

Echokardiographische Merkmale des alters- und geschlechtsabhängigen kardialen Remodeling über den adulten Lebenszeitraum bei Irischen Wolfshunden

von Aaron Yankel Brungs

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

**Echokardiographische Merkmale des alters- und
geschlechtsabhängigen kardialen Remodeling über den
adulten Lebenszeitraum bei Irischen Wolfshunden**

von Aaron Yankel Brungs
aus Bonn
München 2019

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

Lehrstuhl für Anatomie, Histologie und Embryologie

Arbeit angefertigt unter der Leitung von Univ.- Prof. Dr. Cordula Poulsen
Nautrup (†) und Priv. – Doz. Dr. Sven Reese

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

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

Berichterstatter: Priv. – Doz. Dr. Sven Reese

Korreferent: Prof. Dr. Gerhard Wess

Tag der Promotion: 09.02.2019

In memoriam Frau Prof. Dr. Cordula Poulsen Nautrup

INHALTSVERZEICHNIS

I. EINLEITUNG	1
II. ERWEITERTE LITERATURÜBERSICHT	2
1. Kardiomyopathien	2
1.1 Dilatative Kardiomyopathie (DCM).....	2
1.2. Die DCM beim Menschen	3
1.2.1. Genetik der DCM beim Menschen	3
1.2.2. Diagnostik zur Frühdiagnostik der DCM beim Menschen	4
1.3.1. Die DCM beim Hund	5
1.3.2. Genetische Studien zur DCM beim Hund	6
1.4. Klinische und genetische Studien zur DCM bei Irischen Wolfshunden..	7
2. Alters- und geschlechtsabhängiges kardiales Remodeling	9
2.1. Studien aus der Humanmedizin	9
2.2. Echokardiographische Studien bei Irischen Wolfshunden	11
III. Kurze METHODENBESCHREIBUNG	12
1. Tiere	12
2. Echokardiographische Untersuchung	13
IV. PUBLIZIERTE STUDIENERGEBNISSE	14
Brungs et al. (2018): Echocardiographic Indices of Age and Gender-Dependent Cardiac Remodeling over the Adult Lifespan in Irish Wolfhounds. J Vet Cardiol https://doi.org/10.1016/j.jvc.2018.07.001	
V. ERWEITERTE DISKUSSION	46

VI. ZUSAMMENFASSUNG	50
VII. SUMMARY	51
VIII. ERWEITERTES LITERATURVERZEICHNIS	52
IX. ABKÜRZUNGEN.....	60
X. DANKSAGUNG	61

I Einleitung

Irische Wolfshunde (IW) erkranken häufig an einer dilatativen Kardiomyopathie (DCM), oft in Verbindung mit Vorhofflimmern. Die DCM ist eine schwerwiegende Herzerkrankung mit hoher Morbidität und Mortalität. Bei der erblichen familiären Form der DCM werden in der Humanmedizin Familienangehörige ersten Grades regelmäßig mittels Ultraschalluntersuchung getestet, um die Erkrankung möglichst früh zu diagnostizieren und zu behandeln. Bei Hunden mit DCM wurde in zwei klinischen Studien an Dobermann Pinschern und an IW gezeigt, dass bei einer frühen Diagnose mit Therapiebeginn im präklinischen Stadium der DCM die Zeitdauer bis zur Entwicklung eines kongestiven Herzversagens oder zum plötzlichen Herztod signifikant verlängert werden kann.

Um eine sichere echokardiographische Diagnose der DCM zu gewährleisten, ist die Unterscheidung von normalen altersbedingten Umbauvorgängen am Herzen wichtig. Beim Menschen wurde ein kontinuierlicher, lebenslanger kardialer Remodeling-Prozess echokardiographisch nachgewiesen. Ziel dieser Arbeit war, den alters- und geschlechtsabhängigen Remodeling Prozess am Herzen bei adulten Irischen Wolfshunden anhand von echokardiographischen Verlaufsuntersuchungen bis ins höhere Lebensalter zu untersuchen.

II Erweiterte Literaturübersicht

1. Kardiomyopathien

Gemäß dem Statement des Expertengremiums der American Heart Association stellen Kardiomyopathien eine heterogene Gruppe von Erkrankungen der Herzmuskulatur dar, die durch mechanische oder elektrische myokardiale Dysfunktion gekennzeichnet sind und meistens zu unangemessener Hypertrophie oder Dilatation der Ventrikel führen (Maron et al., 2006). Die Erkrankung kann als alleinige Herzerkrankung vorliegen oder Teil einer Systemerkrankung sein und führt häufig zu progressiver Herzinsuffizienz und zum kardialen Tod. Viele der unterschiedlichen Ätiologien sind genetisch bedingt.

1.1. Dilatative Kardiomyopathie (DCM)

In der aktuellen Definition der European Society of Cardiology ist eine DCM durch eine systolische Dysfunktion und Erweiterung des linken oder beider Ventrikel gekennzeichnet, ohne dass abnorme Volumen- oder Druckbelastungen des Herzens (Hypertension, Herzklappenerkrankungen) oder koronare Herzerkrankungen in einem Ausmaß vorliegen, eine globale systolische Dysfunktion hervorzurufen (Pinto et al., 2016). Eine DCM ist in aller Regel eine irreversible Myokarderkrankung. Sie führt zu progressivem Herzversagen mit nachlassender Kontraktilität und wird häufig von ventrikulären oder supraventrikulären Arrhythmien sowie Erregungsleitungsstörungen begleitet mit Todesfolge durch Herzversagen oder plötzlichem Herztod (MARON et al., 2006).

Der klinische Verlauf einer DCM kann in drei Phasen unterteilt werden. Stadium 1 bezeichnet Träger der Mutation ohne echokardiographisch oder im EKG nachweisbare Herzveränderungen. Im Stadium 2 liegen keine klinischen Symptome vor, aber echokardiographisch ist eine dilatative Ventrikelvergrößerung und/oder verringerte Kontraktilität festzustellen oder das EKG zeigt Herzrhythmusstörungen. Stadium 1 und 2 sind präklinische oder okkulte Stadien, während im Stadium 3 klinische Symptome vorliegen mit Ventrikeldilatation und reduzierter Kontraktilität.

1.2. Dilatative Kardiomyopathie (DCM) beim Menschen

Beim Menschen stellt eine DCM die dritthäufigste Ursache eines Herzversagens dar und ist der häufigste Grund für eine Herztransplantation. Klinisch manifestiert sich die Erkrankung meistens in der 3. oder 4. Dekade, kann aber in jedem Alter auftreten, auch bereits bei Kindern.

Eine sekundäre DCM kann durch verschiedene virale, bakterielle, parasitäre und Pilz-Infektionen entstehen, die eine Myokarditis verursachen (insbesondere: Coxsackievirus, Adenovirus, Parvovirus, HIV; Chagas Disease durch Trypanosoma Cruzi Infection) Andere Ursachen sind Toxine (Kobalt, Blei, Quecksilber, Arsen, chronischer exzessiver Alkoholkonsum, Chemotherapeutika wie Doxorubicin); autoimmune und systemische Erkrankungen, Phäochromozytom, neuromuskuläre Erkrankungen wie die Duchenne/Becker und Emery-Dreifuss Muskeldystrophie, sowie mitochondriale, metabolische, endokrine, and Ernährungsstörungen (Carnitin- oder Selen Mangel). Auch persistierende Tachykardien (=andauerndes Herzrasen) können zum klinischen Bild einer DCM führen. (PINTO et al., 2016)

Nach Ausschluss bekannter Ursachen wird die Erkrankung als idiopathisch bezeichnet. Beim Menschen ist die DCM in 20 bis 50% der Fälle familiär bedingt (BURKETT et al., 2005; MORETTI et al., 2012).

1.2.1. Genetik der DCM beim Menschen

Bei familiärer DCM kann durch genetische Testung betroffener Individuen eine bessere Aussage zur Prognose getroffen werden und insbesondere zum Arrhythmie Risiko für bestimmte Subtypen der DCM. Durch genetische Testung Familienangehöriger wird die frühe Identifizierung von Trägern der Mutation mit Gelegenheit zu therapeutischer Intervention ermöglicht (McNALLY et al., 2017). Jedoch zeigt die familiäre DCM aus genetischer Sicht eine signifikante Heterogenität der Genloci und Allele, eine inkomplette Penetranz und variable Expression, wodurch eine genetische Diagnose erschwert wird (BURKETT et al., 2005). Einige erbliche Formen der DCM werden monogen autosomal dominant vererbt, auch wurden X –Chromosom gebundene, autosomal-rezessive oder matrilineare Erbgänge nachgewiesen (ELLIOTT et al., 2008; HAAS et al., 2013). Inzwischen wurde in Zusammenhang mit einer DCM Erkrankung von mehr als 50 Genen berichtet, wobei nur bei einem relativ geringen Teil robuste Daten von Segregationsanalysen oder genetischen Nachweisen vorliegen (PINTO et al., 2016). Sequenzierungsstudien an

mehreren Genen haben potentiell kausale Mutationen bei 20–25% der DCM Fälle identifiziert, wovon die meisten das Lamin A/C und kardiale Sarkomergene betrafen (VAN SPAENDONCK –ZWARTS et al., 2013). Bei DCM Patienten scheint das große Titin Gen am häufigsten von Mutationen betroffen zu sein (PINTO et al., 2016). Studien großer Populationen haben zudem gezeigt, dass Nachkommen von Patienten mit DCM ein erhöhtes Erkrankungsrisiko aufweisen, welches anderen Erkrankungen mit komplexen Erbgängen entspricht (Lee et al., 2006). Bei diesen sogenannten oligogenetischen Erbgängen sind eine kleine Anzahl an Mutationen in mehr als einem Gen an der Entstehung der DCM beteiligt (HAAS et al., 2015). Sind mehrere Gene an der Entstehung einer DCM beteiligt, können innerhalb einer betroffenen Familie erhebliche Variationen des klinischen Bildes der DCM vorliegen, zudem ist bei oligogenetischer Vererbung die genetische Testung betroffener Familien erschwert (HERSHBERGER et al., 2013; PINTO et al., 2016).

1.2.2. Diagnostik zur Früherkennung der DCM beim Menschen

Bei familiärer DCM sollten bei Verwandten ersten Grades regelmäßig kardiologische Screening Untersuchungen erfolgen, da Diagnose und Behandlung asymptotische Familienmitglieder in frühen Krankheitsstadien möglich sind (BURKETT et al., 2005; MORETTI et al., 2012; KHOSITSETH et al., 2004). Allerdings ist das klinische Spektrum einer DCM-Erkrankung äußerst weit. So zeigen Träger einer für DCM pathologischen Mutation häufig in der präklinischen Phase lange Zeit keinerlei erkennbare Herzveränderungen, bis sich allmählich geringgradige Herzveränderungen entwickeln, wie z.B. eine isolierte linksventrikuläre Dilatation, die bei etwa 25% der Verwandten einer familiären DCM festgestellt wird und dann als prädiktiv für die Entwicklung eines typischen, vollständigen Phänotyps in den folgenden Jahren angesehen wird (MAHON et al., 2005).

Da Familienmitglieder, die die Veranlagung zur DCM geerbt haben, gewöhnlich erst mit der Zeit zunächst geringgradige und unterschiedliche kardiale Veränderungen (Ventrikelvergrößerung, Hypokontraktilität, Herzrhythmusstörungen) entwickeln, hat die European Society of Cardiology Richtlinien sowie Haupt- und Nebenkriterien veröffentlicht, die eine Früherkennung erleichtern sollen (PINTO et al., 2016). Empfohlen wird bei familiärer DCM Angehörige 1.Grades von Kindheit an alle 2-3 Jahre zu untersuchen solange normale Befunde erhoben werden und jährlich bei Feststellung eines Nebenkriteriums. Das kardiale Screening sollte mittels Echokardiographie und EKG-Untersuchungen erfolgen, zusätzlich mittels Holter-EKG bei bestimmten Phänotypen des Probanden (PINTO et al., 2016). Die empfohlenen diagnostischen Kriterien beinhalten als Hauptkriterien eine nicht

anderweitig zu erklärende Reduktion der linksventrikulären Ejektionsfraktion (EF) zwischen 45 und 50% oder eine nicht zu erklärende Dilatation des linken Ventrikels über die 2-fache Standardabweichung zuzüglich 5%. Als Nebenkriterien gelten im EKG ein vollständiger Linksschenkelblock oder AV-Block mit verlängerter PQ-Dauer, im 24-Stunden-EKG mehr als 100 ventrikuläre Extrasystolen pro Stunde oder eine paroxysmale ventrikuläre Tachykardie in Form von ≥ 3 Extrasystolen mit einer Frequenz ≥ 120 /min, im Herzultraschall segmentale Wandbewegungsstörungen der linken Ventrikelwand ohne Vorliegen von Erregungsleitungsstörungen, in der Magnetresonanztomographie sogenanntes Late Enhancement (LGE), das nicht durch Ischämie verursacht ist, bei einer endomyokardialen Biopsie nicht ischämisch verursachte abnormale Befunde (Entzündung, Nekrose und/oder Fibrose) oder der serologische Nachweis von organspezifischen oder erkrankungsspezifischen Autoantikörpern. Die Verdachtsdiagnose eines frühen Erkrankungsstadiums würde bei einem Angehörigen eines DCM erkrankten dann gestellt, wenn mindestens ein Hauptkriterium oder zwei Nebenkriterien vorliegen oder ein Nebenkriterium zusammen mit einer nachgewiesenen kausalen Mutation.

In der Humanmedizin wird beim Management von Herzerkrankungen heute angestrebt, durch Therapiestrategien beginnend im asymptomatischen, präklinischen Stadium, die kardiale Morbidität und Mortalität zu senken (THE HEART OUTCOMES PREVENTION EVALUATION STUDY INVESTIGATORS; 2000; DUPREZ et al., 2007; RIDKER et al., 2008; HUNT et al., 2009; FATKIN, 2011).

1.3.1. Die DCM beim Hund

Beim Hund ist die idiopathische DCM eine häufige erworbene Herzerkrankung mit hoher Morbidität und Mortalität, die bei einigen größeren Hunderassen und bei Riesenrassen gehäuft vorkommt (DUKES-McEWAN et al., 2003; EGENVALL et al., 2005; EGENVALL et al., 2006; FLEMING et al., 2011, MARTIN et al., 2010). In den meisten Fällen sind adulte Hunden betroffen, die Prävalenz innerhalb einer Rasse nimmt mit dem Lebensalter zu (WESS et al., 2010). Allerdings wurde bei juvenilen portugiesischen Wasserhunden und Dobermann Pinschern auch eine familiäre DCM beschrieben, die bereits wenige Wochen alte Welpen betraf (DAMBACH et al., 1999; SLEEPER et al., 2002; VOLLMAR et al., 2003). Der Verlauf der DCM ist beim Hund schleichend progressiv bis zur Entwicklung eines kongestiven Herzversagens (CHF) oder es ereignet sich ein plötzlicher Herztod. Ein Hund mit DCM verbringt gewöhnlich die längste Zeit der Erkrankung (oft Jahre) in der präklinischen Phase in Stadium 1 und 2 (DUKES Mc-EWAN et al., 2003; MARTIN et al., 2010, WESS et al., 2010).

Bei der caninen DCM existieren rassespezifische Besonderheiten und individuelle Unterschiede in den klinischen Symptomen, der Art von begleitenden Arrhythmien, den histopathologischen Befunden und der Überlebenszeit (AUPPERLE et al., 2014; BORGARELLI et al., 2006; CALVERT et al., 1997a; CALVERT et al., 1997b; MARTIN et al., 2010; PETRIC et al., 2002; TIDHOLM et al., 1997; TIDHOLM et al., 2001; TIDHOLM et al., 2005; TIDHOLM, 2006).

Bei häufig von DCM betroffenen Hunderassen werden ähnlich wie beim Menschen kardiologische Screeninguntersuchungen mittels EKG, Echokardiographie und evtl. Langzeit-EKG empfohlen (O`GRADY et al. 2009; STEPHENSON et al., 2012; SUMMERFIELD et al., 2012; VOLLMAR et al., 2017; WESS et al., 2017). Durch eine frühe Erkennung der DCM können betroffene Hunde aus der Zucht genommen werden. Außerdem kann durch einen Therapiebeginn mit geeigneten Medikamenten im präklinischen Stadium die symptomfreie Zeit und wahrscheinlich auch die Lebenserwartung verlängert werden (O`GRADY et al. 2009; STEPHENSON et al., 2012; SUMMERFIELD et al., 2012; VOLLMAR et al., 2017; WESS et al., 2017).

1.3.2. Genetische Studien zur DCM beim Hund

Auf der Basis von Stammbaumanalysen berichten mehrere Studien über eine familiäre Basis der caninen DCM (PETRIC et al., 2002; MEURS et al., 2007; STEPHENSON et al., 2012). Für mehrere Hunderassen wurden zunächst verschiedene Kandidatengene aus der Humangenetik untersucht, ohne dass eine DCM verursachende Mutation identifiziert werden konnte ((MEURS et al., 2001; MEURS et al., 2008; OWCZAREK-LIPSKA et al., 2013; STABEJ et al., 2004; STABEJ et al., 2005; WIERSMA et al., 2007; WIERSMA et al., 2008).

Später konnte mit Hilfe Genom weiter Assoziationstudien (GWAS) in einigen Fällen eine Assoziation mit caniner DCM aufgezeigt werden. GWAS ist eine Methode, das Genom vieler Individuen auf Varianten zu untersuchen, die mit einem bestimmten Merkmal assoziiert sind (MANIOLO 2010). Mit Hilfe von GWAS wurden bei Dobermann Pinschern zwei Mutationen in Assoziation mit einer DCM nachgewiesen (MAUSBERG et al., 2011; MEURS et al., 2012). Bei einer Meta-Analyse gesammelter Daten von Dobermann Pinschern zur Erstellung eines prädiktiven Modells zur DCM ergaben sich dann jedoch Hinweise darauf, dass wahrscheinlich auch bei dieser Rasse multiple Loci die Entwicklung einer DCM beeinflussen (SIMPSON et al., 2015).

Bei Boxern mit der sogenannten arrhythmogenen rechtsventrikulären Kardiomyopathie (ARVC) wurde mittels GWAS eine Assoziation mit dem Striatin Gen gefunden, später wurde bei Boxern mit DCM eine Deletionsmutation in demselben Gen nachgewiesen (MEURS et al., 2013). Die Autoren folgerten, dass bei Boxern die ARVC und die DCM Varianten

derselben Erkrankung darstellen könnten und dass insbesondere ein homozygoter Genotyp zur DCM führen könnte, aber nicht alle DCM-Fälle der Studie wiesen die Mutation auf.

1.4. Klinische und genetische Studien zur DCM bei Irischen Wolfshunden

In einer Studie von BROWNLIE und COBB (1999) wurden von 39 IWs mit kongestivem Herzversagen als Folge einer DCM aus früheren Untersuchungen EKGs und echokardiographische Befunde ausgewertet, um Hinweise auf frühe prognostische Anzeichen der Erkrankung zu erhalten. Vorhofflimmern (AF) hatten 46% der Hunde bei der Erstuntersuchung gezeigt, während echokardiographisch bei 8 Hunden eine progressive Dilatation von linkem Vorhof und Ventrikel festgestellt wurde. In einer Studie von VOLLMAR (1999b) wurden die echokardiographischen Charakteristika von 33 IWs mit präklinischer DCM und von 33 IWs mit DCM und kongestivem Herzversagen verglichen und den echokardiographischen Messwerten gesunder IWs gegenübergestellt. In einer weiteren Studie der Autorin wurde retrospektiv die Prävalenz der DCM bei 500 untersuchten IWs analysiert (VOLLMAR, 2000). Eine DCM wurde bei 121 Hunden (24,2%) diagnostiziert, wovon 72 Hunde Anzeichen des kongestiven Herzversagen zeigten. Höhergradiges CHF war in allen Fällen durch höhergradige Pleuraergüsse gekennzeichnet. In einer weiteren Auswertung als Bestandteil einer Segregationsanalyse wurden von 1018 kardiologisch untersuchten IW bei 260 Hunden eine DCM diagnostiziert, betroffen waren 34,0% aller untersuchten Rüden und 19,7% aller Hündinnen (DISTL et al., 2007).

Die pathologisch-anatomischen und die histopathologischen Befunde bei IWs mit DCM und/oder Vorhofflimmern wurden in einer Studie von VOLLMAR und AUPPERLE (2016) untersucht und Befunden an Herzen einiger IWs ohne Herzerkrankung gegenübergestellt. Alle Hunde waren mehrfach kardiologisch untersucht worden. Bei 10 von 15 Herzen mit DCM wurden im Kammermyokard multifokal Fibrosen und Adipozyteninfiltration gefunden, ein Hund hatte sogenannte Attenuated Wavy Fibers in der Spitze des linken Ventrikels, während 5 Herzen von Hunden mit DCM keine histopathologischen Veränderungen aufwiesen.

Durch Vorschriften seitens der Zuchtverbände und zunehmendes Gesundheitsbewusstsein auch der privaten Hundehalter werden IWs seit mehreren Jahren zur kardiologischen Untersuchung vorgestellt, so dass die Erkrankung zunehmend häufig im präklinischen Stadium diagnostiziert und auch frühzeitig behandelt wird. In einer prospektiven, randomisierten, klinischen Studie wurde die Monotherapie mit Pimobendan, Benazepril oder Methyldigoxin bei IWs mit präklinischer DCM oder AF hinsichtlich der Zeit bis zum kongestiven Herzversagen oder plötzlichen Herztod verglichen (VOLLMAR und Fox, 2016).

Unter Pimobendan Monotherapie wurde der primäre Endpunkt von weniger Hunden erreicht (5 /23; 21.7%) als unter Benazepril (11/ 22; 50.0%) oder Methyldigoxin (9/21; 42.9%). Die mediane Zeit bis zum primären Endpunkt war für Pimobendan signifikant länger (65,4 Monate) als für Benazepril (32,8 Monate; $p= 0,008$) oder Methyldigoxin (41,5 Monate, $p=0,031$).

Zur Vererbung der DCM beim IW wurde eine umfangreiche Segregationsanalyse durchgeführt. (DISTL et al., 2007). Die Analyse beinhaltete Resultate der kardiologischen Untersuchungen von 1018 IWS, die von einer der Autoren (A. VOLLMAR) untersucht worden waren und aus mehreren Ländern stammten. Für die Segregationsanalyse wurden Daten von 878 Hunden aus 531 Würfen und 147 Zwingern verwendet und Stammbaumanalysen über mehr als 15 Generationen einbezogen. Die Segregation betroffener Hunde in der Abstammung wurde am besten durch ein gemischtes monogen-polygenes Modell mit geschlechts-spezifischem Alleleffekt erklärt. Die Wirkung des Hauptgens unterschied sich signifikant zwischen Rüden und Hündinnen, Rüden waren signifikant häufiger erkrankt.

Nachdem PHILIPP et al (2007a und b) aus EDTA-Blut von IWs zunächst mehrere Kandidatengene für DCM aus der Humangenetik ohne Erfolg getestet hatten, wurde schließlich eine GWAS durchgeführt, mit dem Ziel, Genloci für die DCM beim IW zu identifizieren (PHILIPP et al., 2012). Sechs Genloci mit einer mögliche Assoziation zur DCM wurden identifiziert (ein Singel Nucleotid Polymorphismus (SNP) auf CFA 37 und 5 SNPs auf CFA 1, 10, 15, 17 und 21). Die Ergebnisse sprechen dafür, dass die DCM beim IW eine oligogenetische Vererbung aufweist. Die ermittelten Genloci lagen nicht in Bereichen, die aus der Humanmedizin bekannt sind und waren in unterschiedlichem Ausmaß an der Entstehung der DCM-Fälle beteiligt, wobei nicht alle DCM Fälle der untersuchten Population durch diese Genloci erklärt werden konnten. Eine anschließende Studie von SIMPSON et al. (2016) aus Großbritannien verglich Allelfrequenzen aller SNPs aus der Studie von Philipp et al. (2012) mit eigenen Untersuchungen. Die Autoren fanden eine multigenetische Vererbung für die SNPs auf Chromosom 1 und 10, eine dominante Vererbung für die SNPs auf Chromosom 15 und 21 und eine rezessive Vererbung für den SNP auf Chromosom 37. Insbesondere zeigten drei Loci in Kombination (SNPs auf Chromosom 1, 21 und 37) eine signifikante Assoziation mit der DCM.

Wie bisherige Studien zur Genetik der DCM bei verschiedenen Hunderassen und auch speziell beim IW gezeigt haben, sind die genetischen Ursachen der DCM heterogen und häufig komplex, so dass die Möglichkeit einer genetischen Testung von Zuchthunden auf DCM in absehbarer Zukunft keine Alternative zur kardiologischen Untersuchung darstellen kann, sondern eine ergänzende Untersuchung darstellt. Umso größer ist die Bedeutung der kardiologischen Screeninguntersuchungen zur Früherkennung einer DCM-Erkrankung.

Wegen der teilweise erheblichen Rasseunterschiede der Herzgröße im Verhältnis zum Körpergewicht und zur Körperoberfläche, wurden inzwischen für einige Hunderassen spezifische Referenzwerte erstellt, wodurch die echokardiographische Einschätzung einer beginnenden pathologischen Herzvergrößerung erleichtert wird. (CRIPPA et al. 1992; GUGJOO et al., 2014; DICKSON et al., 2016; JACOBSON et al., 2013; CUNNINGHAM et al., 2008; MISBACH et al. 2014; della TORRE et al., 2000; KAYAR et al., 2006; STEPHENSON et al., 2012; HÖLLMER et al., 2008; LOBO et al., 2008; SECKERDIEK et al., 2015; VÖRÖS et al., 2008; BAVEGEMS et al., 2007). Dennoch erschwert ein breites Spektrum an physiologischer Variation, beeinflusst durch Training, wie auch zahlreiche genetisch bedingte oder erworbene Veränderungen in einigen Fällen die Abgrenzung einer beginnenden krankhaften Veränderung von physiologischen Veränderungen.

2. Alters- und geschlechtsabhängiges kardiales Remodeling

2.1. Studien aus der Humanmedizin

Humanmedizinische echokardiographische Studien berichten von Auswirkungen des Alters und des Geschlechts auf die linksventrikulären systolischen und diastolischen Volumina und Wandstärken sowie auf die systolische Myokardfunktion, allerdings stimmen die Ergebnisse mehrerer Studien nicht unbedingt überein. Einige echokardiographische Studien mit relativ kleinen Patientenzahlen fanden keinen Alterseinfluss auf die Größe des linken Ventrikels oder die Verkürzungsfraction (FS%) (SLOTWINER et al., 1998; KALLARAS et al., 2001; RUAN und NAGUEH, 2005). Einige kardiale Kernspin-Studien stellten eine Zunahme der Ejektionsfraction (EF) mit zunehmendem Lebensalter fest, sowie eine höhere EF bei Frauen als bei Männern (NIKITIN et al., 2006; MACEIRA et al., 2006, CHUNG et al., 2006).

In der Framingham Heart Studie mit mehr als 4000 adulten US-amerikanischen Teilnehmern vorwiegend mittleren bis höheren Alters, wurden die Studienteilnehmer über einen Zeitraum von 20 Jahren wiederholt untersucht. Der echokardiographisch ermittelte kardiale Remodeling Prozess mit zunehmendem Lebensalter war gekennzeichnet durch eine Abnahme des linksventrikulären systolischen und diastolischen Ventrikeldurchmessers, eine Zunahme der linksventrikulären Wandstärken und Zunahme der FS mit einem abgeschwächten Remodeling Prozess bei Frauen (CHENG et al., 2010).

In einer weiteren umfangreichen Studie aus der Schweiz wurden 5307 Teilnehmern aus 4 Altersgruppen zwischen 7 und 80 Jahren eingeschlossen (GEBHARD et al., 2013). Die Altersgruppen setzten sich wie folgt zusammen: 270 Teilnehmer im Alter von 7-20 Jahren, 2096 Teilnehmer zwischen 20-39 Jahren, 2337 Teilnehmer von 40-59 Jahren, 604

Teilnehmer von 60-80 Jahren. Auch diese Studie ergab mit zunehmendem Lebensalter eine Abnahme des linksventrikulären Ventrikeldurchmessers, Zunahme der linksventrikulären Wandstärken und Zunahme der systolischen Myokardfunktion, allerdings waren in dieser Studie die Veränderungen bei Frauen stärker ausgeprägt als bei Männern. Außerdem wurde in dieser Studie eine schwache Assoziation des linksatrialen Durchmessers (indexed zur Körperoberfläche) mit zunehmendem Lebensalter festgestellt.

Auch in einer asiatischen Studie mit mehr als 8000 Teilnehmern war zunehmendes Lebensalter mit einer Zunahme der linksventrikulären Wandstärken und Masse gemessen am Index der Körperoberfläche assoziiert (CHEN et al., 2016). Bei Frauen war die Zunahme der linksventrikulären Wandstärken und Masse in dieser Studie stärker ausgeprägt als bei Männern. Weiteren Aufschluss ließ die SABRE Studie erkennen (PARK et al., 2013). Bei drei verschiedenen ethnischen Bevölkerungsgruppen (weisse Europäer, Südasiaten und Menschen aus Afrika oder der Karibik), die alle in Großbritannien untersucht wurden, zeigten die verschiedenen ethnischen Gruppen deutliche Unterschiede im linksventrikulären Remodeling, sowie deutliche Unterschiede im Vorkommen verschiedener kardiovaskulärer Erkrankungen.

Auf Zellniveau kann kardiales Remodeling folgende Vorgänge beinhalten: Hypertrophie, Untergang von Myokardzellen durch Apoptose oder Nekrose mit Ersatzfibrose oder interstitielle Fibrose. In einer interessanten histopathologischen Studie von OLIVETTI et al. (1995) wurden bei den Altersveränderungen des menschlichen Herzen deutliche Geschlechtsunterschiede festgestellt. Untersucht wurden je 53 Herzen von Frauen und Männern, die im Alter zwischen 17 und 95 Jahren an nicht kardialen Ursachen verstorben waren und keinerlei Anzeichen einer Herzerkrankung vor dem Tod oder aus der Autopsie aufwiesen. Bei den Herzen der weiblichen Personen blieb mit zunehmendem Alter die ventrikuläre myokardiale Masse erhalten, dies galt sowohl für die Anzahl der Kardiomyozyten, als auch für die durchschnittlichen Zelldurchmesser und Volumina. Im Gegensatz hierzu ging bei den männlichen Herzen nahezu 1 g/ Jahr Myokardmasse verloren, welches dem biventrikulären Verlust von annähernd 64 Millionen Zellen entsprach. Bei den verbliebenen Zellen nahm das Zellvolumen in beiden Ventrikeln zu.

2.2. Echokardiographische Studien bei Irischen Wolfshunden

Im Jahr 1999 publizierte VOLLMAR für Irische Wolfshunde Referenzwerte für die Echokardiographie, die anhand von 262 untersuchten Hunden im Alter zwischen 12 Monaten

und 8,5 Jahren und einem Körpergewicht von 48 bis 93kg erstellt wurden (VOLLMAR, 1999a). Mit Hilfe von Regressionsanalysen wurde der Einfluss von Alter und Körpergewicht auf 13 echokardiographische Variablen untersucht, sowie der Einfluss des Geschlechts vergleichend bei 44 Rüden und 67 Hündinnen mit ähnlichen Körpergewichten ermittelt. Eine signifikante lineare Korrelation mit dem Alter wurde für den linksventrikulären (systolischen und diastolischen) Innendurchmesser, den rechtsventrikulären diastolischen Innendurchmesser, den Innendurchmesser des linken Vorhofs und die systolische Wandstärke der linken Ventrikelwand festgestellt, allerdings war das Bestimmtheitsmaß r^2 sehr niedrig (0,03-0,17). Zur Veranschaulichung der absoluten Werte wurden Messwerte mit statistisch signifikanten Altersunterschieden für 3 Altersgruppen (1 bis 2,5 Jahre; 2,6 bis 4,5 Jahre und 4,6-8,5 Jahre) tabellarisch dargestellt. Für das Körpergewicht wurde eine signifikante positive Korrelation mit dem linken und dem rechten Ventrikelinnendurchmesser, dem Aortendurchmesser und den Dimensionen beider Vorhöfe ermittelt, auch hier mit niedrigen Korrelationskoeffizienten (r^2 0,02 bis 0,32), während die Verkürzungsfraktion signifikant negativ mit dem Körpergewicht korrelierte ($r^2= 0,018$). Die Messwerte mit signifikanter Gewichtskorrelation wurden für 3 Körpergewichtsklassen (28 bis 59 kg; 60 bis 69 kg und 70 bis 93 kg) dargestellt. Zwischen Rüden und Hündinnen mit vergleichbarem Körpergewicht gab es für keinen der echokardiographischen Messwerte einen statistisch signifikanten Unterschied. Insgesamt zeigte die Studie eine erhebliche individuelle Variationsbreite der ventrikulären Innendurchmesser und Wandstärken, die den Einfluss von Alter und Körpergewicht übertraf (alle absoluten Größenveränderungen der Mittelwerte mit zunehmendem Alter oder Gewicht lagen deutlich innerhalb der einfachen Standardabweichungen). Die Autorin kam zu dem Schluss, dass für klinisch diagnostische Zwecke einheitlichen Referenzwerte für die Rasse ohne Alters- und Geschlechtsberücksichtigung angewandt werden können. In einer weiteren Studie vergleicht dieselbe Autorin die echokardiographischen Charakteristika von 33 IWs im präklinischen, okkulten Stadium der DCM sowie von 33 Hunden mit fortgeschrittener DCM mit den Messwerten der zuvor beschriebenen 262 gesunden IWs (VOLLMAR, 1999b). Die sensitivsten Parameter zur Diagnose einer DCM waren der end-systolische Volumenindex, die linksventrikulären (systolischen- und diastolischen) Innendurchmesser, die Verkürzungsfraktion und der EPSS (kürzester Abstand des Mitralklappensegels zum Ventrikelseptum während des Ventrikeleinstroms). Alle Hunde mit DCM hatten einen deutlich vergrößerten linken Vorhof und 83 % der Hunde zeigten Vorhofflimmern. Von den Wandstärken war bei Hunden mit präklinischer DCM gegenüber den gesunden Hunden das Ventrikelseptum systolisch und diastolisch geringgradig dünner, während kein Unterschied der linken freien Ventrikelwand vorlag. Im Vergleich der Hunden mit präklinischer DCM zu denen mit fortgeschrittener DCM, war insbesondere eine Zunahme des rechtsventrikulären

Innendurchmessers auffällig, sowie eine weitere Zunahme der linksventrikulären Innendurchmesser und des linken Vorhofdurchmessers, sowie eine weitere Reduktion der Verkürzungsfraktion. Nach Ansicht der Autorin war bei IWs mit Hilfe der Echokardiographie eine frühe Diagnose der DCM sehr gut möglich, wobei als eine wichtige Limitation in der Diagnostik darauf hingewiesen wurde, dass grundsätzlich bei einem momentan echokardiographisch unauffälligen Hund die Diagnose nur für diesen Untersuchungszeitpunkt gilt und daher bei einer Rasse mit derart gehäuftem Vorkommen einer familiären DCM regelmäßig Kontrolluntersuchungen erfolgen sollten. Für die DCM Diagnostik beim IW werden von dem offiziellen Untersucherkreis des Collegium Cardiologicum folgende Referenzwerte nach VOLLMAR (1999a) verwendet: linksventrikulärer Innendurchmesser systolisch $<41\text{mm}$, diastolisch $<60\text{mm}$, FS $>25\%$, linker Vorhofdurchmesser $<56\text{mm}$, rechter Ventrikeldurchmesser $<36\text{mm}$.

III Kurze Methodenbeschreibung

1. Tiere

Ausgangsmaterial für diese Studie waren Daten von 1588 IWs (738 Rüden, 850 Hündinnen), die zwischen Mai 1990 und März 2016 von einem Untersucher (A. Vollmar) standardisiert kardiologisch untersucht worden waren, grundsätzlich mit dem Ziel, die Hunde lebenslang weiter durch Kontrolluntersuchungen zu verfolgen und die spätere Todesursache übermittelt zu bekommen. Zu jedem Untersuchungszeitpunkt wurde ein medizinischer Vorbericht aufgenommen, eine kardiologisch fokussierte Allgemeinuntersuchung durchgeführt, ein 6-Kanal-EKG über mindestens 3 Minuten in rechter Seitenlage ausgewertet und eine echokardiographische Untersuchung durchgeführt. Retrospektiv wurden aus dem Datenmaterial alle Hunde ausgewertet, von denen insgesamt 4 vollständige Untersuchungsprotokolle aus den bestimmten Alterszeiträumen vorlagen und die zum Zeitpunkt ihrer letzten Untersuchung keinen Hinweis auf eine Herzerkrankung hatten. Hunde mit internistischen Erkrankungen, die als relevant beurteilt wurden, um die Untersuchungsergebnisse zu beeinflussen, wurden von der Studie ausgeschlossen. Jeder Hund dieser Studie ($n=56$ Rüden; 90 Hündinnen) musste innerhalb eines jeden der folgenden Altersbereiche untersucht worden sein: 1.0-2,5 Jahre (Gruppe 1), 3,0-4,0 Jahre (Gruppe 2), 4,5-6,0 Jahre (Gruppe 3), und >7.0 Jahre (Gruppe 4).

2. Echokardiographische Untersuchung

Zu jedem Untersuchungszeitpunkt wurde eine standardisierte echokardiographische Untersuchung durchgeführt mit simultaner EKG-Registrierung wie von VOLLMAR 1999 publiziert. Die Hunde wurden stehend untersucht und dabei minimal durch den Besitzer und einen Assistenten festgehalten. Alle Parameter aus der zweidimensionalen und M-mode Echokardiographie wurden durch Mittelwertbildung aus 4 bis 6 Herzzyklen ermittelt. Farb- und Spektral-Dopplermethoden wurden angewandt, um die transvalvulären Flüsse zu beurteilen.

IV Publierte Studienergebnisse

Echocardiographic Indices of Age and Gender-Dependent Cardiac Remodeling over the Adult Lifespan in Irish Wolfhounds.

Aaron Brungs^a, Andrea Vollmar^b, Sven Reese^a, Cordula Poulsen Nautrup^a

^a Department of Veterinary Sciences, Chair of Anatomy, Histology and Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, LMU Munich, Veterinaerstraße 13, 80539 Munich, Germany

^b Small Animal Veterinary Clinics, Sankt Augustiner Str. 74, 53225 Bonn, and Heisterstr. 5, 57537 Wissen, Germany

* Short title: Age and gender-dependent cardiac remodeling by echo in IW

Presented as an abstract at the 26th ECVIM-CA Congress in Gothenburg, Sweden 2016

Corresponding author: Aaron Brungs, Small Animal Veterinary Clinics, Sankt Augustiner Str. 74, 53225 Bonn, Germany; aaronbrungs@aol.com

Acknowledgements

We would like to acknowledge Professor Joanna Dukes-McEwan for her helpful comments on the manuscript.

Abstract

Introduction: Characterize age and gender-dependent cardiac remodeling over the adult lifespan in Irish wolfhounds (IW) by echocardiography. In people a life-long cardiac remodeling process has been demonstrated.

Animals, materials, methods: Irish wolfhounds (56 males, 90 females) with no indication of cardiac disease at final assessment (>7.0 years old). For each dog, four transthoracic echocardiographic studies were analyzed. Left ventricular (LV) systolic and diastolic internal dimensions (LVIDs, LVIDd), LV fractional shortening (FS) and ejection fraction (EF), LV free wall and interventricular septal thickness, right ventricular diastolic dimension, and left (LA) and right atrial systolic diameters were compared at time-points in the following age categories (years): 1.0-2.5; 3.0-4.0; 4.5-6.0; 7.0-10.5) and related to age, body weight, heart rate.

Results: Over the adult life course, males had statistically significant increases in LV internal dimensions, atrial diameters and decreases of FS and EF. From youngest to oldest age of examination means \pm SD were: LVIDs, 32.7 \pm 2.9 vs 36.5 \pm 2.9mm; LVIDd, 49.6 \pm 4.7 vs 53.4 \pm 3.8mm; right atrial diameter 36.8 \pm 3.3 vs 42.6 \pm 3.3mm; LA 49.0 \pm 3.6 vs 55.0 \pm 3.7mm, and FS (34.6 \pm 3.7 vs 31.0 \pm 3.2). In females, LV internal dimensions did not change significantly, increases in right atrial (38.1 \pm 3.7mm to 40.0 \pm 5.2mm) and LA diameter (48.8 \pm 3.6 to 52.4 \pm 4.3mm) were attenuated, as were decreases of FS (33.4 \pm 3.7 to 31.5 \pm 4.4, $p=0.02$). LV wall thicknesses did not significantly change in both genders.

Discussion and conclusions: Over the adult life course echocardiography demonstrated increasing LV dimensions in male IW only. In both genders, FS and EF decreased, atrial diameters increased. Females showed an attenuated remodeling process.

Key Words: left ventricular dimensions, left and right atrial size, aging, dog, shortening fraction

Abbreviations

BW	body weight
DCM	dilated cardiomyopathy
EF	ejection fraction
FS	fractional shortening
HR	heart rate
IW	Irish wolfhound
LA	left atrium
LV	left ventricle
LVIDd	diastolic left ventricular internal diameter
LVIDs	systolic left ventricular internal diameter

Introduction

In humans, management of heart disease in asymptomatic patients increasingly emphasizes strategies intended to reduce cardiac morbidity and mortality[1-5]. Irish wolfhounds (IW) are commonly affected by dilated cardiomyopathy (DCM) and atrial fibrillation[6,7]. In dogs with DCM, two clinical studies performed in Doberman pinschers and in IW showed that early diagnosis and initiation of medical treatment in the preclinical phase of DCM significantly prolongs the time to onset of congestive heart failure or sudden death[8,9].

It is important to distinguish cardiac disease from normal age-related changes. In people, studies assessing the effect of age on left ventricular (LV) systolic function as well as on LV volumes, LV wall thickness and mass, reported some contradictory results. In some studies with quite small numbers of human patients included, aging did not alter LV cavity dimensions or fractional shortening (FS) [10-13]. Other studies using cardiac magnetic resonance imaging, observed an increasing LV ejection fraction (EF) with advancing age, and a higher EF of women compared to men[14,15]. In the Framingham Heart Study, cardiac remodeling with aging was characterized by a distinct pattern of increasing LV wall thickness, decreasing LV dimensions, and increasing FS with an attenuated remodeling process in females[16]. In a Swiss population study including 5307 subjects, an increase of LV systolic function and a decrease of LV volumes with age were demonstrated, with alterations more pronounced in women than in men[17].

In dogs, there are published reference values for echocardiographic measurements for different breeds including the IW, and for the diagnosis of DCM in this breed [18,19]. However, longitudinal data evaluating cardiac remodeling over the adult lifespan are lacking in dogs including IW.

Methods

Study sample

Client-owned, purebred, IW dogs (n=1588; 738 males; 850 females) were recruited between May 1990 and March 2016 through cardiovascular screening clinics in Belgium, Germany, and the Netherlands. Dogs were longitudinally followed, and owners instructed to report date and circumstances of death. At each examination each dog had a medical history, complete physical examination, 6-lead ECG recorded in right lateral recumbency, and echocardiography performed. Other examinations of blood, urine or by radiography were carried out on a case by case basis in collaboration with the owner and referring veterinarian, and especially if indicated by medical history or examination findings. Data of each examination and all survival information were continuously updated in excel files. Out of this database 146 dogs (56 males, 90 females) were retrospectively identified that had four normal cardiovascular examinations including transthoracic echocardiography performed with no evidence of cardiac disease at the time of their final assessment and with no evidence of systemic internal disease when the examinations were carried out. Dogs that developed systemic disease judged to be clinically relevant for the cardiovascular system were excluded from this study.

Groups were matched with four normal transthoracic echocardiographic studies performed in each dog at an age between 1.0-2.5 years (group 1), 3.0-4.0 years (group 2), 4.5-6.0 years (group 3), and >7.0 years (group 4

Out of the 56 male (m) and 90 female (f) IW in each age-group, neutered dogs were in age-group 1, four dogs (0 m, 4 f); in group 2, 11 dogs (2m, 9 f); in group 3, 20 dogs (4 m, 16f); and in group 4, 28 dogs (7m, 21f).

Echocardiographic examination

All echocardiographic studies were performed by the same trained investigator (A.V.) using continuous ECG monitoring and different echocardiographic systems^{d-h} during 26 years. Dogs were minimally manually restrained in a standing position without the use of sedation. All dogs had each of the 4 examinations in the different age groups performed. Left ventricular systolic (LVIDs) and diastolic (LVIDd) internal dimensions as well as systolic and diastolic septal and LV posterior wall thickness were measured in standard parasternal long-axis view (M-mode) according to published guidelines[20]. Ejection fraction and LV end-systolic and end-diastolic volumes indexed to body surface area (m²) were calculated by the method of Teichholz[21]. Values for each variable were determined from the mean measurement from four to six cardiac cycles. Average heart rate (HR) during the echocardiographic examination was recorded. In addition, from right parasternal long axis 4 chamber images, two-dimensional maximal diameter measurements of both atria (during ventricular systole) were made parallel to each atrioventricular valve, as well as diastolic measurement of the right ventricular diameter below the tricuspid valve[18,22]. Colour-Flow and spectral Doppler methods were used to examine trans-valvular flows.

Statistical Analyses

All statistical analyses were performed using commercial software.^{i,j} A P-value of <0.05 was established as the level of statistical significance for all tests. At first each variable (age, body weight (BW), HR and echocardiographic measurements) was tested for statistical significant differences between males and females by using the

area under the curve (AUC) analysis[23,24]. Normality testing for continuous data consisted of visual inspection of probability plots and the Shapiro-Wilk test. Continuous variables which were normally distributed are presented as mean \pm standard deviation, and variables without normal distribution of data as median and range. General Linear model and mixed linear model were used to evaluate associations among age, gender, BW, HR and echocardiographic measurements. In addition, univariate and multivariate analyses were carried out. Partial eta squared was used to describe the proportion of variability associated with an effect when the variability associated with all other effects identified was removed from consideration. Partial eta squared $\eta^2=0.1$ was considered as a small effect, $\eta^2 = 0.3$ as a median, and $\eta^2=0.5$ as a strong effect. Association between two variables was specified by Spearman's rank correlation coefficient.

Results:

Patient Characteristics:

Out of the 146 dogs of this study, at time of this writing, 51 males and 84 females had died from non-cardiac reasons, while 5 males and 6 females were still alive. In males causes of death were osteosarcoma (N=12), paraparesis (N=8), pneumonia (N= 7), non-orthopedic neoplasia (N=7), orthopedic problems (N=4), gastric torsion (N=4), gastro-intestinal disease (N=3), other causes of death in one dog each, were: car accident, intoxication, hepatitis, pancreatitis, renal failure, thromboembolism in hind leg. In females causes of death were non-orthopedic neoplasia (N=26), osteosarcoma (N=13), pneumonia (N=9), renal failure (N=8), paraparesis (N=8), gastric torsion (N=6), pyometra (N=5), orthopedic problems (N=2), other causes of

death in one dog each, were: gastro-intestinal disease, splenic torsion, CNS disease, death during surgery, pancreatitis, intoxication.

Median age of all four assessments was 4.3 years for both genders with a range of 1.0 to 10.5 years in females, and 1.0 to 9.7 years in males. In females mean age \pm standard deviation at time of examination was 1.9 ± 0.3 years (group 1), 3.6 ± 0.3 years (group 2), 5.4 ± 0.4 years (group 3), and 7.7 ± 0.7 years (group 4). In males mean age + standard deviation at time of examination was 1.6 ± 0.4 years (group 1), 3.7 ± 0.3 years (group 2), 5.6 ± 0.4 years (group 3), and 7.7 ± 0.5 years (group 4). Mean bodyweight of males (69.2 ± 7.2 kg) was 9.9kg (16.8%) higher than that of females (59.3 ± 5.4 kg). In females, mean BW increased from 56.8 ± 4.4 kg in age-group 1 to 61.0 ± 5.4 kg in group 4, while in males, mean BW increased from 65.5 ± 6.5 kg in group 1 to 71.4 ± 7.4 kg in group 3 (figure 1).

Effect of body weight and heart rate on echocardiographic measurements:

There was a weak correlation of BW with LVIDd and LVIDs for both genders, and an even weaker correlation of BW with wall thickness (table 1). Fractional shortening and EF showed no association with BW. Right atrial and right ventricular diameters showed no association with BW in males, but they did so in a weak manner in females. Left atrial diameter (LA) correlated with BW in both genders. However, partial eta squared indicated a negligible effect of BW on all echocardiographic measurements.

Mean HR was not statistically significantly different between genders (females, 122.6 ± 17 ; males, 127 ± 19.6). Heart rate was not associated with any of the echocardiographic measurements except LA diameter. There was a weak inverse

association of systolic LA size with HR (males, $r = -0.172$, $p = 0.01$, $\eta^2 = 0.042$; females, $r = -0.141$, $p = 0.007$, $\eta^2 = 0.027$).

Effect of age on echocardiographic measurements:

Echocardiographic measurements of the four groups of each gender are summarized in table 2a and 2b and depicted in figures 2a-4. Table 3 shows the correlation of age with echocardiographic measurements specified by Spearman's rank correlation coefficient, and partial eta squared (η^2) to describe the proportion of variability of these measurements caused by age.

Left ventricular internal dimensions increase with age in males but not in females (figures 2a and b).

In males, LVIDs was moderately associated with advancing age ($r = 0.381$; $p < 0.0001$, $\eta^2 = 0.26$): mean LVIDs increased from 32.7 ± 2.9 mm (group 1) to 36.5 ± 2.9 mm (group 4). In addition in males, there was a significant positive association of LVIDd and age ($r = 0.267$; $p = 0.0001$, $\eta^2 = 0.15$) increasing from 49.6 ± 4.7 mm (group 1) to 53.4 ± 3.8 mm (group 4). In contrast, there was no statistical significant correlation of LV internal dimensions and age in females.

Left ventricular fractional shortening (figure 3a) and ejection fraction (figure 3b) decreased with age in both genders.

Fractional shortening showed a negative, moderate association with advancing age in males ($r = -0.299$; $p < 0.0001$, $\eta^2 = 0.07$) with a similar but weaker association in females ($r = -0.169$; $p = 0.001$, $\eta^2 = \text{n.s.}$), decreasing from $34.5 \pm 3.7\%$ (group 1) to $30.9 \pm 3.1\%$ (group 4) in males, and from 33.4 ± 3.7 (group 1) to 31.5 ± 4.4 (group 4) in females (figure 3a). Ejection fraction also showed a similar negative association with

age in males ($r = -0.362$; $p < 0.0001$, $\eta^2 = 0.09$) and females ($r = -0.216$; $p < 0.0001$, $\eta^2 = 0.028$), and decreased in males from $63.4 \pm 5.2\%$ (group 1) to $57.1 \pm 4.1\%$ (group 4), and from $62.1 \pm 5.8\%$ (group 1) to $58.3 \pm 6.3\%$ (group 4) in females (figure 3b).

Left atrial and right atrial size increase with age.

Left atrial diameter correlated significantly with age in males ($r = 0.507$; $p < 0.0001$, $\eta^2 = 0.23$) and females ($r = 0.29$; $p < 0.0001$, $\eta^2 = \text{not significant}$) increasing from 49.1 ± 3.5 mm (group 1) to 55.0 ± 3.8 mm (group 4) in males and from 48.8 ± 3.6 mm (group 1) to 52.4 ± 4.3 mm (group 4) in females (figure 4). Right atrial diameter also correlated significantly with age in males ($r = 0.48$; $p < 0.0001$, $\eta^2 = 0.03$) and weakly in females ($r = 0.105$; $p = 0.046$, $\eta^2 = 0.033$) increasing from 36.8 ± 3.4 mm (group 1) to 42.6 ± 3.4 mm (group 4) in males and from 38.1 ± 3.7 mm (group 1) to 40.0 ± 5.2 mm (group 4) in females.

Left ventricular wall thicknesses were not significantly influenced by age

Systolic and diastolic interventricular septal thicknesses did not show any significant associations with age in in males or females. In females, only diastolic LV posterior wall thickness correlated weakly with age ($r = -0.11$, $p = 0.04$, $\eta^2 = \text{ns.}$), and increased from 10.4 ± 1.2 mm (group 1) to 10.9 ± 1.7 mm (group 4), while systolic LV posterior wall thickness did not change. In males, diastolic LV posterior wall thickness did not change, but systolic LV posterior wall thickness increased from 15.3 ± 1.5 (group 1) to 16.6 ± 1.72 (group 4) ($r = 0.26$, $p < 0.0001$, $\eta^2 = 0.13$).

Discussion:

Irish wolfhound dogs have a high prevalence of familial DCM[6,7,25-27].

Early detection of DCM can facilitate timely removal of affected dogs from active breeding programs, and early initiation of medical treatment can increase the

symptom-free survival[8,9]. It is important to distinguish cardiac disease from normal age-related changes.

Ventricular remodeling.

This study demonstrates that in IW, left ventricular remodeling over the course of adult life is characterized by increasing cavity dimensions and decreasing systolic function. In females, this remodeling process is attenuated in that the increases in LVIDs and LVIDd did not achieve statistical significance.

In human medicine the effect of age on LV dimensions has been discussed with contradictory results. In earlier echocardiographic studies with small patient populations included, aging did not alter LV cavity dimensions or FS [10-14]. In contrast, in the Framingham heart study with more than 4000 participants of predominantly middle-aged to elderly US American individuals included, cardiac remodeling with aging was characterized by decreasing LV dimensions, increasing LV wall thickness, and increasing FS with an attenuated remodeling process in females[16]. The sample was derived from a community-based cohort with close follow-up for two decades. Another large population study carried out in Switzerland, with 5307 subjects in four age groups between 7 and 80 years of age included (270 subjects 7-20 years, 2096 subjects 20-39 years, 2337 subjects 40-59 years, and 604 subjects 60-80 years), also reported an increase of LV systolic function, an increase in LV and IVS wall thickness, and a decrease of LV volumes with age, but in this study, alterations were more pronounced in women than in men[17]. The latter study included juveniles in the first age group. In our study full maturity was probably not achieved by all individuals within the first age group. While IW hardly grow anymore after 12 months of age, especially males continue to develop, getting stronger and heavier.

In a study carried out in more than 8000 Asian people, evaluating age, gender, and load related influences on LV geometric remodeling and systolic function, age was associated with greater LV wall thickness, and greater LV mass indexed to body surface area[28]. In women, there was a reduction of midwall FS observed with aging and a greater overall increase in LV thickness and mass, compared to men[28]. Possible explanations for the differences in the studies carried out in people are that there might be different cardiac remodeling patterns in different ethnic populations, that the population tested had a different life style, and that a wider age-range of participants was considered in the latter studies. In the SABRE study, evaluating a triethnic population-based cohort in the UK, consisting of white European, South Asian, and African Caribbean men and women, differences in left ventricular structural remodeling were observed associated with marked differences in the rates of different cardiovascular disease between ethnic groups[29]. However, in both studies cardiac remodeling in human beings is the converse of what we observed as the left ventricular remodeling process in this study in adult IW, which showed increasing LV dimensions in males and decreasing FS and EF in both genders. An important difference between the human studies and the IW in this study is the age-related increase in LV and interventricular septal wall thicknesses observed in people, which was not observed or was a very weak association in the IW. In people, wall thickening may result in decreased end-diastolic dimensions of the LV combined with an increase in systolic function to maintain adequate cardiac output. Aging in people comprises several decades with vascular age related stiffening representing a hallmark of aging including a decrease in aortic compliance which may increase LV afterload[29]. In addition, certain risk factors in humans at midlife, including hypertension, obesity, and diabetes mellitus may have influenced the pattern of LV remodeling in individual subjects.

On a cellular level, cardiac remodeling can involve hypertrophy and loss of cardiomyocytes by apoptosis or necrosis with replacement or interstitial fibrosis. In early histopathological studies of human hearts, the claim was made that cardiac hypertrophy with increasing heart weight develops with increasing age, but patients with myocardial disease were not excluded from the evaluation and there was no consideration of the amount of epicardial fat[30]. Later, an interesting histopathological study characterized gender differences of aging in the human heart[31]. A total of 106 human hearts, 53 female, 53 male, between 17 and 95 years of age were examined. Hearts were collected from autopsies obtained from subjects that had died from non-cardiac reasons and no indication of cardiac disease prior to death or based on autopsy findings. In the female heart, aging was associated with a preservation of ventricular myocardial mass, number of myocytes, average cell diameter and volume. In contrast, nearly 1 g/year of myocardium was lost in the male heart, related to biventricular loss of approximately 64 million cells. In the remaining cells, myocyte cell volume increased in both ventricles[31]. These gender differences in myocardial remodeling with age on a cellular level are probably the basis for the gender differences observed in echocardiographic studies in people.

In an earlier study of one of the authors, data of 878 IW from 531 litters in 147 different kennels were used for complex segregation analyses for DCM[25]. Among all tested models a mixed monogenic-polygenic model including a sex-dependent allele effect best explained the segregation of affected animals in the pedigrees. Female dogs were less frequently affected by DCM than male dogs (19.4% of all female dogs versus 33.5% of all males) and developed the disease at an older age than males. A cardio-protective effect of female gender in the phenotypic expression of DCM in IW was presumed[26]. Findings of this study suggest that in IW female

gender might also have protective effects against echocardiographically detectable cardiac remodeling processes that occur during aging.

Atrial remodeling. In this study from age-group 1 to 4, mean LA diameter increased by 5.9mm in males and by 3.6mm in females, while increases in mean right atrial diameter were 4.2mm in males and 1.9mm in females. Interestingly in the fourth age group, there was a wide variation in LA and right atrial size observed in female IW compared to male IW and to measurements obtained in the three younger age-groups. In people, a weak association of LA diameter (indexed for body surface area) with age was observed[17]. Increases in atrial size may reflect deterioration of ventricular diastolic function with age or may reflect degenerative processes in the atrial walls itself. Histopathology of a small number of hearts of IW with echocardiographically normal hearts that had died from non-cardiac reasons between 5.5 and 9.0 (median 6.75) years of age, has shown mild interstitial fibrosis and few adipocytes in the left and right atrial appendage[32].

In this study, HR did not correlate with any of the echocardiographic measurements in IW except for LA diameter. Systolic LA size was negatively and weakly associated with HR in both males and females. These findings are comparable to an echocardiographic study of 11 Golden and 8 Labrador Retrievers investigating the influence of stress and an increase in HR on echocardiographic measurements.^k In these dogs an elevation of mean HR of 73 ± 13 bpm to 112 ± 10 bpm had no statistical significant impact on LV echocardiographic measurements or FS, but resulted in a systolic decrease and a diastolic increase in LA size, measured in the right parasternal long-axis view. The authors discussed as explanation an increased venous return to the heart with stress with simultaneously shortened diastole.

Predominantly in the male IW dogs of this study, age-related changes LV cavity dimensions and systolic function as well as increases in left and right atrial size could

already be observed in the second age group (3 to 4 years) and continued steadily with age. This finding indicates that the alterations in cardiac structure and function might represent a continuous remodeling process occurring throughout adult lifetime. This study confirms most findings of an earlier echocardiographic study including 262 IW from 1 to 8.5 years of age and 48 to 90 kg of BW[19]. In that study, a significant linear correlation with age and BW was reported with low coefficients of determination, but there was no influence of gender detected when males and females of similar BW were compared. This difference between that and the current study is probably related to the fact that in this current study, exactly the same individuals were followed over time, reducing the influence of inter-individual variation.

Several limitations of the present investigation merit consideration. The study was single-centre and a single echocardiographer obtained the studies. Therefore, different operators or echocardiographic machines between serial examinations might be less likely to show similar trends when comparing serial measurements. Data of all echocardiographic measurements were prospectively collected, but the evaluation of data of those individuals that remained without cardiac disease until death and were not lost to follow-up were of retrospective nature. Progressive increase in LV, LA and right atrial dimensions, and decline in FS/EF is also seen in the remodeling in a dog which develops future DCM and some of the dogs of this study may not have lived long enough to get DCM if they had a late onset of the disease, and died of something else. But, non-cardiac causes of death were recorded in most IW (only a few were still alive at the study endpoint). Although all IW of this study were in adequate health at times of examinations and well cared for by their owners, metabolic or internal medical problems that might have affected the results

of this study cannot be excluded in each individual dog. The majority of the dogs of this study were breeding dogs and intact until old age, but, finally, in the last age-group, 12.5% of males were castrated and 23.3% of the female study population was spayed. Gender status and estrus status of the female dogs was not included in the data. A weakness of the study is that echocardiographic measurements might have been influenced by sex hormone status altering homeostatic set points for body fluid and tonicity and potentially affecting blood volume. In addition, tissue Doppler imaging to assess diastolic function, which may influence the cardiac remodeling, was not included in the present study.

Notwithstanding these limitations, the present study had several strengths. Out of the Western European IW population with a high prevalence of DCM and AF, and a high predisposition to other fatal diseases like bone cancer, pneumonia and gastric torsion causing early death, a relatively large number of individuals could be followed until old age with no indication of cardiac disease[6,7,25-27,33-35]. All echocardiographic examinations were performed by the same investigator, and exactly the same individuals were longitudinally followed over a wide lifespan.

The findings of the present study performed in this giant breed of dog need to be compared to other breeds of dogs.

In conclusion, in IW cardiac remodeling over the adult lifespan was echocardiographically characterized by significantly *increasing LV dimensions in males but not in females. Fractional shortening and EF decreased, while LA and right atrial size increased with advancing age. Female gender showed a much attenuated remodeling process.*

Conflict of interest

There are no conflicts of interest for any author.

In memoriam

The authors of this manuscript would like to acknowledge their colleague and posthumous co-author, Prof. Cordula Poulsen Nautrup. She dedicated her work to the teaching of diagnostic ultrasound and especially echocardiography. She will be sadly missed. Our condolences are with her family and colleagues at this time.

Footnotes

^c Cardiovit AT-10; Schiller AG, Switzerland

^d SIM 7000 CFM Challenge, Esaote Biomedica, Italy

^e Logiq 400, GE Healthcare, Great Britain

^f My Lab 30 Vet, Esaote Biomedica, Italy

^g My Lab 30 Vet Gold, Esaote Biometica, Italy

^h CX 50 Cardiac/ShS Ultrasoundssystem, Philips GmbH Healthcare, Germany

ⁱ SPSS 22, IBM Company, Chicago, Illinois 60606, USA

^j MedCalc 17, MedCalc Software, 8400 Ostend, Belgium

^k Zacherl I. Effect of heart rate and psychological stress on echocardiography in healthy adult Golden and Labrador retrievers. Inaugural-Dissertation. Ludwig-Maximilians-Universität Munich 2004

References

- [1] The Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators. Effects of an angiotensin-converting enzyme inhibitor, ramipril, on cardiovascular events in high-risk patients. *N Engl J Med* 2000;342:145–53.
- [2] Duprez DA, Florea ND, Jones K, Cohn JN. Beneficial effects of valsartan in asymptomatic individuals with vascular or cardiac abnormalities: the DETECTIV Pilot Study. *J Am Coll Cardiol* 2007;50:835–9.
- [3] Ridker PM, Danielson E, Fonseca FAH, Genest J, Gotto JrAM, Kastelein JJP, Koenig W, Libby P, Lorenzatti AJ, MacFayden JG, Nordestgaard BG, Shepherd J, Willerson JT, Glynn RJ. Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein. *N Engl J Med* 2008;359:2195–207.
- [4] Hunt SA, Abraham WT, Chin MH, Feldman AM, Francis GS, Ganiats TG, Jessup M, Konstam MA, Mancini DM, Michl K, Oats JA, Rahko PS, Silver MA, Stevenson LW, Yancy CW. 2009 Focused update incorporated into the ACC/AHA 2005 guidelines for the diagnosis and management of heart failure in adults: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on practice guidelines developed in collaboration with the International Society for Heart and Lung Transplantation. *J Am Coll Cardiol* 2009;53:e1-90.
- [5] Fatkin D; member of the CSANZ Cardiac Genetic Diseases Council Writing Group. Guidelines for the diagnosis and management of familial dilated cardiomyopathy. *Heart Lung Circ* 2011;20:691-3.
- [6] Vollmar AC. The prevalence of cardiomyopathy in the Irish wolfhound: A clinical study of 500 dogs. *J Am Anim Hosp Assoc* 2000;36:125-32.
- [7] Brownlie SE. An electrocardiographic survey of cardiac rhythm in Irish wolfhounds. *Vet Rec* 1991;129:470-1.
- [8] Summerfield NJ, Boswood A, O'Grady MR, Gordon SG, Dukes-McEwan J, Oyama MA, Smith S, Patteson M, French AT, Culshaw GJ, Braz-Ruivo L, Estrada

A, O'Sullivan ML, Loureiro J, Willis R, Watson P. Efficacy of pimobendan in the prevention of congestive heart failure or sudden death in Doberman Pinschers with preclinical dilated cardiomyopathy (The PROTECT Study) *J Vet Intern Med* 2012;26:1337-49.

- [Dataset] [9] Vollmar AC, Fox PR (2016): Long-term outcome of Irish Wolfhound dogs with preclinical cardiomyopathy, atrial fibrillation, or both treated with pimobendan, benazepril hydrochloride or methyldigoxin monotherapy. *J Vet Int Med* 2016. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jvim.13914/full>.
- [10] Slotwiner DJ, Devereux RB, Schwartz JE, Pickering TG, de Simone G, Ganau A, Saba PS, Roman MJ. Relation of age to left ventricular function in clinically normal adults. *Am J Cardiol* 1998;82:621-6.
- [11] Kallaras K, Sparks EA, Schuster DP, Osei K, Wooley CF, Boudoulas H. Cardiovascular effects of aging. Interrelationships of aortic, left ventricular, and left atrial function. *Herz* 2001;26:129-39.
- [12] Ruan Q, Nagueh SF. Effect of age on left ventricular systolic function in humans: a study of systolic isovolumetric acceleration rate. *Exp Physiol* 2005;90:527-34.
- [13] Nikitin NP, Loh PH, de Silva R, Witte KK, Lukaschuk EL, Parker A, Farnsworth TA, Alamgir FM, Clark AL, Cleland JG. Left ventricular morphology, global and longitudinal function in normal older individuals: A cardiac magnetic resonance study. *Int J Cardiol* 2006;108:76-83.
- [14] Maceira AM, Prasad SK, Khan M, Pennell DJ. Normalized left ventricular systolic and diastolic function by steady state free precession cardiovascular magnetic resonance. *J Cardiovasc Magn Reson* 2006;8:417-26.
- [15] Chung AK, Das SR, Leonard D, Peskock RM, Kazi F, Abdullah SM, Canham RM, Levine B, Drazner MH. Women have higher left ventricular ejection fraction than men independent of differences in left ventricular volume. The Dallas heart study. *Circulation* 2006;113:1597-604.

- [16] Cheng S, Xanthakis V, Sullivan LM, Lieb W, Massaro J, Aragam J, Benjamin EJ, Vasani RS. Correlates of echocardiographic indices of cardiac remodeling over the adult life course. *Circulation* 2010;122:570-8.
- [17] Gebhard C, Stähli BE, Gebhard CE, Tasnady H, Zihler D, Wischnowsky MB, Jenni R, Tanner FC. Age- and gender-dependent left ventricular remodeling. *Echocardiography* 2013;30(10):1143-50.
- [18] Vollmar A. Echocardiographic measurements in the Irish wolfhound, reference values for the breed. *J Am Anim Hosp Assoc* 1999;35:271-7.
- [19] Vollmar A. Use of echocardiography in the diagnosis of dilated cardiomyopathy in Irish wolfhounds. *J Am Anim Hosp Assoc* 1999;35:279-83.
- [20] Thomas WP, Gaber CE, Jacobs GJ, Kaplan PM, Lombard CW, Moise NS, Moses BL. Recommendations for standards in transthoracic two-dimensional echocardiography in the dog and cat. Echocardiography Committee of the Specialty of Cardiology, American College of Veterinary Internal Medicine. *J Vet Int Med* 1993;7:247-52.
- [21] Serres F, Chetboul V, Tissier R, Poujol L, Gouni V, Carlos Sampedrano C, Pouchelon J-L. Comparison of 3 Ultrasound Methods for Quantifying Left Ventricular Systolic Function: Correlation with Disease Severity and Prognostic Value in Dogs with Mitral Valve Disease. *J Vet Int Med* 2008;22:566–577.
- [22] Rishniw M, Erb HN. Evaluation of four 2-Dimensional echocardiographic methods of assessing left atrial size in dogs. *J Vet Int Med* 2000;14:429-35.
- [23] Matthews JN, Altman DG, Campbell MJ, Royston P. Analysis of serial measurements in medical research. *BMJ (Clinical research ed)* 1990;300:230-5.
- [24] Bland M. An introduction to medical statistics. Oxford Medical Publications; 2000, 3rd ed, p.170.
- [25] Distl O, Vollmar AC, Broschek C, Hamann H, Fox PR. Complex segregation analysis of dilated cardiomyopathy (DCM) in Irish Wolfhounds. *Heredity* 2007; 99, 460–465.

- [26] Philipp U, Vollmar A, Thomas A, et al. Multiple quantitative trait loci (QTL) are causing dilated cardiomyopathy in Irish wolfhounds. PLoS One 2012;7(6):e36691. doi: 10.1371/journal.pone.0036691. Epub 2012 Jun 25.
- [Dataset] [27] Simpson S, Dunning MD, Brownlie S, et al. Multiple Genetic Associations with Irish Wolfhound Dilated Cardiomyopathy. BioMed Research International 2016, ArticleID 6374082. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/6374082>.
- [Dataset] [28] Chen C, Sung K, Shih S, Liu C, Hou C, Hung C, Hung-I Y. Age, gender and load-related influences on left ventricular geometric remodelling, systolic mid-wall function, and NT-ProBNP in asymptomatic Asian population. PLoS One 2016; 11(6): e0156467. doi:[10.1371/journal.pone.0156467](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0156467).
- [Dataset] [29] Park C, March K, Ghosh A, Jones S, Coady E, Tuson C, Francis D, Mayet J, Tillin T, Chaturvedi N, Hughes A. Left-ventricular structure in the Southall and Brent Revisited (SABRE) Study. Hypertension 2013. doi:[10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.00610](https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.00610).
- [30] Linzbach AJ, Akuomoa-Boateng E. Die Altersveränderungen des menschlichen Herzens: I Das Herzgewicht im Alter. Klin Wochenschr 1973;51:156-63.
- [31] Olivetti G, Giordano G, Corradi D, Melissari M, Lagrasta C, Gambert SR, Anversa P. Gender differences and aging: effects on the human heart. JAAC 1995;26:1068-79.
- [32] Vollmar AC, Aupperle H. Cardiac pathology in Irish wolfhounds with heart disease. J Vet Cardiol 2016;18:57-70.
- [Dataset] [33] Urfer SR, Gaillard C, Steiger A (2007) Lifespan and disease predispositions in the Irish Wolfhound: A review, Veterinary Quarterly 2007; 29:102-111. doi: [10.1080/01652176.2007.9695233](https://doi.org/10.1080/01652176.2007.9695233).
- [34] Fleming JM, Creevy Ke, Promislow DEL. Mortality in North American dogs from 1984 to 2004: An investigation into age-, size-, and breed-related causes of death. J Vet Int Med 2011;25:187-98.

- [35] Egenvall A, Bonnett BN, Olson P, Hedhammar Å: Mortality in over 350,000 insured Swedish dogs from 1995-2000: II. Breed-specific age and survival patterns and relative risk for causes of death. *Acta Vet Scand.* 2005, 46,121-3

Table 1: Effect of bodyweight on echocardiographic measurements in Irish

Wolfhounds (N = 146)

	male	male	male	female	female	female
	BW r	BW p	η^2	BW r	BW p	η^2
LVIDs (mm)	0.249	0.0002	0.034	0.229	< 0.0001	0.041
LVIDd (mm)	0.203	0.002	0.06	0.245	< 0.0001	0.052
FS (%)	-0.078	0.245	0.04	-0.051	0.335	0.062
EF (%)	-0.068	0.309	ns	-0.046	0.387	ns
EPSS (mm)	0.114	0.09	0.028	0.177	0.0008	0.033
LVPWs (mm)	0.124	0.064	ns	0.171	0.001	ns
LVPWd (mm)	0.221	0.0009	ns	0.148	0.005	0.029
IVSd (mm)	0.166	0.123	ns	0.182	0.0005	0.035
IVSs (mm)	0.117	0.083	0.049	0.186	0.0004	0.022
LA, 2D (mm)	0.186	0.005	ns	0.274	< 0.0001	0.054
RA, 2D (mm)	0.038	0.573	ns	0.233	< 0.0001	0.031
RD, 2D (mm)	0.038	0.573	ns	0.141	0.008	0.075
HR (bpm)	-0.179	0.007		-0.101	0.057	

BW, body weight; r, Spearman's rank correlation coefficient; p, P-value; η^2 , Partial eta squared;

LVIDs, systolic left ventricular internal diameter; LVIDd, diastolic left ventricular internal diameter; FS, fractional shortening; EF, ejection fraction; EPSS, E-point to septal separation; LVPWs, end-systolic left ventricular free wall thickness; LVPWd, end-diastolic left ventricular free wall thickness; IVSd, end-diastolic interventricular septal thickness; IVSs, end-systolic interventricular septal thickness; LA, end-systolic left atrial diameter; RA, end-systolic right atrial diameter; RVIDd, diastolic right ventricular internal diameter; HR, heart rate

Table 2a: Echocardiographic measurements of the four age groups in male Irish Wolfhounds (N=56)

	exam 1 Mean±SD	exam 2 Mean±SD	exam 3 Mean±SD	exam 4 Mean±SD
LVIDs (mm)	32.72 ± 2.93	34.32 ± 2.84	35.00 ± 2.53	36.46 ± 2.86
LVIDd (mm)	49.63 ± 4.73	51.96 ± 3.27	52.76 ± 3.67	53.37 ± 3.81
FS (%)	34.60 ± 3.71	33.63 ± 3.59	33.87 ± 3.29	31.00 ± 3.17
EF (%)	63.46 ± 5.16	61.84 ± 5.21	62.19 ± 4.74	57.28 ± 4.28
LVPWs (mm)	15.29 ± 1.49	15.76 ± 1.43	16.56 ± 2.13	16.56 ± 1.72
LVPWd (mm)	11.01 ± 1.14	11.02 ± 1.16	11.54 ± 1.59	11.33 ± 1.42
IVSs (mm)	15.78 ± 2.30	16.13 ± 2.09	16.10 ± 2.14	15.07 ± 1.77
IVSd (mm)	10.90 ± 1.61	11.18 ± 1.54	11.50 ± 1.90	10.58 ± 1.67
EPSS (mm)	5.44 ± 1.18	5.98 ± 1.60	6.18 ± 1.38	6.25 ± 1.41
LA (mm)	48.96 ± 3.61	51.72 ± 3.06	52.66 ± 2.78	55.01 ± 3.73
RA (mm)	36.79 ± 3.35	37.19 ± 4.05	38.83 ± 3.53	42.63 ± 3.34
RD (mm)	30.78 ± 3.20	31.55 ± 2.73	30.74 ± 3.49	30.85 ± 2.83
HR (bpm)	126.27 ± 20.31	128.36 ± 20.66	125.41 ± 20.02	128.37 ± 17.60
BW (kg)	65.49 ± 6.45	69.15 ± 6.87	71.42 ± 7.42	70.79 ± 6.71
ESVI (ml/m ² BSA)	26.72 ± 5.60	28.87 ± 5.44	30.03 ± 4.63	32.82 ± 5.75
EDVI (ml/m ² BSA)	71.94 ± 14.06	76.66 ± 11.23	77.79 ± 12.12	80.30 ± 12.64

LVIDs, systolic left ventricular internal diameter; LVIDd, diastolic left ventricular internal diameter; FS, fractional shortening; EF, ejection fraction; EPSS, E-point to septal separation; LVPWs, end-systolic left ventricular free wall thickness; LVPWd, end-diastolic left ventricular free wall thickness; IVSd, end-diastolic interventricular septal thickness; IVSs, end-systolic interventricular septal thickness; LA, end-systolic left atrial diameter; RA, end-systolic right atrial diameter; RVIDd, diastolic right ventricular internal diameter; HR, heart rate; BW, body weight; ESVI, end-systolic volume indexed to BW; EDVI, end-diastolic volume indexed to BW

Table 2b: Echocardiographic measurements of the four age groups in female IW (N =90)

	exam 1 Mean±SD	exam 2 Mean±SD	exam 3 Mean±SD	exam 4 Mean±SD
LVIDs (mm)	32.95 ± 3.04	33.76 ± 2.56	34.51 ± 2.87	34.24 ± 3.22
LVIDd (mm)	49.63 ± 3.52	50.02 ± 3.69	50.22 ± 3.60	50.44 ± 3.39
FS (%)	33.45 ± 3.67	32.03 ± 3.02	31.10 ± 3.39	31.53 ± 4.44
EF (%)	62.10 ± 5.84	60.03 ± 5.29	58.58 ± 5.39	58.28 ± 6.29
LVPWs (mm)	15.19 ± 1.64	15.22 ± 1.52	15.42 ± 1.66	15.36 ± 2.17
LVPWd (mm)	10.38 ± 1.19	10.48 ± 1.26	10.82 ± 1.43	10.93 ± 1.71
IVSs (mm)	14.57 ± 2.19	14.80 ± 2.32	14.59 ± 1.94	14.54 ± 2.23
IVSd (mm)	10.32 ± 1.84	10.4 ± 1.82	10.35 ± 1.34	10.60 ± 1.58
EPSS (mm)	5.72 ± 1.30	5.90 ± 1.36	6.18 ± 1.18	6.57 ± 1.21
LA (mm)	48.82 ± 3.56	48.87 ± 4.53	50.9 ± 3.21	52.36 ± 4.35
RA (mm)	38.06 ± 3.68	38.13 ± 4.48	39.16 ± 4.30	40.03 ± 5.22
RD (mm)	30.09 ± 3.00	29.40 ± 3.92	30.31 ± 2.97	30.68 ± 3.87
HR (bpm)	120.5 ± 17.87	122.03 ± 15.23	122.11 ± 16.74	125.63 ± 17.74
BW (kg)	56.77 ± 1.86	59.19 ± 5.08	60.04 ± 5.66	61.02 ± 5.42
ESVI (ml/m ² BSA)	29.91 ± 6.50	30.70 ± 5.37	32.14 ± 6.22	31.30 ± 6.72
EDVI (ml/m ² BSA)	78.60 ± 12.78	77.87 ± 13.02	77.88 ± 12.59	77.70 ± 11.34

LVIDs, systolic left ventricular internal diameter; LVIDd, diastolic left ventricular internal diameter; FS, fractional shortening; EF, ejection fraction; EPSS, E-point to septal separation; LVPWs, end-systolic left ventricular free wall thickness; LVPWd, end-diastolic left ventricular free wall thickness; IVSd, end-diastolic interventricular septal thickness; IVSs, end-systolic interventricular septal thickness; LA, end-systolic left atrial diameter; RA, end-systolic right atrial diameter; RVIDd, diastolic right ventricular internal diameter; HR, heart rate; BW, body weight; ESVI, end-systolic volume indexed to BW; EDVI, end-diastolic volume indexed to BW

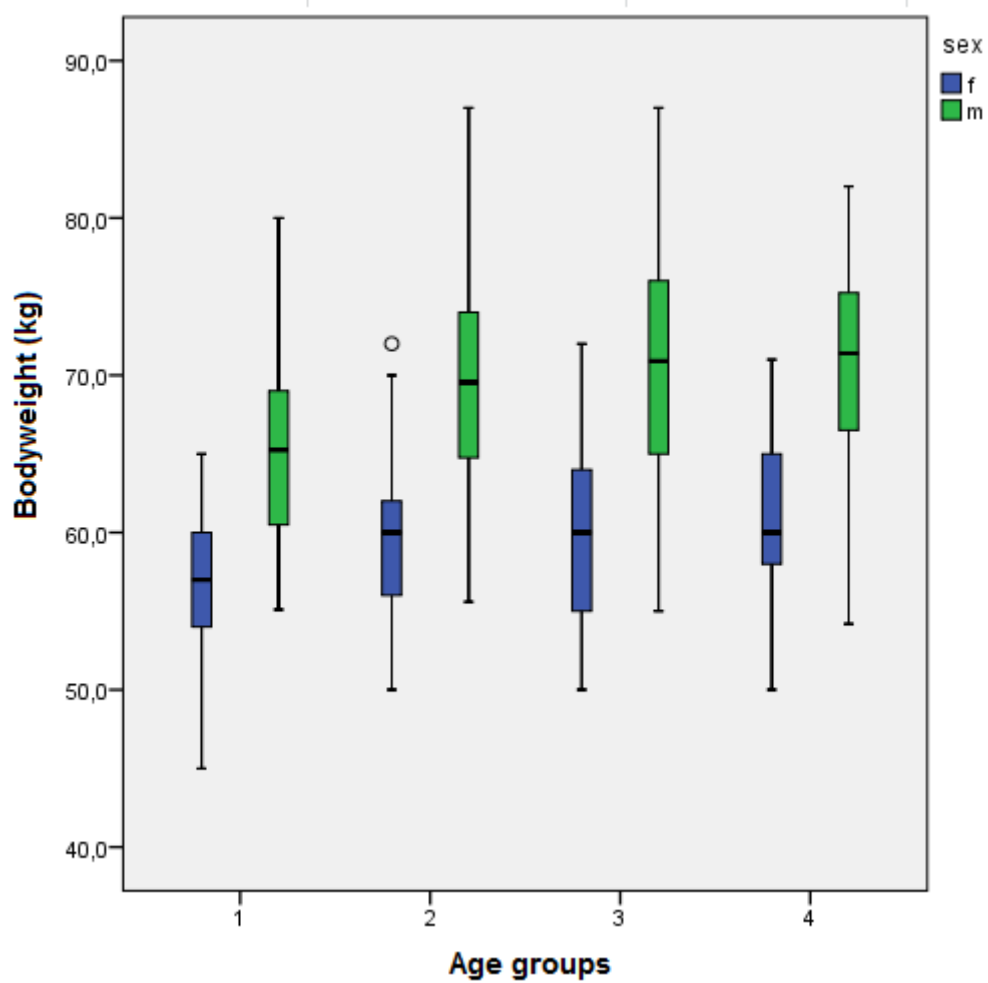
Table 3: Effect of age on echocardiographic measurements in IW (N=146)

	male	male	male	female	female	female
	Age r	Age p	Age η^2	Age r	Age p	Age η^2
LVIDs (mm)	0.381	< 0.0001	0.26	0.087	0.101	0.071
LVIDd (mm)	0.267	< 0.0001	0.15	-0.008	0.868	ns
FS (%)	-0.299	< 0.0001	0.07	-0.169	0.001	ns
EF (%)	-0.362	< 0.0001	0.09	-0.216	< 0.0001	0.028
LVPWs (mm)	0.263	0.0001	0.13	0.009	0.866	0.047
LVPWd (mm)	0.065	0.335	0.069	-0.11	0.374	ns
IVSs (mm)	-0.119	0.075	ns	-0.074	0.163	0.012
IVSd (mm)	-0.078	0.245	ns	0.002	0.966	ns
EPSS (mm)	0.172	0.01	ns	0.181	0.0006	ns
LA (mm)	0.507	< 0.0001	0.23	0.29	< 0.0001	ns
RA (mm)	0.48	< 0.0001	0.03	0.105	0.046	0.033
RD (mm)	-0.037	0.581	0.26	0.017	0.755	0.084
HR (bpm)	0.064	0.343		0.136	0.01	
ESVI (ml/m ² BSA)	0.396	< 0.0001	ns	0.096	0.07	ns
EDVI (ml/m ² BSA)	0.271	< 0.0001	ns	-0.011	0.836	ns

r, Spearman's rank correlation coefficient; p, P-value; η^2 , Partial eta squared;

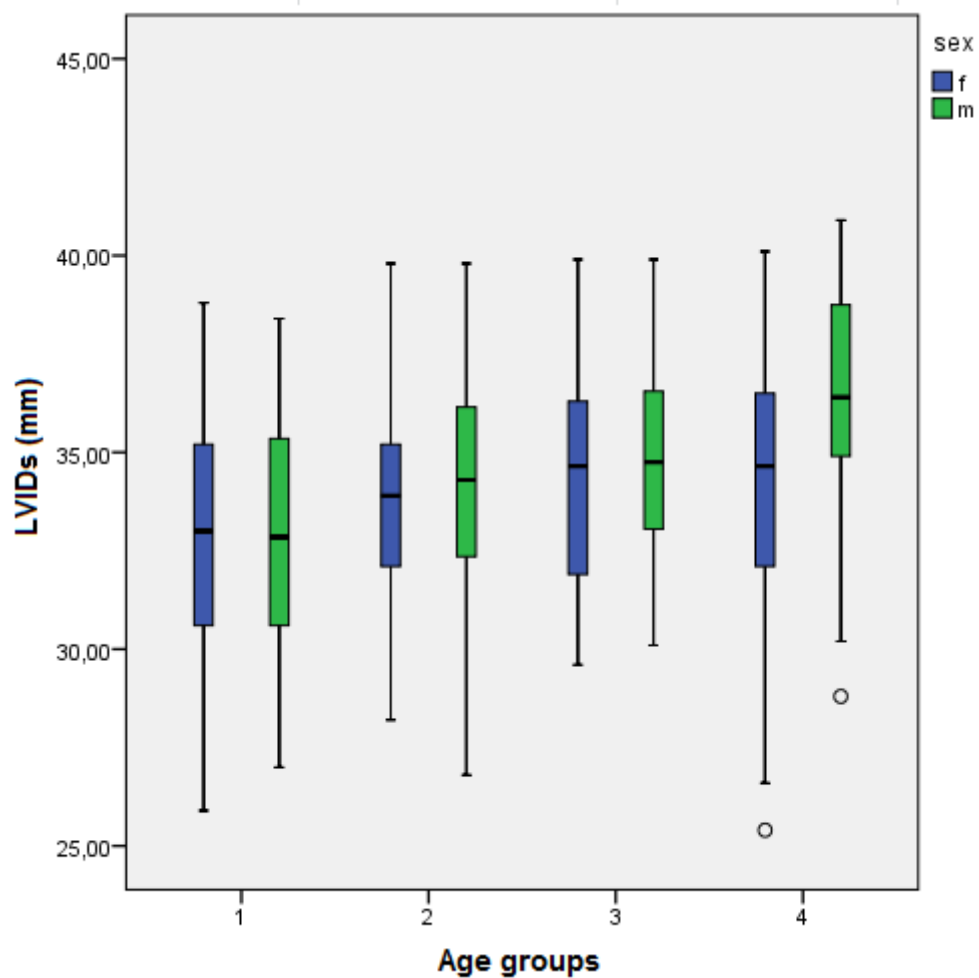
LVIDs, systolic left ventricular internal diameter; LVIDd, diastolic left ventricular internal diameter; FS, fractional shortening; EF, ejection fraction; EPSS, E-point to septal separation; LVPWs, end-systolic left ventricular free wall thickness; LVPWd, end-diastolic left ventricular free wall thickness; IVSd, end-diastolic interventricular septal thickness; IVSs, end-systolic interventricular septal thickness; LA, end-systolic left atrial diameter; RA, end-systolic right atrial diameter; RVIDd, diastolic right ventricular internal diameter; HR, heart rate; ESVI, end-systolic volume indexed to BW; EDVI, end-diastolic volume indexed to BW

Figure 1



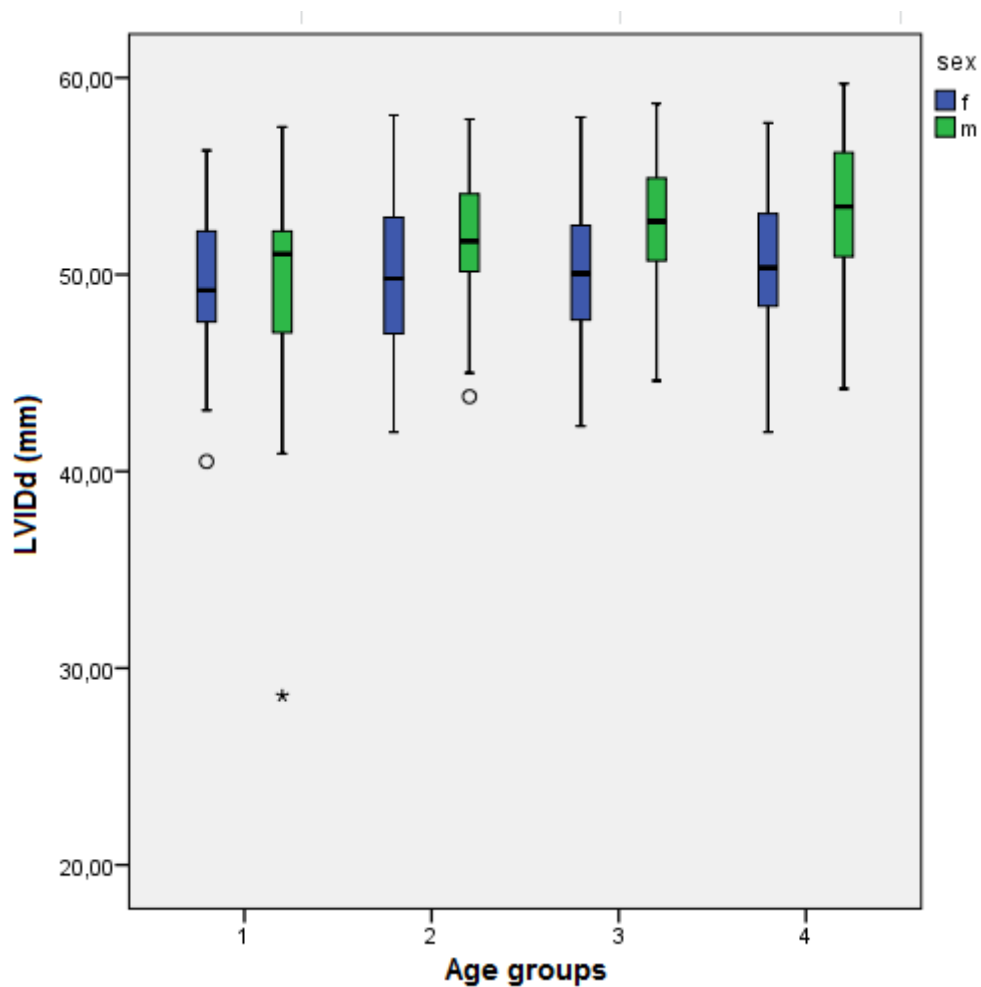
Box and whisker plot of the distribution of bodyweight within the four age groups (N= 56 m, 90 f). f, female; m, male.

Figure 2a



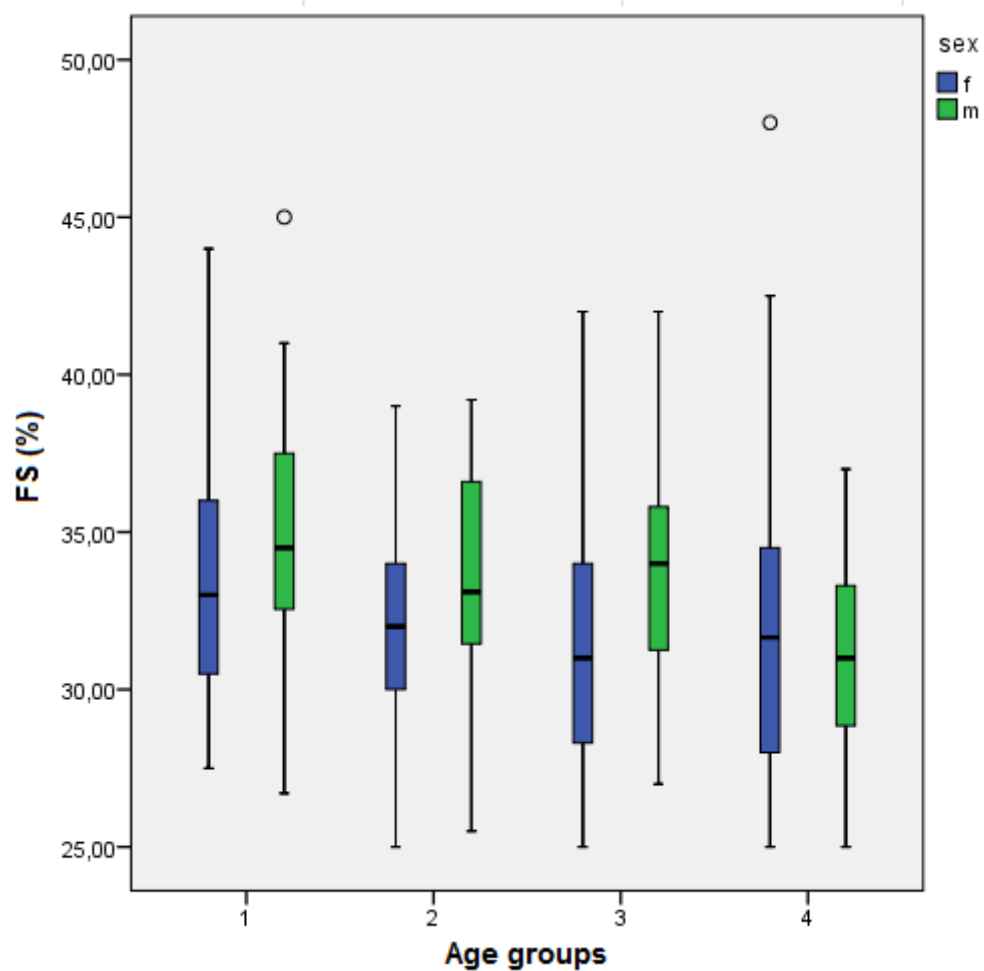
Box and whisker plot of the effect of age on LVIDs (N= 56 m, 90 f). In males, there was a significant positive association of LVIDs and age, but not in females. LVIDs, systolic left ventricular internal diameter; f, female; m, male.

Figure 2b



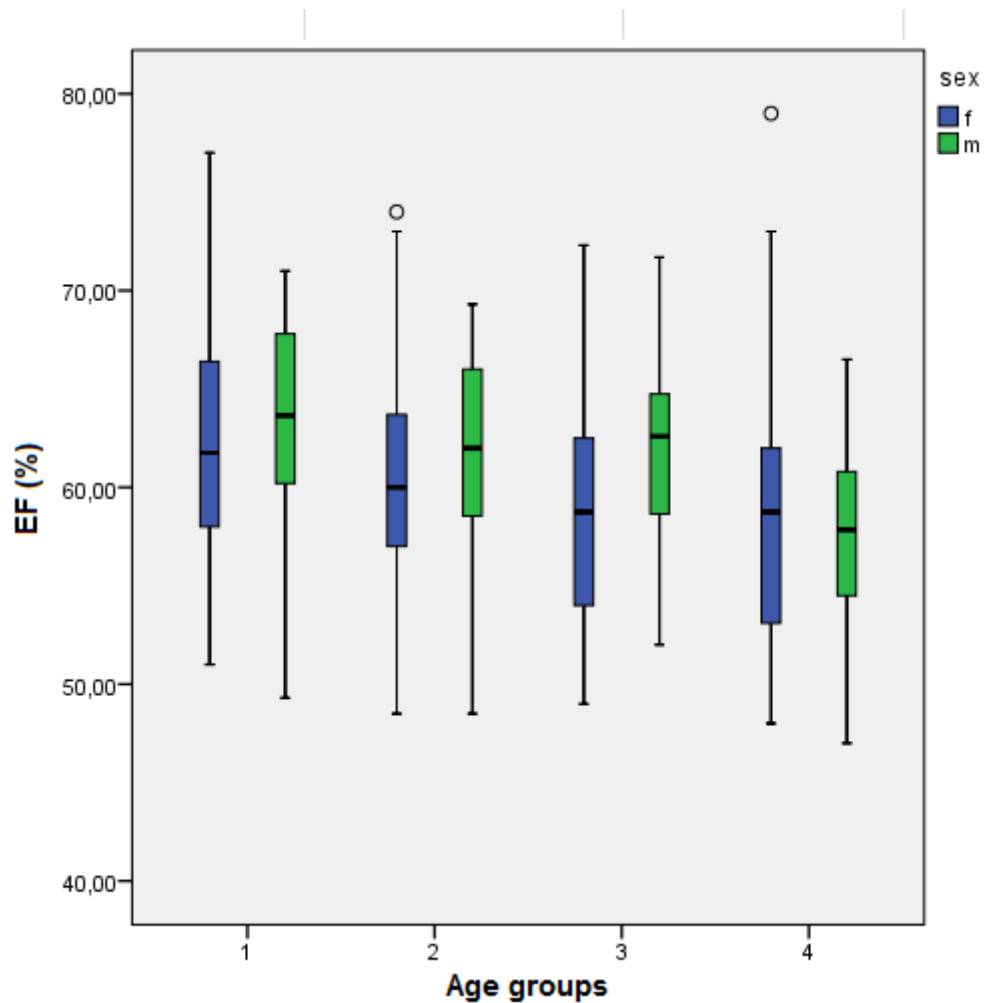
Box and whisker plot of the effect of age on LVIDd (N= 56 m, 90 f). In males, there was a significant positive association of LVIDd and age, but not in females. LVIDd, diastolic left ventricular internal diameter; f, female; m, male.

Figure 3a



Box and whisker plot of the effect of age on FS% (N= 56 m, 90 f). FS% showed a negative association with advancing age in males and females. FS, fractional shortening; f, female; m, male.

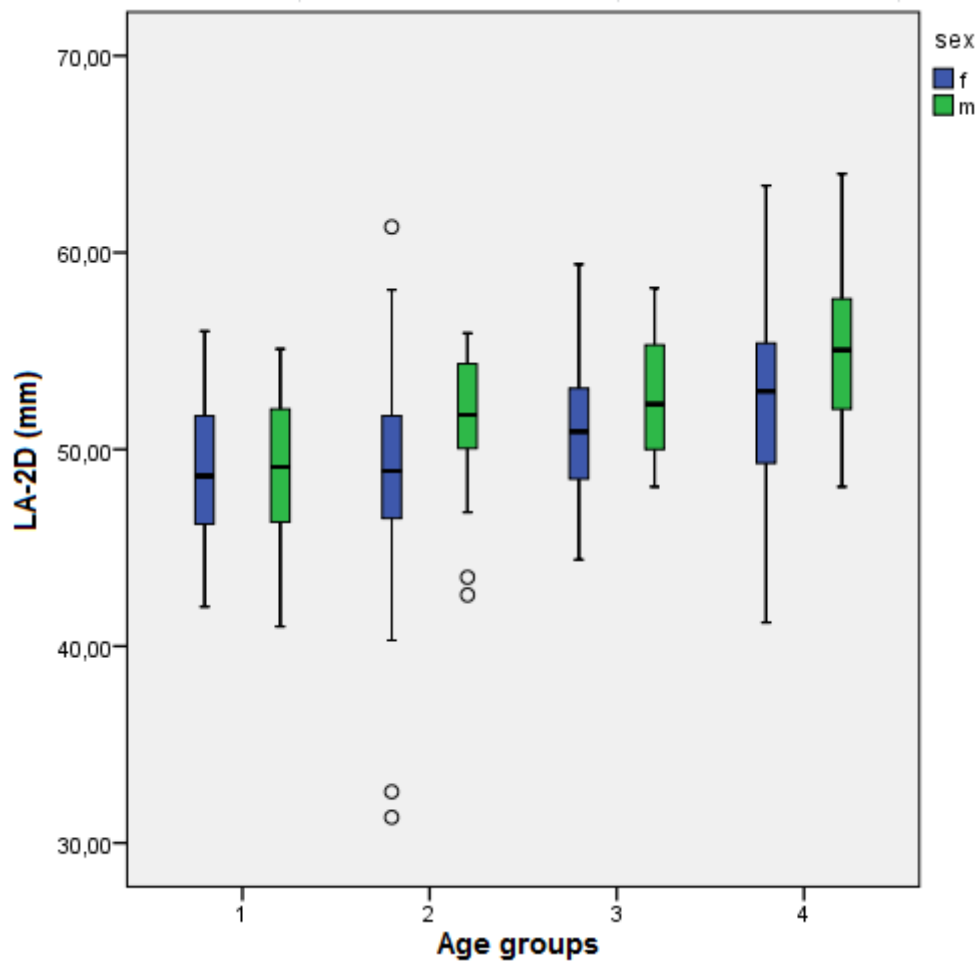
Figure 3b



Box and whisker plot of the effect of age on EF% (n= 56 males, 90 females).

EF% showed a negative association with advancing age in males and females. EF, ejection fraction; f, female; m, male.

Figure 4



Box and whisker plot of the effect of age on left atrial size (N= 56 m, 90 f).

LA-2D increased significantly with age in males and females. LA-2D, end-systolic left atrial diameter measured from two-dimensional echocardiography; f, female; m, male.

V ERWEITERTE DISKUSSION

Irische Wolfshunde haben eine hohe Prävalenz von familiärer DCM, in einer Studie von DISTL et al. (2007) waren mehr als 30% der Rüden und etwa 20% der Hündinnen betroffen. Genetische Studien bei IWs sprechen dafür, dass in vielen Fällen die DCM beim IW eine oligogenetische Vererbung aufweist, bei der durch verschiedene bestimmte Genkombinationen ein DCM-Phänotyp entsteht (PHILIPP et al., 2012; SIMPSON et al., 2016). Zudem konnten die bisher nachgewiesenen SNPs nicht alle DCM-Fälle erklären, so dass die genetischen Ursachen der DCM beim IW als komplex und heterogen anzusehen sind. Folglich stellt eine genetische Testung eine Ergänzungsuntersuchung dar, während der kardiologischen Screeninguntersuchung die größte klinische Bedeutung bei der Früherkennung einer DCM-Erkrankung zukommt. Eine frühe Diagnose ist die Voraussetzung dafür, dass betroffene Hunde aus der Zucht genommen werden, zudem kann durch einen frühen Therapiebeginn die klinisch symptomfreie Zeit und wahrscheinlich auch die Überlebenszeit verlängert werden (SUMMERFIELD et al., 2012; VOLLMAR und FOX 2016).

In der Humanmedizin werden bei familiärer DCM Verwandte ersten Grades eines Erkrankten regelmäßig kardiologisch mittels Ultraschall untersucht, um durch Therapiestrategien beginnend im asymptomatischen, präklinischen Stadium, die kardiale Morbidität und Mortalität zu senken (THE HEART OUTCOMES PREVENTION EVALUATION STUDY INVESTIGATORS; 2000; DUPREZ et al., 2007; RIDKER et al., 2008; HUNT et al., 2009; FATKIN, 2011; BURKETT et al., 2005; MORETTI et al., 2012). Erschwert wird die frühe Diagnostik durch das weite klinische Spektrum einer DCM, Träger einer pathologischen Mutation zeigen häufig in der präklinischen Phase lange Zeit keinerlei erkennbare Herzveränderungen, bis sich allmählich zunächst geringgradige Herzveränderungen wie z.B. eine isolierte linksventrikuläre Dilatation entwickeln (MAHON et al., 2005; PINTOM et al., 2016). Durch ein breites Spektrum an physiologischer Variation, beeinflusst durch Lebensstil und Training, wie auch Einflüsse durch zahlreiche genetische oder erworbene Veränderungen des Organismus, fällt in einigen Fällen die Abgrenzung einer beginnenden DCM von physiologischen Umbauprozessen schwer. Eine besondere Bedeutung kommt hier der Unterscheidung beginnender krankhafter Herzveränderungen von normalen altersbedingten Umbauprozessen zu. So berichten echokardiographische Studien auch bei Erwachsenen von Auswirkungen des Alters und des Geschlechts auf die linksventrikulären systolischen und diastolischen Volumina und Wandstärken sowie auf die systolische Myokardfunktion als Ausdruck des kardialen Remodeling. Dabei waren die beschriebenen, mittels Echokardiographie ermittelten Veränderungen der linken Hauptkammer im Schrifttum nicht ganz einheitlich und übereinstimmend, insbesondere wurde bei verschiedenen ethnischen Gruppen deutliche Unterschiede im linksventrikulären Remodeling

wie auch Unterschieden im Vorkommen verschiedener kardiovaskulärer Erkrankungen festgestellt (PARK et al., 2013). Außer genetischen Einflüssen kommen dabei auch Unterschiede in der Ernährung und den Lebensgewohnheiten in Frage. Übereinstimmend wurde in großen Studien aus den USA mit über 4000 Teilnehmern (CHENG et al., 2010), aus der Schweiz mit über 5300 Teilnehmern (GEBHARD et al., 2013) und aus Asien mit mehr als 8000 Teilnehmern (CHEN et al., 2016) von einer Zunahme der linksventrikulären Wandstärken mit zunehmendem Lebensalter berichtet. In der US-amerikanischen und der schweizer Studie wurde mit zunehmendem Lebensalter auch insbesondere eine Abnahme der linksventrikulären systolischen und diastolischen Ventrikeldurchmesser sowie eine Zunahme der systolischen Myokardfunktion beschrieben. Dabei verlief der echokardiographisch ermittelte kardiale Remodeling Prozess in der US-Amerikanischen Studie bei Frauen abgeschwächt, in der schweizerischen und in der asiatischen Studie hingegen bei Frauen stärker ausgeprägt als bei Männern.

Im Unterschied zu der beim Menschen beschriebenen Abnahme der linksventrikulären Innendurchmesser mit Zunahme der systolischen Myokardfunktion, war bei den IWs dieser Studie der linksventrikuläre Remodelingprozess im Wesentlichen durch eine Zunahme des linksventrikulären Innendurchmessers in Systole und Diastole mit nachlassender systolischer Myokardfunktion gekennzeichnet. Im Geschlechtervergleich war bei Hündinnen der Remodelingprozess deutlich schwächer ausgeprägt, in einem Maße, dass die Veränderungen der Ventrikeldurchmesser keine statistische Signifikanz erreichten. Beim IW erkrankten Hündinnen auch weniger häufig an einer DCM als Rüden (weniger als 20 % der Hündinnen gegenüber mehr als 30% der Rüden) und entwickeln den DCM Phänotyp auch später als Rüden. PHILIPP et al., 2012 vermuteten einen kardioprotektiven Effekt des weiblichen Geschlechts auf die phänotypische Expression der DCM bei dieser Rasse. Die Ergebnisse unserer Studie könnten zudem vermuten lassen, dass beim IW das weibliche Geschlecht auch einen protektiven Effekt auf den echokardiographisch nachweisbaren kardialen Remodeling Prozess mit zunehmendem Lebensalter ausübt. Ein wichtiger Unterschied zu den humanmedizinischen Studien und den IW dieser Studie ist die Wanddickenzunahme von linker freier Ventrikelwand und Septum, die mit zunehmendem Lebensalter in allen drei großen humanmedizinischen Studien beschrieben wurde (CHENG et al., 2010; GEBHARD et al., 2013; CHEN et al., 2016), bei den IW aber gar nicht oder nur minimal vorhanden war. Der Alterungsprozess beim Menschen erstreckt sich über mehrere Jahrzehnte, dabei spielt der Alterungsprozess der Blutgefäße eine wichtige Rolle: eine zunehmende Steifheit der Gefäße mit nachlassender Elastizität der Aorta verursacht einen Nachlastanstieg (PARK et al., 2013). Ein Nachlastanstieg wird durch eine linksventrikuläre Wandstärkenzunahme und Zunahme der systolischen Myokardfunktion kompensiert, um eine adäquate Herzleistung aufrecht zu erhalten. Zusätzlich spielen beim Menschen ab

einem mittleren Lebensalter verschiedene Risikofaktoren wie beispielsweise Bluthochdruck, Übergewicht und Diabetes Mellitus sicherlich eine größere Rolle als beim IW als mögliche Einflussfaktoren des linksventrikulären Remodeling.

Beim Menschen wurde von GEBHARD et al (2013) eine schwache Größenzunahme des linken Vorhofs (bezogen auf die Körperoberfläche) mit zunehmendem Lebensalter beschrieben. Bei den IW dieser Studie war zwischen den Altersgruppen 1 und 4 eine deutliche Größenzunahme der Vorhofdurchmesser zu verzeichnen, die beim linken Vorhof durchschnittlich 5,9 mm bei Rüden und 3,6mm bei Hündinnen betrug, während sich der rechte Vorhof bei Rüden um durchschnittlich 3,8mm und bei Hündinnen um durchschnittlich 1,9mm vergrößerte. Größenzunahmen der Vorhöfe ohne pathologische Klappenerkrankungen können vor allem einerseits durch eine nachlassende diastolische Ventrikelfunktion bedingt werden, andererseits auch durch degenerative Veränderungen der Vorhofwände. Histopathologische Untersuchungen einiger Herzen von IWs, die ohne Anzeichen einer Herzerkrankung im Alter zwischen 5,5 und 9 Jahren an nicht-kardialen Ursachen gestorben waren, wiesen im Bereich des linken und rechten Herzohrs geringgradige interstitielle Fibrose und wenige Adipozyten nach (VOLLMAR und AUPPERLE (2016).

Insbesondere bei den Rüden aus dieser Studie waren altersbezogene Veränderungen des linken Ventrikeldurchmessers und der systolischen Myokardfunktion sowie Größenzunahmen beider Vorhöfe bereits in der 2. Altersgruppe, mit 3-4 Jahren zu verzeichnen und setzten sich dann kontinuierlich fort. Die Veränderungen der Struktur und Funktion des linken Ventrikels wiesen insbesondere bei den Rüden auf einen kontinuierlichen Remodeling Prozess über den ganzen adulten Lebensabschnitt hin. In einer früheren Studie von VOLLMAR (1999) wurde bei IW zwischen 1 und 8,5 Jahren bereits eine geringgradige, aber signifikante, lineare Alters-Korrelation für den linksventrikulären (systolischen und diastolischen) Innendurchmesser, den rechtsventrikulären diastolischen Innendurchmesser und den Innendurchmesser des linken Vorhofs beschrieben.

Einige Limitationen der Studie verdienen Beachtung: Die Hundebesitzer der Tiere dieser Studie, die die Hunde bis ins hohe Lebensalter regelmäßig kardiologisch untersuchen ließen, waren in der Regel überdurchschnittlich sorgfältig im Umgang mit der Gesundheit Ihrer Hunde, so brachten viele Besitzer regelmäßig zur kardiologischen Untersuchung die Ergebnisse einer kürzlich beim Haustierarzt durchgeführten Blutuntersuchung mit oder ließen in der Praxis gleichzeitig eine Blutanalyse durchführen. Auch zeigten alle Hunde zum Untersuchungszeitpunkt keine klinischen Anzeichen einer Erkrankung, jedoch kann im Einzelfall nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden, dass bei einem Individuum zum Untersuchungszeitpunkt metabolische oder internistische Probleme vorhanden gewesen

sein könnten, die den kardiologischen Untersuchungsbefund beeinflusst haben könnten. Des Weiteren werden progressive Vergrößerungen der ventrikulären und atrialen Innendurchmesser sowie eine nachlassende systolische Myokardfunktion auch gerade bei Hunden gesehen, die später eine DCM entwickeln und einige Hunde aus der Studie könnten mit der Zeit doch noch eine DCM entwickelt haben, wenn sie noch länger gelebt hätten. Jedoch waren von der Mehrheit der Hunde dieser Studie nicht-kardiale Todesursachen bekannt (nur wenige lebten bei Studienende) und die Hunde waren zum Todeszeitpunkt deutlich über das typische Erkrankungsalter der DCM hinaus. Ein weiterer Punkt ist, dass alle Daten der Studie zwar prospektiv gesammelt wurden, deren Auswertung aber zwangsläufig retrospektiv erfolgte, da abgewartet werden musste, welche Individuen bis ins Alter gesund blieben und regelmäßig echokardiographisch untersucht worden waren. Außerdem waren Gewebedoppleruntersuchungen nicht Gegenstand dieser Studie, die besonders geeignet sind, die diastolische Ventrikelfunktion zu untersuchen, welche ebenfalls Einfluss auf kardiale Remodeling Prozesse hat. Besondere Stärken der vorliegenden Studie sind hingegen, dass trotz der relativ geringen durchschnittlichen Lebenserwartung der IWS als Folge zahlreicher schwerwiegender Krankheitsdispositionen wie DCM, Knochenkrebs, andere Tumorerkrankungen, Pneumonien und Magendrehungen, eine relativ große Anzahl an Individuen bis ins höhere Alter ohne Anzeichen einer Herzerkrankung verfolgt werden konnte (EGENVALL et al., 2005; FLEMING et al., 2011; URFER et al., 2007). Außerdem wurden alle echokardiographischen Untersuchungen von ein und demselben Untersucher durchgeführt und jeder einzelne Hund der Studie wurde über einen weiten Zeitraum des Erwachsenenalters longitudinal bis ins Alter verfolgt.

VI ZUSAMMENFASSUNG

In der Humanmedizin spielt bei familiären Herzerkrankungen wie der dilatativen Kardiomyopathie die echokardiographische Frühdiagnostik eine zentrale Rolle. Besondere Bedeutung kommt hier der Unterscheidung beginnender krankhafter Herzveränderungen von normalen altersbedingten Umbauprozessen zu. Für den Menschen wurde in verschiedenen echokardiographischen Studien ein lebenslanger kardialer Remodeling Prozess über die adulte Lebensspanne beschrieben. Irische Wolfshunde erkranken häufig an einer familiären dilatativen Kardiomyopathie und werden für den Zuchteinsatz kardiologisch untersucht. Ziel der vorliegenden Studie war, den kardialen Remodelingprozess bei Hunden der Rasse Irischer Wolfshund zu untersuchen. Insgesamt wurden Daten von 56 Rüden und 90 Hündinnen ausgewertet, die über die adulte Lebensspanne longitudinal kardiologisch untersucht worden waren. Von jedem Hund lagen 4 echokardiographische Untersuchungen im Alter zwischen 1,0-2,5 Jahren, 3,0-4,0 Jahren, 4,5-6,0 Jahren und 7,0-10,5 Jahren vor. Der linksventrikuläre Remodelingprozess war im Wesentlichen durch eine Zunahme des linksventrikulären Innendurchmessers in Systole und Diastole mit nachlassender systolischer Myokardfunktion gekennzeichnet, während kaum Änderungen der Wandstärken zu verzeichnen waren. Beide Vorhöfe nahmen kontinuierlich an Größe zu. Im Geschlechtervergleich war bei Hündinnen der Remodelingprozess deutlich schwächer ausgeprägt, in einem Maße, dass die Veränderungen der Ventrikeldurchmesser keine statistische Signifikanz erreichten.

Schlussfolgerung: Bei Rüden der 4. Altersgruppe (7-10,5 Jahre) können die derzeit zur DCM-Diagnostik angewandten echokardiographischen Referenzwerte als Folgen des altersbedingten Remodeling geringfügig überschritten werden. Unter Berücksichtigung der Mittelwerte ± 2 Standardabweichungen dürfte der Innendurchmesser des linken Ventrikels systolisch und diastolisch bis zu 1mm größer sein (42 mm bzw. 61mm), die FS sollte mindestens 24% betragen. Der Innendurchmesser des linken Vorhofs kann hingegen mit bis zu 61mm physiologisch deutlich größer sein als der Referenzwert (bis 56mm).

VII SUMMARY

Echocardiographic Indices of Age and Gender-Dependent Cardiac Remodeling over the Adult Lifespan in Irish Wolfhounds

In humans, management of familial heart disease like dilated cardiomyopathy in asymptomatic patients increasingly emphasizes strategies of early diagnosis by echocardiography intended to reduce cardiac morbidity and mortality. It is important to distinguish cardiac disease from normal age-related changes. In people a life-long cardiac remodeling process has been demonstrated. Irish Wolfshounds are commonly, affected by familial dilated cardiomyopathy, cardiovascular screening examinations including echocardiography are recommended especially for breeding dogs. The purpose of this study was to characterize age and gender-dependent cardiac remodeling over the adult lifespan in Irish wolfhounds by echocardiography. Data of IWS (56 males, 90 females) with no indication of cardiac disease at final assessment (>7.0 years old) were evaluated. For each dog, four transthoracic echocardiographic studies were analyzed carried out from 1.0-2.5; 3.0-4.0; 4.5-6.0; and 7.0-10.5 years of age.

Over the adult life course, males had statistically significant increases in LV internal dimensions, atrial diameters and decreases of FS and EF. In females, LV internal dimensions did not change significantly, increases in right atrial and LA diameter were attenuated, as were decreases of FS. LV wall thicknesses did not significantly change in both genders.

Conclusions: As a consequence of age related remodeling, in normal male IWs of age-group four (7-10.5 years of age) left ventricular internal dimensions determined by echocardiography can mildly exceed upper reference intervals by approximately 1 mm (systolic up to 42mm, diastolic up to 61mm) while FS should be >24%. In addition, left atrial diameter can measure up to 61mm (reference <56mm)

VIII ERWEITERTES LITERATURVERZEICHNIS

Die blauen Ziffern in Klammern entsprechen der Literaturangabe in den publizierten Studienergebnissen in Kapitel IV.

AUPPERLE H, MARZ I, BALDAUF K, ROGGON N, KRESKEN JG: Pathology of DCM in Great Danes. *J Vet Int Med* 2014; 28:730.

BAVEGEMS, V., DUCHATEAU, L., SYS, S.U., DE RICK, A. (2007). Echocardiographic reference values in Whippets. *Vet Radiol Ultrasound* 48(3):230-238.

BORGARELLI M¹, SANTILLI RA, CHIAVEGATO D, D'AGNOLO G, ZANATTA R, MANNELLI A, TARDUCCI A. Prognostic indicators for dogs with dilated cardiomyopathy. *J Vet Intern Med.* 2006; 20(1):104-110.

BROWNLIE SE, COBB MA: Observations on the development of congestive heart failure in Irish Wolfhounds with dilated cardiomyopathy. *Journal of Small Animal Practice* 1999;40:371-377.

BURKETT, E.L., HERSHBERGER, R.E. (2005): Clinical and genetic issues in familial dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*, 969-981.

CALVERT CA, PICKUS CW, JACOBS GJ, J. BROWN J: Signalment, survival, and prognostic factors in Doberman pinschers with end-stage cardiomyopathy. *J Vet Int Med* 1997a;11: 323–326.

CALVERT CA, HALL G, JACOBS G, PICKUS C. Clinical and pathologic findings in Doberman pinschers with occult cardiomyopathy that died or developed congestive heart failure: 54 cases (1984-1991). *J Am Vet Med Assoc* 1997b;210:505-511.

CHEN C, SUNG K, SHIH S, LIU C, HOU C, HUNG C, HUNG-I Y. Age, gender and load-related influences on left ventricular geometric remodelling, systolic mid-wall function, and NT-ProBNP in asymptomatic Asian population. *PLoS One* 2016; 11(6): e0156467. doi:10.1371/journal.pone.0156467. (28)

CHENG S, XANTHAKIS V, SULLIVAN LM, LIEB W, MASSARO J, ARAGAM J, BENJAMIN EJ, VASAN RS. (2010): Correlates of echocardiographic indices of cardiac remodeling over the adult life course. *Circulation* 122, 570-578. (16)

CHUNG AK, DAS SR, LEONARD D, PESKOCK RM, KAZI F, ABDULLAH SM, CANHAM RM, LEVINE B, DRAZNER MH. (2006): Women have higher left ventricular ejection fraction than men independent of differences in left ventricular volume. The Dallas heart study. *Circulation* 113:1597-604. (15)

CRIPPA, L., FERRO, E., MELLONI, E., BRAMBILLA, P., CACALETTI, E. (1992): Echocardiographic parameters and indices in the normal beagle dog. *Lab Anim* 26,190-195.

CUNNINGHAM S.M., RUSH, J.E., FREEMAN, L.M., BROWN, D.J., SMITH, C.E.(2008):Echocardiographic ratio indices in overtly healthy Boxer dogs screened for heart disease. *J Vet Intern Med.* 22(4):924-30.

DAMBACH DM, LANNON A, SLEEPER M, BUCHANAN J: Familial dilated cardiomyopathy of young Potuguese water dogs. *J Vet Int Med* 1999;13:65-71.

DICKSON, D., SHAVE, R., RISHNIW, M., HARRIS, J., PATTESON, M.(2016): Reference intervals for transthoracic echocardiography in the English springer spaniel: a prospective, longitudinal study, *JSAP*, <https://doi.org/10.1111/jsap.12536>

DISTL, O., VOLLMAR, A.C., BROSCHEK, C., HAMANN, H., FOX, P.R., 2007. Complex seggregation analysis of dilated cardiomyopathy (DCM) in Irish Wolfhounds. *Heredity online*, Jul4, doi:10.1038/sj.hdy.6801024.

DUKES-McEWAN J, BORGARELLI M, TIDHOLM A, VOLLMAR AC, HÄGGSTRÖM J. Proposed guidelines for the diagnosis of canine dilated cardiomyopathy. The ESVC Taskforce for canine dilated cardiomyopathy. *J Vet Cardiol* 2003;5:7-19.

DUPREZ DA, FLOREA ND, JONES K, COHN JN. Beneficial effects of valsartan in asymptomatic individuals with vascular or cardiac abnormalities: the DETECTIV Pilot Study. *J Am Coll Cardiol* 2007;50:835–9. (2)

EGENVALL A, BONNETT BN, HÄGGSTRÖM J: Heart disease as a cause of death in insured Swedish dogs younger than 10 years of age. *J Vet Int Med* 2006; 20: 894–903.

EGENVALL A, BONNETT BN, OLSON P, HEDHAMMAR Å: Mortality in over 350,000 insured Swedish dogs from 1995-2000: II. Breed-specific age and survival patterns and relative risk for causes of death. *Acta vet scand.* 2005, 46,121-136. (35)

ELLIOTT, P., ANDERSSON B., ARBUSTINI E., BILINSKA Z., CECCHI F., CHARRON P., DUBOURG O., KUHL U., MAISCH B., McKENNA WJ MONSERRAT L, PANKUWEIT S, RAPEZZI C, SEFEROVIC P., TAVAZZI L., KEREN A. (2008): Classification of the cardiomyopathies: a position statement from the European Society Of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Disease. *Eur Heart J* 29, 270-276.

FATKIN D; member of the CSANZ Cardiac Genetic Diseases Council Writing Group. Guidelines for the diagnosis and management of familial dilated cardiomyopathy. *Heart Lung Circ.* 2011; 20(11):691-3. (5)

FLEMING JM, CREEVY Ke, PROMISLOW DEL. Mortality in North American dogs from 1984 to 2004: An investigation into age-, size-, and breed-related causes of death. *J vet Int Med* 2011;25:187-198. (34)

GANESH, S.K., ARNETT, D.K., ASSIMES, T.L. BASSON, C.T., CHAKRAVARTI, A., ELLINOR, P.T., ENGLER, M.B., GOLDMUNTZ, E., HERRINGTON, D.M., HERSHBERGER, R.E., HONG, Y., JOHNSON, J.A., KITTNER, S.J., McDERMOTT, D.A., MESCHIA, J.F., MESTRONI, L., O'DONNELL, C.J., PSATY, B.M., VASAN, R.S., RUEL, M., SHEN, W.K., TERZIK, A., WALDMANN, S.A. (2013): Genetics and genomics for the prevention and treatment of cardiovascular disease: update. A Scientific statement from the American heart association. *Circulation* 128, 2813-2851.

GEBHARD C, STÄHLI BE, GEBHARD CE, TASNADY H, ZIHLER D, WISCHNEWSKY MB, JENNI R, TANNER FC. Age- and gender-dependent left ventricular remodelling. *Echocardiography* 2013;30(10):1143-50. (17)

GUGJOO, M.B., HOQUE, M., SAXENA, A.C., SHAMSUZ ZANA, M.M., DEY, S: (2014): Reference values of M-mode echocardiographic parameters and indices in conscious Labrador Retriever dogs. *Iran J Vet Res* 15(4): 341–346.

HAAS J, FRESE KS, PEIL B, KLOOS W, KELLER A, NIETSCH R, FENG Z, MULLER S, KAYVANPOUR E, VOGEL B, SEDAGHAT-HAMEDANI F, LIM WK, ZHAO X, FRADKIN D, KOHLER D, FISCHER S, FRANKE J, MARQUART S, BARB I, LI DT, AMR A, EHLERMANN P, MERELES D, WEIS T, HASSEL S, KREMER, A, KING V, WIRSZ E, ISNARD R, KOMAJDA M, SERIO A, GRASSO M, SYRRIS P, WICKS E, PLAGNOL V, LOPES L, GADGAARD T, EISKJAER H, JORGENSEN M, GARCIA-GIUSTINIANI D, ORTIZ-GENGA M, CRESPO-LEIRO MG, DEPRez RH, CHRISTIAANS I, VAN RIJSINGEN IA, WILDE AA, WALDENSTROM A, BOLOGNESI M, BELLAZZI R, MORNER S, BERMEJO JL, MONSERRAT L, VILLARD E, MOGENSEN J, PINTO YM, CHARRON P, ELLIOTT P, ARBUSTINI E, KATUS HA, MEDER B. Atlas of the clinical genetics of human dilated cardiomyopathy. *Eur Heart J* 2015; 36:1123–1135a.

HERSHBERGER, R.E, HEDGES, D.J, MORALES, A. (2013): Dilated cardiomyopathy: the complexity of a diverse genetic architecture. *Nat Rev Cardiol* 10, 531-547.

HERSHBERGER, R.E, MORALES, A., SIEGFRIED, J.D. (2010): Clinical and genetic issues in dilated cardiomyopathy: a review for genetics professionals. *Genetics in Medicine* 12, 11, 655–667.

HÖLLMER, M. WILLESEN, JENSEN, A.T., KOCH, J. (2008): Aortic stenosis in the Dogue de Bordeaux. *JSAP* <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2008.00569.x>

HUNT SA, ABRAHAM WT, CHIN MH, FELDMAN AM, FRANCIS GS, GANIATS TG, JESSUP M, KONSTAM MA, MANCINI DM, MICHL K, OATS JA, RAHKO PS, SILVER MA, STEVENSON LW, YANCY CW. 2009 Focused update incorporated into the ACC/AHA 2005 guidelines for the diagnosis and management of heart failure in adults: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on practice guidelines developed in collaboration with the International Society for Heart and Lung Transplantation. *J Am Coll Cardiol* 2009;53:e1-90. (4)

JACOBSON, J.H., BOON, J.A. BRIGHT, J.M. (2013): An echocardiographic study of healthy Border Collies with normal reference ranges for the breed. *J Vet Cardiol* 15(2):123-130.

JACOBY, D., McKENNA, W.J. (2012): Genetics of inherited cardiomyopathy. *Eur Heart J* 33, 296–304.

KAYAR, A., GONUL, R., OR, M.E., UYSAL, A. (2006): M- Mode echocardiographic parameters and indices in the normal German shepherd dog. *Vet Radiol Ultrasound* 47(5):482-486.

KALLARAS K, SPARKS EA, SCHUSTER DP, OSEI K, WOOLEY CF, BOUDOULAS H. Cardiovascular effects of aging. Interrelationships of aortic, left ventricular, and left atrial function. *Her.*2001;26:129-39. (11)

KHOSITSETH A, MICHELS VV. Familial dilated cardiomyopathy: Recommended Screening and follow-up for relatives of probands with idiopathic DCM. *Cardiovasc Rev Rep*. 2004; 25(5)

LEE DS, PENCINA MJ, BENJAMIN EJ, WANG TJ, LEVY D, O'DONNELL CJ, NAM BH, LARSON MG, D'AGOSTINO RB, VASAN RS. Association of parental heart failure with risk of heart failure in offspring. *N Engl J Med* 2006;355:138–147.

LOBO, L., CANADA, N., BUSSADORI, C., CAVALHEIRA, J. (2008). Transthoracic echocardiography in Estrela Mountain dogs: reference values for the breed. *Vet Journal* 177(2):250-259.

MACEIRA AM, PRASAD SK, KHAN M, PENNELL DJ. Normalized left ventricular systolic and diastolic function by steady state free precession cardiovascular magnetic resonance. *J Cardiovasc Magn Reson* 2006;8:417-26. (14)

MAHON, N.G., MURPHY, R.T., MacRAE, C.A., CAFORIO, A.L., ELLIOTT, P.M., McKENNA, W.J. (2005): Echocardiographic evaluation in asymptomatic relatives of patients with dilated cardiomyopathy reveals preclinical disease. *Ann Intern Med* 143, 108–115.

MANOLIO TA, “Genomewide association studies and assessment of the risk of disease. *The New England Journal of Medicine* 2010;363 (2):166–176.

MARON, B.J., TOWBIN, J.A., THIENE, G., ANTZELEVITCH, C., CORRADO, D., ARNETT, D., MOSS, A.J., SEIDMANN, C.E., YOUNG, J.B. (2006): Contemporary Definitions and Classification of the Cardiomyopathies. An American Heart Association Scientific Statement from the Council on Clinical Cardiology, Heart Failure and Transplantation Committee; Quality of Care and Outcomes Research and Functional Genomics and Translational Biology Interdisciplinary Working Groups; and Council on Epidemiology and Prevention. *Circulation* 113, 1807-1816.

MARTIN MWS, STAFFORDS MJ, JOHNSON G, STREHLAU G, KING JN. Canine dilated cardiomyopathy: a retrospective study of prognostic findings in 367 clinical cases. *J Small Anim Pract* 2010;51:428-436.

MAUSBERG T-B, WESS G, SIMAK J et al. A locus on chromosome 5 is associated with dilated cardiomyopathy in doberman pinschers. *PLoS ONE*, vol. 6, no. 5, Article ID e20042, 2011.

McNALLY; E.M., MESTRONI, L. (2017): Dilated cardiomyopathy, genetic determinants and mechanisms. *Circulation Research*. 121, 731-748.

MEURS KM, FOX PR, NORGARD M et al.: A prospective genetic evaluation of familial dilated cardiomyopathy in the Doberman pinscher. *J Vet Int Med* 2007;21: 1016–1020.

MEURS KM, HENDRIX KP, NORGARD MM. Molecular evaluation of five cardiac genes in Doberman Pinschers with dilated cardiomyopathy. *Am J Vet Res* 2008;69 (8):1050-1053.

MEURS KM, MAGNON AL, SPIER AW, MILLER MW, LEHMKUHL LB, TOWBIN JA. Evaluation of the cardiac actin gene in Doberman Pinschers with dilated cardiomyopathy. *American Journal of Veterinary Research* 2001;62 (1):33–36.

- MEURS KM, S. LAHMERS S, B.W. KEENE BW et al. A splice site mutation in a gene encoding for PDK4, a mitochondrial protein, is associated with the development of dilated cardiomyopathy in the Doberman pinscher. *Human Genetics* 2012;131 (8):1319–1325.
- MEURS KM, STERN JA, SISSON DD et al.: Association of dilated cardiomyopathy with the striatin mutation genotype in boxer dogs. *J Vet Int Med* 2013; 27 (6):1437–1440.
- MISBACH, C., LEFEBVRE, H.P., CONCORDET, D., GOUNI, V., TREHIOU-SECHI, E., PETIT A., DAMOISEAUX, C., LEVERRIER, A., POUCHELON, J-L., CHETBOUL, V. (2014): Echocardiography and conventional Doppler examination in clinically healthy adult Cavalier King Charles Spaniels: Effect of body weight, age, and gender, and establishment of reference intervals. *J Vet Cardiol* 16(2), 91-100.
- MORALES, A., HERSHBERGER, R.E. (2013): Genetic evaluation of dilated cardiomyopathy. *Curr Cardiol Rep* 15, 375.
- MORETTI M, MERLOL M, BARBATI G et al. Prognostic impact of familial screening in dilated cardiomyopathy. *Eur J Heart Fail.* 2012; 12: 922-927.
- NIKITIN NP, LOH PH, DE SILVA R, WITTE KK, LUKASCHUK EL, PARKER A, FARNSWORTH TA, ALAMGIR FM, CLARK AL, CLELAND JG. Left ventricular morphology, global and longitudinal function in normal older individuals: A cardiac magnetic resonance study. *Int J Cardiol* 2006;108:76-83. (13)
- OLIVETTI G, GIORDANO G, CORRADI D, MELISSARI M, LAGRASTA C, GAMBERT SR, ANVERSA P. Gender differences and aging: effects on the human heart. *JAAC* 1995;26:1068-79. (31)
- O'GRADY MR, O'SULLIVAN ML, MINORS SL, et al.: Efficacy of benazepril hydrochloride to delay the progression of occult dilated cardiomyopathy in Doberman Pinschers. *J Vet Int Med* 2009;23:977-983.
- OWCZAREK-LIPSKA M, MAUSBERG T-B, STEPHENSON H, DUKES-McEWAN J, WESS G, LEEB T. A 16-bp deletion in the canine PDK4 gene is not associated with dilated cardiomyopathy in a European cohort of Doberman Pinschers. *Animal Genetics* 2013; 44, no. 2:239, 2013.
- PARK C, MARCH K, GHOSH A, JONES S, COADY E, TUSON C, FRANCIS D, MAYET J, TILLIN T, CHATURVEDI N, HUGHES A. Left-ventricular structure in the Southhall and Brent Revisited (SABRE) Study. *Hypertension* 2013. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.00610. (29)
- PETRIC AD, STABEJ P, ZEMVA A: Dilated cardiomyopathy in doberman pinschers: survival, causes of death and a pedigree review in a related line. *J Vet Cardiol* 2002; 4: 17–24.
- PHILIPP U, VOLLMAR A, DISTL O (2007a): Evaluation of six candidate genes for dilated cardiomyopathy in Irish wolfhounds. *Animal Genetics*, 39,84-92.
- PHILIPP U, BROSCHEK C, VOLLMAR A, DISTL O (2007a): Evaluation of Taffazin as Candidate for Dilated Cardiomyopathy in Irish wolfhounds. *Journal of Heredity*, 10.1093,1-5.
- PHILIPP U, VOLLMAR A, Thomas A, HÄGGSTRÖM J, et al. Multiple quantitative trait loci (QTL) are causing dilated cardiomyopathy in Irish wolfhounds. *PLoS One* 2012.

PINTO, Y.M., ELLIOTT, P.M., ARBUSTINI, E., ADLER, Y., ANASTASAKIS, A., BÖHM, M., DUBOC, D., GIMENO, J., de GROOTE, P., IMAZIO, M., HEYMANNS, S., KLINGEL, K., KOMAJDA, M., LIMONGELL, G., LINHART, A., MOGENSEN, J., MOON, J., PIEPER, P.G., SEFEROVIC, P.M., SCHUELER, S., ZAMORANO, J.L., CAFORIO, A.L., CHARRON, P. (2016): Proposal for a revised definition of dilated cardiomyopathy, hypokinetic non-dilated cardiomyopathy, and its implications for clinical practice: a position statement of the ESC working group on myocardial and pericardial diseases. *Eur Heart Journal* 37, 1850–1858.

RAPEZZI C., ARBUSTINI, E., CAFORIO, A.L., CHARRON, P., GIMENO-BLANES, J., HELIO, T., LINHART, A., MOGENSEN, J., PINTO, Y., RISTIC, A., SEGGEWISS, H., SINAGRA, G., TAVAZZI, L., ELLIOTT, P.M. (2013): Diagnostic work-up in cardiomyopathies: bridging the gap between clinical phenotypes and final diagnosis. A position statement from the ESC Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Eur Heart J*, 34, 1448–1458.

RIDKER PM, DANIELSON E, FONSECA FAH, GENEST J, GOTTO JrAM, KASTELEIN JJP, KOENIG W, LIBBY P, LORENZATTI AJ, MacFAYDEN JG, NORDESTGAARD BG, SHEPHERD J, WILLERSON JT, GLYNN RJ. Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein. *N Engl J Med* 2008;359:2195–207. (3)

RUAN Q, NAGUEH SF. Effect of age on left ventricular systolic function in humans: a study of systolic isovolumetric acceleration rate. *Exp Physiol*. 2005;90(4):527-34. (12)

SECKERDIECK M, HOLLER P, SMETS P, WESS G. (2015): Simpson's method of discs in Salukis and Whippets: Echocardiographic reference intervals for end-diastolic and end-systolic left ventricular volumes. *J Vet Cardiol* 17(4):271-281.

SIMPSON S, EDWARDS J, EMES RD, COBB MA, MONGAN NP, RUTLAND CS. A predictive model for canine dilated cardiomyopathy—a meta-analysis of Doberman Pinscher data. *Peer J* 2015; 3, article e:842, 2015.

SIMPSON S., DUNNING, M.D., BROWNLIE, S., PATEL, J., GODDEN, M., COBB, M., MONGAN, N.P., RUTLAND, C.S. Multiple Genetic Associations with Irish Wolfhound Dilated Cardiomyopathy. *BioMed Research International* 2016, ArticleID 6374082, <http://dx.doi.org/10.1155/2016/6374082>.

SLEEPER MM, HENTHORN PS, VIJAYASARATHY C et al.: Dilated cardiomyopathy in juvenile Portuguese water dogs. *J Vet Int Med* 2002;16:52–62.

SLOTWINER DJ, DEVEREUX RB, SCHWARTZ JE, PICKERING TG, DE SIMONE G, GANAU A, SABA PS, ROMAN MJ. Relation of age to left ventricular function in clinically normal adults. *Am J Cardiol* 1998;82:621-6. (10)

VAN SPAENDONCK-ZWARTS KY, VAN RIJSINGEN IA, VAN den BERG MP, LEKANNE, DEPRez RH, POST JG, VAN MIL AM, ASSELBERGS FW, CHRISTIAANS I, VAN LANGEN IM, WILDE AA, DE BOER RA, JONGBLOED JD, PINTO YM, VAN TINTELEN JP. Genetic analysis in 418 index patients with idiopathic dilated cardiomyopathy: overview of 10 years' experience. *Eur J Heart Fail* 2013;15:628–636.

STABEJ P, LEEGWATER PA, STOKHOF AA, DOMANJKO-PETRIC A, VAN OOST BA. Evaluation of the phospholamban gene in purebred large-breed dogs with dilated cardiomyopathy. *Am J Vet Res* 2005;66 (3): 432-436.

STABEIJ P, IMHOLZ S, VERSTEEG SA et al. Characterization of the canine desmin (DES) gene and evaluation as a candidate gene for dilated cardiomyopathy in the Dobermann. *Gene* 2004;340,(2): 241–249.

STEPHENSON HM, FONFARA S, LÓPEZ-ALVAREZ J, et al. Screening for dilated cardiomyopathy in great Danes in the United Kingdom. *J Vet Int Med* 2012;26:1140-1147.

SUMMERFIELD NJ, BOSWOOD A, O'GRADY MR, et al. Efficacy of pimobendan in the prevention of congestive heart failure or sudden death in Doberman pinschers with preclinical dilated cardiomyopathy (the PROTECT Study). *J Vet Intern Med* 2012;26:1337-1349.

The Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators (2000): Effects of an angiotensin-converting enzyme inhibitor, ramipril, on cardiovascular events in high-risk patients. *N Engl J Med*, 342,145–53. (1)

TIDHOLM A, SVENSSON H, SYLVÉN C. Survival and prognostic factors in 189 dogs with dilated cardiomyopathy. *J Am Anim Hosp Assoc* 1997;33:364-368.

TIDHOLM, A.; J. HÄGGSTRÖM, M. BORGARELLI, and A. TARDUCCI, “Canine idiopathic dilated cardiomyopathy. Part I: Aetiology, clinical characteristics, epidemiology and pathology,,” *Veterinary Journal*, vol. 162, no. 2, pp. 92–107, 2001.

TIDHOLM A, JÖNSSON L: Histologic characterization of canine dilated cardiomyopathy. *Vet Path* 2005; 42:1–8.

TIDHOLM A. Survival in dogs with dilated cardiomyopathy and congestive heart failure treated with digoxin, furosemide and propranolol: A retrospective study of 62 dogs. *J Vet Cardiol* 2006; 8(1):41-47.

DELLA TORRE, P.K., KIRBY, A.C., CHURCH, D.B., MALIK, R. (2000): Echocardiographic measurement in greyhound, whippets and Italian greyhounds DellaToree et al. *Aus Vet J* 78(1), 49-55.

URFER SR, GAILLARD C, STEIGER A (2007) Lifespan and disease predispositions in the Irish Wolfhound: A review, *Veterinary Quarterly* 2007; 29:102-111.
doi: 10.1080/01652176.2007.9695233. (33)

VÖRÖS, K., HETYEY, C., REICZIGEL, J., CZIROK, G.N. (2008): M-Mode and 2D echocardiographic reference values for 3 hungarian dog breeds: hungarian Vizsla, Mudi, hungarian Greyhound. *Acta Vet Hung* 57(2): 217-227.

VOLLMAR, A.C., 1999a. Echocardiographic measurements in the Irish wolfhound, reference values for the breed. *Journal of the American Animal Hospital Association* 35, 271-277.

VOLLMAR, A.C., 1999b. Use of echocardiography in the diagnosis of dilated cardiomyopathy in Irish wolfhounds. *Journal of the American Animal Hospital Association* 35, 279-283.

VOLLMAR, A.C., 2000. The prevalence of cardiomyopathy in the Irish wolfhound: A clinical study of 500 dogs. *Journal of the American Animal Hospital Association* 36, 125-132. (6)

VOLLMAR, A., Aupperle, H. 2016. Cardiac pathology in Irish wolfhounds with heart disease. *Journal of Veterinary Cardiology* 18,57-70.

VOLLMAR, A.C., Fox, P.R. 2016. Long-term Outcome of Irish Wolfhound Dogs with Preclinical Cardiomyopathy, Atrial Fibrillation, or Both Treated with Pimobendan, Benazepril Hydrochloride or Methyldigoxin Monotherapy. [Journal of Veterinary Internal Medicine](#) 30(2), 553-559.

WESS G, SCHULZE A, BUTZ V, SIMAK J, KILLICH M, KELLER LJ, MAEURER J, HARTMANN K.: Prevalence of dilated cardiomyopathy in Doberman Pinschers in various age groups. *J Vet Int Med* 2010;24(3):533-8.

WESS G, DOMENECH O, DUKES-McEWAN J, et al. European Society of Veterinary Cardiology screening guidelines for dilated cardiomyopathy in Doberman pinschers. *J Vet Cardiol* 2017;19:405-415.

WIERSMA AC, LEEGWATER PA, van OOST BA, OLLIER WE, DUKES-McEWAN J. Canine candidate genes for dilated cardiomyopathy: annotation of and polymorphic markers for 14 genes. *BMC Veterinary Research* 2007;3, article 28.

WIERSMA AC, STABEJ P, LEEGWATER PA, VAN OOST BA, OLLIVER WE, DUKES-McEWAN J. Evaluation of 15 candidate genes for dilated cardiomyopathy in the Newfoundland dog. *Journal of Heredity* 2008; 99 (1):73–80.

IX ABKÜRZUNGEN

AF	Vorhofflimmern
ARVC	arrhythmogene rechtsventrikuläre Kardiomyopathie
CHF	kongestives Herzversagen
DCM	dilatative Kardiomyopathie
EF	Ejektionsfraktion
EKG	Elektrokardiogramm
EPSS	(E-point to septal separation), kürzester Abstand des Mitralklappensegels zum Ventrikelseptum während des Ventrikeleinstroms
FS	Verkürzungsfraktion
GWAS	Genomweite Assoziationsstudie
IW	Irischer Wolfshund
IWs	Irische Wolfshunde
SNP	Single Nucleotid Polymorphism

XI Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Dr. Andrea Vollmar für die Überlassung des Themas und aller Daten sowie für ihre vielseitige Unterstützung bei der Realisierung dieser Doktorarbeit.

Herrn Dr. Sven Reese danke ich für seine hervorragende Unterstützung bei der statistischen Auswertung der Daten und für die Übernahme der Betreuung der Dissertation.

Schließlich möchte ich mich auch bei meiner Familie bedanken: dafür, dass ihr immer für mich da seid.