

5. ERGEBNISSE

5.1. Makromorphologische Daten

Die TGFβ₁-transgenen Mäuse entwickelten gegenüber den Wildtypen eine deutliche Myokardhypertrophie, welche quantitativ durch eine signifikante Zunahme des absoluten Herzgewichtes ohne äquivalente Veränderung des Körpergewichtes gekennzeichnet war. Das relative Herzgewicht (Herzgewicht-Körpergewicht-Verhältnis) nahm somit ebenfalls signifikant zu. Unter pharmakologischer Therapie zeigte sich in allen drei Behandlungsgruppen eine deutliche Hypertrophieregression mit signifikanter Reduktion von absolutem und relativem Herzgewicht. Unter Telmisartan war die Hypertrophieregression schwächer ausgeprägt als unter Metoprolol und sTGFβ₁-RA.

Tab. 8 fasst die makromorphologischen Daten als Übersicht zusammen:

	WT	TG	TG+METO	TG+TELM	TG+sTGFβ ₁ -RA
HG [mg]	111.65 ± 10.88 †	188.02 ± 25.70 *	116.13 ± 10.58 †	131.44 ± 10.77 †	123.82 ± 8.05 †
KG [g]	22.07 ± 5.14 n.s.	24.32 ± 4.87 n.s.	21.08 ± 5.41 n.s.	22.16 ± 4.60 n.s.	21.62 ± 4.73 n.s.
HG/KG [mg/g]	4.92 ± 0.48 †	7.73 ± 1.06 *	5.51 ± 0.50 †	5.93 ± 0.49 †	5.73 ± 0.37 †
n	6	6	6	5	6

Tab. 8: Makromorphologische Daten von Wildtypen, unbehandelten transgenen Mäusen und behandelten transgenen Mäusen (* = p<0.05 vs. WT, † = p<0.05 vs. TG, n.s. = nicht-signifikant). HG: Herzgewicht, KG: Körpergewicht, n: Anzahl der Individuen pro Gruppe

Abb. 6 und Abb. 7 zeigen die makromorphologischen Daten in graphischer Darstellung:

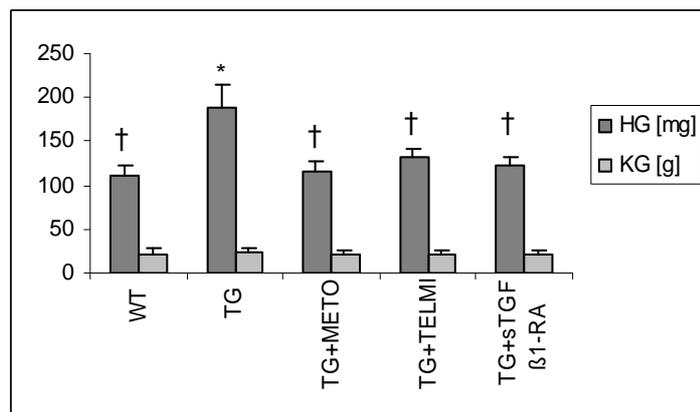


Abb. 6: Absolutes Herzgewicht und Körpergewicht von Wildtypen, unbehandelten transgenen Mäusen und behandelten transgenen Mäusen (* = p<0.05 vs. WT, † = p<0.05 vs. TG, n.s. = nicht-signifikant). HG: Herzgewicht, KG: Körpergewicht

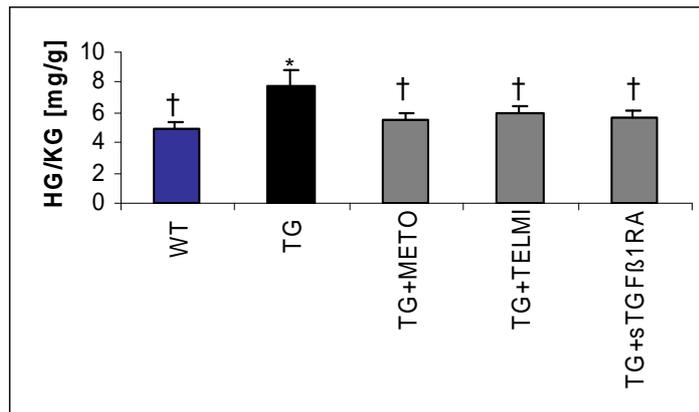


Abb. 7:
 Relatives Herzgewicht (Herzgewicht-Körpergewicht-Verhältnis) von Wildtypen, unbehandelten transgenen Mäusen und behandelten transgenen Mäusen (* = $p < 0.05$ vs. WT, † = $p < 0.05$ vs. TG, n.s. = nicht-signifikant). HG: Herzgewicht, KG: Körpergewicht

Die Myokardhypertrophie der TGFβ₁-transgenen Mäuse war auf histologischer Ebene sowohl durch zelluläre Veränderungen (Hypertrophiereaktion) als auch durch interstitielle Umstrukturierungen (Fibroseinduktion) gekennzeichnet, die unter Therapie in Abhängigkeit der jeweils eingesetzten Substanz unterschiedlich beeinflusst wurden.

5.2. Mikromorphologische Daten (Sirius Red Färbung)

Zur Charakterisierung der zellulären Veränderungen wurden Sirius Red-gefärbte Gewebeschnitte lichtmikroskopisch hinsichtlich mikromorphologischer Parameter wie Durchmesser, Umfang und Fläche vermessen und vergleichend beurteilt. Pro Gruppe wurden jeweils 5 Individuen und pro Individuum jeweils 6 verschiedene Einstellungen aus den zentralen Bereichen der Gewebeschnitte betrachtet.

Tab. 9 fasst die Daten zum myozytären Phänotyp als Übersicht zusammen:

	WT	TG	TG+METO	TG+TELMi	TG+sTGFβ ₁ -RA
D [μm]	13.87 ± 0.180 †	16.63 ± 0.256 *	14.77 ± 0.074 †	14.81 ± 0.239 †	14.50 ± 0.170 †
U [μm]	47.54 ± 0.471 †	59.10 ± 2.352 *	50.67 ± 1.062 †	50.74 ± 0.592 †	49.49 ± 0.451 †
F [μm ²]	151.44 ± 3.814 †	215.43 ± 2.228 *	171.78 ± 1.927 †	172.42 ± 5.435 †	165.55 ± 3.740 †
n	5	5	5	5	5

Tab. 9:
 Myozytärer Phänotyp von Wildtypen, unbehandelten transgenen Mäusen und behandelten transgenen Mäusen (* = $p < 0.05$ vs. WT, † = $p < 0.05$ vs. TG). D: Myozytendurchmesser, U: Myozytenumfang, F: Myozytenfläche, n: Anzahl der Individuen pro Gruppe

Abb. 8 zeigt die mikromorphologischen Daten zur Myozytenfläche in graphischer Darstellung:

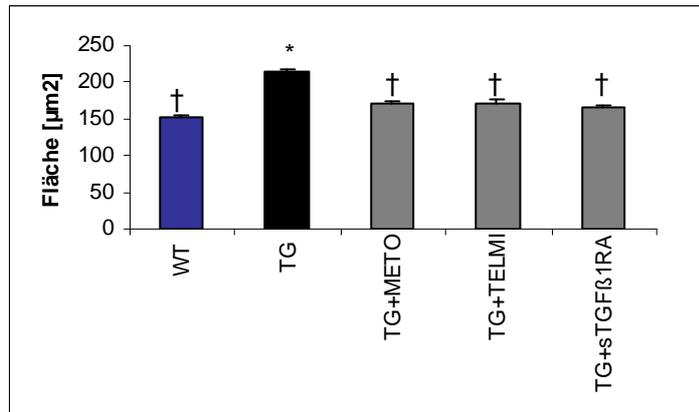


Abb. 8: Myozytenfläche von Wildtypen, unbehandelten transgenen Mäusen und behandelten transgenen Mäusen (* = $p < 0.05$ vs. WT, † = $p < 0.05$ vs. TG)

Die TGFβ₁-transgenen Mäuse zeigten gegenüber den Wildtypen eine deutliche Zunahme von Myozytendurchmesser, -umfang und -fläche. Unter pharmakologischer Therapie konnte durch alle drei Substanzen eine signifikante Normalisierung des myozytären Phänotyps erreicht werden. Die myozytäre Hypertrophieregression fiel sowohl unter Metoprolol als auch unter sTGFβ₁-RA stärker aus als unter Telmisartan.

Abb. 9 zeigt repräsentative histologische Schnitte zur Charakterisierung des myozytären Phänotyps:

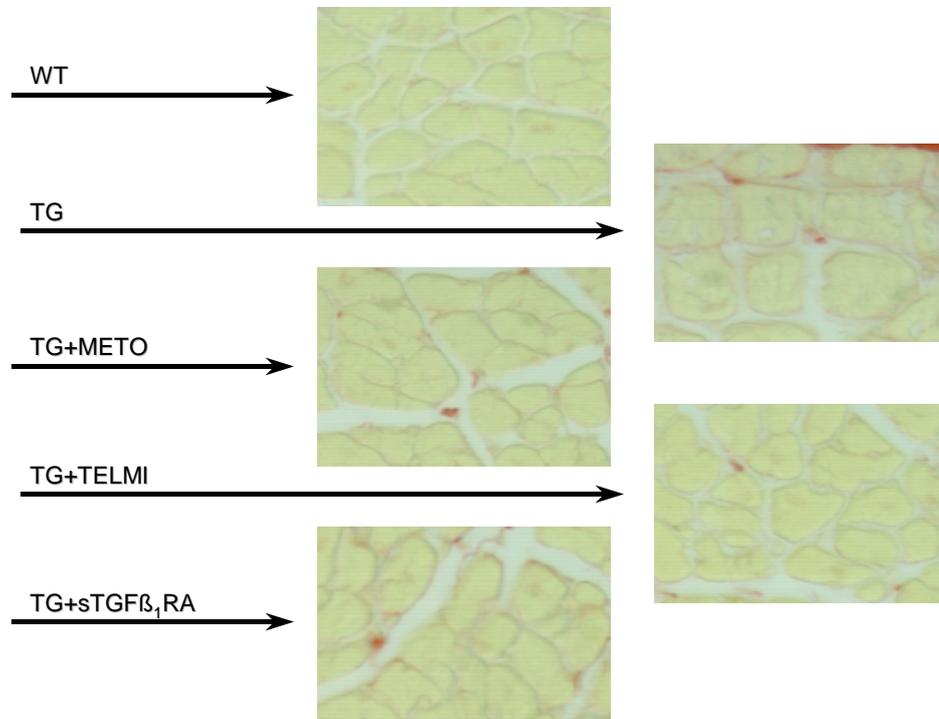


Abb. 9: Myozytärer Phänotyp von Wildtypen, unbehandelten transgenen Mäusen und behandelten transgenen Mäusen (Sirius Red Färbung)

5.3. Interstitielle Kollagenexpression (Sirius Red Färbung)

Die Veränderungen der interstitiellen Kollagenexpression wurden an Sirius Red-gefärbten Gewebeschnitten lichtmikroskopisch mit und ohne Polarisationsfilter vergleichend beurteilt. Pro Gruppe wurden jeweils 5 Individuen und pro Individuum jeweils 3 verschiedene Einstellungen aus den zentralen Bereichen der Gewebeschnitte betrachtet. Das Ausmaß der perivaskulären Fibrose wurde anhand von miterfassten Querschnitten der Koronararterien abgeschätzt und vergleichend beurteilt.

Tab. 10 fasst die Daten zur interstitiellen Kollagenexpression als Übersicht zusammen:

	WT	TG	TG+METO	TG+TELM	TG+sTGFβ ₁ -RA
FA [%]	2.50 ± 0.398	10.00 ± 1.972	7.50 ± 1.269	5.70 ± 0.854	7.80 ± 2.461
	†	*	n.s.	†	n.s.
n	5	5	5	5	5

Tab. 10: Interstitielle Kollagenexpression von Wildtypen, unbehandelten transgenen Mäusen und behandelten transgenen Mäusen (* = p<0.05 vs. WT, † = p<0.05 vs. TG, n.s. = nicht-signifikant). FA: Fractional Area (relative Kollagenfraktion), n: Anzahl der Individuen pro Gruppe

Abb. 10 zeigt die Daten zur interstitiellen Kollagenexpression in graphischer Darstellung:

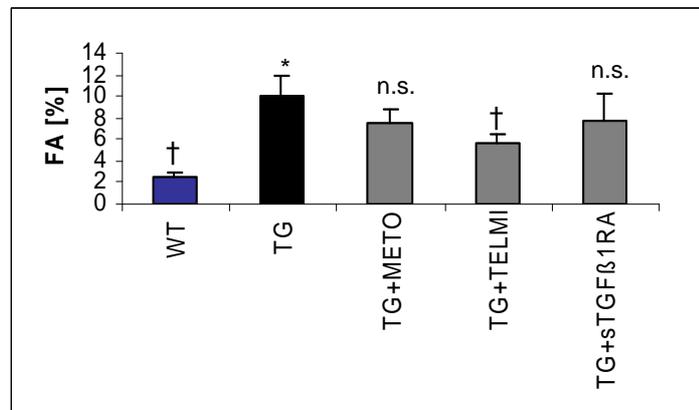


Abb. 10: Interstitielle Kollagenexpression von Wildtypen, unbehandelten transgenen Mäusen und behandelten transgenen Mäusen (* = p<0.05 vs. WT, † = p<0.05 vs. TG, n.s. = nicht-signifikant). FA: Fractional Area (relative Kollagenfraktion)

Die TGFβ₁-transgenen Mäuse zeigten gegenüber den Wildtypen eine deutliche interstitielle Fibrosierung. Polarisationsoptisch stellte sich hierbei ein Überwiegen der Kollagen I-Fraktion gegenüber der Kollagen III-Fraktion dar. Hinsichtlich der perivaskulären Fibrose ergaben sich keine Unterschiede (weder zwischen WT und TG noch innerhalb der einzelnen Behandlungsgruppen). Unter pharmakologischer Therapie konnte nur durch Telmisartan eine signifikante Reduktion der interstitiellen Kollagenexpression erreicht werden, während Metoprolol und sTGFβ₁-RA den Kollagengehalt nicht wesentlich beeinflussten.

Abb. 11 zeigt repräsentative histologische Schnitte zur Charakterisierung der interstitiellen Kollagenexpression:

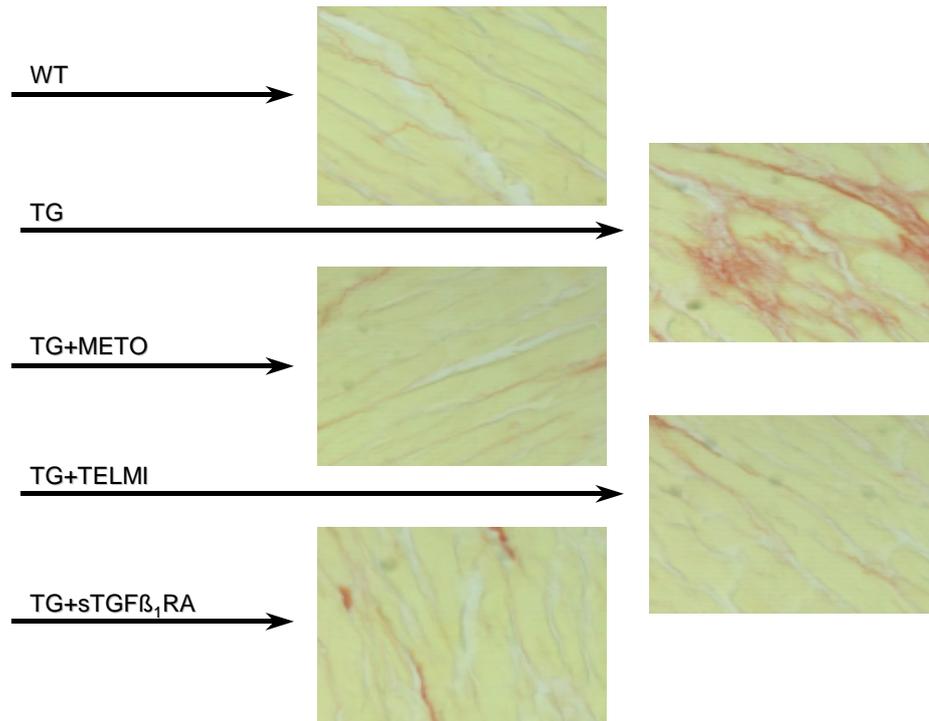


Abb. 11:
Interstitielle Kollagenexpression von Wildtypen, unbehandelten transgenen Mäusen und behandelten transgenen Mäusen (Sirius Red Färbung)

5.4. Kollagenasen (Western Blot)

Zur Beurteilung der Dynamik des kardialen extrazellulären Remodelings auf posttranslatieller Proteinebene wurden molekularbiologische Untersuchungen von MMP- und TIMP-Expression durchgeführt.

Als repräsentative Vertreter der Kollagenasen wurden MMP-1 und MMP-13 betrachtet und deren Expression mittels Western Blot analysiert. Pro Gruppe wurden insgesamt jeweils 5 Individuen untersucht.

Tab. 11 fasst die Daten zur Kollagenasen-Expression als Übersicht zusammen:

Kollagenasen	WT	TG	TG+METO	TG+TELM	TG+sTGFβ ₁ -RA
MMP-1 aktiv 46kDa [OD]	37.59 ± 11.74 †	4.34 ± 3.40 *	31.69 ± 9.61 †	25.18 ± 11.50 †	14.06 ± 5.12 n.s.
MMP-1 latent 57/52kDa[OD]	26.92 ± 5.51 n.s.	15.73 ± 7.25 n.s.	25.75 ± 9.70 n.s.	27.88 ± 15.88 n.s.	22.89 ± 6.51 n.s.
MMP-13 48kDa [OD]	103.07 ± 25.69 †	48.99 ± 11.61 *	67.44 ± 17.57 n.s.	105.45 ± 19.11 †	104.96 ± 25.71 n.s.
n	5	5	5	5	5

Tab. 11:
Kollagenasen-Expression von Wildtypen, unbehandelten transgenen Mäusen und behandelten transgenen Mäusen (* = p<0.05 vs. WT, † = p<0.05 vs. TG, n.s. = nicht-signifikant). OD: Optical Density (optische Dichte), n: Anzahl der Individuen pro Gruppe

Die TGF β_1 -transgenen Mäuse wiesen gegenüber den Wildtypen eine deutlich verminderte Expression der aktiven Form der MMP-1 (46kDa) und damit eine sowohl quantitativ als auch qualitativ deutlich eingeschränkte interstitielle Proteolysekapazität auf. Unter pharmakologischer Therapie zeigte sich bei den mit Metoprolol und bei den mit Telmisartan behandelten Tieren eine signifikante Heraufregulation der aktiven Form der MMP-1, während in der sTGF β_1 -RA-Gruppe lediglich eine nicht-signifikante Heraufregulation resultierte. Die Expression der latenten Form der MMP-1 (52/57kDa) blieb sowohl im Vergleich TGF β_1 -transgener Mäuse gegenüber Wildtypen als auch unter pharmakologischer Therapie ohne wesentliche Veränderungen.

Abb. 12 zeigt die Daten zur MMP-1-Expression in graphischer Darstellung:

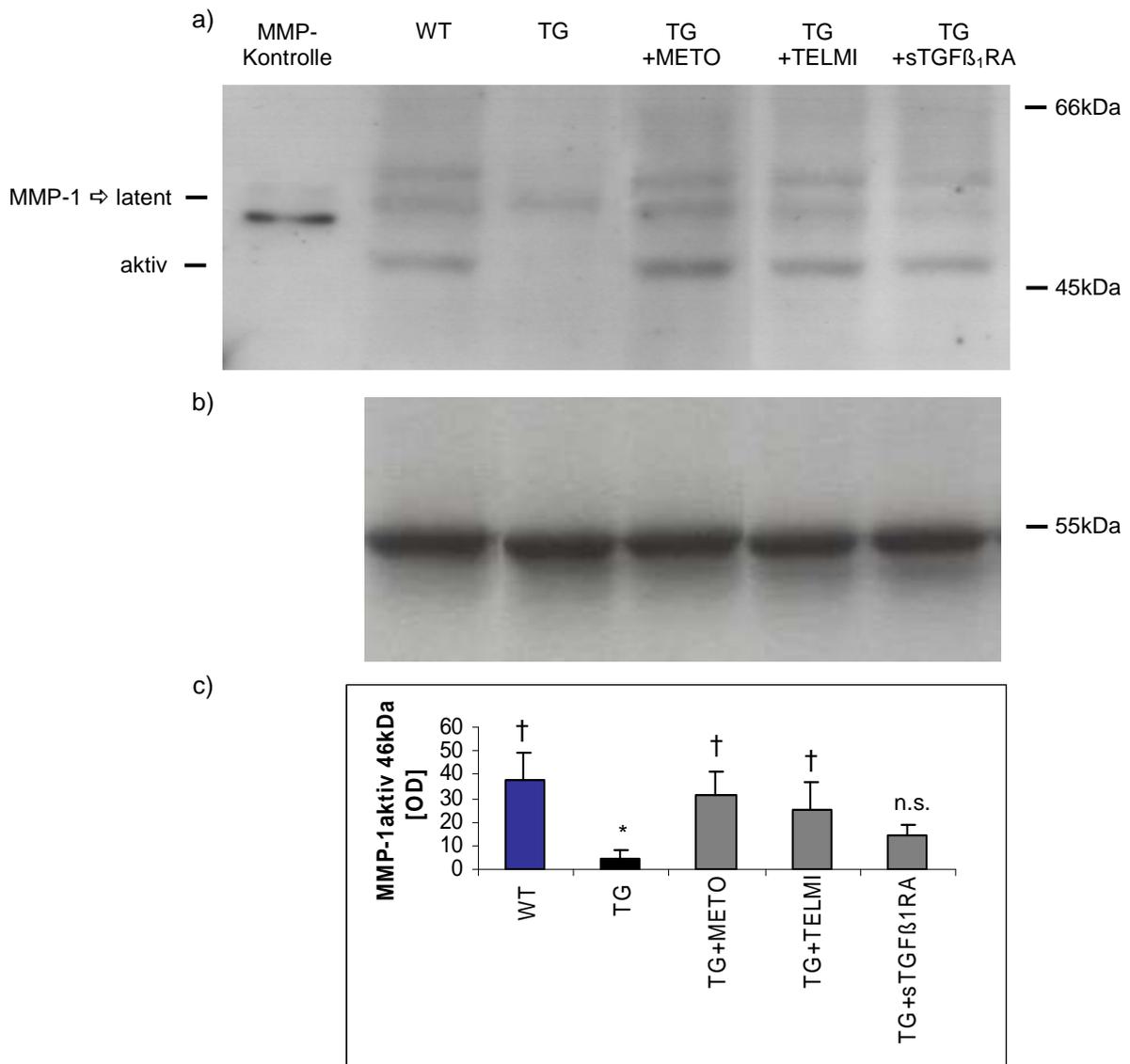


Abb. 12:
MMP-1-Expression von Wildtypen, unbehandelten transgenen Mäusen und behandelten transgenen Mäusen (* = $p < 0.05$ vs. WT, † = $p < 0.05$ vs. TG, n.s. = nicht-signifikant). OD: Optical Density (optische Dichte)

- a) Repräsentative Western Blot-Membran
- b) Korrespondierender Calsequestrin-Blot zur Kontrolle der Proteinbeladung
- c) Graphische Darstellung der MMP-1-Expression (aktive Form)

Auch die MMP-13-Expression war bei den TGF β ₁-transgenen Mäuse gegenüber den Wildtypen deutlich vermindert. Unter pharmakologischer Therapie konnte nur bei den mit Telmisartan behandelten Tieren eine signifikante MMP-13-Heraufregulation (48kDa) beobachtet werden. In der Metoprolol-Gruppe und in der sTGF β ₁-RA-Gruppe ergab sich dagegen lediglich eine nicht-signifikante Heraufregulation.

Abb. 13 zeigt die Daten zur MMP-13-Expression in graphischer Darstellung:

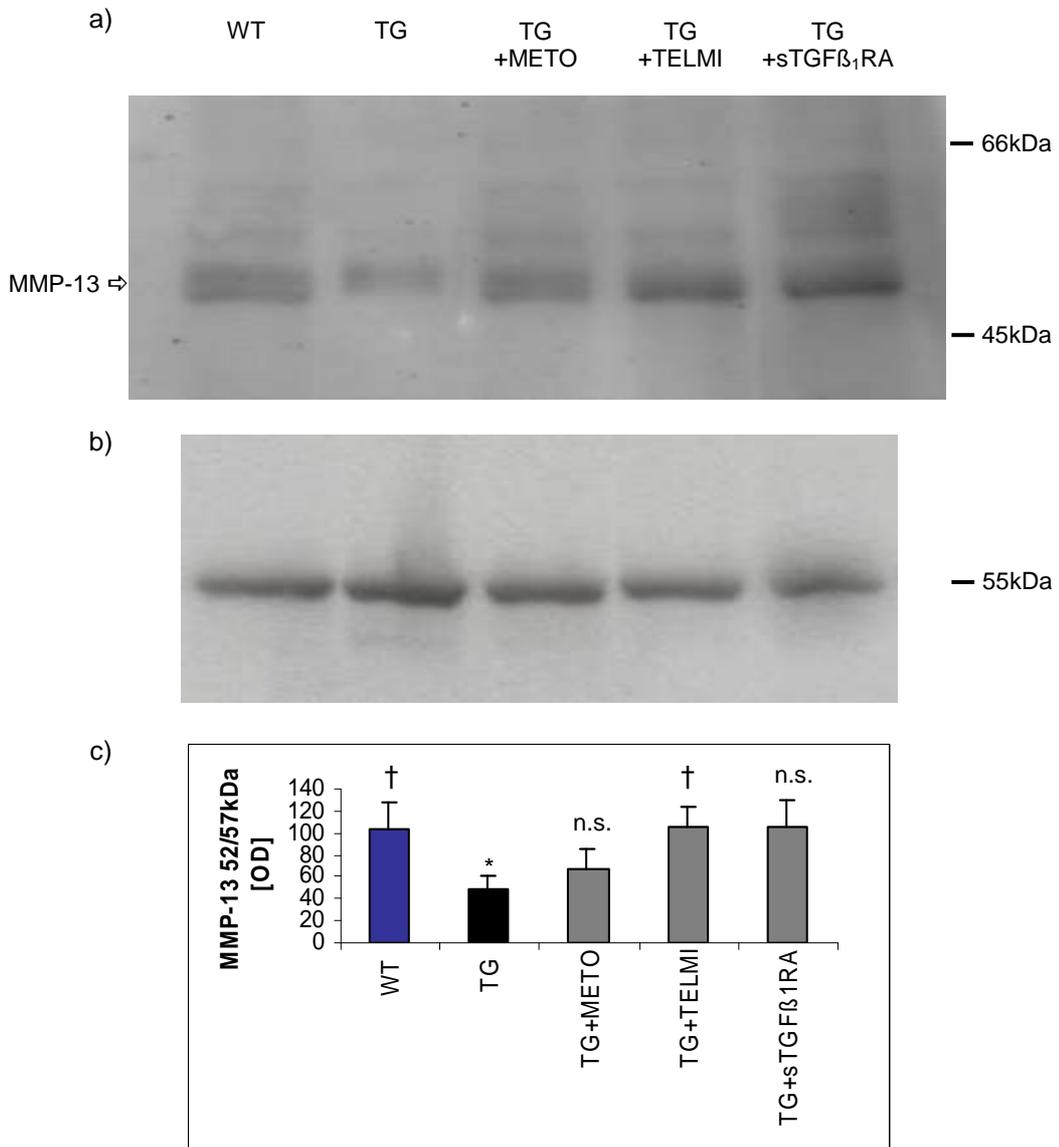


Abb. 13:
MMP-13-Expression von Wildtypen, unbehandelten transgenen Mäusen und behandelten transgenen Mäusen (* = $p < 0.05$ vs. WT, † = $p < 0.05$ vs. TG, n.s. = nicht-signifikant). OD: Optical Density (optische Dichte)

- a) Repräsentative Western Blot-Membran
b) Korrespondierender Calsequestrin-Blot zur Kontrolle der Proteinbeladung
c) Graphische Darstellung der MMP-13-Expression

5.5. Gelatinasen (Zymographie)

Die Regulation der Gelatinasen wurde anhand der Expression von MMP-2 und MMP-9 mittels Zymographie analysiert. Pro Gruppe wurden insgesamt jeweils 5 Individuen untersucht. Die latente Form der MMP-2 (proMMP-2) demarkierte sich als lytisches

Bandenmuster bei 72kDa und zeigte weder zwischen WT und TG noch innerhalb der einzelnen Behandlungsgruppen eine signifikante Regulation. Die aktive Form von MMP-2 (zu erwarten bei 66kDa) konnte nicht detektiert werden. Die MMP-9 stellte sich zymographisch nur als schwaches Bandenmuster dar und war daher keiner quantitativen Analyse und Auswertung zugänglich. Resultierend aus der geringen konstitutiven Aktivität und den fehlenden Hinweisen für eine relevante Regulation scheinen die Gelatinasen im Alb/TGFβ₁(Cys^{223,225}Ser)-transgenen Mausmodell nur eine untergeordnete Rolle zu spielen.

Tab. 12 fasst die Daten zur proMMP-2-Expression als Übersicht zusammen:

Gelatinasen	WT	TG	TG+METO	TG+TELM1	TG+sTGFβ ₁ -RA
proMMP-2	1913.3 ± 916.2	1513.3 ± 576.6	1806.9 ± 617.7	1771.4 ± 433.1	2590.2 ± 806.9
72kDa [OD]	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
n	5	5	5	5	5

Tab. 12: proMMP-2-Expression von Wildtypen, unbehandelten transgenen Mäusen und behandelten transgenen Mäusen (* = p<0.05 vs. WT, † = p<0.05 vs. TG, n.s. = nicht-signifikant). OD: Optical Density (optische Dichte), n: Anzahl der Individuen pro Gruppe

Abb. 14 zeigt die Daten zur Gelatinasen-Expression in graphischer Darstellung:

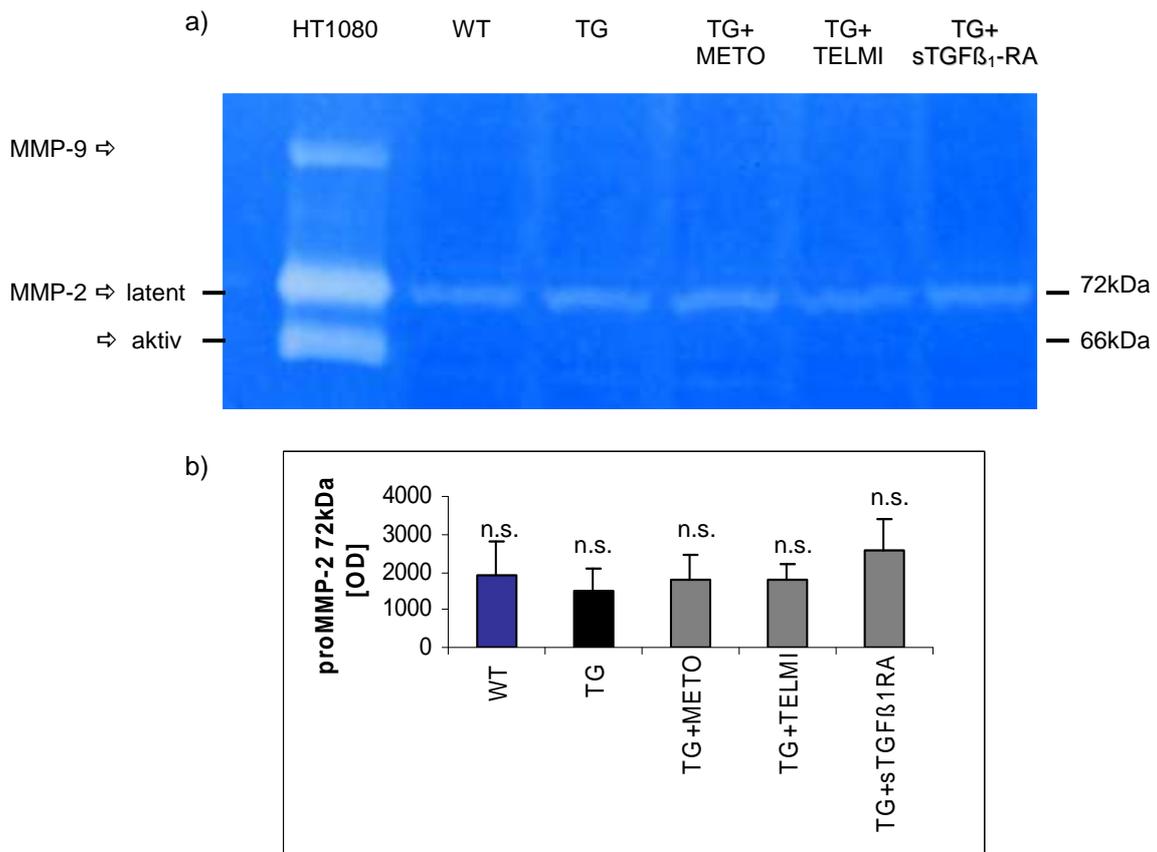


Abb. 14: proMMP-2-Expression von Wildtypen, unbehandelten transgenen Mäusen und behandelten transgenen Mäusen (n.s. = nicht-signifikant). OD: Optical Density (optische Dichte)

- a) Repräsentative Zymographie-Membran
b) Graphische Darstellung der proMMP-2-Expression

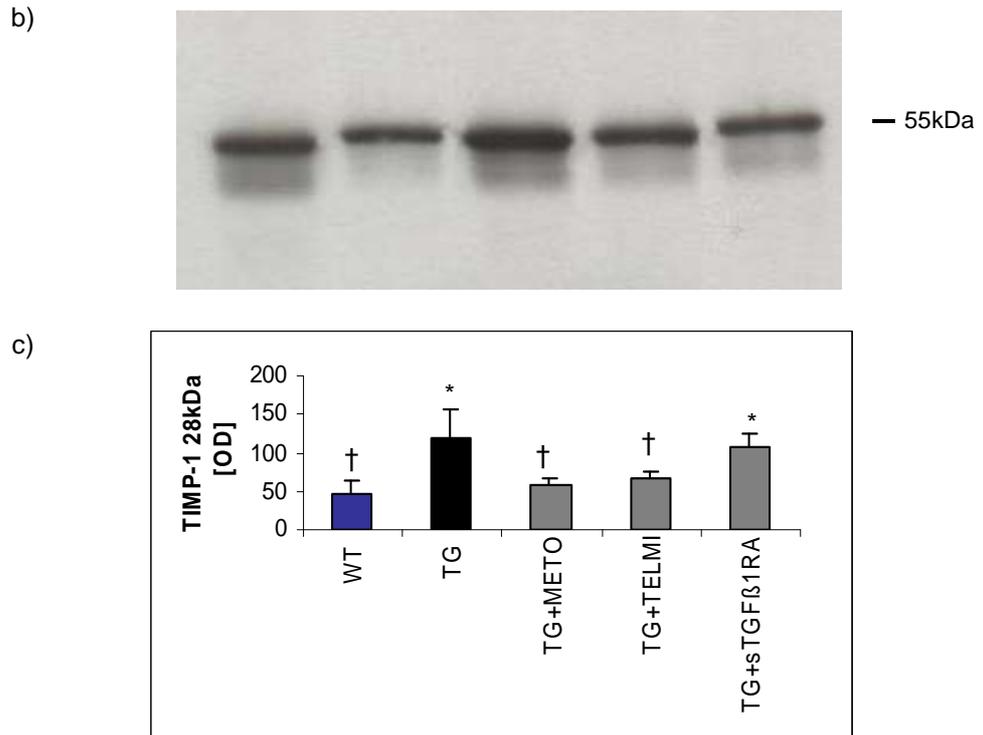
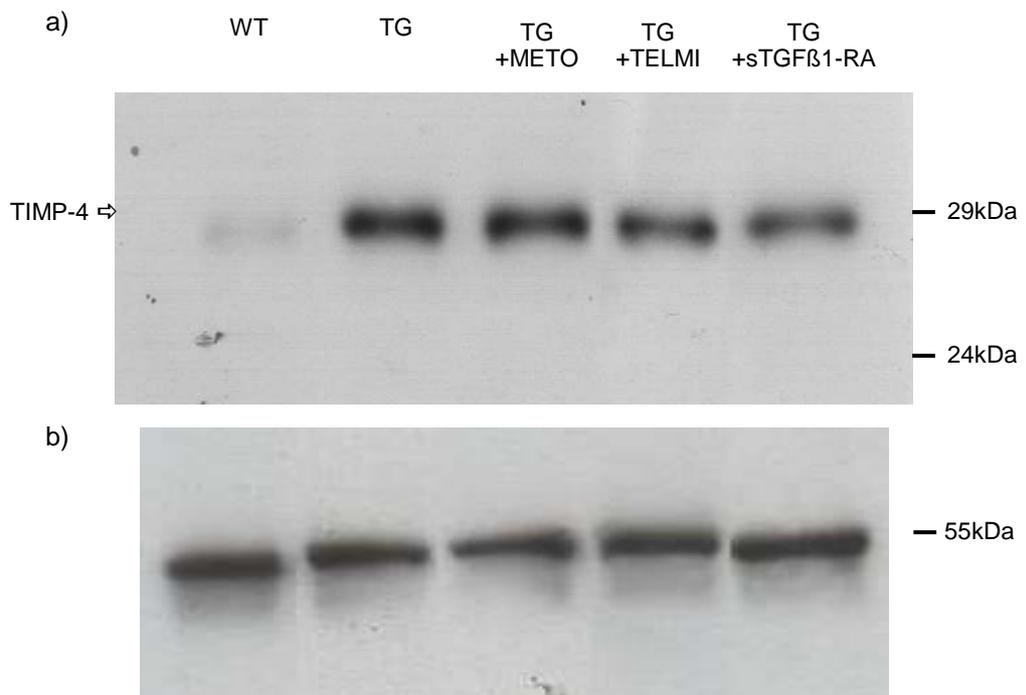


Abb. 15:
TIMP-1-Expression von Wildtypen, unbehandelten transgenen Mäusen und behandelten transgenen Mäusen (* = $p < 0.05$ vs. WT, † = $p < 0.05$ vs. TG, n.s. = nicht-signifikant). OD: Optical Density (optische Dichte)
a) Repräsentative Western Blot-Membran
b) Korrespondierender Calsequestrin-Blot zur Kontrolle der Proteinbeladung
c) Graphische Darstellung der TIMP-1-Expression

Abb. 16 zeigt die Daten zur TIMP-4-Expression in graphischer Darstellung:



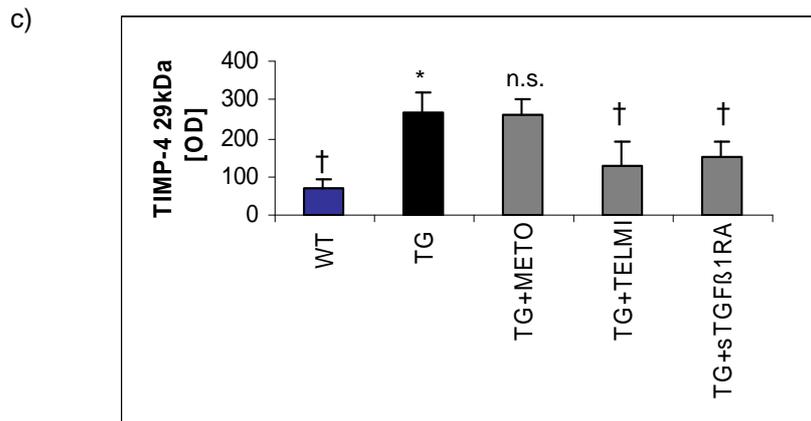


Abb. 16:
TIMP-4-Expression von Wildtypen, unbehandelten transgenen Mäusen und behandelten transgenen Mäusen (* = $p < 0.05$ vs. WT, † = $p < 0.05$ vs. TG, n.s. = nicht-signifikant). OD: Optical Density (optische Dichte)

- a) Repräsentative Western Blot-Membran
- b) Korrespondierender Calsequestrin-Blot zur Kontrolle der Proteinbeladung
- c) Graphische Darstellung der TIMP-4-Expression

5.7. mRNA (Quantitative Real Time PCR)

Zur Evaluation der Konsequenzen des kardialen Remodelings auf Nukleinsäureebene wurde die Regulation der mRNA-Expression von ANF als bedeutendem zellulären Hypertrophiemarker sowie von MMP-13 und der kardialen Pro-Kollagenen (Pro-Kollagen TypI und Pro-Kollagen TypIII) als Determinanten der interstitiellen Fibrose untersucht. Pro Gruppe wurden jeweils 5 (ANF) bzw. 4 (MMP-13, Pro-Kollagenen) Individuen betrachtet. Die Bestimmung der quantitativen mRNA-Expression erfolgte nach der komparativen C_T -Methode durch Berechnung der relativen Effizienzen der Genamplifikationen. Die Ergebnisse wurden jeweils als Mittelwert und Variationsbreite (range) dargestellt.

Tab. 14 fasst die Daten zur ANF-mRNA-Expression als Übersicht zusammen:

mRNA	WT	TG	TG+METO	TG+TELMI	TG+sTGFB ₁ -RA
ANF	1.00 †	3.23 *	2.60 n.s. *	1.12 †	2.13 n.s. *
Range	(0.72-1.39)	(2.33-4.48)	(1.67-4.05)	(0.79-1.58)	(1.47-3.08)
(-)	0.28	0.90	0.93	0.33	0.66
(+)	0.39	1.25	1.45	0.46	0.95
n	5	5	5	5	5

Tab. 14:
ANF-mRNA-Expression von Wildtypen, unbehandelten transgenen Mäusen und behandelten transgenen Mäusen (* = signifikant vs. WT, † = signifikant vs. TG, n.s. = nicht-signifikant vs. TG). ANF: Atrial Natriuretic Factor, n: Anzahl der Individuen pro Gruppe

Abb. 17 verdeutlicht die Daten zur ANF-mRNA-Expression in graphischer Darstellung:

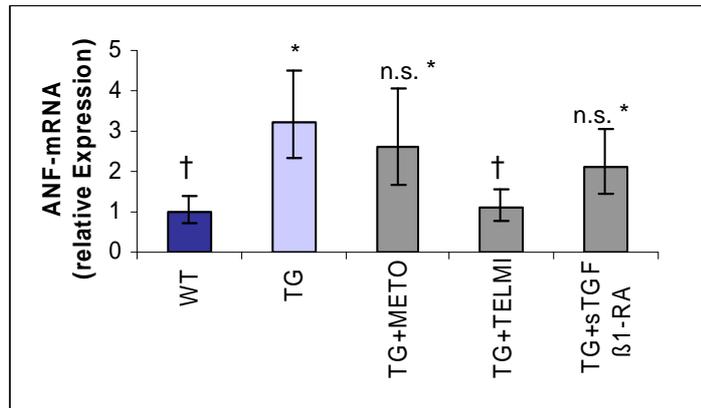


Abb. 17: ANF-mRNA-Expression von Wildtypen, unbehandelten transgenen Mäusen und behandelten transgenen Mäusen (* = signifikant vs. WT, † = signifikant vs. TG, n.s. = nicht-signifikant vs. TG). ANF: Atrial Natriuretic Factor

Die TGFβ₁-transgenen Tiere wiesen gegenüber den Wildtypen eine mehr als 3fache Erhöhung der quantitativen ANF-mRNA-Expression auf. Dieser Effekt konnte bereits in Voruntersuchungen am gleichen Mausmodell sowohl in LV- als auch in RV-Homogenaten beobachtet werden (Rosenkranz S et al., 2002) und bestätigte die makro- und mikromorphologischen Veränderungen des Phänotyps. Unter pharmakologischer Therapie zeigte sich in allen Behandlungsgruppen eine Regression der ANF-mRNA-Expression und damit der Hypertrophieantwort, wobei nur in der Telmisartan-Gruppe das Signifikanzniveau erreicht wurde.

Tab. 15 fasst die Daten zur MMP-13-mRNA-Expression zusammen:

mRNA	WT	TG	TG+METO	TG+TELMi	TG+sTGFβ ₁ -RA
MMP-13	1.00	0.71	1.93	1.97	0.85
	n.s.		† *	† *	n.s.
Range	(0.84-1.19)	(0.60-0.85)	(1.42-2.62)	(1.51-2.57)	(0.48-1.52)
(-)	0.16	0.11	0.51	0.46	0.37
(+)	0.19	0.15	0.69	0.60	0.67
n	4	4	4	4	4

Tab. 15: MMP-13-mRNA-Expression von Wildtypen, unbehandelten transgenen Mäusen und behandelten transgenen Mäusen (* = signifikant vs. WT, † = signifikant vs. TG, n.s. = nicht-signifikant vs. TG). n: Anzahl der Individuen pro Gruppe

Abb. 18 verdeutlicht die Daten zur MMP-13-mRNA-Expression in graphischer Darstellung:

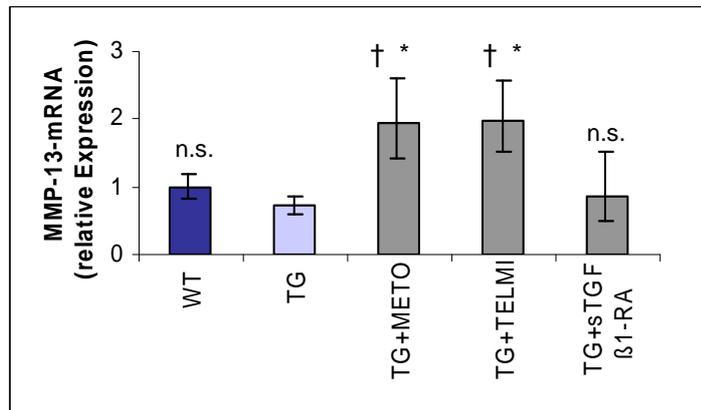


Abb. 18: MMP-13-mRNA-Expression von Wildtypen, unbehandelten transgenen Mäusen und behandelten transgenen Mäusen (* = signifikant vs. WT, † = signifikant vs. TG, n.s. = nicht-signifikant vs. TG).

Die MMP-13-mRNA-Expression war in den TGFβ₁-transgenen Tieren gegenüber den Wildtypen reduziert, verfehlte hierbei jedoch knapp das Signifikanzniveau. Unter pharmakologischer Therapie zeigte sich in allen Behandlungsgruppen eine Heraufregulation der MMP-13-mRNA-Expression. In der Metoprolol-Gruppe und in der Telmisartan-Gruppe war die Expressionszunahme am stärksten ausgeprägt und jeweils signifikant sowohl gegenüber den transgenen Tieren als auch gegenüber den Wildtypen. In der sTGFβ₁-RA-Gruppe konnte dagegen lediglich eine nicht-signifikante Heaufregulation erreicht werden. Diese Daten korrespondieren weitgehend mit der MMP-13-Expression auf Proteinebene, wobei hier allein unter Telmisartan das Signifikanzniveau überschritten wurde.

Tab. 16 und Tab. 17 fassen die Daten zur Pro-Kollagen-mRNA-Expression zusammen:

mRNA	WT	TG	TG+METO	TG+TELMI	TG+sTGFβ ₁ -RA
Pro-Kollagen	1.00	0.98	0.97	0.72	0.58
Typ1	n.s.		n.s.	n.s.	n.s.
Range	(0.80-1.26)	(0.72-1.34)	(0.62-1.50)	(0.56-0.92)	(0.43-0.80)
(-)	0.20	0.26	0.35	0.16	0.15
(+)	0.26	0.36	0.53	0.20	0.22
n	4	4	4	4	4

Tab. 16: Pro-Kollagen Typ1-mRNA-Expression von Wildtypen, unbehandelten transgenen Mäusen und behandelten transgenen Mäusen (* = signifikant vs. WT, † = signifikant vs. TG, n.s. = nicht-signifikant vs. TG). n: Anzahl der Individuen pro Gruppe

mRNA	WT	TG	TG+METO	TG+TELM1	TG+sTGFβ ₁ -RA
Pro-Kollagen TypIII	1.00	0.92	0.97	0.56	0.30
	n.s.		n.s.	n.s. *	† *
Range	(0.85-1.17)	(0.59-1.45)	(0.46-2.05)	(0.46-0.67)	(0.17-0.52)
(-)	0.15	0.33	0.51	0.10	0.13
(+)	0.17	0.53	1.08	0.11	0.22
n	4	4	4	4	4

Tab. 17:

Pro-Kollagen TypIII-mRNA-Expression von Wildtypen, unbehandelten transgenen Mäusen und behandelten transgenen Mäusen (* = signifikant vs. WT, † = signifikant vs. TG, n.s. = nicht-signifikant vs. TG). n: Anzahl der Individuen pro Gruppe

Abb. 19 und Abb.20 verdeutlichen die Daten zur Pro-Kollagen-mRNA-Expression in graphischer Darstellung:

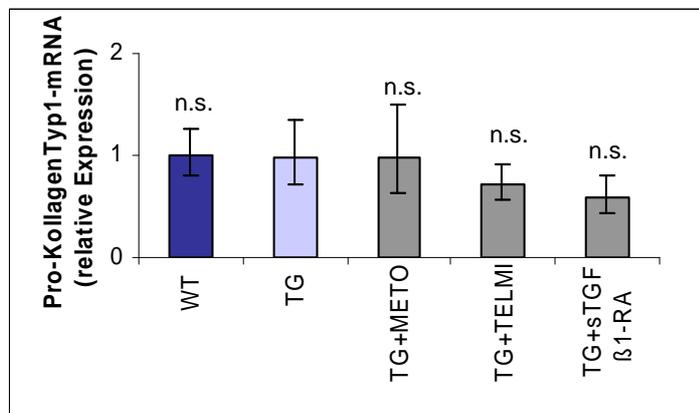


Abb. 19:

Pro-Kollagen Typ I-mRNA-Expression von Wildtypen, unbehandelten transgenen Mäusen und behandelten transgenen Mäusen (* = signifikant vs. WT, † = signifikant vs. TG, n.s. = nicht-signifikant vs. TG).

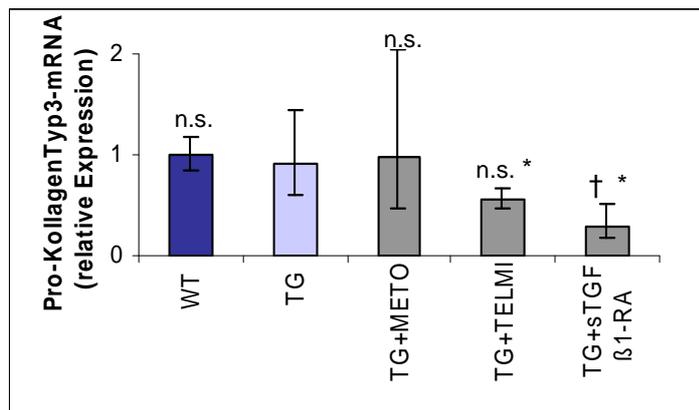


Abb. 20:

Pro-Kollagen Typ III-mRNA-Expression von Wildtypen, unbehandelten transgenen Mäusen und behandelten transgenen Mäusen (* = signifikant vs. WT, † = signifikant vs. TG, n.s. = nicht-signifikant vs. TG).

Die Pro-Kollagen-mRNA-Expression zeigte in den TGF β_1 -transgenen Tieren gegenüber den Wildtypen keine signifikante Regulation. Unter pharmakologischer Therapie konnte in der sTGF β_1 -RA-Gruppe eine signifikante Herabregulation der Pro-Kollagen Typ III-mRNA-Expression detektiert werden. Insgesamt ergab sich den Behandlungsgruppen zwar eine tendentielle Expressionsabnahme, jedoch jeweils unterhalb des Signifikanzniveaus. Die auf Proteinebene evidente Regulation der interstitiellen Kollagenexpression konnte somit auf Nukleinsäureebene nicht bestätigt werden. Ein negativer Feedback-Mechanismus mit Suppression der nukleären Transkription der Pro-Kollagen-Gene und folglich verminderter Pro-Kollagen-mRNA-Synthese bei induzierten extrazellulären Fibrosierungsprozessen wäre hierfür eine mögliche Erklärung.