

Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

Arbeit angefertigt unter der Leitung von
Prof. Dr. med. vet. Dr. habil. Andrea Fischer

Charakterisierung der genetischen Epilepsie beim Australian Shepherd

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

von
Jutta Christina Anne Weißl
aus Altötting

München 2012

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

Dekan:	Univ.-Prof. Dr. Braun
Berichterstatter:	Prof. Dr. Fischer
Korreferenten:	Univ.-Prof. Dr. Matiasek Univ.-Prof. Dr. Potschka Priv.-Doz. Dr. Maierl Univ.-Prof. Dr. Hirschberger

Tag der Promotion: 11. Februar 2012

Für Mama, Papa und Julia.

Gefördert durch ein Promotionsstipendium nach dem Bayerischen
Eliteförderungsgesetz der Universität Bayern e.V.

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG	1
II.	LITERATURÜBERSICHT	3
1.	Der Australian Shepherd.....	3
1.1.	Zuchtorganisation in Deutschland, Österreich und der Schweiz	3
1.2.	Rassegeschichte.....	4
1.3.	Ausgewählte Rassemerkmale.....	5
1.3.1.	Rute	5
1.3.2.	Farben.....	5
1.3.2.1.	Offiziell anerkannte Farben.....	5
1.3.2.2.	Fellpigmentierung und Vererbung	6
1.4.	Ausgewählte kongenitale Defekte.....	9
1.4.1.	Merle-Defekt und assoziierte Krankheiten	9
1.4.2.	ABCB1-1 Δ -Gendefekt	11
2.	Epilepsie	12
2.1.	Klassifizierung	12
2.1.1.	Ätiologie.....	13
2.1.2.	Anfallstypen	15
2.1.3.	Weitere Klassifizierungskriterien.....	19
2.2.	Antiepileptische Therapie und Therapieresistenz	20
2.2.1.	Antiepileptische Therapie beim Hund.....	20
2.2.2.	Aspekte der Therapieresistenz	21
III.	PUBLIKATION	28
IV.	DISKUSSION	59
1.	Klinisches Bild	59
1.1.	Einteilung klinischer Schweregrade.....	59
1.2.	Fokale Anfälle	61
1.3.	Status epilepticus.....	64
2.	Outcome	65
2.1.	Therapieresistenz.....	65
2.1.1.	Vergleichbarkeit mit anderen Studien.....	66
2.1.1.1.	Ätiologie.....	67

2.1.1.2.	Definition von Therapieresistenz	68
2.1.1.3.	Serumwirkspiegel.....	70
2.1.1.4.	Anzahl der Antiepileptika	71
2.1.1.5.	Weitere Einflussfaktoren.....	72
2.1.2.	Anfallskontrolle und ABCB1-1Δ.....	73
2.2.	Einflussfaktoren auf die Überlebenszeit	74
2.2.1.	Therapieresistenz.....	75
2.2.2.	Anzahl der Anfallstage im ersten halben Jahr.....	76
2.2.3.	Alter bei Krankheitsbeginn	76
2.2.4.	Fellfarbe	77
3.	Stammbaumanalyse	79
4.	Grenzen der Studie.....	80
5.	Ausblick.....	81
V.	ZUSAMMENFASSUNG	83
VI.	SUMMARY.....	85
VII.	LITERATURVERZEICHNIS	87
VIII.	ANHANG	119
IX.	DANKSAGUNG	121

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ABCB1(MDR1)	ATP binding cassette, subfamily B, member 1 (multidrug resistance 1 gene)
ABCB1-1Δ	4 Basenpaardeletion nt230(del 4) im ABCB1(MDR1) Gen
ABCC	ATP binding cassette, subfamily C
ADAM	a-disintegrin-and-metalloproteinase
ASA	Australian Shepherds of Austria
ASCA	Australian Shepherd Club of America
ASCD	Australian Shepherd Club Deutschland
ASHZG	Australian Shepherd Hütehund Zuchtgemeinschaft
bzw.	beziehungsweise
CASD	Club für Australian Shepherd Deutschland
CFA	canines Chromosom
cm	Zentimeter
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EEG	Elektroenzephalogramm
EPM1/2	Epilepsy, progressive myoclonus type 1/2
etc.	et cetera
e. V.	eingetragener Verein
FCI	Fédération Cynologique Internationale
GABA _A	γ-Aminobuttersäure
i. d. R.	in der Regel
ILAE	International League Against Epilepsy

kg	Kilogramm
LGI	Leucine-rich, glioma inactivated
LSSS	Liverpool Seizure Severity Scale
MC1R	Melanocortinrezeptor 1
mg	Milligramm
MITF	Microphthalmia-associated Transcription Factor
MLPH	Melanophilin
MRP1/2	multidrug resistance-associated protein 1/2
MRT	Magnetresonanztomographie
NMDA	<i>N</i> -methyl- <i>D</i> -Aspartat
ÖKV	Österreichischer Kynologenverband
P-gp	P-Glykoprotein
PMEL17	Premelanosome protein 17
SILV	Silver-Locus
SINE	Short Interspersed Nucleotide Element
SKG	Schweizerische Kynologische Gesellschaft
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
sog.	sogenannte(r/s)
TYRP1	Tyrosinase related protein 1
u. a.	unter anderem
USA	Vereinigte Staaten von Amerika
VASC	Versatility Australian Shepherd Club
v. a.	vor allem

VDH	Verband für das deutsche Hundewesen
WEWASC	Western Europe Working Australian Shepherd Club
z. B.	zum Beispiel
z. T.	zum Teil
µg	Mikrogramm

I. EINLEITUNG

„Sehr oft habe ich, ohnmächtig und betroffen, diesen Anfällen beigewohnt, die furchtbar waren. Sie traten immer in derselben Weise auf, und immer gingen ihnen dieselben Erscheinungen voraus. Plötzlich, ohne erkennbare Gründe, hob Gustave den Kopf und wurde sehr blaß, er hatte die Aura verspürt, jenen geheimnisvollen Hauch, der über das Gesicht streicht, wie ein fliegender Geist; sein Blick war voller Angst, und er hob die Schultern in einer herzerreißenden mutlosen Bewegung; dabei sagte er: ‚Ich habe eine Flamme im linken Auge‘; dann, wenige Sekunden später: ‚Ich habe eine Flamme im rechten Auge; alles erscheint goldfarben.‘...Dann stieß er einen Klagelaut aus, dessen erschütternder Klang noch in meinen Ohren schwingt, und der Krampf schüttelte ihn. Auf diesen Paroxysmus, bei dem der ganze Mensch ins Beben geriet, folgten auf immer gleiche Weise ein tiefer Schlaf und eine Niedergeschlagenheit, die mehrere Tage anhielt.“

(Aus „Souvenirs littéraires“, Band 1, Kapitel 7, von Maxime du Camp über Gustave Flaubert; deutsche Übersetzung aus „Flaubert – Die grossen Klassiker – Literatur der Welt in Bildern, Texten, Daten“, Band 35, herausgegeben 1980 durch Andreas & Andreas Verlag, Salzburg)

Auf eindrückliche Art und Weise stellt der Schriftsteller Maxime du Camp die generalisierten epileptischen Anfälle seines Kollegen Gustave Flaubert dar. In den „Souvenirs littéraires“, einem literarischen Meisterwerk des 19. Jahrhunderts, werden die einzelnen Phasen eines epileptischen Anfalls so geschildert, dass diese auch zwei Jahrhunderte später, im Kontext der klinisch-wissenschaftlichen Literatur des 21. Jahrhunderts, als solche identifiziert werden können. So wird die Aura als eine einige Sekunden bis Minuten andauernde Veränderung des subjektiven Empfindens beschrieben, die aufgrund von elektroenzephalographisch

registrierbarer Anfallsaktivität als Teil des Iktus verstanden wird (BERENDT & GRAM, 1999; TAYLOR, 2007; MAIWALD et al., 2011). Die Aura muss äußerlich nicht erkennbar sein und wird nicht von jedem Patienten wahrgenommen (TAYLOR, 2007; MAIWALD et al., 2011). Auch das Prodromalstadium tritt bei Weitem nicht bei jedem Epileptiker auf. Vom Vorkommen des minuten- bis tagelang andauernden epileptischen Prodromalstadiums, ein sich durch auffälliges Verhalten äußerndes Anfallsvorzeichen, wird nur bei 6,2 bis 39 % der Patienten berichtet (HUGHES et al., 1993; RAJNA et al., 1997; SCHULZE-BONHAGE et al., 2006; SCARAMELLI et al., 2009). Der eigentliche Iktus mit typischen Veränderungen im Elektroenzephalogramm (EEG) läuft je nach betroffener Hirnregion als fokaler Anfall mit oder ohne Bewusstseinsverlust oder als generalisierter Anfall ab, wobei sich fokale Anfälle auch zu generalisierten weiterentwickeln können. In der postiktalen Phase dominieren Verhaltensänderungen und psychische Störungen von variabler Zeitdauer (KANNER et al., 2004; KRAUSS & THEODORE, 2010; REMI & NOACHTAR, 2010; TAI et al., 2010). Beispielhaft bei Flaubert dargestellt, können alle Phasen eines epileptischen Anfalls auch beim Hund auftreten (HEYNOLD et al., 1997; JAGGY & BERNARDINI, 1998; BERENDT & GRAM, 1999; LICHT et al., 2002; VON KURNATOWSKI, 2007; HÜLSMEYER et al., 2010). Die Ausführungen du Camps bringen dem Leser die emotionale Belastung bei der Begleitung eines Epileptikers nahe, mit welcher auch Besitzer epileptischer Hunde, neben einem oft erheblichen finanziellen und organisatorischen Aufwand, konfrontiert werden.

Mit zunehmender Beliebtheit des Australian Shepherd in Deutschland wurde man auch der erblichen Belastung der Hunderasse mit Epilepsie gewahr. Die betroffenen Hunde leiden lebenslang unter wiederkehrenden epileptischen Anfällen ohne nachweisbare Ursache. Die vorliegende Arbeit hatte zum Ziel, die von vielen Tierärzten als sehr schwer therapierbar empfundene Epilepsie des Australian Shepherd zu charakterisieren.

II. LITERATURÜBERSICHT

1. Der Australian Shepherd

In Deutschland für lange Zeit ein kaum registrierter Arbeitshund, erfreut sich der Australian Shepherd heute zunehmender Beliebtheit als Freizeitpartner. Gerade im letzten Jahrzehnt stieg die Zahl der im Verband für das deutsche Hundewesen (VDH) gezüchteten Welpen von 11 im Jahr 1998 auf 480 im Jahr 2010 enorm an.

1.1. Zuchtorganisation in Deutschland, Österreich und der Schweiz

In Deutschland wurde der Australian Shepherd als eine aus den Vereinigten Staaten Amerikas stammende Hunderasse seit 1998 im VDH geführt. Der Club für Australian Shepherd Deutschland e. V. (CASD) ist seit 2001 die zuchtbuchführende Instanz des VDH. Somit sind die im CASD e. V. gezüchteten Hunde und ausgestellten Papiere über die Dachorganisation Fédération Cynologique Internationale (FCI) im internationalen Zuchtgeschehen anerkannt. In Deutschland gründete sich im Jahr 2010 die Australian Shepherd Hütehund Zuchtgemeinschaft e. V. (ASHZG e. V.) und strebt ebenfalls die Aufnahme in den VDH an.

Neben dem CASD e. V. führt seit 1988 der Australian Shepherd Club Deutschland e. V. (ASCD e. V.) ein vereinseigenes Zuchtbuch und untersteht dem Australian Shepherd Club of America (ASCA). Der ASCA ist zwar nicht Mitglied der FCI, aber die Entwicklung der Rasse ist maßgeblich auf den 1957 gegründeten amerikanischen Club zurückzuführen, welcher bis heute die europäische Australian Shepherd-Zucht deutlich prägt. Seit 1991 ist das vom ASCA betreute Zuchtbuch auch im übergeordneten American Kennel Club registriert, womit der Australian Shepherd seine offizielle Rasseanerkennung in den USA innehat. Der erste amerikanische Verband, der den Australian Shepherd als eigene Rasse auswies, war allerdings noch vor dem ASCA im Jahr 1956 die National Stock Dog Registry.

Der seit 2009 eigenständige Versatility Australian Shepherd Club (VASC e. V.) als ursprüngliche Abspaltung des ASCA und der dem ASCA angehörende, auch in Deutschland aktive Western Europe Working Australian Shepherd Club (WEWASC) sind nicht mit eigenen Zuchtbüchern am Zuchtgeschehen beteiligt,

aber verschreiben sich der Förderung von Show- bzw. Arbeitslinien in der Australian Shepherd-Zucht.

Unter dem Dachverband FCI organisierten sich seit 1992 der Schweizer Australian Shepherd Club Switzerland als Mitglied der Schweizerischen Kynologischen Gesellschaft (SKG) und seit 1998 der österreichische Verein Australian Shepherds of Austria (ASA) als Mitglied des Österreichischen Kynologenverbands (ÖKV).

1.2. Rassegeschichte

Lange bevor der Australian Shepherd in den neunziger Jahren als offizielle Hunderasse Einzug in die internationalen Zuchtverbände hielt, kursierte die Rassebezeichnung bezüglich verschiedener Augenanomalien bereits durch die veterinärmedizinische Fachliteratur. Ob die Herkunft der ausschließlich im amerikanischen Raum beschriebenen Hunde gemäß ihres Namens tatsächlich nach Australien zurückreicht, war bis dahin nicht geklärt. Border Collie, Kelpie und Blue Cattle Dog, der laut Slatter eine gewisse Ähnlichkeit zum Australian Shepherd besaß, waren zu diesem Zeitpunkt als weit verbreitete Arbeitshunderassen in Australien und den USA dagegen bereits offiziell eingetragen (SLATTER, 1976).

Miller untermauerte die Aussage Slatters, dass der Australian Shepherd eine amerikanische und in Australien unbekannt Hunderasse sei. Sie fände ihren Ursprung im baskischen Hütehund, der während des Goldrauchs in der Mitte des 19. Jahrhunderts mit Schafimporten aus Australien nach Kalifornien gelangt sei, womit der Grundstein für die irreführende Rassebezeichnung Australian Shepherd gelegt wurde. Andere Rassebezeichnungen des sich erst in den USA aus dem baskischen Hütehund entwickelten Australian Shepherd wie Kalifornischer Hütehund (California Herding Dog) und Pazifikküsten-Hütehund (Pacific Coast Stock Dog) hätten sich nicht gehalten (MILLER, 1976).

Swan dagegen berichtete von einer in Australien beheimateten, mit dem Australian Shepherd identischen Hunderasse, die sich durch die Merle-Farbe und mindestens ein helles Auge, das sog. Walleye, ausgezeichnet habe. Dieser vor Ort als Deutscher Collie (German Collie) bezeichnete Hund stamme aus dem Südwesten Queenslands und dem Nordwesten von New South Wales und sei aus Rückzuchtungsversuchen vom Kelpie zum Border Collie entstanden. Zunächst

braun und später blau gefleckt erinnere die Fellzeichnung auch an die des Australian Cattle Dog. Die Verwandtschaft zu weißen Schäferhunden aus Deutschland, in Australien German Koolee genannt, wurde postuliert, konnte aber nicht belegt werden. Swan gibt zu bedenken, dass die Rasse sich also schon in Australien entwickelt haben und als German Collie mit baskischen Schaffhirten in die USA gelangt sein könnte (SWAN, 1980). Nicht zuletzt aufgrund eines gemeinsamen genetischen Defekts, dem ABCB1-1 Δ -Defekt, wird die auf einen um 1800 in Großbritannien lebenden gemeinsamen Vorfahren zurückgehende Verwandtschaft aller Hütehunde angenommen (NEFF et al., 2004).

1.3. Ausgewählte Rassemerkmale

Der Rassestandard für im CASD e. V. gezüchtete Australian Shepherds ist im FCI-Standard Nr. 342/16.06.2010/D niedergeschrieben. Die Züchter des ASCD e. V. bedienen sich des seit 15. Januar 1977 gültigen Australian Shepherd Breed Standard des ASCA. Bei weitgehend übereinstimmenden Leitlinien zum Exterieur legen beide Organisationen v. a. auf die charakterliche Ausprägung wert: Der Australian Shepherd ist ein intelligenter, ausgeglichener und ausdauernder Arbeitshund mit starkem Hüte- und Schutztrieb. Er kann gegen Fremde eine natürliche Scheu zeigen, ist dabei aber nicht aggressiv oder böseartig.

1.3.1. Rute

Sowohl gerade, naturbelassene Ruten als auch natürliche Stummelruten mit maximal 10 cm Länge sind bei der FCI anerkannt, wobei beim ASCA natürliche Stummelruten mit einer Maximallänge von 10,16 cm (4 inch) oder kupierte Ruten als Standard gelten. Aufgrund des Kupierverbots laut § 6 des Tierschutzgesetzes kann dieser Rassestandard in Deutschland nicht umgesetzt werden.

1.3.2. Farben

Bei den meisten Rassen führt das Auftreten gewisser Farben zum Zuchtausschluss, um einerseits Rassenkreuzung und andererseits mit der Fellfarbe verbundene gesundheitliche Schäden zu vermeiden (SCHMUTZ & BERRYERE, 2007).

1.3.2.1. Offiziell anerkannte Farben

Die anerkannten Farben sind einfarbig schwarz („solid black“), einfarbig rot („solid red“) und die für die Rasse bekannte Musterung dieser Grundfarben, Black

Merle und Red Merle (Fotos siehe Anhang). Alle Farben sind mit oder ohne weiße Abzeichen und/oder kupferfarbene Abzeichen zulässig. Weiß ist zulässig an Hals, Brust, Läufen, Blesse am Kopf, Unterseite des Fangs und Unterseite des Körpers (maximal 10 cm Länge ab Ellenbogen horizontal gemessen). Australian Shepherds haben einen ihrer Grundfarbe entsprechend gefärbten Nasenschwamm und Augenumrandung. Je nach spezifischen Zuchtverbandsvorschriften sind rosa Flecken auf dem Nasenschwamm und kleinere weiße Abzeichen um Augen und Ohren erlaubt. Weiße Flecken am Körper sind unzulässig. Weitere Farbfehler sind von den anerkannten Farben abweichende und wenn die hintere Haarlinie eines weißen Kragens weiter als bis zum Widerrist reicht. Die Augen sind braun, blau oder bernsteinfarben und jede Variation oder Kombination einschließlich Flecken und Marmorierung ist zulässig.

1.3.2.2. Fellpigmentierung und Vererbung

Zwei Pigmentarten, Phäo- und Eumelanin, bestimmen die Fellfarbe von Säugetieren und werden in einem Tyrosinase-abhängigen Prozess aus Tyrosin in Melanozyten produziert. In Melanosomen verpackt gelangt Melanin in die Keratinozyten und bewirkt die spezifische Fellfärbung. Zahlreiche Genmutationen können zu Alterationen in dieser komplexen Stoffwechsel-Kaskade führen, z. B. auf der Ebene von Melanosomenbildung, -reifung und -transport oder von wichtigen Schlüsselenzymen (LIN & FISHER, 2007). Die Folge sind Pigmentstörungen wie z. B. die Merle-Färbung des Australian Shepherds (CLARK et al., 2006; LIN & FISHER, 2007).

Bis heute sind sieben Gene identifiziert, die für die Ausprägung von Farben und Farbmustern beim Hund verantwortlich sind (SCHMUTZ & BERRYERE, 2007). Beim Australian Shepherd ist die Standardfarbe v. a. von einem einzelnen Gen, dem *Tyrosinase related protein 1 (TYRP1)*, bestimmt, das als *B-Locus* bezeichnet wird (Tabelle 1). Eine Kombination der drei Hauptvarianten von *TYRP1* führt zu brauner Fellfarbe, die beim Australian Shepherd missverständlich als rot bezeichnet wird (Tabelle 1). Vereinzelt sind auch andere, seltenere Allele beteiligt (SCHMUTZ et al., 2002). Das Merle-Muster dagegen, aufgehelltes Pigment auf in der Grundfarbe pigmentierten Bereichen von Eumelanin, wird über Varianten am *SILV-Locus* oder *M-Allel* kodiert (Tabelle 1).

Tabelle 1: Die für Fellfarbe und Merlemusterung beim Australian Shepherd hauptverantwortlichen Gene und Varianten sowie Vererbungsmodi.

Gen	Genort	Fellfarbe/ Vererbung; Genotyp	Variante	Fellfarbe/ Vererbung; Genotyp
<i>Tyrosinase related protein 1 (TYRP1)</i> = <i>B</i> -Locus	CFA 11, SNP in Exon 7 zwischen den Mikrosatelliten <i>CO3019</i> und <i>FH2004</i>	Schwarze Grundfarbe, Nasen- schwamm und Augenum- randung - autosomal/ dominant; Bb oder BB	<i>b^s</i> Exon 5 (Q331ter), c.991C>T (→ verfrühtes Stopcodon) <i>b^d</i> Exon 5 (345delP), c.1033-6del (→ Prolin- Deletion) <i>b^c</i> Exon 2 (S41C), c.121T>A (→ Basenpaar- substitution)	Jede Kombination von zwei der Varianten führt zu brauner Grundfarbe, Nasen- schwamm und Augenum- randung - autosomal/ rezessiv; bb
(SCHMUTZ et al., 2002)				
<i>SILV</i> (früher <i>PMEL17</i>) = <i>M</i> -Locus	CFA 10, Intron 10/Exon 11-Bereich <i>HSA12q13-q14</i>	Nicht-Merle - autosomal/ rezessiv; mm	Abfolge von Thymidin- Nukleotiden im Intron 10 und SINE- Insertion im Exon 11	Merle - autosomal/ unvollständig dominant; Mm oder MM
(CLARK et al., 2006; HEDAN et al., 2006)				

Die Merle-Mutation führt zur Aufhellung von Eumelanin, nicht aber von Phäomelanin, verursacht also eine Hellerfärbung der ursprünglich schwarzen und braunen Fellbezirke. Wenn auch selten vorkommend, können zwei Nicht-Merle-Elterntiere Nachkommen vom Merle-Phänotyp hervorbringen. Man nimmt an, dass eines der beiden Elterntiere als sog. kryptischer oder Phantom-Merle dann das SINE-Element der Mutation, nicht aber die Thymidinabfolge aufweist (CLARK et al., 2006). Umgekehrt kann in seltenen Fällen ein Tier mit homozygoter Merle-Mutation Nachkommen vom Nicht-Merle-Phänotyp

produzieren, was auf germinale Reversion zurückgeführt wird (SPONENBERG, 1984). Auf die homozygote Merle-Mutation, die sich häufig in vorherrschend weißer Fellfarbe auswirkt, und ihre gesundheitlichen Auswirkungen wird unter Punkt 1.4.1 gesondert eingegangen. Jedoch hat ein überwiegend weißer Hund nicht zwingend das Merle-Gen auf beiden Allelen, denn die weiße Farbe sowie weiße Flecken werden zusätzlich maßgeblich vom *Microphthalmia-associated Transcription Factor (MITF)*-Gen oder *S-Locus*, auch bekannt als Piebald-Gen, auf dem caninen Chromosom 20 determiniert (SHARP, 1996; SCHMUTZ & BERRYERE, 2007). Früher konnten Interaktionen von *M-* und *S-Locus* nur vermutet werden, inzwischen wurde die regulierende Rolle von *MITF* auf die *SILV*-Genexpression experimentell bestätigt, *MITF* aber als Kandidatengen für die Merle-Zeichnung beim Australian Shepherd ausgeschlossen (GELATT et al., 1981; DU et al., 2003; HEDAN et al., 2006).

Der in Zuchtverbänden als Farbfehler betrachtete Dilute-Phänotyp kommt durch Aufhellung von Eu- und Phäomelanin zustande und ist beim Australian Shepherd phänotypisch am zuverlässigsten durch den aufgehellten Nasenschwamm zu erkennen. Spezifische Haplotypen des *Melanophilin (MLPH)*-Gens oder *D-Locus* auf dem caninen Chromosom 25 werden als ursächlich für diese Farbkomponente angesehen, die Vererbung als autosomal rezessiv (SHARP, 1996; SCHMUTZ & BERRYERE, 2007). Weiteren Komponenten wie dem *C-*, *P-* und *I-Locus* wird eine Rolle in der Aufhellung von Melanin zugesprochen, auch wenn ein Nachweis auf DNA-Ebene bisher nicht erbracht wurde (SCHMUTZ & BERRYERE, 2007).

Die von *TYRP1* determinierte Grundfarbe kann durch Mutationen des *Melanocortin 1 Receptor (MC1R)*- oder *E-Locus* modifiziert werden, was bei vielen Hunderassen im Farbschlag gelb, gold oder rot resultiert, z. T. mit einem schwarzen Nasenschwamm (SCHMUTZ et al., 2002). Beim Australian Shepherd ist der Zusammenhang dieser Farbfehler mit der Mutation 914C>T des auf dem caninen Chromosom 5 lokalisierten Gens jedoch umstritten (SCHMUTZ et al., 2001; SCHMUTZ et al., 2002). Weitere Farbmutationen, z. B. sandfarbene oder gestromte Australian Shepherds oder das Sattelmuster wie beim Deutschen Schäferhund, kommen selten vor, sind aber auf DNA-Ebene weitgehend identifiziert (SHARP, 1996; SCHMUTZ & BERRYERE, 2007).

1.4. Ausgewählte kongenitale Defekte

Beim Australian Shepherd sind diverse Erbkrankheiten beschrieben. Hereditäre ophthalmologische Krankheiten wie Progressive Retinaatrophie, Collie Eye Anomalie und Katarakt müssen in der Zucht ebenso wie orthopädische Defekte, z. B. Hüftgelenksdysplasie und Ellbogengelenksdysplasie, berücksichtigt werden (MUNYARD et al., 2007; MELLERSH et al., 2009). Ein wahrscheinlich X-chromosomal unvollständig dominant vererbtes Syndrom mit schweren skelettalen Defekten wurde nur in einer einzelnen Familie nachgewiesen (SPONENBERG & BOWLING, 1985). Die ABCB1-1 Δ -Mutation wurde dagegen beim Australian Shepherd vielfach registriert und es wurde vereinzelt von Neuronaler Ceroid-Lipofuszinose berichtet (O'BRIEN & KATZ, 2008; KATZ et al., 2011).

1.4.1. Merle-Defekt und assoziierte Krankheiten

Ein homozygoten Merle-Gen (MM) führt zu überwiegend, manchmal auch komplett weißen Tieren, welche dadurch i. d. R. phänotypisch leicht von heterozygoten Trägern (Mm) zu unterscheiden sind (HEDAN et al., 2006). Dieses sog. Excessive White- oder Merle-Syndrom geht regelmäßig mit multiplen Augenanomalien einher und wird mit kongenitaler Taubheit in Zusammenhang gebracht (GELATT et al., 1981; AKCAN & WEGNER, 1983; STRAIN et al., 2009). Die Verpaarung von zwei Merle-Phänotypen mit dem Risiko von homozygoten Merle-Nachkommen ist heutzutage in der Zucht verpönt und der Verzicht auf die Zucht mit dem Merle-Gen laut Gutachten zur Auslegung von §11 des Tierschutzgesetzes (Verbot von Qualzuchten) ist generell empfohlen.

Mikrophthalmie ist nur eines der multiplen Symptome, die ausschließlich bei Australian Shepherds mit Merle-Zeichnung und einem Weißanteil von 30 % bis 90 % beobachtet werden (GELATT & VEITH, 1970; GELATT & MCGILL, 1973). Mit unterschiedlichen Ausprägungsgraden der Mikrophthalmie können uni- oder bilaterale Mikrokornea, Heterochromia irides, Dyskorie und Korektopie, Katarakt, Staphylom, Fundus- und Retinaablösung einhergehen und vereinzelt treten auch interventrikuläre Septumdefekte und persistierender Ductus arteriosus auf (GELATT & MCGILL, 1973). Der unvollständigen Penetranz von okulären Defekten in homozygoten Merle-Genotypen können momentan nur Hypothesen zugrunde gelegt werden, zum einen eine Interaktion von *MITF* und *SILV*, zum anderen ein komplexerer Mechanismus sowie eine noch unbekannt Mutation am

Merle-Genort (HEDAN et al., 2006).

In Melanozyten, die ihre Hauptrolle als Melanin synthetisierende Zellen der Epidermis und Haarfollikel spielen, wird das *SILV*-Gen exprimiert, dessen Genprodukt, das *SILV*- oder *PMEL17*-Protein, eine wichtige Rolle in der Biogenese der Melanosomen spielt (KWON et al., 1991; THEOS et al., 2005). Melanozyten befinden sich in abweichender Differenzierung auch im Pigmentepithel der Retina (PLONKA et al., 2009). Der Pathomechanismus der funktionellen und morphologischen Defekte am Auge beim Hund mit Farbfehlern wurde jedoch bisher nicht hinreichend aufgeklärt. Der gleiche ontogenetische Ursprung von Melanozyten und periokulärem Mesenchym aus der embryonalen Neuralleiste bleibt zu erwähnen (BARISHAK, 1992; BAKER et al., 1997).

Beim Border Collie wurde unlängst die Assoziation von Merle-Phänotyp und Taubheit dokumentiert und eine Prävalenz der Taubheit von 7,4 % ermittelt (DE RISIO et al., 2011). Zudem waren Border Collies mit *SILV*-Mutation und mehr als 50 % weißer Kopffarbe und blauer Iris häufiger taub (PLATT et al., 2006a; DE RISIO et al., 2011). Nur eine Studie befasste sich mit 32 *SILV*-positiven Australian Shepherds, von denen 9,4 % taub waren. Einer von 26 heterozygoten Merle-Genotypen war unilateral taub und zwei von drei Homozygoten waren bilateral taub. Bei keinem der Hunde wurde der Weißanteil und die Augenfarbe ermittelt. Strain postulierte, dass der Einfluss des Merle-Allels auf die Hörfunktion rassespezifisch variieren kann (STRAIN et al., 2009).

Für die beim Menschen auftretende Neurocristopathie, Waardenburg Syndrom Typ II, wurde u. a. eine *MITF*-Mutation verantwortlich gemacht (READ & NEWTON, 1997; PINGAULT et al., 2010). Dieses Syndrom ähnelt in Heterochromia irides, Hypoplasie der Augen und Hypopigmentation der Haut dem Mikrophthalmie-Komplex des Australian Shepherds, bei dem das *MITF*-Gen die Weißfärbung bestimmt (LIU et al., 1995; READ & NEWTON, 1997). Sensorineurale Taubheit tritt beim Waardenburg-Syndrom nahezu immer auf (WAARDENBURG, 1951). Die kongenitale sensorineurale Taubheit des Dalmatiners scheint mit Varianten des *MITF*-Gens assoziiert zu sein (STRITZEL et al., 2009).

1.4.2. ABCB1-1Δ-Gendefekt

Mit geographisch unterschiedlichen Prävalenzraten ist die ABCB1-1Δ-Mutation beim Australian Shepherd verbreitet (Tabelle 2). Die 4-Basenpaar-Deletion an der Position 230 der palindromischen Sequenz GATAG (nt230del4) des ABCB1 (früher MDR1)-Gens (ATP binding cassette, subfamily B, member 1/früher multidrug resistance 1) auf dem caninen Chromosom CFA 14 zieht ein verfrühtes Stopcodon nach sich. Ein strukturverändertes und funktionsloses P-Glykoprotein (P-gp) ist die Folge (MEALEY et al., 2001; ROULET et al., 2003). P-gp ist eine ATP-abhängige Transmembranenpumpe verschiedener Organe, u. a. in den Endothelzellen der Kapillarmembran des Gehirns (THIEBAUT et al., 1987; VAN ASPEREN et al., 1997; TSUJI, 1998). Es bewerkstelligt den Transport verschiedener Substrate zwischen Gehirngewebe und Gefäßsystem und hat so eine wichtige protektive Rolle gegen Fremdstoffe im Gehirn, z. B. Avermectine (MEALEY et al., 2001; ROULET et al., 2003). Bei fehlendem P-gp unterbleibt dieser Efflux.

Tabelle 2: Prävalenz und Allelfrequenz der ABCB1-1Δ-Mutation beim Australian Shepherd in verschiedenen Ländern.

	Anzahl Hunde	ABCB1-1Δ Genotyphäufigkeit (%)			ABCB1-1Δ Allelfrequenz	Quelle
		N	+/+	+/-	-/-	
Deutschland	1908	62	32	6	22	^a
	333	67,9	25,2	6,9	20	^b
USA	1421	53	37	10	29	^c
	178	68,5	29,8	1,7	16,6	^d
Großbritannien	28	32,1	42,9	25,0	46,4	^e
Australien	14	35,7	42,8	21,5	43	^f
^a (GRAMER et al., 2011)		^b (GEYER et al., 2005)				
^c (MEALEY & MEURS, 2008)		^d (NEFF et al., 2004)				
^e (TAPPIN et al., 2008)		^f (MEALEY et al., 2005)				

Collies mit homozygotem ABCB1-1 Δ -Defekt (-/-) entwickeln bei einmalig oral verabreichtem Ivermectin in einer Dosierung ab 120 bis 150 μ g/kg schwere neurotoxische Symptome, während Hunde mit dem Wildtyp (+/+) ABCB1-Gen eine wesentlich höhere Dosis tolerieren (PULLIAM et al., 1985; MEALEY & MEURS, 2008). Auch bei heterozygoten Tieren (+/-) ist aufgrund erhöhter Sensitivität gegenüber diversen Substraten von P-gp Vorsicht geboten. Auch viele andere Wirkstoffe (siehe dazu http://www.vetmed.uni-giessen.de/pharmtox/mdr1_defekt/arzneistoffe.php) können bei ABCB1 (-/-) und (+/-) zu lebensbedrohlichen Symptomen führen (UMBENHAUER et al., 1997; NEFF et al., 2004). Viele Antiepileptika sind nur schwache Substrate für P-gp (WEST & MEALEY, 2007; LUNA-TORTÓS et al., 2008; ZHANG et al., 2010).

2. Epilepsie

Ein epileptischer Anfall ist laut offizieller Definition das vorübergehende Auftreten von Zeichen und/oder Symptomen, die auf eine abnormal exzessive, synchrone neuronale Aktivität im Gehirn zurückzuführen sind, welche sich über das neuronale Netzwerk in kortikalen und subkortikalen Strukturen einer oder beider Großhirnhemisphären ausbreitet (FISHER et al., 2005; BERG et al., 2010). Sie bestehen in veränderter Motorik, Sinneswahrnehmung, Verhalten oder Alterationen der autonomen Steuerung. Diese unkontrollierte Neuronenentladung aufgrund von inhibitorischer und exzitatorischer Imbalance im Großhirn ist charakterisiert durch einen plötzlichen Beginn, ein spontanes Ende und eine Tendenz zu rezidivieren. Erst das wiederholte Auftreten von epileptischen Anfällen wird als Epilepsie bezeichnet (KNOWLES, 1998; DE LAHUNTA & GLASS, 2009).

2.1. Klassifizierung

Die Klassifizierung von epileptischen Anfällen und Epilepsie in der tiermedizinischen Literatur findet in Anlehnung an die Leitlinien der Commission on Classification and Terminology der International League Against Epilepsy (ILAE) statt. Diese entwickelt ihr Klassifizierungskonzept vor dem Hintergrund der Praktikabilität, fortschreitender Forschungserkenntnisse und modernster diagnostischer Möglichkeiten kontinuierlich weiter (ILAE, 1981, 1985, 1989; FISHER et al., 2005; BERG et al., 2010).

2.1.1. Ätiologie

Während sich die Veterinärmedizin bis heute der 1989 vorgeschlagenen Einteilung in idiopathische, symptomatische und kryptogene Epilepsie bedient, wurde 2010 von der ILAE empfohlen, stattdessen in der Humanmedizin künftig die Begriffe genetische, strukturelle/metabolische und Epilepsie unbekannter Ursache zu verwenden (ILAE, 1989; BERG et al., 2010). Bisweilen wird in der Veterinärmedizin eine Unterteilung der symptomatischen Epilepsien in intrakraniell und extrakraniell bedingte Anfallserkrankungen vorgenommen. Nach der neuen ILAE-Klassifizierung würden diese Begriffe durch strukturelle oder metabolische Epilepsie ersetzt werden. Als Hauptursachen für intrakraniell symptomatische Epilepsien werden Anomalien, Traumata, Neoplasien, infektiöse und nicht-infektiöse Entzündungen sowie degenerative Prozesse infolge Ischämie, Hämorrhagie oder Intoxikationen angegeben. Extrakraniell symptomatische, auch als reaktiv bezeichnete Anfälle, können durch Hypoglykämie, hepatoencephales Syndrom, Elektrolytveränderungen, Urämie, Hypoxie, Hyperlipidämie, Hyperthermie, Vergiftung und Endoparasiten verursacht werden. Verdacht auf kryptogene Epilepsie besteht, wenn die Anamnese nicht für idiopathische Epilepsie spricht, eine vermutete anfallsauslösende Pathologie aber dennoch nicht nachgewiesen werden kann. Dies kann beispielsweise Wochen bis Monate nach Kopfverletzungen oder Enzephalitiden der Fall sein. Idiopathischer Epilepsie liegt keine strukturelle oder metabolische Ursache zugrunde; es ist eine Ausschlussdiagnose und die häufigste Epilepsieform bei Hunden (FISCHER, 1995; KNOWLES, 1998; PODELL, 2004; DE LAHUNTA & GLASS, 2009). In Anlehnung an die Humanmedizin wird die idiopathische Epilepsie synonym zur genetischen Epilepsie gebraucht. Die interiktale klinische und neurologische Untersuchung sowie Laborbefunde von Blut, Urin und Liquor und die Magnetresonanztomographie (MRT) des Kopfes sind unauffällig (PODELL, 2004; DE LAHUNTA & GLASS, 2009). Der erste Anfall tritt beim Hund in der Regel zwischen dem ersten und fünften Lebensjahr, vereinzelt auch darunter oder darüber, auf (PODELL et al., 1995; JAGGY & BERNARDINI, 1998; BERENDT & GRAM, 1999).

Rasseprädispositionen für idiopathische Epilepsie und Vererbung

Idiopathische Epilepsie tritt beim Britischen Schäferhund, Collie, Golden Retriever, Keeshond, Labrador Retriever, Berner Sennenhund, Shetland

Sheepdog, Irischen Wolfshund, Standardpudel und Border Collie auf. Die genetische Ursache ist bei diesen Rassen durch Stammbaumanalysen abgesichert (FALCO et al., 1974; URBRICH, 1974; CUNNINGHAM & FARNBACH, 1988; SRENK et al., 1994; HALL & WALLACE, 1996; JAGGY et al., 1998; KATHMANN et al., 1999; MORITA et al., 2002; CASAL et al., 2006; LICHT et al., 2007; HÜLSMEYER et al., 2010). Beim Belgischen Schäferhund, Vizsla, Englischen Springer Spaniel, Standardpudel und Border Terrier liegen Ergebnisse von Segregationsanalysen vor (FAMULA & OBERBAUER, 2000; PATTERSON et al., 2003; PATTERSON et al., 2005; LICHT et al., 2007; VON KURNATOWSKI, 2007). Für über Stammbaum- oder Segregationsanalysen bestätigte idiopathische Epilepsie beim Beagle, Vizsla und Englischen Springer Spaniel wurden 2011 von Ekenstedt et al. erste Vorstöße in der Etablierung von Kandidatengeneten vorgestellt, ebenso wie beim Großen Schweizer Sennenhund (BIELFELT et al., 1971; PATTERSON et al., 2003; PATTERSON et al., 2005; EKENSTEDT et al., 2011). Die durch Familien- und Segregationsanalysen mehrfach nachgewiesene idiopathische Epilepsie des Belgischen Schäferhundes konnte von Oberbauer et al. bisher nicht genetisch identifiziert werden (VAN DER VELDEN, 1968; FAMULA et al., 1997; FAMULA & OBERBAUER, 2000; OBERBAUER et al., 2003; BERENDT et al., 2009; OBERBAUER et al., 2010). In der wissenschaftlichen Literatur ist idiopathische Epilepsie bei weiteren Rassen postuliert und, wenn auch unveröffentlicht, in zahlreichen Zuchtverbänden ein bekanntes Problem (LICHT et al., 2002; VIITMAA et al., 2006; SHORT et al., 2011).

Aufgrund der zahlreichen Stammbaumanalysen gilt eine genetische Ursache bei vielen caninen idiopathischen Epilepsien als abgesichert (HALL & WALLACE, 1996; PATTERSON et al., 2003; JOKINEN et al., 2007; LICHT et al., 2007; BERENDT et al., 2009; HÜLSMEYER et al., 2010). Auch wenn bei nicht rassespezifischen Studien immer wieder ein Überhang männlicher betroffener Tiere zu verzeichnen war, wurde lediglich beim Beagle ein möglicher X-gonosomaler Einflussfaktor postuliert (VAN DER VELDEN, 1968; BIELFELT et al., 1971; EDMONDS et al., 1979; PODELL et al., 1995; BERENDT & GRAM, 1999; KATHMANN et al., 1999; BERENDT et al., 2002; SHORT et al., 2011). Die beschriebenen vielfältigen klinischen Bilder innerhalb einzelner Rassen, die Stammbaumanalysen und die Schwierigkeit der genetischen Aufklärung sprechen

für unvollständig dominante, komplex polygene oder rezessive Erbgänge mit einzelnen Genen mit wesentlicher Penetranz (SRENK et al., 1994; JAGGY et al., 1998; KATHMANN et al., 1999; PATTERSON et al., 2005; CASAL et al., 2006; OBERBAUER et al., 2010).

Lohi et al. entschlüsselten beim Rauhaardackel die Genetik der Myoklonus-Epilepsie, welche jedoch aufgrund der Mutation im EPM2-Gen als Analogon zur humanen Lafora-Krankheit zu den genetisch bedingten, symptomatischen Epilepsien zu rechnen ist (ENGEL, 2001; LOHI et al., 2005; MONAGHAN & DELANTY, 2010). Ein gutartiges juveniles Epilepsiesyndrom beim Lagotto Romagnolo erwies sich ebenfalls durch familiäre Häufung als genetisch bedingt und die zugrundeliegende Mutation wurde kürzlich identifiziert (JOKINEN et al., 2007; SEPPÄLÄ et al., 2011). Es handelt sich um eine homozygot vorliegende Region im LGI2-Gen am caninen Chromosom CFA 3 und es wird ein Genprodukt codiert, das an Rezeptoren der ADAM-Gruppe (a-disintegrin-and-metalloproteinase) bei der Synapsenremodellierung mitwirkt. Aufgrund der zum humanen Epilepsiegen LGI1 analogen Funktion wird das LGI2-Gen für die Epilepsie beim Lagotto Romagnolo verantwortlich gemacht (SEPPÄLÄ et al., 2011).

2.1.2. Anfallstypen

Die Einteilung der Anfallsart in der Tiermedizin verfolgt das 1981 von der ILAE vorgeschlagene Schema, welches mehrfach überarbeitet und 2010 neu konzipiert wurde. Generalisierte Anfälle werden demnach unterteilt in tonisch-klonisch, Absence, myoklonisch, klonisch, tonisch und atonisch. Dem gegenüber stehen fokale Anfälle. Die 2001 neu aufgenommenen epileptischen Spasmen bilden eine dritte Gruppe, da sie weder eindeutig generalisierter noch fokaler Semiologie zuzuordnen sind und deshalb unter unbekannter Anfallsart geführt werden (ILAE, 1981; BLUME et al., 2001; BERG et al., 2010). Epileptische Spasmen mit typischer Semiologie und EEG-Mustern, meist begleitend zu symptomatischen Epilepsien, sind in der klinischen Tiermedizin nicht beschrieben (STAFSTROM & HOLMES, 2002; SCANTLEBURY et al., 2010).

Generalisierte Anfälle

Generalisierte tonisch-klonische Anfälle sind bei Hunden mit idiopathischer Epilepsie der vorherrschende Anfallstyp. So präsentiert sich ein Großteil der

Labrador Retriever, Berner Sennenhunde, Shetland Sheepdogs, Standardpudel und Border Collies mit dieser Anfallsform (HEYNOLD et al., 1997; KATHMANN et al., 1999; MORITA et al., 2002; LICHT et al., 2007; HÜLSMEYER et al., 2010). Ein Beispiel für das Vorkommen tonischer Krampfanfälle bei Hunden repräsentieren Border Terrier und vereinzelt Standardpudel. Myoklonische Epilepsie tritt beim Rauhaardackel auf und von Absencen mit typischen bilateral symmetrischen vier Hertz Spike-Wave-Komplexen wurde 2010 erstmals bei einem Chihuahua berichtet (LICHT et al., 2002; LOHI et al., 2005; KLOENE et al., 2008; POMA et al., 2010). Anfälle rein klonischer Natur ebenso wie atonische generalisierte Anfälle treten bei keiner Hunderasse mit idiopathischer Epilepsie auf, werden aber bei einzelnen Individuen beobachtet (PODELL, 1996; LICHT et al., 2002). Generalisierte Anfälle sind gekennzeichnet durch initiale Beteiligung beider Großhirnhemisphären, was sich in bilateral symmetrischer motorischer Aktivität und Bewusstseinsverlust äußert (PODELL, 1996; KNOWLES, 1998).

Fokale Anfälle

In der Tiermedizin, ebenso wie in der Humanmedizin, wurden bisher einfach fokale Anfälle bei erhaltenem Bewusstsein von komplex fokalen bei beeinträchtigtem Bewusstsein unterschieden (ILAE, 1981; PODELL, 1999; LICHT et al., 2002). Entgegen früherer Annahmen treten fokale Anfälle auch häufig bei Hunden mit idiopathischer Epilepsie auf (BERENDT & GRAM, 1999; PODELL, 1999; PAKOZDY et al., 2008; BERENDT et al., 2009; HÜLSMEYER et al., 2010). Bei der idiopathischen Epilepsie des Labrador Retriever, Dalmatiner, Vizsla, Englischen Springer Spaniel, Finnischen Spitz, Lagotto Romagnolo und Standardpudel wurden sowohl einfach als auch komplex fokale Anfälle unterschieden (HEYNOLD et al., 1997; JAGGY et al., 1998; LICHT et al., 2002; PATTERSON et al., 2003; PATTERSON et al., 2005; VIITMAA et al., 2006; JOKINEN et al., 2007; LICHT et al., 2007). Diese Unterteilung in einfach und komplex fokale Anfälle wurde in der Humanmedizin mit dem ILAE-Bericht von 2010 abgeschafft, was sich mit der früheren kritischen Einschätzung von Berendt et al. deckt, wonach einerseits der Bewusstseinszustand zum Zeitpunkt des Anfalls bei Tieren schwer zu beurteilen ist und andererseits keine prognostischen Schlüsse gezogen werden können (BERENDT et al., 2004; BERG et al., 2010). Anstatt dieser bisher starren Zuordnung wird vorgeschlagen, zur Beschreibung

des Bewusstseinszustands des epileptischen Patienten das breite Spektrum an Begriffen zur Anfallssemiologie zu verwenden, das im Jahr 2001 in einem Glossar der ILAE zusammengestellt wurde (BLUME et al., 2001; KWAN et al., 2010). Beim Hund erschließt sich dem Beobachter nur ein Bruchteil dieser teils subtilen sensorischen Charakterisierungen, bleiben doch beispielsweise olfaktorische und gustatorische Empfindungen und Halluzinationen des Hundes unerkannt oder werden aufgrund von Wesensveränderungen als Aura verstanden (CHANDLER, 2006; THOMAS, 2010). In der Tiermedizin ist daher die von Berendt et al. etablierte Einteilung in motorische und autonome fokale Anfälle sowie fokale Anfälle mit Verhaltensänderung etabliert (BERENDT et al., 2004; LICHT et al., 2007). Bei fokalen Anfällen spielen sich die synchronen und paroxysmalen Neuronenentladungen in einer Großhirnhemisphäre ab (KNOWLES, 1998; BLUME et al., 2001; BERG et al., 2010). Je nach Lage dieses sog. epileptischen Fokus gestaltet sich das klinische Erscheinungsbild des Anfalls (BERENDT et al., 2004). Motorische fokale Anfälle werden bei idiopathischer/genetischer Epilepsie des Hundes regelmäßig beschrieben (HEYNOLD et al., 1997; JAGGY et al., 1998; PATTERSON et al., 2003; VIITMAA et al., 2006; LICHT et al., 2007; BERENDT et al., 2009; HÜLSMEYER et al., 2010). Erbrechen, Durchfall, Speichelfluss, schmerzhaftes Abdomen, Hecheln und erhöhte Herzfrequenz können Ausdruck von autonomen fokalen Anfällen sein. Diese treten außer beim Standardpudel, wo sie mit 87,9 % ins Auge fielen, nur vereinzelt auf (BREITSCHWERDT et al., 1979; STONEHEWER et al., 2000; LICHT et al., 2002; GIBBON et al., 2004; LICHT et al., 2007). Panikattacken und Aggression kennzeichnen dagegen Anfälle mit psychischen Phänomenen (DODMAN et al., 1992; DODMAN et al., 1996). Mit fortschreitender Erforschung epilepsieassoziierter Krankheiten beim Menschen, z. B. bipolarer Störungen, die mit wiederkehrenden Episoden deutlicher affektiver Störungen wie Depression und Angstzuständen einhergehen, werden diese Attacken heute als nicht-iktale Comorbiditäten bei caniner Epilepsie diskutiert (MULA et al., 2010; SHIHAB et al., 2011). Auch beim Menschen ist unklar, welche der diversen psychiatrischen Begleiterscheinungen direkt iktaler Aktivität unterliegen und welche durch separate Mechanismen initiiert werden (MCTAGUE & APPLETON, 2010; JENSEN, 2011). Schwanzjagen beim Bullterrier wird als kompulsive oder autistische Verhaltensstörung oder als fokales Anfallsgeschehen diskutiert (DODMAN et al., 1996; MOON-FANELLI

et al., 2011). Obwohl beim Englischen Springer Spaniel beobachtet, der auch von idiopathischer/genetischer Epilepsie betroffen ist, werden Aggressivitätsepisoden bei dieser Rasse weder in Comorbidität mit Epilepsie beschrieben noch als fokale Anfälle klassifiziert (PATTERSON et al., 2005; REISNER et al., 2005). Automatismen beim Hund wie das sog. „Fliegenschnappen“ oder stereotypes Lecken, Schnüffeln und Schlucken treten gelegentlich auf und wurden mitunter als eine Ausprägung sensorischer Anfälle gedeutet, aber auch als psychische Anfälle eingruppiert (CASH & BLAUCH, 1979; BERENDT et al., 2004; LICHT et al., 2007; SCHNEIDER et al., 2009). Der bisher gebräuchliche Begriff sekundär generalisierter Anfälle, die sich durch Projektionen des initialen epileptischen Fokus auf beide Großhirnhemisphären aus fokalen Anfällen entwickeln, wird in der Humanmedizin künftig umschrieben mit dem Ausdruck fokaler Anfälle, die sich zu bilateral konvulsiven Anfällen weiterentwickeln (BERG et al., 2010).

Status epilepticus

Die ILAE definierte den Status epilepticus zunächst ohne Angabe einer Zeitdauer als einen hinreichend lange persistierenden epileptischen Anfall oder sich wiederholende epileptische Anfälle, zwischen denen das Bewusstsein nicht wiedererlangt wurde (ILAE, 1981). Derzeit wird jeder generalisierte Anfall, der länger als fünf Minuten andauert sowie jeder fokale oder nicht konvulsive Anfall mit einer Zeitdauer ab 30 Minuten als Status epilepticus angesehen und jede Anfallsserie, in deren Verlauf normales Bewusstsein nicht wiedererlangt wird (NAIR et al., 2011). Status epilepticus wird beim Mensch häufiger mit symptomatischen und reaktiven Epilepsien als mit idiopathischer Epilepsie in Verbindung gebracht, was sich auch in Studien beim Hund zeigen ließ, in denen 28 bis 38 % der Tiere mit Status epilepticus eine idiopathische Epilepsie aufwiesen (WALKER, 1998; PLATT & HAAG, 2002; ZIMMERMANN et al., 2009). Jedoch erlitten laut Saito et al. in einer Studie über 32 Hunde mit idiopathischer Epilepsie 59 % mindestens einen Status epilepticus (SAITO et al., 2001). Zimmermann et al. beschrieben, dass Hunde mit Status epilepticus im Krankheitsverlauf und einem Lebensalter von unter fünf Jahren bei Krankheitsbeginn am häufigsten unter idiopathischer Epilepsie litten (ZIMMERMANN et al., 2009). Bei den Hunderassen mit idiopathischer/genetischer Epilepsie ist wenig über das Auftreten von Status

epilepticus beschrieben. Lediglich beim Shetland Sheepdog ist von 72,7 % im Status epilepticus verstorbener Hunde die Rede und 60 % einer Border Collie Population hatten einen schweren Krankheitsverlauf mit Status epilepticus (MORITA et al., 2002; HÜLSMEYER et al., 2010).

2.1.3. Weitere Klassifizierungskriterien

Bis zur Jahrtausendwende war es gängige Praxis, Epilepsie bei Mensch und Tier primär nach der Anfallsart gefolgt von der Ätiologie zu klassifizieren (ILAE, 1989; BERENDT & GRAM, 1999; PODELL, 1999). Die neuere Eingruppierung in sog. elektroklinische Syndrome in der Humanmedizin ergibt sich durch charakteristische und voneinander unterscheidbare Komplexe aus klinischen Merkmalen und Symptomen. Anders als bei einer Klassifizierung auf alleiniger Basis der Anfallsart oder Ätiologie wird hierbei eine komplexe Organisation unter Berücksichtigung des Alters bei Anfallsbeginn, der Anfallsart, spezifischer EEG-Muster und oft zusätzlicher Faktoren, wie auslösende Ereignisse, Schlaf-EEGs oder progressiver Charakter, vorgenommen. Die Identifizierung elektroklinischer Syndrome kann Vorteile in Bezug auf die Wahl von antiepileptischen Medikamenten, Management und Prognose haben. Andererseits zieht diese umfassende Art der Organisation die Aufhebung der klaren Kategorisierung in idiopathische, symptomatische und kryptogene oder fokale und generalisierte Epilepsien nach sich (ENGEL, 2006; BERG et al., 2010). Berg et al. halten in ihrem Bericht fest, dass das Konzept zukünftiger Klassifizierung einen flexiblen, multidimensionalen Katalog zur Organisation von Epilepsien darstellen sollte, der auf Zweckmäßigkeit in Bezug auf Medikamentenentwicklung, Grundlagenforschung sowie klinische Wissenschaft und Praxis ausgelegt ist (BERG et al., 2010).

Das diagnostische Werkzeug des EEG-Monitoring ist in der Tiermedizin nicht als Routine etabliert (HOLLIDAY & WILLIAMS, 1998; BERENDT et al., 1999). Der durchgeführte Vergleich von subdermalen Drahtelektroden, Nadelelektroden und Gold Cup-Elektroden auf ihre Artefaktanfälligkeit und praktische Einsatzfähigkeit am Tierpatienten im Langzeit-EEG-Monitoring mag einen ersten Schritt zur Etablierung eines portablen EEGs bei Hunden darstellen (JAMES et al., 2011).

2.2. Antiepileptische Therapie und Therapieresistenz

Entwicklung, Erforschung und Einsatz neuer antiepileptischer Medikamente und Behandlungsmethoden schreiten stetig fort. Dennoch hat sich der Anteil von ca. 30 % therapieresistenter Epilepsie bei Mensch und Tier im Verhältnis dazu kaum vermindert (ANNEGERS et al., 1979; COCKERELL et al., 1995; KWAN & BRODIE, 2000; SCHMIDT & LÖSCHER, 2005; FRENCH, 2007; VOLK, 2010).

2.2.1. Antiepileptische Therapie beim Hund

In der Tiermedizin steht die medikamentelle Therapie nach wie vor an erster Stelle. Chirurgische Resektion des epileptischen Fokus, Vagusnervstimulation, ketogene Diät und Technologien zur automatischen Erkennung von Anfallsaktivität mit anschließender teils automatischer Pharmako- oder Elektrotherapie finden in der klinischen Tiermedizin bisher keine Anwendung. Zur Beurteilung einer erfolgreichen komplementärmedizinischen Therapie beim Tier fehlen plazebokontrollierte Doppelblindstudien.

Viele der in der Humanmedizin etablierten Antiepileptika wurden bezüglich ihrer Effektivität und Verträglichkeit am Tier untersucht und finden Anwendung in der antiepileptischen Therapie des Hundes. So zeigten sich einige Antiepileptika der zweiten Generation als wirksam, darunter Levetiracetam, Gabapentin, Zonisamid und Felbamat (RUEHLMANN et al., 2001; DEWEY et al., 2004; PLATT et al., 2006b; VON KLOPMANN et al., 2007; VOLK et al., 2008). Letzteres wird insbesondere zur Therapie fokaler Anfälle beim Hund benutzt (RUEHLMANN et al., 2001). Hohe Kosten und eine mit dem Begriff „Honeymoonperiode“ umschriebene unzureichende Langzeitwirksamkeit (v. a. Levetiracetam und Zonisamid) limitieren ihren Einsatz als Add-on Medikamente, so dass Phenobarbital und Kaliumbromid weiterhin als First-line Medikamente der Epilepsitherapie beim Hund gelten (DEWEY, 2006; POTSCHKA et al., 2009; VOLK, 2010). Beim Hund dagegen nicht zu empfehlen ist der Einsatz von Lamotrigin, da es bei dieser Spezies aufgrund eines 2-N-Methyl-Metaboliten kardiotoxisch wirkt (WONG & LHATOO, 2000). Auch Vigabatrin sollte wegen der Nebenwirkung der hämolytischen Anämie und neurotoxischer Effekte beim Hund nicht angewendet werden (WEISS et al., 1994; LÖSCHER, 2003). Nach einem Pilotversuch zur Effektivität und Verträglichkeit von ELB138 beim Hund, in dem sich die Substanz in ihrer Wirkungsweise als partieller Agonist an der Benzodiazepinbindungsstelle des GABA_A-Rezeptors als antikonvulsiv und

vorteilhaft bezüglich der Toleranzentwicklung darstellte, befindet sich die Substanz nun in der abschließenden klinischen Prüfung (POTSCHKA et al., 2009). All die genannten Antiepileptika zielen auf die Verminderung der Erregbarkeit und eine Erhöhung inhibitorischer Mechanismen im Gehirn ab. So wirkt beispielsweise Phenobarbital als Agonist inhibitionssteigernd am GABA_A-Rezeptor und Kaliumbromid begrenzt durch Hyperpolarisation der Nervenzellen die Erregungsausbreitung. Andere Antiepileptika modifizieren über die Blockade von Ionenkanälen die Polarisationsseigenschaften der Zellen, verändern die Transmitterfreisetzung oder wirken als Agonisten oder Antagonisten direkt am Rezeptor (POTSCHKA et al., 2009).

2.2.2. Aspekte der Therapieresistenz

Die Prävalenz therapieresistenter Epilepsien bei Mensch und Hund wird in der Literatur mit etwa 30 % angegeben (ANNEGERS et al., 1979; SCHWARTZ-PORSCHKE et al., 1982, 1985; COCKERELL et al., 1995; KWAN & BRODIE, 2000). Klinisch können vier Erscheinungsformen von Therapieresistenz unterschieden werden, die z. T. einen Rückschluss auf einen beteiligten zugrundeliegenden Resistenzmechanismus zulassen: Zum einen eine „De novo“-Resistenz, welche von Krankheitsbeginn an besteht. Es tritt zu keinem Zeitpunkt Remission ein. Des Weiteren wird eine progressive Resistenz beschrieben, bei der der Patient zwar zunächst anfallsfrei wird, später aber wieder unkontrollierbare Anfälle auftreten. Im umgekehrten Fall ist die Epilepsie zunächst refraktär zur Therapie, wird mit der Zeit aber responsiv auf die Medikamente. Beim fluktuierenden Resistenzmuster erscheint die Epilepsie phasenweise gut und schlecht kontrolliert (KWAN & BRODIE, 2006).

Definition von Therapieresistenz

Die Definition von Therapieresistenz in der Humanmedizin sowie die diesbezügliche Vergleichbarkeit von Studien stellt derzeit eines der prominentesten Probleme moderner Epilepsieforschung dar (HAO et al., 2011). Entsprechend einzelner Studienzielsetzungen wurden bestehende Definitionen zur Therapieresistenz immer wieder individuell angepasst. So führte die Modifikation von drei Hauptaspekten (Anfallsfrequenz, Anzahl von eingesetzten Medikamenten und Beobachtungszeitraum) über die letzten Jahre zu einem mannigfaltigen Bild an Definitionen von Therapieresistenz (SINHA &

SIDDIQUI, 2011). Je nach angewandter Definition können in der Folge die Ergebnisse erheblich divergieren. Dies zeigten Berg und Kelly, indem sie sich für die Ermittlung der Therapieresistenzrate in einer Studienkohorte von 613 Kindern sechs verschiedener Definitionen für Therapieresistenz bedienten, die bereits in früheren Studien Anwendung gefunden hatten. Die ermittelte Resistenzrate divergierte zwischen neun und 24 %. Allerdings bestanden bei der Ermittlung dieser Zahlen auch Diskrepanzen darin, dass je nach Definition eine unterschiedlich große Anzahl an Kindern überhaupt die Einschlusskriterien erfüllte und dass die verschiedenen Definitionen zu unterschiedlichen Zeitpunkten im Krankheitsverlauf angewendet wurden (BERG & KELLY, 2006).

Um wieder auf eine Vereinheitlichung der Definition hinzuarbeiten, gab die ILAE im Jahr 2010 einen Vorschlag zur Bestimmung von Therapieresistenz heraus. In einem zweistufigen System soll zunächst (Level 1) spezifisch das Ergebnis jeder einzelnen adäquaten therapeutischen Intervention genannt werden und als „Anfallsfreiheit“, „Therapieversagen“ oder „unbestimmt“ betitelt werden. Vor allem soll dabei evaluiert werden, ob die Therapie als adäquat bezüglich Dosis, Einnahmeintervall, Medikamentenwechselwirkungen und Begleiterkrankungen angesehen werden kann und ob die zu einer Einschätzung benötigten Informationen vorliegen. Erst im Level 2 erfolgt dann die eigentliche Unterscheidung von Therapieresistenz und guter Anfallskontrolle. Kwan et al. schlugen fehlende Anfallsfreiheit trotz zwei adäquat ausgewählter, hinreichend eingesetzter, gut verträglicher Medikamente (entweder als Monotherapien oder Kombinationstherapie) als Definition für Therapieresistenz vor. Als Beobachtungszeitraum werden zwölf Monate oder dreimal das längste anfallsfreie Intervall vor Therapiebeginn angegeben (KWAN et al., 2010). In einem Pilotversuch zur Reliabilität dieses Konsensus ergab sich im Vergleich zweier Anwender eine Übereinstimmung von 96,5 % im Level 1 und von 94 % im Level 2. Dies kann als erster Hinweis auf die klinische Validität der Definition betrachtet werden (HAO et al., 2011). In der Tiermedizin wird in vielen Studien weniger als 50 % Anfallsreduktion als Therapieresistenz betrachtet (TREPANIER et al., 1998; DEWEY et al., 2004; PLATT et al., 2006b; VON KLOPMANN et al., 2007; VOLK et al., 2008; DEWEY et al., 2009).

Einflussfaktoren und Mechanismen der Therapieresistenz

Im Folgenden sollen Faktoren näher erläutert werden, die zum Entstehen einer Therapieresistenz beitragen können. Aus pharmakologischer Sicht spielen genetische Variabilität, epilepsie- und medikamentenbedingte Faktoren bei der Entstehung von Therapieresistenz eine Rolle (LÖSCHER & POTSCHKA, 2005). Hinzu kommen behandlungs- und patientenabhängige Faktoren sowie Umwelteinflüsse, die das multifaktorielle Phänomen der Therapieresistenz abrunden. In Tabelle 3 sind einige Beispiele, die Einfluss auf den Grad der Anfallskontrolle nehmen können, zusammengefasst.

Zu den am meisten im Fokus der Wissenschaft stehenden Resistenzmechanismen zählen die Target-Hypothese, die Transporter-Hypothese und die Hypothese der inhärenten Anfallsschwere („inherent disease severity“), nicht zuletzt mit der Intention der Identifikation gezielter neuer Behandlungsstrategien (POTSCHKA, 2010). Auch Veränderungen im neuronalen Netzwerk wird eine Bedeutung bei der Entstehung von Therapieresistenz zugesprochen (VOLK, 2010).

Bei der Target- oder pharmakodynamischen Hypothese wird eine Veränderung der spezifischen Zielzellen von Antiepileptika, z. B. von Ionenkanälen oder Transmitterrezeptoren, vermutet und eine daraus resultierende verminderte Sensitivität gegenüber der Therapie. Dies wurde in resezierten Zellen aus der Hippocampusregion von therapieresistenten Patienten mit Temporallappenepilepsie nachgewiesen, deren spannungsgesteuerte Natriumionenkanäle eine verminderte Sensitivität auf Carbamazepin aufwiesen (REMY et al., 2003a). Ebenso zeigte sich dies im Nagermodell in einem vom Carbamazepineinsatz abhängigen Sensitivitätsverlust der Zielstruktur (REMY et al., 2003b). Volk et al. konnten diese Theorie in einem weiteren Modell bestätigen. Darin wurden auf Diazepam zunächst sensitive GABA_A-Rezeptoren von therapieresistenten Ratten zunehmend refraktär (VOLK et al., 2006). Im gleichen Versuch wurde ein signifikanter Neuronenverlust in den CA1- und CA3c/CA4-Pyramidenzellschichten des Ammonshorns und im Hilus dentatus des Hippocampus nachgewiesen, was die Hypothese der veränderten neuronalen Vernetzung untermauert (SISODIYA et al., 2002; VOLK et al., 2006). Diese bei Hippocampusklerose typischen Veränderungen gehen i. d. R. mit moosartigen Faseraussprossungen der Axone des Hilus dentatus bis hin zur inneren Zellschicht des Gyrus dentatus einher und wurden auch bei der häufig therapieresistenten

Temporallappenepilepsie des Menschen beschrieben. Ob die Hippocampussklerose der Grund oder die Folge von Temporallappenepilepsie und eine der Ursachen für pharmakoresistente Epilepsie ist, blieb bisher ungeklärt (SCHMIDT & LÖSCHER, 2005).

Tabelle 3: Mögliche Einflussfaktoren auf den Therapieerfolg antiepileptischer Therapie und die Entwicklung von Therapieresistenz.

Einflussfaktoren auf den Therapieerfolg und die Entwicklung von Therapieresistenz	Beispiele
Genetische Variabilität ^a	<ul style="list-style-type: none"> - Inhärente Krankheitsschwere ^b - Variabilität der Zielstrukturen von Medikamenten (Drug targets) ^a - Variabilität der Medikamentenaufnahme ins Gehirn (Drug transport) ^a - Variabilität im Medikamentenmetabolismus ^a
Epilepsiebedingte Faktoren ^a	<ul style="list-style-type: none"> - Ätiologie/morphologische Veränderungen ^a - Veränderung der Zielstrukturen von Medikamenten im Krankheitsverlauf (Drug targets) ^a - Veränderungen der Medikamentenaufnahme ins Gehirn im Krankheitsverlauf (Drug transport) ^a
Medikamentenbedingte Faktoren ^a	<ul style="list-style-type: none"> - Funktionelle Toleranz ^a - Metabolische Toleranz ^a - Medikamenteninteraktionen (pharmakokinetisch oder pharmakodynamisch) ^c
Behandlungsbedingte Faktoren ^c	<ul style="list-style-type: none"> - Serumkonzentration von Antiepileptika ^c - Compliance ^c - Therapieänderung ^c
Umweltbedingte Faktoren ^c	<ul style="list-style-type: none"> - Diät ^c - Emotionaler Stress ^c - Schlafentzug ^c - Begleiterkrankung ^c
^a (LÖSCHER & POTSCSKA, 2005) ^b (ROGAWSKI & JOHNSON, 2008) ^c (HANDOKO et al., 2008)	

Die Transporter- oder pharmakokinetische Hypothese setzt sich mit der Annahme auseinander, dass nicht die Zielrezeptoren selbst, sondern eine verminderte Konzentration der Wirkstoffe aufgrund verstärkter Ausscheidung über Endothelzellen der Blut-Hirn-Schranke zu Therapieresistenz führt (LÖSCHER, 2007). Dies wird mit einer Hochregulation sog. Multidrug-Transportermoleküle in Kapillarendothelien des Gehirns erklärt, welche sowohl in Tierexperimenten als auch im Gehirngewebe von Patienten mit Status epilepticus nachgewiesen wurde (DOMBROWSKI et al., 2001; SISODIYA & THOM, 2003; ARONICA et al., 2004; VAN VLIET et al., 2005). Der wohl am intensivsten untersuchte Multidrug-Transporter bei therapieresistenter Epilepsie bei Tier und Mensch ist P-gp (POTSCHKA et al., 2004; VOLK & LÖSCHER, 2005). Wie im Abschnitt 1.4.2 im Zusammenhang mit Ivermectin-Überempfindlichkeit beim Hund beschrieben, wird P-gp die Rolle des Abtransports zahlreicher lipophiler Substanzen aus dem Gehirnparenchym zugeschrieben, darunter auch Antiepileptika wie Phenobarbital, wobei spezies-, gewebe- und dosisspezifische Unterschiede in der Substrateigenschaft von Phenobarbital beschrieben werden (WEST & MEALEY, 2007; LUNA-TORTOS et al., 2008; POTSCHKA, 2010a; ZHANG et al., 2010). Als hauptverantwortlich für die Hochregulation von P-gp wird Anfallsaktivität, insbesondere Status epilepticus, beschrieben (POTSCHKA et al., 2004; VOLK & LÖSCHER, 2005; LIU et al., 2007; BANKSTAHL & LÖSCHER, 2008; PEKCEC et al., 2009). Auf der Vermutung, dass Antiepileptika selbst die Hochregulation von P-gp triggern könnten, basierende Tierexperimente ergaben kontroverse Ergebnisse (LOMBARDO et al., 2008; AMBROZIAK et al., 2010). Im Zuge der Erforschung des Transporter-Resistenzmechanismus werden neben dem ABCB1(MDR1)-Gen weitere Effluxtransporter codierende Gene, z. B. multidrug resistance-associated protein MRP1, MRP2 oder ABCC2, und deren Rolle beim Medikamententransport verschiedener Spezies und in verschiedenen Geweben untersucht (CONRAD et al., 2001; SISODIYA et al., 2002; BALTES et al., 2007; POTSCHKA, 2010b; UFER et al., 2011).

Mutationen im ABCB1(MDR1)-Gen resultieren in einem fehlerhaft replizierten und funktionslosen P-gp und vermindertem Efflux von Antiepileptika aus dem Gehirn. So wurde z. B. der CC-Genotyp des ABCB1 3435C>T Polymorphismus beim Menschen immer wieder mit verbesserter Anfallskontrolle in Verbindung gebracht und auch beim Collie konnte ein Zusammenhang zwischen dem

Auftreten der ABCB1-1 Δ -Mutation und verbesserter Anfallskontrolle festgestellt werden (ZIMPRICH et al., 2004; SEO et al., 2006; KWAN et al., 2007; MUÑANA et al., 2010). Andere Studien beim Menschen dagegen widerlegten einen derartigen Zusammenhang und beim Border Collie konnten keine zum Collie vergleichbaren Ergebnisse erhoben werden (KIM et al., 2006; CHEN et al., 2007; SHAHWAN et al., 2007; OZGON et al., 2008; BOURNISSEN et al., 2009; SZOEKE et al., 2009; HAERIAN et al., 2010). Im Gegenteil wurde beim Border Collie ein mit Therapieresistenz assoziierter Polymorphismus identifiziert (ALVES et al., 2011).

Nicht nur wegen gegensätzlicher Ergebnisse auf experimenteller Ebene, sondern auch aufgrund kontroverser Ergebnisse epidemiologischer Studien zur Prävalenz bekannter Polymorphismen im ABCB1(MDR1)-Gen im Zusammenhang mit verbesserter Anfallskontrolle bei Epilepsie beim Menschen, bleibt die Drug-Transporter-Hypothese und die Rolle von P-gp bei der Entstehung von Therapieresistenz bis heute eine zentrale Fragestellung der Epilepsieforschung (ANDERSON & SHEN, 2007; SISODIYA & GOLDSTEIN, 2007; LÖSCHER & DELANTY, 2009; LÖSCHER et al., 2011).

Der Hypothese der inhärenten oder intrinsischen Krankheitsschwere wird die Beobachtung zugrunde gelegt, dass, wie bei fast jeder anderen Krankheit auch, eine große Bandbreite von sehr milden bis zu sehr schweren Formen der Epilepsie von Beginn der Krankheit an besteht (ROGAWSKI & JOHNSON, 2008). Dies wird dadurch belegt, dass die Anfallsfrequenz der ersten Monate, unabhängig davon, ob schon behandelt wurde oder nicht, den verlässlichsten prognostischen Faktor auf den Outcome der Epilepsie darstellt (MACDONALD et al., 2000; CHAWLA et al., 2002; HITIRIS et al., 2007; SILLANPÄÄ & SCHMIDT, 2009). Die Wirksamkeit der antiepileptischen Medikamente geht gemäß diesem Modell mit der inhärenten Krankheitsschwere einher, d. h. wenn die Anfallsanfälligkeit hinreichend hoch ist, kann das Wiederauftreten von Anfällen mit nichttoxischen Dosen antiepileptischer Medikamente nicht verhindert werden (ROGAWSKI & JOHNSON, 2008). Studien, die aber dennoch einen Einfluss anderer Faktoren auf die Krankheitsausprägung und Anfallskontrolle nachweisen, stehen im Widerspruch zu der Hypothese der inhärenten Krankheitsschwere (SCHMIDT & LÖSCHER, 2009). Zu nennen ist beispielsweise der Erfolg der chirurgischen Resektion des epileptischen Fokus bei strukturellen Läsionen oder die

Beobachtung, dass einzelne Epileptiker mit hoher initialer Anfallsfrequenz im Vergleich zu Patienten mit niedriger initialer Anfallsfrequenz erst bei höheren Serumwirkspiegeln anfallsfrei werden (SCHMIDT & HAENEL, 1984; SPENCER & HUH, 2008; SCHMIDT & LÖSCHER, 2009). Das Resistenzmodell der inhärenten Anfallsschwere basiert in erster Linie auf epidemiologischen Beobachtungen und eine Untermauerung auf genetischer Ebene unterblieb bisher. Eine hohe Anfallsfrequenz vor Therapiebeginn bei Ratten mit Temporallappenepilepsie wurde gemäß dem Modell der inhärenten Krankheitsschwere mit späterer Therapieresistenz assoziiert (LÖSCHER & BRANDT, 2010). Im gleichen Tiermodell waren auch Faktoren wie Verhaltensabnormalitäten, P-gp-Anstieg an der Blut-Hirn-Schranke und Alterationen der GABA_A-Rezeptoren mit späterer Therapieresistenz gekoppelt (VOLK & LÖSCHER, 2005; VOLK et al., 2006; GASTENS et al., 2008; SCHMIDT & LÖSCHER, 2009). Schmidt und Löscher postulierten aufgrund dessen, dass einzelne Faktoren weniger als ein multifaktorielles Zusammenspiel verschiedener Parameter, wie Ätiologie, genetische Faktoren, Alterationen in Rezeptor- und Transportproteinen sowie im neuronalen Netzwerk, Krankheitsschwere, psychiatrische Comorbiditäten und medikamentenbedingte Faktoren der Therapieresistenz zugrunde liegen (SCHMIDT & LÖSCHER, 2005).

III. PUBLIKATION

Disease Progression and Treatment Response of Idiopathic Epilepsy in Australian Shepherd Dogs.

Weissl J, Hülsmeier V, Brauer C, Tipold A, Koskinen LL, Kyöstiä K, Lohi H, Sauter-Louis C, Wolf M, Fischer A.

J Vet Intern Med. 2012 Jan-Feb;26(1):116-25.

Copyright © 2012, Journal of Veterinary Internal Medicine, Wiley-Blackwell.

<http://www.wiley.com/bw/journal.asp?ref=0891-6640>

Submitted June 2, 2011; Revised September 25, 2011; Accepted November 14, 2011.

Copyright © 2011 by the American College of Veterinary Internal Medicine

10.1111/j.1939-1676.2011.00853.x

Disease Progression and Treatment Response of Idiopathic Epilepsy in Australian Shepherd Dogs

J. Weissl¹, V. Hülsmeier¹, C. Brauer², A. Tipold², L.L. Koskinen³, K. Kyöstiä³, H. Lohi³, C. Sauter-Louis⁴, M. Wolf¹, A. Fischer¹

¹ Section of Neurology, Clinic of Small Animal Medicine, Ludwig-Maximilians-University, Munich, Germany

² Department of Small Animal Medicine and Surgery, University of Veterinary Medicine, Hannover, Germany

³ Department of Veterinary Biosciences and Research Programs Unit, Molecular Medicine, University of Helsinki and Folhålsan Research Center, Helsinki, Finland

⁴ Clinic for Ruminants, Ludwig-Maximilians-University, Munich, Germany

Short title: Idiopathic Epilepsy in Australian Shepherds

Key words: ABCB1(MDR1); Canine; Pharmacoresistance; Seizure

Corresponding author:

Priv.-Doz. Dr. med. vet. Dr. habil. Andrea Fischer

Diplomate ECVN, Diplomate ACVIM (Neurology)

Section of Neurology, Clinic of Small Animal Medicine

Ludwig-Maximilians-University

Veterinärstr. 13, 80539 Munich, Germany

andrea.fischer@med.vetmed.uni-muenchen.de

Parts of the study were presented at the 19th Annual Meeting, German Veterinary Medical Association; 2011 Feb 4-5; Leipzig, Germany.

Acknowledgements:

We thank the owners, breeders and referring veterinarians who contributed to our study. Special thanks to Dr. med. A. Sewell (University of Frankfurt, Germany), Dr. med. vet. N. Stalder (Langnau, Switzerland), Katrin Hirschvogel (University of Munich, Germany), and to the Diplomates (ECVN) in Germany, Austria, and Switzerland who assisted with relentless case recruitment and workup.

Jutta Weissl is supported by a dissertation grant (Graduiertenstipendium nach dem Bayerischen Elitförderungsgesetz – Postgraduate excellence program). Kaisa Kyöstilä, Lotta Koskinen, and Hannes Lohi are supported by the Academy of Finland, Sigrid Juselius Foundation and the European Commission (FP7-LUPA, GA-201370).

Abbreviations:

ABCB1(MDR1) ATP binding cassette, subfamily B, member 1 (multidrug resistance 1 gene)

ABCB1-1Δ 4 base pair deletion nt230(del 4) in the ABCB1(MDR1) gene

AE active epilepsy

AED antiepileptic drug

AS Australian Shepherd

BC Border Collie

CS cluster seizure

CSF cerebrospinal fluid

FS focal seizure

IE idiopathic epilepsy

MRI magnetic resonance imaging

P-gp permeability-glycoprotein

SE status epilepticus

ABSTRACT

Background: Idiopathic epilepsy (IE) in Australian Shepherds (ASs) occurs worldwide but there is a lack of description of the epilepsy syndrome in this breed. The ABCB1-1 Δ mutation is more prevalent in ASs than in many other dog breeds.

Hypothesis: Australian Shepherds suffer from a poorly controlled IE syndrome with prevailing severe courses. Seizure control and ABCB1-1 Δ mutation might be related in this breed.

Animals: Fifty ASs diagnosed with IE and 50 unaffected ASs.

Methods: Predominant study design is a longitudinal cohort study. Pedigrees, medical records, seizure and treatment data of ASs with IE were analyzed descriptively. Sex, color, and the ABCB1-1 Δ genotype were compared between case and control groups and ASs with poorly or well-controlled seizures. Differences in survival times were assessed by logrank tests and Cox regression analysis.

Results: Idiopathic epilepsy in ASs is dominated by moderate and severe clinical courses with the occurrence of cluster seizures and status epilepticus and a high seizure frequency. Poor seizure control and a high initial seizure frequency (≥ 10 seizure days/first 6 months) are associated with shorter survival times ($P < 0.05$). Poor seizure control, unrelated to the ABCB1(MDR1) genotype, is evident in 56% of epileptic ASs. Pedigree analysis suggests a genetic basis.

Conclusion and clinical importance: Frequent severe clinical courses, poor seizure control unrelated to the ABCB1(MDR1) genotype and a young age at death compromise animal welfare and warrant further genetic studies to unravel the underlying molecular mechanisms of IE and seizure control in the breed.

INTRODUCTION

Recurrent seizures due to idiopathic epilepsy (IE) affect many different dog breeds worldwide, and epilepsy in dogs shares many characteristics with human epilepsies. Most affected dogs are alike in the onset of generalized tonic-clonic seizures in early adulthood up to 5 years of age and require lifelong treatment with antiepileptic drugs (AEDs).¹⁻⁷

Recent epilepsy research in dogs mainly focuses on the identification of epilepsy genes, but interest in mechanisms of pharmacoresistance and the characterization of the clinical course are increasing.^{5,7-15} It is generally stated, that pharmacoresistance can develop in up to 30% of dogs with epilepsy.^{16,17} An increased expression of permeability-glycoprotein (P-gp) occurs in dogs' brains after status epilepticus (SE).¹⁸ A severe form of epilepsy characterized by the occurrence of SE, cluster seizures (CSs) and pharmacoresistance is recognized in Border Collies (BCs).⁷ Currently, there is a lack of a detailed description of the clinical characteristics and disease course of epilepsy in Australian Shepherds (ASs), a closely related dog breed, despite worldwide recognition of the disease and attempts to identify the causative genes in this breed.

The aim of this study was to provide a detailed description of the clinical course and disease variability in ASs affected with IE and to gain insight into its inheritance. We hypothesized specifically that ASs suffer from a poorly controlled IE syndrome with prevailing severe courses and that seizure control and ABCB1-1 Δ mutation could be related in this breed.

MATERIALS AND METHODS

Data Collection – From January 2009 until June 2010, epileptic ASs were identified at the study centers (Munich, Hannover) and by a medical records search (2004-2008; search terms “epilepsy”, “epileptic”, “seizure”, “Australian Shepherd”), traced by cooperating veterinary neurologists or via requests placed on the study centers' and breeding clubs' web-pages (Fig. 1). Thorough written documentation of each seizure and treatment data from the first seizure onward in a prospective manner was a requirement for study inclusion. Furthermore, epileptic dogs were only considered if they were seen in the study centers or by a veterinary neurologist and if diagnostic work-up had been either completed before case identification or was performed in 2009 or 2010. At first contact to the study

investigators (January 2009 - June 2010) owners of all dogs were asked whether they had documented seizures continuously from the first seizure onward at the time the seizures had occurred, and to submit their prospectively written seizure documentation for review to the study investigators. Thereafter owners were asked to continue documentation with the help of a preprinted seizure and treatment calendar. The seizure and treatment calendar preprint was designed to list date, type and duration of each seizure and to document AED treatment, dosages, treatment changes and serum concentration measurements and contained space for extra notes. In addition, at the same time each owner was provided with a questionnaire to provide supplemental information on signalment, pedigree information, daily observation time, general health status, perceived impact of vaccination, drugs or any other factors on seizure events, any history of previous craniocerebral trauma or illness. Owners were asked permission to contact their primary veterinarian and to release any medical information. Thereafter, owners were contacted regularly by the study investigators in terms of continuous updates of seizure and treatment data. Medical records, seizure and treatment documentation and questionnaires of all dogs were recalled for analysis whenever a dog had died or at study conclusion for dogs that were still alive (December 2010).

Australian Shepherds >7 years of age that never had experienced seizures or seizure-like events served as control animals. These were identified at the institutions and via public requests (2009-2010). Their owners were also asked to provide information on the dogs' signalment, pedigree data and health status and on any episodes of changed behavior, rigidity, hypersalivation, tremor, or movement disorders to identify possible misconstrued focal seizures (FSs).

Inclusion Criteria – Idiopathic epilepsy was defined as recurrent seizures (≥ 2 seizures ≥ 4 weeks apart), age at onset ≤ 5 years, unremarkable laboratory results (CBC, biochemical profile, pre- and postprandial serum bile acids concentration), and normal interictal neurologic examination performed by the study investigators (Weissl, Brauer, Tipold, Wolf, Fischer) or a specialist in veterinary neurology. Magnetic resonance imaging (MRI) and cerebrospinal fluid (CSF) analysis were strongly recommended and obligatory if the age of onset was <6 months. Dogs with a history of head trauma or structural brain disease were excluded.

Seizure Classification – Seizures with bilateral and symmetrical motor signs from their onset were denoted as primarily generalized seizures. Episodic tonic, clonic, or tonic-clonic movements of a single part of the body or autonomic symptoms at a normal or impaired state of consciousness indicated FSs. Focal seizures that transitioned into generalized seizures were defined as focal onset seizures (FSs evolving to bilateral, convulsive seizures).¹⁹ Cluster seizures were defined as >1 seizure/24 hours. Generalized seizures lasting for >5 minutes and FSs >30 minutes were classified as SE.^{20,21} Equally, CSs turned into SE if consciousness was not fully recovered between single seizures.^{20,22}

Clinical Course – The clinical course was classified as mild if the dog displayed only discrete seizures, moderate as soon as any episode of CSs had occurred and severe in the case of SE. Active epilepsy (AE) was defined as ≥ 1 epileptic seizure within the year prior to ascertainment. Remission was defined as the absence of seizures for ≥ 1 year (“remission with treatment”: AED therapy was continued until ascertainment; “remission without treatment”: no AED therapy within the seizure-free year).⁷ The seizure frequency was calculated as the number of seizure days/month in the time period from onset until the study conclusion or death.

AED Treatment and Seizure Control – Poor seizure control was defined as ≥ 1 seizure day/month (from treatment onset until study conclusion or death) despite adequate therapy with at least 1 AED (phenobarbital with or without add-on treatment) for ≥ 6 months. Additionally, seizure control was evaluated for those ASs treated with at least 2 AEDs (all AEDs in default serum concentrations for ≥ 6 months).²³ Required serum concentrations were ≥ 20 $\mu\text{g/mL}$ for phenobarbital (≥ 30 $\mu\text{g/mL}$; subgroup A) and ≥ 1000 $\mu\text{g/mL}$ for potassium bromide as an add-on AED (subgroup B).²⁴ Evaluations were based on most recent blood levels (peak or trough).^{25,26} For levetiracetam or gabapentin, adequate dosage was 20 or 10 mg/kg body weight q8h, respectively.^{27,28}

ABCB1(MDR1) Genotyping – EDTA blood samples of living case and control dogs were collected and stored at -20°C the study center for ABCB1-1 Δ testing. Genomic DNA was extracted from blood samples using the semi-automated Chemagen extraction robot and analyzed for the ABCB1-1 Δ mutation using previously published methods.^{a,29} Fragment analysis was performed on a 3730xl DNA Analyzer, and fragment sizes (148-base pair fragments from the

wild-type and 144-base pair fragments from the mutant ABCB1(MDR1) allele) were determined using the Peak Scanner Software v1.0.^b

Other Investigations – Samples of urine, plasma, and whole blood, placed on a screening card, were submitted to a specialized laboratory (Children's Hospital, University of Frankfurt) to be tested for neurometabolic diseases (10 dogs). Urine samples were subjected to organic acid, mucopolysaccharide, oligosaccharide, and free sialic acid analysis. The activity of selected lysosomal enzymes was determined in dried blood samples to rule out several inherited storage disorders for which epilepsy may be a prominent clinical sign. Post-mortem examination was performed on 2 ASs euthanized at the owners' request because of poorly controlled epilepsy.

Pedigree Analysis – Pedigrees of ASs with IE containing ≥ 4 generations were matched for common ancestors. When referable to a common sire, subpopulations were subsequently defined. Trial pedigrees were compiled with GenoPro 2011.

Statistical Analysis – Chi squared and Fisher's exact test (for 2-tailed results) were used for categorical variables. Mann-Whitney U tests, including calculations of medians, and Kruskal-Wallis tests with subsequent paired group comparisons utilizing Dunn-Bonferroni correction were performed as non-parametric tests for continuous variables. Potential categorical predictors on the survival time (calculated from seizure onset) were displayed in Kaplan-Meier curves (evaluated by logrank tests). A multivariable cox regression was conducted with the factors significant in the Kaplan-Meier methods using a stepwise forward selection process. Statistical significance was defined at $P \leq 0.05$. All analyses were performed with SPSS (version 17).

RESULTS

Case and Control Groups – Eighty-nine ASs with generalized epileptic seizures from Germany, Austria and Switzerland were identified. Of these, 50 fulfilled the inclusion criteria. Thirty-five ASs with IE were examined by the study investigators in two hospitals (Munich, Hannover). Fifteen ASs were examined by cooperating specialized veterinary neurologists in Germany, Austria and Switzerland. Twenty-eight dogs' disease onset was in 2009 or 2010, and in 22 dogs, disease onset was between 2004 and 2008. Of the latter, fourteen dogs

experienced their first seizure in 2007 or 2008 and 8 dogs between 2004 and 2006. Three of these dogs were deceased prior to 2009. Detailed prospectively written seizure and treatment documentation was available for review from each one of the 50 dogs. Seizure documentation was based on owners' seizure and treatment records for dogs with onset from 2004-2008 and on a preprint seizure and treatment calendar provided to all owners from 2009-2010. None of the dog owners was asked to recall seizures retrospectively instead all evaluation was based on detailed prospectively written records. MRI and CSF analysis were performed in 42% (21/50) of the cases, neurometabolic screening in 20% (10/50), and post-mortem examination in 4% (2/50); these results turned out to be unremarkable. Reasons for exclusion of the remaining 39 ASs were as follows: only 1 seizure 1.5-6 years ago (n=4), insufficient diagnostic workup (n=6), age at onset >5 years (n=3), history of head trauma (n=2), symptomatic epilepsy (insulinoma/canine distemper, n=3), only dam or sire being a purebred AS (n=2), notification after accomplished data collection (n=10), and lack of owner's compliance or inadequate documentation of seizures/treatment/medical records (n=9).

Owners of another 23 ASs reported recurrent episodes of altered mentation, bizarre behavioral activity (panic attacks, sporadic aggressiveness, pacing, staring, or indifference to emotive words), tremors, facial twitching, hypersalivation, or mydriatic pupils without any observed generalized seizures. A notable subset was traced by analyzing data provided about healthy control dogs. Subsequent structured telephone interviews concerning clinical signs and anamnestic features such as age at onset, relatives with IE, or recurrence of symptoms corroborated suspicion for FSs, but in most cases, diagnostic investigation was lacking due to mild neurological signs. Thus, these animals were included as neither case nor control dogs.

The control group consisted of 50 ASs.

ABCB1(MDR1) Genotype, Sex, and Coat Color – Twenty-two percent (11/50) of the epileptic and 18% (9/50) of the control dogs were heterozygous (+/-) for the ABCB1-1 Δ mutation; 2% per group (1/50 each) were homozygous (-/-). Seventy percent (35/50) of the cases and 80% (40/50) of the control group were homozygous (+/+) for the wild-type allele, and the genotype could not be assessed for 6% in the case group (3/50; samples unavailable because of death

before case identification). Sixty-four percent of the affected dogs were males (32/50, 21 neutered, 10 after seizure onset), and 36% were females (18/50, 9 neutered, 3 after seizure onset). The control group contained 48% males (24/50, 8 neutered) and 52% females (26/50, 11 neutered). The merle phenotype was apparent in 58% (29/50) of the affected dogs, and 42% (21/50) were either black or red with copper and white (non-merle). Forty-four percent (22/50) of control dogs were merle colored and 56% (28/50) were non-merles. The ABCB1-1 Δ mutation (P=0.516), sex (P=0.107), and coat color (P=0.161) ratio did not differ between case and control group.

Seizure Database – The median age at seizure onset was 2.5 years (range 0.3-5.0). It was significantly lower in non-merle-colored (1.8 years, range 0.3-5) than in merle-colored ASs (2.8 years, range 0.9-5), (P=0.028). The age at seizure onset was unrelated to the ABCB1(MDR1) genotype (P=0.687), sex (P=0.241), or seizure onset (years 2004-2008 versus 2009/2010; P=0.969).

Of 13 dogs being neutered after seizure onset (10♂, 3♀), 1 male AS in consequence had an apparent decrease in seizure frequency and severity whereas it increased in 2 male ASs, for the other 10 individuals course of disease remained uninfluenced by castration. One male AS heterozygous for the ABCB1-1 Δ mutation experienced the first seizure on the day of neutering. Several owners mentioned a link between seizure events and the use of anti-ectoparasitical drugs (imidacloprid and permethrin 4/9, permethrin 2/10, fipronil 1/11) or vaccination (7/50) on their dogs which emerged unrelated to the ABCB1(MDR1) genotype (P=1.000 for anti-ectoparasitical agents; P=0.659 for vaccination). In both patient groups (seizure onset 2004-2008 versus 2009/2010) owners mentioned an impact of repellents and vaccinations on seizure occurrences (P=0.190 for anti-ectoparasitical agents; P=1.000 for vaccination).

Seizures began mostly when sleeping or resting (84%, 42/50) and less frequently during normal activity (20%, 10/50). Seizures occurred in the night or early morning in 52% (26/50) of the animals, whereas a diurnal rhythm was not evident in the other 48% (24/50). Many owners declared nonspecific stress or anxiety, such as, variation in daily routine as possible initiator of seizures, whereas others reported that the seizures occurred randomly. Both primarily generalized and focal onset seizures were observed (Fig. 2). Fifty-two percent (26/50) of all dogs showed FSs in addition to generalized seizures. Generalization was expressed in

lateral posture, tonic-clonic limb movements, salivation, and occasionally, repetitive jaw movements, enuresis, and vocalization. FSs or FS onsets presented with focal tremors, salivation, dilated pupils and lateral head turn. Concomitant or solitary episodes with variable states of awareness and behavioral changes like panic attacks, sporadic aggressiveness, pacing, staring or adverse reactions to emotive words were common. Reported seizure types did not differ between dogs with seizure onset in 2004-2008 versus 2009/2010 ($P>0.800$).

Owners of 74% (37/50) of the dogs reported preictal restlessness ($n=21$), contact-seeking ($n=18$), hiding ($n=4$), excessive sniffing ($n=3$), vocalization ($n=2$), lameness ($n=4$), or vomiting ($n=1$). Signs occurred <30 minutes (49%, 18/37), 30 minutes-24 hours (13%, 5/37) or >24 hours (16%, 6/37) prior to seizure onset. In 22% (8/37) of the cases, the time period was unknown. Postictally, dogs were restless, hyperactive or pacing ($n=36$), tired ($n=35$), thirsty or hungry ($n=32$), acting blind ($n=18$), aggressive ($n=6$), or nauseated ($n=1$). The duration of the postictal period tended to increase with progression of the disease, ranging from minutes up to longer than 24 hours.

Clinical Course – Of all dogs, 60% (30/50) displayed a severe clinical course with the occurrence of SE and a high seizure frequency (median 1.2 seizure days/month, range 0.1-11.1). Twenty-four of these dogs also showed CSs. A moderate clinical course (CSs; median 0.6 seizure days/month, range 0.2-2.0) was observed in 20% (10/50), and a mild clinical course (discrete seizures; median 0.4 seizure days/month, range 0.2-2.4) was observed in the remaining 20% (10/50) (Fig. 2). In the majority of cases, the disease began with generalized seizures (88%; 44/50). Twenty-eight percent (14/50) experienced CSs or SE as the initial seizure event with no significant difference with regard to dogs with respect to the date of the first seizure before or after 2009 ($P=0.204$). In other animals, owners recognized FSs initially (12%, 6/50); in 3 of these cases, FSs remained the predominant seizure type. The clinical course evolved unrelated to age at seizure onset ($P=0.046$, not significant following Bonferroni correction), seizure onset (2004-2008 versus 2009/2010; $P=0.897$), ABCB1(MDR1) genotype ($P=0.964$), sex ($P=0.577$), color ($P=0.645$), or number of seizure days before AED therapy ($P=0.391$).

Eighty-eight percent (44/50) of animals were in AE and 12% (6/50) were in remission at the study conclusion. Remission with (3/6) or without (3/6) treatment

began 6 to 24 (median 11.4) months after the first seizure and lasted from 12 to 35 (median 15.5) months at ascertainment. Remission occurred independently of the precipitating clinical course (2 mild, 1 moderate, 3 severe; $P=0.586$), seizure frequency ($P=0.201$), or seizure onset (2004-2008 versus 2009/2010; $P=0.385$). Age at seizure onset ($P=0.429$), ABCB1(MDR1) genotype ($P=0.164$), sex ($P=1.000$), color ($P=0.380$), occurrence of CSs or SE as first seizure event ($P=0.643$), or number of seizure days before AED treatment ($P=0.291$) did not differ between ASs in remission or AE.

Treatment Response – Thirty-four dogs were treated with phenobarbital at serum concentrations ≥ 20 $\mu\text{g/ml}$. Poor seizure control was evident in 56% (19/34) of dogs treated with at least phenobarbital (≥ 1 AED). The median phenobarbital serum concentration was 28.5 $\mu\text{g/mL}$ (range 20.5-40.8) in ASs with poor seizure control and 28.5 $\mu\text{g/mL}$ (range 20.8-41.9) in ASs with good seizure control. Seizure control was significantly associated with age at seizure onset and coat color but evolved unrelated to the ABCB1(MDR1) genotype (Table 1). Neither sex ($P=0.107$), seizure days (n) before AED therapy ($P=0.082$; median 3.0 (range 1-26) seizure days in ASs with poor and median 4.5 (range 2-10) seizure days in ASs with good seizure control), nor seizure onset (2004-2008 versus 2009/2010; $P=0.515$) were related to seizure control. No association was found between seizure control and the phenobarbital serum concentration ($P=0.819$) and the number of administered drugs ($P=0.201$).

There were 11 out of 14 dogs with SE or CSs as the first seizure event that could be considered for evaluation of seizure control. Nine out of these 11 dogs had poorly controlled seizures later on, but the data failed to reach statistical significance ($P=0.064$).

Subgroup A (phenobarbital serum concentration ≥ 30 $\mu\text{g/mL}$): Of 34 ASs, 15 had a serum phenobarbital level within the upper therapeutic range. 60% (9/15) of those had poor seizure control. The median phenobarbital serum concentration was 38.7 $\mu\text{g/mL}$ (range 30.1-40.8) in ASs with poor seizure control and 35.2 $\mu\text{g/mL}$ (range 30.0-41.9) in ASs with good seizure control.

Subgroup B (≥ 2 AEDs): Within this group of 34 ASs, 14 dogs received adequate add-on therapy with potassium bromide, levetiracetam or gabapentin with a median phenobarbital serum level of 27.0 $\mu\text{g/mL}$ (range 21.7-38.7). Regarding

this subgroup, 64% (9/14) had poor seizure control. The median serum concentration of potassium bromide was 1210 µg/mL (range 1100-1380) in poorly and 1430 µg/mL (range 1331-1970) in well controlled epilepsy.

Outcome – At the end of data collection, 15 ASs (30%) were dead (3 died in SE, 11 were euthanized due to poor seizure control or SE, and 1 death was unrelated to IE). Five dogs were euthanized while they were still within the loading phase of add-on therapy with potassium bromide. The median age at death was 3.1 years (range 1.8-4.7), whereas the median age of ASs still alive at the study conclusion was 4.4 years (range 1.4-9.5). Bivariable analysis showed significantly reduced survival times in dogs with poor seizure control ($P < 0.001$), ASs of < 2 years of age at seizure onset ($P = 0.015$), in dogs experiencing ≥ 10 seizure days in the early phase of epilepsy ($P = 0.002$) and in non-merle colored dogs ($P = 0.003$) (Figs. 3-6), but no difference between dogs with seizure onset in 2004-2008 versus 2009/2010 ($P = 0.369$).

In the multivariable cox regression with the factors seizure control (poor versus good); age at seizure onset (< 2 years and ≥ 2 years); number of seizure days/first 6 months after seizure onset (1-5 seizure days; 5-10 seizure days and ≥ 10 seizure days) and color (merle and non-merle) only two factors remained significant in the model: seizure control and number of seizure days within the first 6 months. Obviously, dogs with good seizure control had a lower odds ratio to die than dogs with poor seizure control (OR=0.09, 95% CI: 0.02-0.51, $P = 0.004$) and dogs with a lower number of seizure days during the first 6 months after onset of seizures had a higher chance to survive than dogs with a higher number of seizure days (OR for 1-5 seizure days versus ≥ 10 days: 0.24, 95% CI: 0.04-1.50, $P = 0.127$; OR for 5-10 days versus ≥ 10 days: 0.15, 95% CI: 0.04-0.65, $P = 0.011$).

Pedigree Analysis – A pedigree of 42 ASs affected with IE was established. All affected dogs were offspring of unaffected parents and belonged to few subpopulations. Most affected individuals were connected to another subpopulation by further ancestry. A common founder of 29 affected ASs in 2 subpopulations and clustering manifestation in littermates, full or half siblings were detected (Fig. 7).

DISCUSSION

A high proportion of ASs suffered from moderate or severe clinical courses of IE with the appearance of CSs and SE and monthly seizures. Pedigree analyses of affected dogs demonstrated familial clustering of IE. Poor seizure control and high seizure frequency in the first 6 months (≥ 10) were associated with shorter survival times.

An abundance of FSs modified the clinical picture of IE in ASs, and in individual cases, FSs dominated the disease. Numerous ASs, to some extent initially recruited as control animals, turned out to show periodic seizure-like episodes. Owners mostly indicated their dogs as healthy and dismissed the suspicious episodes, which strongly resembled FSs in ASs diagnosed with IE, as behavioral quirks of their dog. Due to minor interest of owners in diagnostic workup and lack of EEG confirmation, most of these dogs could not be considered in this study. Yet, the occurrence of FSs may limit recruitment of control dogs for genetic investigations.

Comparable to BCs, we showed that poor seizure control with a rate of 56% in all treated ASs and 64% in a subgroup treated with add-on therapy (≥ 2 AEDs) is common in ASs.⁷ Eighty percent of the population suffered from SE or CSs, thus resembling the severe course of IE in Collies and BCs.^{c,7} There is only anecdotal information available in other breeds, but a more benign course is assumed in others.^{2,8,30-32} In our study, the description of poor seizure control mirrors previous definitions of pharmacoresistance in humans (≥ 1 seizure/month).^{33,34} By now, the absence of sustained seizure freedom despite adequate AED treatment is upcoming as the suggested definition for drug-resistant epilepsy in humans.²³ If we imposed these standards, any AS in AE would be classified as pharmacoresistant despite adequate treatment, and only ASs in remission with treatment would be considered responders. Adequate therapy was most often construed by human epileptologists as treatment with ≥ 2 tolerated and appropriately chosen AEDs, whereas in veterinary medicine, both approaches, treatment with ≥ 2 AEDs or phenobarbital monotherapy, have been used.^{c,7,27,28,33,34} One can argue whether or not dogs with an AED serum concentration within the lower or mid therapeutic range can be considered as having poor seizure control in general. In several therapy studies, dogs were considered resistant against phenobarbital as mono- or combination therapy at

serum concentrations from 65 $\mu\text{M}/\text{ml}$ or 15 $\mu\text{g}/\text{ml}$ on (mean or median values between 26.5 and 32.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$).³⁵⁻³⁸ Low AED serum concentrations have been associated with an increased risk of seizure occurrences in humans.³⁹ We could not prove a higher proportion of good seizure control in dogs with phenobarbital levels in the upper half of the therapeutic range. An amelioration of seizure control by administering a second or third AED is described in only 14% of human epilepsy patients.⁴⁰ This is in support with our data where the number of AEDs did not indicate a positive impact on seizure control. These findings suggest a role of intrinsic disease severity in ASs on the multifaceted phenomenon of treatment failure.

Fluctuating individual seizure frequencies can be a challenge for assessing treatment response. In human medicine, the recording of monthly seizure frequency in an 18-month period from treatment onset and, more recently, recording of a seizure-free interval of 3 times the longest interictal period before AED treatment or 1 year, whichever is longer, have been proposed as a parameter for evaluation of treatment response.^{23,33,34} We observed individual, partly large variations in seizure occurrences in ASs, which also suggests that observation periods should be adapted to the variation in the individual interictal periods.

In rats and humans, high seizure frequency in the early phase is the most consistent predictor for poorer outcomes in epilepsy.^{14,41} Our data reflect this trend to some degree. The survival time was significantly shorter if the number of seizure days was ≥ 10 in the first 6 months of disease, and dogs with a severe disease onset tended to develop poorly controllable seizures. This finding reflects clinical experience and experimental evidence in which initial high seizure frequency and severe disease onset have been associated with poor seizure control, increased expression of P-gp in the epileptic brain, decreased survival of hippocampal neurons, alterations in GABA-A receptors and neuroinflammation.⁴¹⁻⁴³ Current therapeutic interventions in the epileptic rat models aim at modifying these effects.^{15,43,44} Previously, we showed that SE, as an initial seizure event, is more common in poisonings compared to IE.²⁰ Yet, poisoning usually does not result in recurrent seizures, and intensive questioning failed to identify any precipitating events. Thus, it appears that IE in ASs represents a model for poor seizure control with phenobarbital in canine epilepsy in which inherent neurobiological factors different from the ABCB1-1 Δ mutation

confer disease severity and treatability.¹⁴

It is known that a 4 base-pair deletion in exon 4 of the ABCB1(MDR1) gene on CFA 14 (the ABCB1-1 Δ mutation), is common among ASs.⁴⁵ Experimental, pathological and clinical evidence supports a critical role for overexpression of the encoded drug efflux transporter P-gp in refractory epileptics, but results of pharmacogenomic studies have been conflicting in both people and dogs.^{c,12,15,46,47} The ABCB1-1 Δ mutation was less common among the ASs in this study than in other AS cohorts in previous reports and only 1 dog was homozygously affected.⁴⁵ We were unable to show association between the mutation and drug response in ASs with IE. Other studies have reported either better seizure control in IE affected Collies that are homozygous for the deletion, or phenobarbital resistance in IE affected BCs that have a polymorphism in the promotor region in intron 1.^{c,46} Further research should clarify whether other, perhaps breed-specific, genetic variants are associated to different degrees of drug response. Finally, one should keep in mind that, according to one study, the AEDs applied in the AS cohort are considered either not substrates (potassium bromide) or weak substrates (phenobarbital, levetiracetam, gabapentin) for canine P-gp.⁴⁸

The study population included 2 ASs with an unusually young age at seizure onset (0.3 years). Both had close relatives with IE, seizures continued for 1.5 years intermittently and extensive diagnostic workup including MRI and CSF gave normal results. One of these dogs experienced the first generalized seizure at 8 months of age, but precise questioning revealed episodes suggestive of FSs (impaired consciousness, hypersalivation, stereotypic tongue movements) from an age of 3 months on. Nevertheless, we cannot completely exclude a bias in these 2 dogs because neurometabolic screening remained undone and microscopic brain lesions might have been missed by MRI.

Unexpected results were that merle-colored ASs differed in bivariable statistical analyses from non-merle-colored ASs with regard to age at seizure onset, seizure control and survival times. However, the association of merle color with improved survival times failed to reach significance in the multivariable Cox regression. This could be due to the better seizure control observed in merle dogs (12/20) versus non-merle dogs (3/14). The merle color, patches of diluted pigmentation in regions with eumelanin mixed with normal melanin, results from a dominant mutation, a short interspersed element (SINE) insertion at the intron 10/exon 11

boundary in the melanosomal *SILV* gene on CFA 10.⁴⁹ The homozygous merle mutation is associated with various sublethal pathologies in the skeletal, cardiac and reproductive systems and congenital sensorineural deafness and microphthalmia.⁴⁹ Better seizure control in merle-colored ASs, on the assumption of heterozygous genotype, may suggest different genetic traits for phenobarbital responsiveness that cosegregate with the merle locus and should be confirmed by *SILV* genotyping.

Limitations of this study include that seizure and treatment calendar for standardized prospective documentation were presented to the dog owners at variable time points during the individual disease course. In dogs with seizure onset between 2004 and 2008, evaluation was based on owner's own written documentation, and a standardized treatment calendar was provided to this group only later in the disease course. On the other hand, owners of dogs with a recent onset of epilepsy started standardized seizure and treatment recording early in the disease course. In an attempt to minimize recall bias, only dogs were included in this study whose owners had been thoroughly recording events at the time they occurred. Also, rather than counting single seizures each seizure day was counted as a single event. Many other limitations common to multicenter studies exist: lack of standardization of imaging protocols, variability in therapeutic advice and treatment of status epilepticus, variability in the decision when to euthanize an animal. It is likely that more intense therapeutic advice was provided to owners from 2009 onward which may limit validity of seizure control evaluation. Furthermore, seizure control was assessed with phenobarbital as first-line AED and the use of other AEDs as primary agents, such as levetiracetam, might have resulted in different proportions of good and bad seizure control. However, German law requires that the veterinary compound phenobarbital is given as first line AED. No attempts were made to differentiate between peak and trough serum phenobarbital and potassium bromide levels. Only one dog in the case group was affected homozygously by the *ABCB1-1Δ* mutation which could bias an association between the mutation and good seizure control.

In conclusion, we demonstrated that ASs are affected by a severe form of idiopathic epilepsy. The requirements for life-long therapy, short survival times and early death of severely affected animals are a threat to owners and breeders and are a matter of animal welfare.

REFERENCES

1. Srenk P, Jaggy A, Gaillard C, et al. Genetic basis of idiopathic epilepsy in the golden retriever. *Tierärztl Prax* 1994;22:574-578.
2. Heynold Y, Faissler D, Steffen F, et al. Clinical, epidemiological and treatment results of idiopathic epilepsy in 54 labrador retrievers: a long-term study. *J Small Anim Pract* 1997;38:7-14.
3. Kathmann I, Jaggy A, Busato A, et al. Clinical and genetic investigations of idiopathic epilepsy in the Bernese mountain dog. *J Small Anim Pract* 1999;40:319-325.
4. Morita T, Shimada A, Takeuchi T, et al. Cliniconeuropathologic findings of familial frontal lobe epilepsy in Shetland sheepdogs. *Can J Vet Res* 2002;66:35-41.
5. Patterson EE, Armstrong PJ, O'Brien DP, et al. Clinical description and mode of inheritance of idiopathic epilepsy in English springer spaniels. *J Am Vet Med Assoc* 2005;226:54-58.
6. Berendt M, Gullov CH, Christensen SL, et al. Prevalence and characteristics of epilepsy in the Belgian shepherd variants Groenendael and Tervueren born in Denmark 1995-2004. *Acta Vet Scand* 2008;50:51.
7. Hülsmeier V, Zimmermann R, Brauer C, et al. Epilepsy in Border Collies: clinical manifestation, outcome, and mode of inheritance. *J Vet Intern Med* 2010;24:171-178.
8. Licht BG, Lin S, Luo Y, et al. Clinical characteristics and mode of inheritance of familial focal seizures in Standard Poodles. *J Am Vet Med Assoc* 2007;231:1520-1528.
9. Lohi H, Young EJ, Fitzmaurice SN, et al. Expanded repeat in canine epilepsy. *Science* 2005;307:81.
10. Oberbauer AM, Belanger JM, Grossman DI, et al. Genome-wide linkage scan for loci associated with epilepsy in Belgian shepherd dogs. *BMC Genet* 2010;11:35.
11. Ekenstedt KJ, Patterson EE, Minor KM, et al. Candidate genes for idiopathic

epilepsy in four dog breeds. *BMC Genet* 2011;12:38.

12. Martinez M, Modric S, Sharkey M, et al. The pharmacogenomics of P-glycoprotein and its role in veterinary medicine. *J Vet Pharmacol Ther* 2008;31:285-300.

13. Kennerly EM, Idaghdour Y, Olby NJ, et al. Pharmacogenetic association study of 30 genes with phenobarbital drug response in epileptic dogs. *Pharmacogenet Genomics* 2009.

14. Rogawski MA, Johnson MR. Intrinsic severity as a determinant of antiepileptic drug refractoriness. *Epilepsy Curr* 2008;8:127-130.

15. Potschka H. Transporter hypothesis of drug-resistant epilepsy: challenges for pharmacogenetic approaches. *Pharmacogenomics* 2010;11:1427-1438.

16. Lane SB, Bunch SE. Medical management of recurrent seizures in dogs and cats. *J Vet Intern Med* 1990;4:26-39.

17. Thomas WB. Seizures and narcolepsy. In: Dewey CW, ed. *A Practical Guide to Canine and Feline Neurology*. Ames, IA: Iowa State Press; 2008:193-212.

18. Pekcec A, Unkrue B, Stein V, et al. Over-expression of P-glycoprotein in the canine brain following spontaneous status epilepticus. *Epilepsy Res* 2009;83:144-151.

19. Berg AT, Berkovic SF, Brodie MJ, et al. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005-2009. *Epilepsia* 2010;51:676-685.

20. Zimmermann R, Hulsmeier VI, Sauter-Louis C, et al. Status epilepticus and epileptic seizures in dogs. *J Vet Intern Med* 2009;23:970-976.

21. Meierkord H, Boon P, Engelsens B, et al. EFNS guideline on the management of status epilepticus in adults. *Eur J Neurol* 2010;17:348-355.

22. Platt SR, Haag M. Canine status epilepticus: a retrospective study of 50 cases. *J Small Anim Pract* 2002;43:151-153.

23. Kwan P, Arzimanoglou A, Berg AT, et al. Definition of drug resistant epilepsy: consensus proposal by the ad hoc Task Force of the ILAE Commission on Therapeutic Strategies. *Epilepsia* 2010;51:1069-1077.

24. Trepanier LA, Van Schoick A, Schwark WS, et al. Therapeutic serum drug concentrations in epileptic dogs treated with potassium bromide alone or in combination with other anticonvulsants: 122 cases (1992-1996). *J Am Vet Med Assoc* 1998;213:1449-1453.
25. Levitski RE, Trepanier LA. Effect of timing of blood collection on serum phenobarbital concentrations in dogs with epilepsy. *J Am Vet Med Assoc* 2000;217:200-204.
26. Monteiro R, Anderson TJ, Innocent G, et al. Variations in serum concentration of phenobarbitone in dogs receiving regular twice daily doses in relation to the times of administration. *Vet Rec* 2009;165:556-558.
27. Platt SR, Adams V, Garosi LS, et al. Treatment with gabapentin of 11 dogs with refractory idiopathic epilepsy. *Vet Rec* 2006;159:881-884.
28. Volk HA, Matiasek LA, Lujan Feliu-Pascual A, et al. The efficacy and tolerability of levetiracetam in pharmaco-resistant epileptic dogs. *Vet J* 2008;176:310-319.
29. Hugnet C, Bentjen SA, Mealey KL. Frequency of the mutant MDR1 allele associated with multidrug sensitivity in a sample of collies from France. *J Vet Pharmacol Ther* 2004;27:227-229.
30. Patterson EE, Mickelson JR, Da Y, et al. Clinical characteristics and inheritance of idiopathic epilepsy in Vizslas. *J Vet Intern Med* 2003;17:319-325.
31. Jokinen TS, Metsahonkala L, Bergamasco L, et al. Benign familial juvenile epilepsy in Lagotto Romagnolo dogs. *J Vet Intern Med* 2007;21:464-471.
32. Viitmaa R, Cizinauskas S, Bergamasco LA, et al. Magnetic resonance imaging findings in Finnish Spitz dogs with focal epilepsy. *J Vet Intern Med* 2006;20:305-310.
33. Berg AT, Vickrey BG, Testa FM, et al. How long does it take for epilepsy to become intractable? A prospective investigation. *Ann Neurol* 2006;60:73-79.
34. Picot MC, Baldy-Moulinier M, Daures JP, et al. The prevalence of epilepsy and pharmaco-resistant epilepsy in adults: a population-based study in a Western European country. *Epilepsia* 2008;49:1230-1238.

35. Jambroszyk M, Tipold A, Potschka H. Add-on treatment with verapamil in pharmaco-resistant canine epilepsy. *Epilepsia* 2011;52:284-291.
36. Von Klopmann T, Rambeck B, Tipold A. Prospective study of zonisamide therapy for refractory idiopathic epilepsy in dogs. *J Small Anim Pract* 2007;48:134-138.
37. Dewey CW, Cerda-Gonzalez S, Levine JM, et al. Pregabalin as an adjunct to phenobarbital, potassium bromide, or a combination of phenobarbital and potassium bromide for treatment of dogs with suspected idiopathic epilepsy. *J Am Vet Med Assoc* 2009;235:1442-1449.
38. Rieck S, Rundfeldt C, Tipold A. Anticonvulsant activity and tolerance of ELB138 in dogs with epilepsy: a clinical pilot study. *Vet J* 2006;172:86-95.
39. Handoko KB, Zwart-van Rijkom JE, Visee HF, et al. Drug treatment-related factors of inadequate seizure control. *Epilepsy Behav* 2008;13:545-548.
40. Kwan P, Brodie MJ. Early identification of refractory epilepsy. *N Engl J Med* 2000;342:314-319.
41. Löscher W, Brandt C. High seizure frequency prior to antiepileptic treatment is a predictor of pharmaco-resistant epilepsy in a rat model of temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 2010;51:89-97.
42. Volk HA, Arabadzisz D, Fritschy JM, et al. Antiepileptic drug-resistant rats differ from drug-responsive rats in hippocampal neurodegeneration and GABA(A) receptor ligand binding in a model of temporal lobe epilepsy. *Neurobiol Dis* 2006;21:633-646.
43. Volk HA, Loscher W. Multidrug resistance in epilepsy: rats with drug-resistant seizures exhibit enhanced brain expression of P-glycoprotein compared with rats with drug-responsive seizures. *Brain* 2005;128:1358-1368.
44. Ravizza T, Balosso S, Vezzani A. Inflammation and prevention of epileptogenesis. *Neurosci Lett* 2011.
45. Gramer I, Leidolf R, Doring B, et al. Breed distribution of the nt230(del4) MDR1 mutation in dogs. *Vet J* 2010.
46. Alves L, Hulsmeyer V, Jaggy A, et al. Polymorphisms in the ABCB1 Gene in

Phenobarbital Responsive and Resistant Idiopathic Epileptic Border Collies. *J Vet Intern Med* 2011.

47. Tishler DM, Weinberg KI, Hinton DR, et al. MDR1 gene expression in brain of patients with medically intractable epilepsy. *Epilepsia* 1995;36:1-6.

48. West CL, Mealey KL. Assessment of antiepileptic drugs as substrates for canine P-glycoprotein. *Am J Vet Res* 2007;68:1106-1110.

49. Clark LA, Wahl JM, Rees CA, et al. Retrotransposon insertion in *SILV* is responsible for merle patterning of the domestic dog. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;103:1376-1381.

Table 1

Association between selected parameters and seizure control.

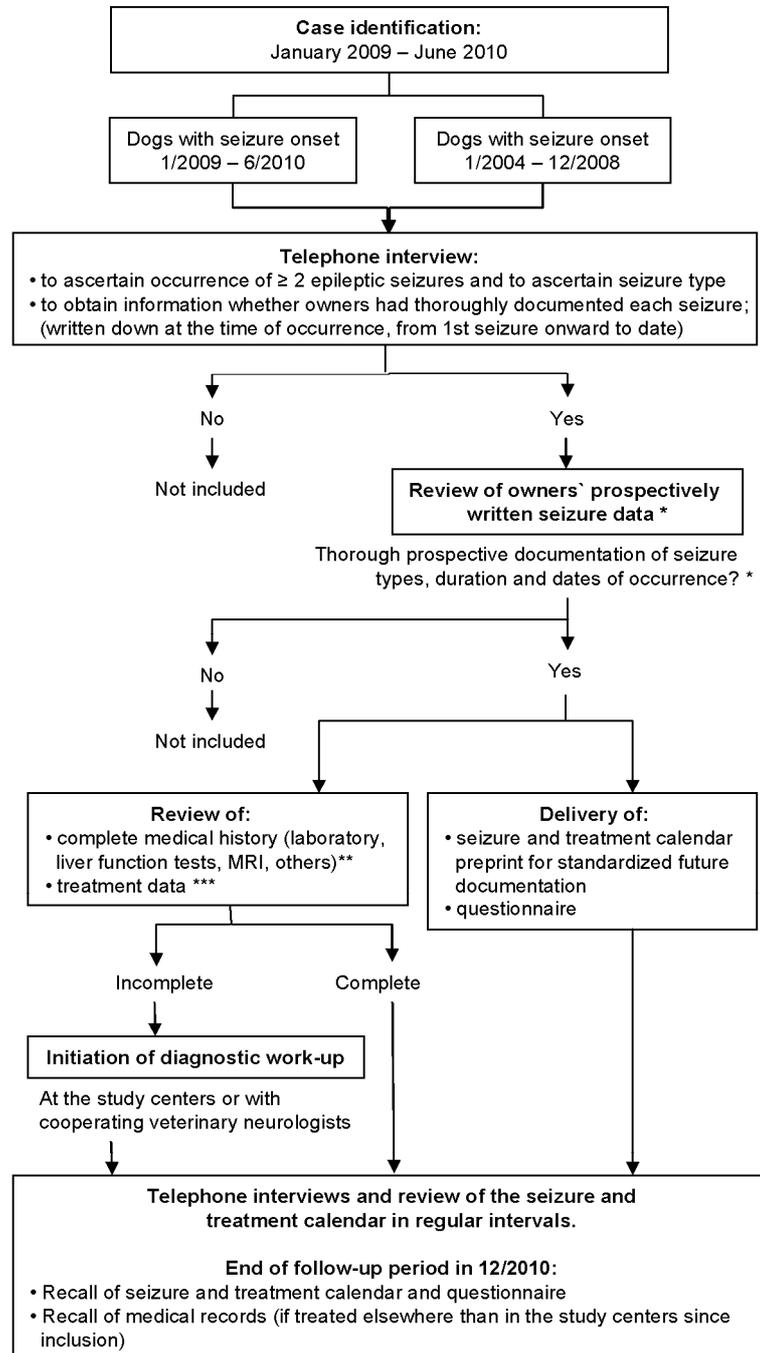
	Good seizure control	Poor seizure control	<i>P</i>
	N	N	
No. of dogs	15 (44%) ^a	19 (56%) ^a	
Coat color			
Merle phenotype	12	8	0.026 ^b
Non-merle phenotype	3	11	
ABCB1-1Δ			
+/+	11	16	0.672
+/- (-/-)	3 (1 ^c)	3 (0)	
Median age (range) at seizure onset (years)	2.9 (0.3-5.0)	2.3 (0.3-4.3)	0.011 ^b

^a Scale basis: number of dogs treated adequately with ≥ 1 AED (n=34)

^b Statistically significant for $P < 0.05$

^c Seizures controlled with phenobarbital (serum concentration 35.6 $\mu\text{g/mL}$) and potassium bromide (serum concentration 1610 $\mu\text{g/mL}$)

Fig. 1



* Data were analyzed from disease onset onward in all cases; based on owners' documentation written down at the time of seizure occurrence, from 1st seizure onward to date.

** All documents and images recalled from veterinarians.

*** Dogs were only evaluated for AED seizure control, if thoroughly written treatment documentation (including date of onset of AED treatment, dosages and serum concentrations) from treatment onset onward to date was available; written down at the time of the intervention and substantiated by review of medical records on AED treatment and monitoring.

Fig. 1: Study design and inclusion process.

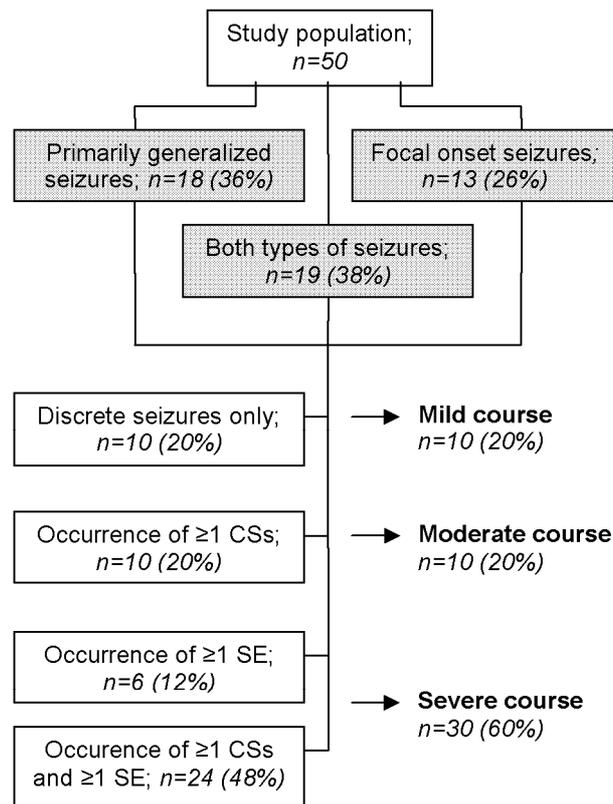
Fig. 2

Fig. 2: Seizure semiology (highlighted in gray) and clinical course classification within the study cohort.

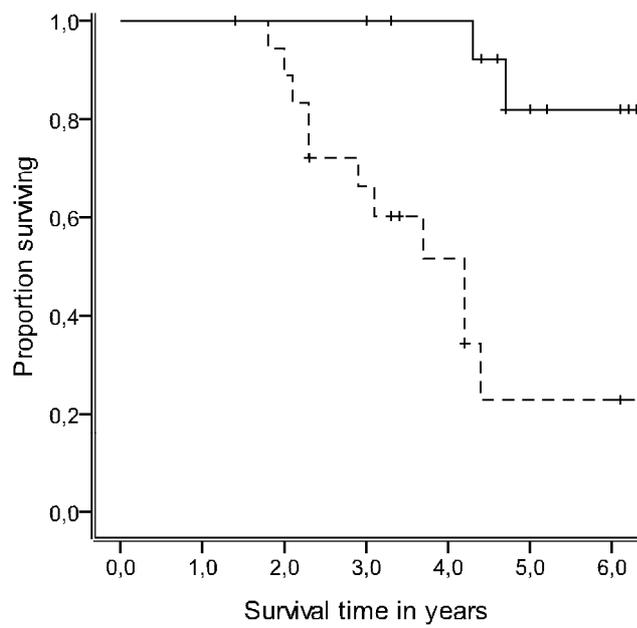
Fig. 3

Fig. 3: Kaplan-Meier curve depicting significantly reduced survival times of dogs with poor seizure control (broken line); $P < 0.001$. Black line, dogs with good seizure control; +, censored dogs (nonepilepsy-related deaths and dogs that were still alive at time of analysis).

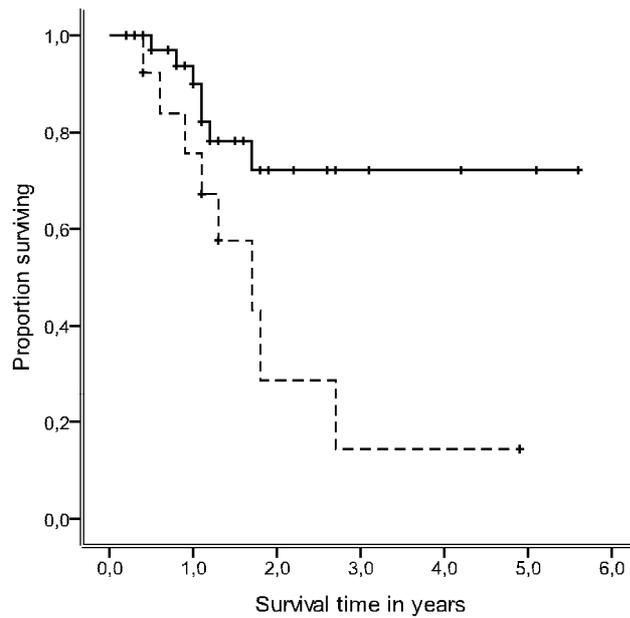
Fig. 4

Fig. 4: Kaplan-Meier curve depicting significantly reduced survival times of dogs <2 years of age at seizure onset (broken line); $P=0.015$. Black line, age at onset ≥ 2 years; +, censored dogs (nonepilepsy-related deaths and dogs that were still alive at time of analysis).

Fig. 5

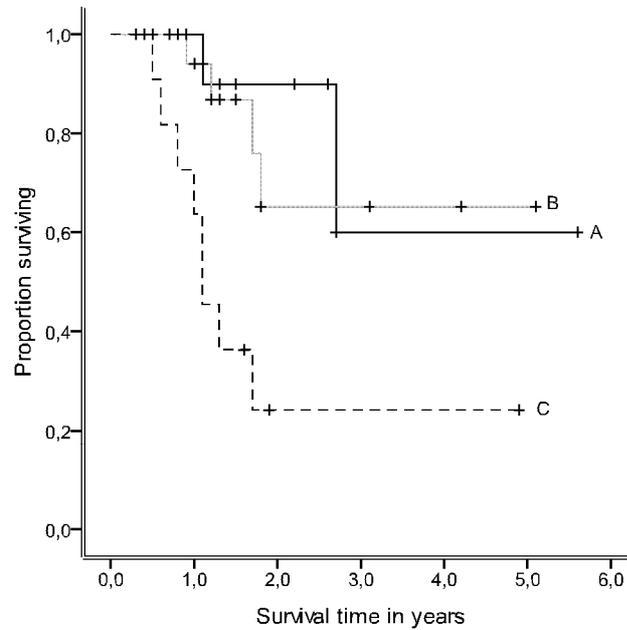


Fig. 5: Kaplan-Meier curve depicting significantly reduced survival times of dogs with ≥ 10 seizure days/first 6 months after seizure onset (C); $P=0.002$. A, 1-5 seizure days/first 6 months; B, 5-10 seizure days/first 6 months; +, censored dogs (nonepilepsy-related deaths and dogs that were still alive at time of analysis). There was a significant difference between A and C ($P=0.008$) and B and C ($P=0.006$) but not between A and B ($P=0.613$).

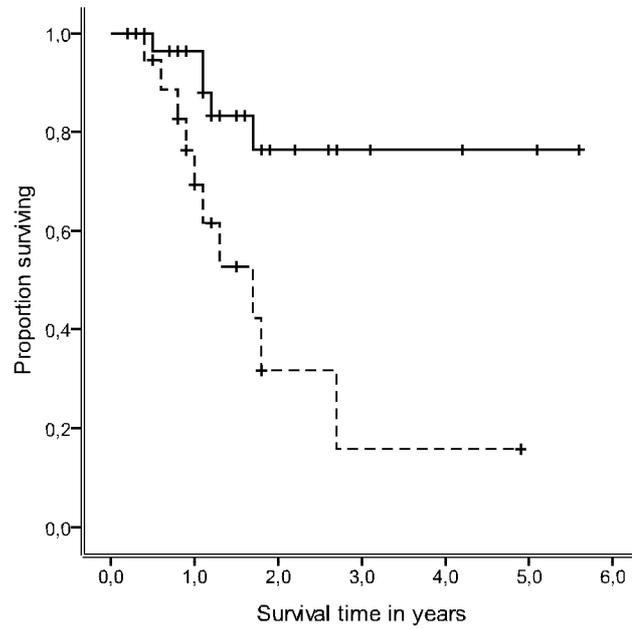
Fig. 6

Fig. 6: Kaplan-Meier curve depicting significantly reduced survival times of non-merle phenotypes (broken line); $P=0.003$. Black line, merle phenotypes; + censored dogs (nonepilepsy-related deaths and dogs that were still alive at time of analysis).

Fig. 7

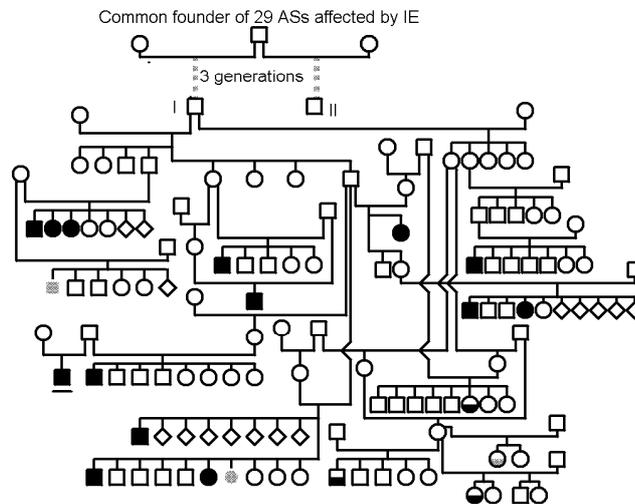


Fig. 7: Pedigree of subpopulation I detached from an overall pedigree of 42 affected ASs; ○, female; □, male; ◇, sex unknown; white, ASs without any known seizure history; black, ASs affected with IE; gray, ASs suspicious for FSs; I/II, common sire of subpopulation I/II; underlined box, descendant of subpopulation II; half-filled boxes, connection to subpopulation II.

Footnotes:

^a Chemagen Biopolymer-Technologie AG, Baesweiler, Germany

^b Applied Biosystems, Foster City, CA

^c Muñana KR, Nettifee-Osborne JA, Bergmann RL Jr, et al. Association between the ABCB1 (MDR1) gene and seizure control. ACVIM Proceedings; Anaheim, CA, June 9-12, 2010 (abstract)

IV. DISKUSSION

1. Klinisches Bild

Die Hypothese eines schlecht kontrollierbaren genetisch bedingten Epilepsiesyndroms mit vorwiegend schweren Verlaufsformen und häufigem Auftreten von Therapieresistenz beim Australian Shepherd konnte in der vorliegenden Studie untermauert werden. Die Anfallskontrolle hing nicht von der ABCB1-1 Δ -Mutation ab, aber eine hohe initiale Anfallsfrequenz zeichnete sich als negativer prognostischer Parameter ab, während für die wenigen Hunde in Anfallsremission kein beeinflussender Faktor identifiziert werden konnte.

Das Krankheitsbild selbst äußerte sich wie bei zahlreichen anderen Hunderassen, z. B. Golden Retriever, Labrador Retriever, Berner Sennenhund, Irischem Wolfshund und Border Collie, in generalisierten, tonisch-klonischen Anfällen und einem Krankheitsbeginn zwischen dem ersten und fünften Lebensjahr (SRENK et al., 1994; JAGGY et al., 1998; KATHMANN et al., 1999; CASAL et al., 2006; HÜLSMEYER et al., 2010). Aufgrund teils sehr heftiger Krankheitsbeginne, sowohl primär als auch sekundär generalisierter Anfälle sowie isoliert auftretender fokaler Anfälle ergab sich ein mannigfaltiges klinisches Bild.

1.1. Einteilung klinischer Schweregrade

Mittelschwere und schwere Krankheitsverläufe, welche in dieser Studie per definitionem durch das Auftreten von Serienanfällen oder Status epilepticus unabhängig von der Anfallsfrequenz gekennzeichnet waren, betrafen 80 % der Tiere. Beim Menschen erfolgt eine Einteilung klinischer Schweregrade auf unterschiedliche Weise, z. B. über eine kombinierte Analyse aus Alter bei Krankheitsbeginn, Anfallsfrequenz und Krankheitsdauer oder über die initiale Anfallsfrequenz als Indikator für die Krankheitsschwere (ROGAWSKI & JOHNSON, 2008; WU et al., 2011). In der Humanmedizin werden eigens entwickelte Skalen herangezogen, die sich i. d. R. eines Punktesystems zur Ermittlung der Anfallsschwere bedienen. Es werden verschiedene Aspekte, darunter oft Anfallsfrequenz, -art und -dauer, postiktale Verfassung und Verletzungsrisiko evaluiert. Ein Beispiel ist die Liverpool Seizure Severity Scale (LSSS) (RAPP et al., 1998; CRAMER & FRENCH, 2001). Neben individuellen

Schwerpunkten wird v. a. auch die subjektive Empfindung der Lebensqualität von Epilepsiepatienten einbezogen, was sich nicht auf den Hund übertragen lässt (BAUTISTA & GLEN, 2009). Außerdem unterliegt die Einteilung der Einschätzung des Therapieerfolgs und der Progressivität, wobei im Unterschied zur Tiermedizin, in der die Differenzierung in Syndrome nicht etabliert ist, einzelne Epilepsiesyndrome beim Menschen generell häufig als benigne oder fatal/katastrophal betitelt werden und so eine gewisse Wertung des Schweregrads impliziert ist (ENGEL, 2006; WHELESS, 2009; ZUPANC, 2009).

Frühere Studien zu idiopathischer Epilepsie bei verschiedenen Hunderassen befassten sich nicht mit dem Auftreten von Serienanfällen und Status epilepticus, sondern beschränkten sich weitgehend auf die Beschreibung der klinischen Manifestation der Anfälle als fokal oder generalisiert (HEYNOLD et al., 1997; KATHMANN et al., 1999; PATTERSON et al., 2003; CASAL et al., 2006; VIITMAA et al., 2006; JOKINEN et al., 2007; LICHT et al., 2007; BERENDT et al., 2009). Dagegen wurden in einer klinisch-neuropathologischen Studie beim Shetland Sheepdog 72,7 % im Status epilepticus verstorbene Hunde erwähnt, was den Anteil von 60 % der Australian Shepherds mit Status epilepticus übertrifft, jedoch unterblieb in dieser Studie eine Aussage über das Auftreten von Status epilepticus im Krankheitsverlauf und eine Einordnung in klinische Schweregrade (MORITA et al., 2002). Beim Englischen Springer Spaniel, Border Terrier und Belgischen Schäferhund wurde erstmals die Präsenz von Serienanfällen thematisiert, jedoch nur bei Englischem Springer Spaniel und Border Terrier mit einer Prävalenzangabe von 38 % und 8,51 % quantifiziert (PATTERSON et al., 2005; KLOENE et al., 2008; BERENDT et al., 2009). Ein vergleichbar schwerer Krankheitsverlauf ist daher bei Englischem Springer Spaniel und Australian Shepherd anzunehmen. In einer im Jahr 2010 vorgestellten Arbeit zur Anfallskontrolle wurden Collies gemäß dem Auftreten von Serienanfällen und der Anfallsfrequenz einklassifiziert, jedoch zielte dies lediglich auf die Beurteilung der medikamentösen Anfallskontrolle und nicht auf eine generelle Beschreibung des beim Collie auftretenden Epilepsiesyndroms ab (MUÑANA et al., 2010). Eine mit der vorliegenden Arbeit vergleichbare Einteilung der Krankheitsschwere gemäß dem Vorkommen von Serienanfällen und Status epilepticus fand bereits beim Border Collie Anwendung (HÜLSMEYER et al., 2010). Bei dieser Rasse litten 100 % der eingeschlossenen Hunde unter mittelschweren bis schweren

Krankheitsverläufen, wogegen ein Anteil von 20 % der Australian Shepherds zum Zeitpunkt des Studienabschlusses weder Serienanfälle noch Status epilepticus erlitten hatte. Bei einer britischen Kohortenstudie mit 1260 Hunden verschiedener Rassen mit idiopathischer Epilepsie wiesen 38 % der Tiere Serienanfälle auf, was 20 % der Australian Shepherds mit Serienanfällen übersteigt. Bedenkt man allerdings, dass zusätzlich 60 % der Australian Shepherds mindestens einen Status epilepticus und ein Großteil davon zusätzlich Serienanfälle zeigten, wird eine gravierende Häufigkeit von Serienanfällen beim Australian Shepherd im Vergleich zur britischen Kohorte deutlich. Rassespezifisch häufiges Auftreten von Serienanfällen bei zwischen 65 und 80 % der Englischen Springer Spaniels, Jack Russel Terrier und Colliemischlingen lässt Parallelen zur Krankheitsschwere beim Australian Shepherd ziehen (SHORT et al., 2011).

Eine Einteilung der Krankheitsschwere auf alleiniger Basis der Anfallsformen (Einzelfall, Serienanfall, Status epilepticus) ist insofern kritisch zu beurteilen, als weder Anfallsfrequenz und Krankheitsdauer, noch entscheidende Einflussfaktoren wie Therapie und Besitzercompliance berücksichtigt werden. Lange Krankengeschichten, in deren Verlauf ein einziger Status epilepticus bei geringer Anfallsfrequenz und gleichbleibender Medikamentierung auftritt, sind kaum als schwerer einzustufen als kürzere Krankheitsverläufe mit frequenten Einzelfällen trotz Verabreichung verschiedener Antiepileptika in steigenden Dosierungen. Dennoch würde eine künftig vereinheitlichte Klassifizierung von Krankheitsschweregraden auf Grundlage des hier angewandten Modells mit möglichen Modifikationen, die beispielsweise die Anfallsfrequenz und den Anfallstyp berücksichtigen, die objektive Vergleichbarkeit von Epilepsiesyndromen verschiedener Rassen und zu humanen Epilepsien ermöglichen.

1.2. Fokale Anfälle

Wie bei 45 % der Border Collies wurde das klinische Bild durch das Auftreten von isoliert fokalen Anfällen zusätzlich zu primär oder sekundär generalisierten Anfällen bei 52 % der Australian Shepherds modifiziert (HÜLSMEYER et al., 2010). Bei sechs Prozent der Krankheitsfälle beim Australian Shepherd blieben fokale Anfälle der vorherrschende Anfallstyp. Diese äußerten sich durch motorische (Tremor, seitliche Kopfdrehung), autonome (Salivation, Mydriase) und psychische Symptome (Panikattacken, sporadische Aggressivität und

kontroverse Reaktionen auf Reizwörter, Drangwandern, stereotype Verhaltensweisen). Das ausschließliche Auftreten von isoliert fokalen Anfällen bei 60 % der Standardpudel und 62 % der Vizslas steht der Symptomatik bei Australian Shepherd und Border Collie (PATTERSON et al., 2003; LICHT et al., 2007; HÜLSMEYER et al., 2010). Der Großteil der Hunderassen mit idiopathischer Epilepsie, z. B. Berner Sennenhund oder Labrador Retriever, leiden dagegen kaum an isoliert fokalen Anfällen (KATHMANN et al., 1999; BERENDT et al., 2002).

Es fielen aufgrund entsprechender Antworten im Fragebogen für gesunde Hunde vom Besitzer als gesund gemeldete Kontrolltiere oder zu Epileptikern verwandte Hunde auf, die sporadisch ähnliche Symptome wie die Australian Shepherds mit idiopathischer Epilepsie während fokaler Anfälle zeigten. Andere Tiere wurden aufgrund nicht progressiver, fokaler Anfälle von ihren Besitzern gemeldet. Berendt et al. erhoben die Erkenntnis, dass sich von 64 per Fragebogen als epilepsiekrank gemeldeten Belgischen Schäferhunden in der späteren telefonischen Validierung nur 49 als tatsächlich epilepsiepositiv erwiesen (BERENDT et al., 2008). Aufgrund dessen wurden im Rahmen der vorliegenden Studie Telefonate mit den Besitzern aller Hunde mit Verdacht auf fokale Anfälle geführt. Dabei wurden die Symptome, das Alter bei Beginn der Auffälligkeiten, das episodische Auftreten ohne Auslöser sowie der Grad der Abklärung hinterfragt. Insgesamt 23 Australian Shepherds zeigten sich aufgrund der Anfallsphänomenologie und gemäß der ILAE-Kriterien zwar als epilepsieverdächtig, konnten aber nicht eingeschlossen werden, da die diagnostischen Maßnahmen gemäß Einschlusskriterien nicht erfüllt waren (ILAE, 1993; BLUME et al., 2001). Früher überwiegend als Symptom sekundärer Epilepsien interpretiert, sind fokale Anfälle heutzutage eine in Veterinär- und Humanmedizin viel beschriebene Erscheinungsform genetischer Epilepsien (HEYNOLD et al., 1997; KNOWLES, 1998; MARCH, 1998; BERENDT & GRAM, 1999; POZO-ALONSO et al., 2001; LICHT et al., 2002; PATTERSON et al., 2003; ANDERMANN et al., 2005; PATTERSON et al., 2005; LICHT et al., 2007; BERENDT et al., 2009; KASPERAVICIUTE et al., 2010). Die Diagnose einer erblichen fokalen Epilepsie in einer Linie Belgischer Schäferhunde, welche sich bei 55 Hunden in fokalen Anfällen, die sich nur teilweise zu generalisierten Anfällen weiterentwickelten, äußerte, war nicht auf

EEG-Befunde gestützt und basierte über die Anfallsanamnese hinaus nur bei 42,4 % der Hunde auf intensiver diagnostischer Aufarbeitung (BERENDT et al., 2009). Nach ähnlichem Vorgehen wurde der Großteil einer Population von Standardpudeln mit familiärer fokaler Epilepsie als „wahrscheinlich erkrankt“ ausgewählt: alle Hunde mit mindestens einer Anfallsepisode ohne mögliche ursächliche Begleiterkrankung, ohne interiktale Auffälligkeiten in einem Beobachtungszeitraum von mindestens einem Jahr und mit Krankheitsbeginn zwischen sechs Monaten und 7,5 Jahren (LICHT et al., 2007). Bei der zu 62 % ausschließlich als fokal beschriebenen Manifestation der idiopathischen Epilepsie beim Vizsla wurde zwar bei einem kleinen Teil der Tiere Ausschlussdiagnostik mittels moderner Bildgebung und Liquoranalyse betrieben, jedoch wurde auch hier bei keinem der Hunde ein EEG durchgeführt (PATTERSON et al., 2003). Einzig bei elf Finnischen Spitz wurden die klinisch manifesten, fokalen idiopathischen Anfälle als solche durch interiktal im EEG aufgezeichnete Anfallsaktivität untermauert (VIITMAA et al., 2006). Ein Langzeit-Video-EEG lieferte unlängst den Beweis für Absencen bei einem Chihuahua, aber die Methode des Langzeit-EEGs bei nicht sedierten, privat gehaltenen Hunden ist noch nicht etabliert, was die über das klinische Bild hinausgehende Diagnose fokaler Anfälle negiert (POMA et al., 2010; JAMES et al., 2011). In der vorliegenden Studie wurden fokale Anfälle erst als abgesichert betrachtet, wenn beim jeweiligen Australian Shepherd mindestens ein epileptischer Anfall generalisiert war und diagnostische Maßnahmen gemäß Einschlusskriterien durchgeführt wurden. Mit entsprechender diagnostischer Absicherung könnte sich das Spektrum der Epilepsiesymptomatik beim Australian Shepherd auf eine leichte Form mit ausschließlich fokalen Anfällen erstrecken, wie sie bei den oben genannten Rassen, beruhend auf unterschiedlich streng angelegten diagnostischen Mindestmaßnahmen, postuliert wurde.

Selbst bei den eingeschlossenen Australian Shepherds mit fokalen und generalisierten epileptischen Anfällen müssen wie auch bei allen anderen Hunderassen die fokalen Anfälle mangels EEG-Absicherung kritisch interpretiert werden, denn das Auftreten neurologisch bedingter Verhaltensstörungen in Comorbidität mit Epilepsie wird beim Menschen zunehmend beleuchtet und wurde im Nagermodell und kürzlich auch erstmals beim Hund untersucht (QIN et al., 2005; SACHDEV, 2007; CASCELLA et al., 2009; MULA et al., 2010;

VERHOEVEN et al., 2010; SHIHAB et al., 2011). Humanmedizinische Studien konstatieren außerdem immer wieder die Verwechselbarkeit von fokalen mit psychogenen Anfällen, paroxysmalen Ataxien oder Verhaltensstörungen und die einzige Möglichkeit der Diagnostik von psychogenen nicht-epileptischen Anfällen stellt die EEG- und Videoaufzeichnung dar (REMILLARD et al., 1981; MARTINEZ, 1997; MARI et al., 2006; DEVINSKY et al., 2011; MOSTACCI et al., 2011). Dennoch wird bei Menschen mit Episoden veränderten Geisteszustands als eine der häufigsten Ätiologien ein epileptisches Geschehen neben psychiatrischer Krankheit, Vergiftung und Trauma angeführt (KANICH et al., 2002; WINKLER et al., 2011). Auch beim Hund zeigte eine Studie, dass Schädelverletzungen zur Entwicklung einer posttraumatischen Epilepsie prädisponieren (STEINMETZ et al., 2011). Bei den betroffenen Australian Shepherds konnten jedoch ein vorausgegangenes Kopftrauma sowie Vergiftungen durch sorgfältige Anamnese weitgehend ausgeschlossen werden.

Aufgrund der Datenerhebung beim Australian Shepherd besteht der Verdacht, dass das Epilepsiesyndrom ein weites klinisches Spektrum aufweist. Weitere Untersuchungen sollten sich auf EEG-Charakterisierung der fokalen Anfallsepisoden fokussieren.

1.3. Status epilepticus

Sechzig Prozent der Australian Shepherds wiesen im Verlauf der Epilepsie mindestens einen Status epilepticus auf. Ein identischer Anteil an Border Collies wurde mit diesem schweren Krankheitsverlauf beschrieben (HÜLSMEYER et al., 2010). Vierzehn von 50 Australian Shepherds erlitten als erste Manifestation der Epilepsie Serienanfälle oder einen Status epilepticus. In der Humanmedizin wird als Grund für Krankheitsbeginn mit Status epilepticus vornehmlich Fieber, kryptogene Ätiologie und Entzündung des zentralen Nervensystem angegeben (BUCHHALTER, 2011). Beim Hund liegt einem Status epilepticus zu Beginn eines Anfallsleidens häufiger eine akute Vergiftung als eine genetische Epilepsie zugrunde (ZIMMERMANN et al., 2009). Hunde neigen aber nach einem vergiftungsbedingtem Status epilepticus nicht zu weiteren epileptischen Anfällen (JULL et al., 2011). Vergiftungen bei den eingeschlossenen Australian Shepherds sind aufgrund des Rezidivierens der Anfälle, unverdächtigter Anamnesen und Fehlens einer entsprechenden Begleitsymptomatik unwahrscheinlich und über den heftigen Beginn eines schweren idiopathischen Epilepsiesyndroms, welches sich

besonders in diesen Fällen häufig (bei elf von 14 Hunden) in späterer Therapieresistenz manifestiert, kann spekuliert werden. Auch eine mögliche Hochregulation von P-gp infolge zahlreicher Status epilepticus mit Auswirkung auf die Anfallskontrolle könnte in diesem Zusammenhang diskutiert werden (PEKCEC et al., 2009).

2. Outcome

Es ist hervorzuheben, dass die vorliegende Arbeit überwiegend auf prospektiv erhobenen Daten beruht und nur drei Hunde zum Zeitpunkt des Studienbeginns bereits verstorben waren. Dagegen hatten 28 Hunden ihren ersten Anfall zwischen 2009 und 2010. Die meisten Hunde und ihre Besitzer wurden also im Krankheitsverlauf im Rahmen der vorliegenden Studie intensiv diagnostisch und therapeutisch betreut. Da sich die Hunde zum Teil noch in einer frühen Phase der Krankheit und Therapie befanden, können zusätzliche epilepsiebedingte Todesfälle nach Studienabschluss aufgrund nicht kontrollierbarer Anfälle nicht ausgeschlossen werden. Ebenso spiegelt die Erfassung der Anfallskontrolle eine Momentaufnahme wieder und es ist nicht auszuschließen, dass Hunde, die im Moment als schlecht kontrolliert betrachtet werden, zu einem früheren oder späteren Zeitpunkt unter guter Anfallskontrolle sind (FRENCH, 2006). In der Tiermedizin existiert bisher keine longitudinale Studie, die die Hunde vom ersten Anfall an über einen mehrjährigen Zeitraum verfolgt.

2.1. Therapieresistenz

In der vorliegenden Studie wurden adäquate Therapie und Therapieresistenz in Übereinstimmung mit aktuellen Definitionen aus der Humanmedizin festgelegt. Antiepileptische Therapie in der Humanmedizin wird laut aktueller Definition als adäquat betrachtet, wenn mindestens zwei sorgfältig ausgewählte (im Sinne von nachgewiesener Effektivität in randomisierten, kontrollierten Studien) und gut tolerierte Antiepileptika in angemessenen Dosierungen über eine ausreichende Zeitspanne verabreicht wurden (KWAN et al., 2010). Mangels pathophysiologischer Aufklärung von Epilepsiesyndromen beim Hund und aufgrund von gesetzlichen Einschränkungen in der Medikamentenwahl ist die Auswahl von Antiepileptika beim Hund zunächst auf das gemäß Arzneimittelgesetz, Abschnitt 9, §§ 56a and 56b, als einziges ohne Umwidmung für den Hund zugelassene Phenobarbital beschränkt. Weiterhin besteht von

Individuum zu Individuum eine große Variationsbreite bezüglich erreichter Wirkspiegel, welche zudem mit fortschreitender Therapie und ansteigenden Dosierungen durch phenobarbitalinduzierten Cytochrom P 450-Metabolismus absinken und so den individuellen Krankheitsverlauf negativ beeinflussen können (FREY et al., 1968; MORTON & HONHOLD, 1988; KWAN & BRODIE, 2001). Dies deckt sich mit der klinischen Erfahrung, dass bei einigen Australian Shepherds eine Erhöhung des Serumwirkspiegels von Phenobarbital auch mit sukzessiver Dosiserhöhung nicht zu erzielen war. Daneben bestand ein subjektiver Interpretationsspielraum des Besitzers, welches Ausmaß an Nebenwirkungen als nicht tolerierbar eingestuft wurde und somit wurden Dosisanpassungen und die interindividuelle Vergleichbarkeit der Anfallskontrolle limitiert. Interessanterweise wurden fünf von 15 Hunden, die bei Studienabschluss bereits verstorben waren, euthanasiert, als Kaliumbromid als Add-on Antiepileptikum gegeben wurde und sich noch in der Anflutungsphase befand. Als Grund dafür ist bei weiterbestehenden Anfällen vor Erreichen eines adäquaten Serumwirkspiegels eine rasch abflauende Besitzercompliance denkbar. Zudem verstärken sich häufig die Nebenwirkungen bei Beginn einer Add-on Therapie. Auch die hohen Medikamentenkosten bei Add-on Therapie mit einem Antiepileptikum der zweiten Generation und deren geringer Bekanntheitsgrad bei behandelnden Haustierärzten kann einem möglichen Therapieerfolg mit Add-on Medikamenten im Wege stehen.

Wie in der wissenschaftlichen Literatur bislang üblich, werden im Folgenden die Begriffe der Therapieresistenz, pharmakoresistenten oder unbehandelbaren Epilepsie sowie unzureichender oder schlechter Anfallskontrolle gleichbedeutend verwendet (KWAN et al., 2010)

2.1.1. Vergleichbarkeit mit anderen Studien

Die geschätzte Zahl von etwa 30 % therapieresistenter Krankheitsfälle bei caniner Epilepsie wird bis zum heutigen Tag in der Veterinärliteratur viel zitiert (PLATT et al., 2006b; RIECK et al., 2006; VOLK et al., 2008; DEWEY et al., 2009; ALVES et al., 2011). Dem gegenüber stehen 56 % Australian Shepherds unter unzureichender Anfallskontrolle. Zu bedenken ist, dass in keinem der Fälle die Pharmakoresistenzrate einer vollständigen Anfallsunterdrückung gleichgesetzt wird. Dem Vorkommen therapieresistenter Fälle wird in klinischen Studien beim Hund kaum Beachtung geschenkt. In Medikamentenstudien dagegen werden bei

heterogenen Studiendesigns und Patientengruppen unterschiedliche Resistenzzahlen ermittelt. Die ursprünglich ermittelte und immer wieder zitierte Zahl von ca. 30 % lehnt an die Humanmedizin an und geht in der Tiermedizin auf zwei Studien zurück, in denen die therapeutische Effektivität von Primidon oder Phenobarbital bei je 30 und 35 Hunden untersucht wurde (ANNEGERS et al., 1979; SCHWARTZ-PORSCHKE et al., 1982, 1985; COCKERELL et al., 1995; KWAN & BRODIE, 2000). Farnbach stellte sogar bei 52 % mit Phenobarbital und bei 48 % mit Primidon behandelter Hunde fehlende Anfallskontrolle fest (FARNBACH, 1984). Der Versuch, allein diese drei viel zitierten Studien der vorliegenden gegenüberzustellen, hebt das bis heute bestehende Problem der Vergleichbarkeit deutlich hervor. Es gibt keine neuen Studien, die die Häufigkeit von Therapieresistenz in einer Hundepopulation untersuchen. Dass Therapieresistenz allerdings ein großes Problem bei der Therapie der caninen Epilepsie ist, zeigt die Vielzahl an Studien, die die Add-on Therapie mit Antiepileptika der zweiten Generation beim Hund evaluieren (RUEHLMANN et al., 2001; DEWEY et al., 2004; PLATT et al., 2006b; VON KLOPMANN et al., 2007; VOLK et al., 2008; DEWEY et al., 2009).

2.1.1.1. Ätiologie

Beim Menschen wird Therapieresistenz häufiger bei symptomatischer als bei idiopathischer Epilepsie beschrieben und deshalb mag ein Anteil von 56 % therapieresistenter Australian Shepherds mit genetischer Epilepsie außergewöhnlich hoch erscheinen (BERG et al., 1996; KWAN & BRODIE, 2000; ARROYO et al., 2002; CHAWLA et al., 2002; HITIRIS et al., 2007). Die auf Basis strenger Einschlusskriterien identifizierten Australian Shepherds sind aber mit hoher Wahrscheinlichkeit nicht an sekundärer Epilepsie erkrankt. Dies wurde nicht nur durch neurologische Untersuchung jedes einzelnen Hundes in einer auf Tierneurologie spezialisierten Praxis oder Klinik untermauert, sondern der Fragebogen schloss auch gezielt frühere Kopfverletzungen, vorhergehende fieberhafte Krankheiten und Vergiftungen aus. Zudem wurden bei 42 % der Hunde strukturelle Epilepsien durch MRT und Liquoranalyse ausgeschlossen. Leider war es, wie bei epidemiologischen Studien oft üblich, nicht möglich, wegen weiter Anfahrtswege und hoher Kosten alle Patienten mit MRT zu untersuchen.

In nur einer der drei früheren Studien wurden etwa wie beim Australian Shepherd

strukturell bedingte Epilepsien ausgeschlossen oder ein für idiopathische Epilepsie typisches Erkrankungsalter als Einschlusskriterium beleuchtet (SCHWARTZ-PORSCHE et al., 1985). Die beiden anderen Studien bezogen sich nicht ausschließlich auf die genetisch bedingte Epilepsie des Hundes (SCHWARTZ-PORSCHE et al., 1982; FARNBACH, 1984). Keine der drei Studien fokussierte eine bestimmte Rasse. Heutzutage wird großer Wert auf den Ausschluss struktureller Epilepsien gelegt, um die Anfallskontrolle zu beurteilen. So wird wie beim Australian Shepherd in den meisten Studien das Alter bei Krankheitsbeginn, eine interiktal unauffällige neurologische Untersuchung und eine Laborabklärung mit Differentialblutbild, Elektrolytbestimmung und Leberfunktionstest als Mindestanforderung zur Identifikation genetischer Epilepsie und Beurteilung der Anfallskontrolle festgelegt. Eine MRT-Untersuchung wird als Goldstandard angesehen (HEYNOLD et al., 1997; PLATT et al., 2006b; VON KLOPMANN et al., 2007; VOLK et al., 2008; DEWEY et al., 2009; HÜLSMEYER et al., 2010). Trotz des hohen Anteils an MRT-Untersuchungen (42%) liegen Einschränkungen der vorliegenden Studie im Fehlen von MRT-Untersuchungen bei den restlichen Patienten und im Fehlen von neuropathologischen Untersuchungen, die nur bei zwei Hunden durchgeführt wurden. Offene Fragen entstehen auch durch positiven Staupevirusnachweis bei einzelnen Hunden mit ansonsten unauffälligen MRT- und Liquorbefunden.

Zusammenfassend ist zu sagen, dass vergleichbar strenge Einschlusskriterien bei Studien, die die Therapieresistenz evaluieren, bisher nur von Hülsmeier et al. angewandt wurden (HÜLSMEYER et al., 2010). Mit einem Vorkommen von Therapieresistenz bei 71 % Border Collies im Vergleich zu 56 % Australian Shepherds ist eine rassebedingte Neigung zu schlechtem Ansprechen auf antiepileptische Therapie mit Phenobarbital beider Rassen naheliegend (HÜLSMEYER et al., 2010). Mögliche genetische Grundlagen für Therapieresistenz rücken zunehmend in den Fokus der Wissenschaft und ein möglicherweise identischer genetischer Hintergrund für die Therapieresistenz innerhalb einzelner oder nahe verwandter Rassen kann vermutet werden (FRENCH, 2007; KENNERLY et al., 2009).

2.1.1.2. Definition von Therapieresistenz

In der vorliegenden Studie wurde unzureichende Anfallskontrolle in Anlehnung an frühere Studien in der Humanmedizin als das Auftreten von mindestens einem

Anfall pro Monat trotz Therapie mit mindestens einem Antiepileptikum mit Serumwirkspiegel im Referenzbereich angesehen (BERG & KELLY, 2006; PICOT et al., 2008).

Unzureichende Anfallskontrolle wurde in allen drei früheren Studien auf unterschiedliche Weise definiert: verminderte Anfallsschwere und –frequenz nicht langfristig anhaltend (SCHWARTZ-PORSCHKE et al., 1982); Anfallsreduktion weniger als 50 % in mindestens sechs Monaten Beobachtungszeit (SCHWARTZ-PORSCHKE et al., 1985); anfallsfreie Zeit kürzer als zweimal die interiktale Zeitspanne, in der noch keine Behandlung stattgefunden hatte (FARNBACH, 1984). In der Humanmedizin ist derzeit das Ausbleiben von Anfallsfreiheit trotz adäquater Therapie als Definition für therapieresistente Epilepsie gebräuchlich (KWAN et al., 2010).

Eine amerikanische Studie befasste sich in einer Kohorte von 613 epilepsiekranken Kindern mit sechs verschiedenen Definitionen für Therapieresistenz (BERG & KELLY, 2006). In ein und derselben Population erwiesen sich je nach angewandter Definition zwischen neun und 24 % der Kinder als therapieresistent und insofern ist die Rate von 56 % Australian Shepherds unter schlechter Anfallskontrolle nur kritisch mit Angaben in der Literatur zu vergleichen (BERG & KELLY, 2006). Auch wenn sich heute Studien zur Evaluierung neuer Add-on Medikamente zur Therapie der Epilepsie beim Hund der 1985 von Schwartz-Porsche et al. angewandten Definition von Therapieresistenz als Anfallsreduktion um weniger als 50 % in mindestens sechs Monaten bedienen, kann dieses Kriterium nicht zur Beschreibung von Epilepsiesyndromen und deren Therapierbarkeit eingesetzt werden. Denn dann würden Hunde, die etwa bereits ab dem ersten Anfall therapiert werden, was gerade bei Australian Shepherds mit Serienanfällen oder Status epilepticus als Krankheitsbeginn häufig der Fall war, unauswertbar bleiben (SCHWARTZ-PORSCHKE et al., 1985; TREPANIER et al., 1998; DEWEY et al., 2004; PLATT et al., 2006b; VON KLOPMANN et al., 2007; VOLK et al., 2008; DEWEY et al., 2009). Border Collies, die von Alves et al. im Zusammenhang mit Phenobarbitalresistenz auf Polymorphismen im ABCB1(MDR1)-Gen getestet wurden, galten als resistent, wenn sich die Anfälle innerhalb einer dreimonatigen Therapie mit Phenobarbital mit Wirkspiegeln über 20 µg/ml um weniger als 50 % reduzierten (ALVES et al., 2011). Beim Collie dagegen wurde kürzlich in einer

Studie über den Zusammenhang zwischen ABCB1-1Δ-Mutation und Anfallskontrolle eine Häufigkeit von mehr als einem Anfall pro Monat und/oder das Auftreten von einem oder mehreren Serienanfällen als Kriterium für unzureichende Anfallskontrolle festgelegt (MUÑANA et al., 2010). Eine weitgehend übereinstimmende Definition von Therapieresistenz beim Hund ist somit nur zwischen der vorliegenden Studie und Hülsmeier et al. gegeben und liegt beim Australian Shepherd mit 56 % unter 71 % beim Border Collie (HÜLSMEYER et al., 2010).

Eine gewisse Divergenz der Daten ist jedoch auch bei den beiden letztgenannten Studien in Bezug auf die Berechnung der Anfallfrequenz gegeben: Die Berechnung beim Australian Shepherd berücksichtigte individuelle Schwankungen in der Anfallsfrequenz im Langzeitverlauf, indem die Zahl der Anfallstage pro Monat für den gesamten Zeitraum ab dem Zeitpunkt, an dem mit mindestens einem Antiepileptikum in adäquater Serumkonzentration behandelt wurde, berechnet wurde. Dies erschien notwendig, um individuelle Schwankungen sowohl mit Zeiten hoher Anfallsfrequenzen und länger anhaltender Anfallsfreiheit mit einzubeziehen, was auch in der Humanmedizin Grund zur Diskussion bezüglich der Ermittlung der Anfallfrequenz gibt (FRENCH, 2006; BERG, 2009). Im Gegensatz dazu wurde beim Border Collie die durchschnittliche Zahl der Anfallstage pro Monat über einen Zeitraum von sechs Monaten ab Therapie mit zwei Antiepileptika in adäquaten Serumkonzentrationen betrachtet.

2.1.1.3. Serumwirkspiegel

Studien in der Humanmedizin wiesen auf eine erhöhte Anfallsfrequenz bei niedrigen Serumwirkspiegeln hin (MORTON & HONHOLD, 1988; HANDOKO et al., 2008). In der vorliegenden Studie wurde Therapieresistenz beim Australian Shepherd unabhängig vom Phenobarbitalserumwirkspiegel beobachtet. Farnbach beschrieb, dass ein großer Teil der Hunde mit inadäquater Anfallskontrolle Phenobarbitalserumkonzentrationen unterhalb des Referenzbereichs aufwies (FARNBACH, 1984). Im Gegensatz dazu wurde in der vorliegenden Studie die Anfallskontrolle von Hunden mit Serumkonzentrationen unterhalb des Referenzbereichs nicht evaluiert. Es ergab sich mit 56 % schlecht kontrollierter Australian Shepherds bei Serumwirkspiegeln im Referenzbereich ein geringgradig höherer Schnitt im Vergleich zu 52 % bei Farnbach (FARNBACH, 1984). Die

frühen Beschreibungen von Schwartz-Porsche et al. lassen den Rückschluss zu, dass die Serumkonzentrationen von Phenobarbital in den Gruppen mit unterschiedlicher Anfallskontrolle ähnlich oder bei guter Anfallskontrolle sogar niedriger waren (SCHWARTZ-PORSCHKE et al., 1982, 1985). Dies deckt sich mit einer nicht mit der Anfallskontrolle in Zusammenhang stehenden Phenobarbitalerumkonzentration beim Australian Shepherd.

Es bleibt dennoch kritisch zu beurteilen, ob Australian Shepherds mit Serumwirkspiegeln im unteren Referenzbereich generell als therapieresistent bezeichnet werden können. In verschiedenen Studien beim Hund wurde von Therapieresistenz bei Phenobarbitalwirkspiegeln von 15 µg/ml bis 30 µg/ml berichtet (RIECK et al., 2006; VON KLOPMANN et al., 2007; DEWEY et al., 2009; JAMBROSZYK et al., 2011). Bei mit Kombinationstherapie aus Phenobarbital und Kaliumbromid behandelten Hunden wurde die Anfallskontrolle bei Wirkspiegeln ab 15 bzw. 1000 µg/ml evaluiert (PLATT et al., 2006b; VOLK et al., 2008). Um dennoch eine Verfälschung der Therapieresistenzrate beim Australian Shepherd aufgrund zu geringer Dosierung auszuschließen, wurde in der vorliegenden Studie eine Gruppe mit Phenobarbitalwirkspiegeln ausschließlich über 30 µg/ml betrachtet (Subgruppe A), für die sich eine Resistenzhäufigkeit von 60 % ergab. Diese Ergebnisse könnten den Schluss zulassen, dass die Medikamentendosierung eine nachgeordnete Rolle bei der Therapieresistenz des Australian Shepherd spielt. Stattdessen könnte die individuelle intrinsische Krankheitschwere erstrangig dazu beitragen, ob ein Australian Shepherd generell zufriedenstellend oder ungenügend auf medikamentöse Therapie anspricht.

2.1.1.4. Anzahl der Antiepileptika

In der vorliegenden Studie wurde die Therapieresistenz sowohl unter Monotherapie mit Phenobarbital als auch unter Kombinationstherapie mit mehr als zwei Antiepileptika evaluiert. Insgesamt waren 56 % der adäquat behandelten Australian Shepherds therapieresistent. Alle drei früheren Studien beschäftigten sich mit Therapieresistenz bei Monotherapie (SCHWARTZ-PORSCHKE et al., 1982; FARNBACH, 1984; SCHWARTZ-PORSCHKE et al., 1985). Vergleichbar dazu ließen später auch Studien zur Kombinationstherapie von Phenobarbital und Kaliumbromid beim Hund auf Resistenzraten von etwa 30 % schließen (SCHWARTZ-PORSCHKE & JÜRGENS, 1991; TREPANIER et al., 1998). Unter

Levetiracetam erwiesen sich trotz anfangs teils erfolgreicher Therapie nach sechs bis acht Monaten elf von 14 Hunden, die gegen die Kombination aus Phenobarbital und Kaliumbromid resistent waren, als schlecht kontrolliert (VOLK et al., 2008). Fünf von elf phenobarbital- und kaliumbromidresistenten Hunden blieben unter Gabapentin schlecht kontrolliert (PLATT et al., 2006b). Analog dazu lassen die Ergebnisse zur Subgruppe B, in der sich unter ausschließlich mit Kombinationstherapie behandelten Australian Shepherds 64 % schlecht kontrollierte Tiere befanden, einen Rückschluss auf den geringen Einfluss der Anzahl der verabreichten Medikamente auf den Therapieerfolg zu. Dies könnte für die Hypothese der intrinsischen Prädisposition zu Therapieresistenz sprechen, aber auch Veränderungen im neuronalen Netzwerk sind als Grund dafür denkbar, dass die Therapierbarkeit im Verlaufe einer Epilepsie aufgrund von Neurodegeneration, Alterationen von Rezeptoren und Transportmolekülen abnimmt (VOLK & LÖSCHER, 2005; VOLK et al., 2006; ROGAWSKI & JOHNSON, 2008; PEKCEC et al., 2009; BERG et al., 2010). Laut einer humanmedizinischen Studie wurde auch hier bei nur 14 % der Epilepsiepatienten eine verbesserte Anfallskontrolle durch Einnahme eines zweiten oder dritten Medikaments erzielt (KWAN & BRODIE, 2000). Bei einer Untersuchung von Risikofaktoren, die zur stationären Behandlung von Epileptikern führten, erwiesen sich weder Änderungen der Dosierung noch des Behandlungsmusters als signifikant (HANDOKO et al., 2007). Beim Australian Shepherd hatte die Zahl der verabreichten Medikamente, genau wie beim Border Collie, keinen Einfluss auf die Anfallskontrolle (HÜLSMEYER et al., 2010). Eine Zusammenfassung aller Australian Shepherds mit Mono- und Kombinationstherapie in eine einzige Gruppe zur Evaluierung der Anfallskontrolle kann daher gerechtfertigt werden. Dennoch, aufgrund der großen Variabilität in Studiendesigns, sollten Pharmakoresistenzraten von Hunden, die mit Mono- oder Kombinationstherapie behandelt wurden, nur kritisch verglichen werden.

2.1.1.5. Weitere Einflussfaktoren

Divergierende Definitionen therapieresistenter Epilepsie erschweren den Vergleich von Studien. Auch wird Medikamentenwechselwirkungen in der Epilepsitherapie immer mehr Beachtung geschenkt und diese sollten bei der Beurteilung der Anfallskontrolle kritisch hinterfragt werden (PATSALOS et al., 2002; MOORE et al., 2011). Die wenigsten Studien untersuchten auch, in

welchem Maße Therapieunterbrechungen aufgrund vergessener oder zeitlich nicht eingehaltener Medikamentengaben, die beim Menschen für ein dreifach erhöhtes Mortalitätsrisiko verantwortlich gemacht werden, zu Verfälschungen der Therapieresistenzraten beitragen (FAUGHT et al., 2008; PAVLOVIC et al., 2011).

2.1.2. Anfallskontrolle und ABCB1-1Δ

Das Auftreten der ABCB1-1Δ-Mutation konnte in der vorliegenden Studie bei Australian Shepherds mit idiopathischer Epilepsie nicht häufiger nachgewiesen werden als bei gesunden Kontrolltieren, was den Ergebnissen einer humanmedizinischen Metaanalyse zum Zusammenhang von ABCB1 3435C>T Polymorphismen und der Prävalenz von Epilepsie entspricht (NURMOHAMED et al., 2010).

In der vorliegenden Studie konnte außerdem kein Zusammenhang mit der Mutation bei Australian Shepherds, die unter antiepileptischer Therapie gut kontrolliert waren, im Vergleich zu therapieresistenten Hunden festgestellt werden. Die Sequenzierung des gesamten ABCB1(MDR1)-Gens von Border Collies mit idiopathischer Epilepsie ergab zwar einen bei phenobarbitalresistenten Hunden signifikant häufiger vorkommenden Polymorphismus in der Promotorregion des Intron 1 (c.-6-180T>G), jedoch war nur einer der Hunde der gesamten Kohorte heterozygot für die bekannte ABCB1-1Δ-Mutation (ALVES et al., 2011). Beim Australian Shepherd in der vorliegenden Studie waren dies 22 %, aber nur ein Hund hatte den homozygoten Defekt. Ein Vergleich bietet sich dennoch eher mit einer Studie von Muñana et al. an, die die homozygote ABCB1-1Δ-Mutation signifikant häufiger bei gut kontrollierter Epilepsie bei Collies vorfand (MUÑANA et al., 2010). Es wäre also zu bedenken, dass die geringe Häufigkeit der homozygoten ABCB1-1Δ-Mutation in der untersuchten Population eine aussagekräftige Analyse verhinderte. Da Therapieresistenz ein multifaktorielles Geschehen ist, wären sicherlich höhere Zahlen für eine Aussage hinsichtlich Assoziationen zur ABCB1-1Δ-Mutation erforderlich.

Dennoch entspricht das widersprüchliche Ergebnis bei Australian Shepherds und Collies der Situation in der Humanmedizin: zahlreiche Forschungsarbeiten wiesen entsprechend der Australian Shepherd-Ergebnisse keinen Zusammenhang der Therapieantwort zu einem 3435C>T Polymorphismus nach (TAN et al., 2004;

SILLS et al., 2005; KIM et al., 2006; CHEN et al., 2007; SHAHWAN et al., 2007; OZGON et al., 2008; BOURNISSEN et al., 2009; SZOEKE et al., 2009; HAERIAN et al., 2010). Im Gegensatz dazu sahen Siddiqui et al. in einer Kohorte von 315 Patienten mit Epilepsie bei therapieresistenten Fällen häufiger den CC-Genotyp, der mit einer erhöhten P-gp Expression einhergeht, als den TT-Genotyp (SIDDIQUI et al., 2003). Bei einer von Kwan et al. durchgeführten Untersuchung von 764 Epilepsiepatienten in China wurde dagegen häufiger der TT-Genotyp in Assoziation mit Therapieresistenz festgestellt (KWAN et al., 2007). Seo et al. konnten dies bei 210 japanischen Epileptikern nachvollziehen und entdeckten darüber hinaus weitere Polymorphismen und Haplotypkombinationen, die signifikant unterschiedlich zwischen therapieresistenten und gut kontrollierten Patienten waren (SEO et al., 2006). Auch andere Studien gaben Hinweis auf einen Zusammenhang zwischen Haplotypkombinationen und Anfallskontrolle (ZIMPRICH et al., 2004; HUNG et al., 2005). Die fortschreitende Untersuchung dieser Polymorphismen des ABCB1(MDR1)-Gens, z. B. 1236C>T und 2677G>T, und von Haplotypen erhärteten diese Zusammenhänge jedoch nicht (LAKHAN et al., 2009; VAHAB et al., 2009; VON STÜLPNAGEL et al., 2009; ALPMAN et al., 2010; HAERIAN et al., 2011). Es wird deutlich, dass sich trotz zahlreicher groß angelegter Studien in der Humanmedizin kein allgemeingültiges Schema ergibt. Vielmehr müssen ethnische und davon abhängig genetische Variationen überlegt werden (AMEYAW et al., 2001; KWAN et al., 2007). Darin könnte auch der Grund für gegensätzliche Ergebnisse bei verschiedenen Hunderassen, wie bei Collie, Border Collie und Australian Shepherd liegen. Weitere Untersuchungen beim Australian Shepherd, die Sequenzierung des kompletten ABCB1(MDR1)-Gens von therapieresistenten und responsiven Hunden im Vergleich, sowie molekularer Nachweis möglicher Zusammenhänge ist zur Einschätzung der Rolle von P-gp bei der Anfallskontrolle dieser Hunderasse von Nöten.

2.2. Einflussfaktoren auf die Überlebenszeit

Bei Studienabschluss waren 15 Australian Shepherds bereits verstorben, davon 14 epilepsiebedingt. Das mediane Alter bei Tod war 3,1 Jahre. Wie die vorliegende und andere Studien zeigten, war der Todeszeitpunkt eines Hundes mit Epilepsie hauptsächlich vom Besitzer durch die Euthanasieentscheidung determiniert, ein kleinerer Anteil an Hunden verstarb im Status epilepticus (CHANG et al., 2006; BERENDT et al., 2007; HÜLSMEYER et al., 2010). Laut Chang et al. wurden als

wichtigste Kriterien für Therapieerfolg von Besitzern von Hunden mit idiopathischer Epilepsie eine adäquate Anfallsfrequenz (weniger als ein Anfall alle drei Monate) bei guter Lebensqualität des Hundes und tolerierbaren Nebenwirkungen der Medikamente angegeben (CHANG et al., 2006). Die Erfahrung im Umgang mit Besitzern von Australian Shepherds mit Epilepsie zeigt, dass auch hier starke Nebenwirkungen beim Hund vom Besitzer als belastend empfunden werden. Zudem sahen viele Besitzer die mit Fortschreiten der Krankheit zunehmende Dauer der postiktalen Phase als erhebliches Leiden für ihr Tier an. Verstärkte Nebenwirkungen infolge Therapieanpassungen und im Verhältnis dazu ungenügende Anfallsreduktion führten zu rasch abnehmender Compliance. Trotz umfangreicher Aufklärung der Besitzer über die pharmakokinetischen Eigenschaften von Kaliumbromid (Anflutungsphase bis ein konstanter Serumwirkspiegel erreicht wird zwischen 80 und 120 Tagen) kann hierin der Grund für die häufigen Euthanasieentscheidungen in der Anfangsphase der Kaliumbromidtherapie gesehen werden (PODELL, 2004; DE LAHUNTA & GLASS, 2009). Außerdem wird die Hypothese untermauert, dass Australian Shepherds unter einem schweren Epilepsiesyndrom mit schlechtem Ansprechen auf die verabreichten Medikamente und kurzen Überlebenszeiten leiden, denn eine frühere Studie ergab, dass Besitzer durchaus zu Langzeittherapien bereit sind anstatt sich zur Euthanasie zu entscheiden (LORD & PODELL, 1999). Um eine von Compliance und subjektiven Empfindungen der Besitzer unabhängige Analyse der Überlebenszeiten zu bewerkstelligen, dürften nur im Status epilepticus verstorbene Hunde evaluiert werden.

2.2.1. Therapieresistenz

In der vorliegenden Studie wurde gezeigt, dass der Therapieerfolg in engem Zusammenhang mit der Überlebenszeit steht, welche bei Australian Shepherds mit unzureichender Anfallskontrolle signifikant kürzer war. Die Untersuchung des Alters bei Krankheitsbeginn und der Fellfarbe erbrachten in Hinblick auf die Anfallskontrolle signifikante Ergebnisse. Dass sich bei einer hohen Anzahl der Anfallstage vor Therapiebeginn kein signifikanter Zusammenhang mit später unzureichender Anfallskontrolle errechnete, steht im Gegensatz zur signifikanten Assoziation einer hohen Anzahl Anfallstage im ersten halben Jahr der Krankheit mit kürzeren Überlebenszeiten.

2.2.2. Anzahl der Anfallstage im ersten halben Jahr

In der vorliegenden Untersuchung war das Auftreten von mindestens zehn Anfallstagen im ersten halben Jahr der Epilepsie, und zwar unabhängig vom Zeitpunkt des Therapiebeginns, mit kürzeren Überlebenszeiten assoziiert. Eine hohe initiale Anfallsfrequenz scheint also beim Australian Shepherd prädiktiv für einen schweren Krankheitsverlauf zu sein. Beim Menschen wurde wiederholt von einem Einfluss einer initial hohen Anfallsfrequenz auf die Entwicklung von Therapieresistenz, nicht aber auf Mortalität oder Überlebenszeiten berichtet (CHAWLA et al., 2002; HITIRIS et al., 2007; SILLANPÄÄ & SCHMIDT, 2009). In der vorliegenden Studie wurden bei Therapieresistenz signifikant kürzere Überlebenszeiten ermittelt, was vermutlich durch das menschliche Eingreifen, die Euthanasie der Tiere, bedingt ist. Ein Vergleich der Daten erscheint daher angebracht. Laut Chawla et al. resultierte aus initial täglichen Anfällen eine schlechtere Prognose, Sillanpää et al. fanden bei Patienten mit wöchentlichen Anfällen vor der Therapie und im ersten Jahr der Therapie ein erhöhtes Risiko für Therapieresistenz, nicht aber erhöhte Mortalität (CHAWLA et al., 2002; SILLANPÄÄ & SCHMIDT, 2009). Hitiris et al. postulierten mehr als zehn Anfälle vor Therapiebeginn als Vorzeichen einer therapieresistenten Epilepsie (HITIRIS et al., 2007). Im Rattenmodell wurde solch ein Zusammenhang ebenfalls deutlich (LÖSCHER & BRANDT, 2010). Ein Zusammenhang zwischen Anfallsfrequenz vor Therapiebeginn und schlechter Anfallskontrolle – wie beim Menschen beschrieben – konnte beim Australian Shepherd nicht nachgewiesen werden. Dies ist am ehesten damit zu erklären, dass viele Australian Shepherds ab dem zweiten, manche sogar ab dem ersten Anfallstag behandelt wurden. Im Gegensatz zu den zitierten Studienmethoden wurden allerdings immer, anstatt der Anzahl der Anfälle die Anfallstage per se gezählt, was die tatsächliche Anfallszahl, insbesondere bei Auftreten von Serienanfällen oder Status epilepticus, verschleiert.

2.2.3. Alter bei Krankheitsbeginn

Nicht nur Hunde unter unzureichender Anfallskontrolle und mit mindestens zehn Anfallstagen in den ersten sechs Monaten der Krankheit fielen in der Folge durch signifikant kürzere Überlebenszeiten auf, sondern auch diejenigen Tiere, welche bei Krankheitsbeginn unter zwei Jahre alt waren. Dies ist eine Parallele zu den Ergebnissen beim Border Collie (HÜLSMEYER et al., 2010). Allerdings

bestätigte sich der Einfluss des Alters bei Krankheitsbeginn auf die Überlebenszeit in der multivariaten Cox-Regression nicht. Erklärungsmöglichkeiten wären entweder die kleine Fallzahl oder dass sich in den multivariaten Überlebensanalysen die schlechte Anfallskontrolle als hauptsächlicher Einflussfaktor herauskristallisierte. Beim Australian Shepherd konnte in der vorliegenden Studie auch ein signifikanter Zusammenhang zwischen jungem Alter bei Krankheitsbeginn und schlechter Anfallskontrolle gezeigt werden.

Humanmedizinische Untersuchungen fokussieren dagegen in der Regel nicht auf Überlebenszeiten. Hohe Mortalitätsraten (Kurz- und Langzeitmortalität, auch epilepsieunabhängige Todesursachen) wurden beim Menschen bei symptomatischen Epilepsien, v. a. bei Patienten, die von Geburt an epileptische Anfälle und neurologische Defizite hatten, beschrieben (BRENINGSTALL, 2001; CALLENBACH et al., 2001; FORSGREN et al., 2005; NELIGAN et al., 2011). Bei idiopathischer Epilepsie, speziell bei Kindern, wurde vielfach kein erhöhtes Mortalitätsrisiko ermittelt (OLAFSSON et al., 1998; LOISEAU et al., 1999; LINDSTEN et al., 2000; CALLENBACH et al., 2001). Unabhängig von der Ätiologie wiesen allerdings einige Studien bei Kindern mit Krankheitsbeginn im ersten Lebensjahr auf ein höheres Risiko für die Entwicklung therapieresistenter Epilepsie, nicht aber kürzerer Überlebenszeiten hin, wobei allerdings Epilepsien im Kindesalter allgemein eher als benigne eingestuft werden (BERG et al., 1996; CHAWLA et al., 2002). Die kürzlich auf genetischer Ebene aufgeklärte juvenile Epilepsie des Lagotto Romagnolo unterscheidet sich im Krankheitsverlauf ganz wesentlich von den progressiven epileptischen Anfällen der Australian Shepherds (JOKINEN et al., 2007; SEPPÄLÄ et al., 2011).

2.2.4. Fellfarbe

Erstaunlicherweise gab es Hinweise auf einen möglichen schwereren Krankheitsverlauf bei nicht-merle-farbigen Hunden. Bei nicht-merle-farbigen Hunden wurde in den univariaten Analysen ein jüngeres Alter beim ersten Anfall und schlechtere Anfallskontrolle beobachtet, was kürzere Überlebenszeiten zur Folge hatte. In der multivariaten Analyse von Einflussfaktoren auf die Überlebenszeit war jedoch nur noch der Einfluss der Anfallskontrolle und der Zahl der Anfallstage in den ersten sechs Monaten darstellbar.

Das Merle-Syndrom resultiert aus einer homozygoten Mutation im *PMEL17*- oder *SILV*-Gen und ist beim Hund durch die typische aufgehellte Fellfärbung charakterisiert und mit angeborenen Pathologien wie Mikrophthalmie, Iriskolobome und Retinadefekte assoziiert. Auch kongenitale Taubheit wurde mit dem Merle-Phänotyp assoziiert (GELATT et al., 1981; AKCAN & WEGNER, 1983; STRAIN, 2004; THEOS et al., 2005; CLARK et al., 2006; HEDAN et al., 2006; PLATT et al., 2006a; STRAIN et al., 2009). Der heterozygote Merle-Genotyp beim Australian Shepherd ist aufgrund der beliebten Fellfärbung und selteneren Auftretens von angeborenen Defekten weit verbreitet.

Ein Zusammenhang zwischen *PMEL17*-Genotyp und Verhalten wurde bei Hühnern festgestellt, während von einer Assoziation zwischen dem Auftreten epileptischer Anfälle oder therapieresistenter Epilepsie und dem *SILV*-Genotyp bisher nicht berichtet wurde (NÄTT et al., 2007; KARLSSON et al., 2010). Melanozyten reihen sich neben anderen aus embryonalen Stammzellen der Neuralleiste differenzierten Zelltypen und Geweben ein, deren Defekte während der Ontogenese unter dem Sammelbegriff Neurocristopathien zusammengefasst werden und v. a. zu Pathologien des Innenohrs und der Augen führen, z. B. Waardenburg Syndrom, Irishypoplasie und Sehnervmelanozytom, aber auch zu Syndromen wie Neurofibromatose Typ 1, PHACES-Syndrom oder Tietz-Syndrom des Menschen (BOLANDE, 1997). In diesem Zusammenhang ist die Beobachtung von Xie et al. erwähnenswert, die in Melanozyten- und Melanomzellkulturversuchen beobachteten, dass ein aufgrund von Genmutation fehlerhaft repliziertes *PMEL17*-Strukturprotein eine verminderte Resistenz gegen Cisplatin nach sich zog. Es wurde eine Beteiligung des Drug Target oder Drug Transporter-Resistenzmechanismus diskutiert, aber der exakt zugrundeliegende Pathomechanismus blieb letztendlich ungeklärt (XIE et al., 2009). Spekulationen, dass der *SILV*-Defekt sich im Gehirn mit abgeschwächter Resistenz gegen Antiepileptika analog zu der Wirkung von Cisplatin in Melanozyten zeigen könnte, könnten nur unter der Annahme aufrechterhalten werden, dass sich die *PMEL17*-Genmutation nicht nur auf Melanozyten, sondern auch auf andere Vorläuferzellen aus der Neuralleiste auswirkt. Baxter und Pavan wiesen durch In-Situ-Hybridisierung in Mausembryonen zahlreiche *PMEL17*-positive Pigmentzellvorläuferzellen der Neuralleiste im Gehirn nach (BAXTER & PAVAN, 2003). Stammzellähnlichen Vorläuferzellen der Neuralleiste wurde nun

erstmals die Potenz zugesprochen, sich zu Oligodendrozyten im zentralen Nervensystem zu differenzieren (BINDER et al., 2011). Außerdem wurden dem Melanin der Haut ähnliche Pigmente, sog. Neuromelanine, im Gehirn neu entdeckt und diesen werden wesentliche neuroprotektive Eigenschaften zugeschrieben. Zahlreiche neuroendokrine Funktionen von extrakutanen Melanozyten im Gehirn werden vermutet (ZECCA et al., 2008; PLONKA et al., 2009).

Naheliegender wäre jedoch ein pleiotroper Effekt des Merle-Gens mit Auswirkung auf die Therapieresistenz als eine möglicherweise polygen und multifaktoriell beeinflusste Manifestation.

3. Stammbaumanalyse

Die Stammbaumanalysen der Australian Shepherds mit idiopathischer Epilepsie weisen auf einen gemeinsamen genetischen Hintergrund der betroffenen Hunde hin. Alle erkrankten Hunde stammten von gesunden Elterntieren ab, was eine rein dominante Vererbung ausschließt, und genauso auch bei anderen von Epilepsie betroffenen Hunderassen beobachtet wurde (FAMULA et al., 1997; JAGGY et al., 1998; KATHMANN et al., 1999; OBERBAUER et al., 2003; PATTERSON et al., 2003; PATTERSON et al., 2005; CASAL et al., 2006; LICHT et al., 2007; VON KURNATOWSKI, 2007; HÜLSMEYER et al., 2010). Bei verschiedenen Hunderassen wird ein rezessives Gen mit maßgeblichem Einfluss angenommen, während andererseits die Hinweise auf eine polygene Vererbung zunehmen (SRENK et al., 1994; FAMULA et al., 1997; JAGGY et al., 1998; KATHMANN et al., 1999; OBERBAUER et al., 2003; PATTERSON et al., 2005; OBERBAUER et al., 2010). Eine große klinische Heterogenität, die selbst unter Geschwistertieren augenscheinlich war, spricht beim Australian Shepherd wie beim Menschen für einen polygenen Einfluss auf die Krankheitsausprägung (WINAWER et al., 2005; COMBI et al., 2009; GUERRINI et al., 2010). Auch wenn wie in Studien anderer Hunderassen männliche Australian Shepherds mit idiopathischer Epilepsie leicht überwogen ist eine gonosomale Vererbung nicht anzunehmen (KATHMANN et al., 1999; BERENDT et al., 2002; PATTERSON et al., 2003; PATTERSON et al., 2005; CASAL et al., 2006; VIITMAA et al., 2006; KLOENE et al., 2008; BERENDT et al., 2009).

Die betroffenen Australian Shepherds konnten in einige wenige Subpopulationen

eingegliedert werden und die meisten Tiere waren über entfernte Verwandte mit anderen Subpopulationen verknüpft. Darüber hinaus war die Häufung von Epilepsien unter Wurf-, Voll- und Halbgeschwistern offensichtlich.

4. Grenzen der Studie

Die Studie hat offensichtlich Limitationen: Die Daten für die 28 Australian Shepherds, die im Studienzeitraum 2009 und 2010 neu an Epilepsie erkrankten, wurden prospektiv erhoben, bei den anderen 22 Hunden wurde sowohl retrospektiv auf der Basis der Besitzeraufzeichnungen als auch prospektiv im Studienzeitraum ermittelt, da nur drei Hunde zu Studienbeginn bereits verstorben waren. Um die größtmögliche Reliabilität der Daten zu erzielen, wurden nur Hunde eingeschlossen, deren Besitzer einen vollständig ausgefüllten Fragebogen und einen Anfallskalender ab Krankheitsbeginn übermitteln konnten und ein persönliches Gespräch erfolgte mit jedem Besitzer und behandelnden Tierarzt. Somit unterschied sich die Qualität der Datenermittlung bei den 50 eingeschlossenen Hunden nicht. Dennoch konnte die Objektivität im Einzelnen nicht mit letzter Sicherheit gewährleistet werden, so zeigt z. B. die klinische Erfahrung, dass die subjektive Besitzerwahrnehmung der Zeitdauer einzelner Anfälle immer wieder die tatsächliche überschreitet und in den wenigsten Fällen tatsächlich die Zeit gestoppt wird. Auch kann eine gewisse Vorselektion der Patienten nicht ausgeschlossen werden. Wie in epidemiologischen Studien üblich, war es nicht bei allen Patienten möglich, den bestmöglichen diagnostischen Standard durchzuführen, auch aufgrund der hohen Kosten, die in der Tiermedizin durchwegs anders als in der Humanmedizin ausschließlich von den Tierbesitzern getragen werden. Dennoch war es möglich, 42 % der Studienpatienten mit bildgebender Diagnostik (MRT) und Liquordiagnostik zu untersuchen. Darüber hinaus gelang es, den Standard der neurologischen Untersuchungen zu garantieren, da diese immer in einer veterinärneurologischen Praxis oder Klinik durchgeführt wurde. Letztlich können Einschränkungen in der Vergleichbarkeit der Ergebnisse auch trotz klar definierter Einschlusskriterien durch das Multicenterdesign der Studie entstanden sein.

Wie bereits im Einzelnen ausgeführt, wurde der Grad der Anfallkontrolle in erster Linie anhand des Ansprechens auf Phenobarbital, z. T. in Kombination mit weiteren Antiepileptika, ermittelt. Es ist nicht auszuschließen, dass sich beim

Australian Shepherd bei standardisierten Therapieprotokollen, wie sie in Therapie-, nicht aber in klinischen Studien realisiert werden können, eine abweichende Therapieresistenzrate ergeben würde. Es wurde in der vorliegenden Studie kein Tageszeitpunkt für die Blutabnahme zur Serumwirkspiegelkontrolle festgelegt, so dass die Werte von Einzeltieren die festgelegten Referenzbereiche zu bestimmten Zeiten möglicherweise unterschritten. Im Großen und Ganzen können Serumwirkspiegel aber unabhängig vom Blutentnahmezeitpunkt als weitgehend konstant angesehen werden (LEVITSKI & TREPANIER, 2000; MONTEIRO et al., 2009). Die berechnete Anfallsfrequenz berücksichtigt zwar große individuelle Schwankungen, aber ist weniger sensibel auf Veränderungen, die sich durch Dosis- und Wirkspiegelveränderungen ergaben. Letztlich wurde die *SILV*-Mutation rein phänotypisch evaluiert, aber nicht durch eine Genotypisierung untermauert. Es muss betont werden, dass bei der Ermittlung des Zusammenhangs zwischen *ABCB1-1Δ*-Mutation und Anfallskontrolle nur ein Australian Shepherd die Mutation auf beiden Allelen aufwies und dass der homozygote Genotyp mit einer Prävalenz von sechs bis sieben Prozent in Deutschland nicht sehr weit verbreitet ist (GEYER et al., 2005; GRAMER et al., 2011).

5. Ausblick

Zukünftige Anforderungen an die tiermedizinische Epilepsieforschung beinhalten die Festlegung einheitlicher Klassifizierungskriterien mit dem Ziel, die Epilepsiesyndrome zwischen den verschiedenen Rassen vergleichen zu können und von Studie zu Studie vergleichbare Beschreibungen des klinischen Bildes zu erhalten. Elektrodiagnostische Charakterisierung mit EEG und bildgebender Diagnostik (MRT) in vivo und neuropathologischer Untersuchungen post mortem sollten zur Identifizierung möglicherweise unterschiedlicher Epilepsiesyndrome, welche dem Bestehen starker klinischer Unterschiede innerhalb einzelner Hunderassen oder rasseübergreifend zugrunde liegen könnten, herangezogen werden. Die Charakterisierung verschiedener Epilepsiesyndrome beim Hund sowie die Identifizierung von Comorbiditäten und epigenetischer Einflussfaktoren auf die Ausprägung des Schweregrads der Epilepsie stellen ein großes zukünftiges Forschungspotential dar.

Der Australian Shepherd bietet sich als ein natürlich vorkommendes Tiermodell für die humanmedizinische Forschung an, um erbliche neurobiologische Faktoren

wie Krankheitsbild und -schwere sowie therapieresistente Epilepsie zu untersuchen.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Blutproben von insgesamt 50 Australian Shepherds mit idiopathischer Epilepsie und von 200 Australian Shepherds ohne Anfallsvorgeschichte gesammelt. Diese wurden als Verwandte von Australian Shepherds mit idiopathischer Epilepsie oder als gesunde Kontrolltiere im Alter von über oder unter sieben Lebensjahren klassifiziert. Außerdem wurde Blut von 20 epilepsieverdächtigen Tieren gesammelt. Aus den Proben wurde im Biomedicum Helsinki unter der Arbeitsgruppe von Prof. Hannes Lohi DNA extrahiert. Die im Rahmen der vorliegenden Studie erfolgte klinische und statistische Datenauswertung wird in einer genomweiten Assoziationsstudie genutzt, um die beteiligten Gene zu identifizieren und auf lange Sicht die Zuchtselektion zur Merzung der idiopathischen Epilepsie voranzutreiben. Auch unter dem Aspekt des Tierschutzes bleibt ein baldiger Durchbruch der weltweiten Bemühungen zur genetischen Aufklärung der Epilepsie des Australian Shepherd zu hoffen. Unter der Annahme einer komplex genetischen Vererbung kann sich dies allerdings schwierig gestalten. Bis dahin ist in Züchterkreisen und Zuchtverbänden ein offener Umgang mit dem Thema Epilepsie wünschenswert. Gerade in Zuchtlinien, in denen bereits mehrere erkrankte Tiere bekannt sind, sollten Verpaarungen nur vorsichtig geplant und eine Anhebung des Zuchtalters in Erwägung gezogen werden. Bei neu erkrankten Australian Shepherds liegt die Hoffnung darin, über aggressive Therapie und forsche Dosiserhöhungen die initiale Anfallsfrequenz so gering wie möglich zu halten und damit den Langzeitverlauf der Erkrankung positiv zu beeinflussen.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Idiopathische (genetische) Epilepsie ist bei vielen Hunderassen beschrieben und auch beim Australian Shepherd ein weltweit registriertes, aber bisher in der wissenschaftlichen Literatur nicht genauer charakterisiertes gesundheitliches Problem. Es wird ein von schweren Verläufen geprägtes Epilepsiesyndrom des Australian Shepherd konstatiert, welches durch antiepileptische Therapie häufig nicht in den Griff zu bekommen ist.

Ziel der Studie war die detaillierte Beschreibung des Epilepsiesyndroms beim Australian Shepherd.

An Epilepsie erkrankte Australian Shepherds wurden über die Patientenkartei des Studienzentrums sowie Praxen für Tierneurologie in Deutschland, Österreich und der Schweiz und über Aufrufe bei Zuchtverbänden identifiziert. Australian Shepherds mit Anfallsbeginn unter dem fünften Lebensjahr und mindestens zwei epileptischen Anfällen wurden eingeschlossen, wenn die klinische, neurologische und labordiagnostische Untersuchung unauffällig waren sowie eine vom Besitzer geführte Anfallsdokumentation vorgelegt wurde. Magnetresonanztomographie sowie Liquoranalyse wurden angeraten und jeder Hund wurde auf die ABCB1-1 Δ -Mutation hin untersucht. Ein vom Besitzer auszufüllender Fragebogen sowie eine fortlaufende Dokumentation der Anfallsgeschichte wurden bei Studienabschluss bezüglich Phänotyp, Anfallstyp und -frequenz, Alter bei Krankheitsbeginn, Therapieantwort, Überlebenszeit und Stammbaum ausgewertet.

Von 50 Australian Shepherds mit idiopathischer Epilepsie wiesen 20 % einen milden und weitere 20 % einen mittelschweren Krankheitsverlauf auf, der bei letzteren durch das Auftreten von Serienanfällen gekennzeichnet war. Die übrigen sechzig Prozent der Australian Shepherds waren mit dem Vorkommen von Status epilepticus schwer betroffen. Eine Geschlechtsprädisposition bestand nicht. Fokale Anfälle traten bei 52 % der Tiere auf. Bei 56 % der Australian Shepherds, die adäquat mit mindestens einem Antiepileptikum behandelt wurden (n=34; Phenobarbitalserumwirkspiegel ≥ 20 $\mu\text{g/ml}$) konnte trotz ausreichender Wirkspiegel keine hinreichende Anfallskontrolle erzielt werden (≥ 1 Anfall/Monat). Es bestand kein Zusammenhang zwischen ABCB1(MDR1)-Genotyp und Anfallskontrolle ($p > 0,05$). Nicht-merle-farbige Hunde wiesen häufig

eine schlechtere Anfallskontrolle auf ($p < 0,05$). Australian Shepherds mit unzureichender Anfallskontrolle und mit mehr als zehn Anfällen im ersten halben Jahr der Epilepsie hatten kürzere Überlebenszeiten ($p < 0,05$). Stammbaumanalysen bestätigten die genetische Grundlage der Epilepsie.

Die klinische Charakterisierung des Epilepsiesyndroms beim Australian Shepherd und die gleichzeitige Verfügbarkeit von Blutproben ermöglichen integrative genetische Analysen.

VI. SUMMARY

In many dog breeds idiopathic (genetic) epilepsy is a well described health issue and it is also widely recognized in Australian Shepherd dogs but detailed clinical characterization is lacking. An epileptic syndrome with prevailing severe courses and hard to control with antiepileptic drugs is hypothesized in Australian Shepherds.

Australian Shepherds with epileptic seizures and seizure onset between 2004 and 2010 were identified via a medical records search in the study center and by specialized veterinary neurologists as well as by requests in breeding clubs. Australian Shepherds under five years of age at seizure onset and at least two epileptic seizures were included, if clinical, neurologic and laboratory examination were without findings and if owners provided a written seizure documentation. Magnetic resonance imaging and analysis of cerebrospinal fluid were recommended and each dog was genotyped for the ABCB1-1 Δ mutation. After study conclusion, continuously documented seizure history and a questionnaire completed by the owner were analyzed regarding phenotype, seizure type and frequency, age at seizure onset, treatment response, survival times and pedigree data.

Of 50 Australian Shepherds with idiopathic epilepsy, 20 % presented with a mild and 20 % with a moderate clinical course, which was defined as per the occurrence of cluster seizures. Sixty percent experienced a severe clinical course with status epilepticus. There was no association with sex. Focal seizures occurred in 52 % of cases. In 56 % of the Australian Shepherds which were treated adequately with at least one antiepileptic drug (n=34; phenobarbital serum concentration ≥ 20 $\mu\text{g/ml}$) no adequate seizure control was achieved despite adequate serum concentrations (≥ 1 seizure/month). No association was found between ABCB1(MDR1) genotype and seizure control ($p > 0,05$). Non-merle colored dogs presented with poor seizure control ($p < 0,05$). Furthermore, Australian Shepherds under poor seizure control and with more than ten seizures within the first six months of disease had shorter survival times ($p < 0,05$). Pedigree analyses confirmed the genetic basis of the disease.

The clinical characterization of the epilepsy syndrome in Australian Shepherd

dogs and concurrent availability of blood samples allow integrative genetic analyses.

VII. LITERATURVERZEICHNIS

Akcan A, Wegner W. Changes in the visual pathways and visual centers in Merle syndrome in the dog. *Z Versuchstierkd* 1983; 25: 91-9.

Alpman A, Ozkinay F, Tekgul H, Gokben S, Pehlivan S, Schalling M, Ozkinay C. Multidrug resistance 1 (MDR1) gene polymorphisms in childhood drug-resistant epilepsy. *J Child Neurol* 2010; 25: 1485-90.

Alves L, Hülsmeier V, Jaggy A, Fischer A, Leeb T, Drögemüller M. Polymorphisms in the ABCB1 Gene in Phenobarbital Responsive and Resistant Idiopathic Epileptic Border Collies. *J Vet Intern Med* 2011; 25: 484-89.

Ambroziak K, Kuteykin-Teplyakov K, Luna-Tortos C, Al-Falah M, Fedrowitz M, Loscher W. Exposure to antiepileptic drugs does not alter the functionality of P-glycoprotein in brain capillary endothelial and kidney cell lines. *Eur J Pharmacol* 2010; 628: 57-66.

Ameyaw MM, Regateiro F, Li T, Liu X, Tariq M, Mobarek A, Thornton N, Folan GO, Githang'a J, Indalo A, Ofori-Adjei D, Price-Evans DA, McLeod HL. MDR1 pharmacogenetics: frequency of the C3435T mutation in exon 26 is significantly influenced by ethnicity. *Pharmacogenetics* 2001; 11: 217-21.

Andermann F, Kobayashi E, Andermann E. Genetic focal epilepsies: state of the art and paths to the future. *Epilepsia* 2005; 46 Suppl 10: 61-7.

Anderson GD, Shen DD. Where is the evidence that p-glycoprotein limits brain uptake of antiepileptic drug and contributes to drug resistance in epilepsy? *Epilepsia* 2007; 48: 2372-4.

Annegers JF, Hauser WA, Elveback LR. Remission of seizures and relapse in patients with epilepsy. *Epilepsia* 1979; 20: 729-37.

Aronica E, Gorter JA, Ramkema M, Redeker S, Ozbas-Gerceker F, van Vliet EA,

Scheffer GL, Scheper RJ, van der Valk P, Baayen JC, Troost D. Expression and cellular distribution of multidrug resistance-related proteins in the hippocampus of patients with mesial temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 2004; 45: 441-51.

Arroyo S, Brodie MJ, Avanzini G, Baumgartner C, Chiron C, Dulac O, French JA, Serratosa JM. Is refractory epilepsy preventable? *Epilepsia* 2002; 43: 437-44.

Baker CV, Bronner-Fraser M, Le Douarin NM, Teillet MA. Early- and late-migrating cranial neural crest cell populations have equivalent developmental potential in vivo. *Development* 1997; 124: 3077-87.

Bankstahl JP, Löscher W. Resistance to antiepileptic drugs and expression of P-glycoprotein in two rat models of status epilepticus. *Epilepsy Res* 2008; 82: 70-85.

Barishak YR. Embryology of the eye and its adnexae. *Dev Ophthalmol* 1992; 24: 1-142.

Bautista RE, Glen ET. Seizure severity is associated with quality of life independent of seizure frequency. *Epilepsy Behav* 2009; 16: 325-9.

Baxter LL, Pavan WJ. Pmel17 expression is Mitf-dependent and reveals cranial melanoblast migration during murine development. *Gene Expr Patterns* 2003; 3: 703-7.

Berendt M, Gram L. Epilepsy and seizure classification in 63 dogs: a reappraisal of veterinary epilepsy terminology. *J Vet Intern Med* 1999; 13: 14-20.

Berendt M, Hogenhaven H, Flagstad A, Dam M. Electroencephalography in dogs with epilepsy: similarities between human and canine findings. *Acta Neurol Scand* 1999; 99: 276-83.

Berendt M, Gredal H, Pedersen LG, Alban L, Alving J. A cross-sectional study of

epilepsy in Danish Labrador Retrievers: prevalence and selected risk factors. *J Vet Intern Med* 2002; 16: 262-8.

Berendt M, Gredal H, Alving J. Characteristics and phenomenology of epileptic partial seizures in dogs: similarities with human seizure semiology. *Epilepsy Res* 2004; 61: 167-73.

Berendt M, Gredal H, Ersboll AK, Alving J. Premature death, risk factors, and life patterns in dogs with epilepsy. *J Vet Intern Med* 2007; 21: 754-9.

Berendt M, Gulløv CH, Christensen SL, Gudmundsdottir H, Gredal H, Fredholm M, Alban L. Prevalence and characteristics of epilepsy in the Belgian shepherd variants Groenendael and Tervueren born in Denmark 1995-2004. *Acta Vet Scand* 2008; 50: 51.

Berendt M, Gulløv CH, Fredholm M. Focal epilepsy in the Belgian shepherd: evidence for simple Mendelian inheritance. *J Small Anim Pract* 2009; 50: 655-61.

Berg AT, Levy SR, Novotny EJ, Shinnar S. Predictors of intractable epilepsy in childhood: a case-control study. *Epilepsia* 1996; 37: 24-30.

Berg AT, Kelly MM. Defining intractability: comparisons among published definitions. *Epilepsia* 2006; 47: 431-6.

Berg AT. Identification of pharmaco-resistant epilepsy. *Neurol Clin* 2009; 27: 1003-13.

Berg AT, Berkovic SF, Brodie MJ, Buchhalter J, Cross JH, van Emde Boas W, Engel J, French J, Glauser TA, Mathern GW, Moshe SL, Nordli D, Plouin P, Scheffer IE. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005-2009. *Epilepsia* 2010; 51: 676-85.

Bielfelt SW, Redman HC, McClellan RO. Sire- and sex-related differences in rates of epileptiform seizures in a purebred beagle dog colony. *Am J Vet Res* 1971; 32: 2039-48.

Binder E, Rukavina M, Hassani H, Weber M, Nakatani H, Reiff T, Parras C, Taylor V, Rohrer H. Peripheral nervous system progenitors can be reprogrammed to produce myelinating oligodendrocytes and repair brain lesions. *J Neurosci* 2011; 31: 6379-91.

Blume WT, Lüders HO, Mizrahi E, Tassinari C, van Emde Boas W, Engel J, Jr. Glossary of descriptive terminology for ictal semiology: report of the ILAE task force on classification and terminology. *Epilepsia* 2001; 42: 1212-8.

Bolande RP. Neurocristopathy: its growth and development in 20 years. *Pediatr Pathol Lab Med* 1997; 17: 1-25.

Bournissen FG, Moretti ME, Juurlink DN, Koren G, Walker M, Finkelstein Y. Polymorphism of the MDR1/ABCB1 C3435T drug-transporter and resistance to anticonvulsant drugs: a meta-analysis. *Epilepsia* 2009; 50: 898-903.

Breitschwerdt EB, Breazile JE, Broadhurst JJ. Clinical and electroencephalographic findings associated with ten cases of suspected limbic epilepsy in the dog. *J Am Anim Hosp Assoc* 1979; 15: 37-50.

Breningstall GN. Mortality in pediatric epilepsy. *Pediatr Neurol* 2001; 25: 9-16.

Buchhalter J. Status epilepticus presenting as new-onset seizures in children. *Epilepsy Curr* 2011; 11: 112-3.

Callenbach PM, Westendorp RG, Geerts AT, Arts WF, Peeters EA, van Donselaar CA, Peters AC, Stroink H, Brouwer OF. Mortality risk in children with epilepsy: the Dutch study of epilepsy in childhood. *Pediatrics* 2001; 107: 1259-63.

Casal ML, Munuve RM, Janis MA, Werner P, Henthorn PS. Epilepsy in Irish Wolfhounds. *J Vet Intern Med* 2006; 20: 131-5.

Cascella NG, Schretlen DJ, Sawa A. Schizophrenia and epilepsy: is there a shared susceptibility? *Neurosci Res* 2009; 63: 227-35.

Cash WC, Blauch BS. Jaw snapping syndrome in eight dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1979; 175: 709-10.

Chandler K. Canine epilepsy: what can we learn from human seizure disorders? *Vet J* 2006; 172: 207-17.

Chang Y, Mellor DJ, Anderson TJ. Idiopathic epilepsy in dogs: owners' perspectives on management with phenobarbitone and/or potassium bromide. *J Small Anim Pract* 2006; 47: 574-81.

Chawla S, Aneja S, Kashyap R, Mallika V. Etiology and clinical predictors of intractable epilepsy. *Pediatr Neurol* 2002; 27: 186-91.

Chen L, Liu CQ, Hu Y, Xiao ZT, Chen Y, Liao JX. Association of a polymorphism in MDR1 C3435T with response to antiepileptic drug treatment in ethnic Han Chinese children with epilepsy. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi* 2007; 9: 11-4.

Clark LA, Wahl JM, Rees CA, Murphy KE. Retrotransposon insertion in SILV is responsible for merle patterning of the domestic dog. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 1376-81.

Cockerell OC, Johnson AL, Sander JW, Hart YM, Shorvon SD. Remission of epilepsy: results from the National General Practice Study of Epilepsy. *Lancet* 1995; 346: 140-4.

Combi R, Grioni D, Contri M, Redaelli S, Redaelli F, Bassi MT, Barisani D,

Lavitrano ML, Tredici G, Tenchini ML, Bertolini M, Dalpra L. Clinical and genetic familial study of a large cohort of Italian children with idiopathic epilepsy. *Brain Res Bull* 2009; 79: 89-96.

Cramer JA, French J. Quantitative assessment of seizure severity for clinical trials: a review of approaches to seizure components. *Epilepsia* 2001; 42: 119-29.

Cunningham JG, Farnbach GC. Inheritance and canine idiopathic epilepsy. *J Am Anim Hosp Assoc* 1988; 24: 421-4.

De Lahunta A, Glass E. *Veterinary Neuroanatomy And Clinical Neurology.*, 3rd edn. . St. Louis: Saunders Elsevier; 2009: 454-75.

De Risio L, Lewis T, Freeman J, de Stefani A, Matiasek L, Blott S. Prevalence, heritability and genetic correlations of congenital sensorineural deafness and pigmentation phenotypes in the Border Collie. *Vet J* 2011; 188: 286-90.

Devinsky O, Gazzola D, LaFrance WC, Jr. Differentiating between nonepileptic and epileptic seizures. *Nat Rev Neurol* 2011; 7: 210-20.

Dewey CW, Guiliano R, Boothe DM, Berg JM, Kortz GD, Joseph RJ, Budsberg SC. Zonisamide therapy for refractory idiopathic epilepsy in dogs. *J Am Anim Hosp Assoc* 2004; 40: 285-91.

Dewey CW. Anticonvulsant therapy in dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2006; 36: 1107-27.

Dewey CW, Cerda-Gonzalez S, Levine JM, Badgley BL, Ducote JM, Silver GM, Cooper JJ, Packer RA, Lavelly JA. Pregabalin as an adjunct to phenobarbital, potassium bromide, or a combination of phenobarbital and potassium bromide for treatment of dogs with suspected idiopathic epilepsy. *J Am Vet Med Assoc* 2009; 235: 1442-9.

Dodman NH, Miczek KA, Knowles K, Thalhammer JG, Shuster L. Phenobarbital-responsive episodic dyscontrol (rage) in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1992; 201: 1580-3.

Dodman NH, Knowles KE, Shuster L, Moon-Fanelli AA, Tidwell AS, Keen CL. Behavioral changes associated with suspected complex partial seizures in bull terriers. *J Am Vet Med Assoc* 1996; 208: 688-091.

Dombrowski SM, Desai SY, Marroni M, Cucullo L, Goodrich K, Bingaman W, Mayberg MR, Bengez L, Janigro D. Overexpression of multiple drug resistance genes in endothelial cells from patients with refractory epilepsy. *Epilepsia* 2001; 42: 1501-6.

Du J, Miller AJ, Widlund HR, Horstmann MA, Ramaswamy S, Fisher DE. MLANA/MART1 and SILV/PMEL17/GP100 are transcriptionally regulated by MITF in melanocytes and melanoma. *Am J Pathol* 2003; 163: 333-43.

Edmonds HL, Jr., Hegreberg GA, vanGelder NM, Sylvester DM, Clemmons RM, Chatburn CG. Spontaneous convulsions in beagle dogs. *Fed Proc* 1979; 38: 2424-8.

Ekenstedt KJ, Patterson EE, Minor KM, Mickelson JR. Candidate genes for idiopathic epilepsy in four dog breeds. *BMC Genet* 2011; 12: 38.

Engel J, Jr. A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy: report of the ILAE Task Force on Classification and Terminology. *Epilepsia* 2001; 42: 796-803.

Engel J, Jr. Report of the ILAE classification core group. *Epilepsia* 2006; 47: 1558-68.

Falco MJ, Barker J, Wallace ME. The genetics of epilepsy in the British Alsatian. *J Small Anim Pract* 1974; 15: 685-92.

Famula TR, Oberbauer AM, Brown KN. Heritability of epileptic seizures in the Belgian terrier. *J Small Anim Pract* 1997; 38: 349-52.

Famula TR, Oberbauer AM. Segregation analysis of epilepsy in the Belgian terrier dog. *Vet Rec* 2000; 147: 218-21.

Farnbach GC. Serum concentrations and efficacy of phenytoin, phenobarbital, and primidone in canine epilepsy. *J Am Vet Med Assoc* 1984; 184: 1117-20.

Faught E, Duh MS, Weiner JR, Guerin A, Cunnington MC. Nonadherence to antiepileptic drugs and increased mortality: findings from the RANSOM Study. *Neurology* 2008; 71: 1572-8.

Fischer A. Seizure disorders in the dog. 1. Clinical features and differential diagnosis. *Tierarztl Prax* 1995; 23: 596-602.

Fisher RS, van Emde Boas W, Blume W, Elger C, Genton P, Lee P, Engel J, Jr. Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia* 2005; 46: 470-2.

Forsgren L, Hauser WA, Olafsson E, Sander JW, Sillanpaa M, Tomson T. Mortality of epilepsy in developed countries: a review. *Epilepsia* 2005; 46 Suppl 11: 18-27.

French JA. Refractory epilepsy: one size does not fit all. *Epilepsy Curr* 2006; 6: 177-80.

French JA. Refractory epilepsy: clinical overview. *Epilepsia* 2007; 48 Suppl 1: 3-7.

Frey HH, Kampmann E, Nielsen CK. Study on combined treatment with phenobarbital and diphenylhydantoin. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)* 1968;

26: 284-92.

Gastens AM, Brandt C, Bankstahl JP, Löscher W. Predictors of pharmacoresistant epilepsy: pharmacoresistant rats differ from pharmacoresponsive rats in behavioral and cognitive abnormalities associated with experimentally induced epilepsy. *Epilepsia* 2008; 49: 1759-76.

Gelatt KN, Veith LA. Hereditary multiple ocular anomalies in Australian shepherd dogs. (preliminary report). *Vet Med Small Anim Clin* 1970; 65: 39-42.

Gelatt KN, McGill LD. Clinical characteristics of microphthalmia with colobomas of the Australian Shepherd Dog. *J Am Vet Med Assoc* 1973; 162: 393-6.

Gelatt KN, Powell NG, Huston K. Inheritance of microphthalmia with coloboma in the Australian shepherd dog. *Am J Vet Res* 1981; 42: 1686-90.

Geyer J, Doring B, Godoy JR, Leidolf R, Moritz A, Petzinger E. Frequency of the nt230 (del4) MDR1 mutation in Collies and related dog breeds in Germany. *J Vet Pharmacol Ther* 2005; 28: 545-51.

Gibbon KJ, Trepanier LA, Delaney FA. Phenobarbital-responsive ptyalism, dysphagia, and apparent esophageal spasm in a German shepherd puppy. *J Am Anim Hosp Assoc* 2004; 40: 230-7.

Gramer I, Leidolf R, Doring B, Klintzsch S, Kramer EM, Yalcin E, Petzinger E, Geyer J. Breed distribution of the nt230(del4) MDR1 mutation in dogs. *Vet J* 2011; 189: 67-71.

Guerrini R, Cellini E, Mei D, Metitieri T, Petrelli C, Pucatti D, Marini C, Zamponi N. Variable epilepsy phenotypes associated with a familial intragenic deletion of the SCN1A gene. *Epilepsia* 2010; 51: 2474-7.

Haerian BS, Roslan H, Raymond AA, Tan CT, Lim KS, Zulkifli SZ, Mohamed

EH, Tan HJ, Mohamed Z. ABCB1 C3435T polymorphism and the risk of resistance to antiepileptic drugs in epilepsy: a systematic review and meta-analysis. *Seizure* 2010; 19: 339-46.

Haerian BS, Lim KS, Mohamed EH, Tan HJ, Tan CT, Raymond AA, Wong CP, Wong SW, Mohamed Z. Lack of association of ABCB1 haplotypes on five loci with response to treatment in epilepsy. *Seizure* 2011; 20: 546-53.

Hall SJ, Wallace ME. Canine epilepsy: a genetic counselling programme for keeshonds. *Vet Rec* 1996; 138: 358-60.

Handoko KB, Zwart-van Rijkom JE, Hermens WA, Souverein PC, Egberts TC. Changes in medication associated with epilepsy-related hospitalisation: a case-crossover study. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2007; 16: 189-96.

Handoko KB, Zwart-van Rijkom JE, Visee HF, Hermens WA, Hekster YA, Egberts TC. Drug treatment-related factors of inadequate seizure control. *Epilepsy Behav* 2008; 13: 545-8.

Hao XT, Wong IS, Kwan P. Interrater reliability of the international consensus definition of drug-resistant epilepsy: A pilot study. *Epilepsy Behav* 2011; 22: 388-90.

Hedan B, Corre S, Hitte C, Dreano S, Vilboux T, Derrien T, Denis B, Galibert F, Galibert MD, Andre C. Coat colour in dogs: identification of the merle locus in the Australian shepherd breed. *BMC Vet Res* 2006; 2: 9.

Heynold Y, Faissler D, Steffen F, Jaggy A. Clinical, epidemiological and treatment results of idiopathic epilepsy in 54 labrador retrievers: a long-term study. *J Small Anim Pract* 1997; 38: 7-14.

Hitiris N, Mohanraj R, Norrie J, Sills GJ, Brodie MJ. Predictors of pharmaco-resistant epilepsy. *Epilepsy Res* 2007; 75: 192-6.

Holliday TA, Williams DC. Interictal paroxysmal discharges in the electroencephalograms of epileptic dogs. *Clin Tech Small Anim Pract* 1998; 13: 132-43.

Hughes J, Devinsky O, Feldmann E, Bromfield E. Premonitory symptoms in epilepsy. *Seizure* 1993; 2: 201-3.

Hülsmeier V, Zimmermann R, Brauer C, Sauter-Louis C, Fischer A. Epilepsy in Border Collies: clinical manifestation, outcome, and mode of inheritance. *J Vet Intern Med* 2010; 24: 171-8.

Hung CC, Tai JJ, Lin CJ, Lee MJ, Liou HH. Complex haplotypic effects of the ABCB1 gene on epilepsy treatment response. *Pharmacogenomics* 2005; 6: 411-7.

ILAE. Proposal for revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures. From the Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. *Epilepsia* 1981; 22: 489-501.

ILAE. Proposal for classification of epilepsies and epileptic syndromes. Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. *Epilepsia* 1985; 26: 268-78.

ILAE. Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. *Epilepsia* 1989; 30: 389-99.

Jaggy A, Faissler D, Gaillard C, Srenk P, Graber H. Genetic aspects of idiopathic epilepsy in Labrador retrievers. *J Small Anim Pract* 1998; 39: 275-80.

Jaggy A, Bernardini M. Idiopathic epilepsy in 125 dogs: a long-term study. Clinical and electroencephalographic findings. *J Small Anim Pract* 1998; 39: 23-9.

Jambroszyk M, Tipold A, Potschka H. Add-on treatment with verapamil in pharmaco-resistant canine epilepsy. *Epilepsia* 2011; 52: 284-91.

James FM, Allen DG, Bersenas AM, Grovum WL, Kerr CL, Monteith G, Parent JM, Poma R. Investigation of the use of three electroencephalographic electrodes for long-term electroencephalographic recording in awake and sedated dogs. *Am J Vet Res* 2011; 72: 384-90.

Jensen FE. Epilepsy as a spectrum disorder: Implications from novel clinical and basic neuroscience. *Epilepsia* 2011; 52 Suppl 1: 1-6.

Jokinen TS, Metsahonkala L, Bergamasco L, Viitmaa R, Syrja P, Lohi H, Snellman M, Jeserevics J, Cizinauskas S. Benign familial juvenile epilepsy in Lagotto Romagnolo dogs. *J Vet Intern Med* 2007; 21: 464-71.

Jull P, Risio LD, Horton C, Volk HA. Effect of prolonged status epilepticus as a result of intoxication on epileptogenesis in a UK canine population. *Vet Rec* 2011; 169: 361.

Kanich W, Brady WJ, Huff JS, Perron AD, Holstege C, Lindbeck G, Carter CT. Altered mental status: evaluation and etiology in the ED. *Am J Emerg Med* 2002; 20: 613-7.

Kanner AM, Soto A, Gross-Kanner H. Prevalence and clinical characteristics of postictal psychiatric symptoms in partial epilepsy. *Neurology* 2004; 62: 708-13.

Karlsson AC, Kerje S, Andersson L, Jensen P. Genotype at the PMEL17 locus affects social and explorative behaviour in chickens. *Br Poult Sci* 2010; 51: 170-7.

Kasperaviciute D, Catarino CB, Heinzen EL, Depondt C, Cavalleri GL, Caboclo LO, Tate SK, Jamnadas-Khoda J, Chinthapalli K, Clayton LM, Shianna KV, Radtke RA, Mikati MA, Gallentine WB, Husain AM, Alhusaini S, Leppert D, Middleton LT, Gibson RA, Johnson MR, Matthews PM, Hosford D, Heuser K,

Amos L, Ortega M, Zumsteg D, Wieser HG, Steinhoff BJ, Kramer G, Hansen J, Dorn T, Kantanen AM, Gjerstad L, Peuralinna T, Hernandez DG, Eriksson KJ, Kalviainen RK, Doherty CP, Wood NW, Pandolfo M, Duncan JS, Sander JW, Delanty N, Goldstein DB, Sisodiya SM. Common genetic variation and susceptibility to partial epilepsies: a genome-wide association study. *Brain* 2010; 133: 2136-47.

Kathmann I, Jaggy A, Busato A, Bartschi M, Gaillard C. Clinical and genetic investigations of idiopathic epilepsy in the Bernese mountain dog. *J Small Anim Pract* 1999; 40: 319-25.

Katz ML, Farias FH, Sanders DN, Zeng R, Khan S, Johnson GS, O'Brien DP. A missense mutation in canine CLN6 in an Australian shepherd with neuronal ceroid lipofuscinosis. *J Biomed Biotechnol* 2011; 2011: 198042.

Kennerly EM, Idaghdour Y, Olby NJ, Muñana KR, Gibson G. Pharmacogenetic association study of 30 genes with phenobarbital drug response in epileptic dogs. *Pharmacogenet Genomics* 2009; 19: 911-22.

Kim DW, Kim M, Lee SK, Kang R, Lee SY. Lack of association between C3435T nucleotide MDR1 genetic polymorphism and multidrug-resistant epilepsy. *Seizure* 2006; 15: 344-7.

Kloene A, Sewell A, Hamann H, Distl O, Tipold A. Klinische Untersuchung zu Krampfanfällen bei Border Terriern. *Kleintierpraxis* 2008; 53: 5-12.

Knowles K. Idiopathic epilepsy. *Clin Tech Small Anim Pract* 1998; 13: 144-51.

Krauss G, Theodore WH. Treatment strategies in the postictal state. *Epilepsy Behav* 2010; 19: 188-90.

Kwan P, Brodie MJ. Early identification of refractory epilepsy. *N Engl J Med* 2000; 342: 314-9.

Kwan P, Brodie MJ. Effectiveness of first antiepileptic drug. *Epilepsia* 2001; 42: 1255-60.

Kwan P, Brodie MJ. Refractory epilepsy: mechanisms and solutions. *Expert Rev Neurother* 2006; 6: 397-406.

Kwan P, Baum L, Wong V, Ng PW, Lui CH, Sin NC, Hui AC, Yu E, Wong LK. Association between ABCB1 C3435T polymorphism and drug-resistant epilepsy in Han Chinese. *Epilepsy Behav* 2007; 11: 112-7.

Kwan P, Arzimanoglou A, Berg AT, Brodie MJ, Allen Hauser W, Mathern G, Moshe SL, Perucca E, Wiebe S, French J. Definition of drug resistant epilepsy: consensus proposal by the ad hoc Task Force of the ILAE Commission on Therapeutic Strategies. *Epilepsia* 2010; 51: 1069-77.

Kwon BS, Chintamaneni C, Kozak CA, Copeland NG, Gilbert DJ, Jenkins N, Barton D, Francke U, Kobayashi Y, Kim KK. A melanocyte-specific gene, *Pmel* 17, maps near the silver coat color locus on mouse chromosome 10 and is in a syntenic region on human chromosome 12. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991; 88: 9228-32.

Lakhan R, Misra UK, Kalita J, Pradhan S, Gogtay NJ, Singh MK, Mittal B. No association of ABCB1 polymorphisms with drug-refractory epilepsy in a north Indian population. *Epilepsy Behav* 2009; 14: 78-82.

Levitski RE, Trepanier LA. Effect of timing of blood collection on serum phenobarbital concentrations in dogs with epilepsy. *J Am Vet Med Assoc* 2000; 217: 200-4.

Licht BG, Licht MH, Harper KM, Lin S, Curtin JJ, Hyson LL, Willard K. Clinical presentations of naturally occurring canine seizures: similarities to human seizures. *Epilepsy Behav* 2002; 3: 460-70.

Licht BG, Lin S, Luo Y, Hyson LL, Licht MH, Harper KM, Sullivan SA, Fernandez SA, Johnston EV. Clinical characteristics and mode of inheritance of familial focal seizures in Standard Poodles. *J Am Vet Med Assoc* 2007; 231: 1520-8.

Lin JY, Fisher DE. Melanocyte biology and skin pigmentation. *Nature* 2007; 445: 843-50.

Lindsten H, Nystrom L, Forsgren L. Mortality risk in an adult cohort with a newly diagnosed unprovoked epileptic seizure: a population-based study. *Epilepsia* 2000; 41: 1469-73.

Liu X, Yang Z, Yang J, Yang H. Increased P-glycoprotein expression and decreased phenobarbital distribution in the brain of pentylenetetrazole-kindled rats. *Neuropharmacology* 2007; 53: 657-63.

Liu XZ, Newton VE, Read AP. Waardenburg syndrome type II: phenotypic findings and diagnostic criteria. *Am J Med Genet* 1995; 55: 95-100.

Lohi H, Young EJ, Fitzmaurice SN, Rusbridge C, Chan EM, Vervoort M, Turnbull J, Zhao XC, Ianzano L, Paterson AD, Sutter NB, Ostrander EA, Andre C, Shelton GD, Ackerley CA, Scherer SW, Minassian BA. Expanded repeat in canine epilepsy. *Science* 2005; 307: 81.

Loiseau J, Picot MC, Loiseau P. Short-term mortality after a first epileptic seizure: a population-based study. *Epilepsia* 1999; 40: 1388-92.

Lombardo L, Pellitteri R, Balazy M, Cardile V. Induction of nuclear receptors and drug resistance in the brain microvascular endothelial cells treated with antiepileptic drugs. *Curr Neurovasc Res* 2008; 5: 82-92.

Lord LK, Podell M. Owner perception of the care of long-term phenobarbital-treated epileptic dogs. *J Small Anim Pract* 1999; 40: 11-5.

Löscher W. Pharmakologische Grundlagen zur Behandlung von Epilepsie bei Hund und Katze. *Prakt Tierarzt* 2003; 84: 574-86.

Löscher W, Potschka H. Drug resistance in brain diseases and the role of drug efflux transporters. *Nat Rev Neurosci* 2005; 6: 591-602.

Löscher W. Mechanisms of drug resistance in status epilepticus. *Epilepsia* 2007; 48 Suppl 8: 74-7.

Löscher W, Delanty N. MDR1/ABCB1 polymorphisms and multidrug resistance in epilepsy: in and out of fashion. *Pharmacogenomics* 2009; 10: 711-3.

Löscher W, Brandt C. High seizure frequency prior to antiepileptic treatment is a predictor of pharmaco-resistant epilepsy in a rat model of temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 2010; 51: 89-97.

Löscher W, Luna-Tortós C, Römermann K, Fedrowitz M. Do ABC Transporters Cause Pharmaco-resistance in Epilepsy? Problems and Approaches in Determining which Antiepileptic Drugs are Affected. *Curr Pharm Des* 2011: Epub ahead of print.

Luna-Tortós C, Fedrowitz M, Löscher W. Several major antiepileptic drugs are substrates for human P-glycoprotein. *Neuropharmacology* 2008; 55: 1364-75.

MacDonald BK, Johnson AL, Goodridge DM, Cockerell OC, Sander JW, Shorvon SD. Factors predicting prognosis of epilepsy after presentation with seizures. *Ann Neurol* 2000; 48: 833-41.

Maiwald T, Blumberg J, Timmer J, Schulze-Bonhage A. Are prodromes preictal events? A prospective PDA-based study. *Epilepsy Behav* 2011; 21: 184-8.

March PA. Seizures: classification, etiologies, and pathophysiology. *Clin Tech Small Anim Pract* 1998; 13: 119-31.

Mari F, Di Bonaventura C, Vanacore N, Fattouch J, Vaudano AE, Egeo G, Berardelli A, Manfredi M, Prencipe M, Giallonardo AT. Video-EEG study of psychogenic nonepileptic seizures: differential characteristics in patients with and without epilepsy. *Epilepsia* 2006; 47 Suppl 5: 64-7.

Martinez M. Clinical and diagnostic characteristics in status epilepticus. *Neurologia* 1997; 12 Suppl 6: 25-30.

McTague A, Appleton R. Episodic dyscontrol syndrome. *Arch Dis Child* 2010; 95: 841-2.

Mealey KL, Bentjen SA, Gay JM, Cantor GH. Ivermectin sensitivity in collies is associated with a deletion mutation of the *mdr1* gene. *Pharmacogenetics* 2001; 11: 727-33.

Mealey KL, Munyard KA, Bentjen SA. Frequency of the mutant MDR1 allele associated with multidrug sensitivity in a sample of herding breed dogs living in Australia. *Vet Parasitol* 2005; 131: 193-6.

Mealey KL, Meurs KM. Breed distribution of the ABCB1-1Delta (multidrug sensitivity) polymorphism among dogs undergoing ABCB1 genotyping. *J Am Vet Med Assoc* 2008; 233: 921-4.

Mellersh CS, McLaughlin B, Ahonen S, Pettitt L, Lohi H, Barnett KC. Mutation in HSF4 is associated with hereditary cataract in the Australian Shepherd. *Vet Ophthalmol* 2009; 12: 372-8.

Miller RM. The Australian Shepherd Dog. *J Am Vet Med Assoc* 1976; 172: 893-4.

Monaghan TS, Delanty N. Lafora disease: epidemiology, pathophysiology and management. *CNS Drugs* 2010; 24: 549-61.

Monteiro R, Anderson TJ, Innocent G, Evans NP, Penderis J. Variations in serum concentration of phenobarbitone in dogs receiving regular twice daily doses in relation to the times of administration. *Vet Rec* 2009; 165: 556-8.

Moon-Fanelli AA, Dodman NH, Famula TR, Cottam N. Characteristics of compulsive tail chasing and associated risk factors in Bull Terriers. *J Am Vet Med Assoc* 2011; 238: 883-9.

Moore SA, Muñana KR, Papich MG, Nettifee-Osborne JA. The pharmacokinetics of levetiracetam in healthy dogs concurrently receiving phenobarbital. *J Vet Pharmacol Ther* 2011; 34: 31-4.

Morita T, Shimada A, Takeuchi T, Hikasa Y, Sawada M, Ohiwa S, Takahashi M, Kubo N, Shibahara T, Miyata H, Ohama E. Cliniconeuropathologic findings of familial frontal lobe epilepsy in Shetland sheepdogs. *Can J Vet Res* 2002; 66: 35-41.

Morton DJ, Honhold N. Effectiveness of a therapeutic drug monitoring service as an aid to the control of canine seizures. *Vet Rec* 1988; 122: 346-9.

Mostacci B, Bisulli F, Alvisi L, Licchetta L, Baruzzi A, Tinuper P. Ictal characteristics of psychogenic nonepileptic seizures: What we have learned from video/EEG recordings-A literature review. *Epilepsy Behav* 2011; 22: 144-53.

Mula M, Marotta AE, Monaco F. Epilepsy and bipolar disorders. *Expert Rev Neurother* 2010; 10: 13-23.

Muñana K, Nettifee-Osborne J, Bergmann JR (2010) Association between the ABCB1 (*MDR1*) gene and seizure control in canine epilepsy. In: *ACVIM Abstracts*, Anaheim, USA

Munyard KA, Sherry CR, Sherry L. A retrospective evaluation of congenital ocular defects in Australian Shepherd dogs in Australia. *Vet Ophthalmol* 2007;

10: 19-22.

Nair PP, Kalita J, Misra UK. Status epilepticus: Why, what, and how. *J Postgrad Med* 2011; 57: 242-52.

Nätt D, Kerje S, Andersson L, Jensen P. Plumage color and feather pecking--behavioral differences associated with PMEL17 genotypes in chicken (*Gallus gallus*). *Behav Genet* 2007; 37: 399-407.

Neff MW, Robertson KR, Wong AK, Safra N, Broman KW, Slatkin M, Mealey KL, Pedersen NC. Breed distribution and history of canine *mdr1-1Delta*, a pharmacogenetic mutation that marks the emergence of breeds from the collie lineage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 11725-30.

Neligan A, Bell GS, Johnson AL, Goodridge DM, Shorvon SD, Sander JW. The long-term risk of premature mortality in people with epilepsy. *Brain* 2011; 134: 388-95.

Nurmohamed L, Garcia-Bournissen F, Buono RJ, Shannon MW, Finkelstein Y. Predisposition to epilepsy--does the *ABCB1* gene play a role? *Epilepsia* 2010; 51: 1882-5.

O'Brien DP, Katz ML. Neuronal ceroid lipofuscinosis in 3 Australian shepherd littermates. *J Vet Intern Med* 2008; 22: 472-5.

Oberbauer AM, Grossman DI, Irion DN, Schaffer AL, Eggleston ML, Famula TR. The genetics of epilepsy in the Belgian tervuren and sheepdog. *J Hered* 2003; 94: 57-63.

Oberbauer AM, Belanger JM, Grossman DI, Regan KR, Famula TR. Genome-wide linkage scan for loci associated with epilepsy in Belgian shepherd dogs. *BMC Genet* 2010; 11: 35.

Olafsson E, Hauser WA, Gudmundsson G. Long-term survival of people with unprovoked seizures: a population-based study. *Epilepsia* 1998; 39: 89-92.

Ozgon GO, Bebek N, Gul G, Cine N. Association of MDR1 (C3435T) polymorphism and resistance to carbamazepine in epileptic patients from Turkey. *Eur Neurol* 2008; 59: 67-70.

Pakozdy A, Leschnik M, Tichy AG, Thalhammer JG. Retrospective clinical comparison of idiopathic versus symptomatic epilepsy in 240 dogs with seizures. *Acta Vet Hung* 2008; 56: 471-83.

Patsalos PN, Fröscher W, Pisani F, van Rijn CM. The importance of drug interactions in epilepsy therapy. *Epilepsia* 2002; 43: 365-85.

Patterson EE, Mickelson JR, Da Y, Roberts MC, McVey AS, O'Brien DP, Johnson GS, Armstrong PJ. Clinical characteristics and inheritance of idiopathic epilepsy in Vizslas. *J Vet Intern Med* 2003; 17: 319-25.

Patterson EE, Armstrong PJ, O'Brien DP, Roberts MC, Johnson GS, Mickelson JR. Clinical description and mode of inheritance of idiopathic epilepsy in English springer spaniels. *J Am Vet Med Assoc* 2005; 226: 54-8.

Pavlovic M, Jovic N, Pekmezovic T. Antiepileptic drugs withdrawal in patients with idiopathic generalized epilepsy. *Seizure* 2011; 20: 520-5.

Pekcec A, Unkrüer B, Stein V, Bankstahl JP, Soerensen J, Tipold A, Baumgärtner W, Potschka H. Over-expression of P-glycoprotein in the canine brain following spontaneous status epilepticus. *Epilepsy Res* 2009; 83: 144-51.

Picot MC, Baldy-Moulinier M, Daures JP, Dujols P, Crespel A. The prevalence of epilepsy and pharmacoresistant epilepsy in adults: a population-based study in a Western European country. *Epilepsia* 2008; 49: 1230-8.

Pingault V, Ente D, Dastot-Le Moal F, Goossens M, Marlin S, Bondurand N. Review and update of mutations causing Waardenburg syndrome. *Hum Mutat* 2010; 31: 391-406.

Platt S, Freeman J, di Stefani A, Wieczorek L, Henley W. Prevalence of unilateral and bilateral deafness in border collies and association with phenotype. *J Vet Intern Med* 2006a; 20: 1355-62.

Platt SR, Haag M. Canine status epilepticus: a retrospective study of 50 cases. *J Small Anim Pract* 2002; 43: 151-3.

Platt SR, Adams V, Garosi LS, Abramson CJ, Penderis J, De Stefani A, Matiasek L. Treatment with gabapentin of 11 dogs with refractory idiopathic epilepsy. *Vet Rec* 2006b; 159: 881-4.

Plonka PM, Passeron T, Brenner M, Tobin DJ, Shibahara S, Thomas A, Slominski A, Kadarko AL, Hershkovitz D, Peters E, Nordlund JJ, Abdel-Malek Z, Takeda K, Paus R, Ortonne JP, Hearing VJ, Schallreuter KU. What are melanocytes really doing all day long...? *Exp Dermatol* 2009; 18: 799-819.

Podell M, Fenner WR, Powers JD. Seizure classification in dogs from a nonreferral-based population. *J Am Vet Med Assoc* 1995; 206: 1721-8.

Podell M. Seizures in dogs. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1996; 26: 779-809.

Podell M. Epilepsy and seizure classification: a lesson from Leonardo. *J Vet Intern Med* 1999; 13: 3-4.

Podell M. Seizures. In: *BSAVA Manual of Canine and Feline Neurology*, 3rd edn. Platt S R, Olby N J, eds. Gloucester: British Small Animal Veterinary Association; 2004: 97-112.

Poma R, Ochi A, Cortez MA. Absence seizures with myoclonic features in a juvenile Chihuahua dog. *Epileptic Disord* 2010; 12: 138-41.

Potschka H, Volk HA, Löscher W. Pharmacoresistance and expression of multidrug transporter P-glycoprotein in kindled rats. *Neuroreport* 2004; 15: 1657-61.

Potschka H, Volk H, Pekcec A. Aktueller Stand und Trends in der Epilepsitherapie bei Hund und Katze. *Tierärztl Praxis* 2009; 37: 211-7.

Potschka H. Modulating P-glycoprotein regulation: future perspectives for pharmacoresistant epilepsies? *Epilepsia* 2010; 51: 1333-47.

Pozo-Alonso AJ, Pozo-Lauzan D, Pozo-Alonso D. Idiopathic partial epilepsy syndromes. *Rev Neurol* 2001; 33: 1064-70.

Pulliam JD, Seward RL, Henry RT, Steinberg SA. Investigating ivermectin toxicity in collies. *Vet Med* 1985; 7: 33-40.

Qin P, Xu H, Laursen TM, Vestergaard M, Mortensen PB. Risk for schizophrenia and schizophrenia-like psychosis among patients with epilepsy: population based cohort study. *BMJ* 2005; 331: 23.

Rajna P, Clemens B, Csibri E, Dobos E, Geregely A, Gottschal M, Gyorgy I, Horvath A, Horvath F, Mezofi L, Velkey I, Veres J, Wagner E. Hungarian multicentre epidemiologic study of the warning and initial symptoms (prodrome, aura) of epileptic seizures. *Seizure* 1997; 6: 361-8.

Rapp S, Shumaker S, Smith T, Gibson P, Berzon R, Hoffman R. Adaptation and evaluation of the Liverpool Seizure Severity Scale and Liverpool Quality of Life battery for American epilepsy patients. *Qual Life Res* 1998; 7: 353-63.

Read AP, Newton VE. Waardenburg syndrome. *J Med Genet* 1997; 34: 656-65.

Reisner IR, Houpt KA, Shofer FS. National survey of owner-directed aggression in English Springer Spaniels. *J Am Vet Med Assoc* 2005; 227: 1594-603.

Remi J, Noachtar S. Clinical features of the postictal state: correlation with seizure variables. *Epilepsy Behav* 2010; 19: 114-7.

Remillard GM, Andermann F, Gloor P, Olivier A, Martin JB. Water-drinking as ictal behavior in complex partial seizures. *Neurology* 1981; 31: 117-24.

Remy S, Gabriel S, Urban BW, Dietrich D, Lehmann TN, Elger CE, Heinemann U, Beck H. A novel mechanism underlying drug resistance in chronic epilepsy. *Ann Neurol* 2003a; 53: 469-79.

Remy S, Urban BW, Elger CE, Beck H. Anticonvulsant pharmacology of voltage-gated Na⁺ channels in hippocampal neurons of control and chronically epileptic rats. *Eur J Neurosci* 2003b; 17: 2648-58.

Rieck S, Rundfeldt C, Tipold A. Anticonvulsant activity and tolerance of ELB138 in dogs with epilepsy: a clinical pilot study. *Vet J* 2006; 172: 86-95.

Rogawski MA, Johnson MR. Intrinsic severity as a determinant of antiepileptic drug refractoriness. *Epilepsy Curr* 2008; 8: 127-30.

Roulet A, Puel O, Gesta S, Lepage JF, Drag M, Soll M, Alvinerie M, Pineau T. MDR1-deficient genotype in Collie dogs hypersensitive to the P-glycoprotein substrate ivermectin. *Eur J Pharmacol* 2003; 460: 85-91.

Ruehlmann D, Podell M, March P. Treatment of partial seizures and seizure-like activity with felbamate in six dogs. *J Small Anim Pract* 2001; 42: 403-8.

Sachdev PS. Alternating and postictal psychoses: review and a unifying hypothesis. *Schizophr Bull* 2007; 33: 1029-37.

Saito M, Muñana KR, Sharp NJ, Olby NJ. Risk factors for development of status epilepticus in dogs with idiopathic epilepsy and effects of status epilepticus on outcome and survival time: 32 cases (1990-1996). *J Am Vet Med Assoc* 2001; 219: 618-23.

Scantlebury MH, Galanopoulou AS, Chudomelova L, Raffo E, Betancourth D, Moshe SL. A model of symptomatic infantile spasms syndrome. *Neurobiol Dis* 2010; 37: 604-12.

Scaramelli A, Braga P, Avellanal A, Bogacz A, Camejo C, Rega I, Messano T, Arciere B. Prodromal symptoms in epileptic patients: clinical characterization of the pre-ictal phase. *Seizure* 2009; 18: 246-50.

Schmidt D, Haenel F. Therapeutic plasma levels of phenytoin, phenobarbital, and carbamazepine: individual variation in relation to seizure frequency and type. *Neurology* 1984; 34: 1252-5.

Schmidt D, Löscher W. Drug resistance in epilepsy: putative neurobiologic and clinical mechanisms. *Epilepsia* 2005; 46: 858-77.

Schmidt D, Löscher W. New developments in antiepileptic drug resistance: an integrative view. *Epilepsy Curr* 2009; 9: 47-52.

Schmutz SM, Moker JS, Berryere TG, Christison KM, Dolf G. A SNP is used to map MC1R to dog chromosome 5. *Anim Genet* 2001; 32: 43-4.

Schmutz SM, Berryere TG, Goldfinch AD. TYRP1 and MC1R genotypes and their effects on coat color in dogs. *Mamm Genome* 2002; 13: 380-7.

Schmutz SM, Berryere TG. Genes affecting coat colour and pattern in domestic dogs: a review. *Anim Genet* 2007; 38: 539-49.

Schneider BM, Dodman NH, Faissler D, Ogata N. Clinical use of an herbal-

derived compound (Huperzine A) to treat putative complex partial seizures in a dog. *Epilepsy Behav* 2009; 15: 529-34.

Schulze-Bonhage A, Kurth C, Carius A, Steinhoff BJ, Mayer T. Seizure anticipation by patients with focal and generalized epilepsy: a multicentre assessment of premonitory symptoms. *Epilepsy Res* 2006; 70: 83-8.

Schwartz-Porsche D, Löscher W, Frey HH. Treatment of canine epilepsy with primidone. *J Am Vet Med Assoc* 1982; 181: 592-5.

Schwartz-Porsche D, Löscher W, Frey HH. Therapeutic efficacy of phenobarbital and primidone in canine epilepsy: a comparison. *J Vet Pharmacol Ther* 1985; 8: 113-9.

Schwartz-Porsche D, Jürgens U. Effectiveness of bromide in therapy resistant epilepsy of dogs. *Tierarztl Prax* 1991; 19: 395-401.

Seo T, Ishitsu T, Ueda N, Nakada N, Yurube K, Ueda K, Nakagawa K. ABCB1 polymorphisms influence the response to antiepileptic drugs in Japanese epilepsy patients. *Pharmacogenomics* 2006; 7: 551-61.

Seppälä EH, Jokinen TS, Fukata M, Fukata Y, Webster MT, Karlsson EK, Kilpinen SK, Steffen F, Dietschi E, Leeb T, Eklund R, Zhao X, Rilstone JJ, Lindblad-Toh K, Minassian BA, Lohi H. LGI2 truncation causes a remitting focal epilepsy in dogs. *PLoS Genet* 2011; 7: e1002194.

Shahwan A, Murphy K, Doherty C, Cavalleri GL, Muckian C, Dicker P, McCarthy M, Kinirons P, Goldstein D, Delanty N. The controversial association of ABCB1 polymorphisms in refractory epilepsy: an analysis of multiple SNPs in an Irish population. *Epilepsy Res* 2007; 73: 192-8.

Sharp CA. Color Clashes: The Unrecognized Aussie Coat Colors. *Double Helix Network News* 1996; 4

Shihab N, Bowen J, Volk HA. Behavioral changes in dogs associated with the development of idiopathic epilepsy. *Epilepsy Behav* 2011; 21: 160-7.

Short AD, Dunne A, Lohi H, Boulton S, Carter SD, Timofte D, Ollier WE. Characteristics of epileptic episodes in UK dog breeds: an epidemiological approach. *Vet Rec* 2011; 169: 48.

Siddiqui A, Kerb R, Weale ME, Brinkmann U, Smith A, Goldstein DB, Wood NW, Sisodiya SM. Association of multidrug resistance in epilepsy with a polymorphism in the drug-transporter gene ABCB1. *N Engl J Med* 2003; 348: 1442-8.

Sillanpää M, Schmidt D. Early seizure frequency and aetiology predict long-term medical outcome in childhood-onset epilepsy. *Brain* 2009; 132: 989-98.

Sills GJ, Mohanraj R, Butler E, McCrindle S, Collier L, Wilson EA, Brodie MJ. Lack of association between the C3435T polymorphism in the human multidrug resistance (MDR1) gene and response to antiepileptic drug treatment. *Epilepsia* 2005; 46: 643-7.

Sinha S, Siddiqui KA. Definition of intractable epilepsy. *Neurosciences (Riyadh)* 2011; 16: 3-9.

Sisodiya SM, Lin WR, Harding BN, Squier MV, Thom M. Drug resistance in epilepsy: expression of drug resistance proteins in common causes of refractory epilepsy. *Brain* 2002; 125: 22-31.

Sisodiya SM, Thom M. Widespread upregulation of drug-resistance proteins in fatal human status epilepticus. *Epilepsia* 2003; 44: 261-4.

Sisodiya SM, Goldstein DB. Drug resistance in epilepsy: more twists in the tale. *Epilepsia* 2007; 48: 2369-70.

Slatter DH. Australian Shepherd Dogs Not a Recognized Breed. *J Am Vet Med Assoc* 1976; 172: 367-8.

Spencer S, Huh L. Outcomes of epilepsy surgery in adults and children. *Lancet Neurol* 2008; 7: 525-37.

Sponenberg DP. Germinal reversion of the merle allele in Australian shepherd dogs. *J Hered* 1984; 75: 78.

Sponenberg DP, Bowling AT. Heritable syndrome of skeletal defects in a family of Australian shepherd dogs. *J Hered* 1985; 76: 393-4.

Srenk P, Jaggy A, Gaillard C, Busato A, Horin P. Genetic basis of idiopathic epilepsy in the golden retriever. *Tierarztl Prax* 1994; 22: 574-8.

Stafstrom CE, Holmes GL. Infantile spasms: criteria for an animal model. *Int Rev Neurobiol* 2002; 49: 391-411.

Steinmetz S, Brauer C, Rohn K, Löscher W, Tipold A (2011) Posttraumatische Epilepsie bei Hund und Katze. In: 19. Jahrestagung der DVG-FG InnLab, Leipzig, Germany

Stonehewer J, Mackin AJ, Tasker S, Simpson JW, Mayhew IG. Idiopathic phenobarbital-responsive hypersialosis in the dog: an unusual form of limbic epilepsy? *J Small Anim Pract* 2000; 41: 416-21.

Strain GM. Deafness prevalence and pigmentation and gender associations in dog breeds at risk. *Vet J* 2004; 167: 23-32.

Strain GM, Clark LA, Wahl JM, Turner AE, Murphy KE. Prevalence of deafness in dogs heterozygous or homozygous for the merle allele. *J Vet Intern Med* 2009; 23: 282-6.

Stritzel S, Wohlke A, Distl O. A role of the microphthalmia-associated transcription factor in congenital sensorineural deafness and eye pigmentation in Dalmatian dogs. *J Anim Breed Genet* 2009; 126: 59-62.

Swan RA. Origin of the Australian shepherd dog (German collie). *J Am Vet Med Assoc* 1980; 176: 92-3.

Szoeke C, Sills GJ, Kwan P, Petrovski S, Newton M, Hitiris N, Baum L, Berkovic SF, Brodie MJ, Sheffield LJ, O'Brien TJ. Multidrug-resistant genotype (ABCB1) and seizure recurrence in newly treated epilepsy: data from international pharmacogenetic cohorts. *Epilepsia* 2009; 50: 1689-96.

Tai P, Poochikian-Sarkissian S, Andrade D, Valiante T, del Campo M, Wennberg R. Postictal wandering is common after temporal lobe seizures. *Neurology* 2010; 74: 932-3.

Tan NC, Heron SE, Scheffer IE, Pelekanos JT, McMahon JM, Vears DF, Mulley JC, Berkovic SF. Failure to confirm association of a polymorphism in ABCB1 with multidrug-resistant epilepsy. *Neurology* 2004; 63: 1090-2.

Tappin SW, Goodfellow MR, Peters IR, Day MJ, Hall EJ, Bentjen SA, Mealey KL. Frequency of the mutant MDR1 allele associated with multidrug sensitivity in dogs in the United Kingdom. *Proceedings of the British Small Animal Veterinary Congress; 2008: Birmingham, United Kingdom.*

Taylor DC. Whatever happened to the "epileptic prodrome"? *Epilepsy Behav* 2007; 11: 251-2.

Theos AC, Truschel ST, Raposo G, Marks MS. The Silver locus product Pmel17/gp100/Silv/ME20: controversial in name and in function. *Pigment Cell Res* 2005; 18: 322-36.

Thiebaut F, Tsuruo T, Hamada H, Gottesman MM, Pastan I, Willingham MC.

Cellular localization of the multidrug-resistance gene product P-glycoprotein in normal human tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987; 84: 7735-8.

Thomas WB. Idiopathic epilepsy in dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2010; 40: 161-79.

Trepanier LA, Van Schoick A, Schwark WS, Carrillo J. Therapeutic serum drug concentrations in epileptic dogs treated with potassium bromide alone or in combination with other anticonvulsants: 122 cases (1992-1996). *J Am Vet Med Assoc* 1998; 213: 1449-53.

Tsuji A. P-glycoprotein-mediated efflux transport of anticancer drugs at the blood-brain barrier. *Ther Drug Monit* 1998; 20: 588-90.

Umbenhauer DR, Lankas GR, Pippert TR, Wise LD, Cartwright ME, Hall SJ, Beare CM. Identification of a P-glycoprotein-deficient subpopulation in the CF-1 mouse strain using a restriction fragment length polymorphism. *Toxicol Appl Pharmacol* 1997; 146: 88-94.

Urbrich R. Untersuchungen zur Aethiologie und Klinik der zerebralen Anfallsleiden beim schottischen Schäferhund (Collie). Dissertation, Justus-Liebig-Universität Giessen. Fachbereich Tiermedizin. 1974;

Vahab SA, Sen S, Ravindran N, Mony S, Mathew A, Vijayan N, Nayak G, Bhaskaranand N, Banerjee M, Satyamoorthy K. Analysis of genotype and haplotype effects of ABCB1 (MDR1) polymorphisms in the risk of medically refractory epilepsy in an Indian population. *Drug Metab Pharmacokinet* 2009; 24: 255-60.

Van Asperen J, Mayer U, Van Tellingen O, Beijnen JH. The functional role of P-glycoprotein in the blood-brain barrier. *J Pharm Sci* 1997; 86: 881-4.

Van der Velden NA. Fits in Tervueren Shepherd dogs: a presumed hereditary

trait. *J Small Anim Pract* 1968; 9: 63-70.

Van Vliet EA, Redeker S, Aronica E, Edelbroek PM, Gorter JA. Expression of multidrug transporters MRP1, MRP2, and BCRP shortly after status epilepticus, during the latent period, and in chronic epileptic rats. *Epilepsia* 2005; 46: 1569-80.

Verhoeven WM, Egger JI, Gunning WB, Bevers M, de Pont BJ. Recurrent schizophrenia-like psychosis as first manifestation of epilepsy: a diagnostic challenge in neuropsychiatry. *Neuropsychiatr Dis Treat* 2010; 6: 227-31.

Viitmaa R, Cizinauskas S, Bergamasco LA, Kuusela E, Pascoe P, Teppo AM, Jokinen TS, Kivisaari L, Snellman M. Magnetic resonance imaging findings in Finnish Spitz dogs with focal epilepsy. *J Vet Intern Med* 2006; 20: 305-10.

Volk H (2010) Refractory Epilepsy. In: BSAVA Congress, Birmingham, UK

Volk HA, Löscher W. Multidrug resistance in epilepsy: rats with drug-resistant seizures exhibit enhanced brain expression of P-glycoprotein compared with rats with drug-responsive seizures. *Brain* 2005; 128: 1358-68.

Volk HA, Arabadzisz D, Fritschy JM, Brandt C, Bethmann K, Löscher W. Antiepileptic drug-resistant rats differ from drug-responsive rats in hippocampal neurodegeneration and GABA(A) receptor ligand binding in a model of temporal lobe epilepsy. *Neurobiol Dis* 2006; 21: 633-46.

Volk HA, Matiasek LA, Lujan Feliu-Pascual A, Platt SR, Chandler KE. The efficacy and tolerability of levetiracetam in pharmaco-resistant epileptic dogs. *Vet J* 2008; 176: 310-9.

Von Klopmann T, Rambeck B, Tipold A. Prospective study of zonisamide therapy for refractory idiopathic epilepsy in dogs. *J Small Anim Pract* 2007; 48: 134-8.

Von Kurnatowski J. Klinische und genetische Untersuchungen zu Krampfanfällen bei Border Terriern. Dissertation, Leibniz Universität Hannover: Tierärztliche Hochschule. 2007; .

Von Stülpnagel C, Plischke H, Zill P, Baumel C, Spiegel R, Gruber R, Kluger G. Letter: lack of association between MDR1 polymorphisms and pharmacoresistance to anticonvulsive drugs in patients with childhood-onset epilepsy. *Epilepsia* 2009; 50: 1835-7.

Waardenburg PJ. A new syndrome combining developmental anomalies of the eyelids, eyebrows and nose root with pigmentary defects of the iris and head hair and with congenital deafness. *Am J Hum Genet* 1951; 3: 195-253.

Walker MC. The epidemiology and management of status epilepticus. *Curr Opin Neurol* 1998; 11: 149-54.

Weiss KL, Schroeder CE, Kastin SJ, Gibson JP, Yarrington JT, Heydorn WE, McBride RG, Sussman NM, Arezzo JC. MRI monitoring of vigabatrin-induced intramyelinic edema in dogs. *Neurology* 1994; 44: 1944-9.

West CL, Mealey KL. Assessment of antiepileptic drugs as substrates for canine P-glycoprotein. *Am J Vet Res* 2007; 68: 1106-10.

Wheless JW. Managing severe epilepsy syndromes of early childhood. *J Child Neurol* 2009; 24: 24S-32S; quiz 3S-6S.

Winawer MR, Marini C, Grinton BE, Rabinowitz D, Berkovic SF, Scheffer IE, Ottman R. Familial clustering of seizure types within the idiopathic generalized epilepsies. *Neurology* 2005; 65: 523-8.

Winkler AS, Tluway A, Schmutzhard E. Aetiologies of altered states of consciousness: a prospective hospital-based study in a series of 464 patients of northern Tanzania. *J Neurol Sci* 2011; 300: 47-51.

Wong IC, Lhatoo SD. Adverse reactions to new anticonvulsant drugs. *Drug Saf* 2000; 23: 35-56.

Wu J, Tarabishy B, Hu J, Miao Y, Cai Z, Xuan Y, Behen M, Li M, Ye Y, Shoskey R, Haacke EM, Juhasz C. Cortical calcification in sturge-weber syndrome on MRI-SWI: Relation to brain perfusion status and seizure severity. *J Magn Reson Imaging* 2011; 34: 791-8.

Xie T, Nguyen T, Hupe M, Wei ML. Multidrug resistance decreases with mutations of melanosomal regulatory genes. *Cancer Res* 2009; 69: 992-9.

Zecca L, Bellei C, Costi P, Albertini A, Monzani E, Casella L, Gallorini M, Bergamaschi L, Moscatelli A, Turro NJ, Eisner M, Crippa PR, Ito S, Wakamatsu K, Bush WD, Ward WC, Simon JD, Zucca FA. New melanic pigments in the human brain that accumulate in aging and block environmental toxic metals. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 17567-72.

Zhang C, Kwan P, Zuo Z, Baum L. In vitro concentration dependent transport of phenytoin and phenobarbital, but not ethosuximide, by human P-glycoprotein. *Life Sci* 2010; 86: 899-905.

Zimmermann R, Hülsmeier VI, Sauter-Louis C, Fischer A. Status epilepticus and epileptic seizures in dogs. *J Vet Intern Med* 2009; 23: 970-6.

Zimprich F, Sunder-Plassmann R, Stogmann E, Gleiss A, Dal-Bianco A, Zimprich A, Plumer S, Baumgartner C, Mannhalter C. Association of an ABCB1 gene haplotype with pharmacoresistance in temporal lobe epilepsy. *Neurology* 2004; 63: 1087-9.

Zupanc ML. Clinical evaluation and diagnosis of severe epilepsy syndromes of early childhood. *J Child Neurol* 2009; 24: 6S-14S.

VIII. ANHANG

Die vier Grundfarben des Australian Shepherd



Australian Shepherd

„Black tri“

Black with copper and white



Australian Shepherd

„Red tri“

Red with copper and white



Australian Shepherd

„Blue Merle“

**Blue Merle with
copper and white**



Australian Shepherd

„Red Merle“

**Red Merle with
copper and white**

IX. DANKSAGUNG

Ich bedanke mich herzlich bei Frau Prof. Dr. Andrea Fischer für die Überlassung des Themas, die Begeisterung und Hilfe bei der Umsetzung all meiner Ideen und die freundliche Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit. Insbesondere danke für die Deadline-Telefonate zu jeder Tages- und Nachtzeit.

Frau Prof. Dr. Katrin Hartmann danke ich für die Möglichkeit, an der I. Medizinischen Kleintierklinik meine Doktorarbeit anzufertigen.

Ich danke der Universität Bayern e. V. für die finanzielle Unterstützung meiner Promotion durch ein Stipendium der Bayerischen Eliteförderung.

Herzlichen Dank an Herrn Prof. Hannes Lohi für die Ermöglichung meines Studienaufenthalts am Biomedicum Helsinki. Danke an Lotta Koskinen und Kaisa Kyöstilä für die Unterstützung bei der Laborarbeit und der Ergebnisauswertung und an das ganze Team für die Gastfreundschaft. Herzlichen Dank an Frau Dr. Christina Brauer für die Rekrutierung zahlreicher Studienpatienten und die Kooperation zu jeder Zeit. Danke an Frau Prof. Dr. Andrea Tipold für die Unterstützung meiner Studie von Hannover aus. Frau Dr. Carola Sauter-Louis danke ich für die Hilfestellung bei statistischen Fragen.

Mein nächster und ganz besonderer Dank geht an all diejenigen Tierärzte und insbesondere Tierneurologen, die mir die Aufnahme ihrer Patienten in die Studie ermöglicht haben und mir aus der Ferne zugearbeitet haben. Herzlichen Dank an Herrn Dr. Adrian Sewell für die metabolischen Screenings und die allzeit aufschlussreichen Telefonate darüber.

Herzlichen Dank an alle Aussie-Besitzer und ihre Schützlinge für die Teilnahme an der Studie, ihr Engagement und die vielen einprägsamen Erinnerungen. An Dr. N. Stalder für die Schweizer Blutproben, an A. Nowek, S. Lieppert, N. Lohr, Familie Bauderer und Metz und an viele weitere für die zur Verfügung gestellten Fotos/Videos von gesunden oder erkrankten Aussies. Danke den Zuchtverbänden für die Befürwortung der Studie und den Züchtern für ihr ehrliches Interesse.

Herzliches „Vergelt’s Gott“ an alle meine Neuro- und Ex-Neuro-Kolleginnen, die über die Zeit mehr als nur Kolleginnen geworden sind. Danke, Velia, für das Teilen deiner Erfahrung und den kritischen Review meines Papers! Danke, Tina, für das unermüdliche Aussie-„Bluten“! Danke, Katrin, für den fachlichen Input und die moralische Stütze! Danke, Chritty, für deine Freundschaft und die Unterstützung im Endspurt! Auch dir Cyrill, für Computernotfälle am Sonntagabend! Danke Anni, Britta, Hao, Susi, Irina, Julia und Bianca, für die vielen Kaffees und Gassis! Danke auch an die Radiologie-Abteilung der Chirurgischen Tierklinik für die gute Zusammenarbeit und an das gesamte Team der Medizinischen Kleintierklinik. Schee war’s mit euch!

Danke an meine unersetzlichen und verehrenswerten Freunde, die mir – mal wieder – bewiesen haben, dass Durststrecken, diesmal v. a. zeitlicher Natur, echter Freundschaft nichts anhaben können. Danke für euer Dasein und für euer Sosein. Danke, Bertl und Imad, für die statistischen und Computer-Ratschläge. Danke an meine „zweite“ Familie, v. a. für den „Zweitwohnsitz“ während meiner zahlreichen Präsenzzeiten in München in der Endphase meiner Doktorarbeit.

Danke, mein liebster Flo, für deinen immerwährenden optimistischen Realismus. Danke, dass du mich – auch in den Tiefphasen meiner Doktorarbeit – immer wieder daran erinnerst hast, dass man an die Dinge glauben muss. Danke, dass du immer für mich da warst und bist!

Danke, Mama, Papa und Julia mit Michael und Rafael. Eure Unterstützung ist einzigartig! Mama, danke dafür, dass du mir v. a. in der Endphase dieser Arbeit ununterbrochen und liebevoll den Rücken freigehalten hast und mir ein offenes Ohr geschenkt hast, wann immer ich es brauchte. Danke Papa, dass ihr mir meine Promotion ermöglicht habt und dass du deine Lebenserfahrung mit mir teilst, wann immer sie mir helfen kann. Danke Julchen, dein Verständnis und Umsetzen des Schwesterseins ist unglaublich. Danke für euer Dasein immer!

Zu guter Letzt danke an meine vierbeinigen Inseln im Alltag: Natan und Shiney.