

Aus dem Veterinär-Physiologisch-Chemischen Institut  
der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

**Blutdruckmessungen als Gesundheitsmonitoring beim Weißbüschelaffen  
(*Callithrix jacchus*)**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Grades eines  
Doctor medicinae veterinariae (Dr. med. vet.)  
durch die Veterinärmedizinische Fakultät  
der Universität Leipzig

eingereicht von

Matthias Mietsch

aus Dresden

Leipzig, 2017

Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

**Dekan:** Prof. Dr. Walter Brehm

**Betreuer:** Prof. Dr. Almuth Einspanier

**Gutachter:** Prof. Dr. Almuth Einspanier

Veterinär-Physiologisch-Chemisches Institut  
der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

**Prof. Dr. Gerhard Weinbauer**  
Covance Laboratories GmbH Münster

**Tag der Verteidigung: 20.06.2017**

*Meiner Familie*

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Literaturübersicht</b>	<b>3</b>
2.1	Nutzung des Weißbüschelaffen in der Forschung	4
2.2	Erkrankungen	6
2.3	Blutdruck	8
2.4	Einflussfaktoren auf Blutdruckwerte	10
2.4.1	Alter	10
2.4.2	Geschlecht	11
2.4.3	Körpergewicht	11
2.4.4	Weitere	12
2.5	Blutdruckmessmethoden	13
2.6	Blutdruckprotokolle	15
2.7	Blutdruck und Weißbüschelaffen	16
<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>18</b>
3.1	Publikation 1	18
3.2	Publikation 2	29
<b>4</b>	<b>Diskussion</b>	<b>43</b>
4.1	Pilotstudie	44
4.1.1	Messlokalisierung	44
4.1.2	Zeitpunkt der Messung	45
4.1.3	Messzeit und Reproduzierbarkeit	47
4.2	Hauptstudie- Blutdruckwerte der Kolonie	49
4.2.1	Einfluss der Faktoren Alter, Gewicht und Geschlecht auf den Blutdruck	51
4.2.2	Einfluss der Faktoren Geschlecht und Alter auf die Messdauer	53
4.2.3	Artefakte	55
4.2.4	Fallbeispiele	56
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>59</b>
<b>6</b>	<b>Summary</b>	<b>61</b>
<b>7</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>63</b>
<b>8</b>	<b>Anhang</b>	<b>78</b>

8.1	Abstract zu einem Vortrag vorgestellt auf dem 52nd Annual Meeting of the Society for Laboratory Animal Science GV-SOLAS and 15th Advanced Training Course of the IGTP, Frankfurt am Main, 10.-12.09.2014	78
8.2	Abstract zu einem Vortrag vorgestellt auf dem 3. Leipziger Doktorandenforum, 11.10.2014, Leipzig	80
8.3	Abstract zu einem Vortrag vorgestellt auf dem Kongress 14th Conference of the Gesellschaft für Primatologie, Leipzig, 11.-13.02.2015	82
<b>9</b>	<b>Danksagung</b>	<b>84</b>

## Abkürzungsverzeichnis

---

### Abkürzungsverzeichnis

ACVIM	American College of Veterinary Internal Medicine
ADH	Adiuretin/ Antidiuretisches Hormon
bspw.	beispielsweise
cm	Zentimeter
DAD	Diastolischer arterieller Blutdruck
EKG	Elektrokardiogramm
evtl.	eventuell
g	Gramm
HDO	High-Definition Oszillometrie
MAD	Mittlerer arterieller Blutdruck
min	Minuten
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
n	Anzahl
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron System
SAD	Systolischer arterieller Blutdruck
v.a.	vor allem
WMS	Wasting marmoset syndrome
z.B.	zum Beispiel
z.T.	zum Teil
%	Prozent

# Einleitung

## 1 Einleitung

Angesichts des kontinuierlich steigenden Durchschnittsalters der Bevölkerung, verbunden mit dem vermehrten Auftreten verschiedener Erkrankungen, spielt deren rechtzeitige Erkennung und Behandlung eine immer wichtigere Rolle. Ähnlich wie beim Menschen nimmt auch bei unseren Haussäugetieren die Erkrankungsrate beispielsweise (bspw.) von Adipositas, metabolischen Störungen und auch Herzkrankheiten stetig weiter zu. Dadurch entsteht auch in der Veterinärmedizin ein kontinuierlich steigender Bedarf an Möglichkeiten zur Gesunderhaltung alternder Tiere (BARTGES 2012, GERMAN 2006).

Dem Weißbüschelaffen (*Callithrix jacchus*) kommt in diesem Zusammenhang eine besondere Bedeutung zu. Einerseits erfreut sich dieser kleine Primat in Privathand großer Beliebtheit. Verbesserungen in seiner Unterbringung, einhergehend mit ständig aktualisierten Haltungs- und Fütterungsempfehlungen, führten dazu, dass diese Tiere nun deutlich älter werden als in freier Wildbahn (JENNINGS et al. 2009, LAYNE und POWER 2003, LUTZ und NOVAK 2005, NISHIJIMA et al. 2012, TARDIF et al. 2013). Andererseits ist die Relevanz des Weißbüschelaffen für die Wissenschaft in den vergangenen Jahrzehnten deutlich gestiegen. Während sich sein Einsatz vor 40 Jahren noch auf wenige Forschungsgebiete konzentrierte, ist er nun ein etabliertes Tiermodell in verschiedensten Bereichen und lebt zum Teil (z.T.) auch dadurch bedingt deutlich länger als früher (MANSFIELD 2003, NISHIJIMA et al. 2012).

Sowohl der umfangreiche und vermutlich in Zukunft noch weiter steigende wissenschaftliche Stellenwert dieser Primatenart als auch deren höhere Lebenserwartung erfordern ein geeignetes Kolonienmanagement inklusive möglichst umfassender und nicht-invasiver Gesundheitsüberwachung. Insbesondere die Tatsache, dass bei Weißbüschelaffen mit steigendem Alter häufig Herz-Kreislauf- und Nierenveränderungen auftreten, stellt eine Herausforderung dar (ROSS et al. 2012). Blut- und Urinmengen für umfangreiche Analysen sind aufgrund der Körpergröße der Tiere begrenzt und Herzultraschall ist bisher nur am anästhesierten Tier etabliert.

Zur nicht-invasiven Datengewinnung und Erhebung des Gesundheitsstatus könnte hier die Blutdrucküberwachung genutzt werden. Der Blutdruck gilt dabei als hinweisend für verschiedene Krankheiten und kann erstes Indiz für das Vorliegen einer ernsthaften Störung sein (EGNER et al. 2007).

## Einleitung

Allerdings existieren im Gegensatz zu Mensch, Nagern und anderen Tierarten bei Weißbüschelaffen für den Blutdruck weder Messprotokolle noch verlässliche Referenzwerte. Ebenso ist von anderen Spezies bereits bekannt, dass Gewicht, Geschlecht und Alter z.T. bedeutenden Einfluss auf das Herzkreislaufsystem haben. Bisher ist jedoch unklar, inwieweit sich diese Parameter beim Weißbüschelaffen auf den Blutdruck auswirken (BODEY und MICHELL 1996, BODEY und SANSOM 1998).

Die zentralen Fragen, die mit Hilfe dieser Studie geklärt werden sollten, sind daher folgende:

1. Lässt sich ein standardisiertes Protokoll zur Blutdruckmessung beim Weißbüschelaffen erarbeiten und unterscheidet sich dieses eventuell (evtl.) zu anderen Tierspezies?
2. Was sind physiologische und pathologische Blutdruckwerte von Weißbüschelaffen? Welchen Einfluss haben Alter, Gewicht und Geschlecht auf den Blutdruck?
3. Welche Aussagekraft haben veränderte Werte bzw. wie klinisch relevant sind abweichende Blutdruckdaten in dieser Tierspezies?

Zur Klärung dieser Fragen sollte zunächst ein praxistaugliches Blutdruck-Messprotokoll etabliert (Publikation 1) und anschließend physiologische Einflussfaktoren auf den Blutdruck näher charakterisiert werden (Publikation 2). Zusätzlich wurden die während der Blutdruckmessungen auffälligen Tiere weiter untersucht, um die zugrundeliegenden Ursachen festzustellen und damit den klinischen Wert des Parameters Blutdruck bestimmen zu können.

Die Bereitstellung eines Messprotokolls zur Gewinnung von Blutdruckdaten inklusive der Definition von Referenzwerten und der Ermittlung maßgeblich beeinflussender Parameter im Rahmen der vorliegenden Arbeit soll zur Optimierung der Gesunderhaltung von Weißbüschelaffen beitragen. Entsprechende wissenschaftliche Fragestellungen können durch die Möglichkeit einer standardisierten Datenerhebung eingehender beleuchtet werden und somit die Forschungsqualität zukünftiger Studien verbessern.



## Literaturübersicht

### 2 Literaturübersicht

Seinen Namen verdankt der aus der Gruppe der Neuweltaffen (*Platyrrhinae*) stammende Weißbüschelaffe (*Callithrix jacchus*) seinen deutlichen weißen Haaren um die Ohren. Weiterhin zeichnen ihn sein graubraun gestreiftes Fell und der 20 - 30 cm lange Schwanz aus. Ausgewachsene Tiere erreichen eine Körpergröße von ca. 20 - 25 cm (Scheitel-Steiß-Länge) bei einem durchschnittlichen Gewicht von 350 - 400 g (TARDIF et al. 2013). Tiere in menschlicher Obhut zeigen generell höhere Gewichte als in freier Wildbahn, wobei Jungtiere im Wachstum (bis ca. 14 Monaten) und alte Tiere (ab 6 Jahren) leichter sind (ARAUJO et al. 2000). Ein ausgeprägter Geschlechtsdimorphismus existiert bei dieser Tierart nicht.



**Abbildung 1: Weißbüschelaffen  
(*Callithrix jacchus*)**

Wie alle Vertreter der Krallenaffen (*Callitrichidae*) besitzt auch der Weißbüschelaffe an allen Fingern und Zehen (mit Ausnahme der Großzehe) Krallen (CASTELEYN et al. 2012). Zusammen mit den meißelartigen Schneidezähnen ist er damit optimal an eine baumbewohnende Lebensweise in den Regen- und Küstenwäldern Brasiliens angepasst (SCANLON et al. 1988), wobei er heutzutage auch in Steppen und sogar in menschlichen Siedlungen anzutreffen ist. Als geschickter Kletterer gelangt er problemlos an die Rinde von Kautschukbäumen, die er annagt, um den austretenden Saft abzulecken. Neben diesen Baumexsudaten ernähren sich Weißbüschelaffen jahreszeitlich abhängig hauptsächlich von reifen Früchten und Insekten (SCHRÖPEL 2010).

Sie leben in kleinen Familiengruppen unterschiedlichen Verwandtschaftsgrades zusammen. Üblicherweise finden Paarungen lediglich zwischen dem dominanten Elternpärchen statt, obwohl auch polygames Verhalten und gelegentliche Kopulationen mit gruppenfremden Tieren beobachtet werden können (NIEVERGELT et al. 2000, YAMAMOTO et al. 2014).

Der reproduktive Zyklus des Weißbüschelaffenweibchens beträgt ca. 28 Tage. Nach einer Tragezeit von durchschnittlich 144 Tagen kommen unter Mithilfe anderer Familienmitglieder

## Literaturübersicht

in den Nachtstunden die Nachkommen zur Welt. Die Wurfgröße bei Weißbüschelaffen ist variabler als bei anderen Affenarten. Zwar werden häufig Zwillinge geboren, aber auch Einlings- sowie bis zu Vierlingsgeburten können vorkommen (ASH und BUCHANAN-SMITH 2014). Die ersten Wochen verbringen die Neugeborenen dann ans Fell der Eltern geklammert, wobei sich vor allem (v.a.) der Vater am Tragen der Kinder beteiligt (TARDIF et al. 1986). Die Mutter kann wegen fehlender Geburtsanöstrie sofort wieder schwanger werden. Alle Gruppenmitglieder sind in die Aufzucht der Jungtiere involviert. Trotz des Erreichens der Geschlechtsreife mit etwa 12 - 15 Monaten, bleibt der Nachwuchs üblicherweise mehrere Jahre in der Familiengruppe (ABBOTT et al. 2003). Während die Tiere in freier Wildbahn ca. 6 - 8 Jahre alt werden, erreichen sie in menschlicher Obhut ein durchschnittliches Alter von 10 - 12 Jahren, wobei die maximale Lebenserwartung mittlerweile sogar auf bis zu 22 Jahre gestiegen ist (NISHIJIMA et al. 2012, TARDIF et al. 2003, TARDIF et al. 2003).

### **2.1 Nutzung des Weißbüschelaffen in der Forschung**

Dem Weißbüschelaffen kommt für die Wissenschaft eine besondere Bedeutung zu. Er stellt heutzutage neben dem Javaner- und dem Rhesusaffen die wichtigste Primatenspezies in der Forschung dar (ABBOTT et al. 2003), begründet durch einige einzigartige Besonderheiten:

Seine hohe Fruchtbarkeit und das frühe Eintreten in die Geschlechtsreife ermöglichen eine schnelle Nachzucht dieser Spezies für wissenschaftliche Studien (TARDIF et al. 2008). Durch ein dem Menschen ähnliches Fortpflanzungssystem eignet er sich insbesondere als Modelltier in der Reproduktionsphysiologie und -pathologie (ARNOLD et al. 2011, EINSPANIER et al. 2006, MANSFIELD 2003).

Durch den mit der kleinen Körpergröße einhergehenden geringen Platz-, Futter- und Medikamentenverbrauch eignet sich der Weißbüschelaffe auch für pharmakotoxikologische Studien (HORII et al. 2002, MICHEL et al. 1984, SMITH et al. 2001). Aufgrund von hämatopoetischem Chimärismus bringen Weißbüschelaffen immunologisch identische Zwillinge zur Welt. Indem man einem der Geschwistertiere eine Testsubstanz verabreicht, können die Effekte mit dem unbehandelten Geschwisterkind unter gleichem genetischen Hintergrund verglichen werden (MANSFIELD 2003). Der Weißbüschelaffe zeigt zudem eine

## Literaturübersicht

größere phylogenetische Verwandtschaft zum Menschen als zum Beispiel (z.B.) Hund oder Maus, was sich in einer einzigartigen Empfänglichkeit für humanrelevante Erkrankungen widerspiegelt (KISHI et al. 2014, OKANO et al. 2012). Dies macht ihn zu einem geeigneten Modelltier in der Erforschung von Infektionserkrankungen und der Entwicklung entsprechender Therapeutika. Dass im Gegensatz zu Makaken Zoonosen (wie z. B. Herpes B-Infektionen) nicht auftreten, erleichtert gleichzeitig den Umgang mit diesen Tieren unter Gesichtspunkten des Arbeitsschutzes (ABBOTT et al. 2003).

Im Bereich der Stammzellforschung verspricht die erste Gewinnung von Embryonalzellen aus Weißbüschelaffen (DEBOWSKI et al. 2016, MULLER et al. 2009) Möglichkeiten zur Untersuchung neurodegenerativer Erkrankungen wie Parkinson, Amyotropher Lateralsklerose und mentaler Störungen wie Schizophrenie oder Autismus (KISHI et al. 2014). Zeitgleich stellen die erfolgreiche Genotypisierung und die zurzeit stattfindende Etablierung transgener Tiere wissenschaftliches Potential zur Erforschung diverser Krankheiten dar (SATO et al. 2015).

In den letzten Jahren rückte der Weißbüschelaffe zudem vermehrt in den Fokus der Erforschung von Alterskrankheiten: Neben der Untersuchung der physiologischen Alterungsprozesse im Gehirn sind hier natürlich auftretende Pathologien wie Plaqueablagerungen (Beta-Amyloid) im Nervensystem, Knorpelalterungsprozesse, Arthritis und Hörverlust zu nennen (BERKOVITZ und PACY 2000, BERNICK et al. 1980, GEULA et al. 2002, HARADA et al. 1999).

Daneben eignet sich der Weißbüschelaffe auch zur Untersuchung von Stoffwechselerkrankungen: Er entwickelt sowohl spontan als auch induziert (viral, fetal oder durch hochkalorische Diäten ausgelöst) Übergewicht (T HART et al. 2012, TARDIF et al. 2009). Durch Ähnlichkeiten im Aufbau der Apolipoproteine kann der Weißbüschelaffe für Untersuchungen des menschlichen Lipoproteinmetabolismus herangezogen werden (BUCHWALD et al. 2012, CROOK et al. 1990). Die Tatsache, dass die an der Metabolisierung von Medikamenten, Vitaminen und Hormonen beteiligten Cytochrom p450 Enzyme des Weißbüschelaffen eine im Vergleich zu Nagetieren oder Hunden hohe Analogie zu denen des Menschen besitzen (IGARASHI et al. 1997, UEHARA et al. 2016), machen ihn ebenfalls für metabolische Studien interessant.

## Literaturübersicht

Auch im Bereich der Herzkreislaufforschung ist der Weißbüschelaffe etabliert: Der Untersuchung der Effekte von atherogenen Diäten auf das Herzkreislaufsystem (CHARNOCK und POLETTI 1994, DREIZEN et al. 1973) schlossen sich Studien zu kardiovaskulären Effekten von Vasodilatoren wie bspw. Minoxidil (HANTON et al. 2008) oder der Beeinflussung von Elektrokardiogramm (EKG)-Werten durch Medikamente wie Moxifloxacin (KOMATSU et al. 2010) an. In den vergangenen Jahren erweiterten Erkenntnisse über die Herzmorphologie (SENOS et al. 2014), EKG-Werte (GIANNICO et al. 2013, HORII et al. 2002, KOMATSU et al. 2010) und Ultraschall (HANTON 2006) unser Wissen über das Herzkreislaufsystem dieses Primaten und legten damit Ähnlichkeiten zum Menschen nahe.

## 2.2 Erkrankungen

Ein ausführliches und regelmäßiges Koloniamonitoring ist eine essentielle Voraussetzung für die rechtzeitige Erkennung und Behandlung typischer bei Weißbüschelaffen auftretender Erkrankungen sowie die Gesunderhaltung der Forschungs- und Zuchtkolonien.

Die gesteigerte Lebenserwartung der Tiere in menschlicher Obhut führt zu einem gehäuften Vorkommen der damit einhergehenden Krankheiten: Während junge Tiere meist an Traumata, Inflammatory bowel disease (einer chronisch-entzündlichen Erkrankung des Verdauungstraktes), Sepsis, Magen-Darm- sowie Leber- und Niereninfektionen versterben und wenig Herzkreislauferkrankungen aufweisen (CHAMANZA et al. 2006), sind alte Tiere hauptsächlich von anderen Erkrankungen betroffen: Bei ihnen treten neben Neoplasien (v.a. Adenokarzinome des Dünndarmes oder Lymphome) chronische Nierenerkrankungen, Amyloidosen und Kardiomyopathien auf (ROSS et al. 2012, TARDIF et al. 2011).

Die Nierenveränderungen, einhergehend mit Polyurie, Polydipsie, Gewichtsverlust und Anorexie, spiegeln sich morphologisch in chronisch interstitiellen Nephritiden, Amyloidosen und Glomerulonephropathien wider. Während bei jungen Tieren in 6 % der Todesfälle Nephritiden die zugrundeliegende Krankheit darstellen, steigt diese Zahl bei alten Tieren auf bis zu 18 % (ROSS et al. 2012). Doch selbst bei Tieren, die aufgrund anderer Grunderkrankungen sterben, zeigen 75 % aller Weißbüschelaffen über 8 Jahre Nierenpathologien unterschiedlichen Schweregrades (TARDIF et al. 2011).

## Literaturübersicht

Bei den Herzveränderungen steigt die Prävalenz von 1 % bei den unter 6 Jahre alten Tieren auf 14 % bei den älteren (ROSS et al. 2012). 60 % aller Weißbüschelaffen über 10 Jahre zeigen myokardiale Fibrosen und entzündliche Zellinfiltrate im Herzen. Diese können unter anderem das Risiko für narkosebedingte Arrhythmien oder auch Herzversagen erhöhen (TARDIF et al. 2011).

Daneben entwickeln viele Tiere ab 6 Jahren einen beginnenden Gewichtsverlust, der sich mit fortschreitendem Alter (> 8 Jahre) verstärkt. Dabei nimmt die Muskelmasse, besonders am Schwanzansatz und der Wade ab, während der Fettanteil weitgehend unverändert bleibt. Im Blut sinken im Alter Hämoglobin-, Hämatokrit- und Albuminwerte (TARDIF et al. 2009).

Wie auch andere Tierarten, entwickeln Weißbüschelaffen häufig in menschlicher Obhut Übergewicht. Sie zeigen Gewichtszunahmen im Zusammenhang mit Hypertriglyceridämien und Hyperglykämien, dabei trifft auf 7,8 % der Tiere die Definition des Metabolischen Syndroms zu. Zusätzlich lässt sich eine verstärkte Insulinresistenz mit fortschreitendem Alter nachweisen. 7 % der Weißbüschelaffen ab 6 Jahren sterben sogar an Diabetes (TARDIF et al. 2009).

Zusammenfassend legen diese Ergebnisse den Schluss nahe, dass Weißbüschelaffen generell ab ca. 6 - 8 Jahren metabolische Störungen entwickeln. Diese Erkenntnis ist besonders dahingehend von Bedeutung, als dass die für Altersstudien wichtigen Veränderungen wie verminderte kognitive Leistungen, Plaqueablagerungen im Gehirn, Knorpelschäden und Hörverlust erst ab ca. 6 - 8 Jahren beginnen und damit eine Überschneidung im zeitlichen Auftreten der gewünschten und der unerwünschten Alterserkrankungen auftritt.

Aufgrund dieser Bandbreite an Erkrankungen ist eine umfassende Gesundheitsüberwachung der Tiere wichtig. Auch im Sinne des 3 R-Tierschutzprinzips (Reduce, Replace, Refine) ist dies von Vorteil (RUSSELL und BURCH 1992): Der Einsatz neuer Diagnosemethoden und die verbesserte Überwachung der Tiere (z.B. während einer Allgemeinanästhesie oder als Teil eines standardmäßigen Kolonimanagements) führt im Sinne des „Refine“ durch frühzeitige Interventionsmöglichkeiten zur Verringerung der Belastung und des Leidens. Durch eine Standardisierung der Messmethoden wird einerseits die Varianz der Ergebnisse minimiert, andererseits können die Methoden besser auf andere Studien übertragen werden, was Ergebnisse reproduzierbarer macht und damit die benötigte Tierzahl langfristig reduzieren kann. Gleichzeitig können kranke Tiere so bereits schon vor Versuchsbeginn ausgeschlossen

## Literaturübersicht

werden und die Wahrscheinlichkeit des erfolgreichen Abschlusses der Studie ohne vorzeitige Verluste steigt (=“Reduce“).

### 2.3 Blutdruck

Die steigende Bedeutung von Weißbüschelaffen in der Forschung erfordert also auch ein möglichst umfassendes Verständnis ihrer biologischen Werte. Blutdruckbestimmungen als Gesundheitsmarker könnten in diesem Zusammenhang eine wichtige Rolle spielen.

Blutdruck wird standardmäßig definiert als das Produkt aus Herzminutenvolumen und peripherem Widerstand, wobei das Herzminutenvolumen durch die Herzfrequenz und das Schlagvolumen bestimmt wird.

Diese drei Größen werden auf unterschiedlichen Wegen durch verschiedenste Faktoren reguliert, um die Homöostase im Körper aufrechtzuerhalten. Neben einer kurzfristigen Regulation spiegeln besonders die langfristigen Regulationsmechanismen wichtige Veränderungen/ Krankheiten wider: Kurzfristig werden Herzfunktion und Gefäßtonus verändert, langfristig wird das Blutvolumen reguliert (SCHNEIDER 2011).

Die kurzfristige Regulation erfolgt auf nervalem oder humoralem Weg. Chemo- und Barorezeptoren im Gefäßbaum und Herzen registrieren Dehnungen sowie Veränderungen im CO<sub>2</sub>- und O<sub>2</sub>-Gehalt des Blutes und leiten diese Informationen an das Kreislaufzentrum weiter. Infolgedessen wird durch Anpassung von Herzfrequenz, Herzleistung und Gefäßtonus eine rasche Blutdruckadaptation erzielt. Ebenso tragen Katecholamine (Ausschüttung bei Stress, Aufregung oder Schmerzen) und gefäßaktive Substanzen wie z.B. Kinine zu einer schnellen Regulation bei (SCHMIEG 2002).

Im Gegensatz dazu erfolgt die langfristige Blutdruckregulation durch Veränderungen des Blutvolumens (SCHNEIDER 2011). Zu einem Großteil ist dafür die Niere verantwortlich, indem sie die Harnauscheidung steuert. Dies geschieht unter Beteiligung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS). Bei einer Blutdruckänderung (unter anderem bei Hypotonie, Vasokonstriktion, pathologischen Veränderungen) kommt es zur Freisetzung von Renin aus der Niere. Durch das Angiotensin-Converting-Enzym wird Angiotensinogen aus der Leber über Angiotensin I zu Angiotensin II umgewandelt. Letzteres zeigt ein breites Wirkungsspektrum: Als starker Vasokonstriktor verengt es die Gefäße und stimuliert

## Literaturübersicht

außerdem die Synthese von Aldosteron in der Nebenniere sowie die Freisetzung von Adiuretin (Antidiuretisches Hormon, ADH) aus der Neurohypophyse. Aldosteron fördert die Resorption von Natrium in der Niere, wodurch es zu einem passiven Rückfluss von Wasser und damit zur Volumenerhöhung kommt. ADH hingegen erhöht die Rückresorption von Wasser und steigert so das Blutvolumen. Daneben bewirkt Angiotensin II über eine Erhöhung des Durstgefühls eine indirekte Steigerung des Blutvolumens. Auf Seiten der blutdrucksenkenden Regulationsmechanismen ist des Weiteren noch das Atriale natriuretische Peptid (ANP) zu nennen, welches die glomeruläre Filtrationsrate erhöht und Renin, ADH und Aldosteron inhibiert (BUSSE 1995).

Neben Veränderungen am Herzen, die mit einer Einschränkung der Herzfunktion wie Kardiomyopathien, Ergüssen oder Herzklappeninsuffizienzen einhergehen können, beeinflussen auch endokrine und metabolische Erkrankungen den Blutdruck. So sind zum Beispiel Diabetes mellitus, Hyperadrenokortizismus, Hyperthyreose, Übergewicht, Gefäßveränderungen aber auch zahlreiche Nierenveränderungen (z.B. Niereninsuffizienzen, Entzündungen, Amyloidosen, Glomerulosklerosen) mit Blutdruckbeeinträchtigungen assoziiert (DAVY und HALL 2004).

Anhand der vielfältigen und eng zusammenhängenden Regulationsmechanismen des Blutdruckes in verschiedenen Organen, seiner Abhängigkeit von der Herzfunktion und dem Widerstand der peripheren Gefäße, wird ersichtlich, dass er als Marker für verschiedene pathologische Veränderungen herangezogen kann. Eine Blutdruckmessung eignet sich auch zur Therapiekontrolle von blutdruckbeeinflussenden Medikamenten und bei der Narkoseüberwachung während Operationen, in deren Zuge es gelegentlich zu akuten Hypotonien kommen kann.

Neben dem Einsatz in Forschungsstudien wie der Abschätzung langfristiger Effekte von Medikamenten auf das Herzkreislaufsystem oder als weiterer Parameter bei kardiologischen Fragestellungen dürfte sich die regelmäßige Blutdruckkontrolle auch für die generelle Kolonieüberwachung als nützlich erweisen.

## Literaturübersicht

### 2.4 Einflussfaktoren auf Blutdruckwerte

Neben endokrinen oder metabolischen Krankheiten wird der Blutdruck physiologischerweise vom Alter, Gewicht und Geschlecht eines Individuums bestimmt. Diese sollen im Folgenden betrachtet werden:

#### 2.4.1 Alter

Beim Menschen ist bereits bekannt, dass ein Zusammenhang zwischen Alter und Blutdruck existiert (CARRETERO und OPARIL 2000). Grundsätzlich sind v.a. Veränderungen der Gefäße durch physiologische Alterungsprozesse für einen steigenden Blutdruck im Laufe des Lebens verantwortlich. So zerstören z.B. aus der Umwelt aufgenommene Sauerstoffradikale die Endothelzellen der Gefäßwand. Die Reparaturen erfolgen statt mit den für die Gefäßelastizität wichtigen elastischen Fasern mit kollagenem Gewebe (BODEY und SANSOM 1998, QIU et al. 2007, UNGVARI et al. 2010). Außerdem kommt es im Laufe des Lebens vermehrt zu Ablagerungen von Calcium und - abhängig von Ernährung und Lebensweise - auch von Cholesterin. All diese Faktoren verringern die elastischen Eigenschaften der Gefäße und führen dadurch zu einem Blutdruckanstieg im Alter (BODEY und SANSOM 1998). So sind drei Phänomene in der Humanmedizin vorherrschend: die primäre, sekundäre und die systolische Hypertension. Bei der primären Hypertension entwickelt sich ein Bluthochdruck ohne erkennbare verursachende Krankheit. Davon abzugrenzen ist die sekundäre Hypertension, bei der eine Grundkrankheit (z.B. Nierenerkrankungen oder Diabetes) zu einer Erhöhung des Blutdruckes führt (ACIERNO und LABATO 2005, CARRETERO und OPARIL 2000). Als weiteres Blutdruckmuster existiert die systolische Hypertension, die sich durch eine Erhöhung lediglich der systolischen Werte auszeichnet, während der diastolische Blutdruck weitgehend unbeeinflusst bleibt (CARRETERO und OPARIL 2000).

Beim Menschen herrscht normalerweise folgende Altersentwicklung vor: Der systolische Blutdruck bleibt zunächst bis ins junge Erwachsenenalter (ca. 34 Jahre) stabil und steigt danach erst wenig, später steiler an. Beim diastolischen Blutdruck beobachtet man zunächst eine Erhöhung der Werte bis zur Mitte des Lebens (ca. 54 Jahre) und nach einem Plateau bis zum Alter von etwa 69 Jahren ein Abfallen des Blutdruckes (HSU et al. 1977).

Bei Haustieren existiert ein heterogeneres Bild hinsichtlich der Altersentwicklung. Während in einzelnen Studien bei Hund und Katze kein Blutdruckanstieg im höheren Alter beobachtet



## Literaturübersicht

werden konnte, zeigten größere epidemiologische Untersuchungen, dass der Blutdruck bei Hunden um ca. 1,3 - 2 mmHg/ Jahr und bei Katzen um ca. 1,5 mmHg/ Jahr zunimmt (BODEY und MICHELL 1996, MISHINA et al. 1998). Gründe dafür sind vermutlich, dass viele alternde Haustiere Krankheiten wie Niereninsuffizienzen und Diabetes entwickeln, die in einer Erhöhung der Blutdruckwerte mit steigender Progredienz der Erkrankung resultieren (STRUBLE et al. 1998).

### **2.4.2 Geschlecht**

Hinsichtlich Geschlechterunterschiede zeigten vorangegangene Studien geringfügig höhere Blutdruckwerte bei männlichen Individuen im Vergleich zu Weibchen (BODEY und MICHELL 1996). Früher führte man dies häufig auf die bei vielen Tierarten vorherrschenden Gewichtsunterschiede zwischen den Geschlechtern zurück. Neue Untersuchungen legen jedoch nahe, dass auch Geschlechtshormone eine bedeutende Rolle spielen. So beeinflussen sowohl männliche (hier v. a. Testosteron) als auch weibliche Hormone (besonders das Östrogen) auf verschiedenen Ebenen den Blutdruck (DUBEY et al. 2002). Hierbei gibt es sowohl direkte Effekte auf Herz-, Nieren- und Gefäßzellen (Umbau und Wachstum) als auch indirekte Wirkungen durch Beeinflussung humoraler Faktoren (Aktivierung von vasokonstriktorisches oder -dilatatorischen Faktoren; Beeinflussung von Rezeptoren). Während Testosteron am Herzen, in Nieren und Blutgefäßen eher hypertensiv wirkt, scheint Östrogen diesen Mechanismen entgegengesetzt zu agieren - unter anderem durch direkte Beeinflussung von Rezeptoren an den Blutgefäßen (DUBEY et al. 2002, KANG und MILLER 2002).

### **2.4.3 Körpergewicht**

Auch der Zusammenhang zwischen Blutdruck und Gewicht ist bereits bei mehreren Spezies bekannt (BODEY und MICHELL 1996, BODEY und SANSOM 1998). Dabei ist der Anstieg des Blutdruckes eng mit einer Zunahme an Körpergewicht verbunden. Der Grund dafür ist noch nicht vollständig aufgeklärt, aber es existieren mehrere Vermutungen: Das erhöhte Körpergewicht könnte u. a. zu einer erhöhten Herzauswurfleistung führen, weil eine stärkere Perfusion von Organen und Geweben inklusive des vermehrt vorhandenen Fettgewebes notwendig ist (HALL et al. 2003). Dies resultiert schlussendlich in Umbauvorgängen am

## Literaturübersicht

Herzen und in den Arterien. Zusätzliches im Herzen vorhandenes Fettgewebe kann zudem zu Zelluntergang und Fibrosen mit Beeinflussung der Herzaktion führen. Möglicherweise übt erhöhtes Gewicht auch Druck auf Organe inklusive die Nieren aus, was das RAAS-System aktiviert oder durch Kompression der Nieren zu Störungen im Wasserhaushalt führt. Eventuell führen bei Übergewicht auch eine Unterversorgung des Gewebes mit Sauerstoff und das übermäßige Vorhandensein von freien Fettsäuren im Körper zu einer Schädigung der Gefäße und des normalen Metabolismus. Als Ergebnis kommt es zu Blutdrucksteigerungen (DAVY und HALL 2004, HALL et al. 2003).

### 2.4.4 Weitere

Neben diesen drei individuellen Faktoren, spielen weitere Gesichtspunkte eine Rolle, die bei Blutdruckmessungen zu berücksichtigen sind. Einige sollen hier kurz erwähnt werden:

#### - Zirkadiane Rhythmik

Im Laufe des Tages kommt es bedingt durch Aktivitäts- und Ruhephasen sowie Fütterungen zu schwankenden Blutdruckwerten (BRAMLAGE et al. 2009, CASTRO et al. 2003, HORII et al. 2002, KOMATSU et al. 2010, SCHNELL und WOOD 1993).

#### - Blutdruckschwankungen 1./ 2./ 3. Ordnung

Verschiedenste körpereigene Mechanismen können unabhängig vom Messprotokoll zu kurzfristigen Veränderungen von Blutdruckwerten führen. Durch die physiologische Herzaktion mit der Abfolge von Systole und Diastole entstehen Blutdruckschwankungen 1. Ordnung. Die durch die Atmung bedingten intrathorakalen Druckänderungen und die Mitinnervation des Kreislaufzentrums durch das Atemzentrum führen zu synchron zur Atmung auftretenden Blutdruckschwankungen 2. Ordnung. Dies resultiert darin, dass bei Inspiration der Blutdruck leicht sinkt und bei Expiration steigt. Schwankungen 3. Ordnung entstehen durch Anpassungen des peripheren Gefäßtonus. Die beiden letztgenannten Muster (2. und 3. Ordnung) bewegen sich normalerweise in einer Größenordnung von ca. 5 mmHg (SCHEUNERT und TRAUTMANN 1987).

## Literaturübersicht

### - Psyche/ Erregung/ körperliche Anstrengung

Durch Erregung oder Stress sowie körperliche Anstrengung kommt es zur Ausschüttung von Katecholaminen, die zu einer Vasokonstriktion und damit Blutdruckerhöhung führen können (BUSSE 1995, EGNER et al. 2007).

### - Körperposition/- lage

Die Körperposition, in welcher der Blutdruck gemessen wird, beeinflusst durch entsprechende Druckveränderungen die Blutdruckwerte (BODEY und MICHELL 1997, RONDEAU et al. 2013). Je weiter entfernt vom Herzen die Messung erfolgt, desto höher ist der hydrostatische Druck auf die Blutgefäße und folglich der Blutdruck in diesem Bereich. Gängige Messprotokolle in der Human- und Veterinärmedizin empfehlen daher eine Messung auf Herzhöhe +/- 10 cm (EGNER 2006).

### - Größe der Blutdruckmanschette

Die Größe der Blutdruckmanschette hat einen entscheidenden Einfluss auf die Höhe der Blutdruckwerte. Zu große Manschetten haben eine zu breite Auflagefläche auf dem Blutgefäß und führen zu falsch niedrigen Werten, weil sich der Druck auf eine zu große Fläche verteilt. Zu kleine Manschetten hingegen üben einen zu starken punktuellen Druck auf das unter ihnen liegende Blutgefäß aus. Dies resultiert in falsch hohen Blutdruckwerten (HENIK et al. 2005).

## 2.5 Blutdruckmessmethoden

Zur Ermittlung des Blutdruckes existieren verschiedene Methoden, grundsätzlich lässt sich jedoch zwischen invasiver (direkter) und nicht-invasiver (indirekter) Technik unterscheiden. Bei invasiven Verfahren wird ein Katheter in ein Gefäß, z.B. die Femoralarterie, eingebracht und der Blutdruck über Druckwandler detektiert (KRAMER und REMIE 2005, MCMAHON et al. 2010, MILLER et al. 2000). Dieses Verfahren stellt aufgrund des unmittelbaren Messprinzips, der kontinuierlich möglichen Messung und seiner Genauigkeit derzeit den Goldstandard dar (KURTZ et al. 2005, MITCHELL et al. 2010). Allerdings limitieren die

## Literaturübersicht

Invasivität, das Risiko von chirurgischen Komplikationen sowie der kostentechnische und apparative Aufwand den Einsatz in der Praxis (RYSNIK et al. 2013).

Bei den nicht-invasiven Methoden existieren unterschiedliche Messverfahren. Alle beruhen aber darauf, dass der Blutfluss in den Gefäßen kurzzeitig mittels einer um eine Gliedmaße oder den Schwanz angebrachten Luftdruckmanschette unterbrochen wird und beim Ablassen der Luft der wiedereinsetzende Blutstrom erfasst wird. Bei den klassischen Methoden der palpatorischen und auskultatorischen Blutdruckmessung wird der wiedereinsetzende Blutfluss per Manometer oder per Stethoskop detektiert. Daneben haben sich in der Kleintiermedizin zunehmend technisierte Messmethoden etabliert: Die am meisten verbreitete unter ihnen ist die Oszillometrie, bei der das Schwingungsverhalten (Oszillationen) der Gefäßwände beim Ablassen des Luftdruckes aufgezeichnet wird. Die neueste Entwicklung in diesem Bereich stellt die sogenannte High-Definition-Oszillometrie (HDO) dar (EGNER 2009). Bei dieser Messmethodik erfolgen das Aufpumpen und Ablassen des Luftdruckes automatisch, sodass durch den Untersucher bedingte Fehlerquellen reduziert werden. Die Software zeichnet ein Bild über die Schwingungen der Arterienwand während des Ablassens der Luft auf, was die Beurteilung von Herzfrequenz, -rhythmus und Schlagvolumina sowie des Dehnungsverhaltens der Gefäße (arterielle Compliance) erlaubt (EGNER 2009, MITCHELL et al. 2010).

Weitere nicht-invasive Methoden sind zum einen die Dopplersonografie und zum anderen die Photoplethysmographie. Bei der Dopplersonografie werden die von einem Ultraschallgerät ausgesendeten und von den Erythrozyten reflektierten Ultraschallwellen detektiert und in akustische Signale umgewandelt. Bei der Photoplethysmographie wird die Absorption infraroter Strahlen durch die Erythrozyten aufgezeichnet (BINNS et al. 1995).

Obwohl indirekte Messmethoden im Allgemeinen eine höhere Ungenauigkeit im Vergleich zur direkten Blutdruckmessung aufweisen, haben die Nicht-Invasivität sowie die einfache und kostengünstige Durchführung dazu geführt, dass sich diese Messmethoden mittlerweile zum Standard in der Tiermedizin entwickelt haben (EGNER 2006).

## Literaturübersicht

### 2.6 Blutdruckprotokolle

Alter, Gewicht und Geschlecht sind nicht beeinflussbar und dementsprechend in die Auswertung der Studienergebnisse mit einzubeziehen. Abgesehen davon spielen die Standardisierung und Protokolletablierung eine wichtige Rolle, um Variationen von Werten zu minimieren und die gewonnenen Ergebnisse reproduzieren zu können. Für die Tiermedizin hat das American College of Veterinary Internal Medicine (ACVIM) 2007 Empfehlungen zur Durchführung der Blutdruckmessung bei Hund und Katze herausgegeben (BROWN et al. 2007). Diese Empfehlungen beinhalten neben der Nutzung einer standardisierten Messmethode die Schaffung einer angenehmen Messumgebung und die Akklimatisierung der Tiere vor Messbeginn, um aufregungsbedingte Artefakte zu reduzieren. Zusätzlich sollen die Tiere in eine einheitliche Körperposition gebracht und Abweichungen davon vermerkt werden, da es bei unterschiedlichen Positionen aufgrund veränderter Druckverhältnisse im Körper zu Messwertverfälschungen kommen kann (BODEY et al. 1996). Das gleiche gilt für das Anbringen der Messmanschetten: Die Verwendung von geeigneten Manschettengrößen und die immer gleiche Anbringung an derselben Körperstelle (bei Hund und Katze üblicherweise am Schwanz oder Bein, bei Mäusen und Ratten am Schwanz) schließen falsche Werte durch unterschiedliche Druckverhältnisse aus. Um die physiologischen Schwankungen des Blutdrucks durch Inspiration/ Expiration, Veränderungen im Gefäßtonus oder plötzliche Aufregung zu minimieren, soll eine Anzahl von mindestens 3 - 7 Messungen durchgeführt werden (BROWN et al. 2007, EGNER 2006). Zusätzlich sind alle Angaben genauestens zu protokollieren, damit bspw. der Einfluss von Tageszeit oder Umgebungstemperatur mit berücksichtigt werden kann.

All diese Anforderungen sind an die Messungen bei allen Tierarten zu stellen. Allerdings existieren für Weißbüschelaffen bisher weder solchen Empfehlungen, noch sind in der bisherigen Literatur einheitliche Messmethoden angewendet bzw. angegeben worden, was die Vergleichbarkeit der erhaltenen Werte erschwert.

## Literaturübersicht

### 2.7 Blutdruck und Weißbüschelaffen

Zur Beurteilung von Blutdruckwerten sind genaue Kenntnisse über physiologische und pathologische Werte notwendig. Der Einfluss von individuellen (Alter, Geschlecht, Körpergewicht) als auch methodischen (Messlokalisierung, Messdauer, Tageszeit etc.) Einflussfaktoren ist beim Weißbüschelaffen bisher weitestgehend unbekannt. Es existiert lediglich eine Studie an 24 Monate alten Tieren, deren Befunde das Körpergewicht als Einflussfaktor zur Diskussion stellen (BRAMLAGE et al. 2009).

Tabelle 1 zeigt einen Überblick über einige mit unterschiedlichen, nicht-invasiven Messmethoden akquirierten Blutdruckdaten der letzten Jahrzehnte. Wie hier dargestellt, sind die bisher publizierten Messwerte zu indirekten Blutdrücken bei Weißbüschelaffen z.T. unvollständig und unterscheiden sich deutlich, zusätzlich fehlen wichtige Angaben zur jeweiligen Messmethodik.

Zusammengefasst lässt sich sagen, dass bei den meisten Studien die Werte an einer vergleichsweise kleinen Tierzahl ( $n = 5 - 18$ ) erhoben wurden. Verschiedene Angaben wie die Messlokalisierung, Körperposition, Manschettengrößen oder die Anzahl der erhobenen Messwerte sind unvollständig oder fehlen ganz. Ebenso sind die Daten zu den einzelnen Blutdruckparametern oft unvollständig, noch wurde zwischen Geschlechtern, Gewichts- oder Altersgruppen unterschieden (BRAMLAGE et al. 2009, CLOZEL und FISCHLI 1989, MICHEL et al. 1989, SCHMELTING et al. 2007, SCHNELL und WOOD 1993, SCHNELL und WOOD 1995).

All dies unterstreicht die Wichtigkeit der Erhebung standardisierter Messwerte und die Notwendigkeit der Untersuchung verschiedener den Blutdruck beeinflussender Parameter sowie die Beschreibung von physiologischen und pathologischen Werten.

Die beiden im Rahmen dieser Dissertation veröffentlichten Studien sollen sowohl ein praxistaugliches Messprotokoll zur nicht-invasiven Blutdruckgewinnung beim Weißbüschelaffen bereitstellen (Publikation 1) als auch einige der die Blutdruckwerte beeinflussenden Parameter näher charakterisieren (Publikation 2).

## Literaturübersicht

**Tabelle 1: Studien der letzten 30 Jahre mit nicht-invasiven Blutdruckmessungen beim Weißbüschelaffen (*Callithrix jacchus*)**

Studie	Protokollangaben	Tierangaben	Blutdruckwerte (mmHg)			Puls (Schläge/min)
			SAD	MAD	DAD	
Clozel et al. 1989	Schwanzmessung Manschette, Piezoelektrischer Sensor  Fixierröhre	n = 6  Alter ca. 3 Jahre 350 - 430 g  beide Geschlechter	122 +/- 3			
Michel et al. 1989	Schwanzmessung  Manschette	n = 5  330 +/- 37 g  männliche Tiere	120 +/- 15			
Schnell et al. 1993	Schwanzmessung  Manschette	n = 14  Alter 4 - 7 Jahre  ~ 350 g		96 +/- 6		312 +/- 55
Schmelting et al. 2007	Oberschenkelmessung  HDO Bauchlage  Akklimationisierung 2 - 5 Messungen	n = 18  Alter 2 - 6 Jahre 333-517 g (420 +/- 56 g)  beide Geschlechter	142 +/- 13,2	91,6 +/- 8,3	64,3 +/- 7,6	390,7 +/- 41,9
Bramlage et al. 2009	HDO  Mittelwert aus 4 Einzelwerten	n = 10  417 g (401,2-480,8 g)  männliche Tiere	153,5 +/- 19,4		71,1 +/- 13,3	

SAD: Systolischer arterieller Blutdruck, MAD: Mittlerer arterieller Blutdruck, DAD: Diastolischer arterieller Blutdruck, HDO: High-Definition Oszillometrie, min: Minuten; dargestellt sind die Werte der Kontrolltiere in den jeweiligen Studien

## 3 Ergebnisse

### 3.1 Publikation 1

Matthias Mietsch, Almuth Einspanier

Non-invasive blood pressure measurement: values, problems and applicability in the common marmoset (*Callithrix jacchus*)

Laboratory Animals 2015, DOI: 10.1177/0023677214565843

Eigenanteil des Doktoranden:

Matthias Mietsch führte die Versuchsplanung, Blutdruckmessungen, Datensammlung und -zusammenstellung sowie die statistischen Auswertungen durch. Ferner schrieb er das Manuskript.

Anteil der Koautoren:

Almuth Einspanier war an der Planung und Auswertung der Versuche sowie der inhaltlichen, grammatikalischen und Rechtschreibkorrektur des Manuskriptes beteiligt.



# Non-invasive blood pressure measurement: values, problems and applicability in the common marmoset (*Callithrix jacchus*)

Laboratory Animals  
2015, Vol. 49(3) 241–250  
© The Author(s) 2014  
Reprints and permissions:  
sagepub.co.uk/  
journalsPermissions.nav  
DOI: 10.1177/0023677214565843  
la.sagepub.com



M Mietsch and A Einspanier

## Abstract

The common marmoset (*Callithrix jacchus*, *C. j.*) is an established primate model in biomedical research and for human-related diseases. Monitoring of cardiovascular parameters including blood pressure (BP) is important for the health surveillance of these experimental animals and the quantification of diseases or pharmaceutical substances influencing BP. Measurement guidelines for *C. j.* do not exist yet; therefore, the present study was carried out to establish a practicable protocol based on recommendations of the American College of Veterinary Internal Medicine (ACVIM). Furthermore, BP data of 49 marmosets (13.8–202.4 months of age) were obtained via high-definition oscillometry to further knowledge of physiological parameters and gender-related differences in this primate. The thighs proved to be the most suitable measurement localization, since systolic values were less variable (left  $4.03 \pm 2.90\%$ , right  $5.96 \pm 2.77\%$ ) compared with the tail ( $12.7 \pm 6.96\%$ ). BP values were similar in the morning and in the afternoon ( $P > 0.05$ ). Data were highly reproducible within and between several sessions on three consecutive days ( $P > 0.05$ ) as well as over the course of 20 months ( $P > 0.05$ ). Furthermore, the measurement time for females was significantly shorter than for males ( $5:14 \pm 1:59$  min versus  $6:50 \pm 1:58$  min,  $P = 0.007$ ). Measurement recommendations for the common marmoset were successfully established. Standardized values enabled a reliable comparison of BP parameters, e.g. for cardiovascular, toxicological or metabolic research.

## Keywords

common marmoset, blood pressure, ACVIM, protocol, non-invasive

Blood pressure (BP) represents a relevant marker of the cardiovascular system, especially with regard to heart function and blood vessel condition. It can be influenced by metabolic disorders (e.g. diabetes mellitus,<sup>1</sup> adiposity<sup>2</sup>) or age-related diseases (e.g. renal failure,<sup>3</sup> cardiac insufficiency<sup>4–7</sup>). Studies in those fields frequently use animal models. Regarding the medical assessment of the used species, BP is an essential parameter for animal health.

To ensure the acquisition of reliable and comparable values, recording procedures have to be standardized. For pets and rodents appropriate measurement protocols have been developed recently.<sup>4,8–10</sup> However, no recommendations exist for small experimental primates.

With regard to biomedical research and human-related diseases the common marmoset is a widely

used primate model.<sup>11–13</sup> However not all procedures for BP assessment (e.g. restraining techniques or acclimatization periods) seem to be transferable from small animals to these New World Primates due to differences in handling techniques.<sup>14,15</sup> Therefore, guidelines for BP measurement in *Callithrix jacchus* (*C. j.*) are needed.

The existing gold standard for the assessment of BP is direct intra-arterial BP recording via radiotelemetry,

---

University of Leipzig, Faculty of Veterinary Medicine, Institute of Physiological Chemistry, Leipzig, Germany

## Corresponding author:

Almuth Einspanier, University of Leipzig, Faculty of Veterinary Medicine, Institute of Physiological Chemistry, An den Tierkliniken 1, Leipzig 04103, Germany.  
Email: einspanier@vetmed.uni-leipzig.de

whereby a catheter is implanted in the femoral artery or the abdominal aorta. Continuous and undisturbed measurement of BP is possible using this technique. Nevertheless, it is an invasive method with disadvantages such as technical and financial requirements, potential inflammatory reactions, potential loosening of the detector, as well as limited dwelling time in the vessels for the catheter.<sup>16</sup> A promising alternative is non-invasive measurement of blood pressure (NIBP). It allows fast data acquisition, there is no need for surgical procedures, and it can be used for long-term experiments. Frequently employed NIBP methods are ultrasonic Doppler technology and oscillometry.<sup>4,17–19</sup> Doppler technology detects blood flow changes induced by a cuff compression to estimate BP. Oscillometry, on the other hand, is based on the registration of arterial wall oscillations, which are caused by external occlusion. A promising development is high-definition oscillometry (HDO).<sup>6,20–22</sup> In contrast to classic oscillometry, this technique allows real-time acquisition of BP values as well as the analysis of pressure waveforms. Therefore, fast measurements and the assessment of cardiac output and arterial elasticity are possible.<sup>9,23</sup> Previous studies using HDO in *C. j.* were performed either on a small number of animals ( $n=18$ )<sup>24</sup> or in very young animals (age  $\leq 24$  months,  $n=30$ ).<sup>25</sup> Furthermore, both studies did not state measurement protocols consistent with the standards of the American College of Veterinary Internal Medicine (ACVIM) by Brown et al.<sup>4</sup> Moreover, studies conducted on other species have indicated that BP is influenced by gender, cuff position and time of day.<sup>26,27</sup> None of these parameters have been explored so far for the common marmoset.

Therefore, one aim of the present study was to establish a standardized measurement protocol for NIBP in the common marmoset on the basis of the ACVIM guidelines for small animals. The second aim was to analyse BP data from 49 animals with a broad age range with respect to gender-related variances, in order to increase knowledge of physiological BP values in this species.

## Animals, materials and methods

### Animals

In this study 49 common marmosets (23 males, 26 females) were used to acquire BP values over a period of 20 months from May 2012 to December 2013. The majority of the animals were born in the German Primate Centre or the primate house of the University of Leipzig, Germany. Four animals came from private owners and lived in the colony for two years or more prior to this study. All the animals had a median age of 55.33 months (25th percentile [P25] = 45.6 months, 75th

percentile [P75] = 98.0 months). Due to the size of the available measuring cuffs and the animals' leg circumference, the recording of BP values started when the animals were at least one year old. The mean body weight of all animals was  $404.9 \pm 40.3$  g, with no significant gender-related differences.

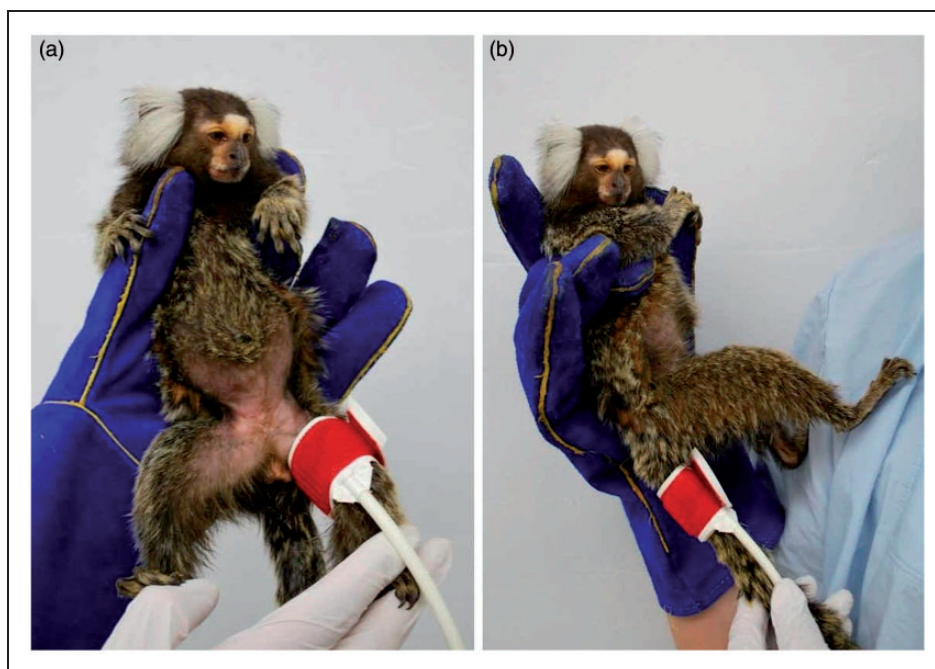
All animals had a conventional microbiological status and were housed in an open system in pairs or family groups. Housing equipment consisted of steel mesh cages ( $180 \times 80 \times 70$  cm, University of Berlin, Berlin, Germany) for two animals and a cage of double the size for a maximum of four animals with a steel nest box ( $17 \times 26 \times 17$  cm), branches, sitting boards, and a cloth hammock. In addition to natural lighting in terms of glass windows in every animal room, an artificial light period was provided between 07:00 and 19:00 h. Room temperature was regulated at 25°C (24–26°C) with a relative humidity of 40–60% and 10 air changes per hour. Additional red light was given daily from 07:15 to 07:45 h. Changing environmental and food enrichment (e.g. varying presentation of vegetables and fruits, spreading of gum arabic or offering of mealworms, grasshoppers as well as crafted straw containers or plastic balls) was provided weekly to the animals. Feeding took place twice a day. In the morning each animal pair was given a mixture of 20 g of seasonal vegetables and fruits as well as a protein source (e.g. meat, egg). At midday they received commercially available gluten-free pellets (ssniff Spezialdiäten GmbH, Soest, Germany) and gluten-free mash (ssniff Spezialdiäten GmbH).<sup>28</sup> Water was available ad libitum via water bottles. The animals were used to regular handling. After the completion of data acquisition the animals remained in the colony of the University of Leipzig, Germany. During the study, five animals died of causes unrelated to the pathology of the cardiovascular system (e.g. diarrhoea).

Animal husbandry was approved by the regional board of Leipzig, Germany (reference number: 24-9168.11/17/68) and research approval was granted by the Regional Council Leipzig, Germany (TVV 68/12). The non-invasive BP measurements conducted did not require authorization under the German Animal Welfare Act. The study conformed to the German Animal Welfare Act for the care and use of laboratory animals.

### Experimental design

This study comprises a preliminary (I) and a main (II) study with the following scopes:

- (I) Evaluation of different cuff positions and times of day for recordings.
- (II) Establishment of a standardized measurement protocol and evaluation of gender-related differences in BP.



**Figure 1.** Positions of the cuff for blood pressure (BP) measurements in the common marmoset. (a) Left thigh. (b) Tail position.

In the preliminary study, the effects of three different cuff placements were analysed in 10 adult common marmosets. The following positions were used: the right and left thighs as well as the tail (approximately 1–2 cm distal to the base of the tail; see Figure 1). To analyse the influence of time of day on BP, six adult animals were selected. Over a period of three consecutive days, the BP of each animal was measured in the morning (08:00 to 11:00 h) and in the afternoon (13:00 to 16:00 h).

For the main experiment 49 animals were used. Measurements took place throughout the day and were conducted on the left or right thigh.

For both studies the following setting was applied. Animals were accustomed to handling with minimal stress as described elsewhere.<sup>28</sup> For the measurement procedure the animals were placed in a comfortable slightly backward leaning position to ensure that the distance between the heart base and the cuff was maximally 10 cm (see Figure 1). Pulsing of the femoral artery was manually detected and the sensor of the cuff was positioned as described by Egner et al.<sup>9</sup> Data collection started after an acclimatization period of 1–3 min.

### Blood pressure measurement

BP data acquisition was carried out with an HDO measurement device (VET HDO Monitor MD PRO Marmoset; S+B medVET GmbH, Babenhausen, Germany) and recorded with the corresponding

software (S+B medVET Memodiagnosics MDS Analyse Software Version 2.0.3.0). The analysis software created a computer file with pressure waveforms for every single measurement. The systolic, diastolic and mean arterial BPs (SAP, DAP and MAP) in mmHg as well as the pulse rate (Pulse) in beats per minute (b/min) were recorded.

Air-deflating cuffs with sizes C2 (length 15.2 cm, width 4.4 cm) and V2 (length 12.5 cm, width 3.6 cm) were used. To acquire data about the fitting of the used cuffs, repetitive measurements were conducted at the middle of the thighs and the bases of the tails. The ratios of cuff widths to thigh circumferences were mean  $54.5 \pm 5.29\%$  (C2) to  $45.7 \pm 4.43\%$  (V2) and at the tail  $102 \pm 11.1\%$  for C2 to  $85.4 \pm 9.28\%$  for V2. The cuff size used (C2 or V2) was chosen depending on the anatomical situation of the legs.

Data were evaluated based on ACVIM statements. The first reading of each session was discarded. At least three readings (comparison of cuff positions) or five readings (other settings, coefficient of variation below 20% in SAP) were conducted as suggested by ACVIM. For small animals these guidelines recommend three to seven measurements per session to obtain representative BP values. Consequently we reviewed the transferability of this statement to the *C. j.* Overall, 115 sessions were conducted using a total of 36 animals. Each session included seven readings which were analysed and compared by averaging the first three, five or all seven readings.

**Table 1.** Criteria for artefact assessment.

Criteria	Classification
<i>Animal behaviour</i>	
Low	MO: one slightly/minor spasm with the foot, no further movements VE: muted shout without body movements MT: slightly shaking NI: short licking or gently chewing on the leather gloves
High	MO: sudden or repeated spasms, either with just the leg or the whole body VE: shrill shouts with thoracic movements MT: shaking obvious visible and palpable NI: repeated chewing or biting on the fixation gloves with obvious movement of the jaws
<i>Pressure drain line</i>	
Low	Drain line not influenced
High	Drain line showed an incision
<i>Pulse pressure curve</i>	
Low	Typical blood pressure (BP) bell shape visible, incision caused by artefact <10%
High	Bell shape with single or repeated interruptions, incisions caused by artefact >10%
MF	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cuff slid from the thigh</li> <li>• Sudden ending of the pulse pressure curve (untypical bell shape)</li> <li>• Untypical low BP values compared with other values (indicating that the cuff was placed too loosely)</li> </ul>
EX	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Signs of excitement: eyes wide open, repeated turning of the body, frightened look around</li> <li>• Elevated single BP, returning to usual values during the following readings</li> </ul>

In the cases of low-grade artefacts, corresponding values were included in measurements, whereas artefacts classified as high were discarded and repeated. MO: movements; VE: vocal expressions, MT: muscle tremor; NI: nibbling; MF: measurement fault; EX: excitement; BP: blood pressure.

During each session, artefacts were recorded and differentiated with respect to: movements (MO), vocal expressions (VE), muscle tremors (MT), nibbling (NI), measurement faults (MF) and excitement (EX). The classification of artefacts is as described in Table 1. Curves displaying high-grade artefacts were discarded and the measurement was repeated. When artefacts produced non-evaluable data or the measurement device displayed an error, readings were excluded and repeated.

### Statistics

Statistical analysis was performed with IBM SPSS Statistics Version 22 (IBM, Chicago, IL, USA). All data were tested for normal distribution by means of the Kolmogorov–Smirnov test. In the case of normally distributed data (presented as mean  $\pm$  standard deviation [SD]), *t*-tests for independent samples were conducted to examine the values for significant differences between the groups. Comparisons of localizations or repetitive measurements within or between sessions were analysed using a repeated measurements analysis of variance

(ANOVA) with Bonferroni adjustment. In the case of not normally distributed data (analysis of the artefacts) Wilcoxon tests were conducted. Due to the limited sample size, data of the preliminary experiment (time of day comparison) were analysed as not normally distributed. Their values are given as median, P25 and P75. The correlations of BP values and artefact occurrence were explored and determined via linear regression analysis. Comparison of artefact values with regular BP data was done by averaging all respective artefact data during one measurement session and relating it to the mean of all the remaining values. The level of significance was defined at  $P < 0.05$ , with  $P < 0.01$  being highly significant.

### Results

#### (I) Preliminary experiment

With regard to the analysed localizations no significant differences were observed with respect to BP values, measurement times and artefact occurrences (see Table 2).

**Table 2.** Comparison of localization during the preliminary experiment.

	Left thigh	Right thigh	Tail
SAP (mmHg)	146.8 ± 9.28	151.8 ± 10.2	146.4 ± 12.9
MAP (mmHg)	100.6 ± 8.31	102.1 ± 6.32	103.3 ± 7.40
DAP (mmHg)	75.6 ± 8.20	75.3 ± 6.00	79.7 ± 7.49
Measurement time (min)	1:47 ± 1:16	1:52 ± 0:52	3:07 ± 2:58

SAP: systolic blood pressure; MAP: mean arterial blood pressure; DAP: diastolic blood pressure. Blood pressure data and measurement time are shown as mean ± SD.

**Table 3.** Values for SAP, MAP, DAP and Pulse on three consecutive days for comparison of measurements in the morning (a.m.) and afternoon (p.m.).

	Day 1		Day 2		Day 3	
	a.m.	p.m.	a.m.	p.m.	a.m.	p.m.
SAP (mmHg)	144.5 (123.8–159.6)	147.6 (123.0–150.8)	141.2 (120.6–154.2)	137.7 (122.2–158.8)	145.8 (133.4–147.0)	139.7 (129.0–155.6)
MAP (mmHg)	97.3 (88.0–111.2)	98.1 (88.2–106.4)	96.3 (83.6–106.2)	98.5 (84.2–105.0)	99.5 (90.4–103.8)	97.4 (90.2–106.8)
DAP (mmHg)	71.3 (67.4–85.2)	72.8 (68.8–82.6)	70.5 (63.4–82.2)	74.3 (63.2–80.6)	76.1 (67.0–80.2)	73.3 (66.8–82.4)
Pulse (b/min)	419.2 (299.6–460.6)	394.1 (261.0–436.8)	332.9 (230.8–437.4)	313.7 (247.2–365.6)	353.1 (285.8–403.4)	320.5 (241.6–437.2)

SAP: systolic blood pressure; MAP: mean arterial blood pressure; DAP: diastolic blood pressure; Pulse: pulse rate. Data are presented as median [min–max].

The variances of systolic values (cvSAP) at the left and right thighs were significantly lower than at the tails ( $4.03 \pm 2.90\%$ ,  $5.96 \pm 2.77\%$ ,  $12.7 \pm 6.96\%$ , respectively;  $P \leq 0.01$ ). cvSAP results ranged between 2.43% and 22.3% for the tail whereas the maximum values for the left and right thighs were markedly lower (9.49% and 10.5%, respectively).

The time of day did not influence the BP ( $P > 0.05$ , Table 3). On all three consecutive days no differences were observed between measurements in the morning and data acquired in the afternoon (SAP:  $P = 1.00$ , MAP:  $P = 0.938$ , DAP:  $P = 1.00$ , Pulse:  $P = 0.156$ ; Table 3) or between days ( $P > 0.05$ ). Although Pulse tended to decrease throughout successive days, this decline was not significant ( $P > 0.05$ , Table 3).

In general, the preliminary experiments demonstrated that thighs should be used as the measurement localization. Furthermore, readings could be conducted either in the morning or in the afternoon. These principles were applied in the main experiment following.

### (III) Main experiment

In the main experiment, the BP of 49 *C. j.* was measured. The mean BP of all animals amounted up to  $145.7 \pm 9.0$  mmHg (SAP),  $98.3 \pm 6.46$  mmHg (MAP) and  $72.6 \pm 6.44$  mmHg (DAP). The pulse rate averaged

$406.5 \pm 32$  b/min. All BP parameters were highly correlated with each other (SAP–MAP:  $r = 0.834$ ; SAP–DAP:  $r = 0.56$ ; MAP–DAP:  $r = 0.924$ ). BP and Pulse did not differ between males and females (SAP:  $144.8 \pm 8.40$  mmHg,  $146.5 \pm 9.56$  mmHg,  $P = 0.53$ ; MAP:  $96.8 \pm 5.01$  mmHg,  $99.6 \pm 7.34$  mmHg,  $P = 0.12$ ; DAP:  $70.7 \pm 4.93$  mmHg,  $74.2 \pm 7.25$  mmHg,  $P = 0.06$ ; Pulse:  $403.7 \pm 31.2$  b/min,  $409.0 \pm 33.1$  b/min,  $P = 0.56$ ).

The mean measurement time was  $5:59 \pm 2:07$  min. Analysis of the data for gender-related differences showed that measurement took significantly longer in males ( $6:50 \pm 1:58$  min) than females ( $5:14 \pm 1:59$  min);  $P = 0.007$ . To exclude possible seasonal effects on BP, a median of 6 (P25: 4, P75: 9.5) sessions per animal were conducted, evenly distributed throughout the year. No statistically significant differences between these sessions or seasons were observed (repeated measurements ANOVA,  $\alpha > 0.05$ ).

The observed artefacts did not differ between males and females; they averaged 16.7% MO, 3.8% VE, 1.3% MT and 4.1% MF per animal. Throughout the restraining process, animals showed signs of EX and NI in 2.4% and 0.6% of the cases. The artefact values differed markedly from the regular values (see Table 4).

The values of the second readings for SAP and MAP were significantly different from the other readings

**Table 4.** Artefact values and differences to the normal values from the same session (behind the slash) .

	MO	VE	MT	MF	EX	NI
SAP (mmHg)	147.1 (135.0; 154.7)	<b>138.0**/-6.70</b> (126.9; 150.3)/ (-13.60; +2.86)	145.0 (137.0; 158.0)	<b>126.0**/-12.25</b> (121.0; 134.0)/ (-18.50; -6.23)	<b>174.0**/+25.27</b> (167.3; 182.8)/ (+14.70; +32.10)	<b>160.0**/+13.60</b> (125.0; 170.0)/ (-2.00; +24.40)
MAP (mmHg)	<b>99.2**/+0.97</b> (92.8; 106.0)/ (-2.95; +5.36)	100.0 (92.3; 105.3)	<b>105.0**/+5.00</b> (98.8; 109.0)/ (-0.60; +8.60)	<b>84.2**/-8.10</b> (81.1; 88.8)/ (-13.55; -2.58)	<b>117.0**/+14.70</b> (111.0; 120.8)/ (+11.90; +18.90)	<b>109.0**/+11.60</b> (92.0; 119.0)/ (+3.40; +12.40)
DAP (mmHg)	<b>74.0**/+2.10</b> (69.0; 81.0)/ (-1.40; +6.60)	<b>77.0**/+2.60</b> (70.5; 84.0)/ (1.82; +8.70)	<b>79.0**/+5.90</b> (76.5; 89.0)/ (+1.00; +12.00)	<b>63.0**/-7.53</b> (57.1; 65.8) (-12.60; -0.43)/	<b>86.0**/+11.40</b> (79.3; 90.8)/ (+5.95; +13.73)	<b>79.0**/+10.00</b> (74.0; 91.0)/ (+5.20; +14.60)
Pulse (b/min)	418.0 (383.0; 447.5)	400.0 (363.0; 431.8)	435.3 (409.0; 459.5)	421.8 (335.4; 455.7)	<b>432.5**/+20.70</b> (405.9; 455.6)/ (+1.10; +29.15)	429.0 (380.0; 475.0)

MO: movements; VE: vocal expressions, MT: muscle tremor; NI: nibbling; MF: measurement fault; EX: excitement; SAP: systolic blood pressure; MAP: mean arterial blood pressure; DAP: diastolic blood pressure; Pulse: pulse rate. Data are presented as median [25th percentile [P25]; 75th percentile [P75]]. Significant values are set in bold, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ .

**Table 5.** Comparison of averaged blood pressure data of three, five or seven consecutive readings.

	Three readings	Five readings	Seven readings
SAP (mmHg)	148.1 ± 11.0 (b*)	147.3 ± 10.7 (a*)	147.1 ± 10.8
MAP (mmHg)	101.0 ± 7.59	100.7 ± 7.33	100.5 ± 7.38
DAP (mmHg)	75.4 ± 7.21	75.3 ± 6.94	75.2 ± 6.97
Pulse (b/min)	408.5 ± 44.2 (c*)	406.4 ± 47.3	404.6 ± 48.2 (a*)

SAP: systolic blood pressure; MAP: mean arterial blood pressure; DAP: diastolic blood pressure; Pulse: pulse rate; data are shown as mean ± SD; a = significant to three readings; b = significant to five readings; c = significant to seven readings; \* $P < 0.05$ .

( $P < 0.05$ ). They varied by  $2.24 \pm 3.43$  mmHg and  $1.12 \pm 1.69$  mmHg from the mean values of each session ( $P < 0.01$ ). DAP and Pulse showed no significant changes throughout a session.

When considering data from cooperative animals with seven consecutive readings, the averaged values differed only by around 1.0 mmHg for SAP and 3.9 b/min for Pulse compared with three readings. MAP and DAP showed no significant differences (see Table 5).

Although BP values did not show gender-related variances, it was generally quicker to obtain readings in female *C. j.* The second measurements differed significantly from the mean values in each session; nevertheless the amount was only by about 2 mmHg or less. Moreover, the averaged values of each session differed just slightly with an increase in the number of readings, and artefacts influenced BP values in varying amounts.

## Discussion

As the importance of common marmosets as a primate model increases, reliable and standardized BP values become important. For dogs and cats several guidelines exist.<sup>4,8,9</sup> Nevertheless, it is questionable whether

recommended standardized procedures like the ACVIM guidelines are easily transferable to the common marmoset. Therefore, one aim of this study was to develop a measurement protocol based on the recommendations for dogs and cats (Table 4). Furthermore, published NIBP data for *C. j.* are limited to few or very young animals. But due to the increasing lifespan of marmosets under human care, further knowledge of physiological values in this laboratory species is necessary. Another aim of the present study was therefore to obtain BP data from a larger number of animals of both sexes and with a broader age range. These recommendations and data are described below.

Different localizations for BP measurements are established for dogs and cats (thighs and tail)<sup>4,26,29</sup> as well as for rodents (tail).<sup>10</sup> In the present study these localizations were tested in the common marmoset. Both the thighs and the tail showed comparable data with regard to BP values and times of acquisition. However, when using the commercially available cuffs, tail measurements proved to be less accurate (cvSAP up to > 20%); therefore we do not recommend this localization for BP acquisition in common marmosets.

Suitable cuff sizes should have a cuff width/leg circumference ratio of 30–40% as recommended by ACVIM for BP measurements in dogs and cats. Nevertheless, with a ratio of 45.7% (V2) and 54.5% (C2) the available cuff sizes exceeded these reference values considerably in the common marmoset. Younger (<1 year) and older (accelerating after 8 years) *C. j.* have substantially less body musculature compared with adult animals,<sup>13,30</sup> therefore the available cuffs are not applicable in these cases.

With regard to the time of day (morning versus afternoon), BP values and acquisition times proved to be similar in this study. These findings are in line with NIBP readings in cynomolgus monkeys, where no daytime dependency of BP was observed.<sup>27</sup> In contrast to these findings, BP values obtained with telemetry show curve progressions which mirror the daytime dependent multimodal course of activity that is exhibited by marmosets in the natural habitat as well as in human care.<sup>31,32</sup> The divergent results are most likely caused by the differences in measurement techniques. Whereas telemetry allows an undisturbed daily routine with periods of activity and recovery, the regular circadian cycle of the animals has to be interrupted for NIBP measurements. It is probable that due to the essential handling of the animals, parameters like stress, excitement or habituation mask the naturally occurring variations in BP values.

According to the ACVIM guidelines for dogs and cats, the first reading of each session was excluded from BP analysis.<sup>4</sup> As previously reported by Bodey et al., the mentioned reading is significantly higher than the following measurements and does not represent the average BP. The increase in BP is probably triggered by the sound of the measurement device or the pressure on the thigh, and these effects disappear once the animal is familiar with the situation<sup>18</sup>.

The evaluation of the analysed readings showed that the second reading was significantly higher than the mean of a session. Nevertheless, the increase was only 2 mmHg; therefore the impact on the overall BP is negligible and this reading can be included in recordings.

In the main study, various numbers of consecutive readings were compared with each other. The values differed only by about 1 mmHg for SAP and even less for all other BP parameters. Bodey et al.<sup>18</sup>, Schmelting et al.<sup>22</sup> and Vincent et al.<sup>33</sup> observed similar results when measuring cynomolgus monkeys and dogs. Little or no changes in BP were detected throughout a measurement session. These results demonstrate that the acclimatization period of 1–3 min used in this study is adequate.

For the intended clinical application of NIBP in *C. j.* a short restraint time is preferable as it is more practicable and reduces the stress on the animal from

handling. Furthermore, research conducted with other primate species indicates that longer measurement sessions lead to a continuous rise in heart rate as well as restlessness.<sup>34</sup> Our results show that three to five readings per session are sufficient for obtaining reliable BP data from common marmosets. Since cognitive or behavioural studies generally use a testing period of 10–15 min without having negative effects on experimental results, this time frame can be used as a maximum range for BP recordings.

With regard to the analysed artefacts, the respective influences on BP parameters differed considerably. Whereas MO, VE and MT had only minimal effects, the occurrence of EX, NI and MF resulted in higher deviations from the mean values. Interestingly, most artefacts influenced the pulse rate only marginally. Concerning the practical implementation of NIBP measurement, this suggests that with regard to MO, VE and MT readings can be included while taking the animals' behaviour into account. Data should be discarded and repeated in cases of high-grade artefacts, EX, NI or MF. EX has a particularly strong effect as the resulting stress or excitement has great influence on BP, which therefore emphasizes the importance of a quiet measurement location, experienced staff and sufficient adaptation time before the beginning of NIBP readings.

In the preliminary study, BP was recorded on three consecutive days. BP parameters did not change between sessions. This is in line with previous findings in cynomolgus monkeys,<sup>22,27</sup> where BP values did not differ in or between several sessions. As stress is a major parameter for a temporarily increased BP, one reason for the minimal variation of the BP patterns might be that the animals had become habituated to handling as well as clinical routines. Nevertheless, the pulse rate tended to decrease from day 1 to day 3. Although the differences were not significant, these results have to be taken into account when planning experimental set-ups. Whereas single measurement sessions are sufficient for the acquisition of reliable BP data in trained animals, pulse rates should be analysed over a period of consecutive days to generate conclusive results.

Concerning the assessed BP values in this study in general, our results are partly in line with previously published data for NIBP readings in common marmosets. Compared with telemetrically measured values from undisturbed animals, restraining procedures cause markedly higher BP values in animals.<sup>25</sup> Nevertheless, handling is necessary in this non-invasive measuring method. Therefore, the induced rise in BP has to be mentioned when evaluating the obtained values. Regardless of the higher values, NIBP recording has some important advantages compared with invasive data acquisition (e.g. no operations are required,

**Table 6.** Recommendations for non-invasive blood pressure (NIBP) measurements in the common marmoset (according to the ACVIM guidelines).

**Protocol for blood pressure (BP) measurements in the common marmoset:**

1. Calibration of the BP device should take place before the study begins and at regular intervals.
2. Measurements should take place in an undisturbed room, apart from visual and vocal contacts to other animals. An acclimatization period of 1–3 min should be granted to the animal to get used to the BP situation.
3. The animal can be gently restrained in a slightly backward leaning position, assuring a distance from heart to cuff of less than 10 cm. After each session, the animal may be rewarded with gum arabic.
4. Cuff sizes should be chosen according to thigh circumference, preferably with an average cuff width/leg circumference ratio of 30–40%. Measurements should be conducted in adult animals because of a smaller thigh circumference in younger animals.
5. The cuff should be placed on one of the thighs due to higher precision compared with recordings at the tail.
6. The same individual should perform all BP measurements, assistance can be given by another person well known to the colony.
7. Measurements are possible in the morning as well as in the afternoon.
8. The first value should always be discarded and five to seven readings (with less than 20% variability of systolic blood pressure) can be obtained. Three to five consecutive readings may be sufficient for clinical purposes. All values should be averaged to obtain the mean.
9. Artefacts should be classified and eventually discarded by means of the animals' behaviour and the occurrence of the pulse pressure curve. Discarded readings should be subsequently repeated.
10. Cuff sizes and placement sites, the general animal appearance as well as all occurring artefacts, the actual BP values and the mean result of every measurement session should be recorded.

it is suitable for long-term investigations, and has lower acquisition costs).<sup>16</sup> In addition HDO data are reproducible and devices can detect changes in BP similar to telemetry.<sup>20,35</sup> Thus HDO is applicable in clinical settings despite the comparatively higher values.

Studies using NIBP assessment found values ranging from 120.0–153.5 mmHg (SAP), 91.6–96 mmHg (MAP), 64.3–71.1 mmHg (DAP) and 312–390 b/min (Pulse).<sup>24,25,32,36,37</sup> This wide range of values may be due to different measurement devices but may also be caused by varying BP protocols. This indicates the importance of standardized procedures for the acquisition of comparable values. Whereas the SAP values and pulse rate observed in our study confirm the mentioned publications, our data for MAP and DAP were slightly higher than those previously reported. Besides the above-mentioned differences in devices, these variances might be due to the wider range in age and body weight of the animals used in our study, which could therefore indicate that these parameters influence BP in the common marmoset. Age and body weight should therefore be taken into account when conducting future studies in this laboratory primate.

No seasonal variations in BP values were observed during the course of our study. This is most likely due to the housing of the animals. They were held in a standardized environment with regulated day–night cycles and a constant temperature, so season-dependent effects are unlikely.

In this study, female animals were significantly easier to measure than males because less time was required to achieve analysable values from female animals. This is

consistent with females performing better in tasks of food retrieval or in trainings to enter transport boxes.<sup>38,39</sup> Our findings support the hypothesis that male animals require more attention and care during NIBP measurements. BP values did not differ with regard to gender. This is in contrast to results in dogs and humans,<sup>26,40</sup> where males have higher BP. By contrast, marmosets do not show gender-related body weight differences,<sup>41</sup> which could contribute to BP differences in the species mentioned. Nevertheless, potential gender-specific variations in BP might be masked by the observed influence of restraint on BP.

To conclude, this study is the first report on physiological BP values recorded via HDO in a large number of *C. j* obtained by ACVIM guidelines. The results of this study have led to the establishment of a standardized measurement protocol for NIBP via HDO in common marmosets. Compared with other laboratory animals, common marmosets differ, for example, in terms of handling, acclimatization periods or cuff positions (see Table 6). These guidelines may contribute to a refinement of BP measurements by allowing practicable, reliable, reproducible and non-invasive assessment of important cardiovascular parameters and can thus improve the regular health monitoring of common marmosets. Since standardized readings according to the ACVIM recommendations are possible in *C. j.*, the measurement protocol established in this study can be used as a guideline to obtain comparable research results in prospective work. Therefore, this standardized data acquisition may contribute to the reduction of animals used during research by delivering reliable



results and making them comparable to other studies. Future research should focus on age- and weight-dependent effects on BP. For further investigation on the cardiovascular system of *C. j.* additional research is needed regarding the interpretation of the HDO-specific graphs (i.e. the presystolic amplitudes, rhythm of the stroke volumes, and stroke volume differences).

### Acknowledgements

The authors would like to thank Dr Anne Weißmann, Vicki Bachner, Christin Meinhardt and Robert Nestler for their contribution to this work. In addition, we would like to thank Dr Beate Egner for her technical support during the study.

### Declaration of conflicting interests

The authors declare that there is no conflict of interest.

### Funding

This research received no specific grant from any funding agency in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

### References

1. Struble AL, Feldman EC, Nelson RW, et al. Systemic hypertension and proteinuria in dogs with diabetes mellitus. *JAMA* 1998; 283: 822–825.
2. Hall JE, Jones DW, Kuo JJ, et al. Impact of the obesity epidemic on hypertension and renal disease. *Curr Hypertens Rep* 2003; 5: 386–392.
3. Bartges JW. Chronic kidney disease in dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2012; 42: 669–692.
4. Brown S, Atkins C, Bagley R, et al. Guidelines for the identification, evaluation, and management of systemic hypertension in dogs and cats. *J Vet Intern Med* 2007; 21: 542–558.
5. Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, et al. 2013 ESH/ESC practice guidelines for the management of arterial hypertension. *Blood Press* 2014; 23: 3–16.
6. Egner B. Blood pressure measurement: Part 1: Technology and avoidance of measurement error. *J Small Anim Pract* 2006; 4: 18–23.
7. Carr AP and Egner B. Blood pressure in small animals – Part 2: Hypertension – target organ damage, heart and kidney. *EJCAP* 2009; 19: 13–17.
8. Henik RA, Dolson MK and Wenzel LJ. How to obtain a blood pressure measurement. *Clin Tech Small Anim Pract* 2005; 20: 144–150.
9. Egner B, Carr AP and Brown SA. *Essential facts of blood pressure in dogs and cats: a reference guide*, 4th ed. Babenhausen, Germany: Vet Verlag, 2007.
10. Feng M and DiPetrillo K. Non-invasive blood pressure measurement in mice. *Methods Mol Biol* 2009; 573: 45–55.
11. Smith D, Trennery P, Farningham D, et al. The selection of marmoset monkeys (*Callithrix jacchus*) in pharmaceutical toxicology. *Lab Anim* 2001; 35: 117–130.
12. Mansfield K. Marmoset models commonly used in biomedical research. *Comp Med* 2003; 53: 383–392.
13. Tardif SD, Mansfield KG, Ratnam R, et al. The marmoset as a model of aging and age-related diseases. *ILAR J* 2011; 52: 54–65.
14. Layne DG and Power RA. Husbandry, handling, and nutrition for marmosets. *Comp Med* 2003; 53: 351–359.
15. Ludlage E and Mansfield K. Clinical care and diseases of the common marmoset (*Callithrix jacchus*). *Comp Med* 2003; 53: 369–382.
16. Kurtz TW, Griffin KA, Bidani AK, et al. Recommendations for blood pressure measurement in humans and experimental animals – Part 2: Blood pressure measurement in experimental animals – A statement for professionals from the Subcommittee of Professional and Public Education of the American Heart Association Council on High Blood Pressure Research. *Hypertension* 2005; 45: 299–310.
17. Bodey AR, Young L, Bartram DH, et al. A comparison of direct and indirect (oscillometric) measurements of arterial blood pressure in anaesthetised dogs, using tail and limb cuffs. *Res Vet Sci* 1994; 57: 265–269.
18. Bodey AR, Michell AR, Bovee KC, et al. Comparison of direct and indirect (oscillometric) measurements of arterial blood pressure in conscious dogs. *Res Vet Sci* 1996; 61: 17–21.
19. Haberman CE, Kang CW, Morgan JD, et al. Evaluation of oscillometric and Doppler ultrasonic methods of indirect blood pressure estimation in conscious dogs. *Can J Vet Res* 2006; 70: 211–217.
20. Meyer O, Jenni R, Greiter-Wilke A, et al. Comparison of telemetry and high-definition oscillometry for blood pressure measurements in conscious dogs: effects of torcetrapib. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 2010; 49: 464–471.
21. Martel E, Egner B, Brown SA, et al. Comparison of high-definition oscillometry – a non-invasive technology for arterial blood pressure measurement – with a direct invasive method using radio-telemetry in awake healthy cats. *J Feline Med Surg* 2013; 15: 1104–1113.
22. Schmeling B, Niehoff M, Egner B, et al. High definition oscillometry: a novel technique for non-invasive blood pressure monitoring in the cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*). *J Med Primatol* 2009; 38: 293–301.
23. Egner B. Einführung in die HDO-analyse (high-definition-oscillometry) – Grundlagen. *Kleintier Konkret* 2009; 12: 18–24.
24. Schmeling B, Egner B, Korte SH, et al. High-definition oscillometry: a new method for noninvasive blood pressure measurements in conscious and sedated common marmosets. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 2007; 46: 144.
25. Bramlage CP, Schlumbohm C, Pryce CR, et al. Prenatal dexamethasone exposure does not alter blood pressure and nephron number in the young adult marmoset monkey. *Hypertension* 2009; 54: 1115–1122.
26. Bodey AR and Michell AR. Epidemiological study of blood pressure in domestic dogs. *J Small Anim Pract* 1996; 37: 116–125.
27. Chester AE, Dorr AE, Lund KR, et al. Noninvasive measurement of blood pressure in conscious cynomolgus monkeys. *Fundam Appl Toxicol* 1992; 19: 64–68.

28. Kuehnel F, Mietsch M, Buettner T, et al. The influence of gluten on clinical and immunological status of common marmosets (*Callithrix jacchus*). *J Med Primatol* 2013; 42: 300–309.
29. Bodey AR and Sansom J. Epidemiological study of blood pressure in domestic cats. *J Small Anim Pract* 1998; 39: 567–573.
30. Power RA, Power ML, Layne DG, et al. Relations among measures of body composition, age, and sex in the common marmoset monkey (*Callithrix jacchus*). *Comp Med* 2001; 51: 218–223.
31. de Castro CS, de Menezes AL and Moreira LF. Locomotor activity rhythm in free-ranging common marmosets (*Callithrix jacchus*). *Biol Rhythm Res* 2003; 34: 23–30.
32. Schnell CR and Wood JM. Measurement of blood pressure and heart rate by telemetry in conscious, unrestrained marmosets. *Am J Physiol* 1993; 264: H1509–H1516.
33. Vincent IC, Michell AR and Leahy RA. Non-invasive measurement of arterial blood pressure in dogs: a potential indicator for the identification of stress. *Res Vet Sci* 1993; 54: 195–201.
34. Clarke AS, Mason WA and Mendoza SP. Heart rate patterns under stress in three species of macaques. *Am J Primatol* 1994; 33: 133–148.
35. Mitchell AZ, McMahon C, Beck TW, et al. Sensitivity of two noninvasive blood pressure measurement techniques compared to telemetry in cynomolgus monkeys and beagle dogs. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2010; 62: 54–63.
36. Clozel JP and Fischli W. Cyclosporin-induced hypertension in marmosets: a new model of hypertension sensitive to angiotensin-converting enzyme inhibition. *J Cardiovasc Pharmacol* 1989; 14: 77–81.
37. Michel JB, Huang HM, Guettier C, et al. Renin immunization and angiotensin converting enzyme inhibition in the normotensive marmoset. *J Hypertens* 1989; 7: S218–S219.
38. Yamamoto ME, Domeniconi C and Box H. Sex differences in common marmosets (*Callithrix jacchus*) in response to an unfamiliar food task. *Primates* 2004; 45: 249–254.
39. Box HO. Foraging strategies among male and female marmosets and tamarins (Callitrichidae): new perspectives in an underexplored area. *Folia Primatol* 1997; 68: 296–306.
40. Kang AK and Miller JA. Effects of gender on the renin–angiotensin system, blood pressure, and renal function. *Curr Hypertens Rep* 2002; 4: 143–151.
41. Araujo A, Arruda MF, Alencar AI, et al. Body weight of wild and captive common marmosets (*Callithrix jacchus*). *Int J Primatol* 2000; 21: 317–324.

## Ergebnisse

### 3.2 Publikation 2

Matthias Mietsch, Katrin Baldauf, Susanne Reitemeier, Marcel Suchowski, Heinz-Adolf Schoon, Almuth Einspanier

Blood pressure as prognostic marker for body condition, cardiovascular, and metabolic diseases in the common marmoset (*Callithrix jacchus*)

Journal of Medical Primatology 2016, DOI: 10.1111/jmp.12215

Eigenanteil des Doktoranden:

Matthias Mietsch führte die Versuchsplanung, Blutdruckmessungen, Datensammlung und –zusammenstellung sowie die statistischen Auswertungen durch. Ferner schrieb er das Manuskript.

Anteil der Koautoren:

Katrin Baldauf führte die Ultraschall- und EKG-Untersuchungen durch und stellte die Ultraschallbilder zur Verfügung. Des Weiteren war sie an der sprachlichen und grammatikalischen Korrektur der beschriebenen Ultraschall- und EKG-Befunde beteiligt.

Susanne Reitemeier war an der sprachlichen und grammatikalischen Korrektur des Manuskriptes beteiligt.

Marcel Suchowski und Heinz-Adolf Schoon führten die Sektionen durch, stellten die pathologischen Diagnosen und waren an der sprachlichen und grammatikalischen Korrektur der beschriebenen Sektionsbefunde beteiligt. Marcel Suchowski stellte zusätzlich die makroskopischen und histologischen Bilder zur Verfügung.

Almuth Einspanier war an der Planung und Auswertung der Versuche sowie der inhaltlichen, grammatikalischen und Rechtschreibkorrektur des Manuskriptes beteiligt.

Erhaltene Dienstleistungen:

Das Labor der Medizinischen Tierklinik (Universität Leipzig) und das Institut für Laboratoriumsmedizin, Klinische Chemie und Molekulare Diagnostik (Universität Leipzig) führten die Blut- und Urinanalysen durch.

## ORIGINAL ARTICLE

# Blood pressure as prognostic marker for body condition, cardiovascular, and metabolic diseases in the common marmoset (*Callithrix jacchus*)

Matthias Mietsch<sup>1</sup>, Katrin Baldauf<sup>2</sup>, Susanne Reitemeier<sup>1</sup>, Marcel Suchowski<sup>3</sup>, Heinz-Adolf Schoon<sup>3</sup> & Almuth Einspanier<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Faculty of Veterinary Medicine, Institute of Physiological Chemistry, University of Leipzig, Leipzig, Germany

<sup>2</sup> Faculty of Veterinary Medicine, Department of Small Animal Medicine, University of Leipzig, Leipzig, Germany

<sup>3</sup> Faculty of Veterinary Medicine, Institute of Pathology, University of Leipzig, Leipzig, Germany

## Keywords

aging – cardiovascular – endocardiosis – glycogen – health monitoring – hypertension – liver – nephritis – primate – renal

## Correspondence

Almuth Einspanier, Faculty of Veterinary Medicine, Institute of Physiological Chemistry, University of Leipzig, Leipzig, Germany.

Tel.: +49 341 9738102;

fax: +49 341 9738119;

e-mail: einspanier@vetmed.uni-leipzig.de

Accepted April 9, 2016.

## Abstract

**Background** The increasing life span of *Callithrix jacchus* in combination with the occurrence of metabolic and age-dependent diseases requires improved health surveillance for this species.

**Methods** The health status of 56 marmosets was studied using a non-invasive blood pressure (BP) device. Age-, weight-, and sex-dependent changes were analyzed. Four animals with striking BP findings had follow-up exams.

**Results** Physiological and pathological BP values could be defined. BP positively correlated with age and weight, while no effect of sex could be found. Measurement time for female and older animals was shorter than for male and younger individuals. Further analysis of the suspicious patients revealed renal or hepatic diseases and cardiac alterations.

**Conclusion** The description of age and weight influences on BP delivers physiological and pathological values for common marmosets. This may contribute to the understanding of aging process and cardiology in this primate species.

## Introduction

The common marmoset *Callithrix jacchus* (*C.j.*) is a well-established primate model in different research areas, such as neuroscience, reproduction, toxicology, and social behavior [33]. Its small body size, comparatively low-housing costs, and short reproduction rate distinguish it from other laboratory primates. To maintain stable breeding colonies and to secure animal well-being, appropriate health monitoring is essential. This is especially important as the widespread use of *C.j.* has resulted in a steady increase in its life expectancy and a rise in corresponding diseases [24, 39, 42, 54, 62]. For example, old individuals have a higher risk of developing metabolic disorders such as obesity and diabetes. In addition, they often show signs of kidney alterations (75%) or changes in cardiac performance (60%) [54]. Blood pressure (BP) readings could represent a suitable non-invasive diagnostic tool in the detection of these

diseases [6, 47, 52, 53]. In a previous study, we examined the practicability of BP measurements in common marmosets: A standardized measurement protocol has been established to acquire reliable and comparable values in the *C.j.*, so that first values could be obtained [34]. Moreover, high-definition oscillometry as the latest BP technique has been proven to be suitable for *C.j.* With this technique, additional information on cardiovascular parameters can be obtained [21, 50].

However, further knowledge of physiological and pathological values is required for correct interpretation of data. Although age, body weight, sex, and diseases are known to influence BP in humans and animal species, no data exist yet regarding their influence in *C.j.* Therefore, our study focussed on two objectives: first, to identify the influence of age, weight, and sex on BP in the common marmoset and to determine physiological values and second, to explore the usefulness of readings as an early detector for BP altering diseases. For this

purpose, we examined animals which showed suspicious values during BP measurements via blood sampling and electro- and echocardiography. Finally, pathology of deceased animals aimed to reveal the definite etiology as well as to verify the significance of striking BP readings.

## Materials and methods

### Humane care guidelines

Research approval for this study was granted by the Regional Council Leipzig, Germany (TVV 68/12), and animal husbandry was compliant with the animal care regulations and applicable laws of Germany. The marmosets used in this study were cared for and used humanely.

For this study, measurements were conducted on 56 common marmosets (25 males, 31 females, 14–209 months, 313–499 g) over a period of 30 months. All animals were born either in the German Primate Centre (Göttingen, Germany), in the Primate Unit at the University of Leipzig, Germany, or came from private ownership and went on to live in the colony for at least two or more years. Housing and feeding conditions are described elsewhere [34].

This study consisted of two settings with the following scopes:

- (I) Colony monitoring for analysis of physiological BP values and influences of age, weight, and sex.
- (II) Based on the results of the colony monitoring, four suspicious animals were identified and underwent follow-up exams to evaluate the prognostic value of BP abnormalities.

### Colony monitoring

A commercially available high-definition oscillometric measurement device (VET HDO monitor MD PRO Marmoset; S+B medVET GmbH, Babenhausen, Germany) was used for the BP measurements. Data were analyzed with the corresponding software (S+B medVET Memodiagnosics MDS Analyse Software Version 2.0.3.0). For each reading, systolic (SAP), diastolic (DAP), and mean arterial BP (MAP), measured in mmHg, as well as pulse rate (Pulse), measured in beats per minute (b/min), were recorded. Furthermore, a pressure waveform was created for each measurement.

During colony monitoring, BP acquisition was conducted following a standardized measurement protocol as described previously [34]. As there have been reports of differences in primates regarding cooperation during tasks between old and young as well as between male

and female animals, we chose to include these criteria in our analysis [3, 12, 51]. For this purpose, we gathered the measurement time and the occurrence of artifacts (e.g., movements).

### Case reports

Four female animals showed conspicuous BP values or pulse waves throughout colony monitoring. To evaluate these abnormalities, the following examinations in accordance with data in Table 4 were performed:

For the first step, blood samples were taken either with heparinized (Heparin-Natrium-25000<sup>®</sup>; ratiopharm GmbH, Ulm, Germany) 1-ml syringes (Softject<sup>®</sup>; Henke-Sass Wolf GmbH, Tuttlingen, Germany), for hematological as well as blood chemistry analysis, or with EDTA-coated syringes (EDTA; Carl Roth GmbH + Co, Karlsruhe, Germany), for analysis of lipid and glucose metabolism. Cholesterol and triglyceride values of high-density lipoprotein (HDL), low-density lipoprotein (LDL), and very low-density lipoprotein (VLDL) were gathered. Glucose metabolism was analyzed using an oral glucose tolerance test (OGTT) as described by Holzner et al. (paper in preparation). Data were compared with reference values from the studies by Holzner et al. (glucose metabolism) and Kühnel et al. (lipid metabolism)[29]. After blood collection, each individual was rewarded with gum arabic (aleckwa, Altrip, Germany) and iron supplementation (0.5 ml iron syrup; Ferrum-Hausmann<sup>®</sup>; 50 mg iron/5 ml syrup; Vifor Pharma Deutschland GmbH, München, Germany).

Due to conspicuous kidney values, additional spontaneous urine samples were collected and analyzed in patients 1712.1 and W12.

The blood and urine results of patients 1712.1 and W12 pointed toward a severe kidney disease. Therefore, abdominal ultrasonographic screenings were performed by placing the unshaved animal in dorsal recumbency. Organs were judged with the help of an ultrasonographic measurement device (MyLabOne, Esaote, Köln, Germany) and two different linear probes (6–12 Mhz and 13–25 Mhz, respectively; Esaote, Köln, Germany).

The results of the ultrasonography in patient W12 and the suspicious pulse waves in animal W36 required cardiological ultrasonographic examinations of these patients for which they were positioned in a horizontal, gently stretched position. Echocardiographic examination followed the recommendations by Thomas et al. for small animals [56] and by Hanton et al. for marmosets [25]. For judgement of heart parameters and heart action, 2D, M-Mode, and Doppler ultrasonographic examinations were performed with an ultrasound device (Vivid E9; GE Healthcare, Horten,

Norway) and a 12-Mhz probe. Each measurement was taken from three consecutive cycles. Mitral regurgitation was quantified as mild ( $\leq 20\%$ ), moderate ( $\leq 40\%$ ), or severe ( $> 40\%$ ) by the regurgitant area.

Pathological examinations were performed after the deaths of the four diseased animals to confirm the clinical findings. Representative organ samples were obtained from all four patients and fixated in 4% neutrally buffered formaldehyde for 24 hours. They were then embedded in paraffin, cut into 5  $\mu\text{m}$  slices, and stained with hematoxylin and eosin as well as picrosirius red. For patient W49, periodic acid–Schiff (PAS) as well as Sudan Black stain was made for the detection of polysaccharides and lipids.

### Statistical analysis

Data evaluation was performed using IBM SPSS Statistics Version 22 (IBM, Chicago, IL, USA). Normal distribution was checked using the Kolmogorov–Smirnov test and by visualizing data per histogram. Normally distributed data are presented as mean  $\pm$  standard deviation (SD). In cases of non-normally distributed data, values are shown as median (mdn), 25<sup>th</sup> (P25), and 75<sup>th</sup> (P75) percentile. Sex comparison was conducted using the Mann–Whitney U-test. BP development in dependence of weight was analyzed by Pearson's correlation ( $r$ ) and, in dependence of age, by Spearman's correlation ( $r_s$ ). Linear regression analysis was also performed for both methods. BP development in dependence of weight was examined throughout the whole colony as well as within the weight stable age range (14 months–60 months) [54]. In the case of the regression analysis, the constant ( $a$ ), the coefficients of age ( $b_{\text{age}}$ ) and weight ( $b_{\text{weight}}$ ), the confidence interval (95% confidence interval, CI), and the coefficient of determination ( $R^2$ ) are stated. According to the literature, hypertension and hypotension are defined as BP values that range outside the mean  $\pm 2$  SD with a border zone of possible

hypertension/hypotension for mean  $\pm 1.282$  SD [31, 45]. Statistical significance was set at  $P < 0.05$  and, in cases of highly significance, at  $P < 0.01$ .

## Results

### Colony monitoring

Through application of the previously established BP measurement protocol, average values shown in Table 1 could be obtained during colony surveillance. During the course of the study mdn 8 (P25 4.5, P75 11), sessions per individual were conducted. Males and females showed no significantly different values (SAP:  $P = 0.990$ ; MAP:  $P = 0.333$ ; DAP:  $P = 0.118$ ; Pulse:  $P = 0.854$ ). Neither age nor body weight showed sex-related differences ( $P = 0.114$  and  $P = 0.185$ , respectively, see Table 1). Each BP parameter highly correlated with the others ( $r = 0.900$  (SAP–MAP),  $r = 0.707$  (SAP–DAP), and  $r = 0.944$  (MAP–DAP), respectively). Pearson's correlation coefficients for the connection between Pulse and BP parameters were  $r = 0.155$  (Pulse–SAP),  $r = 0.051$  (Pulse–MAP), and  $r = -0.034$  (Pulse–DAP).

Females were measured significantly faster than males ( $P < 0.001$ ). Furthermore, measurement time declined with advanced age ( $R^2 = -0.367$ ,  $P = 0.005$ ), this effect being stronger for males than for females ( $R^2 = -0.428$  and  $R^2 = -0.262$ , respectively). In addition, movement artifacts occurred less often in older animals when compared to young individuals ( $r_s = -0.516$ ,  $P < 0.001$ ).

Limit values of hypertension and hypotension were calculated based on the colony data and are depicted in Table 2. Furthermore, a border zone of possible hypertension and hypotension was defined.

### Influence of age

Blood pressure development in dependence of age is shown in Fig. 1A. Analysis revealed a correlation of  $r_s = 0.379$  ( $P = 0.004$ ) for MAP and an even stronger

**Table 1** BP values from colony monitoring and sex comparison. Values are stated as mean  $\pm$  SD or mdn (P25, P75) (for age and measurement time, respectively)

	Colony	Female	Male
Age (months)	58.81 (47.62, 100.1)	61.00 (54.56, 101.03)	53.78 (34.80, 96.47)
Weight (g)	401.5 $\pm$ 41.83	409.4 $\pm$ 44.30	391.6 $\pm$ 37.07
SAP (mmHg)	143.2 $\pm$ 10.37	143.2 $\pm$ 11.65	143.2 $\pm$ 8.75
MAP (mmHg)	96.91 $\pm$ 7.43	97.78 $\pm$ 8.62	95.83 $\pm$ 5.59
DAP (mmHg)	71.76 $\pm$ 6.86	73.05 $\pm$ 7.81	70.16 $\pm$ 5.15
Pulse (b/min)	405.5 $\pm$ 31.39	404.8 $\pm$ 29.85	406.4 $\pm$ 33.81
Measurement time (min)	5:27 (4:25, 7:11)	4:54* (4:09, 5:35)	6:38* (5:40, 7:55)

SAP = Systolic blood pressure, MAP = Mean arterial blood pressure, DAP = Diastolic blood pressure, Pulse = Pulse rate. Significant differences are marked with asterisks.

**Table 2** Reference values of hypertension and hypotension (mean BP values  $\pm 2$  SD) in our marmoset colony. A border zone of possible hypertension and hypotension was defined for values  $\pm 1.282$  SD

	Hypertension	Border zone hypertension	Colony mean	Border zone hypotension	Hypotension
SAP	$\geq 163.94$	$\geq 156.49$	143.2	$\leq 129.91$	$\leq 122.46$
MAP	$\geq 111.77$	$\geq 106.44$	96.91	$\leq 87.38$	$\leq 82.05$
DAP	$\geq 85.48$	$\geq 80.55$	71.76	$\leq 62.97$	$\leq 58.04$

SAP = Systolic blood pressure, MAP = Mean arterial blood pressure, DAP = Diastolic blood pressure.

correlation of  $r_s = 0.569$  ( $P < 0.001$ ) for DAP throughout the whole colony. SAP and Pulse showed no change with advanced age ( $r_s = 0.028$ ,  $P = 0.838$  and  $r_s = -0.142$ ,  $P = 0.298$ , respectively).

The association between age and BP remained significant for MAP ( $r_s = 0.509$  with  $P < 0.001$ ) and had strongest effect on DAP ( $r_s = 0.650$ ,  $P < 0.001$ ), taking weight into account as a control variable. Again, SAP showed no correlation with age ( $r_s = 0.200$ ,  $P = 0.142$ ).

#### Influence of weight

The BP trend in dependence of weight is presented in Fig. 1B. All three parameters correlated well with body mass: Throughout the whole colony, there were significant correlations between weight and SAP ( $r = 0.485$ ,  $P < 0.001$ ), MAP ( $r = 0.469$ ,  $P < 0.001$ ), and DAP ( $r = 0.394$ ,  $P = 0.003$ ). Correlation was even stronger in the weight stable age range, with  $r = 0.723$  (SAP),  $r = 0.843$  (MAP), and  $r = 0.789$  (DAP,  $P < 0.001$ ). When controlled for age, partial correlation analysis resulted in  $r = 0.754$  (SAP),  $0.838$  (MAP), and  $0.799$  (DAP), respectively ( $P < 0.001$ ). Again, Pulse did not correlate with higher body mass ( $r = 0.035$ ,  $P = 0.795$ ).

Regression analysis with age and weight as independent variables showed results listed in Table 3. BP increased between 8.9 mmHg (DAP) and 12 mmHg (SAP) for every additional 100 g in body mass. SAP was only able to be predicted by weight. Aging influenced MAP and DAP with a rise in BP of 0.98 mmHg and 1.21 mmHg for every year, respectively. So, for example, a twelve-year-old marmoset physiologically has a BP that is about 10 mmHg higher than that of a two-year-old animal with the same weight.

#### Case reports

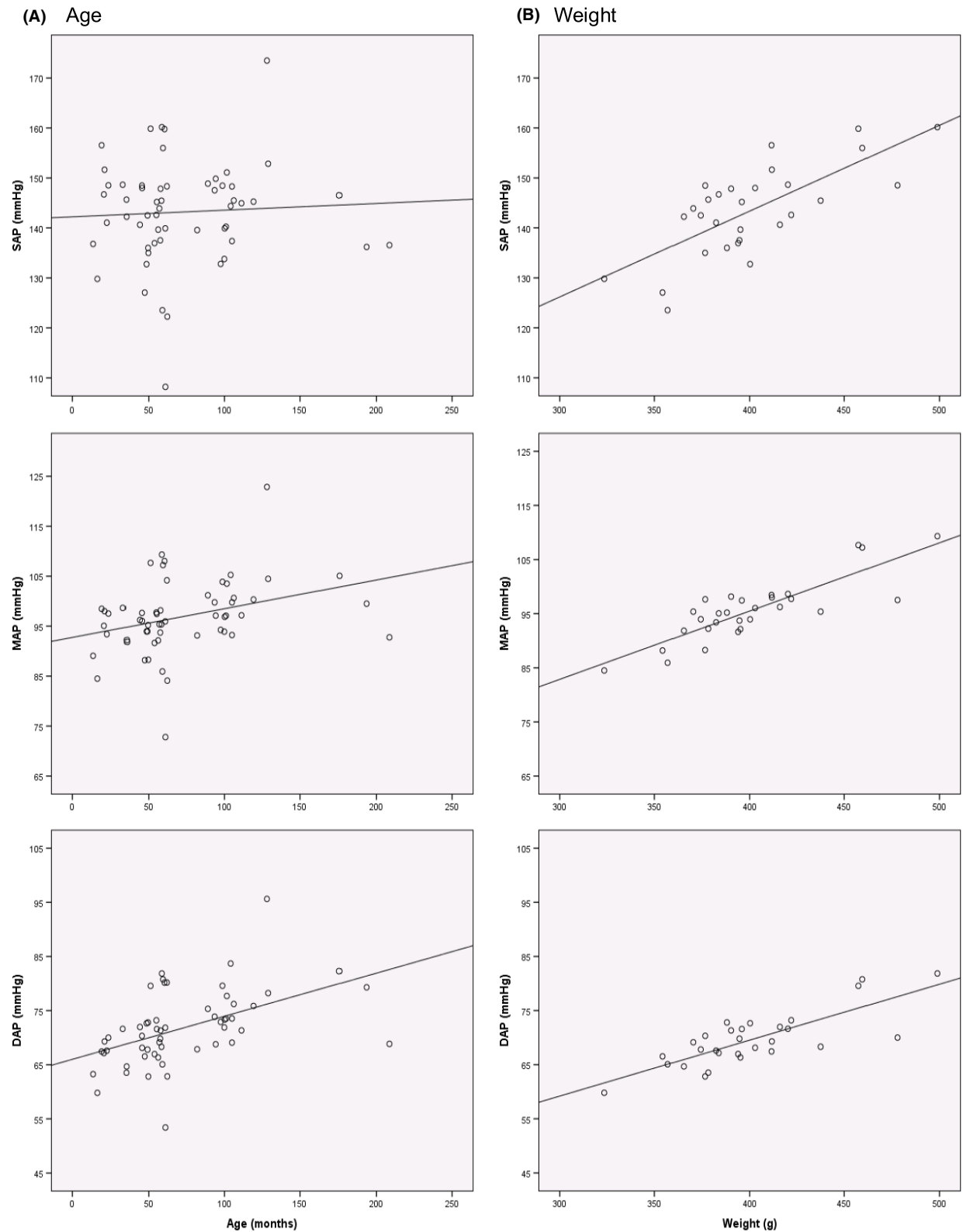
During data acquisition for colony monitoring, four animals with elevated BP values or suspicious pulse waves were identified. These patients were all clinically healthy when BP values were obtained. Their case reports are described below:

#### Patient 1712.1

During BP surveillance, the animal showed continuously elevated values (Table 4 and Fig. 4). Urea and creatinine levels were 18.63 mmol/l and 74  $\mu$ mol/l, respectively. The urine analysis then showed a pH value of 8.5; specific density was 1.012 g/l, protein was 1.90 g/l, and glucose was 0.82 mmol/l. In addition, single squamous epithelial cells, erythrocytes, single leukocytes, and some bacteria were found. The subsequent ultrasonographic examination revealed a highly congested left renal pelvis ( $\varnothing$  9 mm). The opposite kidney showed a mildly congested renal pelvis as well as multiple renal cysts. Consequently, a nephrectomy of the left kidney was performed (bumpy, pink marbled, diameter of the ureter was about 1 cm). The animal continued to live for nine more months. It was euthanized then due to ethical reasons. The pathological examination revealed severe renal changes: chronic interstitial nephritis, glomerulosclerosis, dilation of renal tubules, and a renal cyst (diameter 0.1 cm) (see Fig. 2). Interstitial fibrosis with proteoglycan deposition in the heart and calcification in the aorta (tunica media) and the bronchial tubes were detected. Additional finds were mild low-grade osteodystrophia fibrosa in the ribs, Struma colloides diffusa in the thyroid gland, and mononuclear-dominated infiltration in the adrenal gland.

#### Patient W12

Blood pressure values were in the border zone of suspected hypertension (Table 4). Ten months after starting the study, reduced general condition and mild dehydration were observed. Blood values showed elevated urea and creatinine as well as erythrocytopenia, reduced hemoglobin, and anemia (20.65 mmol/l, 158  $\mu$ mol/l, 2.38 T/l, 3.0 mmol/l, and 0.16 l/l, respectively). Urine had a pH value of 8.0 and a specific gravity of 1.005 g/l. Protein content was 1.47 g/l, and glucose was 0.89 mmol/l. Sonography revealed a congested renal pelvis and ureter as well as enlarged liver vessels and a tumor in the gastric region. Subsequent cardiac sonography showed pericardial and mild pleural effusion (see also Fig. 3) as well as mild aortic regurgitation. Dimensions of the left ventricular wall in diastole



**Fig. 1** BP development in dependence of age (in months, **A**) and weight (in g, **B**, in the weight stable age range (14–60 months)). Increases in systolic (SAP, top row), mean (MAP, middle row) and diastolic BP (DAP, lower row) are visible.



**Table 3** Regression analysis for the prediction of BP values in dependence of age (months) and weight (g)

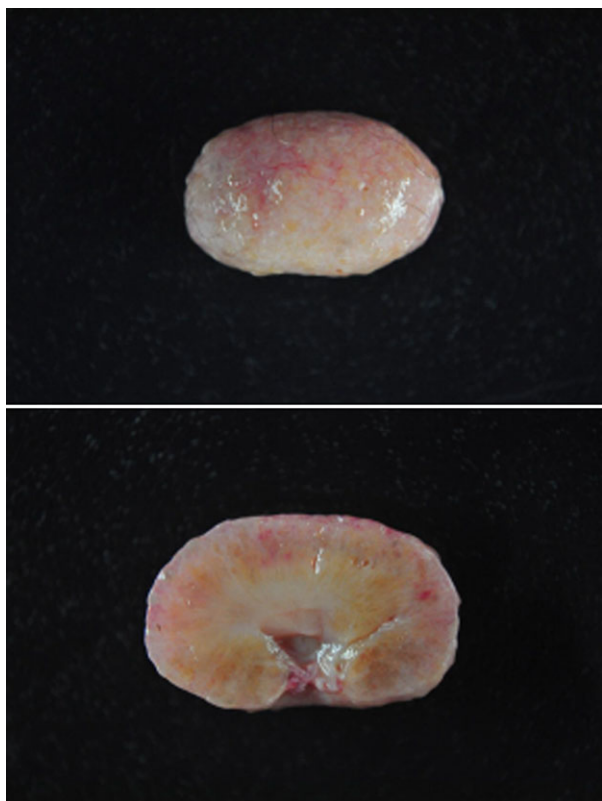
	a	b <sub>age</sub>	b <sub>weight</sub>	R <sup>2</sup>
SAP	94.9 (71.04 to 118.8)	–	0.120 (0.061 to 0.179)	0.236
MAP	49.63 (33.29 to 66.00)	0.082 (0.044 to 0.120)	0.103 (0.065 to 0.141)	0.422
DAP	28.87 (15.01 to 42.73)	0.101 (0.068 to 0.133)	0.089 (0.056 to 0.121)	0.512

a = constant, b<sub>age</sub> = coefficient for age, b<sub>weight</sub> = coefficient for weight, R<sup>2</sup> = coefficient of determination, values in brackets state the 95% confidence interval.

**Table 4** Age and weight distribution of suspicious patients

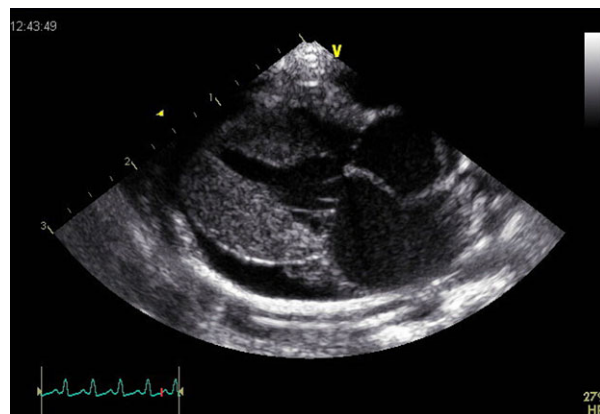
Patient	Age (months)	Weight (g)	BP (mmHg)		
			SAP	MAP	DAP
1712.1	121	424	171.4	121.8	95.10
W12	159	331	152.4	107.7	83.2
W49	48	499	160.2	109.3	81.85
W36	93	460	139.0	96.26	72.82

SAP = Systolic blood pressure, MAP = Mean arterial blood pressure, DAP = Diastolic blood pressure.



**Fig. 2** Photographs of the right kidney of Patient 1712.1. Severe chronic interstitial Nephritis: the renal surface (top image) is bumpy, cortex and medulla are not distinguishable. A mildly congested renal pelvis is visible when cut (lower image).

(LVWd) and interventricular septum in systole (IVSs) were 3.2 mm and 3.1 mm on average. The internal diameter of the left ventricle in diastole (LVIDd)

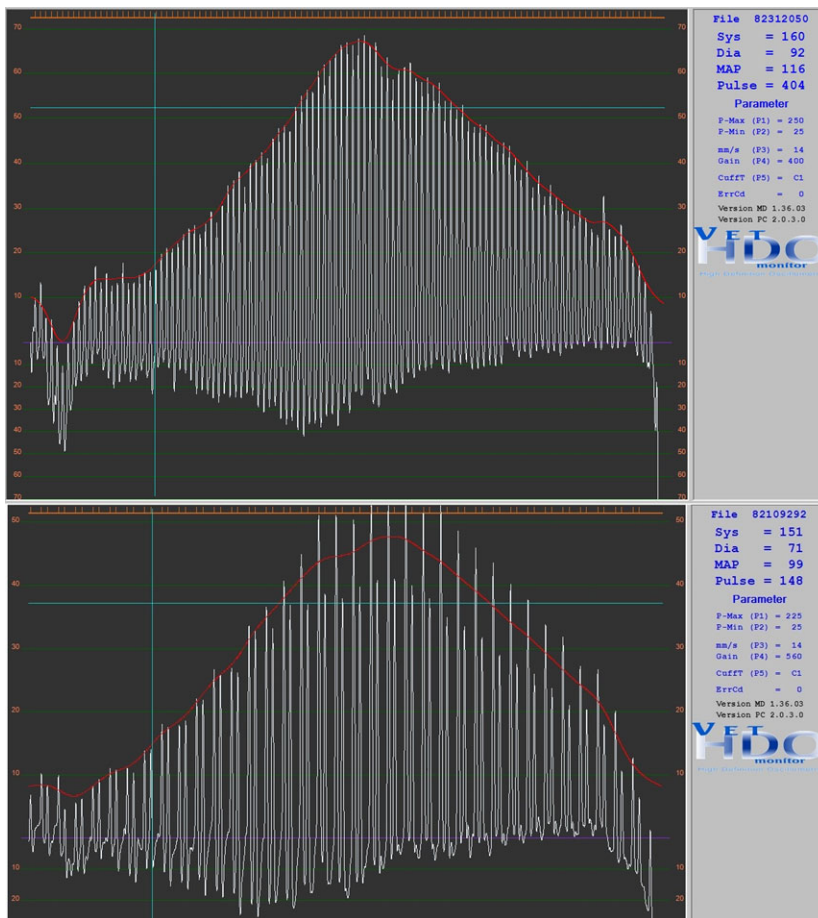


**Fig. 3** Ultrasound picture of patient W12. Right parasternal long axis, four chamber view. Pericardial effusion is visible in the lower left area of the picture, measured at the widest extension. Further measurements made from this view were the atrial dimensions and the left ventricular dimensions, by M-mode.

amounted up to 9.2 mm. Fractional shortening (FS) as a parameter of systolic function was 34%. The ratio of pre-ejection period to left ventricular ejection time (PEP/LVET) as a parameter of systolic function was 0.34. The animal was eventually euthanized due to the progressing illness. Pathological examination uncovered the following alterations: Both kidneys displayed interstitial fibrosis, interstitial nephritis, diffuse glomerulosclerosis, and atrophy of the glomerular loops. The pancreas revealed a lymphosarcoma. The heart examination showed interstitial fibrosis and focal edema of the interstitium with a degeneration of cardiomyocytes. Interstitial fibrosis and catarrhal-purulent bronchopneumonia were found in the lungs. Furthermore, mild arteriosclerosis and deposition of acid mucopolysaccharides could be observed in the aorta.

*Patient W49*

Elevated BP values (see Table 4) were evident in this animal throughout the colony checkup. The conducted blood analysis revealed an altered lipid metabolism: HDL cholesterol was reduced (0.20 mmol/l), whereas HDL triglycerides were within the normal range

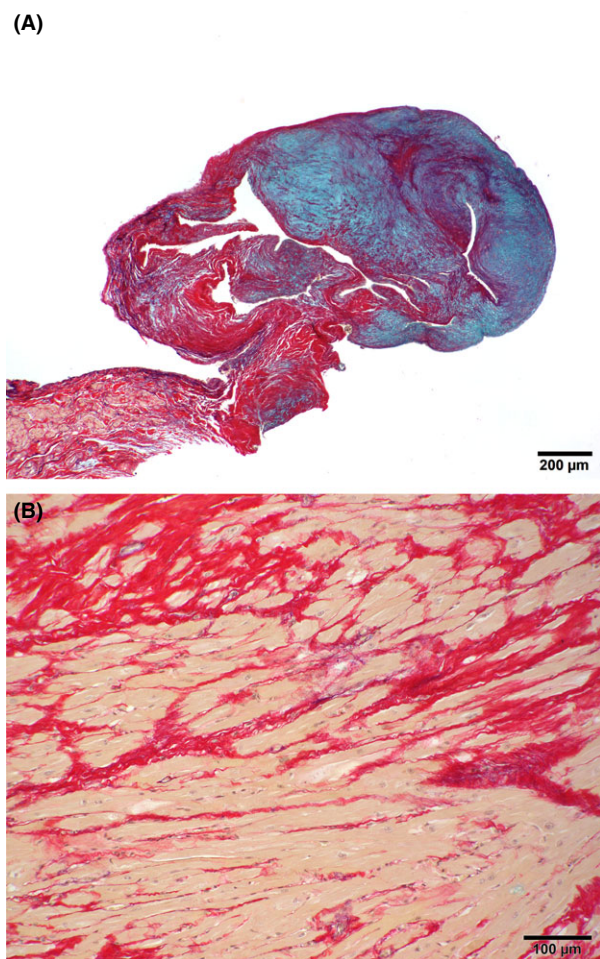


**Fig. 4** Pulse waves of patient 1712.1 (upper picture) and W36. Patient 1712.1 showed a bell shape, but elevated BP values. Although a normal shape is still visible in patient W36, regular interruptions occur nearly every third heartbeat, resulting in stroke volume differences (differences in pulse amplitudes). This finding is indicative for cardiac arrhythmia.

(0.25 mmol/l). LDL triglycerides (4.34 mmol/l) and VLDL values (cholesterol 8.38 mmol/l, triglycerides 3.74 mmol/l) were elevated; LDL cholesterol was in the lower sector of normal range (1.61 mmol/l). Consequently, total cholesterol and triglyceride values were increased (10.20 mmol/l and 8.34 mmol/l, respectively). Furthermore, the liver enzyme alanine aminotransferase was increased (63 U/l); other blood values were inconspicuous. To exclude diabetes, an OGTT was performed: Fasting glucose was normal (5.33 mmol/l) and fasting insulin elevated (0.35 nmol/l), AUC of glucose and insulin was 18.15 (mmol/l)\*h and 0.82 (nmol/l)\*h, respectively, and the Quantitative Insulin Sensitivity Check Index (QUICKI) was 0.274. After the sudden death of the animal, a dissection was performed, which found hepatomegaly with glycogen deposition and separation of liver tissue with hemorrhage. In addition, a hemohydroperitoneum (5 ml) was evident. The kidneys showed glomerular and interstitial nephritis and fibrosis as well as glomerular sclerosis. Moreover, multifocal myocardial fibrosis was observed.

#### *Patient W36*

Blood pressure values were within the normal range (Table 4), but pulse waves showed signs of arrhythmias (as seen in Fig. 4). For clarification, blood analysis, ECG, and repeated echocardiography were performed. Blood values were inconspicuous, but heart changes could be found: ECG showed abnormal single unifocal ventricular premature complexes (no p wave, QRS complex regular, compensatory rest until the next complex), which were identified as unifocal high ventricular extrasystoles. During echocardiographic examinations, the ratio of LA/Ao was 1.3–1.4. LVWd and IVSs averaged 2.8 mm and 2.5 mm during the repeated controls, respectively. LVIDd decreased from 9.1 mm to 7.5 mm during the control examinations. FS ranged from 38 to 43%. PEP/LVET was 0.27–0.40. When the animal had to be euthanized due to therapy-resistant diarrhea, pathology revealed the following heart-related findings: multifocal and confluent fibrosis in both ventricles, heart valves, and septum; and swelling of stromal tissue with deposition of proteoglycans (Fig. 5) and pigments (suspected to be lipofuscin, not shown). These



**Fig. 5** Mitral valve (A) and myocardium (B) of patient W36, Picrosirius red staining. (A) Swelling of the valve is visible as well as proteoglycan deposition (stained in blue). (B) Moderate to severe myocardial fibrosis (red collagen fibres).

changes resemble the phenotype of canine endocardiosis. As a secondary finding, the kidneys showed mild interstitial nephritis as well as glomerulosclerosis.

## Discussion

Due to improvements in husbandry and care, the life span of the common marmoset has increased dramatically during the last decades: Whereas animals averaged six years of age in the last century, recent authors report of colonies with ages around 21 years [39, 54]. This extended life span comes along with corresponding diseases. Similar to humans, the *C.j.* shows cartilaginous changes in intra-articular disks, plaque deposition in the cerebral cortex, and declining neurogenesis [7, 23, 30]. Furthermore, marmosets spontaneously develop high body weight and serve as a model for induced

obesity [1, 55]. Diseases such as diabetes, renal failure, and cardiovascular alterations are common findings in old animals [48, 54]. It is therefore necessary to improve existing health surveillance measurements. One important component might be the regular acquisition of BP data. Nutritional, metabolic, endocrine, and age-dependent diseases often go hand in hand with changes in BP values [6, 47, 53]. But little is known about physiological and pathological data and influencing factors in this species, leading this study to be aimed at the examination of non-invasive BP values in a marmoset colony, putting special focus on the variables age, weight, and sex to evaluate their impact on hypertension in marmosets. The further examination of animals which were identified as 'suspicious' during colony surveillance intended to reveal the importance of an early detection of BP changes.

## BP colony monitoring

We were able to set up physiological and pathological BP values for common marmosets under human care, which may aid the judgement of future studies. Furthermore, similar to humans and other animals, our data proved age and weight to be variables independently influencing BP. The coefficients of determination between 0.236 and 0.512 suggest that there may also be other factors besides age and weight that influence BP in the common marmoset.

Our values partially align with the previous findings: SAP and Pulse mirror results from other HDO investigations, but MAP and DAP differ slightly to the previous reports [14, 50]. This may be due to the broader age and weight range in our study (14–209 months, 313–499 g) compared to the previous reports (up to 24 months/24–50 months and 401–480 g/333–517 g, respectively) as well as our higher number of animals (56 vs. 18/30) and standardized measurement protocol.

In contrast to other species, there were no differences in values for female and male animals [8, 11, 27]. The abstinence of sex-related weight differences in marmosets [4] or influence of restraint may explain this occurrence.

## Influence of body weight

In our study, weight influenced BP values while having the strongest effect on DAP. This is in line with findings in humans and pets: The Framingham study showed that a weight gain of 10% in humans was associated with an increase of 6.5 mmHg in systolic values and detected body weight to be the major hypertensinogenic factor [15]. In animals, higher body weight correlates with BP as well [37, 46, 47]. Only one previous study [14]

suspected that body weight might be a predictor of hypertension in young marmosets ( $\leq 24$  months). However, our study is the first to quantify this effect over a much broader life span in this species.

Because BP increase in combination with obesity is indicative of cardiovascular and metabolic diseases [15, 19], our findings underline the importance of including body weight when judging BP of *C.j.* In addition, the verified connection between weight gain and BP rise may present a predisposition for the common marmoset to be used as model for obesity-related BP changes.

#### *Influence of age*

Different causes for BP changes are present in humans and animals when regarding age: Primary hypertension and systolic hypertension are occurring phenomena [15] in humans and are supposed to be associated mainly with arterial stiffening [61]. These patterns could not be shown in our study, which is in coherence with the literature: Marmosets seldom develop arteriosclerosis naturally [2, 16, 18]. The BP patterns that are assumed to be correlated with the physiological aging process of the *C.j.* seem to be more closely related to those of other animals such as dogs and cats. Their BP rises around 1.3 and 2 mmHg/year [8, 9, 35]. Similar to these animals, our marmosets showed an increase of 0.98 and 1.21 mmHg/year (for MAP and DAP, respectively). The following reasons may be responsible: Pets often develop secondary hypertension as a result of diabetes or kidney diseases [52]. In addition, marmosets show progressive insulin resistance with increasing age [54], while old marmosets are also especially susceptible to kidney alterations (prevalence 75%), which are a major cause of death [13, 48, 54]. Therefore, the increase of BP in marmosets seems to be due to secondary hypertension, likely to be caused by renal changes and insulin resistance. But arterial stiffening as a contributing factor cannot be totally excluded, as the corresponding pattern may be masked by the aforementioned illnesses. For example, two of the four presented patients with renal diseases (patient 1712.1 and W12) showed alterations in the aorta.

The lack of SAP change with age and weaker correlation of SAP with weight compared to MAP and DAP is probably due to two factors: Firstly, oscillometric measurement devices tend to underestimate BP in the hypertensive range, SAP being the most variable and unreliable factor [9, 10, 40, 59]. As a result, several studies proposed to only regard MAP and DAP in BP analysis [22, 49, 58]. Secondly, old marmosets tend to lose weight, beginning after six and accelerating after eight years of age [54], which leads to an increase in cuff

width/thigh circumference ratio and an underestimation of values [60]. In coherence with the literature, our findings question to what extent oscillometric measurements of SAP present a reliable marker for BP changes in common marmosets.

As shown in our data, older and female animals needed less time for data acquisition than younger and male individuals. Furthermore, the decline of movement artifacts in older animals implicates that they concentrate more on the measurements than younger individuals. These findings are in line with the literature: Old NHP focus more on tasks, seem to be more persistent, and show different behavior than juveniles to solve them [3, 28]. These sex-related differences were described previously and are probably due to higher emotional reactivity as well as less motivation of male individuals [12, 51, 63]. These data implicate that aged and female animals are comparatively easy to measure, whereas young and male individuals should be handled more carefully during the measurements.

#### **Case reports**

As a result of the monitoring, we identified four BP-suspicious animals in the colony. Further examination of these patients aimed to judge the importance of BP measurements as an early predictor of diseases. The general findings support results from the previous studies in common marmosets: All patients showed varying degrees of myocardial and renal alterations. These changes are rare in young common marmosets and are seldom a cause of death [18, 20]. In addition, studies in old marmoset colonies found myocardial fibrosis in 60% of all individuals [48] as well as inflammatory cell infiltration, mineralization, and myocarditis [16]. Furthermore, cardiac and renal alterations are major causes of death in animals above the age of six years. They account for up to 14% (cardiac) and 18% (renal) of all cases [48]. These kinds of diseases could ultimately lead to severe target organ damage and, in the case of cardiac alteration, to heart dysfunction or arrhythmia. An early diagnosis of affected animals (e.g., via BP measurements) is therefore crucial for health maintenance.

#### *Patients 1712.1 and W12*

Both patients showed severe chronic renal diseases. Blood analysis (rise in urea and creatinine values as well as anemia) and urinalysis confirmed the suspicion [41]. Unfortunately, no urine reference values for glucose or pH values are stated for common marmosets. Following previously published urine protein values, patient W12

would be in the upper range and patient 1712.1 within the borderline [17].

Histologically, both animals displayed the typical signs of kidney alterations often found in marmosets [13, 26]. The underlying reason for the congested renal pelvis and ureter in patient 1712.1 could not be evaluated conclusively, but they could have been caused by ureteral calculi [38]. The secondary findings in patient 1712.1 (alterations in the ribs and calcification in aorta and bronchial tubes) were also typical for renal diseases, through which renal hyperthyroidism and metastatic calcification may occur [36].

In contrast to this, patient W12 additionally showed cardiac changes: Heart dimensions (LVWd, IVSs) were indicative of cardiac hypertrophy [25], although markers of heart function (LA/Ao ratio and FS) had not yet been influenced. The enlarged liver vessels as well as the pleural effusion may have been caused by pericardial effusion, which can develop as a result of tumorous processes or inflammation [57]. Due to the fact that no tumor was found, uremic pericarditis and pneumonitis, caused by the kidney insufficiency, may have been responsible for these findings. Alternatively, the pericarditis could have developed spontaneously. The aortic regurgitation might have been caused by arteriosclerosis and mucopolysaccharid deposition in the aorta, leading to an increase in arterial stiffness and, subsequently, in afterload.

As exemplified by these two patients, chronic kidney diseases in old marmosets occur on a regular basis. As they are usually accompanied by hypertension, BP screenings might be helpful in early detection of affected animals.

#### *Patient W49*

This patient showed changes that were due to an acute liver problem. We found an intense accumulation of glycogen in the hepatocytes, which was likely to be responsible for the fragile liver structure and ruptures resulting in the death of the animal. Abnormal glycogen accumulation might be caused by hyperadrenocorticism, steroid-induced hepatopathy, diabetes mellitus, or glycogen storage disease [38, 44]. A genetic component resulting in glycogen storage disease is rather unlikely, due to the fact that both parents and all siblings were healthy. Neither macroscopic nor histologic abnormalities pointing to hyperadrenocorticism were found, and the animal did not receive corticoids. The changes in glucose homeostasis (elevated fasting insulin and insulin AUC, decreased QUICKI value) are typical for overweight individuals and are indicative of insulin

resistance as a preliminary stage of diabetes mellitus [43]. The animal was also heavier than the colony mean and showed changes in lipid metabolism. This can regularly be observed in obese marmosets [55]. To summarize, these findings suggest the existence of a severe metabolic disorder. This diagnosis may be simplified by regular BP screenings especially in overweight or suspicious animals.

#### *Patient W36*

Multiple cardiac changes were evident in this patient. Pulse waves and echocardiography revealed an insufficiency of the mitral valve with regurgitation, which was confirmed by the pathological findings. The fibrosis in combination with tissue swelling and proteoglycan deposition resembled the phenotype of canine endocardiosis [5]. Added to that, mild cardiac hypertrophy was identified: Heart dimensions (LVWd, IVSs) were elevated, and the ventricle diameter (LVIDd) decreased during the course of our study. Unfortunately, comparison with the literature is complicated by the fact that previous reports examined animals under medetomidine anesthesia. This could have influenced values [25]. The other parameters of heart function were normal compared to reference values for other animals (LA/Ao < 1.5) [25, 32].

These findings should not have hemodynamic significance in the conscious marmoset, but they might increase the risk of cardiac arrhythmias, for example, during anesthesia [54]. Adequate cardiovascular surveillance may therefore constitute an important parameter in early detection of cardiac changes, even when the animal appears to be clinically healthy.

In summary, this report on physiological BP values of the *C.j.* emphasized age and weight to be independently associated with BP. In addition, our findings confirm the regular occurrence of cardiovascular and renal changes in marmoset-breeding colonies. Our study proved BP readings to be not only of importance for heart and kidney patients, but also of considerable benefit for the monitoring of old and overweight animals. As a secondary finding, we clarified influences of sex on BP values in common marmosets. The fact that females and older individuals were easier to measure supports previous studies.

#### **Acknowledgment**

The authors would like to thank Vicki Bachner, Christin Meinhardt, Robert Nestler, Alexandra Holzner, and Susanne Tätzner for their contribution to this work.

## References

- 1 Hart BA, Abbott DH, Nakamura K, Fuchs E: The marmoset monkey: a multi-purpose preclinical and translational model of human biology and disease. *Drug Discov Today* 2012; **17**:1160–5.
- 2 Abee CR, Mansfield K, Tardif S, Morris T: *Nonhuman Primates in Biomedical Research*. London: Academic Press Inc., Elsevier Science, 2012.
- 3 Aizawa K, Ageyama N, Yokoyama C, Hisatsune T: Age-dependent alteration in hippocampal neurogenesis correlates with learning performance of macaque monkeys. *Exp Anim* 2009; **58**:403–7.
- 4 Araujo A, Arruda MF, Alencar AI, Albuquerque F, Nascimento MC, Yamamoto ME: Body weight of wild and captive common marmosets (*Callithrix jacchus*). *Int J Primatol* 2000; **21**:317–24.
- 5 Aupperle H, Maerz I, Thielebein J, Kiefer B, Kappe A, Schoon H: Immunohistochemical characterization of the extracellular matrix in normal mitral valves and in chronic valve disease (endocardiosis) in dogs. *Res Vet Sci* 2009; **87**:277–83.
- 6 Bartges JW: Chronic kidney disease in dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2012; **42**:669–692.
- 7 Berkovitz BK, Pacy J: Age changes in the cells of the intra-articular disc of the temporomandibular joints of rats and marmosets. *Arch Oral Biol* 2000; **45**:987–95.
- 8 Bodey AR, Michell AR: Epidemiological study of blood pressure in domestic dogs. *J Small Anim Pract* 1996; **37**:116–25.
- 9 Bodey AR, Michell AR: Longitudinal studies of reproducibility and variability of indirect (oscillometric) blood pressure measurements in dogs: evidence for tracking. *Res Vet Sci* 1997; **63**:15–21.
- 10 Bodey AR, Michell AR, Bovee KC, Buranakurl C, Garg T: Comparison of direct and indirect (oscillometric) measurements of arterial blood pressure in conscious dogs. *Res Vet Sci* 1996; **61**:17–21.
- 11 Bodey AR, Sansom J: Epidemiological study of blood pressure in domestic cats. *J Small Anim Pract* 1998; **39**:567–73.
- 12 Box HO: Foraging strategies among male and female marmosets and tamarins (Callitrichidae): new perspectives in an underexplored area. *Folia Primatol* 1997; **68**:296–306.
- 13 Brack M, Schroeder C, Fooke M, Schlumberger W: IgM IgA nephropathy in callitrichids: antigen studies. *Nephron* 1999; **82**:221–31.
- 14 Bramlage CP, Schlumbohm C, Pryce CR, Mirza S, Schnell C, Amann K, Armstrong VW, Eitner F, Zapf A, Feldon J, Oellerich M, Fuchs E, Mueller GA, Strutz F: Prenatal dexamethasone exposure does not alter blood pressure and nephron number in the young adult marmoset monkey. *Hypertension* 2009; **54**:1115–22.
- 15 Carretero OA, Oparil S: Essential hypertension Part I: definition and etiology. *Circulation* 2000; **101**:329–35.
- 16 Chamanza R, Parry NMA, Rogerson P, Nicol JR, Bradley AE: Spontaneous lesions of the cardiovascular system in purpose-bred laboratory nonhuman primates. *Toxicol Pathol* 2006; **34**:357–63.
- 17 Collins MG, Rogers NM, Jesudason S, Kireta S, Brealey J, Coates PT: Spontaneous glomerular mesangial lesions in common marmoset monkeys (*Callithrix jacchus*): a benign non-progressive glomerulopathy. *J Med Primatol* 2014; **43**:477–87.
- 18 David JM, Dick JEJ, Hubbard GB: Spontaneous pathology of the common marmoset (*Callithrix jacchus*) and tamarins (*Saguinus oedipus*, *Saguinus mystax*). *J Med Primatol* 2009; **38**:347–59.
- 19 Davy KP, Hall JE: Obesity and hypertension: two epidemics or one? *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004; **286**:R803–13.
- 20 Donnelly KB: Cardiac valvular pathology: comparative pathology and animal models of acquired cardiac valvular diseases. *Toxicol Pathol* 2008; **36**:204–17.
- 21 Egner B: Einführung in die HDO-analyse (high-defintion-oscillometry) – Grundlagen. *kleintier konkret*, 2009; **12**:18–24.
- 22 Garofalo NA, Neto FJT, Alvaides RK, de Oliveira FA, Pignaton W, Pinheiro RT: Agreement between direct, oscillometric and Doppler ultrasound blood pressures using three different cuff positions in anesthetized dogs. *Vet Anaesth Analg* 2012; **39**:324–34.
- 23 Geula C, Nagykerly N, Wu CK: Amyloid-beta deposits in the cerebral cortex of the aged common marmoset (*Callithrix jacchus*): incidence and chemical composition. *Acta Neuropathol* 2002; **103**:48–58.
- 24 Giannico AT, Somma AT, Lange RR, Andrade JNBM, Lima L, Souza AC, Montiani-Ferreira F: Electrocardiographic values in marmosets (*Callithrix penicillata*). *Pesqui Vet Bras* 2013; **33**:937–41.
- 25 Hanton G: *Echocardiography in Marmosets: a Non-Invasive Method for the Assessment of Cardiovascular Toxicology*. New York: Waxmann, 2006.
- 26 Isobe K, Adachi K, Hayashi S, Ito T, Miyoshi A, Kato A, Suzuki M: Spontaneous glomerular and tubulointerstitial lesions in common marmosets (*Callithrix jacchus*). *Vet Pathol* 2012; **49**:839–45.
- 27 Kang AK, Miller JA: Effects of gender on the renin-angiotensin system, blood pressure, and renal function. *Curr Hypertens Rep* 2002; **4**:143–51.
- 28 Kubo N, Koyama T, Kawasaki K, Tsuchida J, Sankai T, Terao K, Yoshikawa Y: Behavioral compensations in a positional learning and

- memory task by aged monkeys. *Behav Processes* 2001; **56**:15–22.
- 29 Kuehnel F, Grohmann J, Buchwald U, Koeller G, Teupser D, Einspanier A: Parameters of haematology, clinical chemistry and lipid metabolism in the common marmoset and alterations under stress conditions. *J Med Primatol* 2012; **41**:241–50.
- 30 Leuner B, Kozorovitskiy Y, Gross CG, Gould E: Diminished adult neurogenesis in the marmoset brain precedes old age. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; **104**:17169–73.
- 31 Lin C, Yan C, Lien Y, Huang H: Systolic blood pressure of clinically normal and conscious cats determined by an indirect Doppler method in a clinical setting. *J Vet Med Sci* 2006; **68**:827–32.
- 32 Ljungvall I, Hoglund K, Lilliehook I, Oyama MA, Tidholm A, Tvedten H, Haggstrom J: Serum serotonin concentration is associated with severity of myxomatous mitral valve disease in dogs. *J Vet Intern Med* 2013; **27**:1105–12.
- 33 Mansfield K: Marmoset models commonly used in biomedical research. *Comp Med* 2003; **53**:383–92.
- 34 Mietsch M, Einspanier A: Non-invasive blood pressure measurement: values, problems and applicability in the common marmoset (*Callithrix jacchus*). *Lab Anim* 2015; **49**:241–50.
- 35 Mishina M, Watanabe T, Fujii K, Maeda H, Wakao Y, Takahashi M: Non-invasive blood pressure measurements in cats: clinical significance of hypertension associated with chronic renal failure. *J Vet Med Sci* 1998; **60**:805–8.
- 36 Molenaar FM, van Reekum FE, Rookmaaker MB, Abrahams AC, van Jaarsveld BC: Extraosseous calcification in end-stage renal disease: from visceral organs to vasculature. *Semin Dial* 2014; **27**:477–87.
- 37 Montoya JA, Morris PJ, Bautista I, Juste MC, Suarez L, Pena C, Hackett RM, Rawlings J: Hypertension: a risk factor associated with weight status in dogs. *J Nutr* 2006; **136**:2011S–3S.
- 38 Morgan RV, Bright RM, Swartout MS: Handbook of Small Animal Practice. Philadelphia: Saunders, 2003.
- 39 Nishijima K, Saitoh R, Tanaka S, Ohsato-Suzuki M, Ohno T, Kitajima S: Life span of common marmoset (*Callithrix jacchus*) at CLEA Japan breeding colony. *Biogerontology* 2012; **13**:439–43.
- 40 Petrič AD, Petra Z, Jerneja S, Alenka S: Comparison of high definition oscillometric and Doppler ultrasonic devices for measuring blood pressure in anaesthetized cats. *J Feline Med Surg* 2010; **12**:731–7.
- 41 Phillips JK, Boyd R, Krockenberger MB, Burgio G: Progression of anemia and its relationship with renal function, blood pressure, and erythropoietin in rats with chronic kidney disease. *Vet Clin Pathol* 2015; **44**:342–54.
- 42 Power ML, Ross CN, Schulkin J, Tardif SD: The development of obesity begins at an early age in captive common marmosets (*Callithrix jacchus*). *Am J Primatol* 2012; **74**:261–9.
- 43 Power ML, Ross CN, Schulkin J, Ziegler TE, Tardif SD: Metabolic consequences of the early onset of obesity in common marmoset monkeys. *Obesity (Silver Spring)* 2013; **21**:E592–8.
- 44 Radziuk J, Pye S: Hepatic glucose uptake, gluconeogenesis and the regulation of glycogen synthesis. *Diabetes Metab Res Rev* 2001; **17**:250–72.
- 45 Remillard RL, Ross JN, Eddy JB: Variance of indirect blood-pressure measurements and prevalence of hypertension in clinically normal dogs. *Am J Vet Res* 1991; **52**:561–5.
- 46 Rocchini AP: Hypertension and insulin resistance are not directly related in obese dogs. *Hypertension* 2004; **43**:1011–6.
- 47 Rocchini AP, Moorhead C, Wentz E, Deremer S: Obesity-induced hypertension in the dog. *Hypertension* 1987; **9**:III64.
- 48 Ross CN, Davis K, Dobek G, Tardif SD: Aging phenotypes of common marmosets (*Callithrix jacchus*). *J Aging Res* 2012; **2012**:567143.
- 49 Rysnik MK, Cripps P, Iff I: A clinical comparison between a non-invasive blood pressure monitor using high definition oscillometry (Memodiagnostic MD 15/90 Pro) and invasive arterial blood pressure measurement in anaesthetized dogs. *Vet Anaesth Analg* 2013; **40**:503–11.
- 50 Schmelting B, Egnor B, Korte SH, Weinbauer G: High-definition oscillometry: a new method for noninvasive blood pressure measurements in conscious and sedated common marmosets. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 2007; **46**:144.
- 51 Schubiger MN, Wustholz FL, Wunder A, Burkart JM: High emotional reactivity toward an experimenter affects participation, but not performance, in cognitive tests with common marmosets (*Callithrix jacchus*). *Anim Cogn* 2015; **18**:701–12.
- 52 Stepien RL: Pathophysiology of Systemic Hypertension and Blood Pressure Assessment. St. Louis, Missouri: Saunders, Elsevier, 2010.
- 53 Struble AL, Feldman EC, Nelson RW, Kass PH: Systemic hypertension and proteinuria in dogs with diabetes mellitus. *JAMA* 1998; **213**:822–825.
- 54 Tardif SD, Mansfield KG, Ratnam R, Ross CN, Ziegler TE: The marmoset as a model of aging and age-related diseases. *ILAR J* 2011; **52**:54–65.
- 55 Tardif SD, Power ML, Ross CN, Rutherford JN, Layne-Colon DG, Paulik MA: Characterization of obese phenotypes in a small nonhuman primate, the common marmoset (*Callithrix jacchus*). *Obesity (Silver Spring)* 2009; **17**:1499–505.
- 56 Thomas WP: Two-dimensional, real-time echocardiography in the dog – technique and anatomic validation. *Vet Radiol Ultrasound* 1984; **25**:50–64.

- 57 Tilley L, Smith F, Oyama M, Sleeper M: Manual of Canine and Feline Cardiology. St. Louis: Saunders, Elsevier, 2007.
- 58 Tunsmeier J, Hopster K, Feige K, Kastner SB: Agreement of high definition oscillometry with direct arterial blood pressure measurement at different blood pressure ranges in horses under general anaesthesia. *Vet Anaesth Analg* 2015; **42**:286–91.
- 59 Vachon C, Belanger MC, Burns PM: Evaluation of oscillometric and Doppler ultrasonic devices for blood pressure measurements in anesthetized and conscious dogs. *Res Vet Sci* 2014; **97**: 111–7.
- 60 Valtonen MH, Eriksson LM: Effect of cuff width on accuracy of indirect measurement of blood pressure in dogs. *Res Vet Sci* 1970; **11**:358–362.
- 61 Weber MA, Neutel JM, Cheung DG: Hypertension in the aged – a pathophysiologic basis for treatment. *Am J Cardiol* 1989; **63**: H25–32.
- 62 Wu X, Chen H, Wang Y, Li H: The relationship between coronary risk factors and elevated 1-h postload plasma glucose levels in patients with established coronary heart disease. *Clin Endocrinol* 2013; **78**:67–72.
- 63 Yamamoto ME, Domeniconi C, Box H: Sex differences in common marmosets (*Callithrix jacchus*) in response to an unfamiliar food task. *Primates* 2004; **45**:249–54.



### 4 Diskussion

Bluthochdruck gilt als wichtiger Risikofaktor für kardiovaskuläre Krankheiten und Nierenveränderungen. Um einen ersten Überblick über Zustand und Funktionalität des Herzkreislaufsystems zu gewinnen, sind Blutdruckmessungen daher aussagekräftig und sinnvoll. Veränderte Werte stellen oft Symptome verschiedenster endokrinologischer, metabolischer oder altersassoziierter Erkrankungen dar (Egner 2005). Vor dem Hintergrund, dass zunehmend überzeugende Hinweise für eine direkte Verbindung zwischen Bluthochdruck und Herzkreislauferkrankungen publiziert werden, gewinnt die regelmäßige Blutdrucküberwachung immer mehr an Bedeutung (PICKERING et al. 2005).

Auch in der veterinärmedizinischen Betreuung von Weißbüschelaffen sind genaue Kenntnisse über physiologische Werte dieses Parameters notwendig, um das Wohlbefinden und die Gesundheit der Tiere zu verbessern sowie vorzeitige Tierverluste zu vermeiden bzw. zu verringern. Vor allem mit Blick auf die Umsetzung des Tierschutzkonzeptes im Sinne des 3 R-Prinzipes ist dies von Bedeutung (RUSSELL und BURCH 1992). Dies betrifft auch Weißbüschelaffen. Verbesserungen in Haltung und Fütterung sowie der vermehrte Einsatz älterer Tiere in verschiedenen Forschungsbereichen führten in den vergangenen Jahrzehnten zu einer immer weiter gestiegenen Lebenserwartung dieser Tiere (DAVID et al. 2009, HEIDERSTADT und KENNETT 2011, JENNINGS et al. 2009, LAYNE und POWER 2003, LUTZ und NOVAK 2005, TARDIF et al. 2011). Die damit einhergehenden Erkrankungen bedürfen einer intensivierten Gesundheitsüberwachung, zu der Blutdruckdaten wichtige Informationen liefern können.

Vereinzelte Daten über Blutdruckwerte bei Weißbüschelaffen existieren bereits in der Literatur, meistens jedoch im Zusammenhang mit invasiven Messmethoden, geringen Tierzahlen, vergleichsweise jungen Tieren oder einer kleinen Gewichtsspanne. Leider sind die benutzten Messprotokolle unvollständig und unterscheiden sich z.T. deutlich; zusätzlich sind Faktoren wie Geschlecht, Alter und Gewicht bisher kaum berücksichtigt worden.

Ein Ziel dieser Studie war es daher, beim Weißbüschelaffen den Einfluss physiologischer Faktoren auf das kardiovaskuläre System (wie beim Menschen und anderen Spezies beschrieben) zu überprüfen und zu quantifizieren. Dazu wurde der Blutdruck als wichtiger Parameter zur Beurteilung der Herzgesundheit und des Blutgefäßsystems ausgewählt. Um

## Diskussion

aber vergleichbare und reproduzierbare Werte zu erhalten, war es vorher notwendig, ein standardisiertes Messprotokoll zur Erhebung der Werte, wie vom ACVIM (BROWN et al. 2007) gefordert, zu etablieren. Dies ist wichtig, da verschiedene Faktoren wie Fixierung des Tieres, die Tageszeit, Messstellen, Artefakte wie Lautäußerungen oder Bewegungen sowie Anzahl der Messungen einen entscheidenden Einfluss auf das Endergebnis haben.

Aufbauend auf der Etablierung des Messprotokolls wurde ein Koloniamonitoring über 30 Monate durchgeführt, um physiologische und pathologische Blutdruckdaten zu erheben sowie die Reproduzierbarkeit der Daten zu überprüfen.

Die in dieser Zeit festgestellten Auffälligkeiten wurden abschließend weiterführend abgeklärt, um die praktische Aussagekraft veränderter Blutdruckwerte zu überprüfen.

Im Folgenden wird zuerst die Auswertung des Messprotokolls im Rahmen der Pilotstudie diskutiert. Dem folgen die Besprechung der Ergebnisse des Koloniamonitorings im Zuge der Hauptstudie und die Diskussion der Fallbeispiele.

### 4.1 Pilotstudie

#### 4.1.1 Messlokalisierung

Zur Etablierung des Messprotokolls wurde zunächst der Einfluss möglicher Messlokalisationen untersucht. Dazu wurden bei 10 Tieren jeweils die rechte und linke Hintergliedmaße sowie der Schwanz als mögliche Stelle zur Werteerhebung ausgetestet. Die Ergebnisse zeigten, dass sich die Beine trotz ähnlicher Werte und Messzeit besser zur Erhebung des Blutdrucks eignen als der Schwanz. Dies lag vor allem an der höheren Genauigkeit der Oberschenkelwerte bzw. der deutlich geringeren Schwankungen im Messwertvergleich. Es handelt sich hierbei um ein Unterscheidungsmerkmal zu den Protokollen bei Nagern und Kleintieren, bei denen Messungen oft am Schwanz durchgeführt werden, da z.B. bei Hund und Katze auf diese Weise keine Fixierung notwendig ist und die Tiere dementsprechend entspannter sind (BODEY et al. 1996, FENG und DIPETRILLO 2009, GROSS und LUFT 2003, HABERMAN et al. 2006, KREGG et al. 1995). Ausschlaggebend für die gefundenen Präzisionsunterschiede sind vermutlich zwei Gründe: zum einen differiert die Fixierung der Weißbüschelaffen stark von der der Kleintiere (Hunde / Katzen) und Nagetiere

## Diskussion

(Ratten und Mäuse) (LUDLAGE und MANSFIELD 2003, SCHULTZ-DARKEN 2003). So können bei normaler Handhabung von Primaten die Beine besser ruhig gehalten und Artefakte bzw. Unruhwerte eher vermieden werden als am Schwanz. Zweitens umschließt die Messmanschette am Bein mehr Gewebe als am Schwanz. Durch Untersuchungen beim Menschen und anderen Spezies ist bereits bekannt, dass zu große Manschetten zu einer Unterschätzung der Werte führen, während zu kleine Manschetten für falsch hohe Werte verantwortlich sind (HENIK et al. 2005, SCHULZE et al. 2000). Daher wird grundsätzlich ein Verhältnis für Manschettenbreite:Beinumfang von 40 % empfohlen. Dieses Verhältnis wich bei unseren Tieren am Schwanz für die kommerziell erhältlichen und benutzten Manschetten mit 85,4 % für die kleinste und sogar 102 % für die große Manschette deutlich von diesen Empfehlungen ab, während die Messungen am Bein mit 46 % deutlich besser den Empfehlungen entsprachen. Zu beachten ist hierbei allerdings, dass Tiere im Wachstum sowie alte Individuen einen geringeren Beinumfang aufweisen und dementsprechend Vorsicht bei der Anwendung der üblichen Manschetten geboten ist.

Zur möglichst exakten Erhebung von Werten ist also eine Messung am Bein zu empfehlen. Zuvor sollten allerdings der Beinumfang ausgemessen und das Verhältnis zum Umfang der Manschette bestimmt werden, um eine korrekte Manschettengröße auswählen und damit falsch hohe oder niedrige Werte vermeiden zu können.

### **4.1.2 Zeitpunkt der Messung**

Zur Überprüfung der Praktikabilität nicht-invasiver Blutdruckmessungen sollte des Weiteren der Einfluss der Tageszeit untersucht werden, denn häufig können Experimente aufgrund von Personal- oder Geräteverfügbarkeit/ -kapazitäten nur zu bestimmten Uhrzeiten durchgeführt werden.

Weißbüschelaffen folgen sowohl in freier Wildbahn (CASTRO et al. 2003) als auch unter Laborbedingungen (ARNOLD et al. 2011, ERKERT 1989, HOFFMANN et al. 2012, HORII et al. 2002) einem mehrphasigen Aktivitätsmuster im Laufe des Tages, welches sich aus Perioden der Ruhe, des Fressens und des Futtersuchverhaltens zusammensetzt. So sind die Tiere bspw. nach der morgendlichen Fütterung gesättigt und gut ausgeruht; dies begünstigt kognitive Tests. Im Gegensatz dazu zeigen Weißbüschelaffen in den Nachmittagsstunden ein

## Diskussion

ausgeprägtes Futtersuchverhalten, wodurch sich Studien zur Aktivität besser in dieser Zeitspanne durchführen lassen (ARNOLD et al. 2011).

Daher wurde im nächsten Schritt untersucht, ob die Aktivitätsmuster oder die physiologischen Variationen auch Einfluss auf die Gewinnung der Blutdruckwerte oder die Daten selbst haben. Es zeigte sich, dass sich Messungen am Morgen nicht von denen am Nachmittag unterscheiden; weder hinsichtlich der absoluten Werte noch der Dauer zur Datengewinnung.

Dies erscheint zunächst ungewöhnlich, denn Körpertemperatur, Herzfrequenz und Blutdruck unterliegen beim Weißbüschelaffen wie auch bei anderen Spezies zirkadianen Schwankungen, die durch Veränderungen im Aktivitätsmuster, Aktivierung des sympathischen Nervensystems und den Zeitpunkt der Fütterung bedingt sind (HOFFMANN et al. 2012, MILLAR-CRAIG et al. 1978, MOCHEL et al. 2014, SCHNELL und WOOD 1993, VAN DEN BUUSE 1994). Allerdings sind diese Unterschiede vor allem beim Blutdruck sehr klein, was eine Detektion schwierig gestaltet. Die zirkadianen Blutdruckschwankungen betragen beim Weißbüschelaffen z.B. nur ca. 5 mmHg während der Helligkeitsphase des Tages (SCHNELL und WOOD 1993).

Diese kleinen Unterschiede werden vermutlich durch die Erregung der Tiere beim Messen kompensiert. Erhöhungen der physiologischen Körperparameter unter Stress oder in ungewohnten Situationen sind dabei selbst bei trainierten Weißbüschelaffen, Rhesusaffen, Hunden, Katzen, Nagetieren und Menschen beschrieben (BELEW et al. 1999, CARVALHO SOARES et al. 2012, GERBER et al. 2002, GERBER und SCHNELL 2004, HASSIMOTO und HARADA 2003, HÖGLUND et al. 2012, MANCIA et al. 1983, QUIMBY et al. 2011, REMILLARD et al. 1991, SCHMELTING et al. 2009, SLINGERLAND et al. 2008). Durch Erregung kommt es in diesen Fällen zur Aktivierung des Sympathikus, einem Anstieg der Herzfrequenz und einer Erhöhung des Gefäßtonus. In der Summe steigt dadurch der Blutdruck. Durch ein standardisiertes Messprotokoll können diese aufregungsbedingten Blutdruckerhöhungen zwar minimiert, aber nicht ganz ausgeschlossen werden.

Zusammenfassend erscheint es hinsichtlich der Tageszeit daher nachrangig, wann der Blutdruck der Tiere gemessen wird.

## Diskussion

### 4.1.3 Messzeit und Reproduzierbarkeit

Für die praktische Anwendbarkeit von Blutdruckmessungen ist es auch von Bedeutung, wie viel Zeit für eine auswertbare Messung aufgewendet werden muss. Um die beschriebenen physiologischen und aufregungsbedingten Schwankungen des Blutdruckes zu minimieren, wird in der Regel empfohlen, immer mehrere Messungen durchzuführen und das Ergebnis zu mitteln. Für Hund und Katze reichen die Empfehlungen von mindestens 3 bis idealerweise 5 - 7 Einzelmessungen (BROWN et al. 2007). Hierbei sollte zuvor stets der allererste Wert verworfen werden, da dieser aufregungsbedingt zu hoch und nicht repräsentativ für den durchschnittlichen Blutdruckwert ist (BODEY und MICHELL 1997).

Bei Weißbüschelaffen gibt es dazu bisher keine Empfehlungen. Deshalb sollte in dieser Studie auch der Einfluss der Anzahl an Einzelmessungen auf das Ergebnis einer Gesamtmessung untersucht werden. Dazu wurden die ersten 3, 5 und 7 Werte einer Messsitzung jeweils gemittelt und die Durchschnittsdaten verglichen. Die Auswertung ergab, dass bei Mittelung aller erhobenen Werte lediglich der systolische Blutdruck und der Puls signifikante Unterschiede zeigten. Aufgrund ihrer vernachlässigbaren Größenordnung waren diese Befunde ohne klinische Relevanz. Bei näherer Betrachtung der ersten 5 Einzelmessungen konnte gezeigt werden, dass - nachdem der erste Wert den Empfehlungen folgend verworfen wurde - (trotz vergleichsweise kurzer Akklimatisierungszeit von bis zu 3 min) nur der 2. Messwert geringgradig vom Rest der Messsitzung abweicht. Auch hier war der Unterschied mit lediglich 2,24 mmHg für den systolischen und 1,12 mmHg für den mittleren arteriellen Blutdruck im Vergleich zu den anderen Messwerten vernachlässigbar. Daher kann auch der 2. Messwert mit in das Gesamtergebnis einer Messsitzung einfließen. Nach Ausschluss des ersten Messwertes reichen so bereits 3 gemittelte Einzelwerte aus, um repräsentative Daten pro Tier und Messsitzung zu berechnen. Allerdings ist die Erhebung von bis zu 7 Werten ohne Einfluss auf das Endergebnis möglich. Diese Ergebnisse spiegeln Befunde bei Menschen (SCHULZE et al. 2000), Hunden (VINCENT et al. 1993) und anderen Primaten (SCHMELTING et al. 2009) wider. Alle genannten Spezies zeigten einen Abfall von der ersten zur zweiten Messung und danach kaum Veränderungen während der weiteren Sitzungen.

Hinsichtlich der Entwicklung der Blutdruckwerte bei Langzeitmessungen lässt sich folgendes feststellen: Bei Haustieren, die zur Messung nicht fixiert werden müssen, und bei Menschen geht man davon aus, dass der Blutdruck mit zunehmender Beruhigung der Tiere bzw. des

## Diskussion

Patienten absinkt. Im Gegensatz dazu konnte bei nichtmenschlichen Primaten aber festgestellt werden, dass aufgrund des fixierungsbedingten Stresses der Blutdruck weiter ansteigt und eine Normalisierung der Werte erst über 30 Minuten (min) nach dem Ende einer Messung auftritt (HASSIMOTO und HARADA 2003). Daher sind bei diesen Tierarten die Blutdrucksitzungen möglichst kurz zu halten, um Verfälschungen der Werte zu vermeiden.

Hinsichtlich der Reproduzierbarkeit der Messwerte konnte in unserer Studie festgestellt werden, dass es keine signifikanten Unterschiede bei wiederholten Messungen der Tiere an drei aufeinanderfolgenden Tagen und im Laufe des Jahres gibt. Auch diese Ergebnisse decken sich mit vorangegangenen Untersuchungen. So zeigte sich, dass sich der Blutdruck bei Hunden nach der 4./ 5. und bei Menschen nach der 3./ 4. Messung auf gleichbleibende Werte einpendelt (SCHELLENBERG et al. 2007, SINGH et al. 1991). Bei Mäusen konnte bei wiederholten Messungen innerhalb von zwei Wochen oder drei Monaten keine Veränderung des Blutdruckes festgestellt werden (GROSS und LUFT 2003, KREGGE et al. 1995). Bei Hunden (CHETBOUL et al. 2010) gab es eine gute Reproduzierbarkeit für Messungen an 4 aufeinanderfolgenden Tagen und bei Katzen (SPARKES et al. 1999) innerhalb von 10 Tagen. Auch bei Rhesusaffen konnten sowohl im Laufe von drei aufeinanderfolgenden Tagen als auch innerhalb von vier Wochen keine Unterschiede hinsichtlich der Blutdruckwerte festgestellt werden (SCHMELTING et al. 2009).

Diese Angaben bestätigen unsere Befunde, dass bei Gewöhnung des Tieres an die Messprozedur keine nennenswerten Schwankungen der Blutdruckwerte über einen längeren Zeitraum mehr auftreten.

Zusammenfassend lässt sich in Anlehnung an die Ziele dieser Pilotstudie festhalten, dass eine standardisierte Blutdruckmessung auch beim Weißbüschelaffen möglich ist. Hinsichtlich der Messlokalisation, Körperpositionierung und Akklimatisierungszeit unterschieden sie sich dabei von Haus- und anderen Versuchstieren, während Messdauer, Anzahl der möglichen Messungen und die Schaffung einer geeigneten Messumgebung den gängigen Empfehlungen der ACVIM für Haustiere entsprachen.

## Diskussion

### 4.2 Hauptstudie - Blutdruckwerte der Kolonie

Für die Hauptstudie wurden mithilfe des etablierten Messprotokolls Blutdruckwerte der Weißbüschelaffenkolonie erhoben. Allgemein lässt sich sagen, dass die per Luftdruckmanschette nicht-invasiv gemessenen Werte generell höher lagen als in früheren Studien bei Weißbüschelaffen, die sich mit implantierten Druckmessern ungestört in ihrem Käfig bewegten (BRAMLAGE et al. 2009, GERBER et al. 2002, HORII et al. 2002). Der Vergleich der eigentlichen Blutdruckdaten zu vorangegangenen Studien mit nicht-invasiven Messsystemen bzw. zu Studien mit HDO-Technik zeigte, dass der systolische Blutdruck und die Pulsdaten früheren Ergebnissen entsprachen, während diastolischer und mittlerer arterieller Blutdruck z.T. höher lagen (BRAMLAGE et al. 2009, CLOZEL und FISCHLI 1989, MICHEL et al. 1989, SCHNELL und WOOD 1993).

Vermutlich sind diese Unterschiede auf die folgenden drei Punkte zurückzuführen:

1. Abhängigkeit von der gewählten Messmethode:

Die Druckmesser für invasive Systeme werden im Allgemeinen in eine große Körperarterie eingebracht (z.B. die Bauchorta oder die Femoralarterie), während die nicht-invasiven Systeme meist an den Extremitäten oder am Schwanz messen (BODEY et al. 1994, FENG und DIPETRILLO 2009, MCMAHON et al. 2010). Allein dieser Unterschied in der Messlokalisierung bedingt höhere Werte mit nicht-invasiven Methoden. So beschreiben einige Autoren eine Veränderung des Wandaufbaus der Arterien mit zunehmender Entfernung vom Herzen dergestalt, dass bereits in der hinteren Aorta höhere Werte gemessen werden als direkt am Herzen. Durch die veränderte Wandstruktur von elastischen hin zu kollagenen Fasern werden die vom Herzen ausgehenden Pulswellen früher reflektiert und erhöhen so die Blutdruckwerte für die folgende Pulswelle. Zusätzlich steigen die Werte, je weiter peripher gemessen wird (MITCHELL et al. 2010).

2. Abhängigkeit vom Messprotokoll:

Je aufgeregter die Tiere sind und je ungewohnter die Umgebung ist, desto unruhiger sind sie und desto variabler die Messdaten (BELEW et al. 1999). Diese Faktoren kann man durch einen ruhigen Umgang mit den Tieren, erfahrenes Personal und ein standardisiertes Messprotokoll minimieren, aber vermutlich nicht ganz eliminieren.

3. Abhängigkeit vom jeweiligen Studiendesign:

## Diskussion

Die vorliegende Untersuchung umfasste z.T. deutlich mehr Tiere, die über eine vergleichsweise lange Studiendauer gemessen wurden, was intra- und interindividuelle Schwankungen vermindert und zu repräsentativeren Ergebnissen führt. Des Weiteren beinhaltete unsere Studie ein im Vergleich zu früheren Arbeiten breites Alters- und Gewichtsspektrum der Tiere. Von beiden Faktoren ist bereits beim Menschen und anderen Säugetierspezies bekannt, dass diese bedeutenden Einfluss auf den Blutdruck haben (BODEY und MICHELL 1996, HSU et al. 1977).

Bei der Wahl der Messmethodik ist generell folgendes zu berücksichtigen: Bei invasiven Techniken ist trotz der Präzision zu beachten, dass auch diese Methoden Nachteile zeigen. So sind zum einen die höheren Kosten für die Anschaffung der Materialien und Unterhalt der Geräte, die Operationsrisiken und Messwertverfälschungen zu nennen. Die in die Gefäße eingesetzten Katheter können zu Entzündungsreaktionen führen, was in Verhärtungen des umliegenden Gewebes resultieren kann. Diese Veränderungen konnten auch bei Weißbüschelaffen nachgewiesen werden (MCMAHON et al. 2010). Außerdem können die Katheter im Gefäß wandern, was in sich kontinuierlich ändernden Blutdruckwerten (bis zu 20,5 mmHg / Monat) erkennbar wird (BROOKS et al. 1996, MILLER et al. 2000, REGAN et al. 2009, SCHNELL und WOOD 1993). Dies geht mit einer erneuten Narkose, Operation und damit zusätzlicher Belastung des Tieres einher. Außerdem ist die begrenzte Haltbarkeit der Systeme aufgrund der Batterielaufzeit zu nennen. 50 % der verwendeten Systeme fallen in den ersten 1,5 Jahren und 70 % der Geräte innerhalb von 2 Jahren aus. Das erfordert erneute Operationen bzw. im Falle der Messwertveränderungen Neukalibrierung der Systeme (BROOKS et al. 1996).

Der größte Nachteil der nicht-invasiven Messsysteme ist die geringere Präzision im Vergleich zu invasiven Messungen. Neben weniger Belastung für die Tiere stehen hier aber die niedrigeren Kosten und die Anwenderfreundlichkeit im Vordergrund. So sind neuere Blutdrucksysteme aufgrund ihrer automatischen oder halbautomatischen Technik weniger anfällig für anwenderverursachte Fehler als die klassischen Messsysteme, die auf Palpation oder Auskultation beruhen (CHETBOUL et al. 2010). Von Messungen per Doppler-Methodik ist bekannt, dass es eines geschulten Untersuchers bedarf, da der Blutfluss per Akustik wahrgenommen wird. Hier kann es zur Fehlinterpretation der Werte kommen, wenn die Töne vom Durchführenden nicht korrekt wahrgenommen werden (BINNS et al. 1995). Des



## Diskussion

Weiteren können trotz der höheren Messwerte per nicht-invasiver Methodik Veränderungen des Blutdruckes ähnlich wie bei invasiven Systemen detektiert werden (MEYER et al. 2010). Daher bieten sich solche Systeme v. a. für die Langzeitüberwachung an und um generelle Blutdrucktendenzen bei einzelnen Tieren feststellen zu können (BROWN et al. 2007, KURTZ et al. 2005, MANSFIELD 2003). Einige Autoren empfehlen die Erstellung von eigenen Referenzwerten, die die Messmethodik und evtl. damit einhergehende Blutdruckabweichungen mit einbeziehen, statt nicht-invasive Werte mit invasiver Methodik zu vergleichen (BODEY et al. 1996).

### 4.2.1 Einfluss der Faktoren Alter, Gewicht und Geschlecht auf den Blutdruck

Die genauere Betrachtung der Alters- und Gewichtsentwicklung in unserer Kolonie konnte zeigen, dass beide Parameter unabhängig voneinander beeinflussende Faktoren des Blutdruckes sind. Dies soll im Folgenden kurz näher erläutert werden.

Die gewonnenen Werte legen eine kontinuierliche Blutdruckerhöhung im Laufe des Lebens von Weißbüschelaffen nahe. Im Gegensatz dazu steigt beim Menschen der systolische Blutdruck während des Alterns stetig an, während der diastolische Blutdruck nach anfänglichem Anstieg aber etwa ab der Lebensmitte wieder abfällt. Wie bei Hund und Katze ist auch beim Weißbüschelaffen eine zunehmende Insulinresistenz, als Vorstufe des Diabetes, mit fortschreitendem Alter beschrieben (TARDIF et al. 2011). Ferner stellen Nierenerkrankungen beim Weißbüschelaffen eine typische und häufig auftretende Alterserkrankung dar, die progressiv verläuft. Histologisch sichtbar sind dabei Fibrosen in der Niere sowie Glomerulosklerosen (ROSS et al. 2012). Diese Veränderungen werden häufig im Zusammenhang mit der zunehmenden Ablagerung von Immunkomplexen (Immunglobulin G, Immunglobulin M) im Nierenparenchym beobachtet (BRACK et al. 1999). Als möglicher Grund dafür wird das sogenannte Wasting Marmoset Syndrome (WMS) vermutet, eine multifaktorielle Immunkrankheit bei Weißbüschelaffen. Infolgedessen kommt es zusätzlich zu den genannten Immunkomplexablagerungen in der Niere auch zu Ablagerungen in anderen Körpergeweben. Neben der Unverträglichkeit von im Getreide enthaltenen Proteinbestandteilen (Gluten) werden auch Proteinunterversorgung, Vitaminimbalancen oder Parasiteninfektionen mit *Trypanosoma*-Spezies als Ursache für WMS diskutiert (KUEHNEL et al. 2013). Auch Arteriosklerose, ein Hauptgrund für den hohen Altersblutdruck

## Diskussion

beim Menschen, wird bei Hunden, Katzen und Weißbüschelaffen selten beobachtet (CHALMERS et al. 1983). Dies könnte ebenfalls das vom Menschen abweichende Blutdruckmuster erklären. Allerdings kann Arteriosklerose auch bei Weißbüschelaffen durch entsprechende Fütterung induziert werden, sodass die Untersuchung des Blutdruckmusters bei so ernährten Tieren ein interessantes Forschungsfeld für zukünftige Studien darstellen könnte. Die Fragestellung, ob bei entsprechender Arteriosklerose-induzierender Diät ein dem Menschen ähnliches Blutdruckbild erzeugt werden kann, könnte so näher beleuchtet werden.

In großen epidemiologischen Studien der Humanmedizin konnte, wie in unseren Untersuchungen, gezeigt werden, dass das Gewicht als stärkster Bluthochdruckverursachender Faktor gilt. So wiesen Personen in der Framingham-Studie bspw. einen Blutdruckanstieg von 6,5 mmHg pro 10 % Körpermassezunahme auf (CARRETERO und OPARIL 2000). Auch in der Tiermedizin sind v.a. bei Hund und Katze Blutdruckerhöhungen in Verbindung mit Übergewicht beschrieben (BODEY und MICHELL 1996, BODEY und SANSOM 1998). Bisher kam allerdings nur eine Studie an sehr jungen Weißbüschelaffen zu der Vermutung, dass das Körpergewicht möglicherweise den Blutdruck auch bei dieser Tierart beeinflussen könnte (BRAMLAGE et al. 2009). Unsere Ergebnisse bestätigten diesen Effekt auf den Blutdruck, zudem konnten wir den Verlauf des Blutdruckes über das Leben des Weißbüschelaffen genauer quantifizieren.

Wie auch beim Menschen sind die Gründe für die Verbindung zwischen Gewicht und Blutdruck vielfältig: Grundsätzlich ist aber eine indirekte Verbindung über die Herzauswurfrate und den peripheren Gefäßwiderstand wahrscheinlich. Erstens beeinflusst Übergewicht direkt die Hämodynamik und zweitens führen die Folgen des Vorhandenseins von vermehrtem Fettgewebe zu Veränderungen des peripheren Widerstandes. Faktoren wie endotheliale Dysfunktion, Insulinresistenz, Aktivierung des Sympathikus und die Freisetzung von proinflammatorischen Substanzen wie Interleukin 6 oder Tumornekrosefaktor  $\alpha$  werden mit körperrgewichtbedingten Blutdruckerhöhungen in Verbindung gebracht (DAVY und HALL 2004, HALL et al. 2003, POIRIER et al. 2006).

Die Tatsache, dass der SAD keine Korrelation mit dem Alter und eine im Vergleich mit den anderen Blutdruckparametern schwächere Korrelation mit dem Gewicht zeigte, wurde

## Diskussion

bereits in früheren Studien festgestellt. So konnten mehrere Autoren belegen, dass oszillometrisch messende Geräte nur verlässliche Werte im normotensiven Blutdruckbereich liefern, während in Hypotension (z.B. während Anästhesien) oder in Hypertension die Werte unzuverlässiger werden und bei genauerer Betrachtung v.a. der systolische Blutdruck als unzuverlässigster Parameter gilt (BODEY et al. 1996, CAULKETT et al. 1998, MARTEL et al. 2013, PETRIČ et al. 2010, SELIŠKAR et al. 2013, VACHON et al. 2014, VINCENT et al. 1993). Daher schlagen viele Autoren vor, bei der Blutdruckeinschätzung lediglich den diastolischen und mittleren arteriellen Blutdruck zu beachten (GAROFALO et al. 2012).

Aus der Humanmedizin und Studien bei Hund und Katze ist weiterhin bekannt, dass das Geschlecht ebenfalls einen Einfluss auf den Blutdruck hat. So konnten verschiedene Untersucher zeigen, dass männliche Individuen generell ca. 3 - 10 mmHg (Menschen) (DUBEY et al. 2002, RECKELHOFF 2001) bzw. 6,4 – 8 mmHg (Hunde) höhere Werte als die weiblichen aufweisen (BODEY und MICHELL 1996). Dies wurde früher auf ein höheres Körpergewicht männlicher Tiere zurückgeführt, während neuere Untersuchungen eher den überwiegend hypertensiv wirkenden Einfluss männlicher Hormone dafür verantwortlich machen (DUBEY et al. 2002, KANG und MILLER 2002).

Allerdings konnte dieser Unterschied in unserer Studie nicht nachgewiesen werden. Neben dem im Gegensatz zum Menschen und vielen Säugetierspezies nicht vorhandenen Gewichtsunterschied zwischen männlichen und weiblichen Weißbüschelaffen (ARAUJO et al. 2000) spielt vermutlich der bereits erwähnte vorhandene Handlingsstress zur Messung der Blutdruckwerte bei unseren Tieren eine Rolle. Daher ist es wahrscheinlich, dass diese geringgradigen geschlechtsbedingten Blutdruckunterschiede dadurch maskiert wurden.

### **4.2.2 Einfluss der Faktoren Geschlecht und Alter auf die Messdauer**

Generell kann gesagt werden, dass bei nicht-menschlichen Primaten die Messzeit möglichst kurz zu halten ist, da mit zunehmender Dauer einerseits die Mitarbeit der Tiere sinkt und andererseits die Herzfrequenz ansteigt und sich z.T. erst über 30 min nach Ende einer Messsitzung wieder erholt (CLARKE et al. 1994, HASSIMOTO und HARADA 2003). Hinsichtlich der Messdauer unterschieden sich die Werte aus der vorliegenden Studie kaum von den Messzeiten, die bspw. für Haussäugetiere aufgewendet werden müssen. Ähnlich wie bei

## Diskussion

Messungen an Hunden und Rhesusaffen, benötigten wir für eine durchschnittliche Messsituation knapp 6 min (CHESTER et al. 1992, CHETBOUL et al. 2010, MEYER et al. 2010). Dabei konnte allerdings beobachtet werden, dass weibliche Tiere und alte Individuen schneller gemessen werden konnten, als jüngere Tiere und Männchen. Hinsichtlich der Diskussion dieser Ergebnisse kommen Studien zur kognitiven Leistungsfähigkeit bei Weißbüschelaffen zu teils divergenten Ergebnissen: Einige konnten weder Unterschiede zwischen den Geschlechtern noch hinsichtlich des Alters feststellen, während andere Untersuchungen solche Unterschiede beobachteten (BOWELL 2010, BOX 1997). Betrachtet man das Verhalten der Tiere während solcher Studien genauer, erklären sich die unterschiedlich erhobenen Befunde: Schubiger et al. konnten zeigen, dass adulte Weißbüschelaffenmännchen emotional leichter erregt und weniger motiviert sind an Kognitionsversuchen teilzunehmen. Sobald sie aber zu solchen Tests motiviert werden können und aufmerksam bleiben, unterscheiden sich ihre Leistungen nicht von denen der Weibchen. Daher könnten bei Verhaltensexperimenten auftretende Unterschiede zwischen Männchen und Weibchen eher motivations- als kognitionsbedingt sein (SCHUBIGER et al. 2015). Eine geringere Motivation der männlichen Tiere würde erklären, warum die Messzeit bei weiblichen Weißbüschelaffen dieser Studie deutlich kürzer ausfiel als bei ihren Geschlechtspartnern.

Auch die Unterschiede zwischen alten und jungen Tieren sind erklärbar: Alte Weißbüschelaffen zeigen zwar mit steigendem Alter zunehmend Beta Amyloid-Plaquelagerungen im Gehirn (GEULA et al. 2002, RIDLEY et al. 2006) und eine abnehmende Neurogenese, was mit sinkenden kognitiven Leistungen in Zusammenhang gebracht wird (LEUNER et al. 2007). Bei Verhaltensstudien wird daher ein verlangsamtes Lernen offenbar (AIZAWA et al. 2009, BOWELL 2010, VOYTKO 1999). Allerdings zeigen ältere Individuen andere Herangehensweisen an Aufgabenstellungen: Sie konzentrieren sich mehr auf die Aufgaben und sind ausdauernder beim Lösen der Herausforderungen (CAMERON und ROGERS 1999, KUBO et al. 2001). Auch in der vorliegenden Studie war eher Ausdauer als aktive Mitarbeit von den Tieren gefordert. Gerade die älteren Tiere konnten sich besser konzentrieren und länger still sitzen. Dies erklärt, warum man sie schneller messen konnte als die jüngeren.

## Diskussion

### 4.2.3 Artefakte

Manche Tiere zeigten während der Messungen gelegentlich Verhaltensweisen, die zu Artefakten in den Blutdruckkurven und entsprechend beeinflussten Werten führten. Um Verfälschungen der Blutdruckwerte auszuschließen, wurden die auftretenden Artefakte anhand der Kriterien Tierverhalten, Beeinflussung der dargestellten Luftdruck - Ablasskurve sowie der Blutdruckkurve beurteilt und klassifiziert. Insgesamt traten in 28,9 % aller Messungen Artefakte auf. Dabei handelte es sich hauptsächlich um Bewegungen und Lautäußerungen oder Messfehler durch zu lose platzierte Blutdruckmanschetten. Zu einem geringeren Prozentsatz zeigten die Tiere in absteigender Häufigkeit Aufregung, Muskelzittern und Kaubewegungen. Die auftretenden Artefakte spiegeln dabei typische Verhaltensweisen von Weißbüschelaffen in ungewohnten Situationen wider (BASSETT et al. 2003, GERBER et al. 2002). Der Einfluss auf die Blutdruckwerte war im Falle von nur geringgradigen Artefakten meist vernachlässigbar. Nur im Falle von Messfehlern, Aufregung und Kauen an den Fixierhandschuhen wurden z.T. deutliche Abweichungen von den Normalwerten festgestellt. Dies ist verständlich, da Erregung durch Ausschüttung von Katecholaminen zu einem deutlichen Anstieg von Herzfrequenz und Blutdruck führt (BELEW et al. 1999). Die Tatsache, dass Kauen einen deutlicheren Einfluss auf die Blutdruckwerte hatte als z.B. Bewegungen oder Lautäußerungen scheint darin begründet zu liegen, dass es sich bei letzteren um vergleichsweise kurze Zuckungen oder Schreie handelte, die weniger Einfluss auf die Analyse durch die Software hatten als länger andauernde Kaubewegungen.

Diese Tatsachen verdeutlichen die Wichtigkeit eines standardisierten Vorgehens inklusive der Messung in einer ruhigen Umgebung und dem Einsatz von erfahrenem Personal, was insgesamt einige der Artefakte verhindern oder zumindest reduzieren kann.

Zusammenfassend konnten mit dieser Hauptstudie physiologische und pathologische Werte des Weißbüschelaffen nach standardisierten Kriterien erhoben werden. Alter und Gewicht beeinflussten im Gegensatz zum Geschlecht der Tiere unabhängig voneinander die nicht-invasiv erhobenen Blutdruckwerte, wobei die für die altersbedingten Blutdruckanstiege verantwortlichen Mechanismen (Nierenveränderungen, Insulinresistenz, Gefäßveränderungen) Gegenstand weiterer Forschung bleiben.

## Diskussion

### 4.2.4 Fallbeispiele

Während der mehrmonatigen Blutdruckmessungen zeigten insgesamt vier Tiere Auffälligkeiten in der Höhe der Blutdruckwerte, in den Blutdruckkurven oder der Blutdruckentwicklung während der Studiendauer. Diese Befunde werden im Folgenden diskutiert.

Alle aufgrund der auffälligen Blutdruckwerte weiter untersuchten Tiere wiesen pathologische Veränderungen auf, die die abweichenden Befunde erklären könnten. Die beiden ältesten Tiere (12 und 13 Jahre) zeichneten sich durch gravierende Nierenveränderungen und deren Begleiterscheinungen aus. Wie bereits in anderen Weißbüschelaffenkolonien beschrieben wurde, zeigten auch diese Patienten Anzeichen für eine chronische Nierenerkrankung (TARDIF et al. 2011). Diese wird bei Weißbüschelaffen im Zusammenhang mit Immunkomplexablagerungen in der Niere beschrieben und äußert sich wie bei den untersuchten Tieren mit chronischer Nephritis, Glomerulonephritis und Fibrosen (ROSS et al. 2012).

Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass derartige Nierenveränderungen chronisch progressiv verlaufen (YAMADA et al. 2013). Auch die Blutwerte bestätigten diese Vermutung. So waren bei beiden alten Tieren ein Anstieg der Nierenwerte (Harnstoff, Kreatinin) sowie eine Anämie und weiter steigende Blutdruckwerte auffällig. Die Ultraschalluntersuchung zeigte bei einem der Tiere einen gestauten Harnleiter. Bei dem anderen Tier wurde eine Perikarditis, beginnende arteriosklerotische Veränderungen und Kalzifizierung der Weichteile sowie Entmineralisierung der Knochen festgestellt. Die Veränderungen der Blutwerte waren dabei charakteristisch für Nierenerkrankungen (BARTGES 2012). Ebenso kann es im Zuge eines osteorenenalen Syndromes zu den beschriebenen Befunden kommen (MOLENAAR et al. 2014).

Als Ursache für die Veränderungen bei dem dritten Tier konnte eine metabolische Entgleisung festgestellt werden, in deren Zuge es zu Veränderungen des Lipid- und Glukosestoffwechsels sowie Hypertension und Übergewicht kam. In der Humanmedizin wird das Auftreten dieser Faktoren häufig im Zusammenhang mit dem Begriff des „Metabolischen Syndroms“ gebracht. Eine einheitliche Definition dieses Begriffes existiert bisher noch nicht, jedoch beinhalten die gängigsten Beschreibungen das gleichzeitige Auftreten von allen oder zumindest einer Mehrzahl der folgenden Symptome: Störung des Glukosestoffwechsels

## Diskussion

(Glukoseintoleranz oder Diabetes mellitus/ erhöhte Nüchtern glukose), erhöhter Blutdruck, Störung des Fettstoffwechsels (erhöhte Plasmatri glyceridwerte, niedrige Cholesterinwerte), Adipositas, Mikroalbuminurie (CONTI 2002, ECKEL et al. 2005).

Die Pathogenese dieses Symptomkomplexes ist noch nicht vollständig aufgeklärt, jedoch wird vermutet, dass es aufgrund genetischer Veranlagung, Ernährungsfehlern und Bewegungsmangel zur Ausbildung einer Insulinresistenz kommt. Vermehrt vorhandenes Körperfett stört die Blutversorgung der Adipozyten, was deren Zelluntergang zur Folge hat. Die folgende Ausschüttung von proinflammatorischen Entzündungsparametern sowie vermehrt mobilisierte freie Fettsäuren aus dem Körperfett beeinflussen hierbei den Insulinhaushalt. Infolgedessen wird der Lebermetabolismus gestört, so dass das Gleichgewicht der Triglyceridfraktionen hin zu den VLDL-Triglyceriden verschoben wird (DAVY und HALL 2004). Sowohl der gestörte Glukose- als auch Fetthaushalt führen über eine Beeinflussung des RAAS zum Auftreten von erhöhten Blutdruckwerten (KAUR 2014).

Auch beim Weißbüschelaffen wurde mit zunehmendem Alter Übergewicht zusammen mit Hypertriglyceridämie und Hyperglykämie, sowie eine verstärkte Insulinresistenz festgestellt (TARDIF et al. 2009, TARDIF et al. 2011). Insofern könnte der Weißbüschelaffe als Modelltier für die Erforschung des Einflusses von Übergewicht auf das Metabolische Syndrom bzw. die Entwicklung von Hypertonie und deren Prävention in zukünftigen Studien berücksichtigt werden.

Die Blutdruckmessungen bei der vierten Patientin lieferten Hinweise darauf, dass hier kardiologische Ursachen den veränderten Werten zugrunde lagen. Diese Vermutung konnte durch die nachfolgend durchgeführten Ultraschalluntersuchungen bestätigt und durch die pathologischen Befunde näher charakterisiert werden. Als Ursache für die veränderten Blutdruckkurven konnten eine Endokardiose in Kombination mit einer geringgradigen Hypertrophie des Herzens identifiziert werden. Neben diesen Veränderungen verursachen aber auch andere intra- und extrakardiale Veränderungen Arrhythmien, die möglicherweise für die diagnostizierten Befunde beim Blutdruckmessen mitverantwortlich sein könnten: Arrhythmien können u.a. durch Über- oder Unterfunktionen der Schilddrüse, Entzündungen, myokardiale Ischämie, Anämie oder Elektrolytimbalancen (Hypokaliämie, Azidose) ausgelöst werden. Zu unterscheiden ist hierbei jedoch zwischen intra- und extrakardial bedingten Arrhythmien. Sowohl intrakardiale Ursachen wie angeborene oder erworbene

## Diskussion

Veränderungen im Herzen (z.B. Kardiomyopathien, Fibrosen, Myokarditis) als auch extrakardiale Gründe (Beeinflussung durch das vegetative Nervensystem oder Hormone) können zu Arrhythmien führen (KLEIN und DANZI 2007, WIELAND 2002).

Auch wenn die diagnostizierten Veränderungen am wachen Tier vermutlich keine hämodynamische Signifikanz besitzen, so kann doch das Risiko für Arrhythmien während Anästhesien dadurch erhöht sein (TARDIF et al. 2011). Da viele alte Weißbüschelaffen Herzveränderungen zeigen, sollte daher v.a. bei diesen Tieren routinemäßig und besonders vor Operationen die Herzfunktion näher untersucht werden.

Obwohl sich die Krankheiten der beschriebenen Patienten unterschieden, zeigten alle vier auch Gemeinsamkeiten: Alle Tiere wiesen Nierenveränderungen in variablen Ausmaßen und Herzfibrosen sowie –entzündungsanzeichen auf. Diese Befunde spiegeln die oben genannten Ergebnisse früherer Untersuchungen wider, dass viele Weißbüschelaffen mit steigendem Alter (meist subklinische) Veränderungen am Herzen und den Nieren aufweisen (ROSS et al. 2012, TARDIF et al. 2011).

In allen vier Fällen konnten mit Hilfe der im Rahmen des Koloniamonitorings nicht-invasiv erhobenen Blutdruckwerte die betroffenen Tiere identifiziert und erste Anhaltspunkte zur weiterführenden Diagnostik geliefert werden. Die Blutdruck-Verlaufskontrolle der betroffenen Patienten konnte dabei als zusätzliches Kriterium zur Einschätzung der Exazerbation des Krankheitszustandes und zur Euthanasieentscheidung herangezogen werden.

Die Ergebnisse unserer Studien ermöglichen eine einfache, in der Praxis anwendbare Blutdruckmessung beim Weißbüschelaffen. Zusätzlich kann nun in Zukunft eine zielgerichtete Einschätzung der erhaltenen Werte unter Berücksichtigung sowohl individueller als auch messtechnisch bedingter Faktoren erfolgen. Ferner stellen sie den Parameter Blutdruck als wichtigen ersten Indikator für die Erkennung vieler Erkrankungen heraus und können in Zukunft zur Erweiterung wissenschaftlicher Fragestellungen und zur Verbesserung des Tierwohls genutzt werden.



# Zusammenfassung

## 5 Zusammenfassung

Verfasser Matthias Mietsch

**Titel** **Blutdruckmessungen als Gesundheitsmonitoring beim Weißbüschelaffen (*Callithrix jacchus*)**

Institut Veterinär-Physiologisch-Chemisches Institut der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Eingereicht im Januar 2017

62 Seiten, 2 Publikationen, 1 Abbildung, 1 Tabelle, 154 Literaturangaben, 3 Anhänge

Schlüsselwörter: Weißbüschelaffen, Blutdruck, Protokoll, Alter, Gewicht, Geschlecht

**Einleitung:** Weißbüschelaffen (*Callithrix jacchus*) sind im Laufe der letzten Jahre vermehrt in den Fokus der Verhaltens-, Alters- und Stoffwechselforschung gerückt. Blutdruckmessungen könnten für die Gesundheitsüberwachung dieser Tiere einen wertvollen Beitrag leisten. Bisher erhobene Daten zeigen jedoch unterschiedliche oder unvollständige Messmethoden und vernachlässigen wichtige physiologische Faktoren wie Alter, Gewicht und Geschlecht der Tiere. Dies erschwert die Reproduzierbarkeit der Werte sowie deren Vergleich untereinander.

**Ziele der Untersuchungen:** Ziel dieser Arbeit war es daher, ein praxistaugliches Protokoll für Blutdruckmessungen beim Weißbüschelaffen zu erstellen. Darauf aufbauend sollten die Tiere der Primatenkolonie des Veterinär-Physiologisch-Chemischen Institutes Leipzig über mehrere Monate untersucht werden, um physiologische Blutdruckwerte unter standardisierten Bedingungen zu erhalten.

**Tiere, Material und Methoden:** Für ein Messprotokoll wurde in einem Vorversuch bei 10 Tieren der Einfluss der Messlokalisierung (Gliedmaße oder Schwanz) und bei 6 Tieren der Einfluss der Tageszeit per High-Definition Oszillometrie (HDO)- Blutdruckmessungen (über drei Tage) untersucht. Mit diesen Erkenntnissen wurden dann alle Tiere der Kolonie (n= 56, 25 männlich, 31 weiblich; Altersspanne: 14 - 209 Monate, Gewichte 313 – 499 g) überprüft (Gesamtdauer 30 Monate). Alters- und gewichtsabhängige Blutdruckveränderungen sowie der Unterschied zwischen den Geschlechtern wurde zusätzlich untersucht (Korrelations- und

## Zusammenfassung

Regressionsanalysen, t-Tests). Bei vier Tieren wurden Blutdruckabweichungen festgestellt, deren weiterführende Analyse in Form von Blut-, Urin- oder Ultraschalluntersuchungen erfolgte.

**Ergebnisse:** Das etablierte Messprotokoll unterschied sich zu denen bei anderen Tierarten, v.a. im Hinblick auf die Messlokalisation (Messungen an den Hintergliedmaßen lieferten präzisere Ergebnisse als am Schwanz). Während 3 - 7 Messungen bei Weißbüschelaffen möglich sind, hatte die Tageszeit keinen Einfluss auf die Werte. Darauf aufbauend konnten Grenzen für physiologische und pathologische Blutdruckwerte beim Weißbüschelaffen festgelegt werden. Sowohl Alter als auch Gewicht beeinflussten die Blutdruckwerte. Das Blutdruckmuster zeigte dabei einen Anstieg der Werte sowohl mit steigendem Alter als auch mit höherem Gewicht an. Das Geschlecht hatte keinen Einfluss auf die Blutdruckwerte, beeinflusste aber ebenso wie das Alter die Messdauer. Messungen an weiblichen und/ oder älteren Tieren konnten schneller durchgeführt werden als bei männlichen und/ oder jungen Individuen. Durch die Früherkennung von Blutdruckabweichungen konnten bei den beschriebenen Patienten die zugrundeliegenden Krankheiten näher untersucht und behandelt werden. Dabei zeigten zwei der vier Tiere progressiv verlaufende Nierenerkrankungen bei gleichzeitigem Vorliegen von Begleiterscheinungen wie Anämie oder Demineralisierung der Knochen. Eine Patientin wies Stoffwechsellentgleisungen in Form von erhöhten Triglycerid- und Insulinwerten sowie Übergewicht auf. Bei der vierten Patientin wurden Herzveränderungen in Form einer Endokardiose und Hypertrophie festgestellt.

**Schlussfolgerungen:** Im Rahmen dieser Arbeit wurden sowohl ein Messprotokoll für die nicht-invasive Blutdruckmessung beim Weißbüschelaffen als auch physiologische Blutdruckwerte unter Berücksichtigung von Alter, Gewicht und Geschlecht etabliert. Die Tatsache, dass weibliche und alte Tiere besser zu messen waren, könnte zukünftige Studien in puncto Blutdruckauswertung und -beurteilung erleichtern. Der Nachweis der den veränderten Blutdruckwerten zugrundeliegenden Krankheiten bestätigt die klinische Relevanz von Blutdruckmessungen. Die regelmäßige Akquirierung dieser Daten dient so nicht nur der generellen Gesundheitsüberwachung, sondern bietet sich besonders auch über lange Zeiträume zur Verlaufskontrolle an.

## Summary

### 6 Summary

Matthias Mietsch

#### **Blood pressure measurements for health monitoring in common marmosets (*Callithrix jacchus*)**

Institute of Physiological Chemistry, Faculty of Veterinary Medicine, University of Leipzig

Submitted in January 2017

62 pages, 2 publications, 1 figure, 1 table, 154 references, 3 appendices

Key words: common marmosets, blood pressure, protocol, age, weight, sex

**Introduction:** The common marmoset (*Callithrix jacchus*) recently moved into focus for behavioral, age and metabolic studies. Blood pressure measurements could be a positive contribution to the health maintenance of these animals. However, the data that has been gathered so far show differing measurement techniques and give little or no information about the protocols applied. In addition, important factors such as age, weight and sex, have not yet been taken into account. This complicates reproducibility and comparison of values.

**Aim:** Aim of this study was therefore to establish a standard protocol for blood pressure measurements in the common marmoset. Based on this, animals from the primate colony of the Institute of Veterinary Physiological Chemistry Leipzig were to be monitored over several months and their data analyzed to gather physiological measurement values under standardized conditions.

**Animals, materials and methods:** For a measurement protocol the influence of measurement localization (thigh or tail) was reviewed in ten animals using blood pressure measurements via High-Definition Oszillometry (HDO). Following this, the influence of daytime was evaluated in six animals over the course of three days. With this knowledge, all animals of the colony (n= 56, 25 males, 31 females; age range: 14 - 209 months, body weight 313 – 499 g) were assessed. Age- and weight-dependent blood pressure changes as well as differences between the sexes were examined (correlation and regression analyses, t-tests).

## Summary

In four animals with conspicuous blood pressure values analyses of blood and urine as well as ultrasonographic examinations were further performed.

**Results:** The established measurement protocol differed from those used in other animal species in terms of measurement localization (thigh measurements resulted in more precise values than measurements at the tail). While 3-7 single measurements were possible in the common marmoset, day time did not influence values. Based on this, threshold values for physiological and pathological blood pressure data could be determined. Age and weight both influenced blood pressure in common marmosets. The blood pressure pattern showed rising values with both increasing age and weight. Sex had no influence on blood pressure values, but affected together with age measurement time. Measurements in old and/ or female individuals could be performed faster than in male and/ or young individuals. Due to the early detection of blood pressure abnormalities, the causative diseases could be analyzed and treated in the described patients. Two of the four patients showed progressing renal diseases simultaneously with co-morbidities like anemia or bone demineralization. One patient displayed metabolic disease in terms of increased triglyceride and insulin values as well as excess weight. The fourth patient was identified as having heart changes in the form of endocardiosis and cardiac hypertrophy.

**Conclusion:** This work outlines the establishment of a measurement protocol for non-invasive blood pressure measurement in the common marmoset as well as physiological values considering age, weight and sex. The fact that female and old animals were easier to measure could facilitate blood pressure evaluation and interpretation in future studies. The identification of the diseases, responsible for the altered blood pressure values confirmed the clinical relevance of blood pressure assessment. The regular acquisition of such data is therefore not only useful in the health monitoring of all individuals, but especially supports follow-up examinations over longer periods of time.

### 7 Literaturverzeichnis

't Hart BA, Abbott DH, Nakamura K, Fuchs E. The marmoset monkey: a multi-purpose preclinical and translational model of human biology and disease. *Drug Discov Today*. 2012;17(21-22):1160–5.

Abbott DH, Barnett DK, Colman RJ, Yamamoto ME, Schultz-Darken NJ. Aspects of common marmoset basic biology and life history important for biomedical research. *Comp Med*. 2003;53(4):339–50.

Acierno MJ, Labato MA. Hypertension in renal disease: diagnosis and treatment. *Clin Tech Small Anim Pract*. 2005;20(1):23–30.

Aizawa K, Ageyama N, Yokoyama C, Hisatsune T. Age-Dependent Alteration in Hippocampal Neurogenesis Correlates with Learning Performance of Macaque Monkeys. *Exp Anim*. 2009;58(4):403–7.

Araujo A, Arruda MF, Alencar AI, Albuquerque F, Nascimento MC, Yamamoto ME. Body weight of wild and captive common marmosets (*Callithrix jacchus*). *Int J Primatol*. 2000;21(2):317–24.

Arnold C, Lamp J, Lamp O, Einspanier A. Behavioral tests as indicator for pain and distress in a primate endometriosis model. *J Med Primatol*. 2011;40(5):317–26.

Ash H, Buchanan-Smith HM. Long-term data on reproductive output and longevity in captive female common marmosets (*Callithrix jacchus*). *Am J Primatol*. 2014;76(11):1062–73.

Bartges JW. Chronic Kidney Disease in Dogs and Cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 2012;42(4):669+.

Bassett L, Buchanan-Smith H, McKinley J, Smith T. Effects of Training on Stress-Related Behavior of the Common Marmoset (*Callithrix jacchus*) in Relation to Coping With Routine Husbandry Procedures. *J Appl Anim Welf Sci*. 2003;6(3):221–33.

Belew A, Barlett T, Brown SA. Evaluation of the white-coat effect in cats. *J Vet Intern Med*. 1999;13(2):134–42.

Berkovitz BK, Pacy J. Age changes in the cells of the intra-articular disc of the temporomandibular joints of rats and marmosets. *Arch Oral Biol*. 2000;45(11):987–95.

## Literaturverzeichnis

Bernick S, Cailliet R, Levy B. The maturation and aging of the vertebrae of marmosets. *Spine*. 1980;5(6):519–24.

Binns SH, Sisson DD, Buoscio DA, Schaeffer DJ. Doppler ultrasonographic, oscillometric sphygmomanometric, and photoplethysmographic techniques for noninvasive blood-pressure measurement in anesthetized cats. *J Vet Intern Med*. 1995;9(6):405–14.

Bodey AR, Young L, Bartram DH, Diamond MJ, Michell AR. A comparison of direct and indirect (oscillometric) measurements of arterial blood pressure in anaesthetised dogs, using tail and limb cuffs. *Res Vet Sci*. 1994;57(3):265–9.

Bodey AR, Michell AR, Bovee KC, Buranakurl C, Garg T. Comparison of direct and indirect (oscillometric) measurements of arterial blood pressure in conscious dogs. *Res Vet Sci*. 1996;61(1):17–21.

Bodey AR, Michell AR. Epidemiological study of blood pressure in domestic dogs. *J Small Anim Pract*. 1996;37(3):116–25.

Bodey AR, Michell AR. Longitudinal studies of reproducibility and variability of indirect (oscillometric) blood pressure measurements in dogs: evidence for tracking. *Res Vet Sci*. 1997;63(1):15–21.

Bodey AR, Sansom J. Epidemiological study of blood pressure in domestic cats. *J Small Anim Pract*. 1998;39(12):567–73.

Bowell VA. Improving the Welfare of Laboratory-Housed Primates Through the Use of Positive Reinforcement Training: Practicalities of Implementation [Dissertation Ph.D]. Stirling: University of Stirling;2010.

Box HO. Foraging strategies among male and female marmosets and tamarins (Callitrichidae): New perspectives in an underexplored area. *Folia Primatol*. 1997;68(3-5):296–306.

Brack M, Schroeder C, Fooke M, Schlumberger W. IgM/IgA nephropathy in callitrichids: antigen studies. *Nephron*. 1999;82(3):221–31.

Bramlage CP, Schlumbohm C, Pryce CR, Mirza S, Schnell C, Amann K et al. Prenatal Dexamethasone Exposure Does Not Alter Blood Pressure and Nephron Number in the Young Adult Marmoset Monkey. *Hypertension*. 2009;54(5):1115–22.

## Literaturverzeichnis

Brooks D, Horner RL, Kozar LF, Waddell TK, Render CL, Phillipson EA. Validation of a telemetry system for long-term measurement of blood pressure. *J Appl Physiol.* 1996;81(2):1012–8.

Brown S, Atkins C, Bagley R, Carr A, Cowgill L, Davidson M et al. Guidelines for the Identification, Evaluation, and Management of Systemic Hypertension in Dogs and Cats. *J Vet Intern Med.* 2007;21(3):542–58.

Buchwald U, Teupser D, Kuehnel F, Grohmann J, Schmieder N, Beindorff N et al. Prenatal stress programs lipid metabolism enhancing cardiovascular risk in the female F1, F2, and F3 generation in the primate model common marmoset (*Callithrix jacchus*). *J Med Primatol.* 2012; 41(4):231–40.

Busse R. Gefäßsystem und Kreislaufregulation. In: Schmidt RF, Thews G, Hrsg. *Physiologie des Menschen.* 26. Aufl. Berlin, Heidelberg, s.l.: Springer Berlin Heidelberg; 1995.p. 498–561.

Cameron R, Rogers LJ. Hand preference of the common marmoset (*Callithrix jacchus*): Problem solving and responses in a novel setting. *J Comp Psychol.* 1999;113(2):149–57.

Carretero OA, Oparil S. Essential hypertension. Part I: definition and etiology. *Circulation.* 2000;101(3):329–35.

Carvalho Soares FA, Neuwald EB, Mombach VS, Ribeiro D'Avila AE, Conrado FdO, Diaz Gonzalez FH. Systolic blood pressure of dogs at hospital and domestic environment. *CIENCIA RURAL.* 2012;42(7):1243–8.

Casteleyn C, Bakker J, Breugelmans S, Kondova I, Saunders J, Langermans JAM et al. Anatomical description and morphometry of the skeleton of the common marmoset (*Callithrix jacchus*). *Lab Anim.* 2012;46(2):152–63.

Castro CS de, Menezes AL de, Moreira LF. Locomotor activity rhythm in free-ranging common marmosets (*Callithrix jacchus*). *Biol Rhythm Res.* 2003;34(1):23–30.

Caulkett NA, Cantwell SL, Houston DM. A comparison of indirect blood pressure monitoring techniques in the anesthetized cat. *Vet Surg.* 1998;27(4):370–7.

Chalmers DT, Murgatroyd LB, Wadsworth PF. A survey of the pathology of marmosets (*Callithrix jacchus*) derived from a marmoset breeding unit. *Lab Anim.* 1983;17(4):270–9.

## Literaturverzeichnis

Chamanza R, Parry NMA, Rogerson P, Nicol JR, Bradley AE. Spontaneous lesions of the cardiovascular system in purpose-bred laboratory nonhuman primates. *Toxicol Pathol.* 2006;34(4):357–63.

Charnock JS, Poletti VM. Dietary lipids and adipose tissue fatty acids in the marmoset monkey (*Callithrix jacchus*). *Comp Biochem Physiol Comp Physiol.* 1994;108(2-3):445–9.

Chester AE, Dorr AE, Lund KR, Wood LD. Noninvasive measurement of blood pressure in conscious cynomolgus monkeys. *Fundam Appl Toxicol.* 1992;19(1):64–8.

Chetboul V, Tissier R, Gouni V, Almeida V de, Lefebvre HP, Concordet D et al. Comparison of Doppler ultrasonography and high-definition oscillometry for blood pressure measurements in healthy awake dogs. *Am J Vet Res.* 2010;71(7):766–72.

Clarke AS, Mason WA, Mendoza SP. Heart rate patterns under stress in three species of macaques. *Am J Primatol.* 1994;33(2):133–48.

Clozel JP, Fischli W. Cyclosporin-induced hypertension in marmosets: a new model of hypertension sensitive to angiotensin-converting enzyme inhibition. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1989;14(1):77–81.

Conti CR. Evolution of NCEP guidelines: ATP1-ATPIII risk estimation for coronary heart disease in 2002. National Cholesterol Education Program. *Clin Cardiol.* 2002;25(3):89–90.

Crook D, Weisgraber KH, Boyles JK, Mahley RW. Isolation and characterization of plasma lipoproteins of common marmoset monkey. Comparison of effects of control and atherogenic diets. *Arteriosclerosis.* 1990;10(4):633–47.

David JM, Dick JEJ, Hubbard GB. Spontaneous pathology of the common marmoset (*Callithrix jacchus*) and tamarins (*Saguinus oedipus*, *Saguinus mystax*). *J Med Primatol.* 2009;38(5):347–59.

Davy KP, Hall JE. Obesity and hypertension: two epidemics or one? *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2004;286(5):R803-R813.

Debowski K, Drummer C, Lentjes J, Cors M, Dressel R, Lingner T et al. The transcriptomes of novel marmoset monkey embryonic stem cell lines reflect distinct genomic features. *Sci Rep.* 2016;6:29122.



## Literaturverzeichnis

- Dreizen S, Levy BM, Bernick S. Diet-induced atherosclerosis in the marmoset. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1973;143(4):1218–23.
- Dubey RK, Oparil S, Imthurn B, Jackson EK. Sex hormones and hypertension. *Cardiovasc Res.* 2002;53(3, SI):688–708.
- Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ. The metabolic syndrome. *Lancet.* 2005;365(9468):1415–28.
- Egner B. Blood pressure measurement Technology and Avoidance of Measurement Error. *J Small Anim Pract.* 2006;(4):18–23.
- Egner B, Carr AP, Brown SA. Essential facts of blood pressure in dogs and cats: A reference guide. 4. Aufl. Babenhausen: Vet Verlag; 2007.
- Egner B. Einführung in die HDO-Analyse (High-Defintion-Oscillometry) – Grundlagen. *kleintier konkret.* 2009;12(05):18–24.
- Einspanier A, Lieder K, Bruns A, Husen B, Thole H, Simon C. Induction of endometriosis in the marmoset monkey (*Callithrix jacchus*). *Mol Hum Reprod.* 2006;12(5):291–9.
- Erkert HG. Characteristics of the circadian activity rhythm in common marmosets (*Callithrix j. jacchus*). *Am. J. Primatol.* 1989;17(4):271–86.
- Feng M, DiPetrillo K. Non-invasive blood pressure measurement in mice. *Methods Mol Biol.* 2009;573:45–55.
- Garofalo NA, Neto FJT, Alvaides RK, Oliveira FA de, Pignaton W, Pinheiro RT. Agreement between direct, oscillometric and Doppler ultrasound blood pressures using three different cuff positions in anesthetized dogs. *Vet Anaesth Analg.* 2012;39(4):324–34.
- Gerber P, Schnell CR, Anzenberger G. Behavioral and cardiophysiological responses of common marmosets (*Callithrix jacchus*) to social and environmental changes. *Primates.* 2002;43(3):201–16.
- Gerber P, Schnell C. Behavioral and cardiophysiological responses of common marmosets (*Callithrix jacchus*) to confrontations with opposite-sexed strangers. *Primates.* 2004; 45(3).
- German AJ. The growing problem of obesity in dogs and cats. *J Nutr.* 2006;136(7 Suppl):1940S-1946S.

## Literaturverzeichnis

Geula C, Nagykerly N, Wu CK. Amyloid-beta deposits in the cerebral cortex of the aged common marmoset (*Callithrix jacchus*): incidence and chemical composition. *Acta Neuropathol.* 2002;103(1):48–58.

Giannico AT, Somma AT, Lange RR, Andrade JNBM, Lima L, Souza AC et al. Electrocardiographic values in marmosets (*Callithrix penicillata*). *Pesq. Vet. Bras.* 2013;33(7):937–41.

Gross V, Luft FC. Exercising restraint in measuring blood pressure in conscious mice. *Hypertension.* 2003;41(4):879–81.

Haberman CE, Kang CW, Morgan JD, Brown SA. Evaluation of oscillometric and Doppler ultrasonic methods of indirect blood pressure estimation in conscious dogs. *Can J Vet Res.* 2006;70(3):211–7.

Hall JE, Jones DW, Kuo JJ, da Silva A, Tallam LS, Liu JK. Impact of the obesity epidemic on hypertension and renal disease. *Curr Hypertens Rep.* 2003;5(5):386–92.

Hanton G. Echocardiography in marmosets: a non-invasive method for the assessment of cardiovascular toxicology. In: Weinbauer GF, Vogel F, Hrsg. *Novel approaches towards primate toxicology.* 1. Aufl. Münster: Waxmann; 2006.p. 681–96.

Hanton G, Sobry C, Dagues N, Rochefort GY, Bonnet P, Eder V. Cardiovascular toxicity of minoxidil in the marmoset. *Toxicol Lett.* 2008;180(3):157–65.

Harada T, Tokuriki M, Tanioka Y. Age-related changes in the brainstem auditory evoked potentials of the marmoset. *Hear Res.* 1999;128(1-2):119–24.

Hassimoto M, Harada T. Use of a telemetry system to examine recovery of the cardiovascular system after excitement induced by handling stress in a conscious cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*). *J Med Primatol.* 2003;32(6):346–52.

Heiderstadt KM, Kennett MJ. IACUC Issues Related to Animal Models of Aging. *ILAR J.* 2011;52(1):106–9.

Henik RA, Dolson MK, Wenholz LJ. How to Obtain a Blood Pressure Measurement. *Clin Tech Small Anim Pract.* 2005;20(3):144–50.

## Literaturverzeichnis

Hoffmann K, Coolen A, Schlumbohm C, Meerlo P, Fuchs E. Remote long-term registrations of sleep-wake rhythms, core body temperature and activity in marmoset monkeys. *Behav Brain Res.* 2012;235(2):113–23.

Höglund K, Hanås S, Carnabuci C, Ljungvall I, Tidholm A, Häggström J. Blood Pressure, Heart Rate, and Urinary Catecholamines in Healthy Dogs Subjected to Different Clinical Settings. *J Vet Intern Med.* 2012;26(6):1300–8.

Horii I, Kito G, Hamada T, Jikuzono T, Kobayashi K, Hashimoto K. Development of telemetry system in the common marmoset--cardiovascular effects of astemizole and nicardipine. *J Toxicol Sci.* 2002;27(2):123–30.

Hsu PH, Mathewson FA, Rabkin SW. Blood-pressure and body-mass index patterns - a longitudinal study. *J Chronic Dis.* 1977;30(2):93–113.

Igarashi T, Sakuma T, Isogai M, Nagata R, Kamataki T. Marmoset liver cytochrome P450s: study for expression and molecular cloning of their cDNAs. *Arch Biochem Biophys.* 1997;339(1):85–91.

Jennings M, Prescott MJ, Buchanan-Smith HM, Gamble MR, Gore M, Hawkins P et al. Refinements in husbandry, care and common procedures for non-human primates: Ninth report of the BVAAWF/FRAME/RSPCA/UFAW Joint Working Group on Refinement. *Lab Anim.* 2009;43(Suppl 1):1–47.

Kang AK, Miller JA. Effects of gender on the renin-angiotensin system, blood pressure, and renal function. *Curr Hypertens Rep.* 2002;4(2):143–51.

Kaur J. A comprehensive review on metabolic syndrome. *Cardiol Res Pract.* 2014;2014:943162.

Kishi N, Sato K, Sasaki E, Okano H. Common marmoset as a new model animal for neuroscience research and genome editing technology. *Dev Growth Differ.* 2014;56(1):53–62.

Klein I, Danzi S. Thyroid disease and the heart. *Circulation.* 2007;116(15):1725–35.

Komatsu R, Honda M, Holzgrefe HH, Kubo J-i, Yamada Y, Isobe T et al. Sensitivity of common marmosets to detect drug-induced QT interval prolongation: Moxifloxacin case study. *J Pharmacol Toxicol Methods.* 2010;61(3):271–6.

## Literaturverzeichnis

Kramer K, Remie R. Measuring blood pressure in small laboratory animals. *Methods Mol Med.* 2005;108:51–62.

Krege JH, Hodgin JB, Hagaman J, Smithies O. A noninvasive computerized tail-cuff system for measuring blood pressure in mice. *Hypertension.* 1995;25(5):1111–5.

Kubo N, Koyama T, Kawasaki K, Tsuchida J, Sankai T, Terao K et al. Behavioral compensations in a positional learning and memory task by aged monkeys. *Behav Processes.* 2001;56(1):15–22.

Kuehnel F, Mietsch M, Buettner T, Vervuert I, Ababneh R, Einspanier A. The influence of gluten on clinical and immunological status of common marmosets (*Callithrix jacchus*). *J Med Primatol.* 2013;42(6):300–9.

Kurtz TW, Griffin KA, Bidani AK, Davisson RL, Hall JE. Recommendations for blood pressure measurement in humans and experimental animals - Part 2: Blood pressure measurement in experimental animals - A statement for professionals from the Subcommittee of Professional and Public Education of the American Heart Association Council on High Blood Pressure Research. *Hypertension.* 2005;45(2):299–310.

Layne DG, Power RA. Husbandry, handling, and nutrition for marmosets. *Comp Med.* 2003;53(4):351–9.

Leuner B, Kozorovitskiy Y, Gross CG, Gould E. Diminished adult neurogenesis in the marmoset brain precedes old age. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104(43):17169–73.

Ludlage E, Mansfield K. Clinical care and diseases of the common marmoset (*Callithrix jacchus*). *Comp Med.* 2003;53(4):369–82.

Lutz CK, Novak MA. Environmental enrichment for nonhuman primates: Theory and application. *ILAR Journal.* 2005;46(2):178–91.

Mancia G, Grassi G, Pomidossi G, Gregorini L, Bertinieri G, Parati G et al. Effects of blood-pressure measurement by the doctor on patient's blood pressure and heart rate. *Lancet.* 1983;2(8352):695–8.

Mansfield K. Marmoset models commonly used in biomedical research. *Comp Med.* 2003;53(4):383–92.

## Literaturverzeichnis

Martel E, Egner B, Brown SA, King JN, Laveissiere A, Champeroux P et al. Comparison of high-definition oscillometry -- a non-invasive technology for arterial blood pressure measurement -- with a direct invasive method using radio-telemetry in awake healthy cats. *J Feline Med Surg.* 2013;15(12):1104–13.

McMahon C, Mitchell AZ, Klein JL, Jenkins AC, Sarazan RD. Evaluation of blood pressure measurement using a miniature blood pressure transmitter with jacketed external telemetry in cynomolgus monkeys. *J Pharmacol Toxicol Methods.* 2010;62(2, SI):127–35.

Meyer O, Jenni R, Greiter-Wilke A, Breidenbach A, Holzgrefe HH. Comparison of telemetry and high-definition oscillometry for blood pressure measurements in conscious dogs: effects of torcetrapib. *J Am Assoc Lab Anim Sci.* 2010;49(4):464–71.

Michel JB, Huang HM, Guettier C, Gonzalez MF, Baussant T, Murakami T et al. Renin immunization and angiotensin converting enzyme inhibition in the normotensive marmoset. *J Hypertens.* 1989;7(6):218-19.

Michel JP, Wood J, Hofbauer K, Corvol P, Menard J. Blood-pressure effects of renin inhibition by human renin antiserum in normotensive marmosets. *Am J Physiol.* 1984;246(3):F309-F316.

Millar-Craig M, Bishop C, Raftery E. Circadian variation of blood-pressure. *Lancet.* 1978;311(8068):795–7.

Miller RH, Smeak DD, Lehmkuhl LB, Brown SA, Dibartola SP. Radiotelemetry catheter implantation: Surgical technique and results in cats. *Contemp Top Lab Anim Sci.* 2000;39(2):34–9.

Mishina M, Watanabe T, Fujii K, Maeda H, Wakao Y, Takahashi M. Non-invasive blood pressure measurements in cats: clinical significance of hypertension associated with chronic renal failure. *J Vet Med Sci.* 1998;60(7):805–8.

Mitchell AZ, McMahon C, Beck TW, Sarazan RD. Sensitivity of two noninvasive blood pressure measurement techniques compared to telemetry in cynomolgus monkeys and beagle dogs. *J Pharmacol Toxicol Methods.* 2010;62(1):54–63.

## Literaturverzeichnis

Mochel JP, Fink M, Bon C, Peyrou M, Bieth B, Desevaux C et al. Influence of feeding schedules on the chronobiology of renin activity, urinary electrolytes and blood pressure in dogs. *Chronobiol Int.* 2014;31(5):715–30.

Molenaar FM, van Reekum FE, Rookmaaker MB, Abrahams AC, van Jaarsveld BC. Extraosseous calcification in end-stage renal disease: from visceral organs to vasculature. *Semin Dial.* 2014;27(5):477–87.

Muller T, Fleischmann G, Eildermann K, Matz-Rensing K, Horn PA, Sasaki E et al. A novel embryonic stem cell line derived from the common marmoset monkey (*Callithrix jacchus*) exhibiting germ cell-like characteristics. *Hum Reprod.* 2009;24(6):1359–72.

Nievergelt CM, Digby LJ, Ramakrishnan U, Woodruff DS. Genetic Analysis of Group Composition and Breeding System in a Wild Common Marmoset (*Callithrix jacchus*) Population. *Int J Primatol.* 2000;21(1):1–20.

Nishijima K, Saitoh R, Tanaka S, Ohsato-Suzuki M, Ohno T, Kitajima S. Life span of common marmoset (*Callithrix jacchus*) at CLEA Japan breeding colony. *Biogerontology.* 2012;13(4):439–43.

Okano H, Hikishima K, Iriki A, Sasaki E. The common marmoset as a novel animal model system for biomedical and neuroscience research applications. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2012;17(6):336–40.

Petrič AD, Petra Z, Jerneja S, Alenka S. Comparison of high definition oscillometric and Doppler ultrasonic devices for measuring blood pressure in anaesthetised cats. *J Feline Med Surg.* 2010;12(10):731–7.

Pickering TG, Hall JE, Appel LJ, Falkner BE, Graves J, Hill MN et al. Recommendations for blood pressure measurement in humans and experimental animals: part 1: blood pressure measurement in humans: a statement for professionals from the Subcommittee of Professional and Public Education of the American Heart Association Council on High Blood Pressure Research. *Circulation.* 2005;111(5):697–716.

Poirier P, Giles TD, Bray GA, Hong Y, Stern JS, Pi-Sunyer FX et al. Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006;26(5):968–76.

## Literaturverzeichnis

- Qiu H, Depre C, Ghosh K, Resuello RG, Natividad FF, Rossi F et al. Mechanism of gender-specific differences in aortic stiffness with aging in nonhuman primates. *Circulation*. 2007;116(6):669–76.
- Quimby JM, Smith ML, Lunn KF. Evaluation of the effects of hospital visit stress on physiologic parameters in the cat. *J Feline Med Surg*. 2011;13(10):733–7.
- Reckelhoff JF. Gender differences in the regulation of blood pressure. *Hypertension*. 2001;37(5):1199–208.
- Regan HK, Lynch JJ, Regan CP. Long term assessment of blood pressure transducer drift in rhesus monkeys chronically instrumented with telemetry implants. *J Pharmacol Toxicol Methods*. 2009;59(1):35–8.
- Remillard RL, Ross JN, Eddy JB. Variance of indirect blood-pressure measurements and prevalence of hypertension in clinically normal dogs. *Am J Vet Res*. 1991;52(4):561–5.
- Ridley RM, Baker HF, Windle CP, Cummings RM. Very long term studies of the seeding of beta-amyloidosis in primates. *J Neural Transm (Vienna)*. 2006;113(9):1243–51.
- Rondeau DA, Mackalonis ME, Hess RS. Effect of body position on indirect measurement of systolic arterial blood pressure in dogs. *J Am Vet Med Assoc*. 2013;242(11):1523–7.
- Ross CN, Davis K, Dobek G, Tardif SD. Aging Phenotypes of Common Marmosets (*Callithrix jacchus*). *J Aging Res*. 2012;2012:567143.
- Russell WMS, Burch RL. The principles of humane experimental technique. Special ed. South Mimms, Potters Bar, Herts, England: Universities Federation for Animal Welfare; 1992.
- Rysnik MK, Cripps P, Iff I. A clinical comparison between a non-invasive blood pressure monitor using high definition oscillometry (Memodiagnostic MD 15/90 Pro) and invasive arterial blood pressure measurement in anaesthetized dogs. *Vet Anaesth Analg*. 2013;40(5):503–11.
- Sato K, Kuroki Y, Kumita W, Fujiyama A, Toyoda A, Kawai J et al. Resequencing of the common marmoset genome improves genome assemblies and gene-coding sequence analysis. *Sci Rep*. 2015;5:16894.

## Literaturverzeichnis

Scanlon CE, Chalmers NR, Monteiro da Cruz MAO. Changes in the size, composition, and reproductive condition of wild marmoset groups (*Callithrix jacchus jacchus*) in north east Brazil. *Primates*. 1988;29(3):295–305.

Schellenberg S, Glaus TM, Reusch CE. Effect of long-term adaptation on indirect measurements of systolic blood pressure in conscious untrained beagles. *Vet Rec*. 2007;161(12):418–21.

Scheunert A, Trautmann A. *Lehrbuch der Veterinär-Physiologie*. 7. Aufl. Berlin, Hamburg: Parey; 1987.

Schmelting B, Egner B, Korte SH, Weinbauer G. High-definition oscillometry: A new method for noninvasive blood pressure measurements in conscious and sedated common marmosets. *J Am Assoc Lab Anim Sci*. 2007;46(4):144.

Schmelting B, Niehoff M, Egner B, Korte SH, Weinbauer GF. High Definition Oscillometry: a novel technique for non-invasive blood pressure monitoring in the cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*). *J Med Primatol*. 2009;38(5):293–301.

Schmiegl L. Vergleich zweier indirekter Blutdruckmessmethoden an gesunden und kranken Hunden [Dissertation med. vet]. München: Ludwig-Maximilians Universität München; 2002.

Schneider I. Vergleich der indirekten arteriellen Blutdruckmessung mittels zweier oszillometrisch Vergleich der indirekten arteriellen Blutdruckmessung mittels zweier oszillometrisch messender Blutdruckmonitore mit der direkten Blutdruckmessung beim Hund [Dissertation med. vet]. Gießen: Justus-Liebig-Universität Gießen; 2011.

Schnell CR, Wood JM. Measurement of blood pressure and heart rate by telemetry in conscious, unrestrained marmosets. *Am J Physiol*. 1993;264(5 Pt 2):H1509-16.

Schnell CR, Wood JM. Measurement of blood pressure and heart rate by telemetry in conscious unrestrained marmosets. *Lab Anim*. 1995;29(3):258–61.

Schröpel M. *Krallenaffen*. 2., überarb. Aufl. Norderstedt: Books on Demand; 2010.

Schubiger MN, Wustholz FL, Wunder A, Burkart JM. High emotional reactivity toward an experimenter affects participation, but not performance, in cognitive tests with common marmosets (*Callithrix jacchus*). *Anim Cogn*. 2015;18(3):701–12.



## Literaturverzeichnis

Schultz-Darken NJ. Sample collection and restraint techniques used for common marmosets (*Callithrix jacchus*). *Comp Med*. 2003;53(4):360–3.

Schulze MB, Kroke A, Bergmann MM, Boeing H. Differences of blood pressure estimates between consecutive measurements on one occasion: Implications for inter-study comparability of epidemiologic studies. *Eur J Epidemiol*. 2000;16(10):891–8.

Seliškar A, Zrimšek P, Sredenšek J, Petrič AD. Comparison of high definition oscillometric and Doppler ultrasound devices with invasive blood pressure in anaesthetized dogs. *Vet Anaesth Analg*. 2013;40(1):21–7.

Senos R, Benedicto HG, del Rio do Valle CM, del Rio do Valle R, Nayudu PL, Kfoury Junior JR et al. Gross morphometry of the heart of the Common marmoset. *Folia Morphol (Warsz)*. 2014;73(1):37–41.

Singh HJ, Singh R, Sirisinghe RG, Upadaya S. The variability of blood pressure following repeated measurements. *Med J Malaysia*. 1991;46(4):356–62.

Slingerland LI, Robben JH, Schaafsma I, Kooistra HS. Response of cats to familiar and unfamiliar human contact using continuous direct arterial blood pressure measurement. *Res Vet Sci*. 2008;85(3):575–82.

Smith D, Trennery P, Farningham D, Klapwijk J. The selection of marmoset monkeys (*Callithrix jacchus*) in pharmaceutical toxicology. *Lab Anim*. 2001;35(2):117–30.

Sparkes AH, Caney SM, King MC, Gruffydd-Jones TJ. Inter- and intraindividual variation in Doppler ultrasonic indirect blood pressure measurements in healthy cats. *J Vet Intern Med*. 1999;13(4):314–8.

Struble AL, Feldman EC, Nelson RW, Kass PH. Systemic hypertension and proteinuria in dogs with diabetes mellitus. *J Am Vet Med Assoc*. 1998;213(6):822+.

Tardif SD, Carson RL, Gangaware BL. Comparison of infant care in family groups of the common marmoset (*Callithrix jacchus*) and the cotton-top tamarin (*Saguinus oedipus*). *Am. J. Primatol*. 1986;11(2):103–10.

Tardif SD, Smucny DA, Abbott DH, Mansfield K, Schultz-Darken N, Yamamoto ME. Reproduction in captive common marmosets (*Callithrix jacchus*). *Comp Med*. 2003;53(4):364–8.

## Literaturverzeichnis

Tardif SD, Araujo A, Arruda MF, French JA, Sousa MBC, Yamamoto ME. Reproduction and aging in marmosets and tamarins. *Interdiscip Top Gerontol*. 2008;36:29–48.

Tardif SD, Power ML, Ross CN, Rutherford JN, Layne-Colon DG, Paulik MA. Characterization of Obese Phenotypes in a Small Nonhuman Primate, the Common Marmoset (*Callithrix jacchus*). *Obesity*. 2009;17(8):1499–505.

Tardif SD, Mansfield KG, Ratnam R, Ross CN, Ziegler TE. The marmoset as a model of aging and age-related diseases. *ILAR J*. 2011;52(1):54–65.

Tardif SD, Power ML, Ross CN, Rutherford JN. Body Mass Growth in Common Marmosets: Toward a Model of Pediatric Obesity. *Am J Phys Anthropol*. 2013;150(1):21–8.

Uehara S, Uno Y, Inoue T, Sasaki E, Yamazaki H. Molecular Cloning, Tissue Distribution, and Functional Characterization of Marmoset Cytochrome P450 1A1, 1A2, and 1B1. *Drug Metab Dispos*. 2016;44(1):8–15.

Ungvari Z, Kaley G, Cabo R de, Sonntag WE, Csiszar A. Mechanisms of Vascular Aging: New Perspectives. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2010;65(10):1028–41.

Vachon C, Belanger MC, Burns PM. Evaluation of oscillometric and Doppler ultrasonic devices for blood pressure measurements in anesthetized and conscious dogs. *Res Vet Sci*. 2014;97(1):111–7.

van den Buuse M. Circadian rhythms of blood pressure, heart rate, and locomotor activity in spontaneously hypertensive rats as measured with radio-telemetry. *Physiol Behav*. 1994;55(4):783–7.

Vincent IC, Michell AR, Leahy RA. Non-invasive measurement of arterial blood pressure in dogs: a potential indicator for the identification of stress. *Res Vet Sci*. 1993;54(2):195–201.

Voytko ML. Impairments in acquisition and reversals of two-choice discriminations by aged rhesus monkeys. *Neurobiol Aging*. 1999;20(6):617–27.

Wieland AIC. Vergleichende Untersuchung zur Arrhythmie-Prophylaxe mit Metildigoxin und Verapamil oder Metildigoxin und Mexiletin beim Hund mit Torsio ventriculi unter Langzeit-EKG-Überwachung [Dissertation med. vet]. Hannover: Tierärztl. Hochsch. Hannover; 2002.

## Literaturverzeichnis

Yamada N, Sato J, Kanno T, Wako Y, Tsuchitani M. Morphological study of progressive glomerulonephropathy in common marmosets (*Callithrix jacchus*). *Toxicol Pathol.* 2013;41(8):1106–15.

Yamamoto ME, Araujo A, Arruda MdF, Lima AKM, Siqueira JdO, Hattori WT. Male and female breeding strategies in a cooperative primate. *Behav Processes.* 2014;109 Pt A:27–33.

## 8 Anhang

### 8.1 Abstract zu einem Vortrag vorgestellt auf dem 52nd Annual Meeting of the Society for Laboratory Animal Science GV-SOLAS and 15th Advanced Training Course of the IGTP, Frankfurt am Main, 10.-12.09.2014

Validation of standard protocols for non-invasive blood pressure measurement in the common marmoset (*Callithrix jacchus*)

M. Mietsch, A. Einspanier

Veterinär-Physiologisch-Chemisches Institut Endokrinologie, An den Tierkliniken 1, 04103 Leipzig, Germany

**INTRODUCTION:** The increasing use of the common marmoset (*Callithrix jacchus*) as animal model in biomedical research (1) demands a routine and complete health screening. Non-invasive blood pressure (BP) measurements represent an important tool for the assessment of the cardiovascular system (2). Standardized guidelines such as for dogs and cats (3) are so far not available. Therefore, the aim of the present study was to adjust existing protocols for the use in common marmosets.

**METHODS:** We conducted BP readings in 49 animals (23 males, 26 females, age: 13.8-202.4 months) following the guidelines of the American College of Veterinary Internal Medicine (ACVIM). Analysis of different cuff placements (hindlimbs, tail), day times, occurring artefacts and gender specific variances were performed with a high-definition oscillometric measurement device (S+B medVET GmbH).

**RESULTS:** The systolic, diastolic and mean arterial blood pressure amounted up to 145.7 $\pm$  9 mmHg, 72.6  $\pm$  6.44 mmHg and 98.3  $\pm$  6.46 mmHg respectively with an average pulse rate of 406.5  $\pm$  32.0 beats/min. Limb measurements showed less variability in systolic values (left (4.03 $\pm$  2.90%) and right thigh (5.96 $\pm$  2.77%), at the tail (12.7 $\pm$  6.96%)). In comparison to females, BP sessions of male animals required more time (males: 6:50  $\pm$  1:58 min, females: 5:14  $\pm$  1:59min,  $P < 0.01$ ). A decrease of values was observed in the course of one measurement session, but not in a 3-day comparison.

## Anhang

**CONCLUSIONS:** We were able to set up guidelines for the common marmoset based on the ACVIM. The hindlimbs proved to be the most reliable localisation for BP measurements. Standardized methods allow a reproducible and reliable inquiry of cardiovascular parameters. The data thus collected may constitute an essential component to the monitoring during cardiovascular and age-related research as well as to toxicological studies.

### References:

- (1) Mansfield K. *Comparative Medicine* 2003;53(4):383-392.
- (2) Kurtz TW, Griffin KA, Bidani AK, Davisson RL, Hall JE. *Hypertension* 2005;45(2):299–310.
- (3) Brown S, Atkins C, Bagley R, Carr A, Cowgill L, Davidson M. et al. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2007;21(3):542-558.

## Anhang

### 8.2 Abstract zu einem Vortrag vorgestellt auf dem 3. Leipziger Doktorandenforum, 11.10.2014, Leipzig

Etablierung eines Standardmessprotokolls zur nicht-invasiven Blutdruckmessung beim Weißbüschelaffen (*Callithrix jacchus*)

Matthias Mietsch, A. Einspanier

**Einführung:** Der weitverbreitete Einsatz von Weißbüschelaffen (*Callithrix jacchus*) als Tiermodell in biomedizinischen Forschungsfeldern erfordert ein regelmäßiges und ausführliches Gesundheitsscreening. Nicht-invasive Blutdruckmessungen stellen dazu einen wichtigen Baustein zur Beurteilung des kardiovaskulären Systems, von pharmakotoxikologischen Effekten sowie bei der Erforschung von Alters- und Gewichtsentwicklungen dar. Leitlinien für standardisierte Messungen, wie bei Hund und Katze, sind bis jetzt nicht für Weißbüschelaffen beschrieben.

**Methoden:** Deshalb führten wir angelehnt an die Leitlinien des American College of Veterinary Internal Medicine (ACVIM) bei 49 Weißbüschelaffen beiderlei Geschlechts Blutdruckmessungen mithilfe von High-Definition Oszillometrie durch. Der Einfluss von verschiedenen Messlokalisationen und Tageszeiten sowie von auftretenden Artefakten wie bspw. Bewegungen, Lautäußerungen oder Muskelzittern wurde untersucht.

**Resultate:** Die durchgeführten Messungen ergaben Werte von  $145.7 \pm 9$  mmHg,  $72.6 \pm 6.44$  mmHg und  $98.3 \pm 6.46$  mmHg (systolischer, diastolischer und mittlerer arterieller Blutdruck) bei einem durchschnittlichen Puls von  $406.5 \pm 32.0$  /min ohne Geschlechtsunterschiede. Messungen am Bein waren präziser als solche an der Schwanzbasis (Variationskoeffizient links  $4.03 \pm 2.90\%$ , rechts  $5.96 \pm 2.77\%$ , Schwanz  $12.7 \pm 6.96\%$ ). Bei männlichen Tieren dauerten die Messungen länger ( $p < 0.01$ ) als bei weiblichen Affen. Artefakte konnten definiert und auf die Befundung abgeglichen werden.

## Anhang

**Schlussfolgerungen:** Die bereits existierenden Leitlinien zum Messen von Blutdruckparametern der ACVIM können nach Modifikationen auf den Weißbüschelaffen übertragen werden. Die Lokalisation am Bein ist zu bevorzugen. Messreihen sollten aus mindestens drei, besser fünf bis sieben Einzelwerten bestehen, dabei ist die erste Messung einer Messreihe zu verwerfen. Standardisiert erhobene Blutdruckparameter führen zu reproduzierbaren und aussagekräftigen Daten. Anhand dieser kann das Herzkreislaufsystem beurteilt und so zusätzliche Informationen bei neurowissenschaftlichen oder pharmakologischen Studien ebenso wie im Bereich der Stoffwechsel- und Altersforschung gewonnen werden.

## Anhang

### **8.3 Abstract zu einem Vortrag vorgestellt auf dem Kongress 14th Conference of the Gesellschaft für Primatologie, Leipzig, 11.-13.02.2015**

Non-invasive health screening for common marmosets using blood pressure measurements

Matthias Mietsch<sup>1</sup>, Almuth Einspanier<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Veterinary Medicine, Institute of Physiological Chemistry, University of Leipzig, Leipzig,

GER

Correspondence: einspanier@vetmed.uni-leipzig.de

The health maintenance of primates in captivity is a key component for the wellbeing of each individual. Blood pressure (BP) measurements as part of a regular monitoring could therefore improve health surveillance in primates e.g. in common marmosets (*Callithrix jacchus*).

The aim of our study was to set up a protocol for clinical BP measurements to monitor the health status of a marmoset colony over 20 months. 49 individuals (23 males, 26 females, age: 13.8-202.4 months) were measured with a high-definition oscillometric device (S+B medVET GmbH).

Standardized collected BP values were 145.7± 9.00 mmHg (systolic), 72.6 ± 6.44 mmHg (diastolic) and 98.3 ± 6.46 mmHg (mean arterial BP) with an average pulse rate of 406.5 ± 32.0 beats/min. Diastolic and mean arterial BP increased with age ( $P < 0.05$ ) and correlated positively with weight ( $P < 0.05$ ). Furthermore, recommendations concerning measurement localisation and daytimes could be worked out: BP values did not differ between measurements conducted in the morning or in the afternoon ( $P > 0.05$ ). To achieve precise data, thigh measurements should be preferred ( $P < 0.05$ ).



## Anhang

These standardized collected BP values with particular regard to age and weight provide basic information about the aging process and cardiovascular changes in the common marmoset

## Danksagung

### 9 Danksagung

Mein besonderer Dank geht an meine Betreuerin und Doktormutter Prof. Almuth Einspanier, die mit der Überlassung des Promotionsthemas erst diese Arbeit ermöglichte. Ihre offene Tür, Betreuung und Unterstützung während der vergangenen Zeit führten mich dorthin, wo ich nun bin - danke dafür.

Ich danke meinen Kollegen aus der Biochemie für die Begleitung während der vergangenen Jahre, die gute Zusammenarbeit und das angenehme Arbeitsklima.

Richard Utsch, Dr. Friederike Kühnel, Dr. Anne Weißmann, Nadine Bechstein, Fränze Günther, Anne Rachel, Dr. Alexandra Holzner, Dr. Corinna Arnold und Dr. Susanne Reitemeier danke ich für die gute Zusammenarbeit und die gemeinsame Zeit in der Biochemie.

Für ihre Hilfe bei den Blutdruckmessungen gebührt Robert Nestler und Christin Meinhardt ein großer Dank, sowie Dr. Anne Weißmann für die Beantwortung der Fragen zum Erstellen eines Manuskripts.

Dr. Friederike Kühnel danke ich auch für ihren Einsatz bei der Aufnahme in die Doktorandenwelt, die damit wahrscheinlich erst den Grundstein für diese Arbeit gelegt hat.

Ein besonderer Dank gilt Dr. Susanne Reitemeier für die gewissenhafte Durchsicht dieses Manuskriptes sowie die („kindlichen“) Ablenkungen und Gesprächssitzungen in so vielfältiger Form.

Richard Utsch danke ich fürs gemeinsame Lachen und Quatschen, Beratschlagen, Grübeln und Beistehen.

Herzlich bedanken möchte ich mich auch bei Vicki Bachner, Carsten Benson, Babette Bösche und Vivian Lentzsch für die Betreuung der Weißbüschelaffen und die Hilfe bei Behandlungen und Probennahmen. Vicki Bachner gilt zudem ein spezieller Dank für ihr stets offenes Ohr und ihr Zurechtstutzen zu angemessener Zeit.

## Danksagung

Bei allen beteiligten Weißbüschelaffen bedanke ich mich ebenfalls für die kooperative Mitarbeit und Geduld v.a. der weiblichen und alten Tiere sowie das gelegentliche Stillsitzen der Jungen und Männer.

Meinen Freunden (ob nah in Leipzig oder weiter entfernt in Dresden, München und Amerika), die mich während dieser Zeit begleitet und unterstützt haben, gilt mein tiefer Dank für alle Gespräche und gemeinsamen Lacher, aber auch ehrlichen Meinungen und Ratschläge.

Ganz besonders danke ich abschließend meiner Familie, die mich immer geduldig nach ihren Möglichkeiten unterstützte, die mir vor allem aber auch zeigte, dass nicht finanzielle Zuwendungen das Wichtigste im Leben sind, sondern Werte wie familiärer Zusammenhalt, Zuhören und Füreinander da sein.

Vielen Dank!