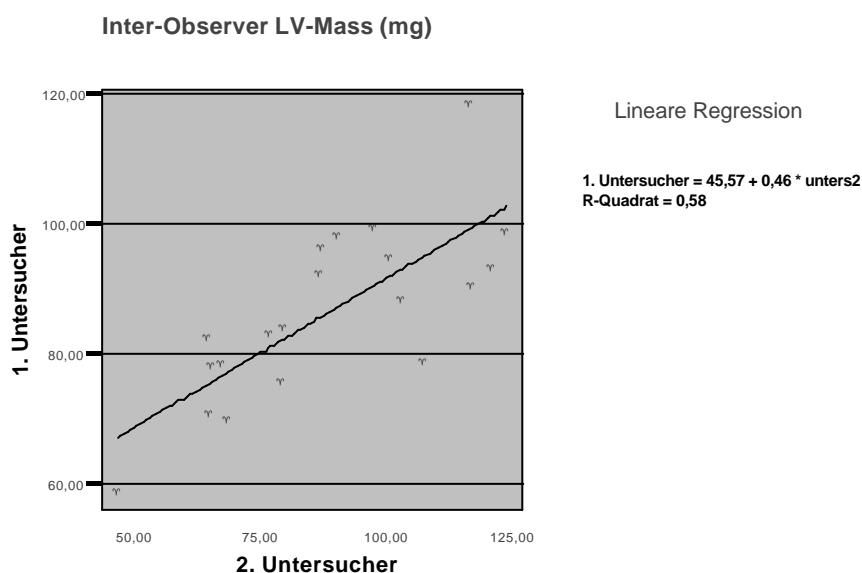


Abbildung 3-38: Regressionsgerade für den Inter-Observer-Vergleich der linksventrikulären Masse

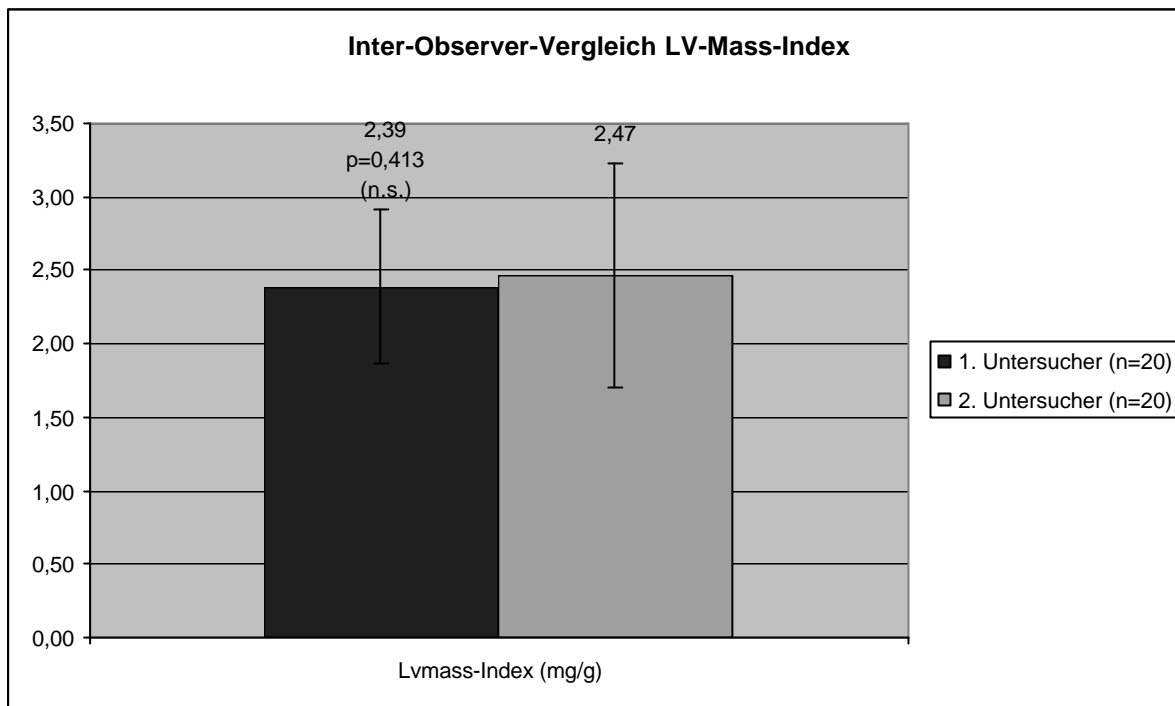


Abbildung 3-39: Inter-Observer-Vergleich der Herzmaße

Der LV-Mass-Index unterscheidet sich in den beiden Gruppen nicht signifikant voneinander (LV-Mass-Index = LV-Mass/Körpergewicht der Maus)
 Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert +/- 1 Standardabweichung

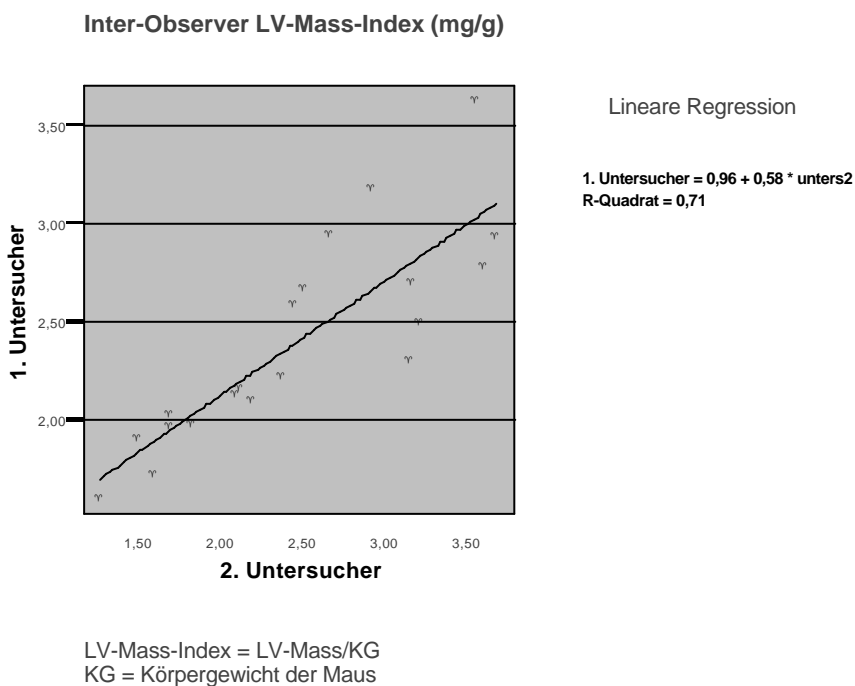


Abbildung 3-40: Regressionsgerade für den Inter-Observer-Vergleich des LV-Mass-Index

3.3.2.2 Messungen im M-Mode

Im M-Mode unterschieden sich die Ergebnisse der beiden Untersucher für den Durchmesser des interventrikulären Septums (IVS) und für die posteriore Wand (PWEDD) schwach signifikant, die übrigen Werte ergaben keine signifikanten Differenzen. (siehe Tabelle 3-14 und Abbildungen 3-41 bis 3-42).

Inter-Observer-Vergleich M-Mode

Mäuse gesamt (n=40)	1. Untersucher (n=20)		2. Untersucher (n=20)		p
	MW	SD	MW	SD	
IVS(mm)	0,77	±0,07	0,82	±0,12	s.s.
LVEDD(mm)	4,04	±0,66	3,84	±0,86	n.s.
LVESD(mm)	2,52	±0,41	2,43	±0,60	n.s.
PWEDD(mm)	0,83	±0,07	0,90	±0,13	s.s.

n.s. = nicht signifikant ($p > 0,05$), s.s. = schwach signifikant ($p < 0,05$), s. = signifikant ($p < 0,01$), h.s. = hoch signifikant ($p < 0,001$)

Tabelle 3-14: Inter-Observer-Vergleich der M-Mode-Daten

(IVS = Durchmesser des interventrikulären Septums, LVEDD = linksventrikulärer enddiastolischer Durchmesser, LVESD = linksventrikulärer endsystolischer Durchmesser, PWEDD = enddiastolischer Durchmesser der linksventrikulären posterioren Wand (engl.: posterior wall enddiastolic diameter))

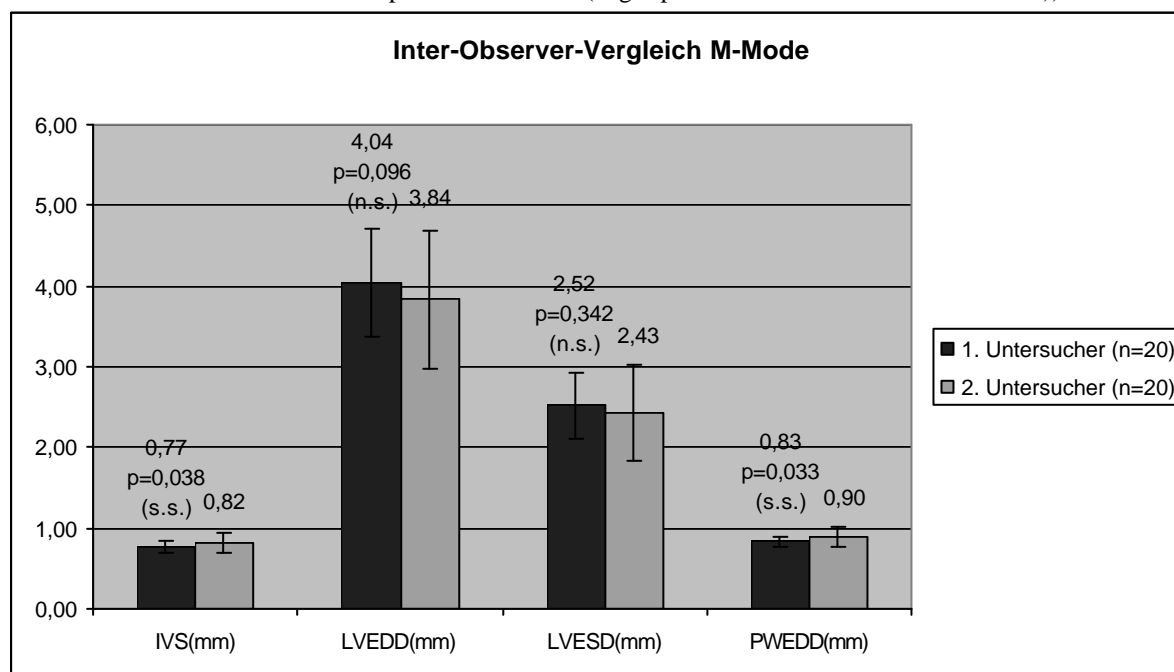
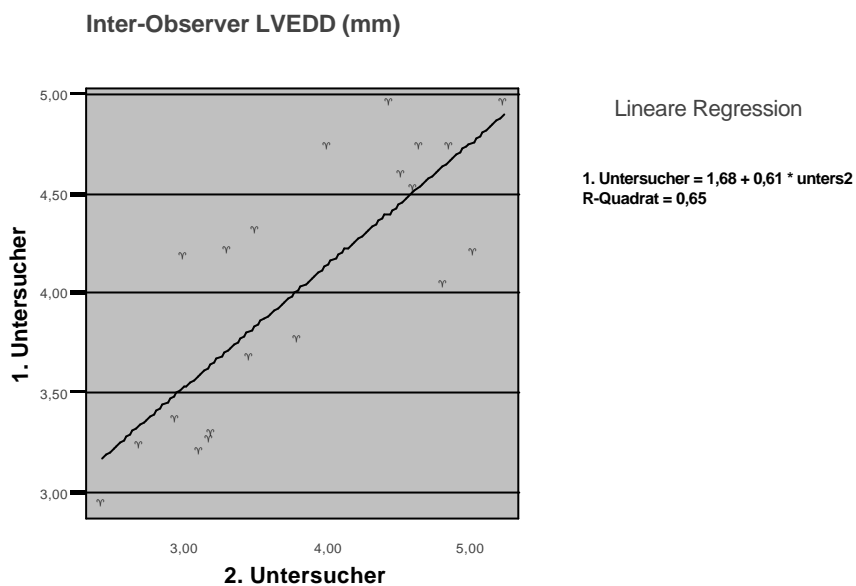


Abbildung 3-41: Inter-Observer-Vergleich der Herzmaße

IVS und PWEDD unterscheiden sich in den Gruppen schwach signifikant voneinander

(IVS = Durchmesser des interventrikulären Septums, LVEDD = linksventrikulärer enddiastolischer Durchmesser, LVESD = linksventrikulärer endsystolischer Durchmesser, PWEDD = enddiastolischer Durchmesser der linksventrikulären posterioren Wand (engl.: posterior wall enddiastolic diameter))

Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert \pm 1 Standardabweichung



LVEDD = linksventrikulärer enddiastolischer Durchmesser

Abbildung 3-42: Regressionsgerade für den Inter-Observer-Vergleich des linksventrikulären enddiastolischen Durchmessers

3.3.2.3 Doppler-Messungen

Bei den Doppler-Messungen zeigten sich keine signifikanten Unterschiede. (siehe Tabelle 3-15 und Abbildungen 3-43 bis 3-47).

Inter-Observer-Vergleich Flüsse

Mäuse gesamt (n=40)	1. Untersucher (n=20)		2. Untersucher (n=20)		p
	MW	SD	MW	SD	
Ao Vmax(cm/s)	70,0	±7,8	68,3	±9,3	n.s.
Ao PGmax(mmHg)	2,00	±0,46	1,90	±0,52	n.s.
Ao PGmean(mmHg)	1,02	±0,23	0,97	±0,26	n.s.
MV PGmax(mmHg)	1,64	±0,50	1,77	±0,44	n.s.
MV PGmean(mmHg)	0,49	±0,26	0,55	±0,19	n.s.
MV E-Welle(cm/s)	64,7	±12,4	67,1	±11,4	n.s.
MV A-Welle(cm/s)	25,5	±9,9	26,8	±8,7	n.s.
MV E/A-Ratio	2,7	±0,75	2,8	±0,81	n.s.

n.s. = nicht signifikant ($p > 0,05$), s.s. = schwach signifikant ($p < 0,05$), s. = signifikant ($p < 0,01$), h.s. = hoch signifikant ($p < 0,001$)

Tabelle 3-15: Inter-Observer-Vergleich der Dopplermessungen

(Ao Vmax = maximale Flußgeschwindigkeit über der Aortenklappe, Ao PGmax = maximaler Druck über der Aortenklappe, Ao PGmean = mittlerer Druck über der Aortenklappe, MV PGmax = maximaler Druck über der Mitralklappe, MV PGmean = mittlerer Druck über der Mitralklappe, MV E-Welle = maximale Flußgeschwindigkeit der E-Welle, MV A-Welle = maximale Flußgeschwindigkeit der A-Welle, MV E/A-Ratio = Verhältnis von E- zu A-Welle)

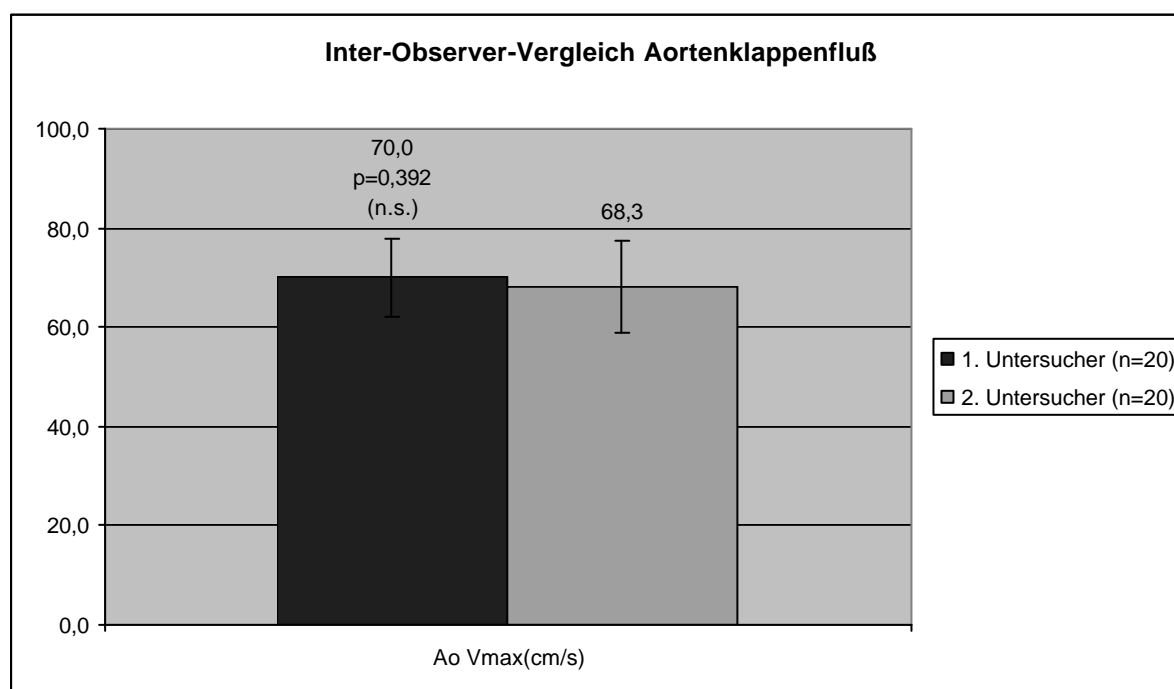


Abbildung 3-43: Inter-Observer-Vergleich des Aortenklappenflusses

Die maximalen Flussgeschwindigkeiten über die Aortenklappe unterscheiden sich nicht signifikant (Ao Vmax = maximale Flußgeschwindigkeit über der Aortenklappe)
Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert +/- 1 Standardabweichung

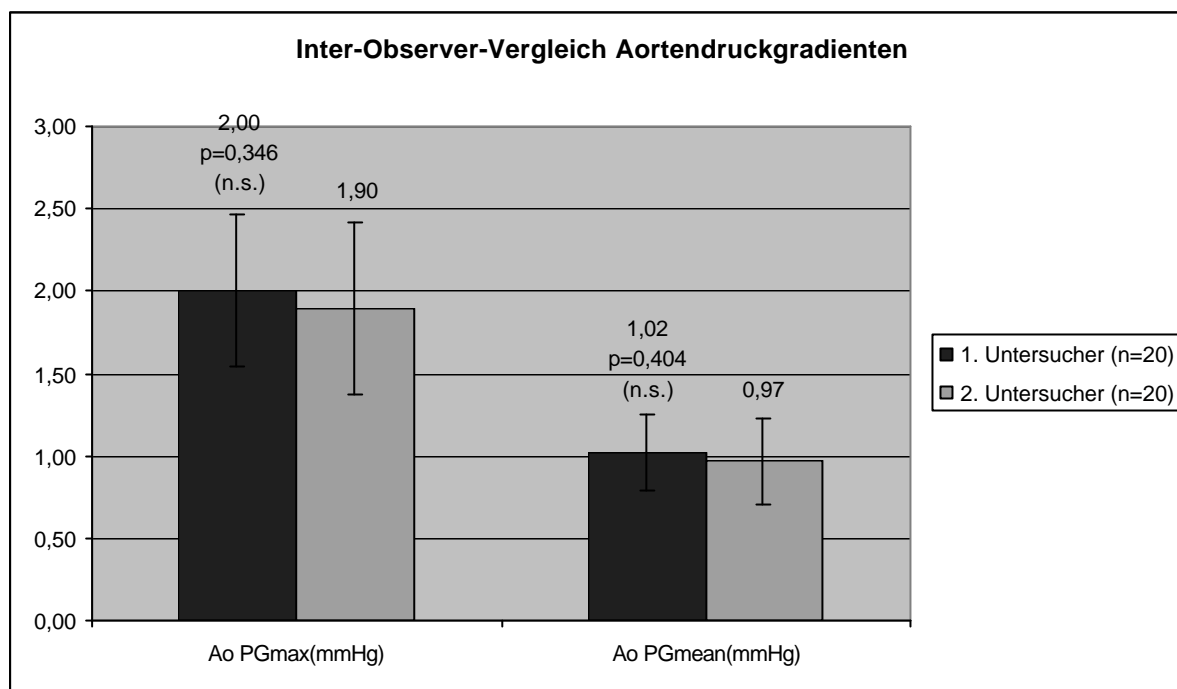


Abbildung 3-44: Inter-Observer-Vergleich der Aortenklappendruckgradienten

Die Druckgradienten über die Aortenklappe unterscheiden sich nicht signifikant (Ao PGmax = maximaler Druck über der Aortenklappe, Ao PGmean = mittlerer Druck über der Aortenklappe) Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert +/- 1 Standardabweichung

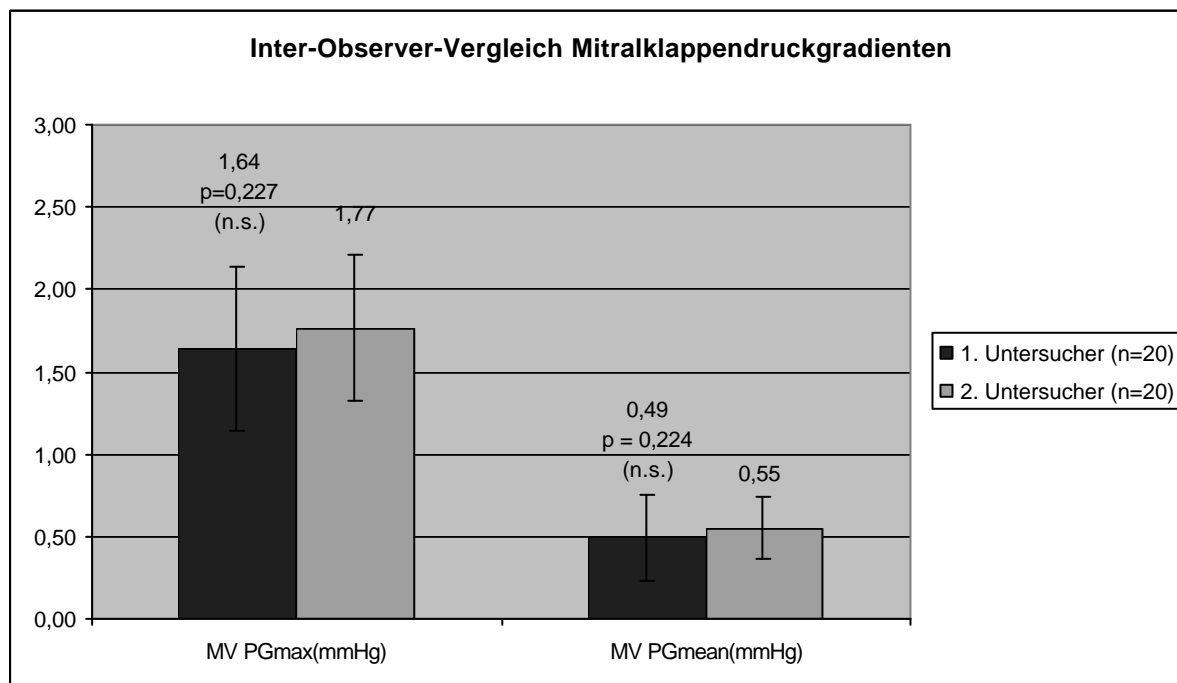


Abbildung 3-45: Inter-Observer-Vergleich der Druckgradienten über der Mitralklappe

Die Druckgradienten unterscheiden sich nicht signifikant (MV PGmax = maximaler Druck über der Mitralklappe, MV PGmean = mittlerer Druck über der Mitralklappe) Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert +/- 1 Standardabweichung

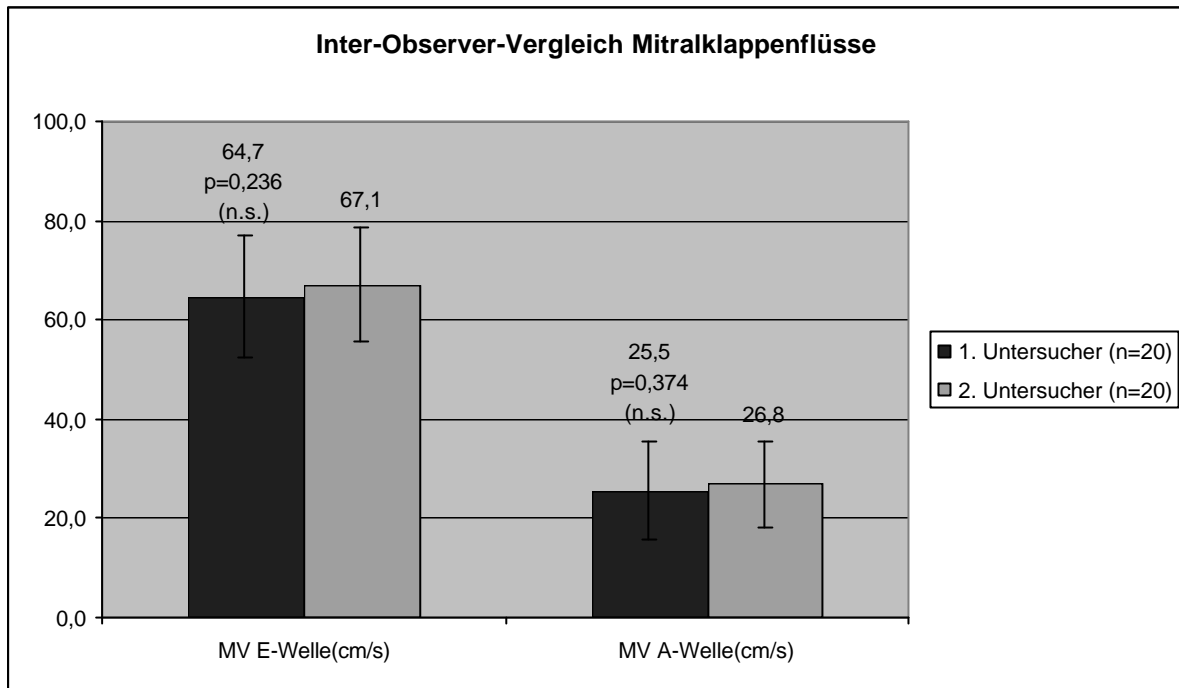


Abbildung 3-46: Inter-Observer-Vergleich der Mitralklappenflüsse

Die Mitralklappenflüsse unterscheiden sich nicht signifikant (MV E-Welle = maximale Flußgeschwindigkeit der E-Welle, MV A-Welle = maximale Flußgeschwindigkeit der A-Welle)

Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert +/- 1 Standardabweichung

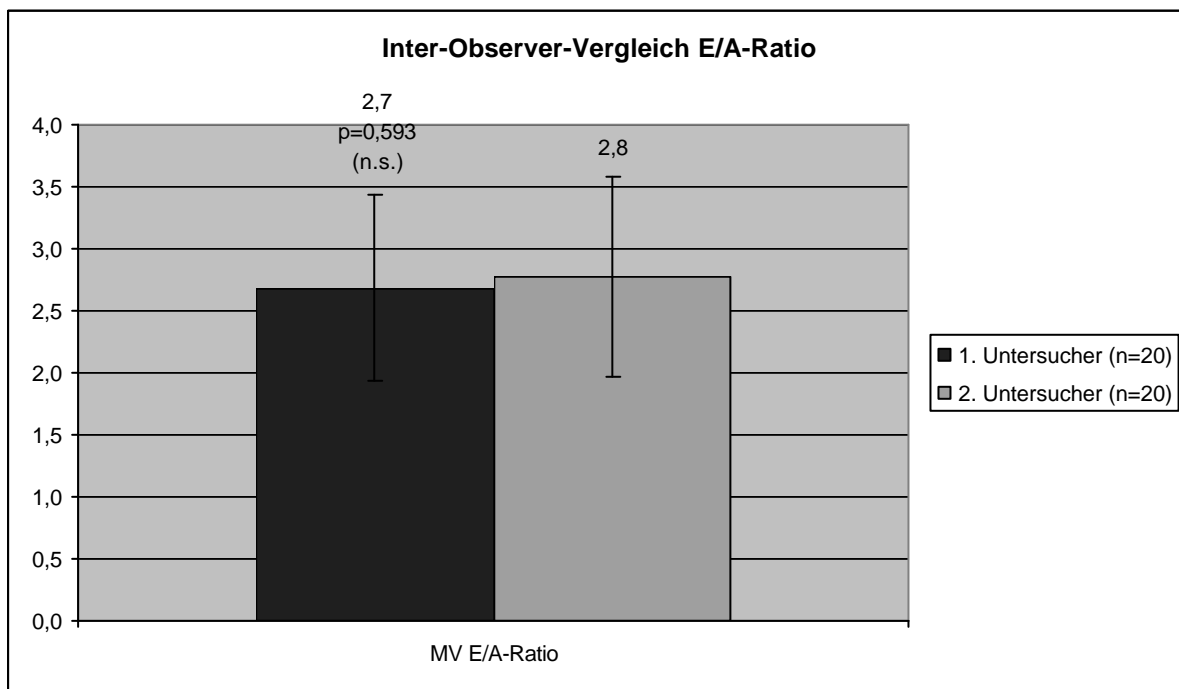


Abbildung 3-47: Inter-Observer-Vergleich des E- zu A-Verhältnisses

E/A-Ratio unterscheiden sich nicht signifikante

(MV E/A-Ratio = Verhältnis von E- zu A-Welle)

Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert +/- 1 Standardabweichung

3.3.2.4 Messungen der Funktionsparameter

Bei den Messwerten für die Funktionsparameter unterschieden sich die beiden Versuchsreihen für alle Werte nicht signifikant. (siehe Tabelle 3-16 und Abbildungen 3-48 bis 3-52).

Inter-Observer-Vergleich Funktionsparameter

Mäuse gesamt (n=40)	1. Untersucher (n=20)		2. Untersucher (n=20)		p
	MW	SD	MW	SD	
FS(%)	37,4	±5,2	36,9	±5,0	n.s.
LVET(ms)	94,8	±13,6	93,2	±7,6	n.s.
LV-EF (%)	60,5	±6,3	59,9	±6,3	n.s.
CO(ml/min)	16,0	±4,2	16,5	±4,7	n.s.
CI (ml/min*g)	0,44	±0,12	0,45	±0,11	n.s.

n.s. = nicht signifikant ($p > 0,05$), s.s. = schwach signifikant ($p < 0,05$), s. = signifikant ($p < 0,01$), h.s. = hoch signifikant ($p < 0,001$)

Tabelle 3-16: Inter-Observer-Vergleich der Funktionsparameter

(FS = Verkürzungsfraction (engl.: Fractional Shortening), LVET = linksventrikuläre Auswurfzeit (engl.: left ventricular ejection time), LV-EF = linksventrikuläre Auswurfraction (engl.: left ventricular ejection fraction), CO = Herzminutenvolumen (engl. Cardiac Output), CI = Herzindex (engl.: Cardiac Index) = CO/KG der Maus)

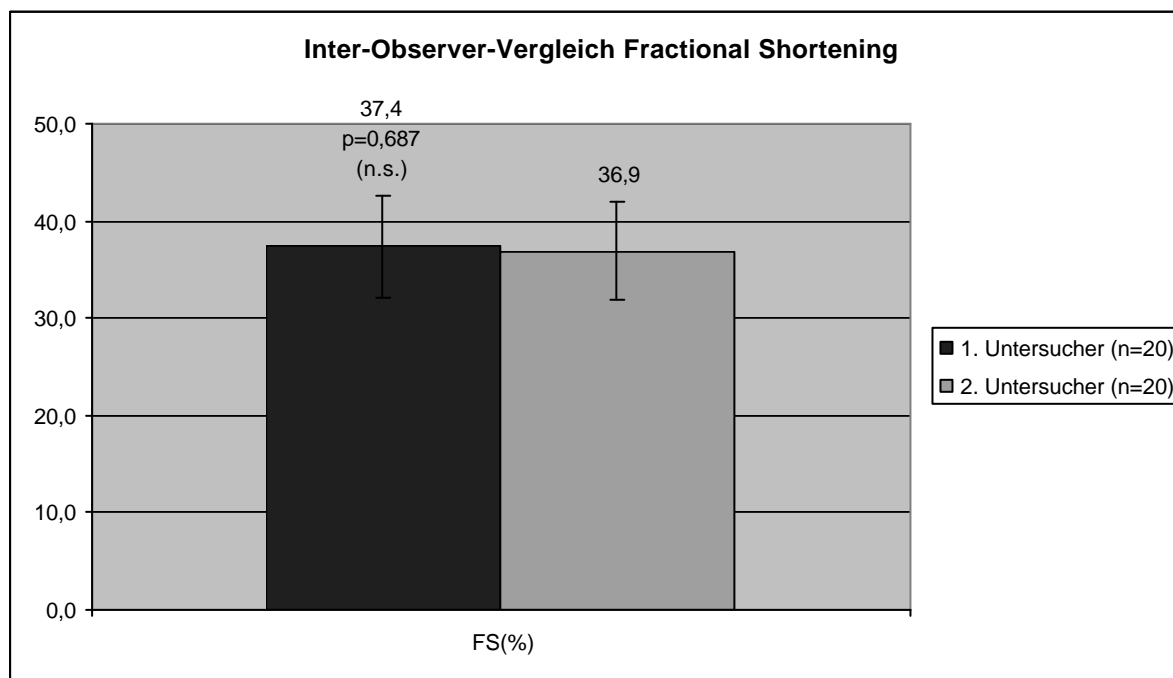


Abbildung 3-48: Inter-Observer-Vergleich der Verkürzungsfraction

Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede für die FS (FS = Verkürzungsfraction (engl.: Fractional Shortening))

Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert +/- 1 Standardabweichung

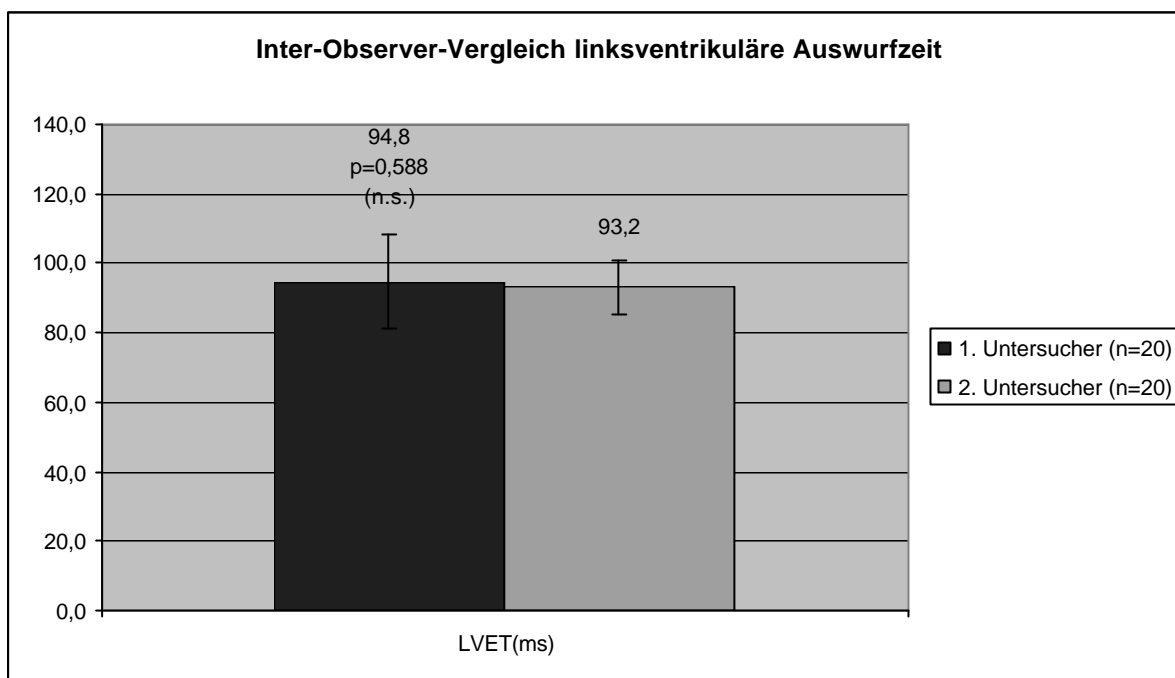


Abbildung 3-49: Inter-Observer-Vergleich der linksventrikulären Auswurfzeit

Die LVET unterscheidet sich in den beiden Gruppen nicht signifikant voneinander (LVET = linksventrikuläre Auswurfzeit (engl.: left ventricular ejection time))

Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert +/- 1 Standardabweichung

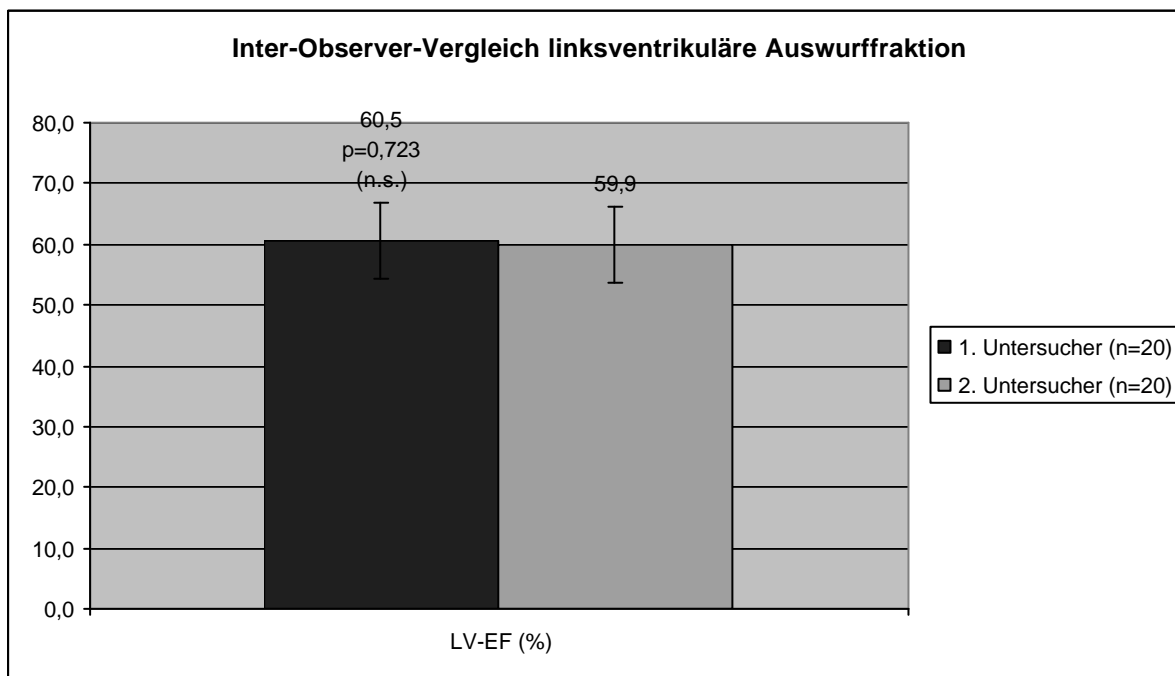


Abbildung 3-50: Inter-Observer-Vergleich der linksventrikulären Auswurfraction

Für die EF ergaben sich hier keine signifikanten Differenzen

(LV-EF = linksventrikuläre Auswurfraction (engl.: left ventricular ejection fraction))

Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert +/- 1 Standardabweichung

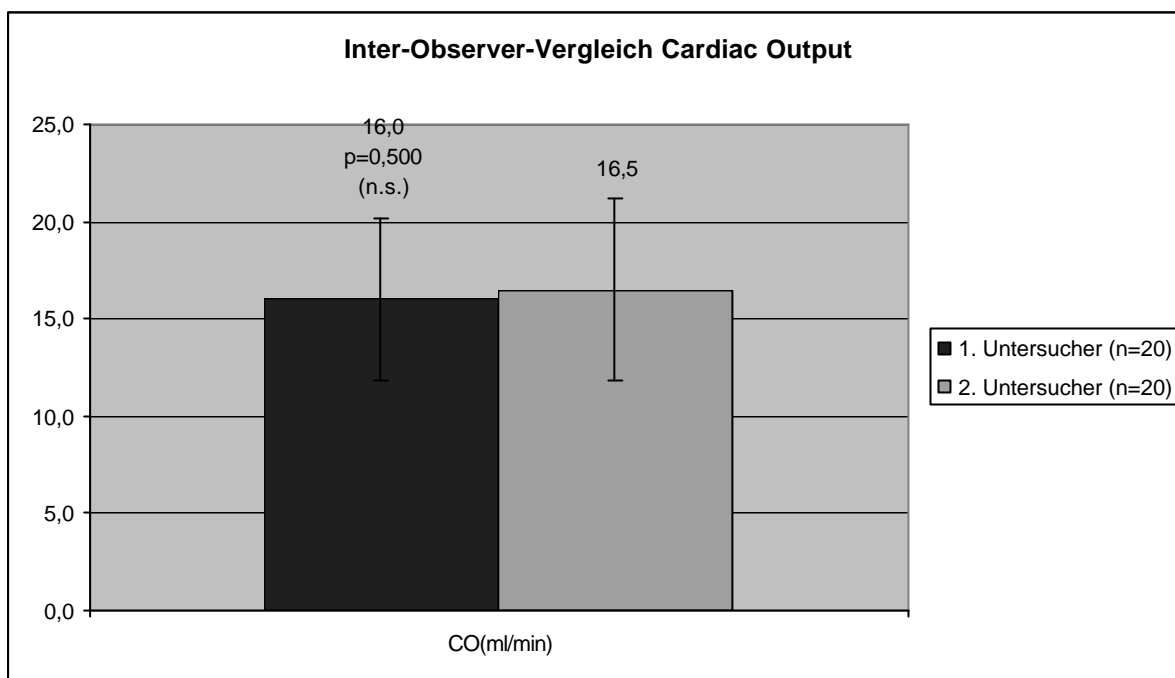


Abbildung 3-51: Inter-Observer-Vergleich des Herzminutenvolumens

Der Cardiac Output unterschied sich nicht signifikant

(CO = Herzminutenvolumen (engl. Cardiac Output))

Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert +/- 1 Standardabweichung

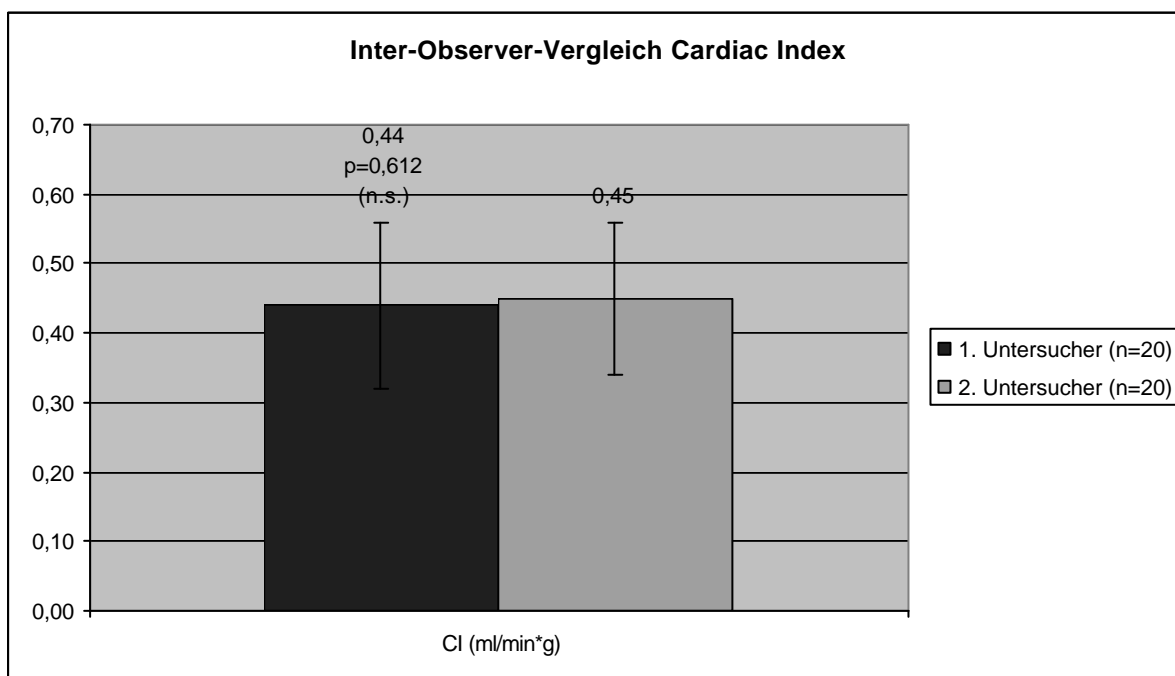


Abbildung 3-52: Inter-Observer-Vergleich des Herzindexes

Die Differenz für den Cardiac Index war nicht signifikant

(CI = Herzindex (engl.: Cardiac Index) = CO/KG der Maus)

Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen Mittelwert +/- 1 Standardabweichung

4 Diskussion

Ziel der vorgelegten Arbeit war es, umfassende echokardiographische Referenzwerte für Wildtyp-Mäuse beider Geschlechter und verschiedener Altersgruppen zu erheben, die als Grundlage für den späteren Vergleich mit echokardiographischen Daten bei kardiovaskulär veränderten Mäusen herangezogen werden können.

Im Vergleich mit anderen Untersuchungsmethoden ist die Echokardiographie ein schnell und einfach durchzuführendes, relativ kosteneffektives und nicht-invasives Verfahren. Wie in der vorgelegten Arbeit gezeigt werden konnte, ist eine zuverlässige Aussage über kardiovaskuläre Parameter auch bei so einem kleinen Tier wie der Maus möglich. Die verwendete hochauflösende Doppler-Echokardiographie stellt inzwischen eine etablierte Methode dar, um die kardiale Funktion in anästhesierten, gentechnisch veränderten Mäusen zu untersuchen [85].

In der tierexperimentellen humanmedizinischen Forschung ist eine häufig verwendete Mausart die Swiss-Type CD-1-Maus. Diese wurde auch in der vorliegenden Arbeit verwendet. Es wurde darauf geachtet, dass die Mäuse sich im Gewicht nicht zu stark unterschieden, um mögliche Fehler durch verschiedene Gewichtsklassen zu vermeiden.

Es wurde eine zuvor nicht in dieser Anzahl untersuchte Mauspopulation von 79 Tieren echokardiographiert und in Subgruppen nach Alter und Geschlecht aufgeteilt verglichen. So konnte auch der Einfluß dieser Faktoren auf das kardiovaskuläre System der Mäuse bestimmt werden. Mit den in dieser Arbeit erhobenen Daten liegt eine sehr umfangreiche echokardiographische Datenerhebung an Mäusen vor. In methodisch ähnlichen Studien wurden Fallzahlen von 15-50 Mäusen pro Studie mit jeweils 5-12 Tieren pro Gruppe untersucht (siehe Tabelle 1-3).

Weiterhin wurden zur Überprüfung der Methodensicherheit Untersuchungen zur Intra- und Inter-Observer-Variabilität durchgeführt.

Mit der vorliegenden Studie liegen nun alters- und geschlechtsbezogene echokardiographische Referenzwerte für die CD-1-Maus vor, die zum Vergleich mit pathologischen Tieren für weitere Untersuchungen herangezogen werden können. Ein Alters- oder Geschlechtsunterschied konnte in der vorgelegten Arbeit nicht gezeigt werden. Für die Zukunft scheint demnach eine Alters- oder Geschlechtskorrektur der echokardiographisch erhobenen Daten der Maus nicht erforderlich zu sein.

4.1 Geschlechts- und Altersunterschiede

4.1.1 Grundmessgrößen

Die Mausgewichte lagen physiologischerweise bei jüngeren Mäusen signifikant niedriger als bei den älteren Mäusen, außerdem waren die Männchen deutlich schwerer als die Weibchen. Solche Gewichtsunterschiede wurden für die CD-1-Maus bereits vorbeschrieben [78] und auch für andere Mausarten als physiologisch bewertet [75]. Zur Vergleichbarkeit der echokardiographischen Daten wurden gewichtsabhängige Ergebnisse auf das jeweilige Mausgewicht umgerechnet und als Index hierauf wiedergegeben (linksventrikuläre Masse als LV-Mass-Index und Herzminutenvolumen als Cardiac Index).

Die Herzfrequenzen lagen bei den jungen Mäusen höher als bei den alten Mäusen, was möglicherweise durch eine größere Narkosetoleranz der jungen gegenüber den alten Tieren erklärt werden kann. Die Herzfrequenzen lagen weiterhin, verglichen mit in der Literatur angegebenen Herzfrequenzen bei wachen Mäusen, deutlich niedriger. Dieser Effekt kann, wie in der Literatur beschrieben, ebenfalls der Narkose zugeschrieben werden. Eine mögliche andere Erklärung könnte eine mit dem Alter zunehmende Verzögerung im hierbei zunehmend fibrosierten und damit schlechter leitenden Reizleitungsgewebe sein. Auf den Einfluß der Narkose soll später im Text noch ausführlich eingegangen werden.

4.1.2 Echokardiographie

4.1.2.1 Messungen im B-Bild

Die Werte für die äußeren Maße des Herzens (Länge des linken Ventrikels und Durchmesser des linken Vorhofs) lagen im Alters- und Geschlechtsvergleich nicht signifikant auseinander. Verglichen mit Werten aus der Literatur [7] [15] [43] [69] [70] liegen die Werte für die LV-Länge zwischen den in der Literatur gefundenen Werten ($7,28 \pm 0,52$ mm [7], $6,2 \pm 0,47$ mm [69]). Für den Durchmesser des linken Vorhofs (LA) finden sich bei Fatkin [16] und McConnell [43] Werte von 1,45 – 1,63 mm. Strauch [69] und Stypmann [70] fanden hierzu Werte zwischen 1,84 und 2,74 mm. Auch für diesen Wert lagen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit im Rahmen der entsprechenden Werten aus der Literatur.

Angaben über den Durchmesser des linksventrikulären Ausflußtraktes und der Aortenwurzel finden sich in der Literatur nur in einer Arbeit [69], die Werte sind mit den hier ermittelten jedoch vergleichbar. Bei der Betrachtung der Daten hierfür fiel auf, dass die jungen Mäuse

kleinere LVOT- und Aortenwurzeldurchmesser hatten, was zum einen auf das unterschiedliche Körpergewicht der Mäuse, weiter auch auf eine mögliche altersbedingte leichte Dilatation des Herzens zurückgeführt werden kann.

Zur besseren Vergleichbarkeit der linksventrikulären Massen der Tiere wurden diese auf die jeweiligen Mausgewichte bezogen und als LV-Mass-Index angegeben. Hierbei zeigte sich, dass die jungen Mäuse deutlich größere relative Gewichte des linken Ventrikels hatten. Ein Trend hierzu zeigte sich auch bei den Männchen im Vergleich zu den Weibchen.

Dieses Verhalten der linksventrikulären Massen konnte sowohl mit der Area-Length- wie auch mit der Methode nach Penn gezeigt werden. Li et al. [39] zeigten, dass 48 Wochen alte Mäuse einen signifikant niedrigeren LV-Mass-Index besaßen als Mäuse im Alter von 12 Wochen. Ein Geschlechtervergleich wurde in der Arbeit von Li et al. nicht durchgeführt. Dieser scheint jedoch nach den vorliegenden Daten weniger bedeutsam als der Unterschied in den verschiedenen Altersgruppen. Die Werte für den LV-Mass-Index variieren in der Literatur allerdings sehr stark. So finden sich Werte zwischen $1,5 \pm 0,4$ mg/g [28] und $4,2 \pm 0,2$ mg/g [27]. Die in der vorliegenden Arbeit ermittelten Werte befinden sich zwischen diesen beiden Grenzen. Mögliche Ursachen für die großen Unterschiede bei den Ergebnissen der einzelnen Arbeitsgruppen ergeben sich aus den zahlreichen Berechnungsmöglichkeiten für die LV-Masse und der Erhöhung der Fehler durch Quadrierung, so dass bei kleinen Abweichungen der zugrunde liegenden Meßwerte bereits große Unterschiede in den errechneten Ergebnissen der linksventrikulären Masse entstehen. So ist bei den verschiedenen Arbeitsgruppen auch die jeweilige Standardabweichung für die linksventrikuläre Massenberechnung im Vergleich zu den gemessenen Daten relativ groß und beträgt bei vielen Arbeitsgruppen mehr als 20% der Mittelwerte. Bei zugleich kleinen Fallzahlen scheinen einige in der Literatur gefundene Werte nicht sehr zuverlässig zur Verwendung als Grundlage für spätere Vergleiche. Somit erscheint dieser Parameter für die Einschätzung der kardialen Funktion bei Mäusen nur als bedingt geeignet.

4.1.2.2 Messungen im M-Mode

Vergleichende Werte für die im M-Mode ermittelten Daten fanden sich in zahlreichen Studien. Diese untersuchten jedoch in vielen Fällen nur sehr geringe Fallzahlen.

Zu den in der Literatur gefundenen Daten gab es im wesentliche keine großen Unterschiede, die Daten variieren allerdings in den Literatur relativ stark. So liegen die Werte für das interventrikuläre Septum zwischen $0,41 \pm 0,03$ mm [8] und $1,04 \pm 0,03$ mm [27], für den

linksventrikulären enddiastolischen Durchmesser zwischen $2,3 \pm 0,07$ mm [85] und $4,65 \pm 0,12$ mm [79], für den linksventrikulären endsystolischen Durchmesser zwischen $1,14 \pm 0,2$ mm [26] und $3,18 \pm 0,14$ mm [79] und für den enddiastolischen Durchmesser der posterioren Wand zwischen $0,38 \pm 0,06$ mm [16] und $1,2 \pm 0,2$ mm [31].

In der vorliegenden Untersuchung unterschieden sich die im M-Mode erhobenen Daten in den einzelnen Gruppen nicht signifikant. Hierzu zeigten auch D'Angelo, Ding, Gao und Li et al. vergleichbare Resultate [8] [9] [23] [39]. Sie untersuchten allerdings nur den enddiastolischen Durchmesser des linken Ventrikels. Zudem waren die Fallzahlen in den Studien sehr gering. Aus den erhobenen Daten ließen sich für das höhere Mausalter weder dilatative noch hypertrophische Pathologien des linken Ventrikels zeigen.

4.1.2.3 Doppler-Messungen

In der Literatur finden sich nur sehr wenige Studien, die sich mit der Bestimmung von Dopplermesswerten bei Mäusen befasst haben. Hierzu gehören eine Arbeit von Hoit et al. [32], sowie Arbeiten von Kadambi et al. [35], der sich allerdings nur mit dem maximalen Fluß über die Aortenklappe beschäftigt hat, Oberst et al. [48], Strauch et al. [69] Stypmann et al. [70], Weinstein et al. [80], Zhai et al. [87] und Zhou et al. [88]. Hierbei machten lediglich Strauss et al. und Stypmann et al. auch Aussagen über die Druckgradienten an den jeweiligen Klappen. Die in dieser Arbeit ermittelten Werte liegen hierbei im Bereich der von den meisten Autoren ermittelten Werte. Deutlich höher als alle anderen Werte lagen bei Oberst die Ergebnisse für den maximalen Fluß durch beide Klappen (Ao V_{max} 82 ± 5 cm/s; MV E-Welle 80 ± 7 cm/s) Dies ist möglicherweise mit einem im Vergleich zu den anderen Studien deutlich höheren Mausgewicht von $40,4 \pm 6$ g zu begründen. In keiner weiteren Studie wurden so hohe Meßwerte für die Flussparameter gefunden. Demzufolge ist auch das E- zu A-Verhältnis bei Oberst et al. bei im Vergleich mit den übrigen Arbeiten ähnlichen A-Wellen-Messwerten, mit $5,3 \pm 0,9$ deutlich größer als in der vorliegenden und den übrigen in der Literatur angegebenen Untersuchungen.

Aus den vorliegenden Daten lassen sich keine Einflüsse des Alters und Geschlechts auf die Flussparameter ableiten. Auch eine Änderung des E- zu A-Verhältnisses konnte mit dem Alter nicht gezeigt werden. Somit konnte anhand dessen auch keine diastolische Funktionsstörung bei den älteren Mäusen gesehen werden.

4.1.2.4 Messungen der Funktionsparameter

Eine Berechnung der Verkürzungsfraction (FS) wurde in der Literatur bei nahezu allen Studien durchgeführt. Hierbei liegen die Angaben zwischen $29 \pm 9 \%$ [7] und $65 \pm 2 \%$ [67]. Im Wesentlichen liegen die Werte für die FS jedoch insgesamt in der Literatur um etwa 40% verteilt. Die in der vorliegenden Arbeit ermittelten Werte liegen ebenfalls in diesem Bereich. Eine Berechnung der Ejektionsfraction wurde lediglich in 4 Arbeiten durchgeführt [26] [34] [43] [85], deren Werte mit den hier ermittelten aber gut zu vergleichen sind.

Auch die Bestimmung der Auswurfzeit des linken Ventrikels wurde nur in sehr wenigen Arbeiten betrachtet [6] [20] [21] [62] [63] [77] [83] [89]. Auch hier liegen die ermittelten Daten im Bereich derer in der Literatur angegebenen. Für den durchgeführten Gruppenvergleich ergab sich ein analoges Bild zu den Parametern zur Quantifizierung der linksventrikulären Funktion. Die Weibchen hatten hier einen schwach signifikant längere Auswurfzeit.

Für das Herzminutenvolumen liegen die hier ermittelten Werte ebenfalls im Bereich der Literaturangaben. Zur Besseren Beurteilbarkeit wurden diese Daten als Herzindex wiedergegeben, wobei hier ein Trend zu einem etwas höheren Herzindex bei den jungen Mäusen ging. Dies könnte einerseits durch das niedrigere Gewicht der jungen Mäuse, andererseits durch eine signifikant höhere Herzfrequenz der jungen Tiere bei nicht signifikant unterschiedlicher Ejektionsfraction zwischen jungen und alten Tieren bedingt sein, so dass die jungen Tiere durch beide Faktoren beeinflusst ein höheres HZV bemerkbar machte, welches sich nur trendmäßig abzeichnete, aber schließlich in der Darstellung als größerer Herzindex stärker hervortrat.

4.1.2.5 Messungen der Nieren

Sonographische Untersuchungen der Nieren bei so kleinen Tieren wie der Maus sind bisher in der Literatur nicht beschrieben worden.

In dieser Arbeit konnten die Nieren jedoch mit dem Echokardiographiegerät weitgehend zufriedenstellend dargestellt werden, wobei die Darstellung der rechten Niere sich durch die Überlagerung durch die Leber schwieriger zeigte als die der Gegenseite. Dennoch konnten die äußeren Abmessungen der Nieren mit großer Zuverlässigkeit bestimmt werden, was bei den Abmessungen von Nierenrinde und –mark etwas weniger gut möglich war. So ergaben sich bei deren Ausmessungen deutlich höhere Standardabweichungen als bei den äußeren Nierenmaßen,

was vermutlich den kleinen Ausmaßen und den nicht immer ganz sicher zu differenzierenden Grenzen zwischen Rinde und Mark zuzuschreiben ist. Auf diesem Gebiet sollten somit zur weiteren Etablierung der Methode zusätzliche Untersuchungen durchgeführt werden. Unterschiede der Nierenmaße der einzelnen Gruppen lassen sich im Wesentlichen auf vorhandene Gewichtsunterschiede der Tiere zurückführen.

4.2 Intra-Observer-Variabilitäten

Wie schon von anderen Arbeitsgruppen gezeigt werden konnte [32] [73], liegen die Intra- und Inter-Observer-Variabilitäten der echokardiographischen Untersuchung bei der Maus in zufriedenstellendem Bereich. Das Verfahren stellt sich somit als zuverlässiges und reproduzierbares Messinstrument zur Beurteilung der kardialen Funktion des Mäuseherzens dar.

Auch in der vorgelegten Arbeit wurden diese beiden Parameter zur Beurteilung der Methodensicherheit ermittelt.

Zur Bestimmung der Intra-Observer-Variabilität wurde die gleiche Maus vom selben Untersucher zu zwei verschiedenen Zeitpunkten untersucht.

Durch den etwas späteren Untersuchungszeitpunkt ergab sich ein minimaler Unterschied im Gewicht der Tiere.

Für alle im B-Bild und im M-Mode ermittelten Daten ergab sich eine gute Korrelation der beiden Untersuchungsergebnisse. Für den mittleren Druckgradienten über der Mitralklappe zeigte sich ein signifikanter Unterschied zu den beiden Untersuchungszeitpunkten, auch die übrigen Mitralklappenparameter zeigen einen Trend zu höheren Werten in der ersten Untersuchung. Ein schwach signifikanter Unterschied ergab sich auch für den Cardiac Index, der ebenfalls zum ersten Untersuchungszeitpunkt etwas höher lag als zum zweiten. Diese Ergebnisse sind möglicherweise auf einen etwas erhöhte Ausschüttung endogener Katecholamine der Mäuse zum ersten Zeitpunkt zurückzuführen.

Alle übrigen Werte ergaben für den Intra-Observer-Vergleich keinen signifikanten Unterschied.

4.3 Inter-Observer-Variabilitäten

Zur Bestimmung der Reproduzierbarkeit der Daten durch einen anderen Untersucher wurden die Mäuse von einem zweiten Untersucher erneut echokardiographiert. Hieraus wurde die

Inter-Observer-Variabilität ermittelt. Bis auf einen schwach signifikanten Unterschied der Größe des linken Vorhofs ergaben sich im B-Bild gute Korrelationen zwischen den beiden Untersuchern. Schwach signifikante Unterschiede ergaben sich auch für die Bestimmungen des interventrikulären Septums und der posterioren Wand im M-Mode-Modus. Die Unterschiede lagen hier jedoch im Bereich der üblichen Standardabweichungen auch bei den Gruppendifferenzen. Möglicherweise spielt die Größe der zu messenden Strukturen hier eine Rolle und ergibt bei so kleinen Messstrecken wie den oben angegebenen durch minimale Änderung des Messcursors etwas unterschiedliche Werte. Ein noch genaueres Messinstrument könnte hier sicherlich die Exaktheit der Messung weiter optimieren.

Bei den Dopplermessungen ergaben sich keine signifikanten Unterschiede.

Auch die Funktionsparameter korrelierten bei beiden Untersuchern gut miteinander.

Aus den vorangehenden Untersuchungen läßt sich somit eine gute Intra- und Inter-Observer-Variabilität ersehen. Dies zeigt, wie auch in vorigen Studien schon untersucht wurde, dass die echokardiographische Untersuchung der Maus ein zuverlässiges und reproduzierbares erfahren ist, dass zudem durch seine einfache, schnelle und kostengünstige Anwendung ein ideales Instrument für die kardiale und, wie hier gezeigt werden konnte, bedingt auch für die sonographische Untersuchung der Nieren darstellt.

4.4 Echokardiographie versus Nekrotomie

Zur Beurteilung der Vergleichbarkeit der Ultraschalldaten mit anatomischen Daten wurde die Herzmasse der Tiere nach der Untersuchung bestimmt.

Für die Herzmasse ergaben sich hier hoch signifikante Unterschiede, was jedoch darauf zurückzuführen ist, dass echokardiographisch nur die linksventrikuläre Masse bestimmt wurde, wobei post mortem das gesamte Herz der Maus inklusive beider Vorhöfe und des rechten Ventrikels gewogen wurde. Betrachtet man die Korrelation der berechneten linksventrikulären Massen, so ergibt sich eine gute Korrelation zwischen den verschiedenen Methoden, was auf eine gute Validität des Verfahrens schließen läßt. Dies konnte auch in der Literatur bereits von verschiedenen Arbeitsgruppen gezeigt werden [17][42][41].

4.5 Narkose bei der Maus

In der Literatur gibt es verschiedene Formen von Narkosen, die zur Echokardiographie bei Mäusen Anwendung finden. Ein ideales Anästhetikum sollte hierbei leicht zu applizieren sein, einen möglichst geringen Einfluß auf die kardiale Funktion der Maus haben, die Spontanatmung nicht unterdrücken und eine ausreichende, aber nicht zu lange Wirkdauer haben. In der vorliegenden Arbeit wurde die Narkose mit einem Ketamin/Xylazin-Gemisch durchgeführt, welches zuvor bereits von vielen Arbeitsgruppen verwendet wurde.

Unter der Ketamin/Xylazin-Narkose lagen die Herzfrequenzen der Mäuse (zwischen 255 und 370 bpm), verglichen mit den von wachen Mäusen berichteten Frequenzen (450 – 500 bpm) [73] relativ niedrig. Dieser Effekt ist vermutlich auf die negativ chrono- und inotropen Nebenwirkungen der verwendeten Medikamente zurückzuführen [85].

Bezüglich der Narkose berichten Tanaka et al., dass bei ihnen für wiederholte Messungen bei einer Maus innerhalb von mehreren Tagen durch den selben Untersucher die Ergebnisse nicht vergleichbar waren, da die Mäuse sich in ihrer Herzfrequenz bei den verschiedenen Untersuchungen deutlich unterschieden. In der vorliegenden Arbeit lagen die Herzfrequenzen zu den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten nicht signifikant auseinander, so dass hier eine Vergleichbarkeit der echokardiographisch erhobenen Werte gegeben ist. Dennoch lagen bei allen Untersuchungen die Herzfrequenzen der Mäuse in Narkose deutlich unter denen im Wachzustand. Studien, die Chloralhydrat als Narkotikum benutzten, zeigten Herzfrequenzen, die näher am physiologischen Bereich der Mäuse lagen (464 bis 474 bpm bei normalen Mäusen), hierbei war laut Tanaka auch die Reproduzierbarkeit der Untersuchungen bei derselben Maus an einem anderen Tag erhöht. Dennoch scheint dieses Medikament für die echokardiographischen Untersuchungen bei Mäusen nicht geeignet, da die Messwerte für LVEDD, LVESD und die linksventrikuläre Auswurfzeit unter Chloralhydrat deutlich niedriger lagen, möglicherweise verursacht durch einen unter Chloralhydrat erhöhten endogenen Katecholaminspiegel. [73].

Roth et al.[60] verglichen in einer Studie zum Einfluß verschiedener Narkoseformen und -medikamente auf die Herzfunktion bei Mäusen während echokardiographischer Untersuchungen die Wirkungen von Ketamin/Xylazin i.p. mit Tribromoethanol i.p., Ketamin/Midazolam i.p. und Isofluran per inhalationem. Hierbei kam es bei der Narkose mit Ketamin/Xylazin zu verglichen mit allen anderen Narkoseformen deutlich niedrigeren Herzfrequenzraten. Außerdem ergaben sich für den enddiastolischen Durchmesser für Ketamin/Xylazin in dieser Arbeit durchgehend erhöhte Werte im Vergleich mit den drei

anderen Narkosen. Weiter lag die Fractional Shortening (FS) unter Ketamin/Xylazin-Narkose signifikant niedriger, während die linksventrikuläre Ejektionszeit (LVET) mit der Dauer der Narkose, anders als bei den anderen Narkotika, anstieg.

Auch in der vorliegenden Arbeit ergaben sich durch die Narkose deutliche Unterschiede in der Herzfrequenz der untersuchten Mäuse im Vergleich mit der von wachen Tieren berichteten Herzfrequenzen. Daher sollten die in dieser Arbeit erhobene Werte nur als Basis für Untersuchungen nach dem gleichen Versuchsprotokoll mit einer Ketamin/Xylazin-Narkose verwendet werden, denn möglicherweise resultieren aus den verschiedenen Narkoseverfahren und den damit verbundenen unterschiedliche Herzfrequenzen auch Veränderungen der übrigen kardialen Parameter.

Eine durch die Narkose Herzfrequenz ermöglicht allerdings, unter den heute gegeben technischen Möglichkeiten, infolge der größeren Zykluslänge einer Herzaktion bessere Untersuchungsbedingungen für die Echokardiographie [60]. Hierbei ist auch eine Beurteilung der diastolischen Flussparameter über die Mitralklappe, welche zur Beurteilung der diastolischen Funktion des linken Ventrikels herangezogen werden kann, nur bis zu einer Herzfrequenz von etwa 500 bpm möglich, da bei einer schnelleren Herzfrequenz die Unterscheidung der E- und A-Wellen des Mitralklappeneinstrommusters nicht mehr einwandfrei möglich ist [65] [71].

Von einigen Arbeitsgruppen wurde eine echokardiographische Untersuchung an wachen Tieren bereits durchgeführt [15] [65] [85]. Hierfür wurde jedoch ein deutlich höherer Personalaufwand benötigt und zudem musste eine lange Trainingsphase für die Mäuse berechnet werden, um in der Lage zu sein, die Untersuchung an der wachen Maus durchzuführen. So führten Yang et al. zunächst zwei Trainingssitzungen mit den Mäusen durch, bevor die eigentliche Untersuchung stattfand. Eine durch Stress der Maus im wachen Zustand möglicherweise erhöhte Katecholaminausschüttung könnte die echokardiographischen Parameter in ähnlich starker Weise verändern wie eine Narkose. Weiter benötigt eine Fixierung der wachen Maus einen wesentlich stärkeren Kraftaufwand der Maus gegenüber, der zudem eventuell die anatomischen Gegebenheiten der Maus durch Kompression beispielsweise des Thorax oder auch nur der peripheren Gefäße mit konsekutiv veränderten Widerstands- und Flussverhältnissen beeinflussen und somit seinerseits eine Veränderung der kardiovaskulären Parameter ergeben könnte.

Für die echokardiographische Untersuchung unter standardisierten Bedingungen scheint somit die Narkose bei der Maus als am wenigsten anfällig für zufällige Fehler. Zum Vergleich mit pathologischen Tieren ist demnach der Narkose nach Meinung der Autorin weiter der Vorzug

zu geben. Hierdurch ergeben sich gute Schallbedingungen bei der Maus, welche, wie in der Arbeit gezeigt werden konnte zuverlässig und reproduzierbar sind.

Ein ideales Anästhetikum ist hierbei für die echokardiographische Untersuchung bei der Maus noch nicht gefunden. Die Auswahl des Narkosemittels sollte jedoch möglichst unter Berücksichtigung der zugrundeliegenden Untersuchungsindikation bzw. Fragestellung und der kardialen Vorerkrankung der jeweiligen Tiere erfolgen [60].

4.6 Studienbegrenzungen

Zum Vergleich echokardiographischer Daten bei Mäusen wäre es wünschenswert, während der Untersuchung ähnliche Herzfrequenzen wie bei wachen Tieren zu haben. Da durch Narkose diese weitgehend reduziert sind und bei wach untersuchten Tieren zu hoch liegt, ist ein Bezug der Daten auf normal wache Tiere nicht einwandfrei möglich. Leider gibt es derzeit keine zuverlässigen Korrekturfaktoren zur Anpassung der erhobenen echokardiographischen Daten. Somit bleibt eine mögliche Fehlerquelle die Erniedrigung bzw. Erhöhung der Herzfrequenz durch den Untersucher und damit eine Veränderung der kardialen Parameter, die in Ihrem Einfluß nicht eindeutig zu beurteilen ist. Überlegungen, bei narkotisierten Mäusen einen Schrittmacher oder bei wachen Tieren bradykardisierende Medikamente zu nutzen, wurden von Tanaka et al. [73] angestellt, jedoch bisher nicht untersucht.

Die echokardiographische Untersuchung bei der Maus stellt sich vor allem aufgrund der Größe des Tieres als technisch deutlich schwieriger dar, als beispielsweise beim Menschen. Die Untersuchungen des Herzens erfolgten hier lediglich in links parasternalen Längs- und Querachse. Weitere Anschallrichtungen, wie sie beim Menschen routinemäßig durchgeführt werden, sind hier aufgrund der Abmessungen der Maus und auch des, im Verhältnis zur Körpergröße der Maus, noch recht großen Schallkopfes derzeit nicht zuverlässig möglich.

Diese Bedingungen führen zu deutlich eingeschränkten Untersuchungsbedingungen bei der Maus. So konnte hier lediglich eine zuverlässige Darstellung des linken Herzens durchgeführt werden. Eine Darstellung des rechten Herzens gelang nur selten und dies nicht in beurteilender Art und Weise.

Eine weitere mögliche Quelle für Ungenauigkeiten der Daten stellen die M-Mode-Daten dar. Bei der Ermittlung der M-Mode-Daten wurde streng darauf geachtet, dass dieser streng senkrecht zum interventrikulären Septum und zur Hinterwand durch die Papillarmuskelebene direkt unterhalb der Spitzen der Mitralklappensegel gelegt wurde. Bei Ungenauigkeiten in der Schnittrichtung kann es hierbei zu bedeutenden Ungenauigkeiten kommen [53]. Zudem gibt

der M-Mode nur einen Ausschnitt des Herzens wieder und bedient sich der Annahme eines symmetrischen Ventrikels. Durch mögliche Wandunregelmäßigkeiten oder -bewegungsstörungen, wie sie zum Teil bei vorgeschädigten Herzen, z. B. nach einem Herzinfarkt, auftreten, kann hier eine zusätzliche Fehlerquelle entstehen. Da die M-Mode-Daten zum Teil auch in die Berechnung der linksventrikulären Masse eingehen, können Fehler hier zu starken Abweichungen führen.

Zur Optimierung der Messungen und klareren Differenzierung kleiner Strukturen des Mäuseherzens wären möglicherweise höhere Ultraschallfrequenzen als die hier verwendeten günstiger, obwohl dadurch die Eindringtiefe reduziert würde. Möglicherweise können auch Verbesserungen der Schallkopfmaterialien, ein kleinerer Schallkopf und eine bessere Fokussierung die Untersuchungsbedingungen in Zukunft weiter optimieren.

Ein bei den Doppleruntersuchungen möglicherweise nicht immer ideal getroffener Winkel zur Strömungsrichtung ist eventuell für teilweise etwas erhöhte Standardabweichungen bei diesen verantwortlich zu machen. Zudem ist auch das Sample Volume des PW-Dopplers im Vergleich zum zu messenden Flussbereich relativ groß. Es ist somit schwierig, den exakt richtigen Ort für die PW-Flussmessung zu finden. Durch eine Verbesserung der Darstellung im B-Bild und eine entsprechende Verkleinerung des Sample Volumes, sowie durch farbdopplergesteuerte Analyse könnte dies weiter optimiert werden. [73].

Abschließend kann gesagt werden, dass in der vorgelegten Untersuchung an einer großen Zahl von Mäusen valide und reproduzierbare kardiovaskuläre Daten erhoben werden konnten, für weitere echokardiographische Untersuchungen an Mäusen als Normwerte für CD-1-Mäuse unter Ketamin/Xylazin-Narkose herangezogen werden können. Zur besseren Vergleichbarkeit mit wachen Tieren sollte hier jedoch über eine kreislaufneutralere Narkose, zum Beispiel mit inhalativen Anästhetika, wie Isofluran, Desfluran oder Sevofluran nachgedacht werden.

5 Zusammenfassung

Die Doppler-echokardiographische Untersuchung hat sich zu einem zuverlässigen, schnell und einfach durchführbaren, nicht-invasiven Verfahren für die kardiovaskuläre Phänotypisierung der Maus entwickelt. Das Mausmodell bietet sich wegen großer kardiovaskulärer Ähnlichkeiten im Vergleich zum Menschen, der relativ einfachen Durchführbarkeit genetischer Manipulationen, des kurzen Reproduktionszyklus und niedriger Haltungskosten im Vergleich zum Großtierversuch als Studienobjekt für genetische bedingte kardiovaskuläre Erkrankungen an. Verbesserungen der Gerätetechnik mit Optimierung der zeitlichen und räumlichen Auflösung zur Darstellung des nur ca. 5 mm großen Mäuseherzens bei einer Herzfrequenz von ca. 500 bpm, sowie verbesserte serielle Ruhe- und Stressuntersuchungsprotokolle und die Einführung inhalativer Narkosen haben die Aussagekraft echokardiographischer Untersuchungen muriner Modelle deutlich verbessert. Eine Reihe von echokardiographischen Untersuchungen zu kardiovaskulären Pathologien bei Mäusen wurden bereits durchgeführt, eine Normwerterstellung, wie sie in der Humanmedizin etabliert ist, wurde jedoch bisher nicht durchgeführt. Weiterhin wurde auch die Frage nach echokardiographischen Unterschieden zwischen männlichen und weiblichen Tieren, sowie verschiedenen Altersgruppen bisher nicht beantwortet.

In der vorgelegten Arbeit wurde eine solche echokardiographische Normwerterstellung für die Swiss-Type-CD-1-Maus unter Xylamin/Ketamin-Narkose durchgeführt. Weiterhin wurden verschiedene Alters- und Geschlechtsgruppen miteinander verglichen. Die echokardiographische Untersuchung umfasste hier sowohl sono-morphologische wie auch funktionelle Parameter. Zur Überprüfung der Zuverlässigkeit der Methode wurden die Inter-, sowie Intra-Observer-Variabilitäten bestimmt. Die Studie wurde dem Veterinär- und Lebensmittelüberwachungsamt der Stadt Münster angezeigt und am 15.04.1999 unter dem Aktenzeichen 23.0835.1.0 (G 41/99) genehmigt.

Aus den Daten ergab sich eine gute Korrelation für die Inter- und Intra-Observer-Variabilitäten. Zwischen den verschiedenen Alters- und Geschlechtsgruppen konnten im Wesentlichen keine großen Unterschiede festgestellt werden. Bedeutsam scheint für das Herzzeitvolumen und die linksventrikuläre Masse vor allem das Körpergewicht der Tiere. Hier macht es, wie es auch in der humanmedizinischen Echokardiographie durchgeführt wird, Sinn, die Werte als Indizes im Bezug auf das Körpergewicht oder, wie in anderen Arbeiten, im Vergleich zur Tibia-Länge anzugeben.

Für zukünftige echokardiographische Datenerhebungen bei Mäusen können die hier erhobenen Daten als Referenzwerte verwendet werden und liefern so eine gute Basis für neue Untersuchungen zum Beispiel an gentechnischen Mausmodellen für kardiovaskuläre Erkrankungen.

6 Literaturverzeichnis

1. **Bubenheimer, Kneissl:** Doppler-Echokardiographie, Lehrbuch und Atlas, VCH Verlagsgesellschaft 1989, Weinheim, Deutschland
2. **Bueno OF, De Windt LJ, Tymitz KM, Witt SA, Kimball TR, Klevitsky R, Hewett TE, Jones SP, Lefer DJ, Peng G-F, Kitsis RN, Molkentin JD** (2000) The MEK1-ERK1/2 signaling pathway promotes compensated cardiac hypertrophy in transgenic mice. *EMBO J.*; 19: 6341-50
3. **Cho MC, Rapacciuolo A, Koch JW, Kobayashi Y, Jones LR, Rockmann HA** (1999) Defective β -adrenergic receptor signaling precedes the development of dilated cardiomyopathy in transgenic mice with caldesmon overexpression. *J. Biol. Chem.*; 274: 22251-22256
4. **Christensen G, Wang Y, Chien KR** (1997) Physiological assessment of complex cardiac phenotypes in genetically altered mice. *Am. J. Physiol. 272 (Heart Circ. Physiol. 41)*: H2513 – H2524
5. **Cittadini A, Mantzoros CS, Hampton TG, Travers KE, Katz SE, Morgan JP, Flier JS, Douglas PS** (1999) Cardiovascular Abnormalities in Transgenic Mice With Reduced Brown Fat. An Animal Model of Human Obesity. *Circulation 100*: 2177-2183
6. **Colbert MC, Hall DG, Kimball TR, Witt SA, Lorenz JN, Kirby ML, Hewett TE, Klevitsky R, Robbins J** (1997) Cardiac Compartment-specific Overexpression of a Modified Retinoic Acid Receptor Produces Dilated Cardiomyopathy and Congestive Heart Failure in Transgenic Mice *J. Clin. Invest. 100*,
7. **Collins KA, Korcarz CE, Shorff GS, Bednarz JE, Fentzke RC, Lin H, Leiden JM, Lang RM** (2001) Accuracy of echocardiographic estimates of left ventricular mass in mice. *Am. J. Physiol. (Heart. Circ. Physiol.)*; 280: H1954-H1962
8. **D'Angelo, Sakata Y, Lorenz JN, Boivin GP, Walsh RA, Liggett SB, Dorn GW 2nd** (1997) Transgenic Galphaq overexpression induces cardiac contractile failure in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 94: 8121-6
9. **Ding B, Price RL, Goldsmith EC, Borg TK, Yan X, Douglas PS, Weinberg EO, Bartunek J, Thielen T, Didenko VV, Lorell BH** (2000) Left ventricular hypertrophy in ascending aortic stenosis mice: anoikis and the progression to early failure. *Circulation*; 101: 2854-62

10. **Doevendans PA, Daemen MJ, de Muinck ED, Smits JF** (1998) Cardiovascular phenotyping in mice, *Cardiovascular Research*; 39: 34-49
11. **Du XJ, Gao XM, Wang B, Jennings GL, Woodcock EA, Dart AM** (2000) Age-dependent cardiomyopathy and heart failure phenotype in mice overexpressing β_2 -adrenergic receptors in the heart. *Cardiovascular Research*; 48: 448-454
12. **Du XJ, Gao XM, Jennings GL, Dart AM, Woodcock EA** (2000) Preserved ventricular contractility in infarcted mouse heart overexpressing beta(2)-adrenergic receptors. *Am J Physiol (Heart Circ Physiol.)*; 279: H2456-63
13. **Ducharme A, Frantz S, Aikawa M, Rabkin E, Lindsey M, Rohde LE, Schoen FJ, Kelly RA, Werb Z, Libby P, Lee RT** (2000) Targeted deletion of matrix metalloproteinase-9 attenuates left ventricular enlargement and collagen accumulation after experimental myocardial infarction. *J. Clin. Invest.*; 106: 55-62
14. **Engberding, R:** Untersuchungstechniken in der Echokardiographie: transthorakale, transösophageale Schnitebenen, Springer Verlag, 1990, Heidelberg, Deutschland
15. **Esposito G, Santana LF, Dilly K, Cruz JD, Mao L, Lederer WJ, Rockman HA** (2000) Cellular and functional defects in a mouse model of heart failure. *Am J Physiol (Heart Circ Physiol.)*; 279: H3101-12
16. **Fatkin D, McConnell BK, Mudd JO, Semsarian C, Moskowitz IG, Schoen FJ, Giewat M, Seidman CE, Seidman JG** (2000) An abnormal Ca(2+) response in mutant sarcomere protein-mediated familial hypertrophic cardiomyopathy. *J Clin Invest.*; 106: 1351-9
17. **Fard A, Wang CY, Takum S, Skopicki HA, Pinsky DJ, Di Tullio MR, Homma S** (2000) Noninvasive Assessment and Necropsy Validation of Changes in Left Ventricular Mass in Ascending Aortic Banded Mice. *J AM Soc Echoc.*; 13(6): 582-587
18. **Feldman MD, Erikson JM, Mao Y, Korcarz CE, Lang RM, Freeman GL** (2000) Validation of a mouse conductance system to determine LV volume: comparison to echocardiography and crystals. *Am. J. Physiol. Circ. Physiol.*; 279: H1698-H1707
19. **Fentzke RC, Korcarz CE, Lang RM, Lin H, Leiden JM** (1998) Dilated cardiomyopathy in transgenic mice expressing a dominant-negative CREB transcription factor in the heart. *J. Clin. Invest.*; 101;11, 2415-2426
20. **Fentzke RC, Korcarz CE, Shroff SG, Lin H, Leiden JM, Lang RM** (2001) The left ventricular stress-velocity relation in transgenic mice expressing a dominant negative CREB transgene in the heart. *J. Am. Soc. Echocardiogr.*; 14: 209-218

21. **Fentzke RC, Korcarz CE, Shroff SG, Lin H, Sandelski J, Leiden JM, Lang RM** (1997) Evaluation of ventricular and arterial hemodynamics in anesthetized closed-chest mice. *J. Am. Soc. Echocardiogr.*; 10: 915-25
22. **Gao XM, Dart AM, Dewar E, Jennings G, Du XJ** (2000) Serial echocardiographic assessment of left ventricular dimensions and function after myocardial infarction in mice. *Cardiovasc. Res.*; 14; 45: 330-338
23. **Gao MH, Lai NC, Roth DM, Zhou J, Zhu J, Anzai T, Dalton N, Hammond HK** (1999) Adenylylcyclase increases responsiveness to catecholamine stimulation in transgenic mice. *Circulation.*; 99: 1618-22
24. **Gardin JM, Siri FM, Kitsis RN, Edwards JG, Leinwand LA** (1995) Echocardiographic assessment of left ventricular mass and systolic function in mice. *Circ. Res.*; 76: 907-914
25. **Gottshall KR, Hunter JJ, Tanaka N, Dalton N, Becker KD, Ross J Jr, Chien KR** (1997) Ras-dependent pathways induce obstructive hypertrophy in echo-selected transgenic mice. *Proc. Natl. Acad. Sci.*; 94: 4710-4715
26. **Hanrath P, Meyer J** (2000) Nachruf auf Prof. Dr. med. Sven Effert. *Z Kardiol*; 89: 362-363
27. **Harada K, Komuro I, Shiojima I, Hayashi D, Kudoh S, Mizuno T, Kijima KMatsubara H, Sugaya T, Murakami K, Yazaki Y** (1998) Pressure overload induces cardiac hypertrophy in angiotensin II type 1A receptor knockout mice. *Circulation.*; 97: 1952-9
28. **Hart CY, Burnett JC Jr, Redfield MM** (2001) Effects of avertin versus xylazine-ketamine anesthesia on cardiac function in normal mice. *Am J Physiol (Heart Circ Physiol.)*; 281: H1938-45
29. **Hoit BD, Kiatchosakun S, Restivo J, Kirkpatrick D, Olszens K, Shao H, Pao YH, Nadeau JH** (2002) Naturally occurring variation in cardiovascular traits among inbred mouse strains. *Genomics.*; 79: 679-85
30. **Hoit BD** (2001) New approaches to phenotypic analysis in adult mice, *J. Mol. Cell Cardiol.*; 33: 27-35
31. **Hoit BD, Khan ZU, Pawloski-Dahm CM, Walsh RA** (1997) In vivo determination of left ventricular wall stress-shortening relationship in normal mice. *Am J Physiol.*; 272: H1047-52

32. **Hoit BD, Saeb FK, Kranias EG, Ball N, Walsh RA** (1995) In vivo echocardiographic detection of enhanced left ventricular Function in gene-targeted mice with phospholamban deficiency. *Circ. Res.*; 77: 632-637
33. **HP System Reference** , Software Revision B.0. Hewlett-Packard, Massachusetts, USA, 3. Auflage 1999
34. **Iwase M, Bishop SP, Uechi M, Vatner DE, Shannon RP, Kudej RK, Wight DC, Wagner TE, Ishikawa Y, Homcy CJ, Vatner SF** (1996) Adverse effects of chronic endogenous sympathetic drive induced by cardiac GS alpha overexpression. *Circ Res.*; 78: 517-24
35. **Kadambi VJ, Ponniah S, Harrer JM, Hoit BD, Dorn GW 2nd, Walsh RA, Kranias EG** (1996) Cardiac-specific overexpression of phospholamban alters calcium kinetics and resultant cardiomyocyte mechanics in transgenic mice. *J Clin Invest.*; 97: 533-9
36. **Kasai C, Namekawa K, Koyano A, Omoto R** (1985) Real- time two-dimensional blood flow imaging using an auto-correlation technique. *IEEE Trans Sonics Ultrason.*; 32: 460-463
37. **Kemi OJ, Loennechen JP, Wisloff U, Ellingsen O** (2002) Intensity-controlled treadmill running in mice: cardiac and skeletal muscle hypertrophy. *J. Appl. Physiol.*; 93: 1301-1309
38. **Kollmann C, Turetschak K, Mostbeck G** (1998) Amplitude-coded colour Doppler sonography: physical principles and technique. *Eur. Radiol.*; 8: 649-656
39. **Li YY, Feng YQ, Kadokami T, McTiernan CF, Draviam R, Watkins SC, Feldman AM** (2000) Myocardial extracellular matrix remodeling in transgenic mice overexpressing tumor necrosis factor alpha can be modulated by anti-tumor necrosis factor alpha therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A.*; 97: 12746-51
40. **Liao HS, Kang PM, Nagashima H, Yamasaki N, Usheva A, Ding B, Lorell BH, Izumo S.** (2001) Cardiac-specific overexpression of cyclin-dependent kinase 2 increases smaller mononuclear cardiomyocytes. *Circ Res.*; 88: 443-50
41. **Liao Y, Ishikura F, Beppu S, Asakura M, Takashima S, Asanuma H, Sanada S, Kim J, Ogita H, Kuzuya T, Node K, Kitakaze M, Hori M** (2002) Echocardiographic assessment of LV hypertrophy and function in aortic-banded mice: necropsy validation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.*; 282: H1703-H1708

42. **Manning WJ, Wie YJ, Katz SE, Litwin SE, Douglas PS** (1994) In vivo assessment of LV mass in mice using high-frequency cardiac ultrasound: necropsy validation. *Am. J. Physiol.*; 266: H1672-H1675
43. **McConnel BK, Fatkin D, Semsarian C, Jones KA, Georgakopoulos D, Maguire CT, Healy MJ, Mudd JO, Moskowitz IPG, Conner DA, Giewat M, Wakimoto H, Berul CI, Schoen FJ, Kass DA, Seidman CE, Seidman JG** (2001) Comparison of two murine models of familial hypertrophic cardiomyopathy. *Circ. Res.*;88: 383-389
44. **Meguro T, Hong C, Asai K, Takagi G, McKinsey TA, Olson EN, Vatner SF.** (1999) Cyclosporine attenuates pressure-overload hypertrophy in mice while enhancing susceptibility to decompensation and heart failure. *Circ Res.*; 84: 735-40
45. **Michael LH, Entman ML, Hartley CJ, Youker KA, Zhu J, Hall SR, Hawkins HK, Berens K, Ballantyne CM** (1995) Myocardial ischemia and reperfusion: a murine model. *Am J Physiol.*; 269: H2147-54
46. **Minamisawa S, Gu Y, Ross J Jr, Chien KR, Chen J.** (1999) A post-transcriptional compensatory pathway in heterozygous ventricular myosin light chain 2-deficient mice results in lack of gene dosage effect during normal cardiac growth or hypertrophy. *J Biol Chem.*; 274: 10066-70
47. **Moltzahn S, Zeydabadinejad M** (2000) Dopplerechokardiographie: CW, PW, Farbdoppler; Eine Einführung, Thieme, Stuttgart, New York
48. **Oberst L, Zhao G, Park JT, Brugada R, Michael LH, Entman ML, Roberts R, Marian AJ** (1998) Dominant-negative effect of a mutant cardiac troponin T on cardiac structure and function in transgenic mice. *J Clin Invest.*; 102: 1498-505
49. **Panidis JP:** Cardiac Ultrasound: Practical Cardiac Diagnosis, Blackwell Science Inc.,Cambridge,USA, 1996
50. **Patten RD, Aronovitz MJ, Bridgman P, Pandian NG (2002)** Use of pulse wave and color flow doppler echocardiography in mouse models of human disease. *J. Am. Soc. Echocardiogr.* 15: 708-14
51. **Patten RD, Aronovitz MJ, Einstein M, Lambert M, Pandian NG, Mendelsohn ME, Konstam MA** (2003) Effects of angiotensin II receptor blockade versus angiotensin-converting-enzyme inhibition on ventricular remodelling following myocardial infarction in the mouse. *Clinical Science*; 104: 109-118
52. **Pollick C, Hale SL, Kloner RA** (1995) Echocardiographic and cardiac doppler assessment of mice. *J. Am. Soc. Echocardiogr.*; 8: 602-610

53. **Reichek N, Helak J, Plappert T, Sutton M ST J, Weber K** (1983) Anatomic validation of left ventricular mass estimates from clinical two-dimensional echocardiography: initial results. *Circulation*; 67: 348-35
54. **Rockman HA, Wachhorst SP, Mao L, Ross J Jr.** (1994) ANG II receptor blockade prevents ventricular hypertrophy and ANF gene expression with pressure overload in mice. *Am J Physiol.*; 266: H2468-75
55. **Rockman HA, Ono S, Ross RS, Jones LR, Karimi M, Bhargava V, Ross J Jr, Chien KR.** (1994) Molecular and physiological alterations in murine ventricular dysfunction. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 91: 2694-8
56. **Rockman HA, Ross RS, Harris AN, Knowlton KU, Steinhilber ME, Field J, Ross J Jr, Chien KR.** (1991) Segregation of atrial-specific and inducible expression of an atrial natriuretic factor transgene in an in vivo murine model of cardiac hypertrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A.*; 88: 8277-81
57. **Roelandt JR.** (2000) Seeing the invisible: a short history of cardiac ultrasound. *Eur J Echocardiogr.*; 1: 8-11
58. **Roelandt JR** (2000) Seeing the heart; the success story of cardiac imaging. *Eur Heart J.*; 21: 1281-8
59. **Rohde LE, Ducharme A, Arroyo LH, Aikawa M, Sukhova GH, Lopez-Anaya A, McClure KF, Mitchell PG, Libby P, Lee RT** (1999) Matrix metalloproteinase inhibition attenuates early left ventricular enlargement after experimental myocardial infarction in mice. *Circulation*; 99: 3063-3070
60. **Roth DM, Swaney JS, Dalton ND, Gilpin EA, Ross J** (2002) Impact of anesthesia on cardiac function during echocardiography in mice. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*; 282: H2134-H2140
61. **Scherrer-Crosbie M, Steudel W, Ullrich R, Hunziker PR, Liel-Cohen N, Newell J, Zaroff J, Zapol WM, Picard MH.** (1999) Echocardiographic determination of risk area size in a murine model of myocardial ischemia. *Am J Physiol.*; 277: H986-92
62. **Schmidt AG, Kadambi VJ, Ball N, Sato Y, Walsh RA, Kranias EG, Hoit BD** (2000) Cardiac-specific overexpression of caldesmon results in left ventricular hypertrophy, depressed force-frequency relation and pulsus alternans in vivo. *J Mol Cell Cardiol.*; 32: 1735-44
63. **Schmidt AG, Gerst M, Zhai J, Carr AN, Pater L, Kranias EG, Hoit BD** (2002) Evaluation of left ventricular diastolic function from spectral and color M-Mode doppler in genetically altered mice. *J. Am. Soc. Echocardiogr.*; 15: 1056-1073

64. **Scorsin M, Hagege A, Vilquin JT, Fiszman M, Marotte F, Samuel JL, Rappaport L, Schwartz K, Menasche P** (2000) Comparison of the effects of fetal cardiomyocyte and skeletal myoblast transplantation on postinfarction left ventricular function. *J Thorac Cardiovasc Surg.*; 119: 1169-75
65. **Semeniuk LM, Kryski AJ, Severson DL** (2002) Echocardiographic assessment of cardiac function in diabetic db/db and transgenic db/db- hGLUT4 mice. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*; 283: H976-H982
66. **Semeniuk LM, Severson DL, Kryski AJ, Swirp SL, Molkentin JD, Duff HJ** (2003) Time-dependent systolic and diastolic function in mice overexpressing calcineurin. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*; 284: H425-H430
67. **Shioi T, Kang PM, Douglas PS, Hampe J, Yballe CM, Lawitts J, Cantley LC, Izumo S.** (2000) The conserved phosphoinositide 3-kinase pathway determines heart size in mice. *EMBO J.*; 19: 2537-48
68. **Statistisches Bundesamt**, Pressemitteilungen vom 13. Januar 2003
69. **Strauch OF, Stypmann J, Reinheckel T, Martinez E, Haverkamp W, Peters C.** (2003) Cardiac and ocular pathologies in a mouse model of mucopolysaccharidosis type VI. *Pediatr Res.*; 54: 701-8
70. **Stypmann J, Gläser K, Roth W, Tobin D J, Petermann I, Matthias R, Mönning G, Haverkamp W, Breithardt G, Schmahl W, Peters C, Reinheckel T** (2002) Dilated cardiomyopathy in mice deficient for the lysosomal cysteine peptidase cathepsin L. *PNAS*; 99: 6234-6239
71. **Taffet GE, Hartley CJ, Wen X, Pham T, Michael LH, Entman ML** (1996) Noninvasive indexes of cardiac systolic and diastolic function in hyperthyroid and senescent mouse. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*; 270: H2204-2209
72. **Takuma S, Suehiro K, Cardinale C, Hozumi T, Yano H, Shimizu J, Mullis-Jansson S, Sciacca R, Wang J, Burkhoff S, Di Tullio MR, Homma S** (2001) Anesthetic inhibition in ischemic and nonischemic murine heart: comparison with conscious echocardiographic approach. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*; 280: H2364-H2370
73. **Tanaka N, Dalton N, Mao L, Rockman HA, Peterson KL, Gottshall KH, Hunter JJ, Chien KR, Ross JJ** (1996) Transthoracic echocardiography in models of cardiac disease in the mouse. *Circulation*; 94: 1109-1117
74. **Tarnavski O, McMullen JR, Schinke M, Nie Q, Kong S, Izumo S** (2004) Mouse cardiac surgery comprehensive techniques for the generation of mouse models of

- human diseases and their application for genomic studies. *Physiol. Genomics*; 16: 349-360
75. **Tiemann K, Weyer D, Djoufack C, Ghanem A, Lewalter T, Dreiner U, Meyer R, Grohe C, Fink KB** (2003) Increasing myocardial contraction and blood pressure in C57BL/6 mice during early postnatal development. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*; 284: H464-474
76. **Tsoporis JN, Marks A, Kahn HJ, Butany JW, Liu PP, O'Hanlon D, Parker TG** (1998) Inhibition of norepinephrine-induced cardiac hypertrophy in s100beta transgenic mice. *J Clin Invest.*; 102: 1609-16
77. **Ullrich R, Scherrer-Crosbie M, Bloch KD, Ichinose F, Nakajima H, Picard MH, Zapol WM, Quezado ZM** (2000) Congenital deficiency of nitric oxide synthase 2 protects against endotoxin-induced myocardial dysfunction in mice. *Circulation.*; 102: 1440-6
78. **Vandenbergh J** (1993) Historical Control Data of Toxicity Studies with S.P.F. Swiss Mice (CD-1). Janssen Research Foundation, Department of Toxicology, Janssen Pharmaceutica N.V., 2340 Beerse, Belgium
79. **Vatner DE, Yang G-P, Geng Y-J, Asai K, Yun JS, Wagner TE, Ishikawa Y, Bishop SP, Homcy CJ, Vatner SF** (2000) Determinants of the Cardiomyopathic Phenotype in Chimeric Mice Overexpressing Cardiac Gsa. *Circ. Res.*; 86: 802-806
80. **Weinstein DM, Mihm MJ, Bauer JA** (2000) Cardiac peroxynitrite formation and left ventricular dysfunction following doxorubicin treatment in mice. *J Pharmacol Exp Ther.*; 294: 396-401
81. **Weiss RE, Korcarz C, Chassande O, Cua K, Sadow PM, Koo E, Samarut J, Lang R** (2002) Thyroid hormone and cardiac function in mice deficient in thyroid hormone receptor- α or β : an echocardiograph study. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*; 283: E428-435
82. **Wessely R, Klingel K, Santana LF, Dalton N, Hongo M, Jonathan Lederer W, Kandolf R, Knowlton KU** (1998) Transgenic expression of replication-restricted enteroviral genomes in heart muscle induces defective excitation-contraction coupling and dilated cardiomyopathy. *J. Clin. Invest.*; 102: 1444-1453
83. **Williams RV, Lorenz JN, Witt SA, Hellard DT, Khoury PR, Kimball TR** (1998) End-systolic stress-velocity and pressure-dimension relationships by transthoracic echocardiography in mice. *Am J Physiol.*; 274: H1828-35

84. **Wild, K. Grundlagen der Farbdoppler-Sonographie** in K. Wild: Sonographie der peripheren Gefäße. In: Braun, Günther, Schwerk: Ultraschalldiagnostik. Ecomed, Landsberg, Deutschland
85. **Yang X-P, Liu Y-H, Rhaleb N-E, Kurihara N, Kim HE, Carretero OA** (1999) Echocardiographic assessment of cardiac function in conscious and anesthetized mice. *Am. J. Physiol.*; 277: H 1967-1974
86. **Youn H, Rokosh G, Lester S, Simpson P, Schiller N, Foster E** (1999) Two-dimensional echocardiography with a 15 MHz transducer is a promising alternative for in vivo measurements of left ventricular mass in mice. *J. Am. Soc. Echocardiogr.*; 12: 70-75
87. **Zhai J, Schmidt AG, Hoit BD, Kimura Y, MacLennan DH, Kranias EG** (2000) Cardiac-specific overexpression of a superinhibitory pentameric phospholamban mutant enhances inhibition of cardiac function in vivo. *J Biol Chem.*; 275: 10538-44
88. **Zhou YQ, Foster FS, Qu DW, Zhang M, Harasiewicz KA, Adamson SL** (2002) Applications for multifrequency ultrasound biomicroscopy in mice from implantation to adulthood. *Physiol Genomics.*; 10: 113-26
89. **Zvaritch E, Backx PH, Jirik F, Kimura Y, Leon de S, Schmidt AG, Hoit BD, Lester JW, Kranias EG, MacLennan DH** (2000) The transgenic expression of highly inhibitory monomeric forms of phospholamban in mouse heart impairs cardiac contractility. *J. Biol. Chem.*; 275: 14985-14991

7 Abkürzungen

Ao PGmax	maximaler Druckgradient über der Aortenklappe
AoPGmean	mittlerer Druckgradient über der Aortenklappe
Ao R-R	Abstand der R-Zacken im EKG
AoV	Durchmesser der Aortenwurzel
AoVmax	maximaler Fluß durch die Aortenklappe
asc.	ascendens
A-Welle	spätdiastolischer transmitraler Fluß
B	Breite
bpm	Schläge pro Minute (engl.: beats per minute)
CI	Herzindex (Cardiac Index)
CO	Herzminutenvolumen (Cardiac Output)
CW	kontinuierliche Dopplertechnik
desc.	descendens
db	Dezibel
EDV	enddiastolisches Volumen
E-Welle	frühdiaastolischer transmitraler Fluß
FS	Verkürzungsfraktion des linken Ventrikels (engl.: fractional shortening)
HF	Herzfrequenz
HF aus Ao R-R	aus Ao R-R errechnete HF
HMV	Herzminutenvolumen
Hz	Hertz
IVS	Durchmesser des interventrikulären Septums
KG	Körpergewicht
KHz	Kilohertz
LA	Durchmesser des linken Vorhofs (engl.: left atrium)
L	Länge
li	links
LV	linker Ventrikel
LV- EF	Ejektionsfraktion/Auswurffraktion des linken Ventrikels
LVEDD(mm)	linksventrikulärer enddiastolischer Durchmesser
LVESD(mm)	linksventrikulärer endsystolischer Durchmesser

LVET	linksventrikuläre Auswurfzeit (engl.: ejection time)
LV-Länge	Länge des linken Ventrikels
LV-Mass	Masse des linken Ventrikels
LV-Mass-Index	LV-Mass pro g der Maus
LVMe	echokardiographisch ermittelte linksventrikuläre masse
LVOT	Durchmesser des linksventrikulären Ausflusstrakts
MHz	Megahertz
min	Minuten
MV A-Welle	maximale Flußgeschwindigkeit der A-Welle über der Mitralklappe
MV E-Welle	maximale Flußgeschwindigkeit der E-Welle über der Mitralklappe
MV E/A-Ratio	Verhältnis von E- zu A-Welle
MVPGmax	maximaler Druckgradient über der Mitralklappe
MVPGmean	mittlerer Druckgradient über der Mitralklappe
MV Vmax	maximale Flußgeschwindigkeit über der Mitralklappe
N	Anzahl der Versuchstiere
p	statistische Wahrscheinlichkeit
PW	gepulste Dopplertechnik (engl.: pulsed wave)
PWEDD	enddiastolischer Durchmesser der posterioren linksventrikulären Wand
r	Korrelationskoeffizient
re	rechts
RV	Durchmesser des rechten Ventrikels
SV	Schlagvolumen
u.	und
U-Datum	Untersuchungsdatum
Vmax Aorta asc	maximale Flußgeschwindigkeit über der Aorta ascendens
Vmax Aorta desc	maximale Flußgeschwindigkeit über der Aorta descendens

Allgemein übliche Abkürzungen und SI-Einheiten finden hier keine Berücksichtigung.

8 Lebenslauf

Persönliche Daten

Schulbildung

Studium

berufliche Tätigkeit

9 Danksagungen

Danken möchte ich Herrn Univ.-Prof. Dr. med. G. Breithardt für die Überlassung des interessanten Themas und die Bereitstellung der hervorragenden Arbeitsbedingungen.

Herrn Dr. med. J. Stypmann danke ich für die exzellente Betreuung, die außerordentlich gute Einarbeitung in die Echokardiographie der Maus und die stete Hilfestellung bei Fragen und Problemen während der Erstellung der Dissertation.

Herrn Prof. Dr. med. vet. Richter, dem Leiter der zentralen tierexperimentellen Einrichtung der Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität danke ich für die Unterstützung im Umgang mit den Versuchstieren. Ebenso danke ich den Tierpflegern für die gute Zusammenarbeit.

Danken möchte ich besonders auch meinen Eltern, die mir durch ihre Unterstützung den erfolgreichen Abschluss des Studiums und der Promotion ermöglicht haben.

Meinen Freunden Dr. med. I. Rudolf und Frau Dr. med. C. Hüer danke ich für die Hilfe bei der Auswahl der Dissertation.

Abschließend danke ich meinem Freund Martin Heide für die Durchsicht des Manuskriptes und immer wieder aufmunternde Worte und Motivationshilfen während der Erstellung der Arbeit, sowie seine wunderbare Geduld und stets vorhandene Bereitschaft zur Hilfe bei der Lösung jeglicher Computer- und sonstiger Probleme.



Bezirksregierung Münster

Bezirksregierung Münster, 48128 Münster

Gegen Empfangsbekanntnis

Herrn
Dr. med. Jörg Stypmann
Medizinische Klinik und Poliklinik
- Innere Medizin C (Kardiologie und
Angiologie)
der Westf. Wilhelms-Universität Münster
Albert-Schweitzer-Str. 33

Dienstgebäude
Domplatz 1-3
Telefon: (0251) 411-0
Durchwahl: 2110
Zimmer: 431
Frau Möllers

Aktenzeichen
23.0835.1.0 (G 41/99)

15. April 1999

48149 Münster

Betr.: Tierschutz;
hier: Durchführung von Versuchen an Wirbeltieren

Bezug: Ihr Antrag vom 05.03.1999

G e n e h m i g u n g s b e s c h e i d :

Sehr geehrter Herr Dr. Stypmann,

gemäß § 8 Tierschutzgesetz (TierSchG) in der Fassung der Bekanntmachung vom 25. Mai 1998 (BGBl. I. S. 1105) wird Ihnen die Genehmigung zur Durchführung nachstehenden Versuchsvorhabens erteilt:

Doppler-Echokardiographie und abdominelle Sonographie bei Wildtyp-Mäusen zur Erstellung von Normalwerten auf der Ultraschallplattform HP Sonos 5500 für zukünftige Untersuchungen an transgenen Mäusen. Validierung der Meßwerte mittels Nekrotomie.

Leiter des Versuchsvorhabens und sein Stellvertreter sind:

Herr
Dr. med. Jörg Stypmann
Medizinische Klinik und
Poliklinik
- Innere Medizin C - der
Westf. Wilhelms-Universität
Albert-Schweitzer-Str. 33

48149 Münster

Herr
Dr. med. Wilhelm Haverkamp
Medizinische Klinik und
Poliklinik
- Innere Medizin C - der
Westf. Wilhelms-Universität
Albert-Schweitzer-Str. 33

48149 Münster

Grünes Umweltschutztelefon: (0251) 411-3300
e-mail: poststelle@bezreg-muenster.nrw.de • X-400: C=de, A=dbp, P=dvs-nrw, O=bezreg-muenster, S=poststelle • Telefax (0251) 411-2525
Konten der Regierungshauptkasse Münster:

Landeszentralbank Niederlassung Münster BLZ: 400 000 00 Konto: 40 001 520
Westdeutsche Landesbank Girozentrale Münster BLZ: 400 500 00 Konto: 61 820

Öffentliche Verkehrsmittel - Buslinien 1, 3, 6, 17 bis Haltestelle Prinzipalmarkt und 2, 10, 11, 14, 21, 64 bis Domplatz

Diese Genehmigung gilt bis zum 31.10.1999.

Zur Durchführung des Versuchsvorhabens dürfen folgende Tiere verwendet werden:

100 Mäuse.

Auflagen:

Mit dem Versuchsvorhaben darf erst nach Vorliegen dieser Genehmigung begonnen werden.

Sofern der Leiter des Versuchsvorhabens oder sein Stellvertreter wechselt, ist mir dieser Wechsel unverzüglich anzuzeigen.

Diese Genehmigung wird zurückgenommen, wenn bei der Erteilung die Voraussetzungen nach § 8 Abs. 3 TierSchG nicht gegeben waren.

Sie wird widerrufen, wenn die Voraussetzungen nach § 8 Abs. 3 TierSchG nicht mehr gegeben sind und dem Mangel nicht innerhalb einer von mir zu bestimmenden Frist abgeholfen wird; sie kann widerrufen werden, wenn ihre Bedingungen und Auflagen nicht erfüllt werden oder den Vorschriften des § 9 Abs. 2 TierSchG wiederholt oder grob fahrlässig zuwidergehandelt worden ist.

Ein Antrag auf Verlängerung der Genehmigung ist rechtzeitig vor Ablauf der Frist bei mir zu stellen.

Das das Versuchsvorhaben überwiegend im öffentlichen Interesse erfolgt, wird von der Erhebung einer Verwaltungsgebühr Abstand genommen.

Rechtsbehelfsbelehrung:

Gegen diesen Bescheid kann innerhalb eines Monats nach Bekanntgabe Widerspruch erhoben werden. Der Widerspruch ist bei mir unter der oben genannten Anschrift schriftlich oder zur Niederschrift einzureichen.

Sollte die Frist durch das Verschulden eines von Ihnen Bevollmächtigten versäumt werden, so würde dessen Verschulden Ihnen zugerechnet werden.

Mit freundlichen Grüßen
Im Auftrag

P. W.

Dr. Piontkowski