

Verträglichkeit von Bisoprolol bei Hunden mit pacinginduzierter Herzinsuffizienz

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Dr. med. vet.
beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Annette Bögel

Aus der Klinik für Kleintiere (Innere Medizin)
der Justus-Liebig-Universität Gießen
Betreuer: PD Dr. M. Schneider

und

der Abteilung Non Infectious Diseases
der Bayer HealthCare AG
Betreuer: Prof. Dr. N. Schmeer

Verträglichkeit von Bisoprolol bei Hunden mit pacinginduzierter Herzinsuffizienz

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Dr. med. vet.
beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von
Annette Bögel
Tierärztin aus Herford

Gießen 2008

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan: Prof. Dr. Dr. habil. G. Baljer

Gutachter:

PD Dr. M. Schneider

Prof. Dr. N. Schmeer

Tag der Disputation: 22. August 2008

Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.

Meiner Familie und meinen Freunden

INHALTSVERZEICHNIS

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG	1
2	LITERATURÜBERSICHT	3
2.1	Herzerkrankungen beim Hund	3
2.1.1	Definition der Herzinsuffizienz	4
2.1.2	Pathophysiologie	5
2.1.2.1	Neuroendokrine Systeme	7
2.1.2.2	Kardiales Remodeling	13
2.1.3	Symptomatik und Diagnostik	15
2.1.3.1	Klinische Untersuchung	15
2.1.3.2	Radiographie	18
2.1.3.3	Elektrokardiographie	20
2.1.3.4	Echokardiographie	21
2.1.3.5	Herzkatheter-Untersuchung	24
2.1.3.6	Biomarker	25
2.1.4	Therapie	28
2.2	β-Rezeptor-Antagonisten	35
2.2.1	Wirkungsmechanismen	37
2.2.2	Einsatz in der Humanmedizin	41
2.2.3	Erfahrungen in der Veterinärmedizin	43
2.2.4	Bisoprolol	45
2.3	Herzinsuffizienz im Tiermodell	46
2.3.1	Modell des tachykarden Pacings	47
2.3.2	Modell der koronaren Mikroembolisation	49
2.3.3	Modell zur Erzeugung einer Mitralklappeninsuffizienz	50
3	MATERIAL UND METHODEN	51
3.1	Studiendesign und –ablauf	51
3.1.1	Eingewöhnungs- und Induktionsphase	51
3.1.2	Behandlungsphase	53

3.2	Substanzen	55
3.2.1	Bisoprololformulierung	55
3.2.2	Placeboformulierung	56
3.2.3	Begleitmedikation	56
3.3	Versuchstiere, Haltung und Fütterung	56
3.4	Implantation des Herzschrittmachers	57
3.5	Untersuchungen	58
3.5.1	Blutdruck	58
3.5.2	Elektrokardiogramm	59
3.5.3	Echokardiogramm	59
3.5.4	Blutuntersuchungen	60
3.5.4.1	Hämatologie und klinisch-chemische Blutuntersuchung	60
3.5.4.2	Nt-proBNP	61
3.5.4.3	Pharmakokinetik	61
3.5.5	Intrakardiale Druckmessung	62
3.6	Statistik	63
4	ERGEBNISSE	64
4.1	Induktionsphase	64
4.1.1	Implantation der Herzschrittmacher	64
4.1.2	Entwicklung der Herzinsuffizienz	64
4.2	Behandlungsphase	68
4.2.1	Klinische Symptome und Körpergewicht	68
4.2.2	Elektrokardiographie	71
4.2.2.1	Herzfrequenz (HF)	71
4.2.2.2	PQ-Intervall	76
4.2.2.3	QRS-Komplex	80
4.2.2.4	Korrigiertes QT-Intervall (QTcF)	84
4.2.3	Echokardiographie	88
4.2.3.1	Linksventrikulärer enddiastolischer Durchmesser (LVIDd)	88
4.2.3.2	Linksventrikulärer endsystolischer Durchmesser (LVIDs)	92
4.2.3.3	Linksventrikuläre Verkürzungsfraction (LVFS)	96

4.2.4	Messung des Blutdrucks	100
4.2.4.1	Systolischer Blutdruck (SBP)	100
4.2.4.2	Diastolischer Blutdruck (DBP)	104
4.2.4.3	Mittlerer arterieller Blutdruck (MAP)	108
4.2.5	Blutuntersuchungen	112
4.2.5.1	Nt-proBNP	112
4.2.5.2	Hämatologie	115
4.2.5.3	Klinische Chemie	118
4.2.5.4	Pharmakokinetik	122
4.2.6	Intrakardiale Druckparameter	124
5	DISKUSSION	129
5.1	Induktionsphase	129
5.1.1	Entwicklung der Herzinsuffizienz	129
5.1.2	Bewertung des Pacingmodells	134
5.2	Behandlungsphase	135
5.2.1	Klinische Symptome und Körpergewicht	135
5.2.2	Elektrokardiogramm	135
5.2.3	Echokardiogramm	140
5.2.4	Blutdruck	144
5.2.5	Nt-proBNP	147
5.2.6	Hämatologie und klinische Chemie	149
5.2.7	Intrakardiale Druckparameter	150
5.3	Verträglichkeit von Bisoprolol	152
5.4	Bewertung der Titrationsprotokolle	155
5.5	Ausblick	156
6	ZUSAMMENFASSUNG	158
7	SUMMARY	160
8	LITERATURVERZEICHNIS	162

Inhaltsverzeichnis **IV**

9 ANHANG **191**

10 DANKSAGUNG **193**

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis

A.	=	<i>Arteria</i>
ACE	=	Angiotensin converting enzyme
ALT	=	Alanin-Amino-Transferase
Ang II	=	Angiotensin II
ANP	=	Atrial natriuretic peptide
<i>appl.</i>	=	<i>applicationem</i>
BNP	=	Brain natriuretic peptide
bw	=	Body weight
bzw.	=	beziehungsweise
cm	=	Zentimeter
cTnI	=	Kardiales Troponin I
DBP	=	Diastolischer Blutdruck
dP/dt max	=	Maximale Druckerhöhungsgeschwindigkeit
dP/dt min	=	Maximale Druckabfallsgeschwindigkeit
et al.	=	et alii
ET 1	=	Endothelin 1
G	=	Gravitationskonstante
h	=	Stunde
HF	=	Herzfrequenz
kg	=	Kilogramm
KGW	=	Körpergewicht
L	=	Liter
LVEDP	=	Linksventrikulärer Füllungsdruck am Ende der Diastole
LVFS	=	Linksventrikuläre Verkürzungsfraction
LVIDd	=	Linksventrikulärer Durchmesser am Ende der Diastole
LVIDs	=	Linksventrikulärer Durchmesser am Ende der Systole
MAP	=	Mittlerer arterieller Blutdruck
mg	=	Milligramm
min	=	Minute
mmHg	=	Millimeter Quecksilbersäule
mL	=	Milliliter
msec	=	Millisekunden
MW	=	Mittelwert
N	=	Gesamtanzahl an eingeschlossenen Patienten/Tieren
n	=	Anzahl der Tiere pro Gruppe
NA	=	Noradrenalin
ng	=	Nanogramm
Nt-proBNP	=	N-terminales proBNP
pmol	=	Picomol
qm	=	Quadratmeter
QTcF	=	Nach Fridericia korrigiertes QT-Intervall
RAAS	=	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System

Abkürzungsverzeichnis

rpm	=	Umdrehungen pro Minute
SBP	=	Systolischer Blutdruck
sec	=	Sekunden
SEM	=	Standardfehler
SNS	=	Sympathisches Nervensystem
TNF	=	Tumornekrosefaktor
U	=	Einheit
V.	=	<i>Vena</i>
vs	=	versus
WBC	=	Gesamtleukozytenzahl
z.B.	=	zum Beispiel
%	=	Prozent
µg	=	Mikrogramm
µm	=	Mikrometer
°C	=	Grad Celsius

1 Einleitung

Trotz enormer Fortschritte in der Veterinärkardiologie kann die Mehrzahl der erworbenen kardialen Erkrankungen bei Hunden nach wie vor nicht geheilt, sondern lediglich symptomatisch behandelt werden. In Hinblick auf die Pathophysiologie des Herzversagens hat sich im Laufe der letzten zwei Jahrzehnte eine Umorientierung weg vom hämodynamischen hin zum neuroendokrinen Pathogenesemodell vollzogen¹⁸⁹, bei dem die dauerhafte Aktivierung neuroendokriner Kompensationsmechanismen als maßgebliche Ursache für das Fortschreiten der Erkrankung im Mittelpunkt steht. Die neu gewonnenen Erkenntnisse führten auch zu neuen Optionen in den therapeutischen Konzepten in der Kardiologie¹³³. Neben der rein symptomatischen Behandlung wird nun zusätzlich eine Durchbrechung der aktivierten neuroendokrinen Regelkreise angestrebt, um eine Verzögerung des Krankheitsverlaufes zu erzielen⁹⁰.

β -Rezeptor-Antagonisten (β -Blocker) hemmen durch Katecholamine vermittelte kardiotoxische Effekte des sympathischen Nervensystems³⁷. Das sympathische Nervensystem wird als eines der ersten und wichtigsten neuroendokrinen Systeme im Zuge einer kardialen Erkrankung dauerhaft aktiviert und spielt eine zentrale Rolle bei den strukturellen und morphologischen Veränderungen des Herzens²²⁹. Lange Jahre galten β -Blocker in der Therapie der kongestiven Herzinsuffizienz als kontraindiziert, da eine akute kardiale Dekompensation aufgrund ihrer negativ inotropen und chronotropen Eigenschaften befürchtet wurde. Inzwischen wurden ihre lebensverlängernden Wirkungen in klinischen Studien an Tausenden von Patienten mit kongestiver Herzinsuffizienz bewiesen, so dass β -Blocker in der Humanmedizin heute zur Standardtherapie von Patienten mit systolischen Dysfunktionen des Herzens gehören¹³⁸.

In der Veterinärmedizin liegen bisher nur geringe Erfahrungen hinsichtlich des Einsatzes von β -Blockern bei Hunden mit Herzinsuffizienz vor. Aufgrund der großen therapeutischen Erfolge in der Humanmedizin und der Annahme, dass sich die Inhibition sympathisch vermittelter kardiotoxischer Effekte auch bei Hunden positiv auf den Krankheitsverlauf auswirkt, besteht unter Veterinärkardiologen jedoch ein großes Interesse an Untersuchungen zur Verträglichkeit und Wirksamkeit von β -Blockern in der Therapie kardial erkrankter Hunde¹⁰⁰.

Ziel der vorliegenden Studie war es zu untersuchen, ob Hunde mit experimentell erzeugter Herzinsuffizienz die Initiierung einer Therapie mit dem β_1 -selektiven Adrenozeptorblocker Bisoprolol vertragen, ohne aufgrund der bekannten kardiodepressiven Eigenschaften von β -Blockern klinische Zeichen einer akuten kardialen Dekompensation zu entwickeln. Eine weitere Fragestellung bestand in der Etablierung eines sicheren und geeigneten Protokolls zur Dosissteigerung, weshalb in der vorliegenden Studie ein konservativ gestaltetes Protokoll mit einem aggressiv gestalteten verglichen wurde.

2 Literaturübersicht

2.1 Herzerkrankungen beim Hund

10% aller in der tierärztlichen Praxis vorgestellten Hunde und Katzen leiden an einer Herzerkrankung¹⁴⁴. Laut der Statistik einer schwedischen Versicherung ist bei 8% aller Hunde eine Herzerkrankung die Todesursache. Damit stehen kardiale Erkrankungen in Schweden nach Tumoren, Traumata und Erkrankungen des Bewegungsapparates an vierter Stelle aller Todesursachen bei Hunden³². Generell stellen diese Erkrankungen in der Praxis ein häufig auftretendes und schwerwiegendes Problem dar, da sie in der Mehrzahl der Fälle irreversibel und tödlich sind.

Grundsätzlich wird zwischen angeborenen und erworbenen Herzerkrankungen (heart disease^a) unterschieden, wobei die chronische valvuläre Herzerkrankung (chronic valvular heart disease; CVHD) die bei weitem häufigste Form der erworbenen Herzerkrankungen und Herzerkrankungen im Allgemeinen beim Hund¹⁰⁹ darstellt.

Die CVHD wurde im Laufe der Jahre im englischen und deutschen Schrifttum unter zahlreichen unterschiedlichen Bezeichnungen beschrieben, von denen einige hier aufgeführt werden, um Verwirrung beim Studium der Literatur zu vermeiden. Zu den am häufigsten verwendeten Begriffen gehören: Mitralklappeninsuffizienz (mitral valve regurgitation; MR)¹¹⁰, Endokardiose (endocardiosis)⁴⁸, degenerative Mitralklappenerkrankung (degenerative mitral valve disease; DMVD)¹⁰⁹, myxomatöse Atrioventrikularklappen-Degeneration (myxomatous atrioventricular valvular degeneration) und chronische Klappenfibrose (chronic valvular fibrosis)²⁵⁵.

Charakteristisches Merkmal der CVHD ist eine progressive myxomatöse Degeneration einer oder beider Atrioventrikularklappen, die zu einer Insuffizienz der betroffenen Klappe(n) führt. In der überwiegenden Zahl der Fälle beschränkt sich die Erkrankung auf die Mitralklappe, jedoch kann auch die Trikuspidalklappe von der Degeneration betroffen sein^{48,33}. In den Untersuchungen von Buchanan⁴⁸

^a Anmerkung: Die in den englischen Literaturzitate verwendeten Begriffe, die auch im deutschen Sprachgebrauch häufig verwendet werden, sind hier in Klammern angegeben

war bei 62% der untersuchten Hunde ausschließlich die Mitralklappe von der Erkrankung betroffen, 33% der Hunde wiesen Veränderungen an beiden Atrioventrikularklappen auf und bei lediglich 1,3% der Tiere war ausschließlich die Trikuspidalklappe verändert⁴⁸. Bei der CVHD handelt es sich um eine multifaktorielle Erkrankung, die autosomal und polygen vererbt wird^{299,221}. Der genaue genetische Defekt konnte noch nicht identifiziert werden¹¹⁵. Der Anteil der CVHD an den erworbenen kardialen Erkrankungen wird mit ca. 75% angegeben^{75,69,48,109}. Typischerweise tritt sie bei älteren Hunden kleiner bis mittelgroßer Rassen auf wie zum Beispiel Cavalier King Charles Spaniel, Papillon, Pudel, Chihuahua und Dachshund¹¹⁷. In einer Studie an 394 Cavalier King Charles Spaniels wurde bei 56% der über vier Jahre alten Tiere und bei 100% der über zehn Jahre alten Tiere ein apikales systolisches Herzgeräusch diagnostiziert, das als indikativ für eine chronische Mitralklappenerkrankung gilt²².

Nach der CVHD stellt die dilatative Kardiomyopathie (dilatative cardiomyopathy; DCM) die zweithäufigste Form der erworbenen kardialen Erkrankungen dar²¹. Sie tritt häufiger in großen und mittelgroßen Hunderassen wie Dogge, Doberman Pinscher, Irish Wolfhound und Boxer auf und wird in der Regel in einem Alter von fünf bis sieben Jahren erstmalig diagnostiziert³¹⁷. Als Ursache für die DCM werden verschiedene Möglichkeiten wie genetische Faktoren, Taurin- oder Carnitinmangel, metabolische Störungen, immunologische Vorgänge oder infektiöse Erkrankungen diskutiert³¹⁹, wobei die erhebliche Prädisposition der genannten Hunderassen für eine dominierende Rolle der genetischen Faktoren spricht³³¹. Ein autosomal dominanter Erbgang wurde zum Beispiel bei Irischen Wolfshunden⁷⁹ und für den Dobermann Pinscher¹⁹⁵ beschrieben.

2.1.1 Definition der Herzinsuffizienz

Unabhängig von ihrer Ätiologie ist den erworbenen Herzerkrankungen ihr progressiver Charakter gemeinsam. Sie führen früher oder später zu klinischen Symptomen, die auf eine kardiale Insuffizienz zurückzuführen sind. Die Vielzahl existierender Vorschläge zur Definition der Herzinsuffizienz (heart failure) zeigt wie schwierig es ist, eine allgemein gültige und gut verständliche Formulierung zu finden, die die zahlreichen Aspekte der Erkrankung und ihres klinischen Erscheinungsbildes berücksichtigt. Kittleson¹⁵¹ definiert Herzinsuffizienz als ein klinisches Syndrom, dass durch eine Erkrankung des Herzens verursacht wird, die

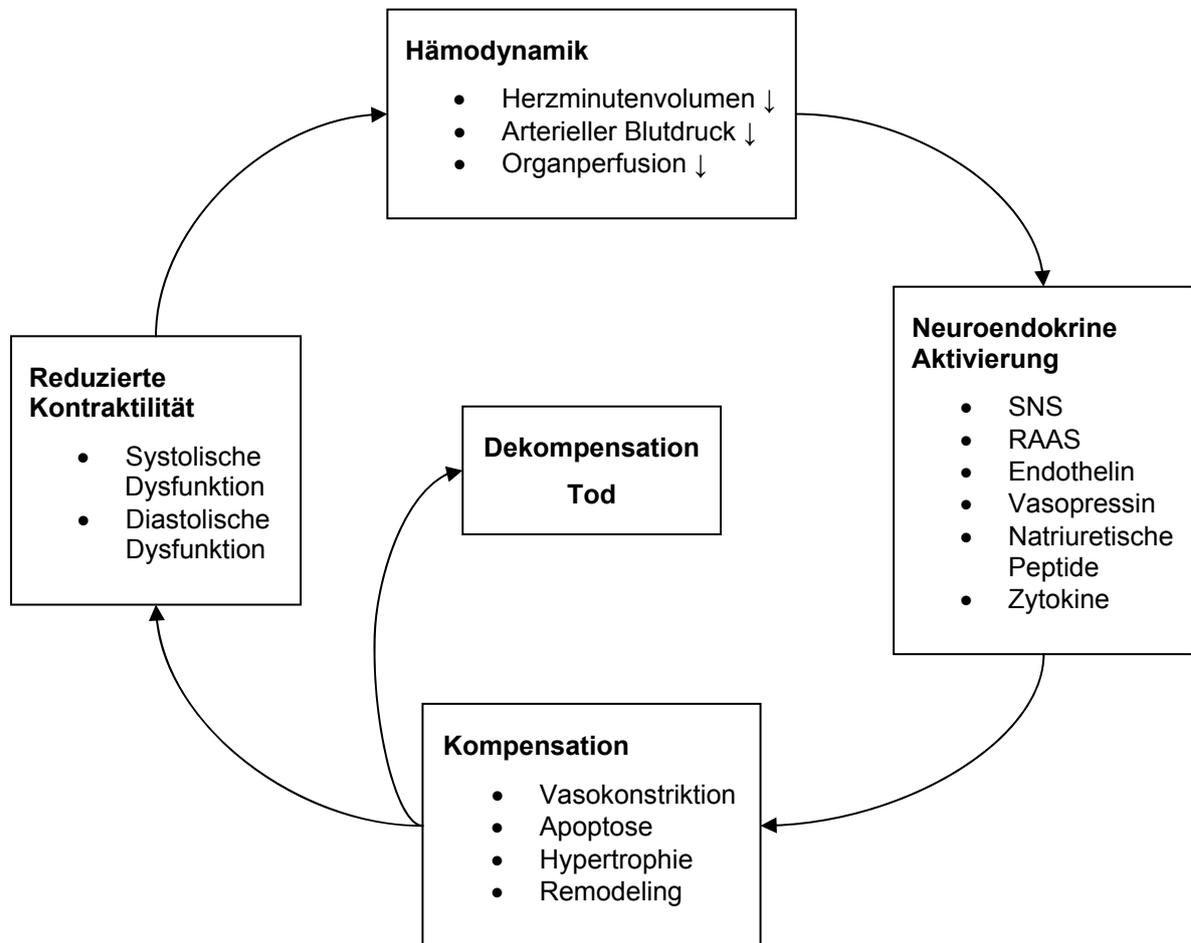
zu einer systolischen und/oder diastolischen Dysfunktion führt, die so schwerwiegend ist, dass trotz einer Aktivierung der kardiovaskulären Kompensationsmechanismen die Herzleistung nicht in ausreichendem Ausmaß aufrecht erhalten werden kann. Das führt in der Ruhe oder unter Belastung zu klinischen Symptomen, die entweder auf einen Rückstau des Blutes und/oder auf eine herabgesetzte periphere Durchblutung zurückführbar sind.

Neben der Einteilung in systolische und diastolische Funktionsstörungen sind in der Literatur noch weitere Beschreibungen und Klassifizierungen hinsichtlich der Herzinsuffizienz verbreitet. Es wird unterschieden zwischen Rechts- und Linksherzinsuffizienz (right heart failure, left heart failure) sowie zwischen Vorwärts- und Rückwärtsversagen (forward heart failure, backward heart failure). Die meisten dieser deskriptiven Begriffe lassen keinen Schluss auf die Ätiologie der Erkrankung zu und sind nur von geringem klinischem Nutzen²⁹⁶. Ein häufig verwendeter Begriff ist der der kongestiven Herzinsuffizienz (congestive heart failure). Er beschreibt einen Zustand, in dem klinische Symptome auftreten, die auf einen Rückstau des Blutes in den kleinen oder großen Körperkreislauf zurückzuführen sind.

2.1.2 Pathophysiologie

Charakteristisch sowohl für die CVHD als auch für die DCM sind - hervorgerufen durch die abnehmende Pumpleistung des Herzens - ein Abfall des arteriellen Blutdrucks und eine verminderte Durchblutung peripherer Organe und Gewebe. Die physiologische Reaktion des Körpers besteht in einer Aktivierung verschiedener neuroendokriner Regelkreise²⁷⁹, mit deren Hilfe ein physiologischer Blutdruck wieder hergestellt wird¹⁸⁹. Auf lange Sicht gesehen führen diese Systeme bei chronischer Aktivierung jedoch zu funktionellen, strukturellen und molekularen Veränderungen des Herzens, die als kardiales Remodeling (cardiac remodeling) bezeichnet werden, und zur Progression systolischer und diastolischer Funktionsstörungen beitragen⁶³. Es entsteht ein *circulus vitiosus*, der letztlich die Dekompensation der Herzerkrankung und den Tod zur Folge hat³⁴⁰ (Abbildung 2.1).

Abbildung 2.1: Circulus vitiosus der Herzinsuffizienz (modifiziert nach Weil und Schunkert³⁴⁰)



SNS = sympathisches Nervensystem; RAAS = Renin-Angiotensin-Aldosteron-System

2.1.2.1 Neuroendokrine Systeme

Folgende neuroendokrine Regelkreise und Systeme werden im Verlauf einer kardialen Erkrankung und ihrer Progression zur Herzinsuffizienz aktiviert:

- Sympathisches Nervensystem (SNS)
- Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS)
- Endothelin
- Vasopressin
- Natriuretische Peptide
- Adrenomedullin
- Zytokine

Wann und in welcher Reihenfolge die Systeme genau aktiviert werden, das Maß ihrer Bedeutung und wie sie sich gegenseitig beeinflussen und miteinander interagieren ist nach wie vor Gegenstand wissenschaftlicher Untersuchungen.

Als eines der ersten und wichtigsten Systeme wird das **sympathische Nervensystem (SNS)** aktiviert. Bei einem Abfall des arteriellen Blutdrucks steigt, vermittelt über Barorezeptoren im Carotissinus und im Aortenbogen, der Tonus des SNS^{88,335} und die Ausschüttung seines Neurotransmitters Noradrenalin (NA). NA vermittelt seine Wirkungen über adrenerge α - und β -Rezeptoren, von denen zur Zeit sechs α -Subtypen (α_{1A} , α_{1B} , α_{1D} , α_{2A} , α_{2B} und α_{2C}) bzw. drei β -Subtypen (β_1 , β_2 und β_3) bekannt sind⁴³. Über diese Subtypen werden verschiedene Wirkungen vermittelt. Es bestehen sowohl zwischen den Zielgeweben und -organen innerhalb des Körpers als auch zwischen verschiedenen Tierarten Unterschiede in der Verteilung der Subtypen^{289,15}. Akut führt NA über kardiale β_1 -Rezeptoren zu einem Anstieg der Herzfrequenz und der myokardialen Kontraktilität⁴⁶, wodurch das Herzminutenvolumen gesteigert wird. Gleichzeitig vermittelt NA über α_1 -Rezeptoren an den Gefäßen in der Peripherie eine Vasokonstriktion, in deren Folge der periphere Widerstand wächst und der verminderte arterielle Blutdruck wieder auf ein physiologisches Maß angehoben wird.

Bei einer kardialen Erkrankung führt die bestehende Dysfunktion des Herzens zu einer kontinuierlichen Stimulation des SNS und dauerhaft erhöhten Plasmaspiegeln von NA, die sowohl bei Hunden mit einer CVHD als auch bei Hunden mit

einer DCM nachgewiesen wurden^{334,185}. Ein aktiviertes SNS, das kurzfristig die Leistungsfähigkeit des Organismus steigert bzw. erhält, hat langfristig gesehen verheerende Folgen für das Herz und ist maßgeblich an der Progression der Erkrankung beteiligt³³⁵. Belegt wird das eindrücklich durch humanmedizinische Untersuchungen, die die Höhe der kardialen NA Konzentration als einen starken prognostischen Marker für einen tödlichen Ausgang der Erkrankung indentifizierten¹⁴³. Der chronisch erhöhte Sympathikotonus bewirkt, dass sich das Herz quasi in einem permanenten „Fluchtmodus“ befindet und damit enormen Belastungen ausgesetzt ist. Die pathologisch erhöhte Herzfrequenz und Kontraktilität steigern den myokardialen Energie- und Sauerstoffbedarf, während gleichzeitig die periphere Vasokonstriktion zu einer anhaltenden Erhöhung der Nachlast führt, die das Herz zusätzlich belastet. Weitere Folgen eines erhöhten Sympathikotonus sind eine gesteigerte Erregbarkeit der Herzmuskelzellen, die die Gefahr für das Auftreten von Arrhythmien erhöht^{193,78,229}, sowie eine Aktivierung des RAAS vermittelt über β_1 -Rezeptoren am juxtaglomerulären Apparat der Niere³²⁶.

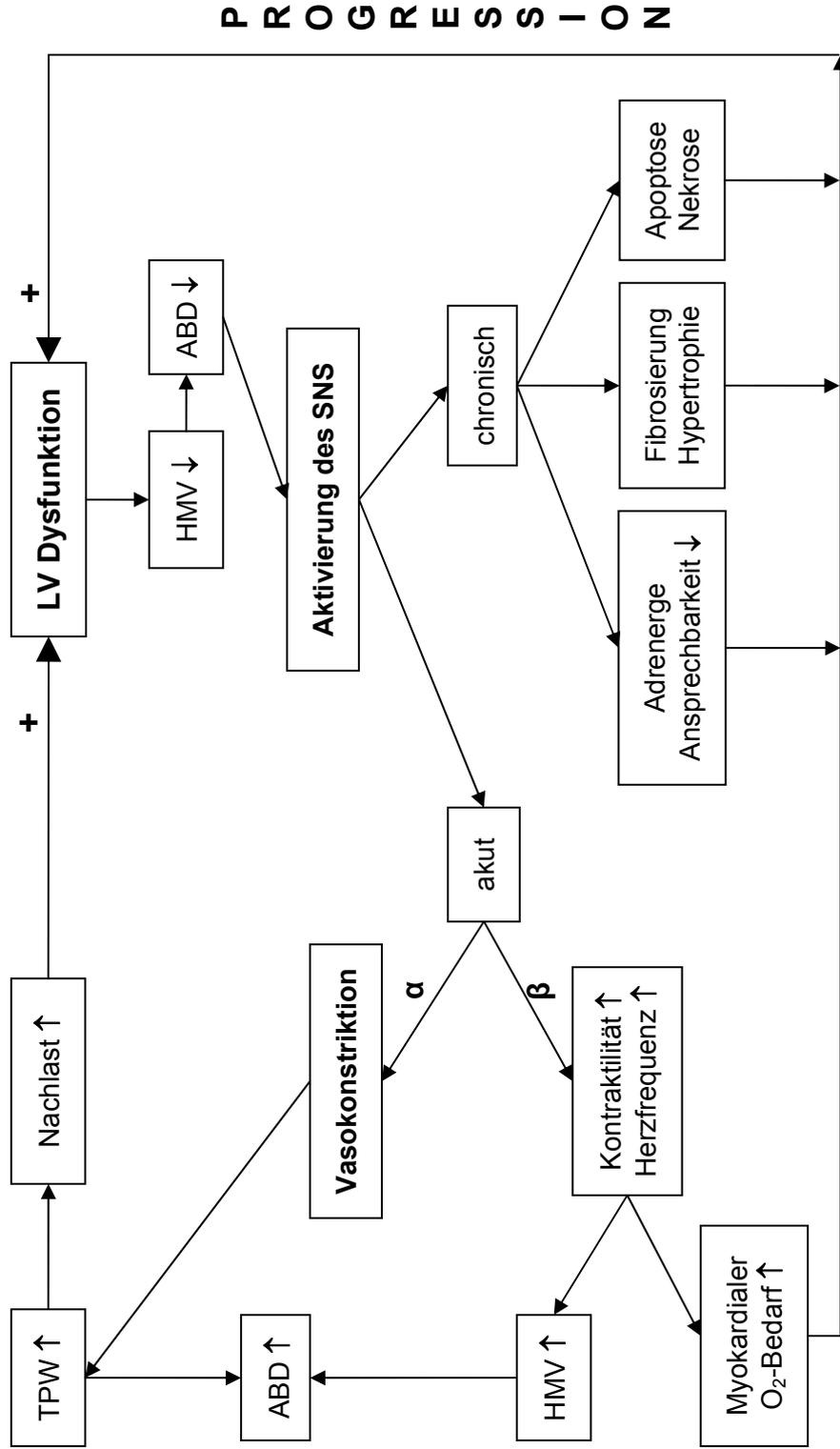
Auf Ebene des Myokards verursacht die anhaltende sympathische Stimulation eine Abnahme der β_1 -Rezeptoren, wodurch die Ansprechbarkeit der adrenergen Rezeptoren auf endogene Katecholamine sinkt. Beträgt der prozentuale Anteil der β_1 -Rezeptoren im gesunden humanen Herzen noch 70-80%, so sinkt dieser Anteil bei Vorliegen einer kongestiven Herzinsuffizienz auf etwa 50%^{39,44,46}. Auch bei Hunden mit experimentell erzeugter Herzinsuffizienz wurde eine Abnahme der β -Rezeptordichte (nicht differenziert nach β_1 und β_2) nachgewiesen, die negativ mit der Konzentration von NA im Plasma korrelierte^{170,73}. Re et al.²⁴⁸ wiesen eine selektive Abnahme der kardialen β_1 -Rezeptoren in Hunden mit natürlich erworbener DCM nach. Ein weiterer Grund für die verminderte Ansprechbarkeit des Myokards gegenüber adrenerger Stimulation ist eine Abkopplung (decoupling) der β_2 -Rezeptoren von ihrer intrazellulären Signalkaskade, die sowohl beim Menschen^{36,258} als auch beim Hund nachgewiesen werden konnte¹⁵⁵.

Es wurde bereits erwähnt, dass im Verlauf einer Herzerkrankung kardiale Remodelingprozesse stattfinden, die ihrerseits zur Progression der Erkrankung beitragen und letztendlich in die Dekompensation münden. Das SNS spielt bei diesen Vorgängen eine entscheidende Rolle⁴⁶, da chronisch erhöhte Plasmakonzentrationen von NA direkt kardiotoxisch wirken und eine Dysfunktion, Apoptose und Nekrose von Myozyten zur Folge haben^{184,274,65}. Untersuchungen

an isolierten Rattenmyozyten zeigten, dass eine Apoptose vor allem über die Stimulation von β_1 -Rezeptoren induziert wird, wohingegen β_2 -Rezeptoren antiapoptotische Eigenschaften besitzen^{66,356}. Des Weiteren ist das adrenerge Rezeptorsystem an strukturellen Veränderungen des Myokards wie Hypertrophie^{84,38} und Fibrosierung²²⁹ beteiligt.

In der Abbildung 2.2 sind die Folgen der Aktivierung des SNS schematisch dargestellt.

Abbildung 2.2: Folgen der Aktivierung des Sympathischen Nervensystems in der Entwicklung der Herzinsuffizienz (modifiziert nach Morais und Schwartz²⁰⁵)



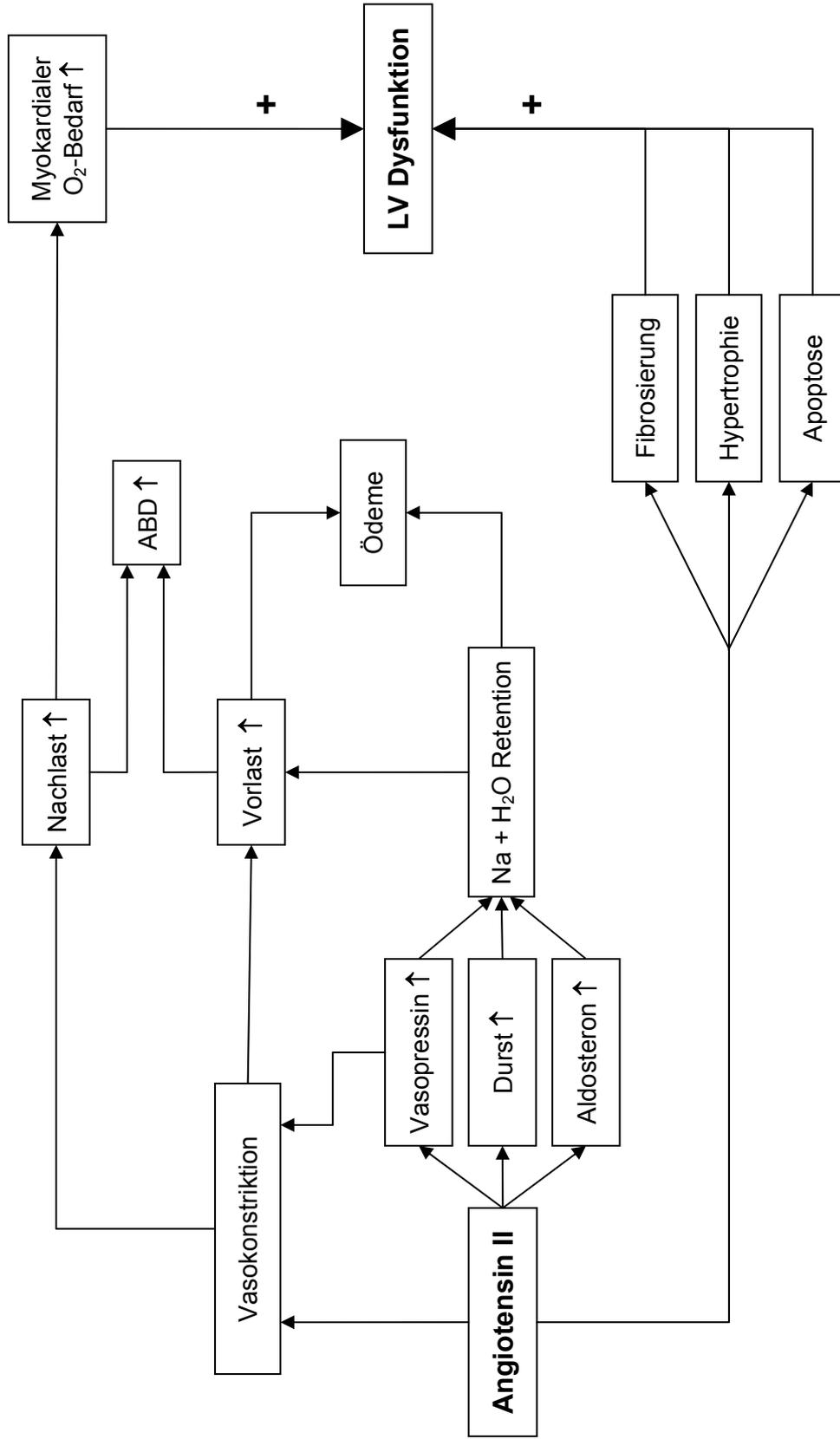
SNS = Sympathisches Nervensystem; LV = linker Ventrikel; HMV = Herzminutenvolumen; ABD = arterieller Blutdruck; TPW = totaler peripherer Widerstand; α = vermittelt über α -Rezeptoren; β = vermittelt über β -Rezeptoren

Die Aktivierung des **Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS)** beginnt mit einer vermehrten Freisetzung von Renin im juxtaglomerulären Apparat der Niere. Die Ausschüttung wird durch die Bindung von NA an β_1 -Rezeptoren stimuliert, eine verminderte renale Durchblutung und eine reduzierte Reabsorption von Natrium in den renalen Tubuli²⁷⁹. Renin katalysiert die Umwandlung von Angiotensinogen in Angiotensin I, das wiederum durch das Angiotensin converting enzyme (ACE) zu Angiotensin II (Ang II) konvertiert wird¹⁰³. Die Wirkungen von Ang II werden über zwei Subtypen von Angiotensin Rezeptoren (ATR 1 und ATR 2) vermittelt, die in zahlreichen Geweben des Körpers vorhanden sind³²⁴. ATR 1 ist im adulten Gewebe der dominierende Subtyp³²⁴ und verantwortlich für die Wirkungen, die im Folgenden beschrieben werden.

Ähnlich wie das SNS wirkt das aktivierte RAAS einem Abfall des arteriellen Blutdrucks entgegen. Ang II stimuliert die Freisetzung von Aldosteron aus der Nebenniere, steigert das Durstempfinden und die Ausschüttung von Vasopressin aus der Neurohypophyse. Diese Vorgänge führen zu einer renalen Retention von Natrium und Wasser und einem Anstieg des Flüssigkeitsvolumens des Körpers^{103,56}. Parallel dazu wirkt Ang II sowohl arteriell als auch venös vasokonstriktorisch, wodurch am Herzen Vor- und Nachlast erhöht werden. Der Blutdruck steigt wieder an, jedoch wird gleichzeitig die Bildung von Ödemen gefördert. Zudem erhöht sich der Sauerstoffbedarf des Myokards^{6,205}.

Weitere schädliche Effekte, die mit einem chronisch erhöhten Gehalt an Ang II in Verbindung gebracht werden, sind ein Verlust an Myozyten durch Apoptose^{19,275} sowie eine Hypertrophie¹⁹ und Fibrosierung des Herzmuskels^{264,294}. Zusammen mit dem erhöhten Sauerstoffbedarf tragen diese Veränderungen innerhalb des Myokards zu einem Fortschreiten der linksventrikulären Dysfunktion bei³²⁴ (Abbildung 2.3).

Abbildung 2.3: Pathologische Wirkungen von Angiotensin II in der Entwicklung des Herzversagens (modifiziert nach Morais und Schwartz²⁰⁵)



ABD = arterieller Blutdruck; Na = Natrium; LV = linker Ventrikel

Neben dem bisher beschriebenen zirkulierenden RAAS wurden lokale, gewebeständige Renin-Angiotensin-Systeme in verschiedenen Organen wie dem Herzen, den Nieren und den Blutgefäßen nachgewiesen, die ebenfalls an den pathologischen Remodeling Prozessen am Herzen beteiligt sind^{136,19,279}. Ihre Besonderheit und Bedeutung liegt darin, dass sie gewebeständige Enzyme wie z.B. Chymase^{339,324} für die Bildung von Ang II besitzen. Daher können auch unter einer Therapie mit Inhibitoren des Angiotensin converting enzymes dauerhaft erhöhte Plasmakonzentrationen von Ang II auftreten und die entsprechend negativen Folgen nach sich ziehen²⁵³.

Weitere neuroendokrine Systeme bzw. Hormone, die im Zuge einer kardialen Erkrankung aktiviert werden, sind das Endothelinsystem, das System der natriuretischen Peptide, Vasopressin, Adrenomedullin sowie verschiedene Zytokine. Entsprechend den Erfahrungen aus der Humanmedizin konnten bei Hunden sowohl in experimentellen Studien¹⁴¹ als auch bei Tieren mit natürlich erworbenen Herzerkrankungen^{112,182,244} erhöhte Spiegel dieser Stoffe im Plasma nachgewiesen werden^{189,279}. In Hinblick auf die Therapie von kardialen Erkrankungen bei Hunden hatten diese Ergebnisse jedoch bisher keine Auswirkungen^{189,279}, so dass auf eine Beschreibung der Systeme im Einzelnen verzichtet wird. Endothelin sowie die wichtigsten Vertreter der natriuretischen Peptide werden als Biomarker im Rahmen der Diagnostik von Herzerkrankungen vorgestellt.

2.1.2.2 Kardiales Remodeling

Das International Forum on Cardiac Remodeling definiert Remodeling als Veränderungen genetischer, molekularer, zellulärer und interstitieller Art aufgrund einer Schädigung des Myokards. Die genannten Veränderungen manifestieren sich klinisch in einer Veränderung der Größe, Gestalt und Funktion des Herzens⁶³. Handelt es sich zunächst um einen adaptiven Prozess, der zur Funktionserhaltung dient, so muss er langfristig doch als pathologisch angesehen werden, da er zur Progression und Verschlechterung der kardialen Erkrankung beiträgt^{63,169}.

Auf mikroskopischer Ebene ist besonders auffallend der deutliche Verlust an Myozyten. Eine Abnahme der Myozytenanzahl um 39% konnte bei Hunden bereits nach vier Wochen tachykarden Pacings nachgewiesen werden, während die noch vitalen Zellen eine Zunahme der Länge und des Querschnitts aufzeigten¹⁴².

Sowohl nekrotische als auch apoptotische Vorgänge spielen bei dem Zellverlust eine Rolle^{36,257}, der durch Faktoren wie Hypoxie, verschiedene Zytokine und erhöhte Level an NA und Ang II induziert wird^{36,275}.

Neben den Veränderungen der Myozyten stellen auch Umbauprozesse der extrazellulären Matrix einen entscheidenden Faktor für das kardiale Remodeling dar²³⁴. Die extrazelluläre Matrix ist essentiell für den Erhalt der Integrität und der Funktion des Herzens und vor allem der Um- und Abbau des Kollagennetzwerkes trägt zu einem Verfall der Gewebeintegrität bei. Gleichzeitig begünstigt er die Dilatation des Ventrikels³³⁶. Die Degradation der Kollagene unterliegt einem Gleichgewicht zwischen der Aktivität verschiedener Matrixmetalloproteinasen (MMP) und deren Inhibitoren (tissue inhibitor of matrix metalloproteinases; TIMP). Sowohl klinische als auch experimentelle Studien konnten zeigen, dass bei Herzerkrankungen unterschiedlicher Ätiologie ein Missverhältnis in diesem Gleichgewicht besteht, das entscheidend zu den Umbauvorgängen der extrazellulären Matrix beiträgt^{64,282,234}. Als auslösende Stimuli für die Expression und Aktivierung der MMPs werden verschiedenen Neurohormone und inflammatorische Zytokine wie Interleukin 1, TNF α und der Wachstumsfaktor TGF β diskutiert^{234,355}.

In den letzten Jahren wurden zunehmend neue Erkenntnisse gewonnen über die Veränderungen, die im Zuge des Remodelings auf molekularer Ebene stattfinden. Dazu gehören die vermehrte Expression der fetalen β -Isoform der schweren Myosinkette²⁵⁹ sowie Veränderungen in der Expression und Verteilung struktureller Proteine des Zytoskeletts²⁷³. Proteine, die am Energiestoffwechsel beteiligt sind, weisen ebenfalls veränderte Expressionsmuster auf¹³¹. Besonderes Interesse gilt der Calciumhomöostase in den Kardiomyozyten, die das entscheidende Element für die elektromechanische Kopplung und ungestörte Kontraktion und Relaxation der Myozyten darstellt. Die Calcium Ströme in Myozyten herzinsuffizienter Hunde weisen eine reduzierte Amplitude, eine veränderte Verlaufsform und eine verlangsamte Relaxation auf³⁴⁶.

Makroskopisch führen die Umbauvorgänge auf Ebene der Myozyten und der extrazellulären Matrix abhängig von der zugrunde liegenden Erkrankung zu Veränderungen in der Geometrie des Herzens¹⁶⁹. Charakteristisch für eine CVHD ist die Erweiterung des linken Vorhofes, die aufgrund des Blutrückflusses durch die insuffiziente Mitralklappe entsteht^{48,109}. Der linke Ventrikel reagiert auf eine chronische Volumenüberlastung, wie sie sowohl bei der CVHD als auch bei der

DCM auftritt, mit einer Dilatation und exzentrischen Hypertrophie^{169,76}. Mit zunehmender Vergrößerung entwickelt das Herz eine mehr sphärische Form, wodurch bei der DCM häufig sekundär eine Insuffizienz der Mitralklappe entsteht^{160,300}.

2.1.3 Symptomatik und Diagnostik

Voraussetzung für eine optimale, auf den jeweiligen Patienten individuell abgestimmte Therapie, ist eine korrekte Diagnose der kardialen Erkrankung.

Dabei stehen dem Tierarzt verschiedenen Möglichkeiten zur Verfügung. Neben dem Vorbericht des Besitzers und der speziellen klinischen Untersuchung sind vor allem Röntgenaufnahmen des Thorax und eine echokardiographische Untersuchung bei der Diagnosestellung der CVHD und der DCM von Bedeutung. Weitere Hilfsmittel sind die Erstellung eines Elektrokardiogramms und die Bestimmung des Plasmagehalts von Biomarkern wie z.B. Troponin I oder natriuretischer Peptide. Eine Herzkatheteruntersuchung ist mit hohen technischen und fachlichen Voraussetzungen verbunden und wird vor allem in der Diagnostik und Therapie kongenitaler Herzerkrankungen eingesetzt.

In den letzten Jahren steht zunehmend auch die Magnet-Resonanz-Tomographie (MRT) als Untersuchungsmethode in der Veterinärmedizin zur Verfügung. Diese Technik ermöglicht eine detaillierte und qualitativ hochwertige Darstellung nahezu aller anatomischer Strukturen⁹⁶ und ist damit besonders für wissenschaftliche Untersuchungen von großem Interesse.

2.1.3.1 Klinische Untersuchung

Das prägnanteste Symptom, mit dem Hunde, die an einer Herzinsuffizienz leiden, in der tierärztlichen Praxis vorgestellt werden, ist Husten. Des Weiteren werden Krankheitsanzeichen wie Leistungsschwäche, Tachypnoe, das Auftreten von Synkopen oder deutlicher Gewichtsverlust von den Besitzern beschrieben. Seltener werden abdominale Umfangsvermehrungen oder periphere Ödeme beobachtet¹⁰⁹.

In der Veterinärmedizin sind zwei Schemata zur Beurteilung des klinischen Schweregrades einer kardialen Erkrankung gebräuchlich. Bei dem einen handelt

es sich um das revidierte humanmedizinische Schema der New York Heart Association (NYHA), bei dem anderen um das Schema des International Small Animal Cardiac Health Council (ISACHC). Entsprechend dem Auftreten klinischer Symptome sowie seiner Leistungsfähigkeit und Belastbarkeit wird der Patient in eine der vier bzw. drei Klassen eingeteilt (Tabelle 2.1).

Tabelle 2.1: Einteilung der Herzinsuffizienz gemäß modifiziertem NYHA Schema (modifiziert nach Morais und Schwartz²⁰⁵) und ISACHC Klassifikation¹⁹⁷

Funktionelle Klassifizierung nach NYHA		Funktionelle Klassifizierung nach ISACHC	
I	Herzerkrankung mit normaler Belastbarkeit	1	Zeichen einer Herzerkrankung ohne Symptome
		1a	Keine Vergrößerung des Herzens
		1b	Größenveränderung des Herzens
II	Herzerkrankung mit Beschwerden bei stärkerer Belastung; keine Symptome in Ruhe	2	Zeichen von leichter bis mittelgradiger Herzinsuffizienz, verminderte Leistungsfähigkeit, Dyspnoe bei Anstrengung, Husten, leichte Tachypnoe
III	Beschwerden bei leichter Belastung, keine Beschwerden in Ruhe		
IV	Beschwerden in Ruhe	3	Dyspnoe und Husten in Ruhe, schwere Leistungsschwäche, Zeichen von Ödemen
		3a	Ambulante Behandlung möglich
		3b	Hospitalisierung des Patienten

Im Jahr 2001 wurde für die Humanmedizin vom American College of Cardiology bzw. der American Heart Association ein weiteres Klassifizierungsschema herausgebracht¹³⁸, das inzwischen für die Veterinärmedizin modifiziert und übernommen wurde (Canine Heart Failure International Expert Forum; CHIEF)²⁶⁹ (Tabelle 2.2).

Tabelle 2.2: Einteilung der Herzinsuffizienz nach CHIEF

Stadium A	Risiko einer Herzerkrankung, keine strukturelle Herzerkrankung dokumentiert
Stadium B	Herzerkrankung dokumentiert; keine Anzeichen einer Herzinsuffizienz, eine Kardiomegalie kann bereits vorliegen
Stadium C	Vorangegangene oder aktuelle klinische Symptome einer objektiv dokumentierten Herzinsuffizienz
C1	Vorangegangen: keine klinischen Symptome (stabile Herzinsuffizienz)
C2	Aktuell: gering- bis mittelgradige Herzinsuffizienz
C3	Aktuell: hochgradige, lebensbedrohliche Herzinsuffizienz
Stadium D	Therapieresistente Herzinsuffizienz, spricht nicht auf maximale/optimale Medikation an (flankierende lebenserhaltende Maßnahmen erforderlich)

Neu an dem CHIEF Schema ist, dass auch Tiere berücksichtigt werden, die noch keine erkennbare Herzerkrankung aufweisen, die jedoch ein erhöhtes Risiko besitzen, diese zu entwickeln. Beispiele dafür sind eine genetische Prädisposition oder eine systemische Erkrankung mit kardiovaskulärer Auswirkung²⁶⁹. Weiterhin unterscheidet sich das Schema von den bisherigen Einteilungen darin, dass eine Rückstufung des Tieres von einem schlechteren Stadium in eine besseres nicht möglich ist. Ein Hund, der einmal in Stadium C eingestuft wurde, kann nicht mehr in Stadium B gelangen, und nur innerhalb der Unterstufen von Stadium C ist ein Wechsel in beide Richtungen möglich. Dieses Vorgehen ist sinnvoll, da es sich bei Herzerkrankungen um progressiv verlaufende Erkrankungen handelt, bei denen durch Medikamente zwar eine Besserung der klinischen Symptome jedoch keine Umkehr des Krankheitsgeschehens an sich erzielt werden kann²⁶⁹.

Nach der allgemeinen Untersuchung spielt die **Auskultation** des Herzens die zentrale Rolle in der klinischen Diagnosestellung und ist die in der Praxis am weitesten verbreitete Screeningmethode für Erkrankungen des Herzens bei Hunden. Es sollte jedoch nicht unterschätzt werden, dass es sich um eine anspruchsvolle Technik handelt, die intensive Übung und weitreichende

Erfahrungen erfordert, um sie sicher zu beherrschen¹³⁵. So überrascht es nicht, dass erfahrene Veterinärkardiologen zuverlässiger ein vorhandenes Herzgeräusch diagnostizieren als weniger erfahrene Untersucher, besonders wenn es sich um Geräusche geringer Intensität handelt^{135,235}.

Das Auftreten von Herzgeräuschen ist indikativ für kardiale Erkrankungen und erlaubt eine erste differentialdiagnostische Abgrenzung zu respiratorischen Erkrankungen. Besonders die Lokalisation und die Bestimmung des Zeitpunktes, zu dem das Geräusch auftritt, helfen bei einer vorläufigen Diagnosestellung. Daneben werden die Intensität und Frequenz sowie Form und Charakter des Herzgeräusches beurteilt²¹⁹.

Typisch für eine CVHD ist ein apikales und systolisches Herzgeräusch, das aufgrund des Blutrückstromes durch die insuffiziente Mitralklappe entsteht¹⁰⁹. Dabei wird ein früh-systolisches Geräusch in der Regel durch eine geringgradig insuffiziente Mitralklappe verursacht, während ein holo-systolisches Geräusch typisch ist für eine mittel- bis hochgradige Insuffizienz der Herzklappe²³⁵. Im Gegensatz zu anderen kardialen Erkrankungen besteht im Fall der Mitralklappeninsuffizienz ein Zusammenhang zwischen der Intensität des Herzgeräusches und dem klinischen Schweregrad der Erkrankung sowie Veränderungen echokardiographischer Parameter¹¹⁶. Aus diesem Grund handelt es sich im Anfangsstadium der Erkrankung häufig um ein schwer diagnostizierbares Geräusch von sehr geringer Intensität, das nicht konstant bei jedem Herzschlag vorhanden sein muss¹⁰⁹, aber zum Teil durch Stress oder körperliche Belastung hervorgerufen bzw. verstärkt werden kann²³⁵.

Typische auskultatorische Befunde bei Hunden mit einer DCM sind kardiale Arrhythmien³³⁰ und im fortgeschrittenen Stadium der Erkrankung systolische Herzgeräusche, welche auf eine sekundär entstandene Mitralklappeninsuffizienz hinweisen^{317,266}. Das Vorliegen eines Galopprrhythmus ist indikativ für eine schwere diastolische Dysfunktion^{159,31}.

2.1.3.2 Radiographie

Die thorakale Radiographie liefert wichtige und hilfreiche Informationen für die Diagnose und Beurteilung von Herzerkrankungen und besitzt daher - auch wegen ihrer Verfügbarkeit in nahezu jeder Praxis - einen hohen Stellenwert in der

kardialen Diagnostik. Die Vorteile eines Röntgenbildes bestehen darin, dass es einen Überblick über das Herz als Ganzes bietet und gleichzeitig vaskuläre, pulmonale und pleurale Strukturen der Beurteilung zugänglich macht¹⁷⁴. Die Größe und die Form des Herzens liefern dem Untersucher Hinweise auf den Charakter und den Schweregrad der Erkrankung, während die Lungenstrukturen Aufschluss geben über den hämodynamischen Zustand des Lungenkreislaufs und eventuell vorhandene Ödeme^{124,347}. Damit ist die Radiographie besonders wertvoll für die Diagnose einer kongestiven Herzinsuffizienz¹⁶⁶.

Für eine vollständige und korrekte Beurteilung sind ein latero-laterales und ein dorso-ventrales Röntgenbild erforderlich, das jeweils den gesamten Thorax abbildet und im Idealfall auf dem Höhepunkt der Inspiration gemacht wurde^{124,166}.

Eine objektive und anerkannte Methode zur Beurteilung der Herzgröße stellt der von Buchanan entwickelte vertebral heart size score (VHS) dar, bei dem in der latero-lateralen Aufnahme Längs- und Querachse des Herzens im Verhältnis zur Länge der thorakalen Wirbel beurteilt werden^{51,49}. Dabei ist zu beachten, dass rasseabhängige Unterschiede für den VHS bestehen, die die Erstellung eines individuellen Referenzwertes für jede Rasse erforderlich machen¹⁶⁷. Der VHS wurde seit seiner Vorstellung und Einführung 1995 sowohl in experimentellen als auch in klinischen Studien eingesetzt, um die progressiven Veränderungen im Verlauf einer Herzerkrankung zu verfolgen^{50,347}.

Die erste Veränderung, die im Rahmen einer CVHD radiographisch sichtbar wird, ist im Allgemeinen eine Vergrößerung des linken Vorhofes und im weiteren Verlauf der Erkrankung zusätzlich des linken Ventrikels⁴⁸. In der latero-lateralen Aufnahme kommt es dadurch zu einer Anhebung der Trachea und des linken Hauptbronchus nach dorsal, während in der dorso-ventralen Aufnahme der erweiterte linke Vorhof als Ausbuchtung am linken kranialen Rand des Herzens erscheint. Mit der Progression der Erkrankung und der Entwicklung einer kongestiven Herzinsuffizienz treten Anzeichen einer Stauung des Blutes im Lungenkreislauf und eines interstitiellen oder alveolären Lungenödems auf^{48,166}. Besonders in der Anfangsphase gleichen die radiographischen Veränderungen jedoch dem Erscheinungsbild chronischer Lungenerkrankungen, so dass sie allein und isoliert betrachtet keinen Beweis für das Vorliegen einer kongestiven Herzinsuffizienz darstellen. Diese Diagnose darf nur in Zusammenhang mit entsprechenden Befunden der klinischen Untersuchung gestellt werden¹⁰⁹.

Röntgenologische Veränderungen bei der DCM sind in erster Linie ebenfalls die Vergrößerung des linken Herzens oder in einigen Fällen auch beider Herzhälften. Bei Tieren im fortgeschrittenen Stadium, die bereits Symptome einer kongestiven Herzinsuffizienz zeigen, sind die entsprechenden Veränderungen in der Lungenstruktur, die schon bei der CVHD beschrieben wurden, zu beobachten³¹⁹.

2.1.3.3 Elektrokardiographie

Die Stärken der Elektrokardiographie liegen vor allem in der Diagnose von Arrhythmien und Überleitungsstörungen des Herzens. Weniger sensitiv werden Vergrößerungen von Herzstrukturen angezeigt^{176,149,115}, obgleich auch diese charakteristische Veränderungen im Elektrokardiogramm (EKG) hervorrufen können^{119,212}. In jedem Fall liefert ein EKG dem Untersucher ergänzende Informationen für eine ausführliche und umfassende Bewertung des Patienten und seiner Erkrankung¹²¹.

Die Auswertung eines EKGs beginnt mit der Bewertung der Qualität der Aufzeichnung und der Identifizierung eventuell vorhandener Artefakte. Anschließend wird die Herzfrequenz bestimmt und der Rhythmus untersucht. In der II. Ableitung nach Einthoven werden die Dauer der P-Welle, des PQ-Intervalls, des QRS-Komplexes und der ST-Strecke sowie die Amplitude der P-Welle und der R-Zacke gemessen. Aus der Kombination mehrerer Ableitungen wird die elektrische Achse des Herzens bestimmt³⁴⁸.

Elektrokardiographische Veränderungen, die bei Hunden mit einer CVHD beobachtet werden können, ergeben sich aus der Vergrößerung des linken Herzens. Eine Verlängerung der Dauer der P-Welle ist charakteristisch für eine Dilatation des linken Vorhofes, während die Vergrößerung der linken Kammer zu einem Anstieg in der Dauer des QRS-Komplexes führen kann^{48,212}. Dass diese Veränderungen jedoch wenig sensitiv sind, bestätigt eine Studie von Lombard und Spencer¹⁷⁶, in der nur 30% der Hunde mit einer Erweiterung des linken Vorhofes eine Verlängerung der P-Welle im EKG aufwiesen¹⁷⁶. Hingegen treten besonders im fortgeschrittenen Krankheitsstadium der CVHD regelmäßig Arrhythmien auf wie zum Beispiel supraventrikuläre und ventrikuläre Extrasystolen, supraventrikuläre Tachykardien und Vorhofflimmern^{48,117}. Ein weiterer Parameter, der mit Hilfe des EKGs beurteilt werden kann, ist die Variabilität der Herzfrequenz, die bei Vorliegen einer mittel- bis hochgradigen Mitralklappeninsuffizienz abnimmt^{110,121}.

Die Mehrzahl der an einer DCM erkrankten Hunde entwickeln kardiale Arrhythmien, die entweder bei fortgeschrittener Erkrankung aufgrund der myokardialen Hypoxie entstehen oder bei bestimmten Hunderassen auch als frühzeitiges Symptom auftreten³³¹. Zum Nachweis einer präklinischen Erkrankung hat sich in den letzten Jahren das 24 Stunden EKG (Holter) als sensitive Screeningmethode bewährt³³¹. Zu den am häufigsten vorkommenden Arrhythmien zählen Vorhofflimmern^{330,329,318}, ventrikuläre Tachykardien und ventrikuläre Extrasystolen^{330,55}. Daneben sind aufgrund der Dilatation des Herzens Verlängerungen der P-Wellendauer und der Dauer des QRS-Komplexes möglich^{149,45,206}.

2.1.3.4 Echokardiographie

Die Echokardiographie bietet den großen Vorteil, dass nicht invasiv beim wachen Hund im Echtzeitmodus alle Abschnitte des Herzens genauestens untersucht werden können. Sie ermöglicht eine detaillierte Charakterisierung der Erkrankung und ihres Verlaufs durch die Bewertung der kardiovaskulären Strukturen, der funktionellen Kapazität des Herzens und der hämodynamischen Verhältnisse¹⁰². Neben dem alltäglichen Einsatz in der praktischen Diagnostik besitzt die Echokardiographie damit einen hohen Stellenwert bei der Durchführung experimenteller und klinischer Studien¹⁰².

Die technischen Fortschritte der letzten Jahre haben nicht nur die Qualität der Darstellungen deutlich verbessert, sondern auch die Anzahl der Untersuchungsmöglichkeiten erweitert. So sind mittlerweile neben den ursprünglichen ein- und zweidimensionalen Bildern auch dreidimensionale Darstellungen (3D Echokardiographie) möglich, die eine genaue Ermittlung kardialer Volumina und Massen erlauben^{217,99,204}. Mit Hilfe neuer Techniken und Berechnungsverfahren in der Doppler-Echokardiographie werden die Geschwindigkeiten der myokardialen Bewegung mittels Gewebe-Doppler (tissue doppler imaging; TDI) bestimmt sowie eine lokale Myokardverformung (strain) oder eine zeitabhängige Verformungsrate (strain rate) berechnet²⁴¹. Diese Methoden erlauben die Untersuchung der Kontraktion und Ausdehnung des Myokards zum Beispiel im Bereich des Mitralklappenringes und eröffnen neue Möglichkeiten zur Beurteilung der systolischen und diastolischen Funktion des Myokards^{223,102,309}. Während die 3D-Techniken aufgrund der hohen

Investitionskosten noch keinen Eingang in die Routinediagnostik der Veterinärmedizin gefunden haben²⁴, beschäftigen sich in den letzten Jahren zahlreiche Studien mit den Einsatzmöglichkeiten des Gewebe-Doppler und der Strainanalyse in der Erforschung und Diagnostik kardialer Erkrankungen bei Kleintieren^{223,309,58,187}.

Technische Voraussetzung für eine Echokardiographie sind ein Sektor- oder Mikrokonvexschallkopf mit einer Frequenz von 2,5 – 7,5 MHz, eine M-Mode-Karte mit entsprechendem Messprogramm, die Möglichkeit der gleichzeitigen Darstellung und Aufnahme eines EKGs sowie ein Video- oder DVD-Rekorder für die Aufzeichnung und Archivierung der Untersuchung²⁶⁸. Trotz der in den letzten Jahren verbesserten technischen Voraussetzungen darf nicht vergessen werden, dass die Echokardiographie eine anspruchsvolle Untersuchungstechnik ist, die intensive Übung erfordert und nur von erfahrenen Veterinärkardiologen korrekt durchgeführt und bewertet werden kann²²³. Erleichtert wird die Untersuchung durch einen Tisch mit einer entsprechenden Aussparung, der die Anschallung des Patienten in Seitenlage von unten durch die Öffnung hindurch erlaubt. Wenn möglich sollte keine Sedierung des Tieres erfolgen, um eine Verfälschung der Ergebnisse durch die Auswirkung des Medikamentes auf das Herz-Kreislauf-System zu vermeiden. Falls eine Sedierung dennoch erforderlich ist, kann eine Kombination von Buprenorphin und Acepromazin verwendet werden²⁸⁷.

Eine genaue Beschreibung des echokardiographischen Untersuchungsganges und aller potentiell erfassbarer Parameter wäre an dieser Stelle zu umfangreich und ist nicht Thema dieser Arbeit. Da in der vorliegenden Studie mit dem linksventrikulären Durchmesser eine morphologische Größe des Herzens erhoben wurde, sei aber erwähnt, dass diese abhängig von verschiedenen Variablen wie Körpergewicht, Körperoberfläche und Rasse des Hundes ist²⁰⁹. Aus diesem Grund wurden im Laufe der Jahre verschiedene Indizes entwickelt, die unabhängig vom Körpergewicht die systolische Funktion des linken Ventrikels beschreiben sollen (Tabelle 2.3). Bei der Bewertung der Indizes muss beachtet werden, dass diese wiederum abhängig sind von der Kontraktilität des Myokards sowie von der Herzfrequenz und der am Herzen bestehenden Vor- und Nachlast zum Zeitpunkt der Messung³⁰.

Tabelle 2.3: Systolische Funktionsparameter

Systolische Kenngröße	Englische Bezeichnung	Abkürzung	Formel
Linksventrikuläre Verkürzungsfraction	Left ventricular fractional shortening	LVFS	$(LVIDd - LVIDs) / LVIDd \times 100$
Linksventrikuläre Ejektionsfraction	Left ventricular ejection fraction	LVEF	$(LVVd - LVVs) / LVVd \times 100$
Zirkumferentielle Verkürzungsgeschwindigkeit	Velocity of circumferential fiber shortening	Vcf	$(LVIDd - LVIDs) / (LVIDd \times LVEF)$
Präejektionsperiode/ Linksventrikuläre Ejektionszeit	Preejection period/ Left ventricular ejection period	PEP/LVEP	

LVIDd = linksventrikulärer enddiastolischer Durchmesser; LVIDs = linksventrikulärer endsystolischer Durchmesser; LVVd = linksventrikuläres enddiastolisches Volumen; LVVs = linksventrikuläres endsystolisches Volumen; LVEF = linksventrikuläre Ejektionszeit; PEP = Präejektionsperiode

Das echokardiographische Bild, das sich dem Untersucher bei einem Hund mit CVHD darstellt, ist abhängig vom Stadium der Erkrankung. In der Anfangsphase sind häufig Veränderungen in der Morphologie der Herzklappen und/oder eine geringgradige Insuffizienz der Mitralklappe die einzigen Befunde, die zusammen aber auch einzeln und unabhängig voneinander auftreten können¹⁰⁹. Weiterhin sollte der Untersucher darauf achten, ob ein Prolaps der Klappensegel in den linken Vorhof vorliegt, da ein hoher Prozentsatz der Hunde mit einem Prolaps im weiteren Verlauf ihres Lebens an einer CVHD erkranken^{236,237}.

Mit zunehmender Insuffizienz dilatieren aufgrund der chronischen Volumenüberlastung der linke Vorhof¹⁴⁷ und auch die linke Kammer des Herzens¹¹¹. Die systolischen Dimensionen bleiben dabei zunächst unverändert erhalten^{112,153}, da in der frühen Systole ein Teil des Blutes entlang des Druckgefälles aus der Herzkammer in den Vorhof gepumpt wird, wodurch die Entleerung und die Kontraktion des Ventrikels erleichtert wird. Daher weisen die Indizes der systolischen Funktion wie zum Beispiel die linksventrikuläre Verkürzungsfraction (left ventricular fractional shortening; LVFS) in diesem Krankheitsstadium physiologische oder sogar erhöhte Werte auf, und im Echokardiogramm kann eine Hyperkinesie des Herzmuskels beobachtet werden^{290,3}. Bei hochgradiger

Mitralklappeninsuffizienz und im Endstadium der Erkrankung entwickelt sich progressiv eine Dysfunktion des Myokards, die sich in einer Erweiterung auch der systolischen Dimensionen des Herzens und einer Abnahme der entsprechenden Funktionsindizes widerspiegelt^{3,153}.

Im Gegensatz zu der CVHD nehmen bei Hunden, die an einer DCM leiden, aufgrund der Dysfunktion des Herzmuskels zunächst die systolischen Dimensionen des Herzens zu und erst mit fortschreitender Erkrankung auch die diastolischen Dimensionen³²⁹. Die LVFS ist in der Regel deutlich erniedrigt und ein wichtiges Kriterium bei der Diagnose der DCM. Eine LVFS geringer als 25% wird als pathologisch angesehen^{330,152}, wobei die Werte in schweren Fällen in einen Bereich zwischen 5 und 15% sinken können^{329,307}. Es sei jedoch darauf hingewiesen, dass besonders Hunde großer Rassen auch physiologischerweise eine überraschend geringe LVFS aufweisen können, so dass die Diagnose einer DCM nur im Zusammenhang mit weiteren pathologischen Befunden gestellt werden sollte^{290,3}. Aufgrund der geringen LVFS ist das Bewegungsmuster des Herzmuskels deutlich hypokinetisch^{3,319}. Mit zunehmender Dilatation bekommt das Herz eine mehr sphärische Form, wodurch sekundär eine Insuffizienz der Mitralklappe entstehen kann^{329,160}.

2.1.3.5 Herzkatheter-Untersuchung

In der Praxis werden heute kaum noch Katheteruntersuchungen des Herzens durchgeführt, da im Allgemeinen mit Hilfe nicht invasiver Untersuchungsmethoden ohne das Risiko einer Anästhesie ausreichend Informationen für eine korrekte Diagnosestellung gewonnen werden können²²⁸. Regelmäßige Anwendung finden die Untersuchungen mittels Katheter jedoch nach wie vor in der Diagnostik und vor allem in der Therapie kongenitaler Herzerkrankungen, wo die Bedeutung der interventionellen Kardiologie stetig zunimmt²⁹³. Die am häufigsten durchgeführten Verfahren sind der Verschluss eines persistierenden *ductus arteriosus* (PDA) mit Hilfe von Coils^{270,134}, die Ballonierung von Pulmonal- und subvalvulären Aortenstenosen^{74,54,139,196}, sowie die Implantation von Herzschrittmachern^{278,140}.

In der Wissenschaft ist die Herzkatheteruntersuchung nach wie vor für die Ermittlung verschiedener hämodynamischer Parameter erforderlich. Von besonderem Interesse sind dabei die in den verschiedenen Bereichen des Herzens herrschenden Druckverhältnisse, die wertvolle Hinweise auf den

Charakter einer Erkrankung geben können. Zur Beurteilung der systolischen und diastolischen Funktionsfähigkeit des Herzens wurden in der vorliegenden Arbeit der linksventrikuläre enddiastolische Füllungsdruck (left ventricular enddiastolic pressure; LVEDP), die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit ($dP/dt \max$) und die maximale Druckabfallsgeschwindigkeit ($dP/dt \min$) als Messparameter herangezogen.

Der LVEDP ist ein Maß für die am Herzen wirkende Vorlast und sowohl bei der CVHD als auch bei der DCM aufgrund der Volumenüberlastung des Herzens deutlich erhöht^{200,300}. Die $dP/dt \max$ wird während der isovolumetrischen Kontraktion des linken Ventrikels gemessen und ist ein Maß für die Kontraktilität und systolische Funktion des Myokards. Es muss beachtet werden, dass die $dP/dt \max$ abhängig ist von der Vorlast des Herzens¹⁸³ und ohne Aussagekraft beim Vorliegen einer Herzklappeninsuffizienz²⁰⁵. Bei Hunden mit einer DCM ist die $dP/dt \max$ aufgrund der Dysfunktion des Myokards deutlich herabgesetzt³⁰¹. Die $dP/dt \min$ kann zur Beurteilung der Relaxationsfähigkeit und der diastolischen Funktion des linken Ventrikels herangezogen werden. Sie ist von den im Ventrikel und in der Aorta bestehenden systolischen Druckverhältnissen abhängig²⁰⁵ und nimmt im Verlauf einer DCM ab³⁰¹.

2.1.3.6 Biomarker

In den letzten Jahren ist mit der Bestimmung von biologischen Markern eine zusätzliche Möglichkeit zur Diagnostik von kardialen Erkrankungen entstanden. War die Bestimmung der Serumkonzentration von Enzymen wie Kreatinkinase, Laktatdehydrogenase oder α -Hydroxybutyrat-Dehydrogenase noch sehr unspezifisch für Schädigungen des Herzmuskels, so wurden inzwischen Peptide und Proteine erforscht, die wesentlich spezifischer kardiale Veränderungen unterschiedlicher Ätiologie aufzeigen¹⁵⁷. Zu ihnen gehören die kardialen Troponine, Endothelin und die natriuretischen Peptide.

Die Bestimmung von **kardialem Troponin I** (cTn I) erlaubt eine spezifische Detektion vor allem akuter myokardialer Schäden⁵, wobei ein positiver Zusammenhang zwischen der gemessenen Konzentration im Serum und der Größe des myokardialen Defekts besteht²⁵¹. Im Falle massiver oder permanent stattfindender Zellschädigungen, ist cTn I auch über einen längeren Zeitraum hinweg im Serum nachweisbar⁶⁸. Bei Hunden mit einer CVHD konnten erhöhte

Konzentrationen von cTn I nachgewiesen werden, die mit der Größe des linken Vorhofs und des linken Ventrikels korrelierten²²⁵.

Das **Endothelin-System** ist maßgeblich an der Regulation des Gefäßtonus beteiligt. Es handelt sich um eine Gruppe von Peptiden, die hauptsächlich in den Endothelzellen der Gefäße, aber auch in vaskulären glatten Muskelzellen und kardialen Myozyten synthetisiert werden³⁴⁹. Die Produktion der dominierenden Isoform Endothelin 1 (ET 1) wird stimuliert durch Hypoxie, mechanisch durch Scherkräfte, durch vasoaktive Substanzen wie Ang II, Noradrenalin und Vasopressin und durch verschiedene Zytokine. Nach seiner Freisetzung wirkt ET 1 auto- und parakrin stark vasokonstriktorisch, steigert die myokardiale Kontraktilität und fördert die Freisetzung von Aldosteron²⁷⁹. Im Plasma gesunder Hunde sind nur geringe Konzentrationen von ET 1 vorhanden, wohingegen die Spiegel bei Hunden mit hochgradiger CVHD signifikant erhöht sind und mit dem klinischen Schweregrad der Erkrankung korrelieren²⁴⁴. Erhöhte Konzentrationen wurden auch im Plasma von Hunden mit respiratorischen Erkrankungen gemessen, so dass keine Unterscheidung zwischen respiratorisch oder kardial bedingten Erkrankungen auf der Grundlage einer ET 1 Bestimmung möglich ist³¹⁰. Für die Messung von ET 1 im Plasma von Hunden steht bisher kein standardisierter Test zur Verfügung. Sisson verwendete in seinen Studien einen für die Humanmedizin entwickelten Sandwich ELISA Test mit Antikörpern gegen das humane ET 1²⁷⁹. Da es sich um ein hoch konserviertes Protein handelt, das im Hund und im Menschen eine identische Aminosäuresequenz aufweist²⁸, war eine Validierung des Tests für den Hund möglich.

Die **natriuretischen Peptide** sind eine Gruppe kardialer Hormone, die in ihren Wirkungen einen natürlichen Gegenspieler zum RAAS darstellen^{279,224}. Die wichtigsten Vertreter sind das atrial natriuretic peptide (ANP) und das brain natriuretic peptide (BNP). ANP wird in den Zellen der Vorhöfe synthetisiert, gespeichert und bei einer Dehnung der atrialen Zellen freigesetzt²⁷¹. BNP wird unter physiologischen Umständen ebenfalls hauptsächlich in atrialen Zellen synthetisiert, wo es im Gegensatz zu ANP nicht gespeichert, sondern unmittelbar freigesetzt wird. Während der Entwicklung einer linksventrikulären Dysfunktion steigt zunächst die Expression von BNP in den atrialen Zellen an. Im weiteren Verlauf der Erkrankung verlagert sich die Synthese zunehmend in die Zellen des linken Ventrikels und die Konzentration des frei im Plasma vorliegenden BNPs steigt an¹⁸¹. Sowohl bei ANP als auch bei BNP entsteht die biologisch aktive Form

bei der Spaltung des Vorläufermoleküls (proANP bzw. proBNP) in das aktive Peptid und ein N-terminales Spaltprodukt (NT-proANP bzw. NT-proBNP)²⁷⁹.

Die natriuretischen Peptide wirken über spezifische Rezeptoren, die unter anderem im Herzen selbst, in der Niere und in den Endothelzellen der Gefäße zu finden sind. Die Funktion der Peptide besteht in einem Schutz des Körpers vor einer Volumenüberlastung, der sie durch eine gesteigerte Natriuresis und Diuresis entgegen wirken. Zusätzlich führen ANP und BNP zu einer Vasodilatation und inhibieren die Freisetzung von Renin und Aldosteron²⁷⁹. Durch ihre antimitotischen Eigenschaften wirken sie einer Fibrosierung und Hypertrophie des Myokards entgegen^{271,224}.

Sowohl Hunde mit symptomatischer CVHD als auch Hunde mit symptomatischer DCM weisen erhöhte Plasmakonzentrationen von ANP und BNP auf^{111,12,182}, die mit dem klinischen Schweregrad der Erkrankung korrelieren^{182,72}. Ein großer Vorteil der Bestimmung der BNP- bzw. Nt-proBNP Plasmakonzentration ist, dass mit ihrer Hilfe bei Tieren mit einer Dyspnoe unbekannter Genese, eine Differenzierung zwischen respiratorischen und kardialen Erkrankungen möglich ist^{245,87,341}. Widersprüchlich hingegen sind die Ergebnisse von Untersuchungen hinsichtlich des Potentials von BNP als Screeningtest für die Diagnose präklinischer kardialer Erkrankungen^{12,113,182}. Hierbei spielt offenbar die Ätiologie der Erkrankung und das Ausmaß der Dehnung der Myozyten eine Rolle. Während bei Hunden mit okkulten DCM erhöhte Konzentrationen von BNP im Plasma nachgewiesen werden konnten^{72,227}, waren die Werte bei symptomfreien Hunden mit einer CVHD nicht signifikant erhöht^{72,308}.

Für die Bestimmung der Konzentration der natriuretischen Peptide können nur begrenzt immunologische Tests aus der Humanmedizin verwendet werden. Im Fall von ANP bestehen noch weitgehende Übereinstimmungen zwischen der kaninen und der menschlichen Aminosäuresequenz²⁷, so dass ein für die Humanmedizin entwickelter Radioimmunoassay für die Diagnostik beim Hund eingesetzt werden kann^{34,279}. Die Aminosäurefrequenz von BNP ist hingegen wesentlich speziespezifischer, weshalb ein spezieller Radioimmunoassay mit Antikörpern gegen das kanine BNP entwickelt wurde²⁷⁹. Inzwischen sind zwei Tests zur Bestimmung der BNP Konzentration bekannt, einmal der bereits kommerziell erhältliche Canine CardioScreen Nt-proBNP Test (Guildhay Ltd., UK), der die Nt-proBNP Konzentration im Plasma von Hunden misst, und ein bisher

noch nicht kommerziell erhältlicher Test der Firma Biosite, der in der Studie von DeFrancesco et al.⁷² benutzt wurde.

2.1.4 Therapie

Die Therapie kardialer Erkrankungen ist eine große Herausforderung. Eine optimale Behandlung erfordert die Kombination verschiedener Medikamente und die individuelle Einstellung eines jeden Patienten, um einen größtmöglichen Nutzen bei einem möglichst geringen Nebenwirkungsrisiko für den Patienten zu erzielen. Das in den letzten Jahren neu gewonnene Wissen um die Bedeutung der neuroendokrinen Regelkreise in der Pathophysiologie kardialer Erkrankungen, hat dazu geführt, dass auch in der Veterinärmedizin diese Erkrankungen nicht mehr ausschließlich symptomatisch behandelt werden. Stattdessen wird zusätzlich versucht über die Durchbrechung der aktivierten neuroendokrinen Regelkreise die Progression der Erkrankung so weit wie möglich aufzuhalten und hinauszuzögern⁹⁰. Nur so können die Ziele der Therapie - eine Verbesserung der Lebensqualität und eine Verlängerung der Lebensdauer - verwirklicht werden.

Eine weitere Schwierigkeit in der Therapie kardialer Erkrankungen in der Veterinärmedizin besteht darin, dass es bei nahezu allen Medikamenten an großen Placebo kontrollierten Studien mangelt, die anhand einer ausreichend großen Anzahl klinischer Patienten die Wirksamkeit der Substanz eindeutig belegen würden. Der Tierarzt ist daher gezwungen, seine Entscheidungen hinsichtlich der Behandlung seiner Patienten auf der Grundlage von Expertenempfehlungen, Fallberichten, der eigenen Erfahrung und den Ergebnissen kleinerer oder suboptimal durchgeführter Studien zu treffen^{120,144}.

In der Veterinärmedizin galt eine Kombination aus Furosemid, einem ACE-Hemmer und Digoxin lange Zeit als die Standardtherapie zur Behandlung einer kongestiven Herzinsuffizienz¹¹⁴. Als neue Therapieoptionen sind in den letzten Jahren der Inodilator Pimobendan, der Aldosteron-Antagonist Spironolacton und die β -Adrenozeptorblocker hinzugekommen. Im Folgenden werden die genannten Stoffe und Substanzklassen kurz beschrieben.

Diuretika sind der wichtigste Bestandteil in der Behandlung kardial bedingter Ödeme und absolut essentiell bei einer kongestiven Herzinsuffizienz^{71,255}. Das in der Veterinärmedizin am häufigsten angewendete Diuretikum ist Furosemid³²³,

welches zur Klasse der Schleifendiuretika gehört. Durch eine Steigerung der Natriuresis und Diuresis senkt es das Körperflüssigkeitsvolumen. Die Vorlast am Herzen nimmt ab, ebenso wie die ventrikulären Füllungsdrücke und die Wandspannung. Durch die Verbesserung der hämodynamischen Verhältnisse wird eine Ausschwemmung der Ödeme ermöglicht und ein Abklingen der Stauungssymptome erzielt⁷¹. Neben seinen renalen Wirkungen induziert Furosemid weiterhin eine Venodilatation und wirkt durch eine Aktivierung des RAAS systemisch vasokonstriktorisch. Um dieser ungewünschten reflektorischen Aktivierung des RAAS entgegenzuwirken wird die Kombination mit einem ACE-Hemmer empfohlen^{323,105}. Langfristig sollte die Dosis des Diuretikums so gering wie möglich gehalten werden, um Nebenwirkungen wie Hypovolämie, Azotämie oder elektrolytische Inbalancen zu vermeiden^{71,90,144}.

Häufig wird Furosemid mit dem Aldosteronblocker **Spironolacton** kombiniert, welches im Vergleich zu Furosemid nur schwach diuretisch wirkt. Die Kombination zweier Substanzen unterschiedlicher Wirkmechanismen hat jedoch den Vorteil, dass die Entwicklung einer Therapieresistenz gegenüber Diuretika verhindert wird¹ und die Dosis an Furosemid geringer gehalten werden kann⁹⁰. Die Blockade der Aldosteronrezeptoren durch Spironolacton wirkt sich zusätzlich positiv auf die Erkrankung aus. Aldosteron fördert die myokardiale Fibrose und ist an kardialen Remodeling Vorgängen beteiligt⁵⁶. Bei Patienten mit Herzinsuffizienz treten auch unter einer Dauertherapie mit ACE-Hemmern erhöhte Aldosteron Plasmaspiegel auf, eine Beobachtung, die als „Aldosteron-Escape-Phänomen“ bezeichnet wird²⁹⁵. Aldosteronblocker inhibieren die negativen Auswirkungen von Aldosteron auf das Herz, und die Gabe von Spironolacton zusätzlich zu einer anerkannten Standardtherapie (Diuretikum, ACE-Hemmer, Digoxin) führte in einer humanmedizinischen Studie bei Patienten mit schwerer Herzinsuffizienz zu einer Senkung der Mortalitätsrate um 30%²⁴⁰. Auch bei kardial erkrankten Hunden erwies sich Spironolacton in einer kontrollierten Feldstudie als sicher und gut verträglich⁸⁰ und wurde im Jahr 2007 von der European Medicines Agency (EMA) zur Behandlung der kongestiven Herzinsuffizienz bei Hunden zugelassen (Prilactone[®], CEVA SANTE ANIMALE, Libourne, Frankreich).

ACE-Hemmer waren die erste Substanzklasse in der Therapie kardialer Erkrankungen, deren Ziel eine Hemmung der neurohormonellen Reaktionen war. Für keine andere Substanzklasse stehen in der Veterinärmedizin mehr Daten aus kontrollierten klinischen Studien zur Verfügung¹⁷¹ und ihre Einführung in die

Therapie herzkranker Tiere Anfang der 1990er Jahre gilt als Meilenstein in der Veterinärkardiologie¹¹⁴. Die Inhibition des Angiotensin converting enzymes (ACE) führt zu einer Abnahme der Plasmaspiegel von Angiotensin II und Aldosteron, wodurch die durch das RAAS induzierte Flüssigkeitsretention und Vasokonstriktion verhindert wird⁹⁰. Eine Dilatation der Gefäße wird unterstützt durch die Erhöhung des Plasmaspiegels des gefäßerweiternd wirkenden Bradykinins, das unter physiologischen Umständen durch das ACE inaktiviert wird²⁹. Insgesamt verbessern sich die hämodynamischen Verhältnisse und das Herz wird durch eine Senkung der Vor- und Nachlast entlastet²⁹⁸.

Die Mehrzahl der klinischen Studien in der Veterinärmedizin untersuchte die Wirksamkeit des ACE-Hemmers Enalapril. Eingeschlossen wurden Hunde mit mittel- bis hochgradiger Herzinsuffizienz (NYHA-Klasse III und IV) aufgrund einer CVHD oder einer DCM. Sie erhielten Enalapril oder ein Placebo zusätzlich zu einer Standardtherapie bestehend aus einem Diuretikum und bei vielen der Tiere auch Digoxin. Die COVE Studie und die IMPROVE Studie ergaben, dass nach 28 bzw. 21 Tagen Behandlung mehr Tiere in den mit Enalapril behandelten Gruppen eine Verbesserung der klinischen Symptome aufwiesen als in den mit Placebo behandelten Vergleichsgruppen^{312,314}. In der LIVE Studie wurde einer Verlängerung der Überlebenszeit unter der Therapie mit Enalapril festgestellt⁸⁶.

Ähnliche Ergebnisse ergab eine Studie bezüglich der Wirksamkeit von Benazepril. Anders als in den Enalapril Studien wurden auch weniger schwer erkrankte Tiere der NYHA-Klasse II in die Studie mit eingeschlossen (ca. 2/3 der eingeschlossenen Tiere zu Beginn der Studie). Nach 28 Tagen Behandlung zeigten die Tiere in der mit Benazepril behandelten Gruppe gegenüber den mit Placebo behandelten Tieren eine Verbesserung ihrer Leistungsfähigkeit und ihres allgemeinen klinischen Zustandes. Die Überlebensrate in der Benazepril Gruppe war nach einem Jahr höher als in der mit Placebo behandelten Gruppe³¹¹.

Der Platz von ACE-Hemmern in der Therapie von Tieren mit klinischen Symptomen einer Herzinsuffizienz ist unumstritten. Hingegen wird kontrovers diskutiert, ob ein Einsatz bereits bei Tieren gerechtfertigt ist, die zwar echokardiographisch bereits Anzeichen einer CVHD aufweisen, aber klinisch noch keine Symptome entwickelt haben^{144,114}. Für einen frühzeitigen Einsatz von ACE-Hemmern spricht eine humanmedizinische Studie, die zeigte, dass die Therapie mit Enalapril bei Patienten mit asymptomatischer linksventrikulärer Dysfunktion die

Inzidenzrate einer Herzinsuffizienz im Vergleich zu einer mit Placebo behandelten Patientengruppe reduziert³¹⁵.

Um die Frage, zu welchem Zeitpunkt im Verlauf einer Herzerkrankung die Behandlung mit einem ACE-Hemmer begonnen werden sollte, aus veterinärmedizinischer Sicht zu klären, wurden zwei randomisierte und kontrollierte klinische Studien zur Wirksamkeit von Enalapril in der Therapie asymptomatischer Hunde mit CVHD durchgeführt (Tabelle 2.4).

Tabelle 2.4: Klinische Studien zur Wirksamkeit von Enalapril in der Therapie asymptomatischer Hunden mit CVHD

Studie	N	Krankheitsstadium	Zielparameter
SVEP ¹⁶⁵	229 CKCS	NYHA I - II, charakteristisches Herzgeräusch	Dauer von Beginn der Monotherapie mit Enalapril oder Placebo bis zum Aufreten klinischer Symptome einer Herzinsuffizienz
VetProof ¹⁴	139, verschiedene Rassen	NYHA I - II, echokardiogr. CVHD u. MI, radiogr. Kardiomegalie	

N = Anzahl der eingeschlossenen Tieren; CKCS =Cavalier King Charles Spaniel; echokardiogr.= echokardiographisch; MI = Mitralklappeninsuffizienz; radiogr. = radiographisch

In der SVEP Studie konnte kein signifikanter Unterschied in der Dauer bis zum Einsetzen einer Herzinsuffizienz zwischen den beiden Behandlungsgruppen beobachtet werden¹⁶⁵. Ebenso ergab sich auch in der VetProof Studie lediglich ein erkennbarer, aber nicht signifikanter Trend hin zu einer Verlängerung dieser Zeitdauer in der mit Enalapril behandelten Gruppe¹³. In beiden Studien wurde die Therapie mit Enalapril gut vertragen und sein Einsatz gilt generell als sicher¹⁴⁴. Eine Empfehlung zur Behandlung erkrankter, aber symptomfreier Tiere mit einem ACE-Hemmer kann auf Grundlage dieser Studienergebnisse nicht ausgesprochen werden¹¹⁴.

Der Einsatz von **Digoxin** in der Therapie von Herzerkrankungen ist ein viel diskutiertes Thema sowohl in der Human- als auch in der Tiermedizin. Trotz seiner regelmäßigen Anwendung liegen erstaunlich wenig veröffentlichte Daten hinsichtlich seiner klinischen Wirksamkeit bei kardialen Erkrankungen von Hunden

vor¹¹⁴. Digoxin wird aufgrund seiner positiv inotropen Eigenschaften eingesetzt, wobei besonders im Fall der CVHD keine Einigkeit darüber besteht, ab welchem Krankheitsstadium die systolische Funktion des Myokards so reduziert ist, dass sie einer positiv inotropen Unterstützung bedarf¹¹⁴. Weitere erwünschte Effekte von Digoxin sind eine Senkung der Herzfrequenz, die Reduktion eines überhöhten Sympathikotonus und eine Verbesserung der Barorezeptorfunktion^{215,249,90}. Wenig umstritten ist sein Platz in der Therapie supraventrikulärer Tachyarrhythmien wie zum Beispiel Vorhofflimmern^{1,117,90}. Bedenken hinsichtlich des Einsatzes von Digoxin in der Veterinärmedizin bestehen aufgrund seines hohen toxischen Potentials, wodurch eine effektive und sichere Dosierung der Tiere erschwert wird, und aufgrund des fehlenden Beweises für einen positiven Effekt auf die Überlebenszeit bei kardialen Erkrankungen⁹⁰. In einer humanmedizinischen Studie konnte die Gabe von Digoxin zusätzlich zu einer Standardtherapie (Diuretikum und ACE-Hemmer) keine Senkung der Mortalitätsrate bei Patienten mit reduzierter Ejektionsfraktion herbeiführen. Allerdings war in der mit Digoxin behandelten Gruppe die Hospitalisationsrate signifikant geringer als in der Patientengruppe, die mit Placebo behandelt worden war³¹³.

Aufgrund der doch recht unterschiedlichen Genese der Herzerkrankung beim Menschen und beim Hund sollte mit der Übertragung der Ergebnisse aus der Humanmedizin auf die Veterinärmedizin vorsichtig umgegangen werden. Die positiv inotropen Eigenschaften von Digoxin in der Therapie herzkranker Hunde wurden in verschiedenen experimentellen Modellen bestätigt^{242,192}. Beispielsweise verhinderte Digoxin in einem Mikroembolisationsmodell (siehe Abschnitt 2.3.2) die fortschreitende Reduktion der Ejektionsfraktion, die bei den Tieren in der nicht behandelten Kontrollgruppe beobachtet werden konnte. Bemerkenswert an den Ergebnissen dieser Studie ist weiterhin, dass kein negativ chronotroper Effekt von Digoxin auf die Herzfrequenz beobachtet werden konnte²⁶². Dies steht im Gegensatz zu den Resultaten einer klinischen Studie, in der zehn an DCM erkrankte Hunde mit Digoxin behandelt wurden. Alle Tiere reagierten auf die Therapie mit einer Senkung der Herzfrequenz, jedoch war nur bei vier Tieren ein positiv inotroper Effekt zu verzeichnen. Die Hunde, die mit einer gesteigerten Kontraktionskraft auf die Gabe von Digoxin ansprachen, wiesen zusätzlich eine längere Überlebenszeit auf¹⁵⁴.

Als mögliche Alternative zur Behandlung mit Digoxin gilt seit einigen Jahren **Pimobendan**, eine neuartige Substanz, die als „Inodilator“ klassifiziert wird, da sie

sowohl positiv inotrope als auch arteriovenös vasodilatative Eigenschaften besitzt. Als sogenannter „calcium sensitizer“ steigert es die Kontraktionskraft des Myokards über eine Sensibilisierung der kontraktile Myofilamente gegenüber Calcium⁸³, ohne dabei den intrazellulären Calciumgehalt oder den myokardialen Sauerstoffbedarf zu erhöhen^{129,108}. Die vasodilatative Wirkung von Pimobendan wird über eine Hemmung der Phosphodiesterase III (PDE III) in den glatten Muskelzellen der Gefäße vermittelt¹⁰⁸.

Aufgrund seiner positiv inotropen Eigenschaften wurde Pimobendan in der Veterinärmedizin zunächst bei der Behandlung der DCM eingesetzt. Hunde, die Pimobendan als Monotherapie oder zusätzlich zu einer Standardtherapie (Furosemid, ACE-Hemmer, Digoxin) erhielten, wiesen eine Verbesserung der klinischen Symptomatik und ihrer Leistungsfähigkeit auf^{95,94}. Zusätzlich gibt es Hinweise auf eine längere Überlebensdauer, wenn an DCM erkrankte Hunde mit Pimobendan behandelt werden^{95,218,173,101}.

Hinsichtlich der Wirksamkeit von Pimobendan in der Therapie von Hunden mit einer CVHD wurden in den letzten Jahren zwei wichtige klinische Studien durchgeführt (Tabelle 2.5).

Tabelle 2.5: Studien zur Wirksamkeit von Pimobendan in der Therapie von Hunden mit CVHD

Studie	N	Krankheitsstadium	Behandlungsgruppen	Behandlungsdauer
Smith et al. ²⁸⁰	43	NYHA II - III	a) Pimobendan + Furosemid b) Ramipril + Furosemid	6 Monate
VetSCOPE ¹⁷⁵	76	ISACHC II - III	a) Pimobendan + Furosemid b) Benazepril + Furosemid	a) 56 Tage b) Langzeittherapie

N = Anzahl der eingeschlossenen Hunde

Die Studie von Smith et al.²⁸⁰ ergab, dass die mit Pimobendan behandelten Tiere ein vergleichsweise verringertes Risiko für einen ungünstigen Krankheitsverlauf/-ausgang aufwiesen. Dieser war definiert als: 1.) Tod oder Euthanasie des Tieres vor Studienende aufgrund von Herzversagen, 2.) Überschreitung der festgelegten maximalen Dosis von Furosemid (5 mg/kg/Tag) oder 3.) Notwendigkeit

zusätzlicher tierärztlicher Konsultationen aufgrund der Herzerkrankung. Die VetSCOPE Studie zeigte, dass Pimobendan im Vergleich zu Benazepril eine höhere Gesamtwirksamkeit mit einer höheren Überlebenschance der mit Pimobendan behandelten Tiere aufwies¹⁷⁴.

Neben der relativ geringen Anzahl an eingeschlossenen Patienten ist für beide Studien kritisch anzumerken, dass Therapien unterschiedlichen Charakters miteinander verglichen wurden. Während Pimobendan sowohl vasodilatative als auch positiv inotrope Eigenschaften besitzt, wirken ACE-Hemmer ausschließlich vasodilatativ. Es stellt sich daher die Frage, ob auch bei einem Vergleich von Pimobendan mit einer Kombination aus einem ACE-Hemmer und Digoxin signifikante Unterschiede zwischen den beiden Behandlungsgruppen aufgetreten wären.

Bedenken hinsichtlich des Einsatzes von Pimobendan bestehen aufgrund seiner potentiell proarrhythmischen Eigenschaften. In kardialen Zellen steigt durch die Hemmung der PDE III der intrazelluläre Calciumgehalt, wodurch das Auftreten von Arrhythmien gefördert wird. In einer humanmedizinischen Studie mit dem PDE III Hemmer Milrinone wiesen die mit Milrinone behandelten Patienten eine erhöhte Mortalitätsrate auf^{172,230} und auch im Fall von Pimobendan wurden in der PICO-Studie vermehrt Todesfälle in der mit Pimobendan behandelten Patientengruppe registriert¹⁸⁰. In der Veterinärmedizin liegen bisher nur vereinzelt Hinweise auf ein vermehrtes Vorkommen von Arrhythmien unter der Behandlung mit Pimobendan vor, die in keinem Fall ein statistisches Signifikanzniveau erreichten^{218,254,9}. Gegen den Einsatz von Pimobendan insbesondere in frühen Stadien der CVHD sprechen die Ergebnisse einer aktuellen Studie, in der asymptotische Hunde (NYHA-Klasse I) mit geringgradiger Mitralklappeninsuffizienz knapp 1½ Jahre mit Pimobendan behandelt wurden. Die Tiere wiesen eine progressive Verschlechterung ihrer Klappeninsuffizienz auf und entwickelten spezifische Läsionen und pathohistologische Veränderungen an der Mitralklappe⁵⁷.

β-Rezeptor-Antagonisten (β-Blocker) gehören in der Humanmedizin seit einigen Jahren zur Standardtherapie der kongestiven Herzinsuffizienz bei stabilen Patienten in allen Stadien²⁹⁶. Über eine Blockierung der kardialen β-Rezeptoren reduzieren sie den bei kardialen Erkrankungen chronisch erhöhten adrenergen Antrieb am Herzen, der für die progressive Schädigung des Herzens verantwortlich gemacht wird³⁷. Aufgrund ihrer negativ inotropen und chronotropen

Wirkung galten sie lange Zeit als kontraindiziert in der Therapie kardialer Erkrankungen bis mehrere große kontrollierte klinische Studien die positiven Auswirkungen einer β -Blocker Therapie auf die Überlebensdauer herzkranker Patienten eindrucksvoll bestätigten^{229,2}. In der Veterinärmedizin liegen bisher nur wenige Veröffentlichungen vor, die sich mit dem klinischen Einsatz von β -Blockern in der Therapie kardial erkrankter Hunde beschäftigen^{9,144}. Im Kapitel 2.2. erfolgt eine ausführliche Beschreibung der Wirkungsmechanismen sowie eine Erläuterung wichtiger humanmedizinischer Studien und bisheriger Forschungsergebnisse in der Veterinärmedizin.

2.2 β -Rezeptor-Antagonisten

β -Blocker binden selektiv, kompetitiv und reversibel an β -Rezeptoren, die in zahlreichen Organen und Geweben des Körpers vorhanden sind (Tabelle 2.6). Die pharmakologischen Effekte der β -Blocker erklären sich aus der Inhibition der durch diese Rezeptoren vermittelten Wirkungen¹⁷⁷.

Tabelle 2.6: Durch β_1 - und β_2 -Rezeptoren vermittelte Wirkungen (modifiziert nach ESC Expert Consensus Document¹⁷⁷)

Gewebe	Rezeptor	Wirkung
Herz		
Sinusknoten	$\beta_1, (\beta_2)$	Herzfrequenz \uparrow
AV-Knoten	$\beta_1, (\beta_2)$	Überleitungsgeschwindigkeit \uparrow
Atria	$\beta_1, (\beta_2)$	Kontraktilität \uparrow
Ventrikel	$\beta_1, (\beta_2)$	Kontraktilität \uparrow ,
Arterien	β_2	Vasodilatation
Venen	β_2	Vasodilatation
Skelettmuskulatur	β_2	Vasodilatation, Kontraktilität \uparrow , Glykogenolyse
Leber	β_2	Glykogenolyse, Glukoneogenese
Bronchien	β_2	Bronchodilatation
Niere	β_1	Freisetzung von Renin
Uterus	β_2	Relaxation
Magen-Darm-Trakt	β_2	Relaxation
Nervenendigungen	β_2	Förderung der Noradrenalin Freisetzung

Trotz dieser Gemeinsamkeit bestehen zwischen den einzelnen β -Blockern Unterschiede von klinischer Relevanz hinsichtlich ihrer pharmakodynamischen und pharmakokinetischen Eigenschaften. Dazu gehören das Maß der gastrointestinalen Absorption, der Grad des First-Pass-Effektes in der Leber, die Lipidlöslichkeit, die Proteinbindung, die Fähigkeit zur Penetration der Blut-Hirn-Schranke, die Biotransformation in der Leber und die renale Clearance⁹³. Entsprechend ihrer Selektivität und der historischen Entwicklung werden verschiedene Generationen von β -Blockern unterschieden. Dabei gehören nicht selektive Substanzen, die sowohl an β_1 - als auch an β_2 -Rezeptoren binden, zur ersten Generation, während die zweite Generation β_1 -Rezeptor selektive β -Blocker umfasst. Die Substanzen der dritten Generation von β -Blockern besitzen zusätzliche pharmakologische Eigenschaften. Sie binden selektiv oder nicht selektiv an β -Rezeptoren und wirken in den meisten Fällen durch α -Rezeptorblockade zusätzlich vasodilatatorisch³⁶. Von intrinsischer sympathomimetischer Aktivität wird gesprochen, wenn eine Substanz den Adrenozeptor nicht nur blockiert, sondern zusätzlich eine unerwünschte schwach agonistische Wirkung besitzt¹⁷⁷. Tabelle 2.7 gibt einen Überblick über die wichtigsten Vertreter der β -Blocker und ihre pharmakologische Klassifikation.

Tabelle 2.7: Pharmakologische Klassifikation der wichtigsten β -Blocker^{177,37}

Generation	β -Blocker	Verhältnis der Selektivität (β_1/β_2)	Vasodilatation	ISA
1. Generation	Propranolol	2,1	---	---
2. Generation	Metoprolol	74	---	---
	Bisoprolol	119	---	---
3. Generation	Carvedilol	7,3	+	---
	Bucindolol	1,4	+	+

Hinsichtlich der Selektivität von β -Blockern gibt es in den letzten Jahren neue interessante Untersuchungsergebnisse. Baker¹⁷ ist der Meinung, dass die bisher geltenden Angaben aufgrund methodischer Schwächen (Vergleich der Bindungsaffinitäten in unterschiedlichen Geweben in unterschiedlichen Spezies,

Messungen der Ligandenaffinität in Gegenwart natürlicher Agonisten) in Frage zu stellen sind. Er kommt in seinen Untersuchungen zu dem Schluss, dass viele Substanzen, die bisher als hochselektiv für den β_1 -Rezeptor galten, tatsächlich nur eine geringe Selektivität für diesen Rezeptor aufweisen. Seine Studien ergeben zum Beispiel für Bisoprolol eine (nur) um den Faktor 13,5 höhere Affinität für den β_1 -Rezeptor im Vergleich zum β_2 -Rezeptor, und Carvedilol zeigte sogar eine geringgradig höhere Affinität (Faktor 4,5) für β_2 -Rezeptoren im Vergleich zu β_1 -Rezeptoren. Sollten sich diese neue Untersuchungsergebnisse bewahrheiten, ist das ein Zeichen dafür, dass die Wirksamkeit der Substanzen nicht allein abhängig sein kann von ihrer Affinität zu einem bestimmten Rezeptor-Subtypen¹⁷.

2.2.1 Wirkungsmechanismen

Um den Nutzen einer langfristigen β -Blocker Therapie und die verschiedenen Wirkungsmechanismen dieser Substanzklasse nachvollziehen zu können, ist es erforderlich, sich bewusst zu machen, welche schädlichen Folgen eine anhaltende Stimulation des SNS und ein chronisch erhöhter adrenerger Antrieb (adrenergic drive) auf das Herz haben²⁵⁸. Wie genau die positiven klinischen Wirkungen der β -Blocker in der Therapie der Herzinsuffizienz vermittelt werden ist nicht vollständig geklärt und nach wie vor Gegenstand zahlreicher Studien. Die bisherigen Forschungsergebnisse weisen darauf hin, dass es sich nicht um einen einzelnen dominierenden Mechanismus handelt, sondern um eine Vielzahl von Vorgängen auf molekularer, zellulärer und Organebene²⁵⁸.

Ein anhaltend erhöhter Sympathikotonus führt auf molekularer Ebene zu Veränderungen in der β -adrenergen Signaltransduktion. Dazu gehört eine Abnahme der β_1 -Rezeptordichte und eine Abkopplung (decoupling) der β_2 -Rezeptoren von ihrer intrazellulären Signalkaskade^{170,155,73}. Die Folge ist eine verminderte Ansprechbarkeit des Herzens auf endogene Katecholamine und damit eine Abnahme der kontraktilen Reserve des Myokards⁸⁹, die sich klinisch in einer reduzierten Leistungsfähigkeit manifestiert³⁴². Eine langfristige Therapie mit Metoprolol führt zu einem Wiederanstieg der β_1 -Rezeptordichte und ebenso zu einem „recoupling“ der β_2 -Rezeptoren^{130,118}. Allerdings scheint die Wiederherstellung der β -adrenergen Signalübertragung nicht allein entscheidend für die klinischen Erfolge einer Therapie mit β -Blockern zu sein, da bei einer

Therapie mit Carvedilol ebenfalls eine deutliche Verbesserung der klinischen Symptomatik eintritt²³¹, obwohl die Dichte der β -Rezeptoren nicht zunimmt⁹⁷.

Für einen optimalen Ablauf des myozytären Kontraktionsvorganges ist die intrazelluläre Calciumhomöostase, die durch die zellulären Calciumkonzentrationen und -ströme (calcium cycling) bestimmt wird, von entscheidender Bedeutung. Ein chronisch erhöhter Sympathikotonus führt zu einer modifizierten Expression der Proteine, die an der Erhaltung der Calciumhomöostase beteiligt sind³⁶. Beispiele für die modifizierte Expression sind eine Abnahme der sarkoplasmatischen Ca ATPase (SERCA), eine Zunahme des Natrium Calcium Austauschers (NCX) und eine Destabilisierung der sarkoplasmatischen Ryanodin Rezeptoren^{292,104,257,239,40}. Die Folge der Veränderungen ist eine reduzierte Kontraktionsfähigkeit der Herzmuskelzelle, die sich bis auf die Ebene des gesamten Organs fortsetzt. β -Blocker sind in der Lage, eine Normalisierung der veränderten Genexpression herbeizuführen. So konnte bei herzkranken Patienten, die mit β -Blockern behandelt wurden, eine vermehrte Expression der sarkoplasmatischen Ca ATPase^{178,351,293} und eine Stabilisierung der Ryanodin Rezeptoren beobachtet werden^{77,250,338}.

Weitere Veränderungen in der Expression von Proteinen betreffen die kontraktile Einheiten des Herzmuskels, die Myofilamente. Im Myokard herzkranker Menschen wurde eine Reduktion der im gesunden Herzen dominierenden α -Isoform der schweren Myosinkette festgestellt, während gleichzeitig der Gehalt der fetalen β -Isoform zunahm. Die β -Isoform weist jedoch eine geringere Enzymgeschwindigkeit als die α -Isoform auf und hat eine Verlangsamung der myozytären Kontraktion zur Folge^{179,198}. Durch die Behandlung mit Metoprolol und Carvedilol konnte das physiologische Expressionsmuster der Myosinkette wieder hergestellt werden¹⁷⁸.

Diese Studienergebnisse legen nahe, dass β -Blocker über eine positive Beeinflussung der Genexpression die bei einer Herzerkrankung reduzierte Kontraktilität der Myozyten steigern können und damit generell zu einer Verbesserung der systolischen Funktion des Ventrikels beitragen²⁵⁸.

Auf zellulärer Ebene findet im Zuge kardialer Erkrankungen ein fortschreitender Verlust von Myozyten statt, bei dem sowohl nekrotische als auch apoptotische Vorgänge eine Rolle spielen. NA wirkt in Konzentrationen wie sie bei Patienten mit Herzinsuffizienz gemessen werden zytotoxisch auf kultivierte Kardiomyozyten und

verursacht eine Nekrose der Zellen¹⁸⁴. Da bei einer vorangehenden Desensibilisierung der β -Rezeptoren die durch Katecholamine induzierte Zytotoxizität abnimmt³⁰⁴, liegt der Schluss nahe, dass β -Blocker die Myozyten vor dieser Form des Zelltods schützen können²⁵⁸.

Apoptose wird durch eine Vielzahl von Faktoren ausgelöst, die durch eine Blockade der β -Rezeptoren modifiziert werden können. Dazu gehören erhöhte intrazelluläre Calcium Konzentrationen²²², Hypoxie³⁰⁵ und hohe Konzentrationen von NA^{65,275}. β -Blocker wirken sich, wie oben bereits beschrieben wurde, positiv auf die Calciumhomöostase in den Herzmuskelzellen aus und wirken so einem toxischen Anstieg des Calcium Gehalts entgegen²⁵⁸. Hypoxische Zustände des Myokards entstehen bei kardialen Erkrankungen im Zusammenhang mit Vorgängen des Remodelings am Herzen. Die Fibrosierung und Hypertrophie des Myokards führen zu einer Abnahme der Kapillardichte und einer Zunahme der Diffusionsstrecke des Sauerstoffs²⁶¹. Durch die Gabe von Metoprolol konnten in einem experimentellen Hundemodell die strukturellen Veränderungen des Herzens erfolgreich verringert werden²⁰⁸ und humanmedizinische Studien zeigen, dass eine langfristige β -Blocker Therapie sogar zu einer Regression der Remodeling Vorgänge führen kann^{38,146,145}. Zusätzlich besteht bei Herzerkrankungen ein erhöhter myokardialer Sauerstoffbedarf, da über die Kompensationsmechanismen des Körpers eine Zunahme der Herzfrequenz und der Vor- und Nachlast des Herzens erfolgen. β -Blocker verringern über die Senkung der Herzfrequenz und des systemischen Blutdrucks den Sauerstoffbedarf des Myokards und ermöglichen über die Verlängerung der diastolischen Füllungsphase eine verbesserte Perfusion des Herzmuskelgewebes⁹².

Zur Verringerung der Apoptoserate durch β -Blocker scheinen ebenfalls Veränderungen in der Expression von Proteinen beizutragen, die an der Regulation der Apoptose auf molekularer Ebene beteiligt sind. In herzkranken Hunden, die dauerhaft mit Metoprolol behandelt wurden, konnte eine vermehrte Expression des Bcl-2 Proteins, einem Apoptoseinhibitor, beobachtet werden, während die Expression des pro-apoptotischen Proteins Bak zurückging²⁶⁰.

Da sich die bisher beschriebenen Wirkungen auf molekularer und zellulärer Ebene auf das Herz als Ganzes fortsetzen, wurden einige klinische Effekte der Therapie mit β -Blockern bereits genannt. Dazu gehören die Verbesserung der Kontraktionsfähigkeit und der systolischen Funktion, die Senkung der Herzfrequenz und des myokardialen Sauerstoffbedarfs sowie die Verhinderung

des kardialen Remodelings. Weiterhin besitzen β -Blocker antiarrhythmische Eigenschaften^{37,133,277} und inhibieren über die Blockade renaler β -Rezeptoren die Freisetzung von Renin². Sie wirken damit einer Aktivierung des RAAS entgegen und führen zu einer Senkung des arteriellen Blutdrucks²⁹¹.

Tabelle 2.8 gibt eine Übersicht über die Wirkungsmechanismen von β -Blockern auf molekularer, zellulärer und klinischer Ebene.

Tabelle 2.8: Durch β -Blocker vermittelte Effekte

<p>Molekulare Effekte</p> <ul style="list-style-type: none">Dichte der β_1-Adrenozeptoren \uparrowRecoupling der β_2-AdrenozeptorenmRNA Expression der α-Isoform der schweren Myosinkette \uparrowmRNA Expression der sarkoplasmatischen Calcium ATPase \uparrowStabilisierung der sarkoplasmatischen RyanodinrezeptorenExpression Bcl-2 (Apoptoseinhibitor) \uparrowExpression Bak (pro-apoptotisch) \downarrow <p>Zelluläre Effekte</p> <ul style="list-style-type: none">Schutz der Myozyten vor Zytotoxizität von KatecholaminenApoptoserate \downarrowNekroserate \downarrowPositive Beeinflussung der Calciumhomöostase in MyozytenIntrinsische Kontraktilität der Myozyten \uparrow <p>Klinische Effekte</p> <ul style="list-style-type: none">Systolische Funktion \uparrowInhibition kardialen RemodelingsHerzfrequenz \downarrowArterieller Blutdruck \downarrowMyokardialer Sauerstoffbedarf \downarrowInhibition der Reninfreisetzung / Aktivierung des RAAS \downarrowAntiarrhythmisch

RAAS = Renin-Angiotensin-Aldosteron-System

2.2.2 Einsatz in der Humanmedizin

In der Humanmedizin kamen β -Blocker ursprünglich in der Bluthochdrucktherapie zum Einsatz und galten aufgrund ihrer negativ chronotropen und inotropen Eigenschaften bei Erkrankungen des Herzens als kontraindiziert²²⁹. Mitte der 70er Jahre wurden erstmalig positive Effekte bei der Behandlung von Patienten mit kongestiver Herzinsuffizienz nach Einsatz eines β -Blockers beobachtet. 1975 beschrieb Waagstein eine Verbesserung der Leistungsfähigkeit und ventrikulären

Herzfunktion seiner Patienten unter der Behandlung mit Practolol³³². Vier Jahre später wurde in einer Gruppe von 24 Patienten, die mit β -Blockern behandelt wurden, eine verlängerte Überlebenszeit festgestellt im Vergleich zu einer Gruppe von (historischen) Patienten, die lediglich Diuretika und Digitalis erhalten hatten²⁹⁷.

Aufgrund dieser positiven Erfahrungen mit dem Einsatz von β -Blockern wurde 1989 „The Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study“ (CIBIS) als erste groß angelegte Studie zur Untersuchung der Wirkung des β -Blockers Bisoprolol in der Therapie herzkranker Patienten begonnen (Tabelle 2.9). Zusätzlich zu einer Standardtherapie bestehend aus einem Diuretikum und einem ACE-Hemmer erhielten die Patienten entweder Bisoprolol oder ein Placebo. Es zeigte sich, dass die mit Bisoprolol behandelten Patienten die Therapie gut vertrugen und sie häufiger als die Patienten in der Placebogruppe ihren funktionellen Status verbesserten (ausgedrückt als die NYHA-Klasse). Weiterhin wies die Bisoprololgruppe eine geringere Hospitalisationsrate auf⁶⁰.

Nach den vielversprechenden Ergebnissen der CIBIS Studie folgten weitere breitflächig angelegte Studien mit Bisoprolol, Metoprolol und Carvedilol (Tabelle 2.9).

Tabelle 2.9: Humanmedizinische Studien zum Einsatz von β -Blockern bei kardialen Erkrankungen

Studie	β -Blocker	N	Einschlusskriterien
CIBIS	Bisoprolol	641	NYHA III - IV; EF < 40%
CIBIS II	Bisoprolol	2647	NYHA III - IV; EF < 35%
MERIT-HF	Metoprolol	3991	NYHA II - IV; EF < 40%
COPERNICUS	Carvedilol	2289	Dyspnoe in Ruhe oder bei geringer Anstrengung, EF < 25%

N = Anzahl der eingeschlossenen Patienten; EF = Ejektionsfraktion

CIBIS II wurde frühzeitig beendet, da bei einer Zwischenanalyse die allgemeine Mortalitätsrate in der mit Bisoprolol behandelten Gruppe deutlich unter derjenigen der Placebogruppe lag⁶¹. Die Auswertung der Studie ergab weiterhin, dass die Behandlung mit Bisoprolol das Risiko des kombinierten Endpunktes Mortalität und Hospitalisierung aufgrund von Herzversagens um 32% senkte und dass in der mit

Bisoprolol behandelten Gruppe 42% weniger plötzliche Todesfälle auftraten als in der Placebogruppe⁶¹.

Ebenso wurde die MERIT-HF Studie nach der zweiten Interim-Analyse aufgrund einer Reduktion der allgemeinen Mortalität in der mit Metoprolol behandelten Gruppe abgebrochen. In dieser Gruppe wurden deutlich weniger plötzliche Todesfälle (41% Reduktion) und Todesfälle aufgrund der Progression der Herzerkrankung (49% Reduktion) registriert¹⁹⁴. Die Ergebnisse der COPERNICUS Studie ergaben für die mit Carvedilol behandelten Patienten ein um 35% reduziertes Todesrisiko und ein um 24% reduziertes Risiko hinsichtlich des kombinierten Endpunktes Tod oder Hospitalisation²³². In allen Studien war die Verträglichkeit des β -Blockers gut.

Heutzutage gehören β -Blocker zur Standardtherapie von Patienten mit linksventrikulärer systolischer Dysfunktion, unabhängig davon, ob bereits klinische Symptome bestehen oder nicht¹³⁸.

2.2.3 Erfahrungen in der Veterinärmedizin

Im Gegensatz zur Humanmedizin liegen in der Veterinärmedizin sowohl experimentell als auch klinisch bisher nur wenige Erfahrungen hinsichtlich eines langfristigen Einsatzes von β -Blockern in der Therapie herzkranker Hunde vor.

Einige experimentelle Studien untersuchten die Auswirkungen von Metoprolol in einem Mikroembolisationsmodell (siehe 2.3.2). Durch die dreimonatige Gabe von Metoprolol konnte die für dieses Modell typische progressive Dilatation der Herzkammern verhindert werden, während sich die systolische und diastolische Funktion des linken Ventrikels verbesserten²⁰⁸. Im Vergleich zur Kontrollgruppe besaßen mit Metoprolol behandelte Hunde eine höhere Ejektionsfraktion und entwickelten in geringerem Maße eine myokardiale Fibrose und ventrikuläre Hypertrophie. Der enddiastolische linksventrikuläre Druck und die enddiastolische linksventrikuläre Wandspannung sanken²⁶². In einer weiteren Studie beobachtete dieselbe Forschergruppe eine geringere Apoptoserate der Kardiomyozyten in den mit Metoprolol behandelten Hunden im Vergleich zu den unbehandelten Kontrolltieren²⁶⁰.

Weitere Studien mit β -Blockern fanden an Hunden mit experimentell erzeugter Mitralklappeninsuffizienz statt. Es konnte gezeigt werden, dass Metoprolol die

Freisetzung von NA aus kardialen Neuronen in das kardiale Interstitium senkt^{303,123} und in einer weiteren Studie mit diesem Tiermodell führte die dreimonatige Gabe von Atenolol zu einer Wiederherstellung der Kontraktilität der Myozyten. In den Herzmuskelzellen der mit Atenolol behandelten Hunde war sowohl der prozentuale Anteil der Myofibrillen als auch ihr absoluter Gehalt höher als in den Zellen der unbehandelten Kontrollgruppe, was Tsutsui et al. für die unter der Therapie verbesserte Kontraktilität der Myozyten verantwortlich machten³²².

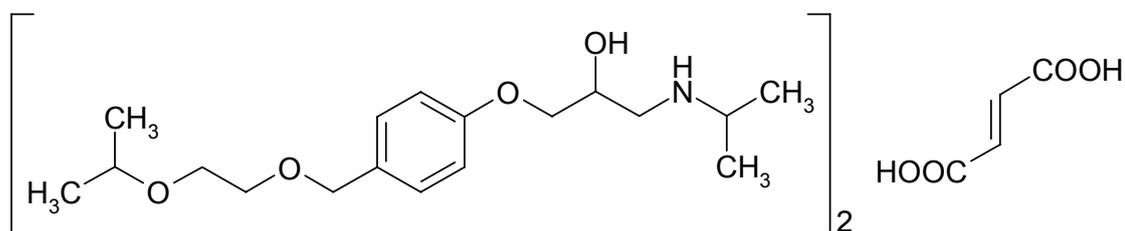
Gering sind auch die Erfahrungen hinsichtlich des klinischen Einsatzes von β -Blockern bei natürlich erkrankten Hunden. Rush et al.²⁵⁶ untersuchten retrospektiv den Einsatz von Metoprolol in Hunden der NYHA-Klassen I - III mit einer DCM oder CVHD. Tidholm³¹⁶ berichtete retrospektiv über den Einsatz von Propranolol bei Hunden mit einer DCM (NYHA-Klasse IV). In beiden Publikationen wird beschrieben, dass die β -Blockertherapie zu einer deutlichen Reduktion der Herzfrequenz führte und von den Hunden gut toleriert wurde^{316,256}. Aufgrund der fehlenden Kontrollgruppen konnten keine Aussagen hinsichtlich einer Verbesserung klinischer Parameter oder einer Verlängerung der Überlebenszeit gemacht werden. In den letzten Jahren richtete sich das wissenschaftliche Interesse in der Veterinärmedizin vermehrt auf Carvedilol, einen β -Blocker der dritten Generation. Oyama et al.²²⁶ untersuchten in einer prospektiven und Placebo kontrollierten Studie die Effekte von Carvedilol auf die kardiale Funktion von Hunden mit mittel- bis hochgradiger DCM. Die Tiere vertrugen die Behandlung mit Carvedilol gut, zeigten aber nach drei Monaten Therapie keine Verbesserung der systolischen Funktion im Vergleich zur Placebogruppe. Als mögliche Gründe für den ausbleibenden positiven Effekt wurden das fortgeschrittene Stadium der Erkrankung, eine zu kurze Studiendauer und eine möglicherweise zu geringe Dosierung von Carvedilol (0,3 mg/kg KGW, 2x täglich) genannt²²⁶. In einer weiteren klinischen Studie wurden an CVHD erkrankte Hunde mit Carvedilol behandelt (0,3 mg/kg KGW, 2x täglich). Sie wiesen nach drei Monaten eine Verbesserung der NYHA-Klasse und der Lebensqualität auf¹⁸⁶. Allen bisher mit β -Blockern durchgeführten Studien ist gemein, dass nur eine kleine Anzahl an Patienten eingeschlossen und die Studiendauer vergleichsweise kurz gewählt wurde. Um sicherere Aussagen hinsichtlich der Auswirkungen von β -Blockern auf das kardiale Remodeling und die Überlebensdauer von herzkranken Hunden treffen zu können, sind Placebo kontrollierte Studien mit größeren Patientenzahlen und von längerer Dauer erforderlich¹⁰⁰.

2.2.4 Bisoprolol

Bisoprolol gehört zur zweiten Generation der β -Blocker und zeigt sowohl *in vitro* als auch *in vivo* eine hohe Selektivität für β_1 -Adrenozeptoren^{127,267}. Sein molekulares Gewicht beträgt 383.48 g/mol (Bisoprololhemifumarat) und seine Bezeichnung nach INN (International Nonproprietary Name) lautet:

(±) -1- [[α -(2-isopropoxy-ethoxy)-p-tolyl] oxy]-3-(isopropylamino)-2-propanol fumarate (2:1) (Abbildung 2.4).

Abbildung 2.4: Chemische Struktur von Bisoprololfumarat



Bisoprolol besitzt keine intrinsische sympathomimetische Aktivität¹⁰⁷ und keine weiteren pharmakologischen Eigenschaften wie α -Rezeptorblockade oder Vasodilatation¹⁷⁷.

Im Hund wird Bisoprolol nach oraler Applikation im Magen-Darm-Trakt nahezu vollständig resorbiert und besitzt aufgrund eines geringen First-Pass-Effektes in der Leber eine absolute Bioverfügbarkeit von über 90%. Die interindividuelle Variabilität der Plasmakonzentration ist gering (Variationskoeffizient der AUC (area under the curve): 15%) und die maximale Plasmakonzentration wird circa eine Stunde nach der oralen Applikation erreicht²³.

Die Plasma-Protein-Bindung von Bisoprolol beträgt im Hund 23 bis 26%⁵². Die Entfernung unveränderten Bisoprolols aus dem Plasma von Hunden geschieht zu 30 bis 40% über die Niere. Der verbleibende Anteil der Dosis wird in der Leber zu drei verschiedenen Metaboliten transformiert, wodurch beim Hund zu einem geringen Anteil (10 bis 15% der Dosis) durch Dealkylation der pharmakologisch aktive Metabolit M4 gebildet wird. Die Metaboliten werden ebenfalls über die Niere ausgeschieden, so dass insgesamt bis zu über 90% der Dosis renal eliminiert werden⁵². Die Halbwertszeit im Plasma beträgt nach oraler Applikation vier Stunden²³.

2.3 Herzinsuffizienz im Tiermodell

Für die Erforschung der Pathophysiologie kardialer Erkrankungen und für die Entwicklung neuer Therapien ist der Einsatz von Tiermodellen unerlässlich. Kein Modell reproduziert exakt und vollständig sämtliche Teilaspekte der natürlich auftretenden Erkrankungen und jedes hat sowohl Vor- als auch Nachteile, die bei der Auswahl eines geeigneten Modells für einen Versuch beachtet werden müssen. Neben der wissenschaftlichen Fragestellung spielen dabei ethische und ökonomische Überlegungen eine Rolle, sowie technische Durchführbarkeit und Reproduzierbarkeit des Versuches¹²⁸.

Das ideale Tiermodell sollte die natürlich auftretende Erkrankung und deren kardialen, hämodynamischen und neurohormonellen Veränderungen so genau wie möglich widerspiegeln. Ein Mangel, den nahezu jedes Modell aufweist, ist das plötzliche Eintreten der artifiziell erzeugten Herzinsuffizienz im Gegensatz zu der meist progressiven Entwicklung *in vivo*. Ferner werden vor allem junge adulte Tiere eingesetzt, während in der Realität in der Regel ältere Menschen und Tiere von kardialen Erkrankungen betroffen sind²¹⁰. Auch ist zu bedenken, dass Tiermodelle häufig zunächst in der humanmedizinischen Forschung entwickelt werden, in der andere Fragestellungen im Vordergrund stehen als in der Veterinärmedizin. Beim Menschen sind ischämische Zustände des Myokards aufgrund einer koronaren Herzerkrankung häufig die Ursache einer Herzinsuffizienz¹³⁸. Dieses Krankheitsbild sieht man beim Hund aufgrund der höheren Anzahl an koronaren Kollateralgefäßen im Herzen^{190,344} nur selten.

Verschiedene Spezies werden als Tiermodelle in der Erforschung kardialer Erkrankungen eingesetzt. Aus ökonomischen und ethischen Gründen bilden dabei kleine Labortiere wie Mäuse, Ratten und Kaninchen den größten Anteil der Versuchstiere. Ein Argument für den Einsatz größerer Tiere in der humanmedizinischen Forschung ist, dass sie in Merkmalen wie Herzfrequenz, Form des myokardialen Aktionspotentials und molekularer Zusammensetzung der Myofilamente den Verhältnissen beim Menschen ähnlicher sind als Nager²¹⁰.

In der zitierten Literatur der vorliegenden Arbeit werden drei Modelle zur Erzeugung einer Herzinsuffizienz beim Hund regelmäßig genannt: das Modell des tachykarden Pacings, das Verfahren der koronaren Mikroembolisation und die künstliche Erzeugung einer Mitralklappeninsuffizienz. Im Folgenden wird zunächst das Modell des tachykarden Pacings ausführlich beschrieben. Dieses wurde in der

Studie der vorliegenden Arbeit eingesetzt und eine gründliche Kenntnis des Modells ist erforderlich für die korrekte Bewertung der experimentellen Ergebnisse. Im Anschluss daran werden zum besseren Verständnis der zitierten Literatur auch die beiden letztgenannten Modelle kurz vorgestellt.

2.3.1 Modell des tachykarden Pacings

Das Pacingmodell hat entscheidend zum Verständnis der Pathophysiologie der kongestiven Herzinsuffizienz beigetragen und wurde erfolgreich an Hunden, Schafen und Schweinen eingesetzt^{59,81,247,350}. Zur Erzeugung einer Herzinsuffizienz wird den Tieren ein Herzschrittmacher implantiert, der so programmiert wird, dass er das Herz mit einer pathologisch hohen Frequenz stimuliert. Im Gegensatz zu vielen anderen Modellen, in denen eine Herzinsuffizienz akut erzeugt wird, entwickelt es sich bei diesem Modell aufgrund der induzierten Tachykardie über einen Zeitraum von mehreren Wochen hinweg. Das ermöglicht die Durchführung serieller Messungen und eine kontinuierliche Beobachtung des progressiven Krankheitsverlaufs. Weitere Vorteile des Modells sind der vergleichsweise geringe technische Aufwand für die Implantation des Herzschrittmachers und die Möglichkeit der exakten Einstellung der Pacingfrequenz²⁰⁰. Über sie kann beeinflusst werden, wie schnell und bis zu welchem Schweregrad sich die Dysfunktion des Herzens bei dem jeweiligen Tier entwickelt.

Im Laufe der Jahre wurden verschiedene Methoden atrialen und ventrikulären Pacings entwickelt und angewendet^{207,82,350}, von denen in der Studie der vorliegenden Arbeit die endogene Stimulation des rechten Ventrikels gewählt wurde. Je nach Fragestellung kommen verschiedene Versuchsprotokolle zum Einsatz. In der Regel wird nach einer postoperativen Erholungsphase mit dem Pacing bei einer Frequenz von 220 bis 250 Schlägen pro Minute begonnen, wodurch die Tiere innerhalb von drei bis fünf Wochen eine schwere kongestive Herzinsuffizienz entwickeln^{137,202}.

Abhängig vom Schweregrad der entstehenden myokardialen Dysfunktion treten unterschiedlich stark ausgeprägte klinische Symptome auf. Die Hunde entwickeln häufig respiratorische Probleme wie Husten und Tachypnoe aufgrund eines Lungenödems. Die Retention von Körperflüssigkeit kann sich aber auch in Form eines Aszites oder peripherer Ödeme manifestieren¹¹. Veränderungen im

Körpergewicht der Tiere können, müssen aber nicht erfolgen. Entscheidend dafür ist das Verhältnis zwischen der in Ödemen akkumulierten Körperflüssigkeit und dem Verlust von Körpermasse aufgrund der chronischen Erkrankung^{252,200}.

Am Herzen nehmen infolge des Pacings die Dimensionen sowohl der Herzkammern als auch der Vorhöfe zu. Die hintere Wand des linken Ventrikels und das Septum nehmen an Dicke ab, während die Masse des linken Ventrikels in etwa gleich bleibt, so dass auf Ebene der Ventrikel eine Dilatation ohne kompensatorische Hypertrophie entsteht²⁰¹. Auf mikroskopischer Ebene erfolgt ein Verlust an Kardiomyozyten durch Apoptose¹³² und eine Hypertrophie der verbleibenden Zellen¹⁴². In kürzester Zeit nach Beginn des Pacings nehmen die Expression und Aktivität von Metalloproteinasen zu, die an einem Abbau von Kollagenen in der extrazellulären Matrix beteiligt sind. Die Folgen sind eine Abnahme des myokardialen Kollagengehaltes und Zerreißen in der interstitiellen Kollagenstruktur^{285,283}.

Auftretende hämodynamische Veränderungen sind eine Abnahme des mittleren arteriellen Blutdrucks und eine Zunahme des Druckes im rechten Vorhof³⁴⁵. Zahlreiche Parameter indizieren sowohl eine systolische als auch eine diastolische Dysfunktion. Das Herzminutenvolumen, die linksventrikuläre Verkürzungsfraction und die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit nehmen ab und ebenso verlangsamen sich der isovolumetrische Druckabfall und die frühdiastolische Füllungsrate³²⁰. Als Zeichen der Aktivierung der neurohormonellen Regelkreise, steigen zunächst die Plasmakonzentrationen der Katecholamine und natriuretischen Peptide an, während die Aktivierung des RAAS, erkennbar an der Plasma-Renin-Aktivität, verzögert einsetzt³²¹. Ebenfalls erhöht sind die Plasmakonzentrationen von Endothelin 1 und dem proinflammatorischen TNF α ^{188,200}.

Ein besonderes Merkmal des Pacingmodells ist, dass sich die Tiere nach Beendigung des Pacings spontan erholen und zahlreiche der zuvor beschriebenen veränderten Parameter in den physiologischen Bereich zurückkehren. Im Anschluss an eine vierwöchige Pacingphase sinken innerhalb der ersten 48 Stunden nach Wiederherstellung des Sinusrhythmus die links- und rechtsventrikulären Füllungsdrücke und verdoppelt sich die Ejektionsfraktion²⁰². Die Dilatation des Herzens bleibt während der Erholungsphase bestehen. Jedoch entwickelt sich eine linksventrikuläre Hypertrophie, die für die Wiedererlangung der systolischen Funktionskapazität verantwortlich gemacht wird²⁸⁴.

Um ein stabiles Modell für eine kongestive Herzinsuffizienz zu erhalten, wurden deshalb neue Versuchsprotokolle entwickelt, die eine spontane Verbesserung der Tiere nach Beendigung des Pacings verhindern sollen. Patel et al.²³³ verlängerten die Pacingphase auf zehn Wochen bei einer Frequenz von 215 Schlägen pro Minute. Nach Beendigung des Pacings verbesserte sich die Leistungsfähigkeit des Herzens zwar wieder, jedoch fand keine vollständige Erholung statt. Nach zwölf Wochen bestand immer noch eine systolische und auch diastolische Dysfunktion²³³. Takagaki et al.³⁰¹ reduzierten nach einer initialen vierwöchigen Phase die Frequenz des Herzschrittmachers von 230 auf 190 Schläge pro Minute, wodurch die erzeugte schwere DCM in der Folgezeit erhalten werden konnte³⁰¹.

2.3.2 Modell der koronaren Mikroembolisation

Das Verfahren der koronaren Mikroembolisation führt zu der Erzeugung einer chronischen Herzinsuffizienz aufgrund eines Verlustes an kontraktilem Myokardium²⁶³. Über einen Zeitraum von etwa zehn Wochen hinweg werden wiederholt intrakoronare Injektionen mit kleinsten Kügelchen aus Polystyrol (sogenannte „microspheres“, Durchmesser zwischen 72 und 102 µm) durchgeführt bis die Ejektionsfraktion auf einen Wert zwischen 30 - 40% sinkt^{263,262,208}. Neben der Ejektionsfraktion verringert sich ebenfalls das Herzminutenvolumen, während der linksventrikuläre enddiastolische Füllungsdruck steigt. Die Zunahme des enddiastolischen Volumens manifestiert sich makroskopisch in einer Dilatation des linken Ventrikels. Neurohormonelle Folgen der Mikroembolisationen sind ein Anstieg der Plasmakonzentration von NA und ANP. Die Plasmakonzentration von Renin bleibt im physiologischen Bereich^{263,262}. Ein Vorteil dieses Modells ist, dass über die Anzahl der Injektionen das Ausmaß der Myokardschädigung gesteuert werden kann und eine stabile linksventrikuläre Dysfunktion erzeugt wird²⁶³. Als Nachteil ist der hohe technische Aufwand zu bewerten, da mehrere chirurgische Eingriffe erforderlich sind. Zudem fördert die Methode das Auftreten lebensgefährlicher Arrhythmien, die zu einer Mortalitätsrate von etwa 30% führen²⁶³. Die erzeugte Dysfunktion ist zwar stabil, jedoch nicht so schwerwiegend, dass klinische Symptome einer Herzinsuffizienz bei den Hunden verursacht würden³⁵⁰.

2.3.3 Modell zur Erzeugung einer Mitralklappeninsuffizienz

Mitralklappeninsuffizienzen führen durch eine dauerhafte Volumenüberlastung des Herzens zu einer linksventrikulären Dysfunktion. Um beim Hund eine Insuffizienz der Mitralklappe künstlich zu erzeugen, werden über einen arteriellen Zugang die *chordae tendineae* der Klappensegel rupturiert. Nach dem Eingriff entwickeln die Tiere eine Dilatation und exzentrische Hypertrophie des Herzens, erkennbar an einer Zunahme sowohl des enddiastolischen Volumens als auch der linksventrikulären Masse^{156,322,354,213}. Hämodynamische Veränderungen sind ein Anstieg des linksventrikulären enddiastolischen Druckes und eine Abnahme des Herzminutenvolumens¹⁵⁶. Der Eingriff ist technisch vergleichsweise einfach, da aufgrund des arteriellen Zugangs keine Thorakotomie erforderlich ist²⁰³. Allerdings kann das Ausmaß der Klappeninsuffizienz und des Blutrückflusses nicht exakt bestimmt werden, so dass zu schwere Defekte zu einer hohen Mortalität unter den operierten Tieren führen können¹⁵⁶.

3 Material und Methoden

Die vorliegende Arbeit basiert auf den Ergebnissen einer explorativen, prospektiven, negativ kontrollierten, randomisierten und verblindeten Laborstudie, die die Sicherheit und Verträglichkeit des β_1 -selektiven Adrenozeptorblockers Bisoprolol in Hunden mit pacinginduzierter Herzinsuffizienz untersuchte. Das Studienprotokoll wurde durch das Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC) des durchführenden Labors auf seine Übereinstimmung mit den geltenden Gesetzen und Regularien überprüft und genehmigt. Die Durchführung erfolgte unter Beachtung und Einhaltung der Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis. Im Folgenden werden der Studienaufbau, die eingesetzten Versuchstiere, die durchgeführten Eingriffe und Untersuchungen sowie die statistische Auswertung der Ergebnisse beschrieben.

3.1 Studiendesign und –ablauf

Aus organisatorischen Gründen wurde die Studie in drei aufeinander folgenden, vom Ablauf her identischen Abschnitten mit jeweils sechs Tieren durchgeführt. Es bestanden drei parallele Behandlungsgruppen, denen in jedem Studienabschnitt durch Randomisierung je zwei Tiere zugeordnet wurden.

Bis auf die Person, die für die Randomisierung und Behandlung der Tiere verantwortlich war, blieb die Zuordnung der einzelnen Tiere zu den Behandlungsgruppen allen an der Durchführung der Studie beteiligten Personen unbekannt.

3.1.1 Eingewöhnungs- und Induktionsphase

Nach der Lieferung der Tiere an das Labor wurde während der mindestens einwöchigen Eingewöhnungsphase damit begonnen, die Hunde an das Stehen in einer hängemattenartigen Haltevorrichtung (Alice King Chatham Medical Arts Inc., Los Angeles, California, USA) zu gewöhnen (Abbildung 3.1). An vier aufeinander folgenden Tagen wurde dabei die Zeit, die die Tiere ununterbrochen in der Hängematte verbrachten, auf 45 Minuten gesteigert.

Abbildung 3.1: Hund in der Hängematte



Vor der Implantation des Herzschrittmachers fand eine allgemein klinische und speziell kardiologische Untersuchung aller Hunde statt, um mögliche Erkrankungen vor allem des Herz-Kreislauf-Apparates auszuschließen. Im Anschluss an die Auskultation der Tiere wurde der arterielle Blutdruck gemessen, ein Elektrokardiogramm erstellt und eine echokardiographische Untersuchung durchgeführt. Zusätzlich wurden Blut- und Kotproben entnommen und zur Untersuchung an ein Labor geschickt. Nachdem die Voruntersuchungen abgeschlossen waren und kein Hinweis auf eine Erkrankung der Hunde bestand, wurde diesen unter Inhalationsnarkose ein Herzschrittmacher eingesetzt.

An die Operation schloss sich eine zweiwöchige Erholungsphase an, bevor mit dem zwölfwöchigen Protokoll zur Induktion der Herzinsuffizienz begonnen wurde. Während der Induktionsphase erfolgte die Einstellung der Frequenz des Herzschrittmachers gemäß dem in Tabelle 3.1 erläuterten Schema.

Tabelle 3.1: Angestrebte Herzfrequenzen während der Induktionsphase

Woche in der Induktionsphase	Herzfrequenz (Schläge/min)
1. – 3.	180
4. – 6.	200
7. – 9.	220
9. – 12.	160 – 180

Nach Abschluss der zwölf Wochen zur Induktion der Herzinsuffizienz wurde die zuletzt eingestellte Frequenz des Herzschrittmachers während der gesamten Studiendauer aufrechterhalten.

Vor der ersten Aktivierung des Schrittmachers sowie am Ende der 6. und der 9. Induktionswoche wurden die Tiere - immer in der gleichen Reihenfolge - nach einem gleich bleibenden Schema untersucht. Zunächst erfolgten die Aufzeichnung eines Elektrokardiogramms und die Messung des arteriellen Blutdrucks, gefolgt von einer echokardiographischen Untersuchung und der Entnahme einer Blutprobe. Für die Messungen wurde der Herzschrittmacher mindestens 15 Minuten vor Beginn der Untersuchungen ausgeschaltet.

Bedingung für die Reduktion der Pacingfrequenz von 220 auf 180 Schläge/min am Ende der 9. Induktionswoche war eine Reduktion der linksventrikulären Verkürzungsfraktion (LVFS) im Vergleich zum Wert vor Beginn des Pacings um absolut 15%. Wenn zum Beispiel ein Hund vor der ersten Aktivierung des Herzschrittmachers eine LVFS von 40% besaß, so wurde die Schrittmacherfrequenz nur dann reduziert, wenn die LVFS auf 25% oder weniger gesunken war.

In Fällen, in denen die Tiere klinische Symptome einer Herzinsuffizienz wie Husten oder Aszites zeigten, wurde nach Konsultation und mit Einverständnis des zuständigen Veterinärkardiologen die Frequenz des Herzschrittmachers reduziert.

3.1.2 Behandlungsphase

Im Anschluss an die zwölfwöchige Induktionsphase wurden die Hunde vor der ersten Applikation untersucht und randomisiert. Bedingung für den Eintritt in die

Behandlungsphase war die Reduktion der LVFS um absolut 15% zu Beginn der Behandlungsphase im Vergleich zum Wert vor Beginn des Pacings.

Für die Randomisierung wurden die Tiere entsprechend ihrer LVFS aufsteigend sortiert und in zwei Blöcke zu je drei Hunden aufgeteilt. Aus jedem Block wurde durch Würfeln je ein Hund den drei Behandlungsgruppen zugeordnet.

Im Folgenden wurden alle Tiere für mindestens fünf Wochen einmal täglich oral mit einer Bisoprolol- bzw. einer Placeboformulierung behandelt, wobei die Dosierung des Bisoprolols nach jeweils einer Woche erhöht wurde. Gruppe 1 wurde nach einem konservativen Titrationsprotokoll behandelt, Gruppe 2 nach einem aggressiven Protokoll, und die Hunde der Gruppe 3 erhielten die Placeboformulierung. Die unterschiedlichen Titrationsprotokolle verdeutlicht die folgende Tabelle (Tabelle 3.2)

Tabelle 3.2: Bisoprolol-Titrationsprotokolle in den drei Behandlungsgruppen

Woche der Behandlungsphase	Konservative Titration (mg/kg KGW)	Aggressive Titration (mg/kg KGW)	Placebo (mg/kg KGW)
1.	0,005	0,01	0
2.	0,01	0,05	0
3.	0,03	0,1	0
4.	0,05	0,5	0
5.	0,1	1,0	0

Nach der 5. Behandlungswoche wurde die Dosierung nicht weiter gesteigert, sondern bis zum Ende der Studie beibehalten.

Die Hunde erhielten begleitend zu der Bisoprolol- bzw. Placeboformulierung einmal täglich oral Furosemid (4 mg/kg KGW), Enalapril (0,5 mg/kg KGW) und Digoxin (0,003 mg/kg KGW). Zwischen der Applikation der Bisoprolol- bzw. Placeboformulierung und der nachfolgenden Gabe der Begleitmedikamente lag ein zeitlicher Abstand von 15 bis 30 Minuten.

Vor der ersten Behandlung und im Folgenden jeweils am 7. Tag jeder Behandlungswoche wurden *prae applicationem* und zwei Stunden *post applicationem* an den Hunden folgende Untersuchungen durchgeführt:

- Arterielle Blutdruckmessung
- Elektrokardiographie
- Echokardiographie
- Blutprobenentnahme zur hämatologischen und klinisch-chemischen Untersuchung sowie zur Bestimmung des Nt-proBNP- und Bisoprololgehaltes im Plasma bzw. Serum

Mindestens 15 Minuten vor Beginn der Messungen wurde der Herzschrittmacher deaktiviert und der Hund in die Hängematte gesetzt.

Nach den abschließenden Untersuchungen am 7. Tag der 5. Behandlungswoche wurde die Reihenfolge der Hunde für die intrakardiale Druckmessung durch Randomisierung festgelegt. Das erste Tier wurde in Narkose gelegt, ein Katheter in den linken Ventrikel vorgeschoben und nach einer 15-minütigen Wartezeit eine intrakardiale Druckmessung vorgenommen. Die Druckmessungen bei den verbleibenden Hunden erfolgten im Abstand von jeweils mindestens zwei Tagen in den folgenden Wochen. Während dieser Zeit wurde die Begleitmedikation wie zuvor beibehalten und die Dosierung des Bisoprolols nicht weiter erhöht. Der längste Zeitraum zwischen der intrakardialen Untersuchung des ersten und des letzten Hundes eines Studienabschnittes betrug 21 Tage.

3.2 Substanzen

3.2.1 Bisoprololformulierung

Die Hunde wurden mit einer Formulierung von Bisoprololhemifumarat, hergestellt durch die Bayer HealthCare AG (BHC-AH-RD Formulation Technology, 53168 Leverkusen), behandelt. Die Stabilität der Formulierung und deren Wirkstoffgehalt wurden nach Abschluss der Studie analytisch (BHC-AH-RD Analytics, 51368 Leverkusen) bestätigt.

3.2.2 Placeboformulierung

Die Placeboformulierung wurde ebenfalls durch die Bayer HealthCare AG (BHC-AH-RD Formulation Technology, 53168 Leverkusen) hergestellt. Sie wies die gleiche Zusammensetzung wie die Bisoprololformulierung auf, enthielt jedoch keinen Wirkstoff.

3.2.3 Begleitmedikation

Die Behandlung der Hunde mit der Bisoprololformulierung bzw. der Placeboformulierung fand zusätzlich zu einer bei kongestiver Herzinsuffizienz allgemein anerkannten Standardtherapie statt. Diese bestand aus einem Diuretikum, einem ACE-Hemmer und einem positiv inotrop wirkenden Medikament. Folgende Produkte wurden verwendet:

- Enacard[®], 5 mg Tablets for dogs (Wirkstoff: Enalapril maleat; von Merial Ltd., Duluth, Georgia, USA)
- Furosemide Tablets USP, 40 mg (Excellium Pharmaceutical Inc., Fairfield, New Jersey, USA)
- Digoxin Elixir USP 0,05 mg/mL (Roxane Laboratories Inc., Columbus, Ohio, USA)

3.3 Versuchstiere, Haltung und Fütterung

In der Studie wurden 18 männliche zu Forschungszwecken gezüchtete Hunde der Rasse Beagle (bezogen von Robert A. Perry, 10228 Nioga Troops Rd., Mt. Sterling, Ohio 43143, USA) eingesetzt. Die Tiere waren zu Versuchsbeginn zwischen 16 und 36 Monate alt und besaßen vor Beginn der Induktionsphase ein Körpergewicht von 10,0 bis 15,8 kg (Median: 11,6 kg). Alle Hunde waren regelmäßig geimpft worden und wurden vor Beginn der Studie entwurmt.

Nach der Lieferung wurde jedem Hund mittels eines Kettenhalsbandes mit Identifikationsplakette eine individuelle Nummer zugeordnet. Zur Implantation des Herzschrittmachers und während der Erholungsphase im Anschluss an die Operation, in der die Tiere aufgrund des Verbandes das Halsband nicht tragen konnten, wurden sie mit einem Permanentmarker auf dem rechten Oberschenkel

mit ihrer Identifikationsnummer gekennzeichnet. Nach Abheilung der Operationswunden wurde den Tieren das Halsband mit der entsprechenden Plakette wieder angelegt und bis zum Ende der Studie nicht wieder entfernt.

Die Haltung der Hunde erfolgte einzeln in Stahlkäfigen von 1 qm Grundfläche und 1 m Höhe. Die Lichtverhältnisse im Stall waren einem 12-Stunden-Rhythmus angepasst und künstliches Licht wurde von 6:00 Uhr bis 18:00 Uhr erzeugt. Die Raumtemperatur wurde mittels einer Klimaanlage zwischen 19°C und 25°C gehalten.

Die Hunde wurden einmal täglich mit Trockenfutter (Harlan Teklad Certified Diet von Harlan Teklad, Madison, Wisconsin, USA) bedarfsgerecht gefüttert. Während der Behandlungsphasen fand die Fütterung drei bis vier Stunden nach Applikation der Bisoprolol- bzw. der Placeboformulierung statt. Vor der Futtergabe wurde das Gewicht des Futters ermittelt und dokumentiert. Am folgenden Tag wurden nicht konsumierte Reste zurückgewogen.

Trinkwasser stand den Tieren in Näpfen jederzeit *ad libitum* zur Verfügung.

Zur Überwachung des generellen Gesundheitszustandes wurden die Tiere einmal wöchentlich gewogen und täglich im Zuge der Reinigung der Käfige beobachtet.

3.4 Implantation des Herzschrittmachers

Die Implantation des Herzschrittmachers erfolgte unter Inhalationsnarkose. Die Narkose wurde in den nüchternen Hunden durch intravenöse Gabe von 10 mg/kg KGW Ketamin (Ketaset[®], Fort Dodge, Madison, New Jersey, USA) und 1 mg/kg KGW Diazepam (Diazepam Injection USP, 5 mg/mL, Hospira, Inc. Lake Forrest, Illinois, USA) eingeleitet und mit 1,5% – 2,0% Isofluran (Attane[™], RxElite, Boise, Idaho, USA) in 100% Sauerstoff aufrecht erhalten. Zur Vorbereitung des Operations-Feldes wurden die Tiere in die linke Seitenlage verbracht und der rechte Hals sowie die rechte Brustwand großflächig geschoren, gereinigt und desinfiziert. Die Überwachung der Tiere während des Eingriffs geschah mittels Elektrokardiogramm.

Parallel und oberhalb der rechten *V. jugularis* wurde die Haut mit dem Skalpell auf einer Länge von ca. 3 cm durchtrennt, um anschließend die *V. jugularis* stumpf frei zu präparieren und auf der kranialen Seite zu ligieren (Faden: 3-0 PDS II, Ethicon Inc., Piscataway, New Jersey, USA). Distal der Ligatur wurde die Vene durch

einen kurzen Querschnitt eröffnet, durch den die Elektrode (CapSure SP novus 4092, 58 cm, Medtronic, Minneapolis, Minnesota, USA) des Schrittmachers in das Gefäß eingeführt wurde. Unter fluoroskopischer Sichtkontrolle (Philips BV25, Digital Scopofix, Philips Medical Systems, Best, Niederlande) wurde die Elektrode bis in den rechten Ventrikel vorgeschoben und dort möglichst dicht an der Ventrikelspitze verankert. Daraufhin fand die Fixation an der Eintrittsstelle in die Vene mit einem Faden 3-0 PDS II (Ethicon Inc., Piscataway, New Jersey, USA) statt.

Etwa 3 cm dorsal und parallel zu der ersten Schnittstelle wurde eine zweite, ca. 5 cm lange Inzision gesetzt. Die umliegende Haut wurde zunächst nach distal unterminiert, um die Elektrode aus der unteren in die obere Inzision zu führen, und anschließend nach dorsal, um eine Unterhauttasche für den Pulsgenerator (Medtronic Kappa KSR903 und KSR901, Medtronic, Minneapolis, Minnesota, USA) zu schaffen. Nach Verbindung der Elektrode mit dem Pulsgenerator wurde der Schrittmacher mit Hilfe des EKG auf seine Funktionsfähigkeit überprüft, bevor er in die Tasche eingepasst und das Gewebe darüber vernäht wurde (2-0 PDS II, Ethicon Inc., Piscataway, New Jersey, USA). Der Verschluss der Operationswunden erfolgte in mehreren Schichten ebenfalls mit 2-0 PDS II Faden (Ethicon Inc., Piscataway, New Jersey, USA).

Die Tiere wurden einmalig vor Beginn der Operation subkutan mit 20 mg/kg KGW Cefazolin (Sandoz Pharmaceuticals Inc., Princeton, New Jersey, USA) und danach oral zweimal täglich für fünf Tage mit 50 mg/kg KGW Cefalexin (500 mg Kapseln, Ranbaxy Pharmaceuticals Inc., Princeton, New Jersey, USA) antibiotisch behandelt. Als Schmerzprophylaxe wurde ihnen einmalig am Ende der Operation 0,3 mg Buprenorphine (Hospira, Inc. Lake Forrest, Illinois, USA) intramuskulär injiziert.

3.5 Untersuchungen

3.5.1 Blutdruck

Die Messungen des systolischen, diastolischen und mittleren arteriellen Blutdrucks wurden an den in der Hängematte stehenden Hunden durchgeführt. Sie erfolgten mit Hilfe eines indirekten Blutdruckmessgerätes (VetBP 6000; Sensor Devices Inc., Waukesha, Wisconsin, USA), dessen Messmanschette (Critikon Neonatal

Blood Pressure Cuffs; GE Medical Systems, Waukesha, Wisconsin USA) um den geschorenen Schwanzansatz befestigt wurde. Zu jedem Messzeitpunkt wurden drei einzelne Messungen durchgeführt, dokumentiert und daraus später der arithmetische Mittelwert gebildet.

3.5.2 Elektrokardiogramm

Die elektrokardiographischen Parameter wurden mit dem System Iox von Emka-Technologies (Falls Church, Virginia, USA) erfasst und mit Hilfe des ecg-auto Softwareprogrammes (Emka-Technologies, Falls Church, Virginia, USA) analysiert. Drei Elektroden (Red Dot™ 2560; 3M™, St. Paul, Minnesota, USA) wurden auf den in der Hängematte stehenden Hunden so platziert, dass die zweite Ableitung nach Einthoven abgeleitet wurde. Diese Ableitung wurde mindestens eine Minute lang aufgezeichnet und im System für die spätere Auswertung gespeichert.

Bei der Analyse wurden folgende Parameter ermittelt:

- PQ-Intervall = Zeit vom Beginn der P-Welle bis zum Beginn des QRS-Komplexes
- Zeitdauer des QRS-Komplexes
- Zeitdauer des RR-Intervalls und daraus errechnet die Herzfrequenz
- QT-Intervall = Zeit vom Beginn des QRS-Komplexes bis zum Ende der T-Welle
- QTcF = um die Herzfrequenz korrigiertes QT-Intervall nach der Formel von Fridericia⁹¹: $QT / \sqrt[3]{RR}$

Ausgewertet wurden dafür die Komplexe des EKG Signals für die Zeitdauer von einer Minute und aus den erhaltenen Ergebnissen der arithmetische Mittelwert gebildet. Phasen starken Rauschens, abnormale Komplexe und der jeweils darauf folgende Komplex wurden nicht berücksichtigt.

3.5.3 Echokardiogramm

Die echokardiographische Untersuchung (Gerät: Biosound Esaote MegasES; Biosound Esaote, Indianapolis, Indiana, USA; Software: Archive Management

Release, ADV3) der Hunde erfolgte in rechter Seitenlage und gemäß den Empfehlungen der American Society of Echocardiography²⁶⁵. Mit einem 5 MHz Schallkopf erfolgte zunächst im B-Mode Verfahren eine Darstellung der rechten parasternalen Kurzachse des Herzens auf Höhe der Papillarmuskelspitzen. Anschließend wurde in dieser Ansicht eine senkrechte Schnittlinie durch den linken Ventrikel gelegt und im M-Mode Verfahren dargestellt. Parallel dazu wurde am unteren Bildschirmrand das EKG Signal des Tieres aufgezeichnet.

In der M-Mode Ansicht wurde der innere Durchmesser des linken Ventrikels am Ende der Diastole und am Ende der Systole (LVIDd bzw. LVIDs) ermittelt. Zu jedem Messzeitpunkt wurden für beide Parameter drei einzelne Messungen durchgeführt und daraus der arithmetische Mittelwert gebildet. Die enddiastolischen Messungen erfolgten zu Beginn des QRS-Komplexes und die endsystolischen bei maximaler Abwärtsbewegung des Kammerseptums.

3.5.4 Blutuntersuchungen

Die insgesamt benötigte Menge Blut wurde mit Hilfe steriler Einwegkanülen der Größe 18 Gauge und einer 10 mL Einmalspritze (beides BD, Franklin Lakes, New Jersey, USA) aus der linken *V. jugularis* der Hunde gewonnen und danach auf verschiedene Blutsammelsysteme (siehe folgende Abschnitte) verteilt.

3.5.4.1 Hämatologie und klinisch-chemische Blutuntersuchung

Für die Erstellung des roten Blutbildes und des Differentialblutbildes wurde 1 mL des gewonnenen Blutes in einen EDTA Vacutainer (BD, Franklin Lakes, New Jersey, USA) überführt, vorsichtig geschwenkt und bis zum Transport auf Eis gelagert. Weitere 2 mL Blut wurden für die klinisch-chemische Blutuntersuchung in ein Serum Röhrchen (BD, Franklin Lakes, New Jersey, USA) gegeben. Die Analyse der Proben wurde durchgeführt durch IDEXX Laboratories (300 East Wilson Bridge Road, Worthington, Ohio 43085, USA).

Im Rahmen der hämatologischen Blutuntersuchung wurden folgende Parameter bestimmt: Gesamtleukozytenzahl (WBC), Anzahl der eosinophilen, basophilen und neutrophilen Granulozyten, Monozytenzahl, Erythrozytenzahl, Thrombozytenzahl, Lymphozytenzahl, Hämatokrit, Hämoglobingehalt, mittlerer Hämoglobingehalt der

Einzelerythrozyten (MCH), mittleres Erythrozytenvolumen (MCV) und mittlere Hämoglobinkonzentration der Erythrozyten (MCHC).

Die untersuchten Parameter der klinisch-chemischen Blutuntersuchung waren: Gesamtprotein, Gesamtbilirubin, Kreatinin, Glucose, Alanin-Amino-Transferase (ALT), Aspartat-Amino-Transferase (AST), Alkalische Phosphatase (AP), Calcium, Phosphor, Chlorid, Kalium und Natrium.

3.5.4.2 Nt-proBNP

Für die Bestimmung der Konzentration von Nt-proBNP im Plasma wurden 3 mL des gewonnenen Vollblutes in 5 mL EDTA Plasma Röhrchen (BD, Franklin Lakes, New Jersey, USA) gegeben, die zuvor mit 0,2 mL Aprotinin (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, Missouri, USA) vorbereitet worden waren. Die Proben wurden vorsichtig geschwenkt, auf Eis gelagert und innerhalb von 30 Minuten zentrifugiert (10 Minuten, 2500 rpm, 5 °C). Das gewonnene Plasma wurde in 2,5 mL Polypropylen Probengefäße (Fisher Scientific Equipment, Philadelphia, Pennsylvania, USA) pipettiert und bis zum Versand bei -80 °C gelagert. Die Untersuchung auf den Nt-proBNP Gehalt der Proben erfolgte durch das Labor Cardiac Biomarker and Cardiovascular Sciences Laboratory (College of Veterinary Medicine, University of Illinois, Urbana, Illinois, USA). Bei dem verwendeten Messverfahren handelte es sich um einen hundespezifischen enzymgekoppelten Immunadsorptionstest (VETSIGN™ Canine CardioScreen Nt-proBNP; Guildhay Ltd., Guildford, Surrey, England) für die quantitative Messung immunreaktiven Nt-proBNPs in Serum oder Plasma.

3.5.4.3 Pharmakokinetik

3 mL des gewonnenen Vollblutes wurden in ein Serum Röhrchen (BD, Franklin Lakes, New Jersey, USA) überführt und innerhalb von 30 Minuten zentrifugiert (10 Minuten, 1500 G, 4 °C). Der Serumüberstand von ca. 1,5 mL wurde in ein 2,5 mL Polypropylen Probengefäß (Fisher Scientific Equipment, Philadelphia, Pennsylvania, USA) pipettiert und bei -80 °C bis zur Versendung gelagert. Die Analyse auf den Bisoprololgehalt des Serums wurde durchgeführt durch das Labor Dr. R. Krebber, (Bayer CropScience AG, Residues, Operator and Consumer Safety, 40789 Monheim, Deutschland).

3.5.5 Intrakardiale Druckmessung

Die intrakardiale Druckmessung fand jeweils zwei bis drei Stunden nach der Behandlung des jeweiligen Tieres statt. Sie erfolgte unter Inhalationsnarkose mit Hilfe eines Mikromanometer-Katheters.

Die Narkose wurde durch die langsame, intravenöse Injektion von Morphin (1,5 mg/kg KGW) eingeleitet und nach Intubation mit 1,5 bis 2% Isofluran (Attane™, RxElite, Boise, Idaho, USA) in 100% Sauerstoff aufrechterhalten. Für die Einführung des Katheters wurde auf der linken Halsseite die Haut ventral und parallel zur *V. jugularis* auf einer Länge von 4 bis 5 cm durchtrennt und die *A. carotis* stumpf frei präpariert. Es folgte die proximale Ligation des Gefäßes und seine Eröffnung durch einen kleinen Querschnitt distal der Ligatur. Anschließend wurde ein Millar Micro-Tip Catheter® Pressure Transducer der Stärke 5F (Millar Instruments, Houston, Texas, USA) in die Arterie eingeführt. Dieser war unter Zwischenschaltung einer Kontrolleinheit (Modell TC-510, Millar Instruments, Houston, Texas, USA) an den Computer angeschlossen, in dem die Signale mit Hilfe des Systems Iox von Emka Technologies (Falls Church, Virginia, USA) aufgezeichnet und mit dem ecg auto Softwareprogramm (Emka Technologies, Falls Church, Virginia, USA) weiterverarbeitet wurden.

Der Katheter wurde unter Kontrolle der Druckkurve auf dem Computerbildschirm bis in den linken Ventrikel vorgeschoben und nach Erlangung der richtigen Position distal der Eintrittsstelle in das Gefäß fixiert. Nach 15-minütiger Wartezeit, in der sich die Druckverhältnisse nach der chirurgischen Manipulation stabilisieren sollten, wurden für eine Minute die Messergebnisse elektronisch aufgezeichnet und gespeichert.

Folgende Parameter wurden ermittelt:

- Enddiastolischer linksventrikulärer Druck (LVEDP)
- Maximale Druckerhöhungsgeschwindigkeit (dP/dt max)
- Maximale Druckabfallsgeschwindigkeit (dP/dt min)
- Herzfrequenz

3.6 Statistik

Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte mit Hilfe des Softwareprogrammes SAS[®] System für Windows (Version 8.2, SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA). Die Überprüfung auf Normalverteilung der Daten erfolgte mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests.

Für die Auswertung der Induktionsphase wurden die Einzelergebnisse aller 18 Hunde pro Messzeitpunkt zu einem arithmetischen Mittelwert zusammengefasst und zu diesem der Standardfehler errechnet. Die Ergebnisse der Messungen vor Beginn und am Ende der Induktionsphase wurden mittels eines t-Testes für verbundene Stichproben miteinander verglichen.

Im Fall der Behandlungsphase wurden ebenfalls die Einzelergebnisse der Tiere pro Messzeitpunkt entsprechend ihrer Behandlungsgruppen zu arithmetischen Gruppenmittelwerten zusammengefasst und zu den Mittelwerten jeweils der Standardfehler errechnet. Für die Serumkonzentration von Bisoprolol wurde zusätzlich der Variationskoeffizient für beide mit Bisoprolol behandelten Gruppen errechnet.

Die elektro- und echokardiographisch ermittelten Parameter, die Blutdruckparameter, der Gehalt von Nt-proBNP im Plasma, sowie das Körpergewicht der Tiere wurden mittels einer zweifaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) für wiederholte Messungen mit den festen Faktoren ‚Gruppe‘ und ‚Messzeitpunkt‘, sowie dem Wechselwirkungseffekt ‚Gruppe x Messzeitpunkt‘ analysiert. Weiterführend wurde jeder Messzeitpunkt separat mittels einer einfaktoriellen ANOVA mit dem festen Faktor ‚Gruppe‘ (F-Test) und anschließenden multiplen Mittelwertsvergleichen (t-test Methode) auf Unterschiede zwischen den einzelnen Behandlungsgruppen hin getestet. Die Analysen erfolgten getrennt für die Werte der Messungen *prae applicationem* und 2 Stunden *post applicationem*.

Die Ergebnisse der intrakardialen Druckmessungen im linken Ventrikel wurden mittels einer einfaktoriellen ANOVA mit dem festen Faktor ‚Gruppe‘ (F-Test) und anschließenden multiplen Mittelwertsvergleichen (t-Test-Methode) auf Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen hin untersucht.

Alle Ergebnisse der statistischen Analyse sind im explorativen Sinne zu interpretieren.

4 Ergebnisse

4.1 Induktionsphase

4.1.1 Implantation der Herzschrittmacher

Die Eingriffe zur Implantation der Herzschrittmacher verliefen bei den 18 in der vorliegenden Studie eingesetzten Hunden ohne nennenswerte Komplikationen. Bei den Operationen für den 1. Studienabschnitt war bei einem Hund auf der rechten Halsseite keine *V. jugularis* auffindbar; bei diesem Tier wurde die Herzschrittmacherelektrode von der linken *V. jugularis* in den rechten Ventrikel vorgeschoben und der Pulsgenerator auf der linken Halsseite implantiert.

Die Abheilung der Operationswunden während der zweiwöchigen Erholungsphase im Anschluss an den Eingriff verlief bei allen Tieren ohne Probleme.

4.1.2 Entwicklung der Herzinsuffizienz

Vier Hunde entwickelten während der letzten drei Wochen der Induktionsphase infolge der Herzinsuffizienz einen trockenen Husten, woraufhin bei ihnen die Pacingfrequenz von 180 Schläge/min auf 160 Schläge/min herabgesetzt wurde. Nach Reduktion der artifiziellen Tachykardie verschwanden die klinischen Symptome innerhalb weniger Tage. Aufgrund eines hochgradigen Aszites in der 9. Woche der Induktionsphase wurde die Herzfrequenz bei einem weiteren Hund auf 140 Schläge/min reduziert, wodurch auch bei diesem Tier ein symptomfreier Zustand wiederhergestellt werden konnte. Alle weiteren Tiere zeigten während der Induktionsphase trotz der offensichtlich reduzierten linksventrikulären Verkürzungsfraktion (LVFS) keine klinischen Symptome einer Herzinsuffizienz.

Die Entwicklung einer Herzinsuffizienz während der zwölfwöchigen Induktionsphase war in dieser Studie definiert als eine absolute Abnahme der LVFS um mindestens 15%. Bereits in den ersten sechs Wochen nach Beginn des Pacings nahm die LVFS bei allen Hunden deutlich ab. Nach Reduktion der Pacingfrequenz am Ende der 9. Induktionswoche konnte bei 11 von 18 Tieren eine geringgradige Zunahme der LVFS festgestellt werden. Im Mittel sank die LVFS aller Tiere um $19,7 \pm 1,7\%$ von $32,5 \pm 1,0\%$ zu Beginn der Induktionsphase auf $12,8 \pm 1,2\%$ an deren Ende (Tabelle 4.1).

Am Ende der Induktionsphase des 2. und des 3. Studienabschnittes erfüllten je zwei Hunde das Kriterium einer absoluten Reduktion der LVFS um 15% nicht. Bei drei der vier Tiere war ein Wiederanstieg der LVFS während der letzten drei Induktionswochen dafür verantwortlich. Beim vierten Hund wurde trotz zwölfwöchigen tachykarden Pacings keine absolute Reduktion um 15% erreicht. Da eine Verlängerung der Induktionsphase mit einem späterem Beginn der Behandlungsphase verbunden und organisatorisch sehr aufwendig gewesen wäre, wurden die Hunde trotz der Abweichung vom Studienprotokoll in die Studie aufgenommen und parallel mit den anderen Hunden behandelt. Bedingt durch die Randomisierung waren die vier Tiere, die das Einschlusskriterium nicht vollständig erfüllt hatten, wie folgt auf die Studiengruppen verteilt: zwei Tiere wurden der konservativ zu behandelnden Gruppe zugeordnet und zwei Tiere der Placebogruppe.

Tabelle 4.1 listet die Entwicklung der untersuchten Parameter in der Gesamtpopulation (N=18) während der Induktionsphase auf. Weiterhin werden die Ergebnisse (p-Werte) des 2-seitigen t-Testes angegeben, mit dem die arithmetischen Mittelwerte der Messungen vor Beginn und am Ende der Induktionsphase verglichen wurden.

Tabelle 4.1: Entwicklung der Parameter während der Induktionsphase in der Gesamtpopulation (MW \pm SEM, N=18) und p-Werte des t-Testes für verbundene Stichproben (Vergleich der Messungen „Start Pacing“ und „12. Woche“)

Parameter	Start Pacing	6. Woche	9. Woche	12. Woche	p-Wert (2-seitig)
Körpergewicht (kg)	11,8 \pm 0,4	11,5 \pm 0,3	11,6 \pm 0,3	11,2 \pm 0,3	< 0,001
HF (Schläge/min)	118 \pm 5	129 \pm 5	132 \pm 7	135 \pm 7	0,004
PQ-Intervall (msec)	91 \pm 3	92 \pm 3	93 \pm 3	91 \pm 3	0,873
QRS-Komplex (msec)	41 \pm 1	41 \pm 1	43 \pm 1	45 \pm 1	0,010
QTcF (msec korrigiert)	244 \pm 3	250 \pm 3	251 \pm 3	251 \pm 3	0,029
LVIDd (cm)	3,27 \pm 0,06	3,95 \pm 0,10	4,08 \pm 0,10	4,18 \pm 0,10	< 0,001
LVIDs (cm)	2,20 \pm 0,05	3,45 \pm 0,10	3,62 \pm 0,11	3,66 \pm 0,12	< 0,001
LVFS (%)	32,5 \pm 1,0	13,2 \pm 0,9	11,2 \pm 1,0	12,8 \pm 1,2	< 0,001
SBP (mmHg)	139 \pm 4	119 \pm 4	122 \pm 4	129 \pm 4	0,093
DBP (mmHg)	77 \pm 4	70 \pm 3	68 \pm 4	76 \pm 4	0,708
MAP (mmHg)	99 \pm 4	85 \pm 4	88 \pm 4	92 \pm 3	0,190
Nt-proBNP (pmol/L)	244 \pm 88	1622 \pm 176	1885 \pm 214	1707 \pm 224	< 0,001

HF = Herzfrequenz; QTcF = nach Fridericia korrigiertes QT-Intervall, LVIDd = linksventrikulärer enddiastolischer Durchmesser; LVIDs = linksventrikulärer endsystolischer Durchmesser; LVFS = linksventrikuläre Verkürzungsfraction; SBP = systolischer Blutdruck; DBP = diastolischer Blutdruck; MAP = mittlerer arterieller Blutdruck

Statistisch bedeutende Veränderungen während der Induktionsphase ergaben sich neben der bereits beschriebenen LVFS für folgende Parameter: Körpergewicht, Herzfrequenz, QRS-Komplex, korrigiertes QT-Intervall (QTcF), linksventrikulärer enddiastolischer und endsystolischer Durchmesser und Plasmagehalt von Nt-proBNP (Tabelle 4.1).

Das mittlere Körpergewicht aller Hunde reduzierte sich während der Induktionsphase um $0,7 \pm 0,2$ kg von $11,8 \pm 0,4$ kg auf $11,2 \pm 0,3$ kg. Die durchschnittliche Herzfrequenz der Hunde, gemessen während der temporären Deaktivierung des Herzschrittmachers, stieg durch das Pacing deutlich um 17 ± 5 Schläge/min von 118 ± 5 Schläge/min zu Beginn der Induktionsphase auf 135 ± 7 Schläge/min am Ende der Induktionsphase. Die Dauer des

QRS-Komplexes verlängerte sich in diesem Zeitraum um 4 ± 1 msec von 41 ± 1 msec auf 45 ± 1 msec und die des korrigierten QT-Intervalles (QTcF) um 7 ± 3 msec von 244 ± 3 msec auf 251 ± 3 msec.

Das tachykarde Pacing der Hunde verursachte eine Vergrößerung des linken Ventrikels, die sich in einer Zunahme des linksventrikulären Durchmessers während der Induktionsphase zeigte. In den enddiastolischen Messungen vergrößerte sich der Durchmesser um $0,92 \pm 0,08$ cm von $3,27 \pm 0,06$ cm auf $4,18 \pm 0,10$ cm und in den endsystolischen Messungen um $1,46 \pm 0,11$ cm von $2,20 \pm 0,05$ cm auf $3,66 \pm 0,12$ cm. Des Weiteren stieg im Verlauf der Induktionsphase der Gehalt von Nt-proBNP im Plasma der Tiere deutlich um 1463 ± 209 pmol/L von 244 ± 88 pmol/L auf 1707 ± 224 pmol/L an.

Die beschriebenen Veränderungen der Parameter erfolgten vor allem während der ersten sechs Wochen nach der Aktivierung des Herzschrittmachers. Eine Ausnahme hiervon bildete die Zunahme der Dauer des QRS-Komplexes, die in der zweiten Hälfte der Induktionsphase stattfand.

Die Parameter der hämatologischen Blutuntersuchung (Gesamtleukozytenzahl (WBC)), Anzahl der eosinophilen, basophilen und neutrophilen Granulozyten, Monozytenzahl, Erythrozytenzahl, Thrombozytenzahl, Lymphozytenzahl, Hämatokrit, Hämoglobingehalt, mittlerer Hämoglobingehalt der Einzelerythrozyten (MCH), mittleres Erythrozytenvolumen (MCV) und mittlere Hämoglobinkonzentration der Erythrozyten (MCHC)) und der klinisch-chemischen Blutuntersuchung (Gesamtprotein, Gesamtbilirubin, Kreatinin, Glucose, Alanin-Amino-Transferase (ALT), Aspartat-Amino-Transferase (AST), Alkalische Phosphatase (AP), Calcium, Phosphor, Chlorid, Kalium und Natrium) veränderten sich während der Induktionsphase bei den Hunden nicht.

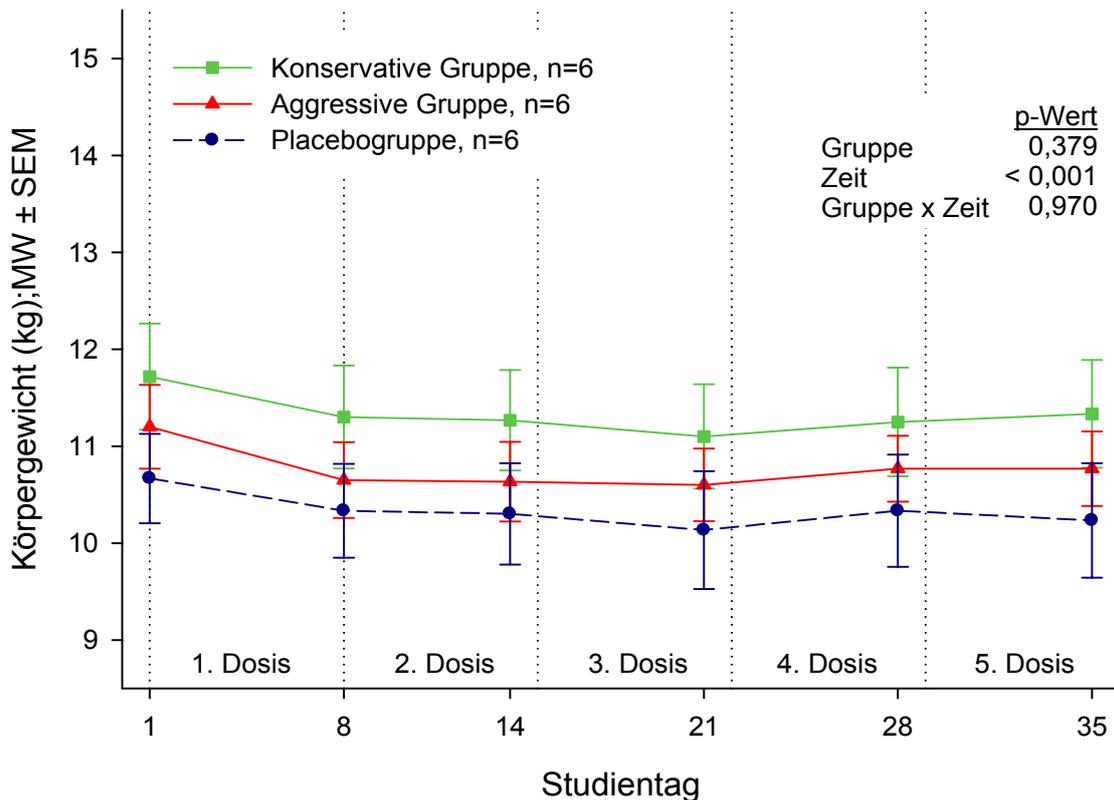
4.2 Behandlungsphase

4.2.1 Klinische Symptome und Körpergewicht

Während der Behandlungsphase zeigte keiner der Hunde klinische Symptome einer kongestiven Herzinsuffizienz. Des Weiteren waren keine Beeinträchtigungen des Allgemeinbefindens und mit Ausnahme weniger Vorfälle keine Reaktionen in Zusammenhang mit der Verabreichung der Studienmedikation feststellbar. Ein Hund zeigte einmalig Erbrechen ca. 15 Minuten nach Applikation der Begleitmedikamente und ein weiteres Tier ca. 2,5 Stunden nach der Verabreichung von Bisoprolol.

Die Messergebnisse des Körpergewichts sind getrennt für die drei Behandlungsgruppen in folgender Abbildung dargestellt und in Tabelle 4.2 wiedergegeben.

Abbildung 4.1: Entwicklung des Körpergewichts in den Behandlungsgruppen während der Behandlungsphase und Ergebnisse (p-Werte) der ANOVA für wiederholte Messungen (F-Tests)



Im Verlauf der Behandlungsphase kam es in der Gesamtpopulation zu einer Abnahme des Körpergewichts. Dabei bestanden kein globaler Unterschied zwischen den Gruppen und keine Interaktion zwischen den Gruppen und zeitlichem Verlauf (Abbildung 4.1). Die Gewichtsabnahme erfolgte vor allem durch eine Reduktion innerhalb der 1. Woche, die im Mittel in der konservativ behandelten Gruppe $0,4 \pm 0,1$ kg betrug, in der aggressiv behandelten Gruppe $0,6 \pm 0,2$ kg und in der Placebogruppe $0,3 \pm 0,1$ kg. Während der restlichen Studiendauer blieb das Körpergewicht in den Behandlungsgruppen stabil und es kam lediglich zu geringfügigen Zu- oder Abnahmen der Werte. Zu keinem der Messzeitpunkte traten statistisch relevante Unterschiede zwischen den Gruppen auf (Tabelle 4.2).

Tabelle 4.2: Körpergewicht in den Behandlungsgruppen (MW \pm SEM) und Ergebnisse (p-Werte) der multiplen ANOVA t-Test Methode

	Körpergewicht (kg)			p-Wert (2-seitig)		
	Konserv. Gruppe (n=6)	Aggr. Gruppe (n=6)	Placebo-gruppe (n=6)	Konserv. vs. Placebo	Aggr. vs. Placebo	Konserv. vs. Aggr.
Ausgangswert	11,7 \pm 0,5	11,2 \pm 0,4	10,7 \pm 0,5	0,145	0,447	0,461
Tag 8	11,3 \pm 0,5	10,7 \pm 0,4	10,3 \pm 0,5	0,168	0,642	0,346
Tag 14	11,3 \pm 0,5	10,6 \pm 0,4	10,3 \pm 0,5	0,181	0,635	0,372
Tag 21	11,1 \pm 0,5	10,6 \pm 0,4	10,1 \pm 0,6	0,206	0,533	0,504
Tag 28	11,3 \pm 0,6	10,8 \pm 0,3	10,3 \pm 0,6	0,219	0,553	0,509
Tag 35	11,3 \pm 0,6	10,8 \pm 0,4	10,2 \pm 0,6	0,154	0,478	0,451

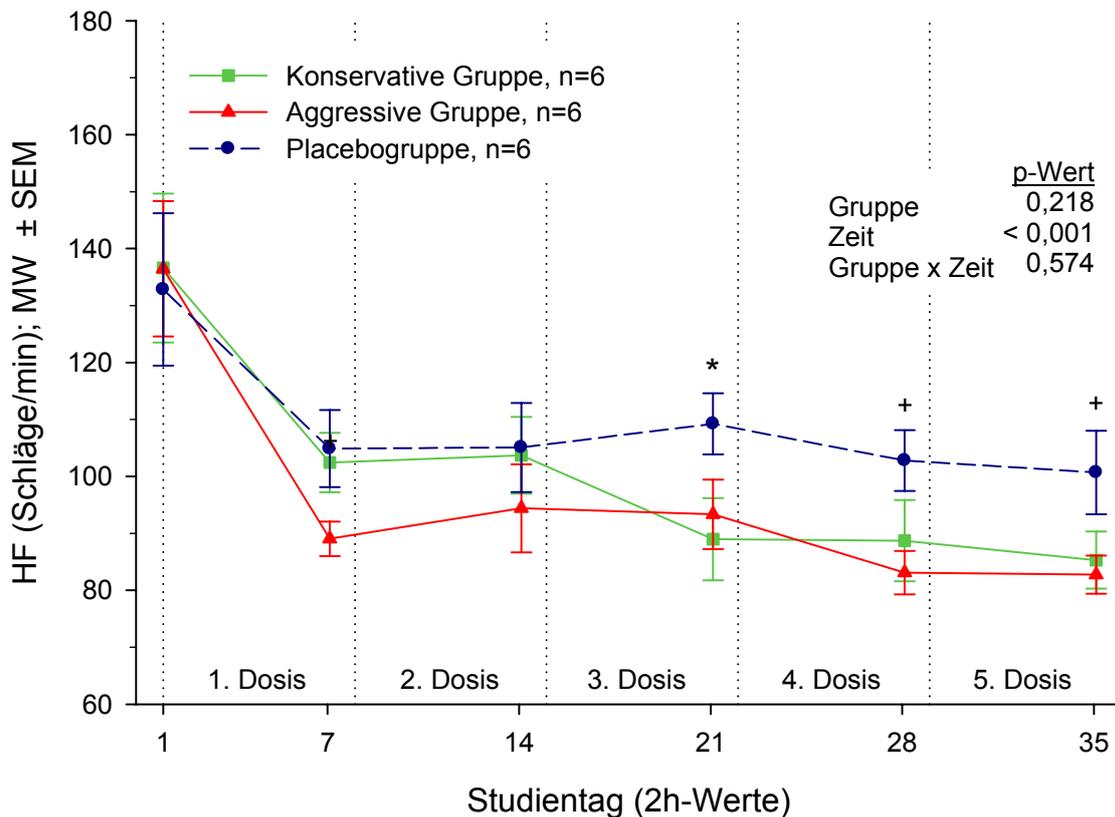
4.2.2 Elektrokardiographie

4.2.2.1 Herzfrequenz (HF)

HF - Messungen 2h post applicationem

Die Messergebnisse sind in folgender Abbildung getrennt für die drei Behandlungsgruppen dargestellt und in Tabelle 4.3 wiedergegeben.

Abbildung 4.2: Entwicklung der Herzfrequenz (HF) in den Behandlungsgruppen in den Messungen 2h post applicationem und Ergebnisse (p-Werte) der ANOVA für wiederholte Messungen (F-Tests)



Symbole beziehen sich auf Ergebnisse der multiplen ANOVA t-Test Methode: *: $p < 0,05$ Konservative Gruppe vs. Placebogruppe; +: $p < 0,05$ Aggressive Gruppe vs. Placebogruppe

In den Messungen 2h post applicationem fand im Verlauf der Behandlungsphase eine Abnahme der HF in der Gesamtpopulation statt. Die statistische Analyse ergab jedoch keinen globalen Unterschied zwischen den Gruppen und keine

Interaktion zwischen den Gruppen und dem zeitlichen Verlauf (Abbildung 4.2). Die Reduktion der HF erfolgte in allen drei Gruppen vor allem während der 1. Behandlungswoche und war in der aggressiv behandelten Gruppe mit 47 ± 11 Schlägen/min bei einer Dosierung von 0,01 mg/kg KGW am stärksten ausgeprägt. In der konservativ behandelten Gruppe fand noch einmal in der 3. Woche bei einer Dosierung von 0,03 mg/kg KGW eine deutliche Abnahme der Frequenz statt. Ab diesem Zeitpunkt befanden sich die Werte dieser Gruppe auf dem gleichen Niveau wie die der aggressiv behandelten Gruppe. Die HF lag ab dem Ende der 1. Behandlungswoche in beiden mit Bisoprolol behandelten Gruppen deutlich unter der Frequenz in der Placebogruppe, deren 2h-Werte sich nach der 1. Behandlungswoche nicht mehr veränderten. Am Ende der Behandlungsphase hatte die HF im Vergleich zum Ausgangswert in den Messungen 2h *post applicationem* in der konservativ behandelten Gruppe um 51 ± 14 Schläge/min abgenommen, in der aggressiv behandelten Gruppe um 54 ± 11 Schläge/min und in der Placebogruppe um 32 ± 12 Schläge/min. Die stärkere Abnahme der HF in den mit Bisoprolol behandelten Gruppen führte bei der statistischen Auswertung der einzelnen Messzeitpunkte zu erkennbaren Unterschieden zwischen der konservativ behandelten Gruppe und der Placebogruppe am Ende der 3. Woche und zwischen der aggressiv behandelten Gruppe und der Placebogruppe am Ende der 4. und 5. Woche (Abbildung 4.2, Tabelle 4.3).

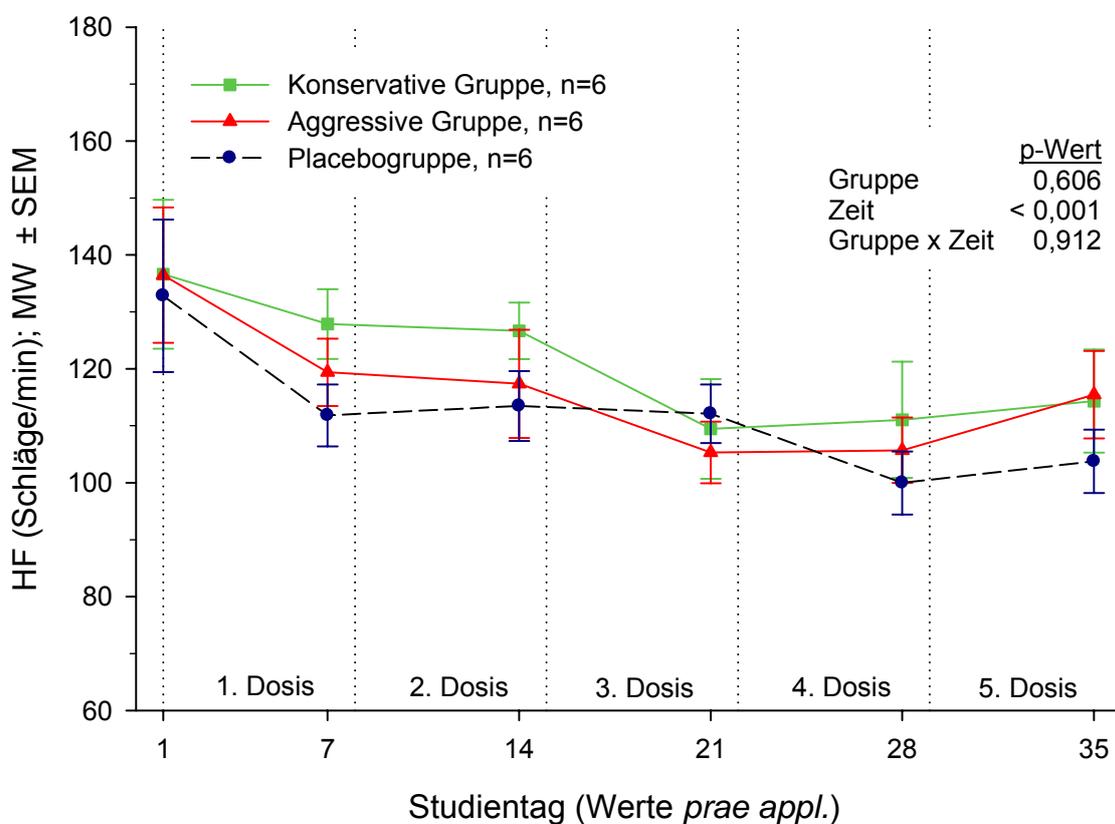
Tabelle 4.3: Herzfrequenz (HF) in den Behandlungsgruppen (MW \pm SEM) und Ergebnisse (p-Werte) der multiplen ANOVA t-Test Methode, Messungen 2h *post applicationem* (+2h)

	HF (Schläge/min)			p-Wert (2-seitig)		
	Konserv. Gruppe (n=6)	Aggr. Gruppe (n=6)	Placebo-gruppe (n=6)	Konserv. vs. Placebo	Aggr. vs. Placebo	Konserv. vs. Aggr.
Ausgangswert	137 \pm 13	136 \pm 12	133 \pm 13	0,837	0,844	0,994
Tag 7 +2h	102 \pm 5	89 \pm 3	105 \pm 7	0,747	0,050	0,091
Tag 14 +2h	104 \pm 7	94 \pm 8	105 \pm 8	0,900	0,327	0,390
Tag 21 +2h	89 \pm 7	93 \pm 6	109 \pm 5	0,037	0,094	0,627
Tag 28 +2h	89 \pm 7	83 \pm 4	103 \pm 5	0,096	0,025	0,486
Tag 35 +2h	85 \pm 5	83 \pm 3	101 \pm 7	0,067	0,036	0,744

HF - Messungen *prae applicationem*

Die Messergebnisse sind in folgender Abbildung getrennt für die drei Behandlungsgruppen dargestellt und in Tabelle 4.4 wiedergegeben.

Abbildung 4.3: Entwicklung der Herzfrequenz (HF) in den Behandlungsgruppen in den Messungen *prae applicationem* und Ergebnisse (p-Werte) der ANOVA für wiederholte Messungen (F-Tests)



Im Verlauf der Behandlungsphase nahm in der Gesamtpopulation die HF in den Messungen *prae applicationem* deutlich ab. Für den Gesamtbehandlungszeitraum bestanden jedoch kein globaler Unterschied zwischen den Gruppen und keine Interaktion zwischen den Gruppen und dem zeitlichen Verlauf (Abbildung 4.3). Mit dem Beginn der Therapie konnte in allen drei Gruppen eine Reduktion der HF innerhalb der 1. Behandlungswoche beobachtet werden, die mit 21 ± 10 Schlägen/min in der Placebogruppe am stärksten ausfiel. Im weiteren Verlauf der Behandlungsphase sank die HF in der konservativ und der aggressiv

behandelten Gruppe noch einmal innerhalb der 3. Woche bei einer Dosierung von 0,03 mg/kg KGW in der konservativ behandelten Gruppe und 0,1 mg/kg KGW in der aggressiv behandelten Gruppe. In der Placebogruppe erfolgte im Verlauf der 4. Behandlungswoche eine weitere deutliche Reduktion der HF. Im Vergleich zum Ausgangswert war die HF in den Messungen *prae applicationem* am Ende der Behandlungsphase in der konservativ behandelten Gruppe um 22 ± 17 Schläge/min gefallen, in der aggressiv behandelten Gruppe um 21 ± 13 Schläge/min und in der Placebogruppe um 29 ± 12 Schläge/min. Zu keinem der Messzeitpunkte bestand ein statistisch bedeutender Unterschied zwischen den Gruppen (Tabelle 4.4).

Tabelle 4.4: Herzfrequenz (HF) in den Behandlungsgruppen (MW \pm SEM) und Ergebnisse (p-Werte) der multiplen ANOVA t-Test Methode, Messungen *prae applicationem* (+0h)

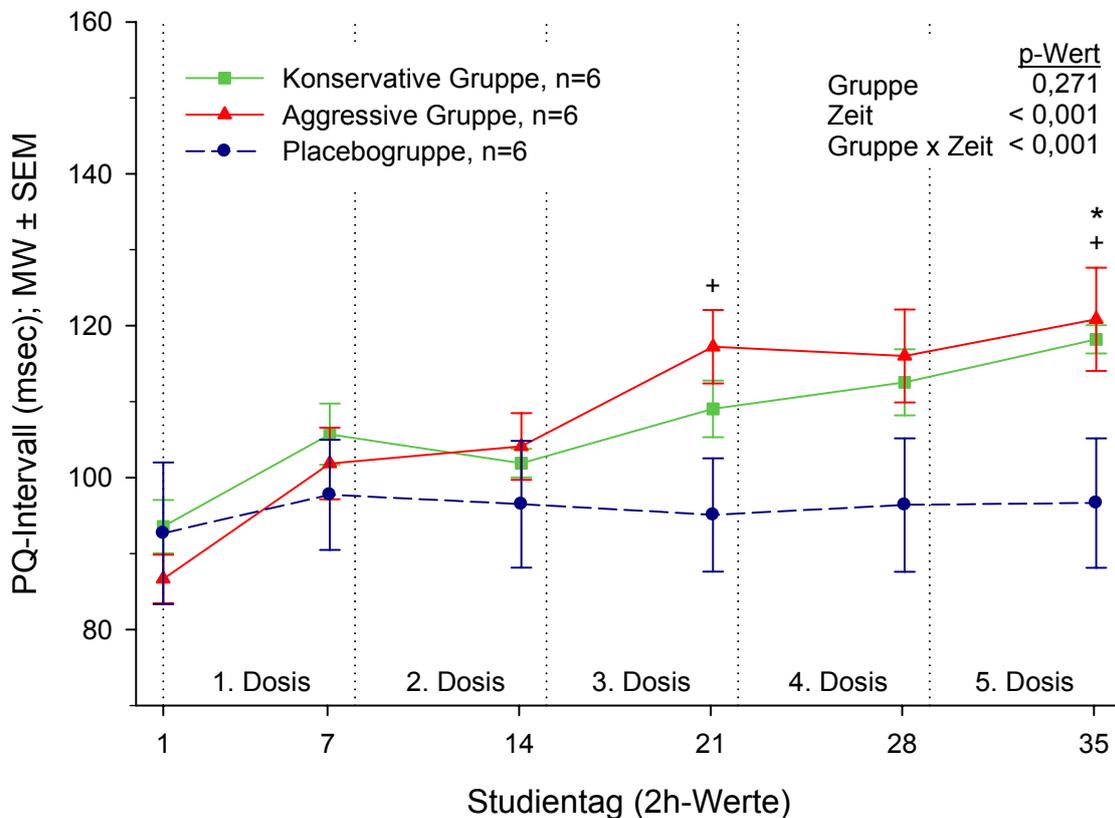
	HF (Schläge/min)			p-Wert (2-seitig)		
	Konserv. Gruppe (n=6)	Aggr. Gruppe (n=6)	Placebo-gruppe (n=6)	Konserv. vs. Placebo	Aggr. vs. Placebo	Konserv. vs. Aggr.
Ausgangswert	137 \pm 13	136 \pm 12	133 \pm 13	0,837	0,844	0,994
Tag 7 +0h	128 \pm 6	119 \pm 6	112 \pm 5	0,071	0,374	0,322
Tag 14 +0h	127 \pm 5	117 \pm 10	113 \pm 6	0,210	0,706	0,370
Tag 21 +0h	109 \pm 9	105 \pm 5	112 \pm 5	0,781	0,482	0,668
Tag 28 +0h	111 \pm 10	106 \pm 6	100 \pm 6	0,311	0,597	0,619
Tag 35 +0h	114 \pm 9	115 \pm 8	104 \pm 6	0,339	0,292	0,917

4.2.2.2 PQ-Intervall

PQ-Intervall - Messungen 2h post applicationem

Die Messergebnisse sind in folgender Abbildung getrennt für die drei Behandlungsgruppen dargestellt und in Tabelle 4.5 wiedergegeben.

Abbildung 4.4: Entwicklung des PQ-Intervalls in den Behandlungsgruppen in den Messungen 2h post applicationem und Ergebnisse (p-Werte) der ANOVA für wiederholte Messungen (F-Tests)



Symbole beziehen sich auf Ergebnisse der multiplen ANOVA t-Test Methode: *: $p < 0,05$ Konservative Gruppe vs. Placebogruppe; +: $p < 0,05$ Aggressive Gruppe vs. Placebogruppe

In den Messungen 2h post applicationem nahm die Dauer des PQ-Intervalls in der Gesamtpopulation über den Behandlungszeitraum zu. Es bestand kein globaler Unterschied zwischen den Gruppen für die Dauer der Behandlungsphase, jedoch konnte eine Beziehung zwischen der Gruppe und dem zeitlichen Verlauf beobachtet werden (Abbildung 4.4). Innerhalb der 1. Behandlungswoche

verlängerte sich das Intervall in allen Gruppen, jedoch in unterschiedlichem Ausmaß: in der konservativ behandelten Gruppe um 12 ± 4 msec, in der aggressiv behandelten Gruppe um 15 ± 3 msec und in der Placebogruppe um 5 ± 3 msec. Im weiteren Verlauf der Behandlungsphase konnte in der konservativ behandelten Gruppe noch einmal ab der 3. Woche und einer Dosierung von 0,03 mg/kg KGW ein kontinuierlicher Anstieg des PQ-Intervalls bis zum Studienende beobachtet werden, so dass insgesamt eine mittlere Zunahme von 25 ± 3 msec erfolgte. In der aggressiv behandelten Gruppe verlängerte sich das PQ-Intervall mit steigenden Dosierungen von Bisoprolol bis zum Ende der 3. Woche, verblieb für die letzten zwei Wochen auf dem erreichten Niveau und hatte sich am Ende um 34 ± 5 msec verlängert. In der Placebogruppe veränderte sich die Dauer des PQ-Intervalls im weiteren Verlauf der Studie nicht mehr. Die unterschiedliche Entwicklung des PQ-Intervalls in den Gruppen führte zu statistisch offensichtlichen Unterschieden zwischen der aggressiv behandelten Gruppe und der Placebogruppe am Ende der 3. und 5. Behandlungswoche und zwischen der konservativ behandelten Gruppe und der Placebogruppe am Ende der 5. Behandlungswoche (Abbildung 4.4, Tabelle 4.5).

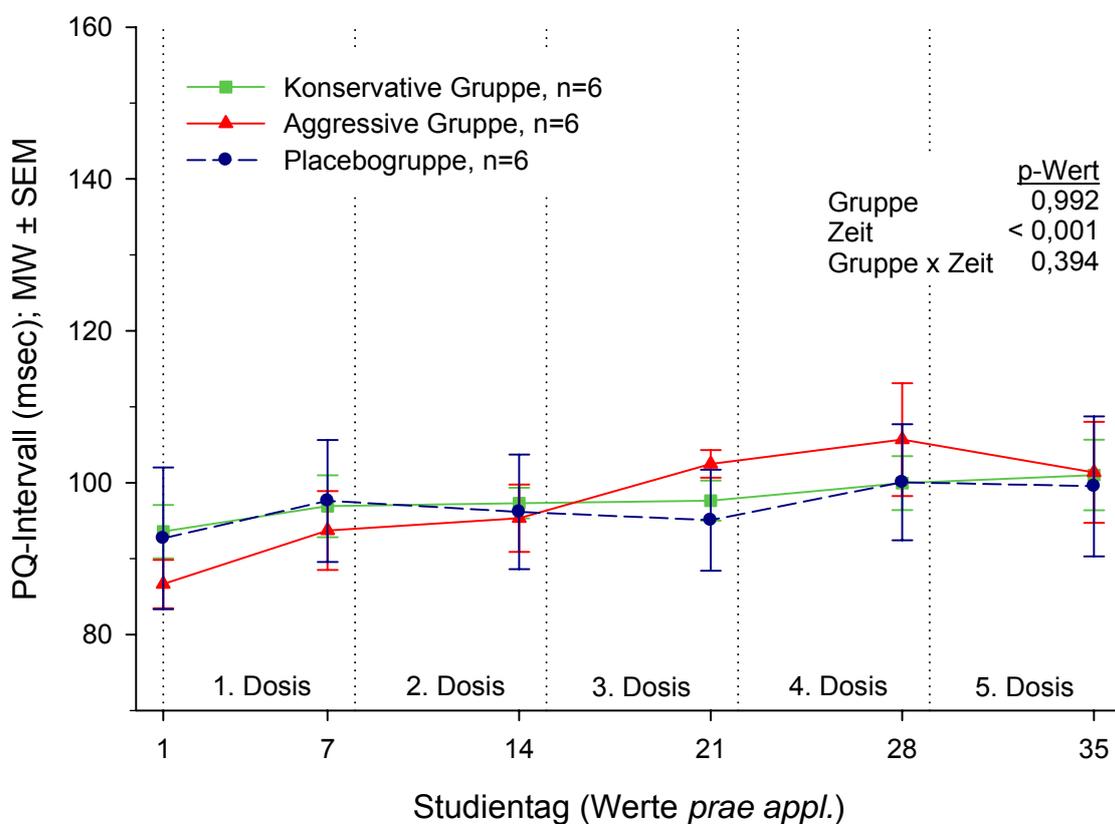
Tabelle 4.5: PQ-Intervall in den Behandlungsgruppen (MW \pm SEM) und Ergebnisse (p-Werte) der multiplen ANOVA t-Test Methode, Messungen 2h *post applicationem* (+2h)

	PQ-Intervall (msec)			p-Wert (2-seitig)		
	Konserv. Gruppe (n=6)	Aggr. Gruppe (n=6)	Placebo-gruppe (n=6)	Konserv. vs. Placebo	Aggr. vs. Placebo	Konserv. vs. Aggr.
Ausgangswert	94 \pm 4	87 \pm 3	93 \pm 9	0,919	0,493	0,433
Tag 7 +2h	106 \pm 4	102 \pm 5	98 \pm 7	0,322	0,604	0,629
Tag 14 +2h	102 \pm 2	104 \pm 4	96 \pm 8	0,501	0,346	0,782
Tag 21 +2h	109 \pm 4	117 \pm 5	95 \pm 7	0,097	0,013	0,316
Tag 28 +2h	113 \pm 4	116 \pm 6	96 \pm 9	0,107	0,055	0,717
Tag 35 +2h	118 \pm 2	121 \pm 7	97 \pm 9	0,031	0,017	0,774

PQ-Intervall - Messungen *prae applicationem*

Die Messergebnisse sind in folgender Abbildung getrennt für die drei Behandlungsgruppen dargestellt und in Tabelle 4.6 wiedergegeben.

Abbildung 4.5: Entwicklung des PQ-Intervalls in den Behandlungsgruppen in den Messungen *prae applicationem* und Ergebnisse (p-Werte) der ANOVA für wiederholte Messungen (F-Tests)



In den Messungen *prae applicationem* nahm das PQ-Intervall ebenfalls in der Gesamtpopulation über den Behandlungszeitraum zu, wobei es keinen globalen Unterschied zwischen den Gruppen und abweichend von den Ergebnissen der Messungen *2h post applicationem* auch keine Beziehung zwischen den Gruppen und dem zeitlichen Verlauf gab (Abbildung 4.5). Der deutlichste Zuwachs erfolgte in der aggressiv behandelten Gruppe, in der die Dauer des PQ-Intervalls kontinuierlich bis zum Ende der 4. Behandlungswoche anstieg und am Ende der Behandlungsphase um durchschnittlich 15 ± 4 msec im Vergleich zum

Ausgangswert zugenommen hatte. In der konservativ behandelten Gruppe und der Placebogruppe fiel mit 7 ± 6 msec bzw. 7 ± 2 msec die Verlängerung des PQ-Intervalls bis zum Studienende etwas geringer aus. Am Ende der Behandlungsphase lag das PQ-Intervall in allen drei Gruppen in den Messungen *prae applicationem* auf einem Niveau. Zu keinem Messzeitpunkt bestanden statistisch bedeutende Unterschiede zwischen den Gruppen (Tabelle 4.6)

Tabelle 4.6: PQ-Intervall in den Behandlungsgruppen (MW \pm SEM) und Ergebnisse (p-Werte) der multiplen ANOVA t-Test Methode, Messungen *prae applicationem* (+0h)

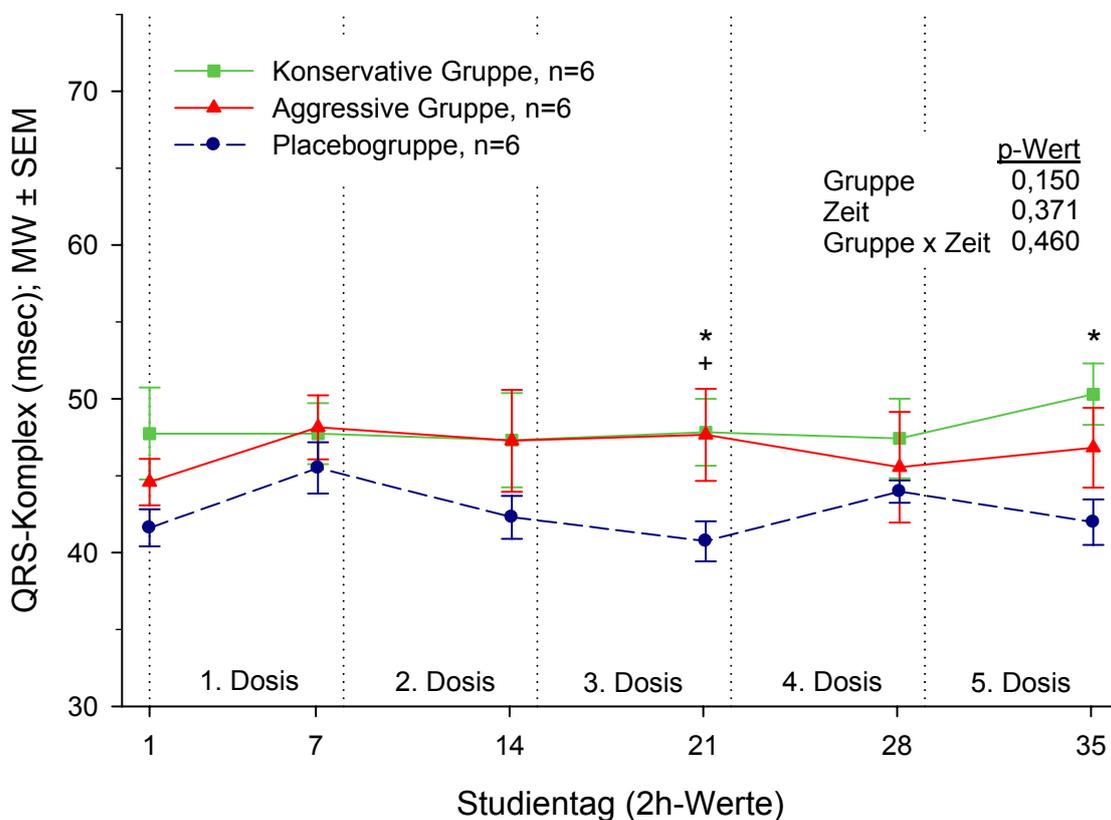
	PQ-Intervall (msec)			p-Wert (2-seitig)		
	Konserv. Gruppe (n=6)	Aggr. Gruppe (n=6)	Placebo-gruppe (n=6)	Konserv. vs. Placebo	Aggr. vs. Placebo	Konserv. vs. Aggr.
Ausgangswert	94 \pm 4	87 \pm 3	93 \pm 9	0,919	0,493	0,433
Tag 7 +0h	97 \pm 4	94 \pm 5	98 \pm 8	0,934	0,650	0,710
Tag 14 +0h	97 \pm 2	95 \pm 4	96 \pm 8	0,874	0,913	0,789
Tag 21 +0h	98 \pm 3	102 \pm 2	95 \pm 7	0,675	0,238	0,436
Tag 28 +0h	100 \pm 4	106 \pm 7	100 \pm 8	0,990	0,548	0,540
Tag 35 +0h	101 \pm 5	101 \pm 7	100 \pm 9	0,883	0,855	0,971

4.2.2.3 QRS-Komplex

QRS-Komplex - Messungen 2h post applicationem

Die Messergebnisse sind in folgender Abbildung getrennt für die drei Behandlungsgruppen dargestellt und in Tabelle 4.7 wiedergegeben.

Abbildung 4.6: Entwicklung des QRS-Komplexes in den Behandlungsgruppen in den Messungen 2h post applicationem und Ergebnisse (p-Werte) der ANOVA für wiederholte Messungen (F-Tests)



Symbole beziehen sich auf Ergebnisse der multiplen ANOVA t-Test Methode: *: $p < 0,05$ Konservative Gruppe vs. Placebogruppe; +: $p < 0,05$ Aggressive Gruppe vs. Placebogruppe

Die Dauer des QRS-Komplexes veränderte sich in den Messungen 2h post applicationem in der Gesamtpopulation für den Behandlungszeitraum nicht. Ebenso konnte weder ein globaler Unterschied zwischen den Gruppen noch eine Interaktion zwischen den Gruppen und dem Messzeitpunkt beobachtet werden (Abbildung 4.6). Aus Abbildung 4.6 wird ersichtlich, dass im Verlauf der

Behandlungsphase in den Gruppen sowohl Zu- als auch Abnahmen in der Dauer des QRS-Komplexes auftraten, die jedoch keine einheitliche Entwicklung aufwiesen, so dass sich in den einzelnen Gruppen der Wert am Studienende nur geringfügig vom Ausgangswert unterschied. Die Abbildung zeigt ebenfalls, dass der QRS-Komplex in der Placebogruppe im Mittel eine geringere Dauer aufwies als in den mit Bisoprolol behandelten Gruppen. Dieses unterschiedliche Niveau in den Gruppen führte am Ende der 3. und 5. Behandlungswoche zu einem statistisch deutlichen Unterschied zwischen der konservativ behandelten Gruppe und der Placebogruppe und am Ende der 3. Behandlungswoche zu einem Unterschied zwischen der aggressiv behandelten Gruppe und der Placebogruppe (Abbildung 4.6, Tabelle 4.7)

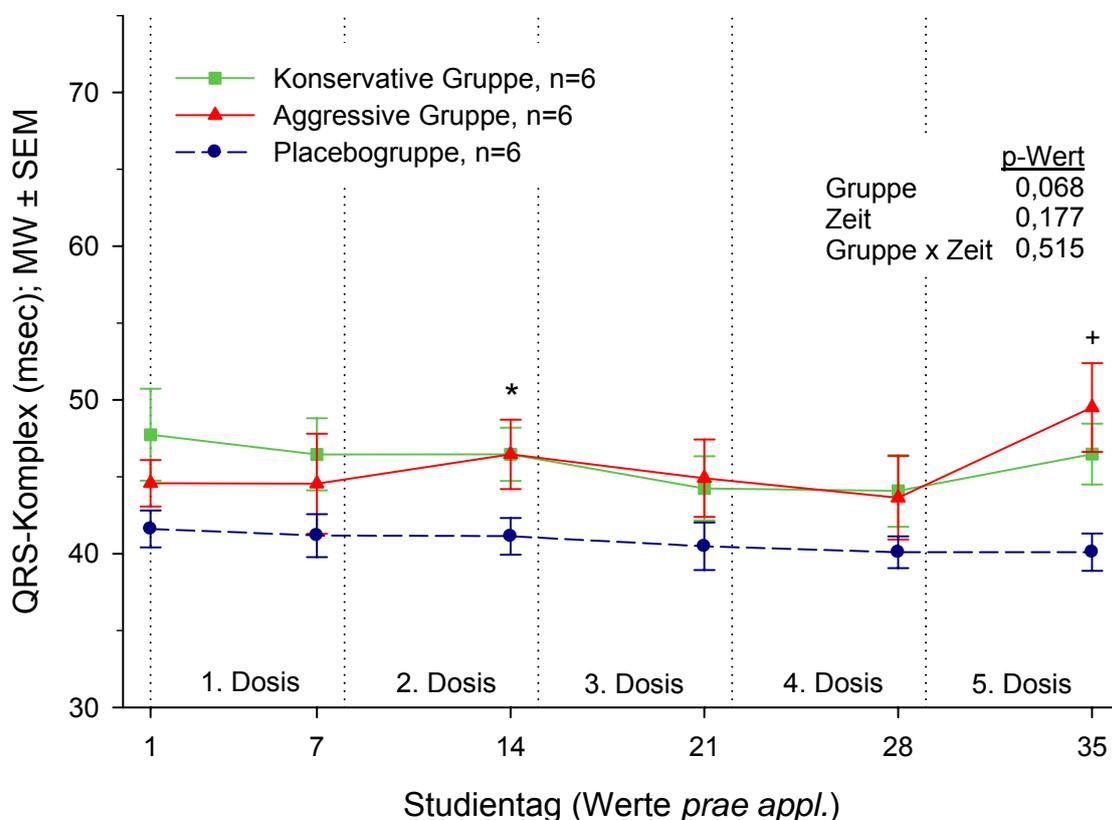
Tabelle 4.7: QRS-Komplex in den Behandlungsgruppen (MW \pm SEM) und Ergebnisse (p-Werte) der multiplen ANOVA t-Test Methode, Messungen 2h *post applicationem* (+2h)

	QRS-Komplex (msec)			p-Wert (2-seitig)		
	Konserv. Gruppe (n=6)	Aggr. Gruppe (n=6)	Placebo-gruppe (n=6)	Konserv. vs. Placebo	Aggr. vs. Placebo	Konserv. vs. Aggr.
Ausgangswert	48 \pm 3	45 \pm 2	42 \pm 1	0,052	0,321	0,296
Tag 7 +2h	48 \pm 2	48 \pm 2	46 \pm 2	0,419	0,335	0,870
Tag 14 +2h	47 \pm 3	47 \pm 3	42 \pm 1	0,213	0,216	0,993
Tag 21 +2h	48 \pm 2	48 \pm 3	41 \pm 1	0,043	0,048	0,955
Tag 28 +2h	47 \pm 3	46 \pm 4	44 \pm 1	0,367	0,672	0,625
Tag 35 +2h	50 \pm 2	47 \pm 3	42 \pm 1	0,013	0,120	0,255

QRS-Komplex - Messungen *prae applicationem*

Die Messergebnisse sind in folgender Abbildung getrennt für die drei Behandlungsgruppen dargestellt und in Tabelle 4.8 wiedergegeben.

Abbildung 4.7: Entwicklung des QRS-Komplexes in den Behandlungsgruppen in den Messungen *prae applicationem* und Ergebnisse (p-Werte) der ANOVA für wiederholte Messungen (F-Tests)



Symbole beziehen sich auf Ergebnisse der multiplen ANOVA t-Test Methode: *: $p < 0,05$ Konservative Gruppe vs. Placebogruppe; +: $p < 0,05$ Aggressive Gruppe vs. Placebogruppe

Wie in den Messungen 2h *post applicationem* veränderte sich die Dauer des QRS-Komplexes in den Messungen *prae applicationem* in der Gesamtpopulation für den Behandlungszeitraum nicht. Es bestanden weder ein globaler Unterschied zwischen den Gruppen noch eine Interaktion zwischen den Gruppen und dem Messzeitpunkt (Abbildung 4.7). Abbildung 4.7 zeigt, dass in der konservativ behandelten Gruppe eine kontinuierliche leichte Abnahme der Dauer des

QRS-Komplexes bis zum Ende der 4. Behandlungswoche stattfand, bevor sie in der 5. Woche wieder anstieg. Die auffälligste Veränderung in der Dauer des QRS-Komplexes in der aggressiv behandelten Gruppe bestand in einer Zunahme des Wertes innerhalb der 5. Woche von 44 ± 3 auf 50 ± 3 msec am Studienende. Wie in den Messungen 2h *post applicationem* wies der QRS-Komplex in der Placebogruppe durchgehend im Mittel eine geringere Dauer auf als in den mit Bisoprolol behandelten Gruppen. Diese Ungleichheit führte am Ende der 2. Behandlungswoche zu einem statistisch deutlichen Unterschied zwischen der konservativ behandelten Gruppe und der Placebogruppe und am Ende der 5. Behandlungswoche zu einem Unterschied zwischen der aggressiv behandelten Gruppe und der Placebogruppe (Abbildung 4.7, Tabelle 4.8).

Tabelle 4.8: QRS-Komplex in den Behandlungsgruppen (MW \pm SEM) und Ergebnisse (p-Werte) der multiplen ANOVA t-Test Methode, Messungen *prae applicationem* (+0h)

	QRS-Komplex (msec)			p-Wert (2-seitig)		
	Konserv. Gruppe (n=6)	Aggr. Gruppe (n=6)	Placebo-gruppe (n=6)	Konserv. vs. Placebo	Aggr. vs. Placebo	Konserv. vs. Aggr.
Ausgangswert	48 \pm 3	45 \pm 2	42 \pm 1	0,052	0,321	0,296
Tag 7 +0h	46 \pm 2	45 \pm 3	41 \pm 1	0,148	0,346	0,589
Tag 14 +0h	46 \pm 2	46 \pm 2	41 \pm 1	0,040	0,050	0,993
Tag 21 +0h	44 \pm 2	45 \pm 3	40 \pm 2	0,228	0,156	0,816
Tag 28 +0h	44 \pm 2	44 \pm 3	40 \pm 1	0,210	0,263	0,884
Tag 35 +0h	46 \pm 2	50 \pm 3	40 \pm 1	0,052	0,007	0,330

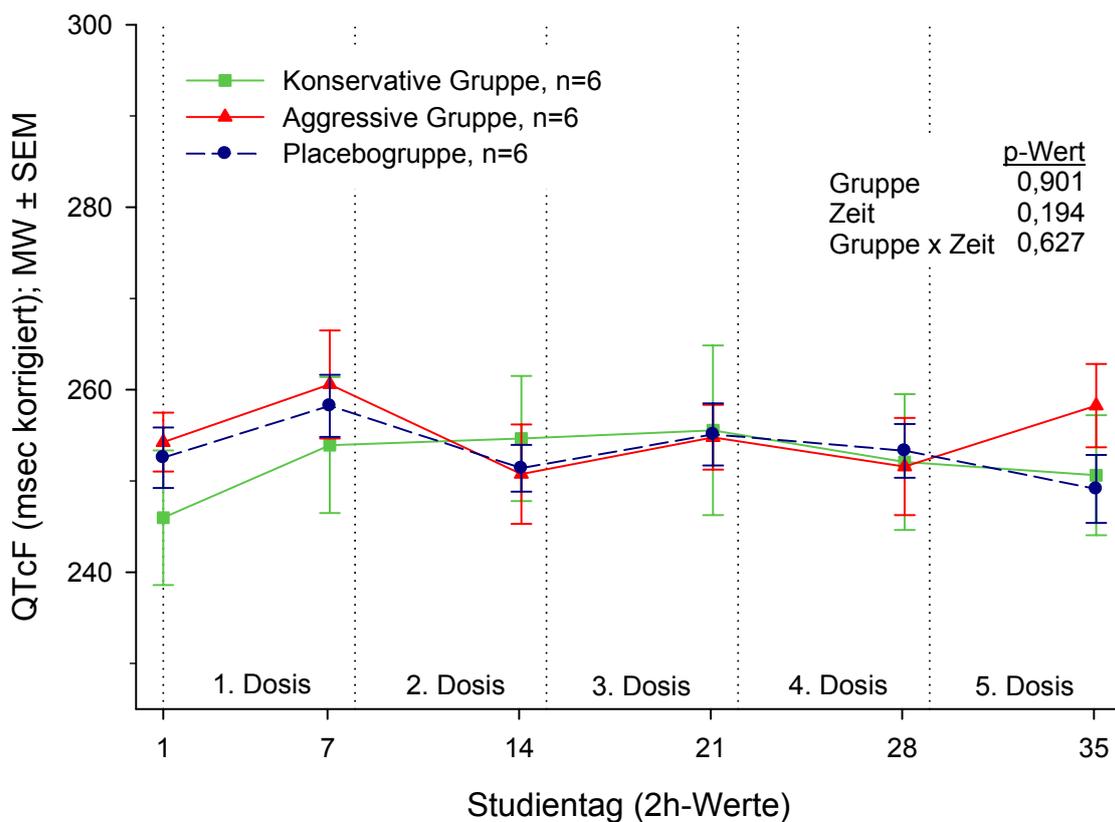
4.2.2.4 Korrigiertes QT-Intervall (QTcF)

An dieser Stelle wird lediglich das nach Fridericia korrigierte QT-Intervall QTcF beschrieben. Die Gruppenmittelwerte des unkorrigierten QT-Intervalls und die Ergebnisse der statistischen Analyse desselben können der Tabelle 9.1 bis Tabelle 9.4 im Anhang entnommen werden.

QTcF - Messungen 2h post applicationem

Die Messergebnisse sind in folgender Abbildung getrennt für die drei Behandlungsgruppen dargestellt und in Tabelle 4.9 wiedergegeben.

Abbildung 4.8: Entwicklung des korrigierten QT-Intervalls QTcF in den Behandlungsgruppen in den Messungen 2h post applicationem und Ergebnisse (p-Werte) der ANOVA für wiederholte Messungen (F-Tests)



In den Messungen 2h *post applicationem* veränderte sich QTcF in der Gesamtpopulation im Verlauf der Behandlungsphase nicht. Es bestanden kein globaler Unterschied zwischen den Gruppen und keine Wechselwirkung zwischen den Gruppen und dem zeitlichen Verlauf (Abbildung 4.8). Aus Abbildung 4.8 wird ersichtlich, dass innerhalb der 1. Woche einheitlich eine Zunahme von QTcF in allen Behandlungsgruppen stattfand. Im weiteren Verlauf der Behandlungsphase konnten allerdings keine kontinuierlichen Zu- oder Abnahmen in einer der Behandlungsgruppen beobachtet werden und es bestanden zu keinem Zeitpunkt statistisch deutliche Unterschiede zwischen den Gruppen (Tabelle 4.9).

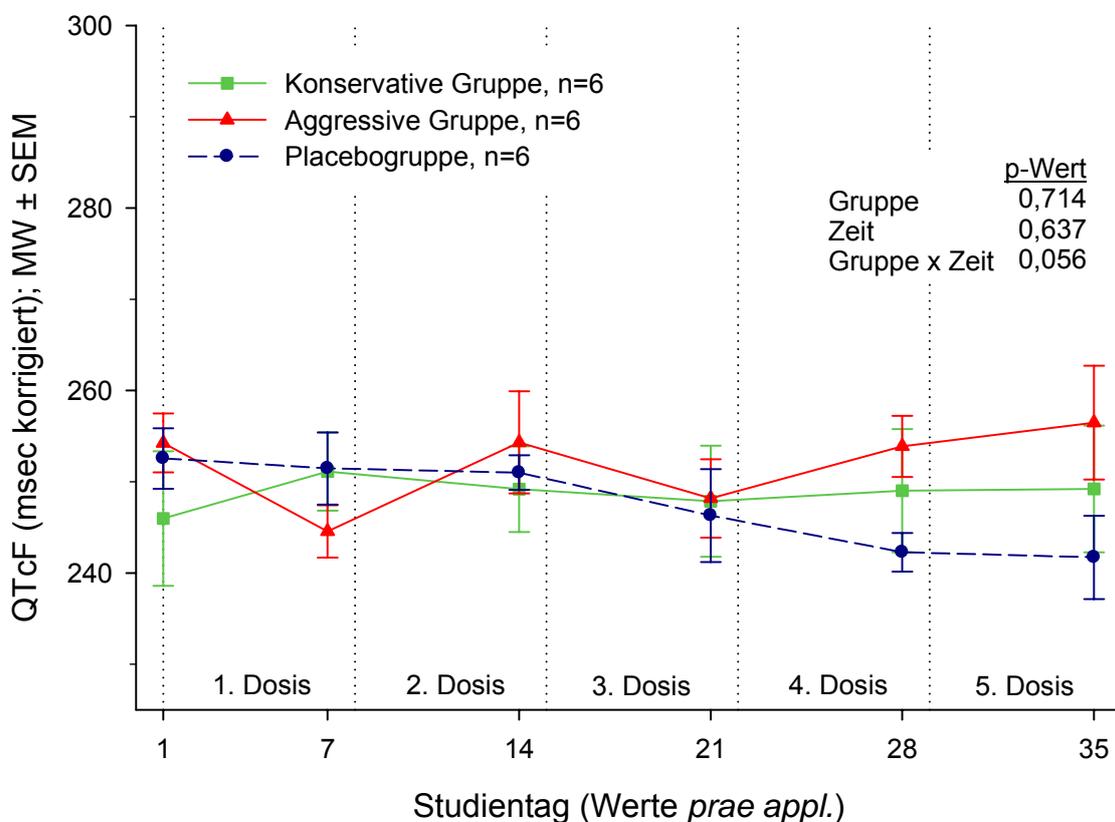
Tabelle 4.9: Korrigiertes QT-Intervall QTcF in den Behandlungsgruppen (MW \pm SEM) und Ergebnisse (p-Werte) der multiplen ANOVA t-Test Methode, Messungen 2h *post applicationem* (+2h)

	QTcF (msec korrigiert)			p-Wert (2-seitig)		
	Konserv. Gruppe (n=6)	Aggr. Gruppe (n=6)	Placebo-gruppe (n=6)	Konserv. vs. Placebo	Aggr. vs. Placebo	Konserv. vs. Aggr.
Ausgangswert	246 \pm 7,4	254 \pm 3,2	253 \pm 3,3	0,368	0,814	0,261
Tag 7 +2h	254 \pm 7,4	261 \pm 5,9	258 \pm 3,4	0,612	0,778	0,433
Tag 14 +2h	255 \pm 6,9	251 \pm 5,4	251 \pm 2,6	0,668	0,932	0,607
Tag 21 +2h	256 \pm 9,3	255 \pm 3,5	255 \pm 3,4	0,959	0,973	0,932
Tag 28 +2h	252 \pm 7,4	252 \pm 5,3	253 \pm 2,9	0,881	0,832	0,950
Tag 35 +2h	251 \pm 6,6	258 \pm 4,6	249 \pm 3,7	0,840	0,226	0,308

QTcF - Messungen *prae applicationem*

Die Messergebnisse sind in folgender Abbildung getrennt für die drei Behandlungsgruppen dargestellt und in Tabelle 4.10 wiedergegeben.

Abbildung 4.9: Entwicklung des korrigierten QT-Intervalls QTcF in den Behandlungsgruppen in den Messungen *prae applicationem* und Ergebnisse (p-Werte) der ANOVA für wiederholte Messungen (F-Tests)



Wie in den Messungen *2h post applicationem* veränderten sich die Werte für QTcF in den Messungen *prae applicationem* in der Gesamtpopulation während der Behandlungsphase nicht. Es konnten weder ein globaler Gruppenunterschied noch eine Interaktion zwischen den Gruppen und dem zeitlichen Verlauf festgestellt werden (Abbildung 4.9). Abbildung 4.9 zeigt, dass in der konservativen Gruppe QTcF nach einem geringen Anstieg im Verlauf der 1. Behandlungswoche für die verbleibende Studiendauer auf einem konstanten Niveau verblieb. In der

aggressiv behandelten Gruppe kam es zu stärkeren Schwankungen im Verlauf der Behandlungsphase, die jedoch zu keiner deutlichen Zu- oder Abnahme des Wertes am Studienende im Vergleich zum Ausgangswert führten. Die Placebogruppe zeichnete sich durch einen geringen, aber kontinuierlichen Abfall des korrigierten QT-Intervalls aus. Trotz der unterschiedlichen Verläufe bestanden zu keinem der Messzeitpunkte statistisch offensichtliche Unterschiede zwischen den Gruppen (Tabelle 4.10).

Tabelle 4.10: Korrigiertes QT-Intervall QTcF in den Behandlungsgruppen (MW \pm SEM) und Ergebnisse (p-Werte) der multiplen ANOVA t-Test Methode, Messungen *prae applicationem* (+0h)

	QTcF (msec korrigiert)			p-Wert (2-seitig)		
	Konserv. Gruppe (n=6)	Aggr. Gruppe (n=6)	Placebo-gruppe (n=6)	Konserv. vs. Placebo	Aggr. vs. Placebo	Konserv. vs. Aggr.
Ausgangswert	246 \pm 7,4	254 \pm 3,2	253 \pm 3,3	0,368	0,814	0,261
Tag 7 +0h	251 \pm 4,3	245 \pm 2,9	251 \pm 3,9	0,951	0,213	0,235
Tag 14 +0h	249 \pm 4,7	254 \pm 5,6	251 \pm 1,9	0,772	0,600	0,419
Tag 21 +0h	248 \pm 6,1	248 \pm 4,3	246 \pm 5,1	0,834	0,802	0,966
Tag 28 +0h	249 \pm 6,7	254 \pm 3,4	242 \pm 2,1	0,307	0,089	0,460
Tag 35 +0h	249 \pm 6,9	256 \pm 6,2	242 \pm 4,6	0,391	0,103	0,406

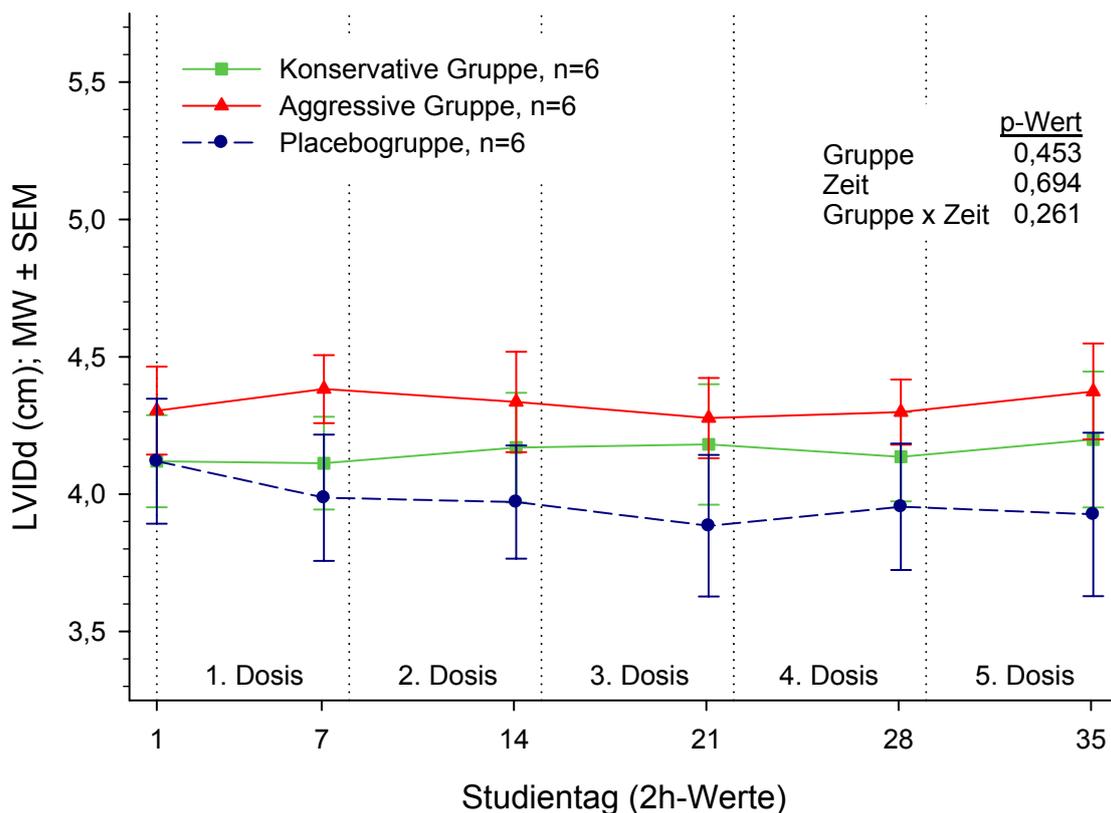
4.2.3 Echokardiographie

4.2.3.1 Linksventrikulärer enddiastolischer Durchmesser (LVIDd)

LVIDd - Messungen 2h post applicationem

Die Messergebnisse sind in folgender Abbildung getrennt für die drei Behandlungsgruppen dargestellt und in Tabelle 4.11 wiedergegeben.

Abbildung 4.10: Entwicklung des linksventrikulären enddiastolischen Durchmessers (LVIDd) in den Behandlungsgruppen in den Messungen 2h post applicationem und Ergebnisse (p-Werte) der ANOVA für wiederholte Messungen (F-Tests)



In der Gesamtpopulation konnte für die Dauer der Behandlungsphase keine Veränderung des LVIDd in den Messungen 2h post applicationem beobachtet werden. Im Vergleich zum Ausgangswert hatte der LVIDd am Ende der Studie in

den mit Bisoprolol behandelten Gruppen minimal zugenommen ($0,08 \pm 0,08$ cm in der konservativ behandelten Gruppe und $0,07 \pm 0,06$ cm in der aggressiv behandelten Gruppe) und in der Placebogruppe geringfügig abgenommen ($0,19 \pm 0,10$ cm). Weder für die Gesamtpopulation und den Gesamtbehandlungszeitraum noch in Hinblick auf die einzelnen Messzeitpunkte konnten statistisch bedeutende Unterschiede festgestellt werden (Tabelle 4.11).

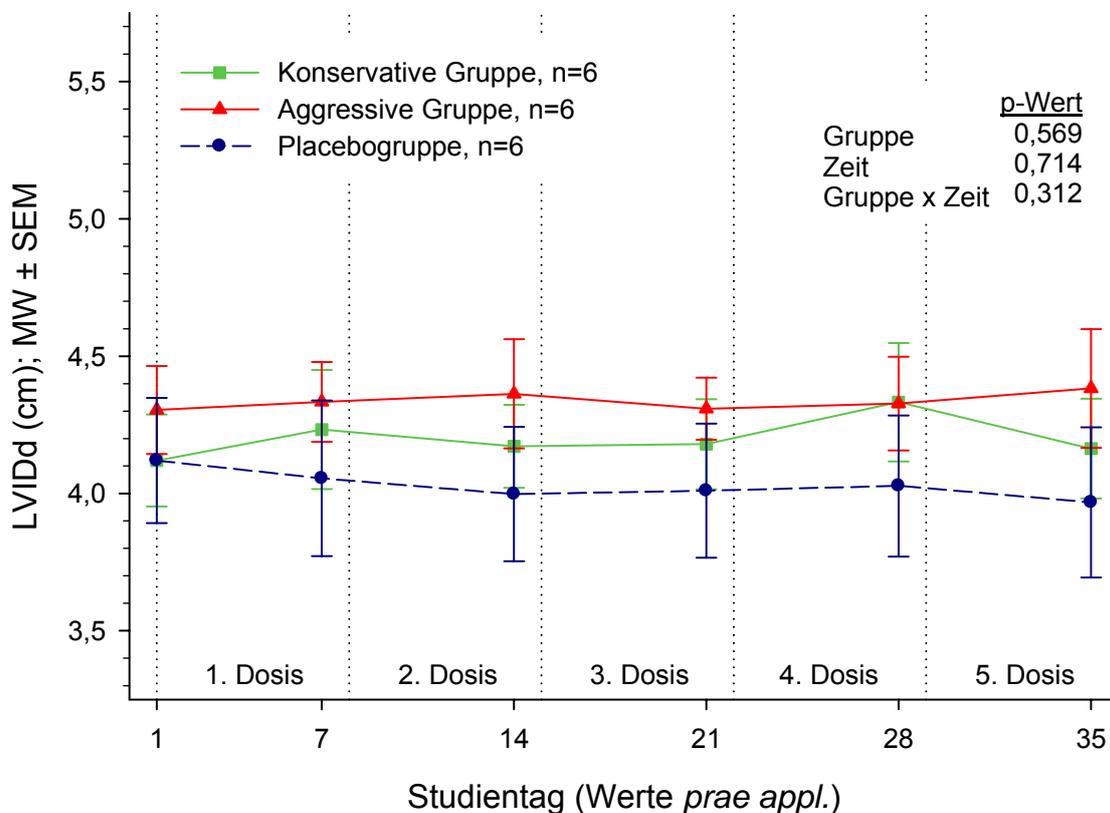
Tabelle 4.11: Linksventrikulärer enddiastolischer Durchmesser (LVIDd) in den Behandlungsgruppen (MW \pm SEM) und Ergebnisse (p-Werte) der multiplen ANOVA t-Test Methode, Messungen 2h *post applicationem* (+2h)

	LVIDd (cm)			p-Wert (2-seitig)		
	Konserv. Gruppe (n=6)	Aggr. Gruppe (n=6)	Placebo-gruppe (n=6)	Konserv. vs. Placebo	Aggr. vs. Placebo	Konserv. vs. Aggr.
Ausgangswert	4,12 \pm 0,17	4,30 \pm 0,16	4,12 \pm 0,23	0,995	0,499	0,495
Tag 7 +2h	4,11 \pm 0,17	4,38 \pm 0,12	3,99 \pm 0,23	0,634	0,140	0,301
Tag 14 +2h	4,17 \pm 0,20	4,34 \pm 0,18	3,97 \pm 0,21	0,482	0,208	0,561
Tag 21 +2h	4,18 \pm 0,22	4,28 \pm 0,15	3,89 \pm 0,26	0,342	0,210	0,748
Tag 28 +2h	4,14 \pm 0,16	4,30 \pm 0,12	3,95 \pm 0,23	0,474	0,185	0,523
Tag 35 +2h	4,20 \pm 0,25	4,37 \pm 0,17	3,93 \pm 0,30	0,442	0,215	0,620

LVIDd - Messungen *prae applicationem*

Die Messergebnisse sind in folgender Abbildung getrennt für die drei Behandlungsgruppen dargestellt und in Tabelle 4.12 wiedergegeben.

Abbildung 4.11: Entwicklung des linksventrikulären enddiastolischen Durchmessers (LVIDd) in den Behandlungsgruppen in den Messungen *prae applicationem* und Ergebnisse (p-Werte) der ANOVA für wiederholte Messungen (F-Tests)



Die Beobachtungen bezüglich des LVIDd in den Messungen *prae applicationem* sind quasi identisch mit denen der Messungen 2h *post applicationem*. In der Gesamtpopulation konnte für die Dauer der Behandlungsphase keine Veränderung des LVIDd beobachtet werden und es bestanden weder ein globaler Unterschied zwischen den Gruppen noch eine Wechselwirkung zwischen den Gruppen und dem Messzeitpunkt (Abbildung 4.11). Am Ende der Studie hatte im Vergleich zum Ausgangswert der LVIDd in den Messungen *prae applicationem* in

den mit Bisoprolol behandelten Gruppen minimal zugenommen ($0,04 \pm 0,08$ cm in der konservativ behandelten Gruppe und $0,08 \pm 0,07$ cm in der aggressiv behandelten Gruppe), während er in der Placebogruppe geringfügig abgenommen hatte ($0,15 \pm 0,06$ cm). Zu keinem Messzeitpunkt bestanden statistisch relevante Unterschiede zwischen den Gruppen (Tabelle 4.12).

Tabelle 4.12: Linksventrikulärer enddiastolischer Durchmesser (LVIDd) in den Behandlungsgruppen (MW \pm SEM) und Ergebnisse (p-Werte) der multiplen ANOVA t-Test Methode, Messungen *prae applicationem* (+0h)

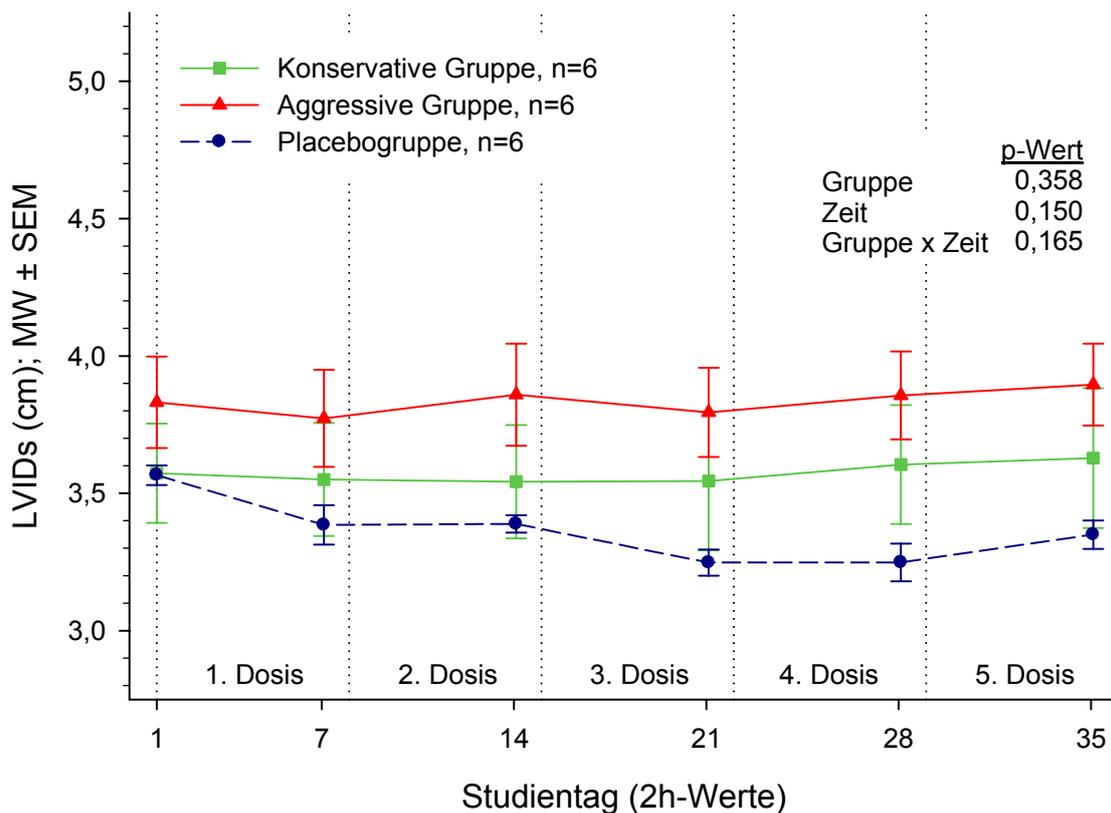
	LVIDd (cm)			p-Wert (2-seitig)		
	Konserv. Gruppe (n=6)	Aggr. Gruppe (n=6)	Placebo-gruppe (n=6)	Konserv. vs. Placebo	Aggr. vs. Placebo	Konserv. vs. Aggr.
Ausgangswert	4,12 \pm 0,17	4,30 \pm 0,16	4,12 \pm 0,23	0,995	0,499	0,495
Tag 7 +0h	4,23 \pm 0,22	4,33 \pm 0,15	4,06 \pm 0,28	0,576	0,391	0,759
Tag 14 +0h	4,17 \pm 0,15	4,36 \pm 0,20	4,00 \pm 0,24	0,556	0,224	0,515
Tag 21 +0h	4,18 \pm 0,16	4,31 \pm 0,11	4,01 \pm 0,24	0,514	0,261	0,625
Tag 28 +0h	4,33 \pm 0,22	4,33 \pm 0,17	4,03 \pm 0,26	0,337	0,347	0,983
Tag 35 +0h	4,16 \pm 0,18	4,38 \pm 0,22	3,97 \pm 0,27	0,549	0,216	0,507

4.2.3.2 Linksventrikulärer endsystolischer Durchmesser (LVIDs)

LVIDs - Messungen 2h post applicationem

Die Messergebnisse sind in folgender Abbildung getrennt für die drei Behandlungsgruppen dargestellt und in Tabelle 4.13 wiedergegeben.

Abbildung 4.12: Entwicklung des linksventrikulären endsystolischen Durchmessers (LVIDs) in den Behandlungsgruppen in den Messungen 2h post applicationem und Ergebnisse (p-Werte) der ANOVA für wiederholte Messungen (F-Tests)



In der Gesamtpopulation fand in den Messungen 2h post applicationem keine Veränderung des LVIDs während der Behandlungsphase statt und es bestanden weder ein globaler Unterschied zwischen den Gruppen noch eine Wechselwirkung zwischen den Gruppen und dem zeitlichen Verlauf (Abbildung 4.12). Im Vergleich zum Ausgangswert hatte der LVIDs in den mit Bisoprolol behandelten Gruppen

am Ende der Studie minimal zugenommen ($0,05 \pm 0,1$ cm in der konservativ behandelten Gruppe und $0,06 \pm 0,03$ cm in der aggressiv behandelten Gruppe) und in der Placebogruppe geringgradig abgenommen ($0,22 \pm 0,13$ cm). Statistisch bedeutende Unterschiede zwischen den Gruppen bestanden jedoch zu keinem der Messzeitpunkte 2h *post applicationem* (Tabelle 4.13).

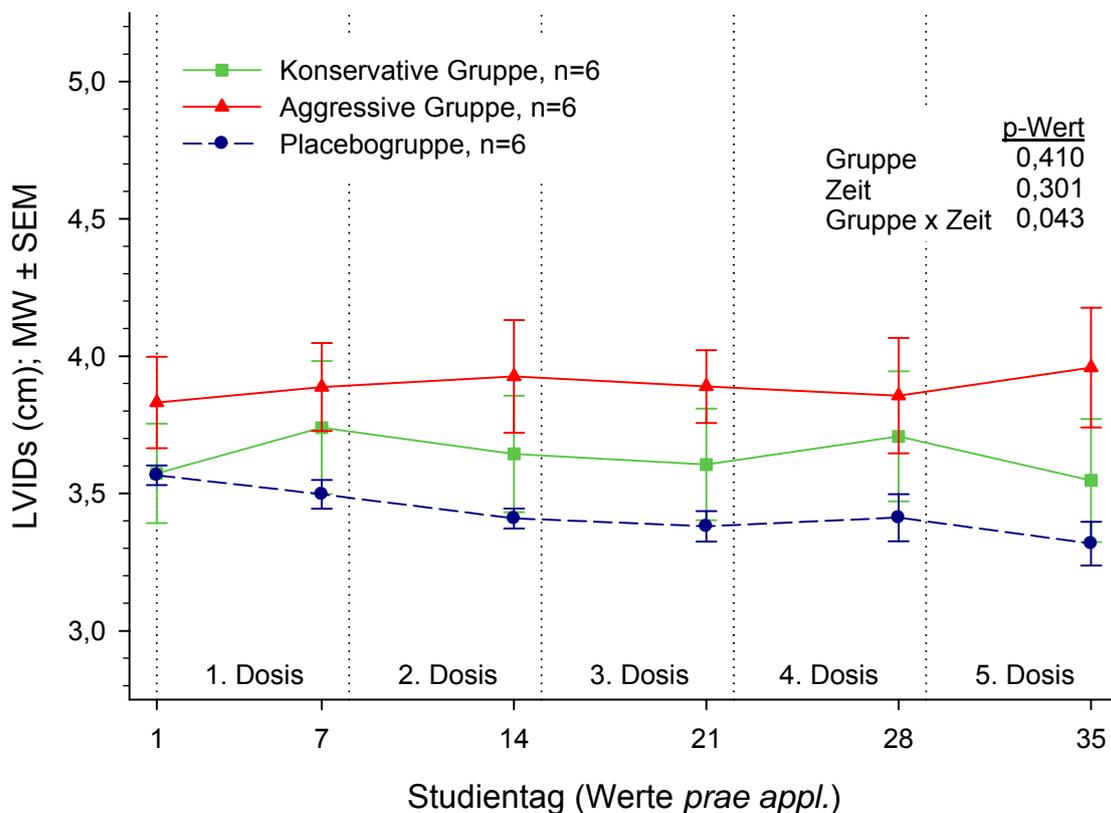
Tabelle 4.13: Linksventrikulärer endsystolischer Durchmesser (LVIDs) in den Behandlungsgruppen (MW \pm SEM) und Ergebnisse (p-Werte) der multiplen ANOVA t-Test Methode, Messungen 2h *post applicationem* (+2h)

	LVIDs (cm)			p-Wert (2-seitig)		
	Konserv. Gruppe (n=6)	Aggr. Gruppe (n=6)	Placebo-gruppe (n=6)	Konserv. vs. Placebo	Aggr. vs. Placebo	Konserv. vs. Aggr.
Ausgangswert	3,57 \pm 0,18	3,83 \pm 0,17	3,57 \pm 0,28	0,979	0,395	0,410
Tag 7 +2h	3,55 \pm 0,21	3,77 \pm 0,18	3,39 \pm 0,30	0,622	0,256	0,509
Tag 14 +2h	3,54 \pm 0,21	3,86 \pm 0,19	3,39 \pm 0,23	0,603	0,128	0,298
Tag 21 +2h	3,54 \pm 0,25	3,79 \pm 0,16	3,25 \pm 0,30	0,407	0,136	0,481
Tag 28 +2h	3,60 \pm 0,22	3,86 \pm 0,16	3,25 \pm 0,29	0,284	0,080	0,455
Tag 35 +2h	3,63 \pm 0,25	3,90 \pm 0,15	3,35 \pm 0,34	0,457	0,155	0,475

LVIDs - Messungen *prae applicationem*

Die Messergebnisse sind in folgender Abbildung getrennt für die drei Behandlungsgruppen dargestellt und in Tabelle 4.14 wiedergegeben.

Abbildung 4.13: Entwicklung des linksventrikulären endsystolischen Durchmessers (LVIDs) in den Behandlungsgruppen in den Messungen *prae applicationem* und Ergebnisse (p-Werte) der ANOVA für wiederholte Messungen (F-Tests)



Auch in den Messungen *prae applicationem* veränderte sich der LVIDs in der Gesamtpopulation während der Behandlungsphase nicht. Zwischen den Gruppen bestand kein globaler Unterschied, jedoch konnte abweichend von den Messungen 2h *post applicationem* eine Beziehung zwischen den Gruppen und dem zeitlichen Verlauf beobachtet werden (Abbildung 4.13). Diese wurde verursacht durch eine geringgradige Abnahme des LVIDs im Verlauf der Behandlung in der Placebogruppe ($0,25 \pm 0,08$ cm), während der Durchmesser in

der konservativ behandelten Gruppe quasi konstant blieb ($0,03 \pm 0,06$ cm Abnahme) und in der aggressiv behandelten Gruppe geringfügig zunahm ($0,13 \pm 0,07$ cm). Die in den Gruppen tendentiell unterschiedliche Entwicklung des LVIDs in den Messungen *prae applicationem* führte jedoch zu keinen statistisch offensichtlichen Unterschieden zwischen den Gruppen an einem der Messzeitpunkte (Tabelle 4.14).

Tabelle 4.14: Linksventrikulärer endsystolischer Durchmesser (LVIDs) in den Behandlungsgruppen (MW \pm SEM) und Ergebnisse (p-Werte) der multiplen ANOVA t-Test Methode, Messungen *prae applicationem* (+0h)

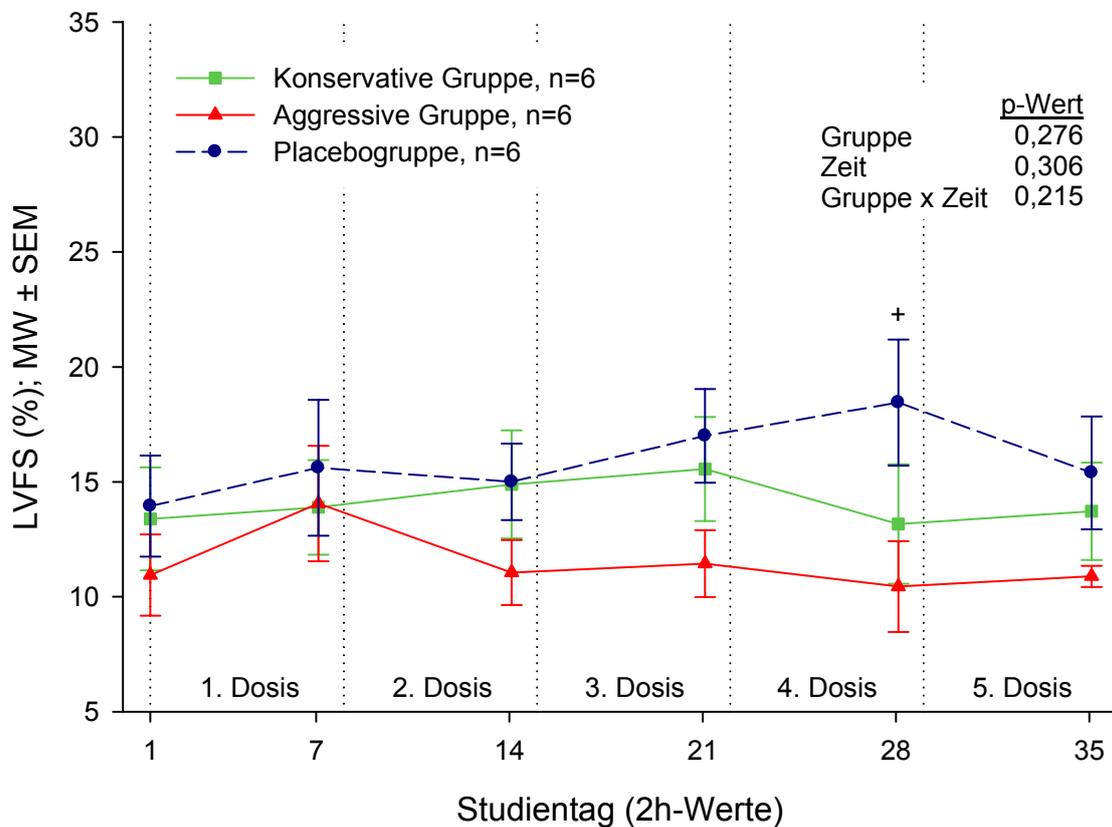
	LVIDs (cm)			p-Wert (2-seitig)		
	Konserv. Gruppe (n=6)	Aggr. Gruppe (n=6)	Placebo-gruppe (n=6)	Konserv. vs. Placebo	Aggr. vs. Placebo	Konserv. vs. Aggr.
Ausgangswert	3,57 \pm 0,18	3,83 \pm 0,17	3,57 \pm 0,28	0,979	0,395	0,410
Tag 7 +0h	3,74 \pm 0,24	3,89 \pm 0,16	3,50 \pm 0,33	0,510	0,294	0,685
Tag 14 +0h	3,64 \pm 0,21	3,93 \pm 0,20	3,41 \pm 0,30	0,506	0,155	0,427
Tag 21 +0h	3,61 \pm 0,20	3,89 \pm 0,13	3,38 \pm 0,30	0,490	0,129	0,384
Tag 28 +0h	3,71 \pm 0,24	3,86 \pm 0,21	3,41 \pm 0,33	0,441	0,252	0,695
Tag 35 +0h	3,55 \pm 0,22	3,96 \pm 0,22	3,32 \pm 0,30	0,530	0,091	0,264

4.2.3.3 Linksventrikuläre Verkürzungsfraction (LVFS)

LVFS – Messungen 2h post applicationem

Die Messergebnisse sind in folgender Abbildung getrennt für die drei Behandlungsgruppen dargestellt und in Tabelle 4.15 wiedergegeben.

Abbildung 4.14: Entwicklung der linksventrikulären Verkürzungsfraction (LVFS) in den Behandlungsgruppen in den Messungen 2h post applicationem und Ergebnisse (p-Werte) der ANOVA für wiederholte Messungen (F-Tests)



Symbole beziehen sich auf Ergebnisse der multiplen ANOVA t-Test Methode: +: $p < 0,05$ Aggressive Gruppe vs. Placebogruppe

In der Gesamtpopulation konnte in den Messungen 2h post applicationem keine Veränderung der LVFS für die Dauer der Behandlung beobachtet werden. Es bestanden kein globaler Unterschied zwischen den Gruppen und keine Interaktion zwischen den Gruppen und dem zeitlichen Verlauf (Abbildung 4.14). Aus

Abbildung 4.14 wird ersichtlich, dass der Beginn der Behandlung keinen negativen Effekt auf die LVFS hatte, deren Wert am Ende der 1. Behandlungswoche in jeder Gruppe über dem jeweiligen Ausgangswert lag. In der konservativ behandelten Gruppe hatte die LVFS in diesem Zeitraum um $0,5 \pm 0,8\%$ zugenommen, in der aggressiv behandelten Gruppe um $3,1 \pm 1,8\%$ und in der Placebogruppe um $1,7 \pm 2,3\%$. Auch steigende Dosierungen von Bisoprolol hatten keinen erkennbaren negativen Einfluss auf die Entwicklung der LVFS. In allen Gruppen kam es im Verlauf der Behandlungsphase sowohl zu Zu- als Abnahmen der LVFS in den Messungen 2h *post applicationem*, so dass sich die Werte am Ende der Studie nur minimal vom jeweiligen Ausgangswert unterschieden. Im statistischen Gruppenvergleich für die einzelnen Messzeitpunkte zeigte sich lediglich am Ende der 4. Woche ein erkennbarer Unterschied zwischen der aggressiv behandelten Gruppe und der Placebogruppe (Abbildung 4.14, Tabelle 4.15).

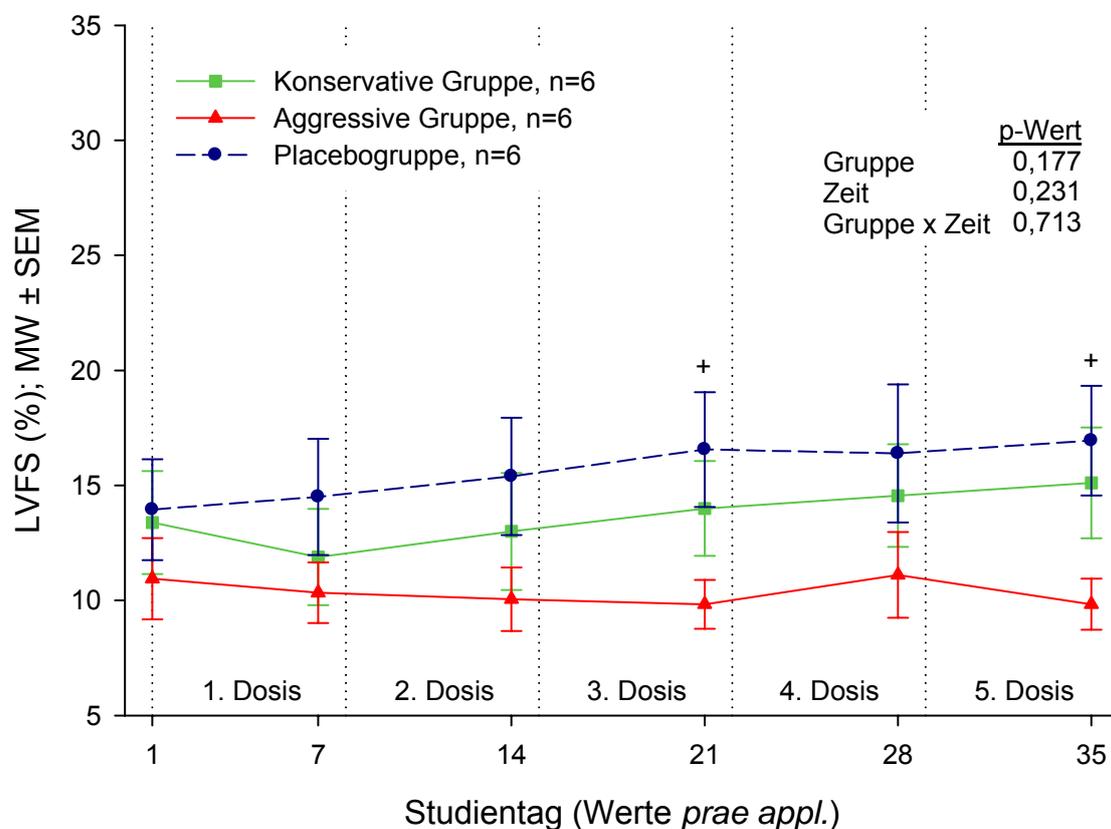
Tabelle 4.15: Linksventrikuläre Verkürzungsfunktion (LVFS) in den Behandlungsgruppen (MW \pm SEM) und Ergebnisse (p-Werte) der multiplen ANOVA t-Test Methode, Messungen 2h *post applicationem* (+2h)

	LVFS (%)			p-Wert (2-seitig)		
	Konserv. Gruppe (n=6)	Aggr. Gruppe (n=6)	Placebo-gruppe (n=6)	Konserv. vs. Placebo	Aggr. vs. Placebo	Konserv. vs. Aggr.
Ausgangswert	13,4 \pm 2,2	10,9 \pm 1,8	13,9 \pm 2,2	0,852	0,323	0,418
Tag 7 +2h	13,9 \pm 2,1	14,1 \pm 2,5	15,6 \pm 3,0	0,638	0,670	0,964
Tag 14 +2h	14,9 \pm 2,3	11,1 \pm 1,4	15,0 \pm 1,7	0,967	0,153	0,164
Tag 21 +2h	15,6 \pm 2,3	11,4 \pm 1,5	17,0 \pm 2,0	0,607	0,062	0,156
Tag 28 +2h	13,2 \pm 2,6	10,4 \pm 2,0	18,4 \pm 2,7	0,151	0,036	0,446
Tag 35 +2h	13,7 \pm 2,1	10,9 \pm 0,5	15,4 \pm 2,5	0,542	0,113	0,306

LVFS – Messungen *prae applicationem*

Die Messergebnisse sind in folgender Abbildung getrennt für die drei Behandlungsgruppen dargestellt und in Tabelle 4.16 wiedergegeben.

Abbildung 4.15: Entwicklung der linksventrikulären Verkürzungsfraction (LVFS) in den Behandlungsgruppen in den Messungen *prae applicationem* und Ergebnisse (p-Werte) der ANOVA für wiederholte Messungen (F-Tests)



Symbole beziehen sich auf Ergebnisse der multiplen ANOVA t-Test Methode: +: $p < 0,05$ Aggressive Gruppe vs. Placebogruppe

Übereinstimmend mit den Ergebnissen der Messungen 2h *post applicationem* fand auch in den Messungen *prae applicationem* keine Veränderung der LVFS in der Gesamtpopulation statt. Es bestanden kein globaler Unterschied zwischen den Gruppen und keine Wechselwirkung zwischen den Gruppen und dem Zeitpunkt der Messung (Abbildung 4.15). Im Vergleich zum Ausgangswert hatte die LVFS in

den Messungen *prae applicationem* am Studienende in der konservativ behandelten Gruppe und der Placebogruppe geringfügig zugenommen ($1,7 \pm 1,6\%$ in der konservativ behandelten Gruppe und $3,0 \pm 2,4\%$ in der Placebogruppe), während sie in der aggressiv behandelten Gruppe minimal abgenommen hatte ($1,1 \pm 1,1\%$). In der statistischen Analyse der einzelnen Messzeitpunkte führte das zu einem erkennbaren Unterschied zwischen der aggressiv behandelten Gruppe und der Placebogruppe am Ende der 3. und 5. Behandlungswoche (Abbildung 4.15, Tabelle 4.16).

Tabelle 4.16: Linksventrikuläre Verkürzungsfunktion (LVFS) in den Behandlungsgruppen (MW \pm SEM) und Ergebnisse (p-Werte) der multiplen ANOVA t-Test Methode, Messungen *prae applicationem* (+0h)

	LVFS (%)			p-Wert (2-seitig)		
	Konserv. Gruppe (n=6)	Aggr. Gruppe (n=6)	Placebo-gruppe (n=6)	Konserv. vs. Placebo	Aggr. vs. Placebo	Konserv. vs. Aggr.
Ausgangswert	13,4 \pm 2,2	10,9 \pm 1,8	13,9 \pm 2,2	0,852	0,323	0,418
Tag 7 +0h	11,9 \pm 2,1	10,3 \pm 1,3	14,5 \pm 2,5	0,379	0,169	0,598
Tag 14 +0h	13,0 \pm 2,5	10,1 \pm 1,4	15,4 \pm 2,6	0,460	0,111	0,365
Tag 21 +0h	14,0 \pm 2,1	9,8 \pm 1,1	16,6 \pm 2,5	0,373	0,029	0,155
Tag 28 +0h	14,6 \pm 2,2	11,1 \pm 1,9	16,4 \pm 3,0	0,599	0,143	0,330
Tag 35 +0h	15,1 \pm 2,4	9,8 \pm 1,1	16,9 \pm 2,4	0,539	0,028	0,090

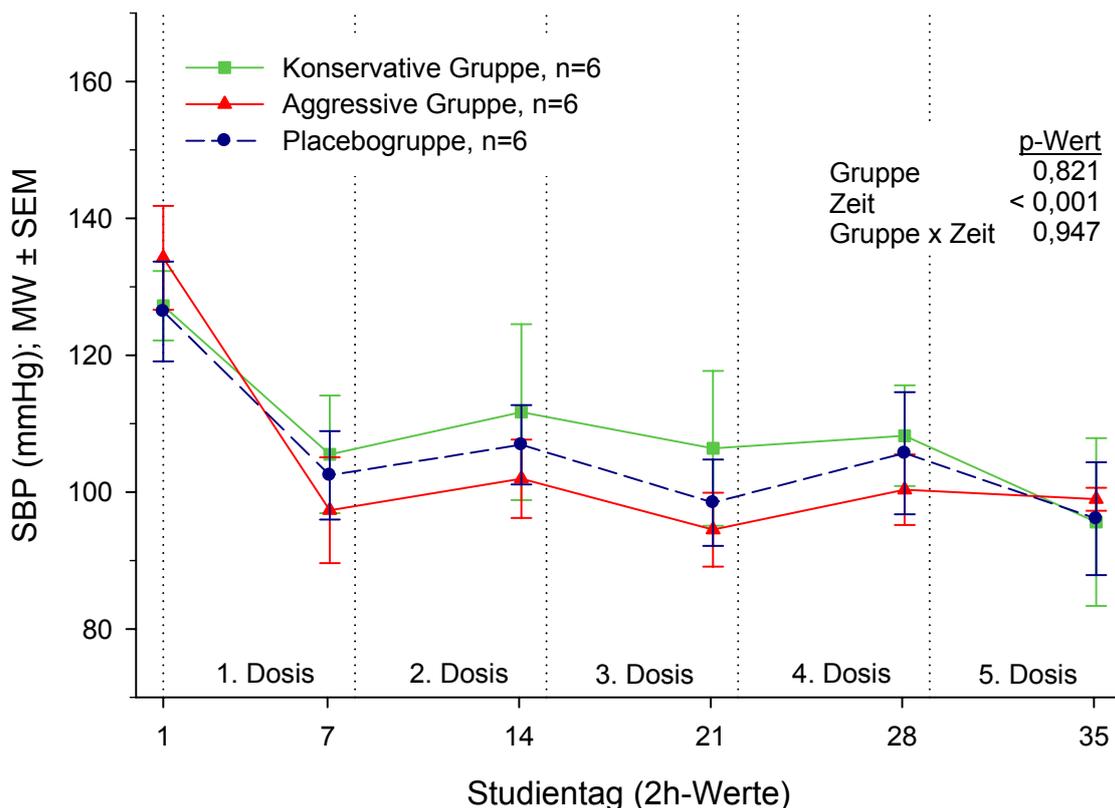
4.2.4 Messung des Blutdrucks

4.2.4.1 Systolischer Blutdruck (SBP)

SBP – Messungen 2h post applicationem

Die Messergebnisse sind in folgender Abbildung getrennt für die drei Behandlungsgruppen dargestellt und in Tabelle 4.17 wiedergegeben.

Abbildung 4.16: Entwicklung des systolischen Blutdrucks (SBP) in den Behandlungsgruppen in den Messungen 2h post applicationem und Ergebnisse (p-Werte) der ANOVA für wiederholte Messungen (F-Tests)



In den Messungen 2h post applicationem fand in der Gesamtpopulation eine Abnahme des SBP über den Behandlungszeitraum statt, wobei weder ein globaler Unterschied zwischen den Gruppen noch eine Interaktion zwischen Gruppe und

Messzeitpunkt bestanden (Abbildung 4.16). In allen drei Gruppen erfolgte mit dem Beginn der Therapie eine deutliche Reduktion des SBP während der 1. Behandlungswoche, die in der konservativ behandelten Gruppe 22 ± 6 mmHg betrug, in der aggressiv behandelten Gruppe 37 ± 12 mmHg und in der Placebogruppe 24 ± 9 mmHg. Nach dieser initialen Senkung konnte in den mit Bisoprolol behandelten Gruppen auch mit steigenden Dosierungen von Bisoprolol keine weitere anhaltende Abnahme des SBP beobachtet werden. Am Ende der Studie war der SBP in den Messungen 2h *post applicationem* in allen Gruppen um ein ähnliches Ausmaß gesunken. Zu keinem der Messzeitpunkte bestand ein statistisch bedeutender Unterschied zwischen den Gruppen (Tabelle 4.17).

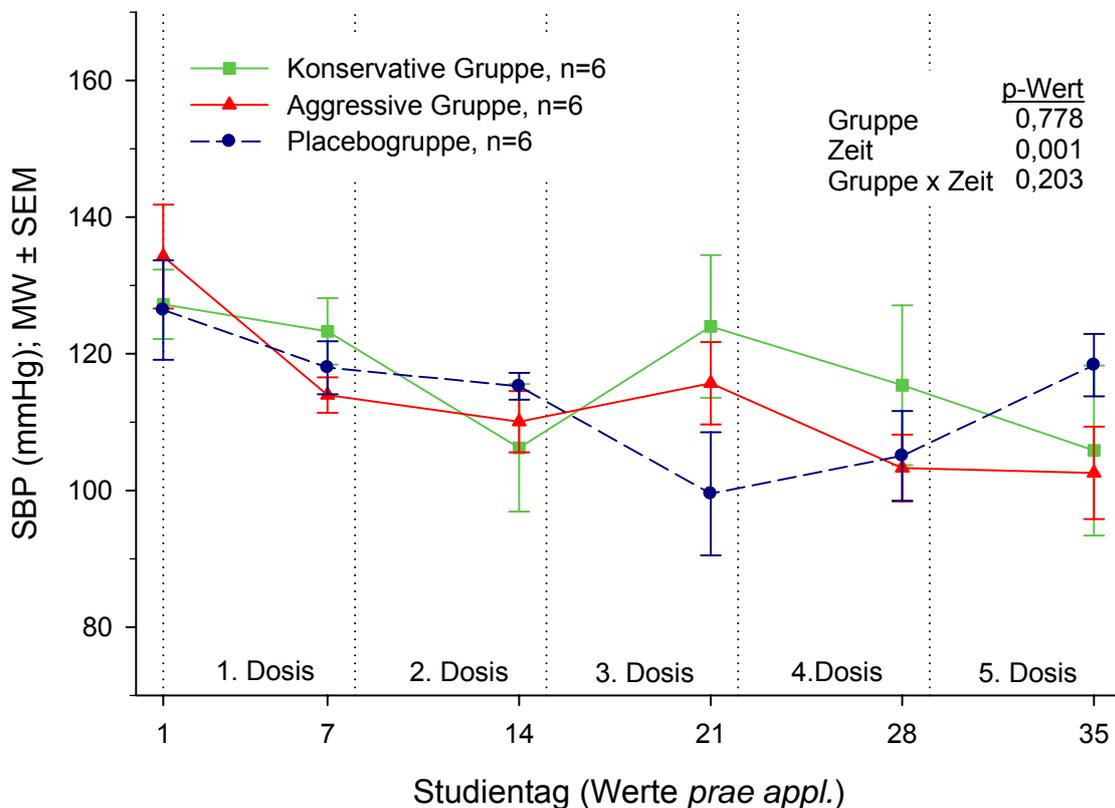
Tabelle 4.17: Systolischer Blutdruck (SBP) in den Behandlungsgruppen (MW \pm SEM) und Ergebnisse (p-Werte) der multiplen ANOVA t-Test Methode, Messungen 2h *post applicationem* (+2h)

	SBP (mmHg)			p-Wert (2-seitig)		
	Konserv. Gruppe (n=6)	Aggr. Gruppe (n=6)	Placebo-gruppe (n=6)	Konserv. vs. Placebo	Aggr. vs. Placebo	Konserv. vs. Aggr.
Ausgangswert	127 \pm 5	134 \pm 8	126 \pm 7	0,931	0,425	0,475
Tag 7 +2h	106 \pm 9	97 \pm 8	102 \pm 6	0,781	0,643	0,462
Tag 14 +2h	112 \pm 13	102 \pm 6	107 \pm 6	0,706	0,697	0,446
Tag 21 +2h	106 \pm 11	95 \pm 5	98 \pm 6	0,499	0,736	0,316
Tag 28 +2h	108 \pm 7	100 \pm 5	106 \pm 9	0,808	0,614	0,457
Tag 35 +2h	96 \pm 12	99 \pm 2	96 \pm 8	0,968	0,819	0,788

SBP – Messungen *prae applicationem*

Die Messergebnisse sind in folgender Abbildung getrennt für die drei Behandlungsgruppen dargestellt und in Tabelle 4.18 wiedergegeben.

Abbildung 4.17: Entwicklung des systolischen Blutdrucks (SBP) in den Behandlungsgruppen in den Messungen *prae applicationem* und Ergebnisse (p-Werte) der ANOVA für wiederholte Messungen (F-Tests)



Wie in den Messungen 2h *post applicationem* sank auch in den Messungen *prae applicationem* im Verlauf der Behandlungsphase der SBP in der Gesamtpopulation, wobei kein globaler Unterschied zwischen den Gruppen und keine Wechselwirkung zwischen den Gruppen und dem zeitlichen Verlauf bestanden (Abbildung 4.17). Die Reduktion des SBP im Verlauf der 1. Behandlungswoche war zu diesem Messzeitpunkt in den Gruppen weniger stark ausgeprägt als in den Messungen 2h *post applicationem*. Im weiteren Verlauf der Behandlungsphase

fanden in jeder Gruppe unregelmäßig sowohl Zu- als auch Abnahmen des SBP statt. Am Ende der Studie hatte in der Messung *prae applicationem* der SBP in der konservativ behandelten Gruppe um 21 ± 11 mmHg im Vergleich zum Ausgangswert abgenommen. In der aggressiv behandelten Gruppe sank er im gleichen Zeitraum um 32 ± 13 mmHg und in der Placebogruppe um 8 ± 11 mmHg. Zu keinem der Messzeitpunkte *prae applicationem* traten statistisch relevante Unterschiede zwischen den Gruppen auf (Tabelle 4.18).

Tabelle 4.18: Systolischer Blutdruck (SBP) in den Behandlungsgruppen (MW \pm SEM) und Ergebnisse (p-Werte) der multiplen ANOVA t-Test Methode, Messungen *prae applicationem* (+0h)

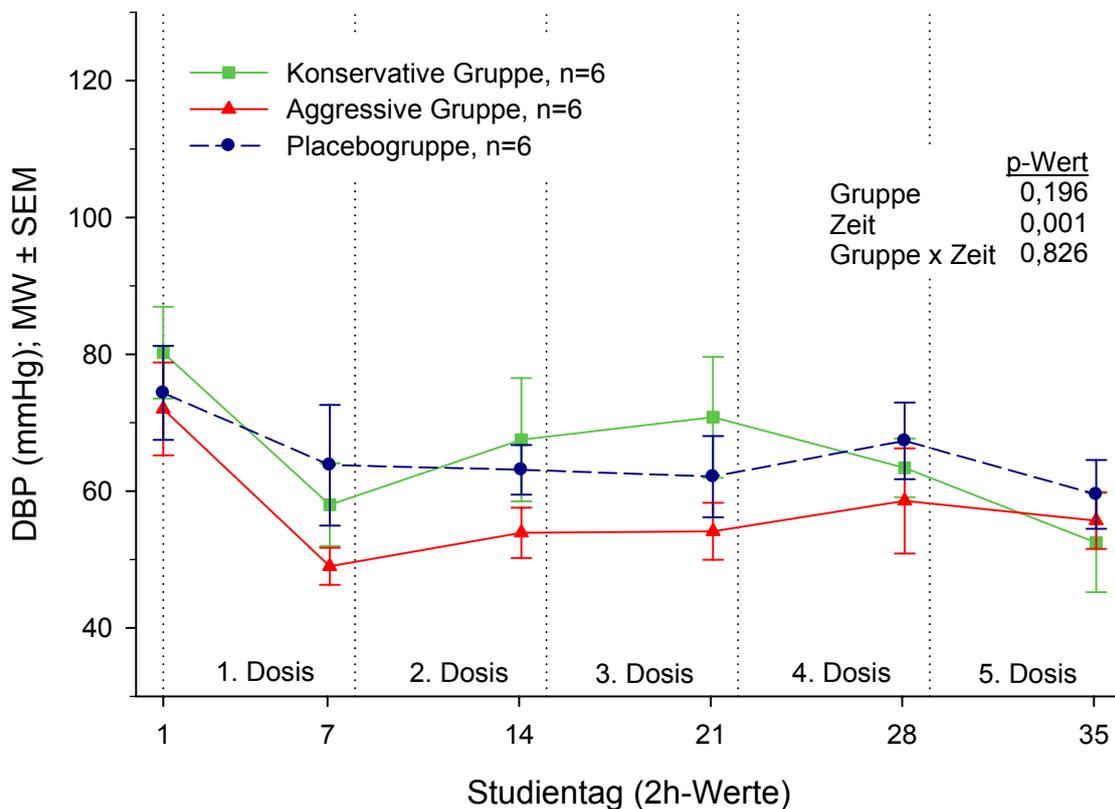
	SBP (mmHg)			p-Wert (2-seitig)		
	Konserv. Gruppe (n=6)	Aggr. Gruppe (n=6)	Placebo-gruppe (n=6)	Konserv. vs. Placebo	Aggr. vs. Placebo	Konserv. vs. Aggr.
Ausgangswert	127 \pm 5	134 \pm 8	126 \pm 7	0,931	0,425	0,475
Tag 7 +0h	123 \pm 5	114 \pm 3	118 \pm 4	0,346	0,477	0,109
Tag 14 +0h	106 \pm 9	110 \pm 4	115 \pm 2	0,312	0,557	0,662
Tag 21 +0h	124 \pm 10	116 \pm 6	100 \pm 9	0,065	0,208	0,508
Tag 28 +0h	115 \pm 12	103 \pm 5	105 \pm 7	0,389	0,881	0,315
Tag 35 +0h	106 \pm 12	103 \pm 7	118 \pm 5	0,320	0,214	0,791

4.2.4.2 Diastolischer Blutdruck (DBP)

DBP – Messungen 2h post applicationem

Die Messergebnisse sind in folgender Abbildung getrennt für die drei Behandlungsgruppen dargestellt und in Tabelle 4.19 wiedergegeben.

Abbildung 4.18: Entwicklung des diastolischen Blutdrucks (DBP) in den Behandlungsgruppen in den Messungen 2h post applicationem und Ergebnisse (p-Werte) der ANOVA für wiederholte Messungen (F-Tests)



Der DBP nahm in den Messungen 2h post applicationem in der Gesamtpopulation über den Zeitraum der Behandlungsphase hinweg ab. Ein globaler Unterschied zwischen den Gruppen oder eine Interaktion zwischen den Gruppen und dem zeitlichen Verlauf bestanden jedoch nicht (Abbildung 4.18). Abbildung 4.18 zeigt, dass die Reduktion des DBP innerhalb der 1. Behandlungswoche in beiden mit

Bisoprolol behandelten Gruppen deutlicher war als in der Placebogruppe. Von der Messung vor der 1. Behandlung bis zur Messung 2h *post applicationem* am 7. Tag sank der Wert in der konservativ behandelten Gruppe um 22 ± 6 mmHg und in der aggressiv behandelten Gruppe um 23 ± 9 mmHg, während in der Kontrollgruppe nur eine Reduktion von 11 ± 15 mmHg gemessen wurde. In der konservativ behandelten Gruppe stieg der 2h-Wert in der 2. und 3. Behandlungswoche noch einmal an, bevor er in der folgenden Zeit wieder abfiel, und am Ende der 5. Woche gleichauf mit dem Wert in der aggressiv behandelten Gruppe lag. Die 2h-Werte der aggressiv behandelten Gruppe stiegen nach der 1. Woche im Verlauf der verbleibenden Behandlungszeit leicht an, während sie in der Placebogruppe auf dem Niveau verblieben, das sie am Ende der 1. Woche erreicht hatten. Zu keinem der Messzeitpunkte bestanden jedoch statistisch bedeutende Unterschiede zwischen den Gruppen (Tabelle 4.19).

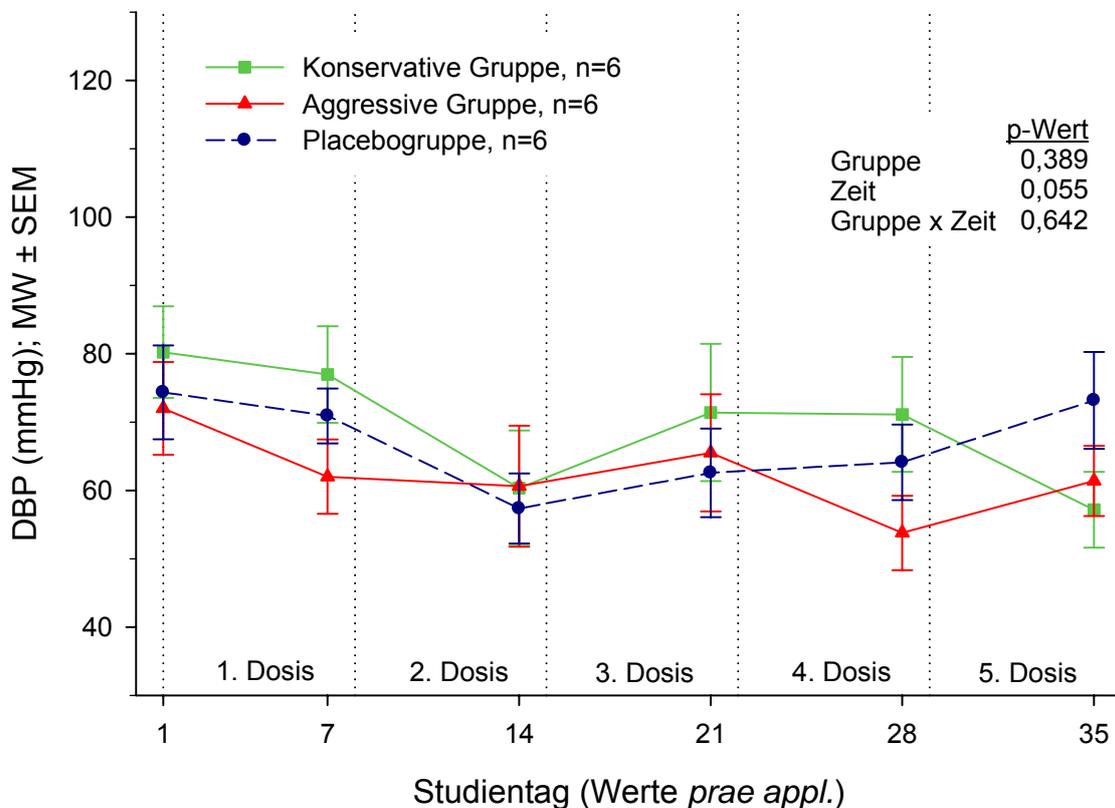
Tabelle 4.19: Diastolischer Blutdruck (DBP) in den Behandlungsgruppen (MW \pm SEM) und Ergebnisse (p-Werte) der multiplen ANOVA t-Test Methode, Messungen 2h *post applicationem* (+2h)

	DBP (mmHg)			p-Wert (2-seitig)		
	Konserv. Gruppe (n=6)	Aggr. Gruppe (n=6)	Placebo-gruppe (n=6)	Konserv. vs. Placebo	Aggr. vs. Placebo	Konserv. vs. Aggr.
Ausgangswert	80 \pm 7	72 \pm 7	74 \pm 7	0,548	0,811	0,405
Tag 7 +2h	58 \pm 6	49 \pm 3	64 \pm 9	0,531	0,121	0,333
Tag 14 +2h	68 \pm 9	54 \pm 4	63 \pm 4	0,612	0,294	0,129
Tag 21 +2h	71 \pm 9	54 \pm 4	62 \pm 6	0,368	0,405	0,095
Tag 28 +2h	63 \pm 4	59 \pm 8	67 \pm 6	0,650	0,319	0,579
Tag 35 +2h	52 \pm 7	56 \pm 4	60 \pm 5	0,389	0,637	0,691

DBP – Messungen *prae applicationem*

Die Messergebnisse sind in folgender Abbildung getrennt für die drei Behandlungsgruppen dargestellt und in Tabelle 4.20 wiedergegeben.

Abbildung 4.19: Entwicklung des diastolischen Blutdrucks (DBP) in den Behandlungsgruppen in den Messungen *prae applicationem* und Ergebnisse (p-Werte) der ANOVA für wiederholte Messungen (F-Tests)



Im Gegensatz zu den Messungen 2h *post applicationem* zeigte der DBP in den Messungen *prae applicationem* in der Gesamtpopulation über den Behandlungszeitraum hinweg keine Veränderung. Es bestanden kein globaler Unterschied zwischen den Gruppen und keine Wechselwirkung zwischen den Gruppen und dem Messzeitpunkt (Abbildung 4.19). Abbildung 4.19 zeigt, dass in den Gruppen einheitlich eine geringe Reduktion des DBP im Verlauf der 1. Behandlungswoche erfolgte, die mit 10 ± 7 mmHg Reduktion in der aggressiv

behandelten Gruppe am deutlichsten war. In keiner der Gruppen konnte im weiteren Verlauf der Studie eine anhaltende Zu- oder Abnahme des DBP beobachtet werden und bei keiner der Messungen *prae applicationem* konnte ein statistisch relevanter Unterschied zwischen den Gruppen festgestellt werden (Tabelle 4.20).

Tabelle 4.20: Diastolischer Blutdruck (DBP) in den Behandlungsgruppen (MW \pm SEM) und Ergebnisse (p-Werte) der multiplen ANOVA t-Test Methode, Messungen *prae applicationem* (+0h)

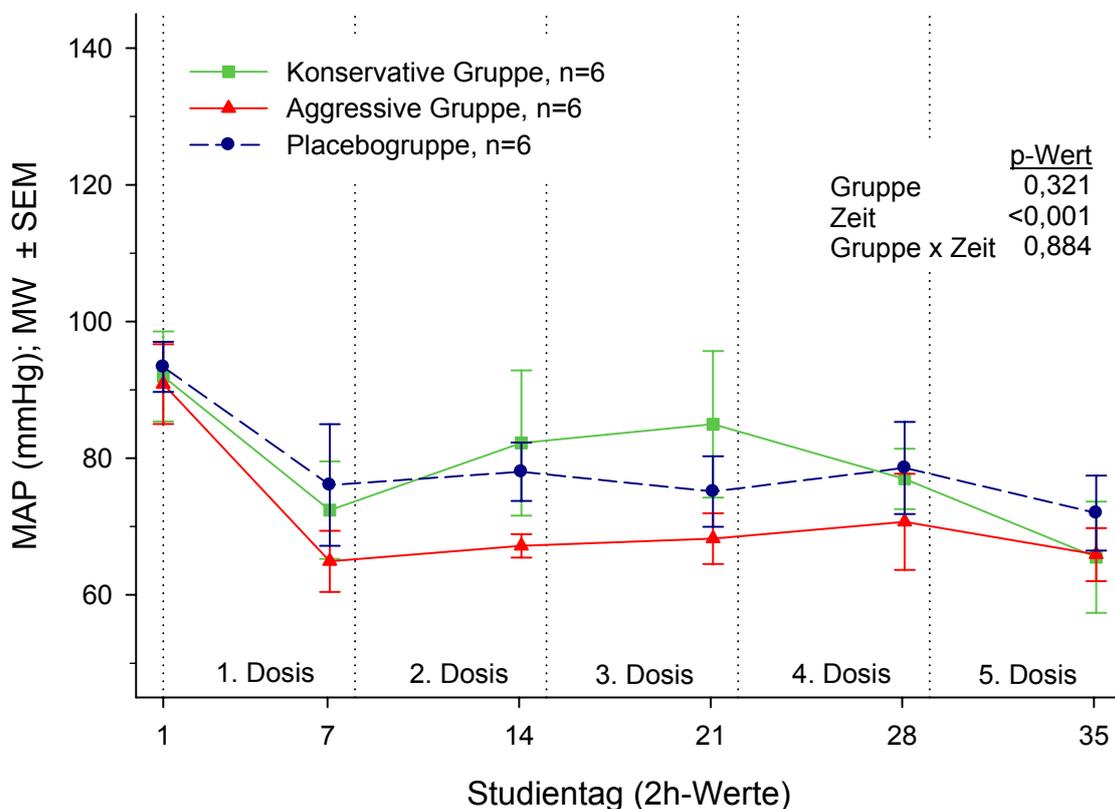
	DBP (mmHg)			p-Wert (2-seitig)		
	Konserv. Gruppe (n=6)	Aggr. Gruppe (n=6)	Placebo-gruppe (n=6)	Konserv. vs. Placebo	Aggr. vs. Placebo	Konserv. vs. Aggr.
Ausgangswert	80 \pm 7	72 \pm 7	74 \pm 7	0,548	0,811	0,405
Tag 7 +0h	77 \pm 7	62 \pm 5	71 \pm 4	0,460	0,283	0,081
Tag 14 +0h	60 \pm 8	61 \pm 9	57 \pm 5	0,786	0,766	0,980
Tag 21 +0h	71 \pm 10	66 \pm 9	63 \pm 6	0,473	0,810	0,631
Tag 28 +0h	71 \pm 8	54 \pm 5	64 \pm 6	0,465	0,286	0,083
Tag 35 +0h	57 \pm 6	61 \pm 5	73 \pm 7	0,078	0,184	0,625

4.2.4.3 Mittlerer arterieller Blutdruck (MAP)

MAP – Messungen 2h post applicationem

Die Messergebnisse sind in folgender Abbildung getrennt für die drei Behandlungsgruppen dargestellt und in Tabelle 4.21 wiedergegeben.

Abbildung 4.20: Entwicklung des mittleren arteriellen Blutdrucks (MAP) in den Behandlungsgruppen in den Messungen 2h post applicationem und Ergebnisse (p-Werte) der ANOVA für wiederholte Messungen (F-Tests)



In den Messungen 2h post applicationem erfolgte eine Abnahme des MAP in der Gesamtpopulation über den Behandlungszeitraum. Ein globaler Unterschied zwischen den Gruppen oder eine Interaktion zwischen den Gruppen und dem Messzeitpunkt bestanden jedoch nicht (Abbildung 4.20). Wie im Fall des SBP fand die Reduktion in allen drei Gruppen vor allem innerhalb der 1. Woche statt und

war in der aggressiv behandelten Gruppe mit 26 ± 9 mmHg am ausgeprägtesten. Im Verlauf der Behandlungsphase stieg der 2h-Wert in der konservativ behandelten Gruppe bis zum Ende der 3. Behandlungswoche an, bevor er wieder abfiel und am Ende der Behandlungsphase gleichauf lag mit dem Wert der aggressiv behandelten Gruppe. In der aggressiv behandelten Gruppe und der Placebogruppe traten während der Behandlungsphase lediglich geringe Schwankungen innerhalb der 2h-Werte auf. Sie verblieben auf dem Niveau, das sie am Ende der 1. Behandlungswoche erreicht hatten. Am Ende der Studie war der MAP in der konservativ behandelten Gruppe insgesamt um 26 ± 7 mmHg gefallen, in der aggressiv behandelten Gruppe um 25 ± 7 mmHg und in der Placebogruppe um 21 ± 4 mmHg. An keinem der untersuchten Zeitpunkte bestand ein statistisch offensichtlicher Unterschied zwischen den Gruppen (Tabelle 4.21).

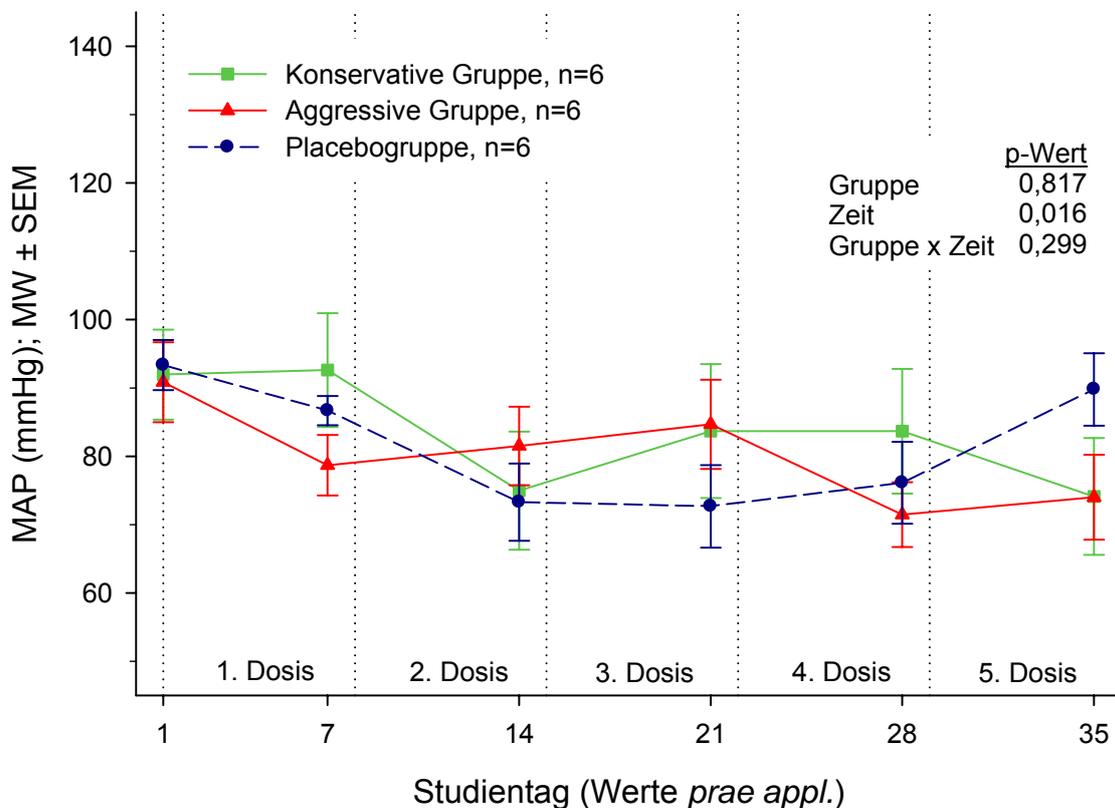
Tabelle 4.21: Mittlerer arterieller Blutdruck (MAP) in den Behandlungsgruppen (MW \pm SEM) und Ergebnisse (p-Werte) der multiplen ANOVA t-Test Methode, Messungen 2h *post applicationem* (+2h)

	MAP (mmHg)			p-Wert (2-seitig)		
	Konserv. Gruppe (n=6)	Aggr. Gruppe (n=6)	Placebo-gruppe (n=6)	Konserv. vs. Placebo	Aggr. vs. Placebo	Konserv. vs. Aggr.
Ausgangswert	92 \pm 7	91 \pm 6	93 \pm 4	0,861	0,753	0,888
Tag 7 +2h	72 \pm 7	65 \pm 5	76 \pm 9	0,719	0,281	0,465
Tag 14 +2h	82 \pm 11	67 \pm 2	78 \pm 4	0,662	0,270	0,132
Tag 21 +2h	85 \pm 11	68 \pm 4	75 \pm 5	0,350	0,509	0,122
Tag 28 +2h	77 \pm 4	71 \pm 7	79 \pm 7	0,856	0,380	0,483
Tag 35 +2h	66 \pm 8	66 \pm 4	72 \pm 5	0,466	0,493	0,965

MAP – Messungen *prae applicationem*

Die Messergebnisse sind in folgender Abbildung getrennt für die drei Behandlungsgruppen dargestellt und in Tabelle 4.22 wiedergegeben.

Abbildung 4.21: Entwicklung des mittleren arteriellen Blutdrucks (MAP) in den Behandlungsgruppen in den Messungen *prae applicationem* und Ergebnisse (p-Werte) der ANOVA für wiederholte Messungen (F-Tests)



Auch in den Messungen *prae applicationem* fand in der Gesamtpopulation eine Abnahme des MAP während der Behandlungsphase statt. Es bestand jedoch wiederum kein globaler Unterschied zwischen den Gruppen oder eine Wechselwirkung zwischen den Gruppen und dem zeitlichem Verlauf (Abbildung 4.21). Wie aus Abbildung 4.21 ersichtlich wird, war in keiner der Gruppen eine kontinuierliche Entwicklungstendenz des MAP auszumachen. Insgesamt kam es in der konservativ und in der aggressiv behandelten Gruppe im Verlauf der

Behandlungsphase zu einer Reduktion des MAP um 18 ± 12 mmHg bzw. 17 ± 12 mmHg, während die Werte in der Placebogruppe am Ende der letzten Woche das gleiche Niveau aufwiesen wie zu Beginn der Behandlungsphase (4 ± 9 mmHg Abnahme). Bei keiner der Messungen *prae applicationem* bestand ein statistisch bedeutender Unterschied zwischen den Gruppen (Tabelle 4.22).

Tabelle 4.22: Mittlerer arterieller Blutdruck (MAP) in den Behandlungsgruppen (MW \pm SEM) und Ergebnisse (p-Werte) der multiplen ANOVA t-Test Methode, Messungen *prae applicationem* (+0h)

	MAP (mmHg)			p-Wert (2-seitig)		
	Konserv. Gruppe (n=6)	Aggr. Gruppe (n=6)	Placebo-gruppe (n=6)	Konserv. vs. Placebo	Aggr. vs. Placebo	Konserv. vs. Aggr.
Ausgangswert	92 \pm 7	91 \pm 6	93 \pm 4	0,861	0,753	0,888
Tag 7 +0h	93 \pm 8	79 \pm 4	87 \pm 2	0,464	0,328	0,098
Tag 14 +0h	75 \pm 9	82 \pm 6	73 \pm 6	0,865	0,407	0,507
Tag 21 +0h	84 \pm 10	85 \pm 7	73 \pm 6	0,325	0,285	0,928
Tag 28 +0h	84 \pm 9	71 \pm 5	76 \pm 6	0,449	0,638	0,228
Tag 35 +0h	74 \pm 9	74 \pm 6	90 \pm 5	0,126	0,123	0,991

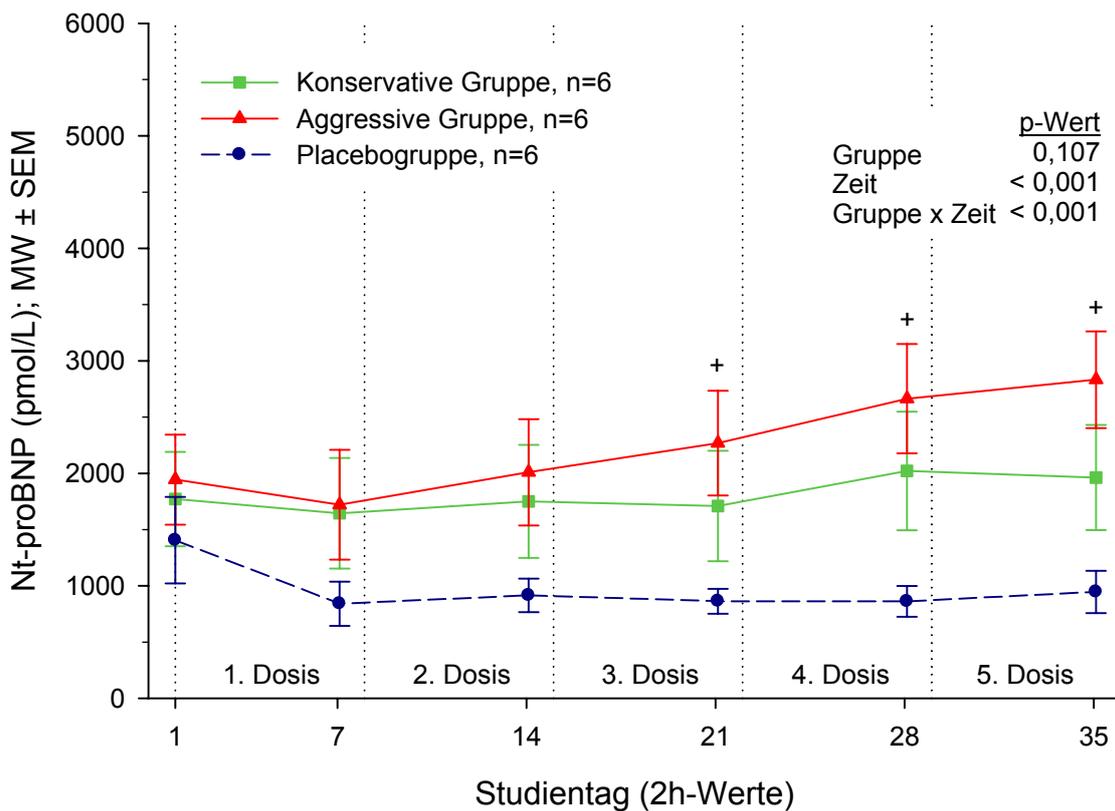
4.2.5 Blutuntersuchungen

4.2.5.1 Nt-proBNP

Nt-proBNP - Messungen 2h post applicationem

Die Messergebnisse sind in folgender Abbildung getrennt für die drei Behandlungsgruppen dargestellt und in Tabelle 4.23 wiedergegeben.

Abbildung 4.22: Entwicklung des Nt-proBNP Plasmagehalts in den Behandlungsgruppen in den Messungen 2h post applicationem und Ergebnisse (p-Werte) der ANOVA für wiederholte Messungen (F-Tests)



Symbole beziehen sich auf Ergebnisse der multiplen ANOVA t-Test Methode: +: $p < 0,05$ Aggressive Gruppe vs. Placebogruppe

In den Messungen 2h post applicationem erfolgte im Verlauf der Behandlungsphase eine Zunahme des Plasmagehaltes von Nt-proBNP in der

Gesamtpopulation. Es bestand kein globaler Unterschied zwischen den Gruppen, jedoch eine Interaktion zwischen der Gruppe und dem Messzeitpunkt (Abbildung 4.22). In allen Gruppen fand zunächst innerhalb der 1. Woche nach Beginn der Behandlung eine Abnahme des Nt-proBNP Gehaltes im Plasma statt, wobei die Reduktion in der Placebogruppe am deutlichsten ausfiel. Im weiteren Studienverlauf verblieben die Werte in dieser Gruppe auf einem konstanten Niveau. In den mit Bisoprolol behandelten Gruppen konnte ein kontinuierlicher Wiederanstieg des Nt-proBNP Gehaltes bis zum Ende der Behandlungsphase beobachtet werden, der in der aggressiv behandelten Gruppe ausgeprägter war als in der konservativ behandelten Gruppe. Am Ende der Studie war im Vergleich zum Ausgangswert der Plasmagehalt an Nt-proBNP in den Messungen 2h *post applicationem* in der konservativ behandelten Gruppe um 192 ± 172 pmol/L gestiegen, in der aggressiv behandelten Gruppe um 888 ± 175 pmol/L und in der Placebogruppe um 461 ± 209 pmol/L gefallen. Der Anstieg des Nt-proBNP Gehaltes in der aggressiv behandelten Gruppe führte erstmals am Ende der 3. Behandlungswoche zu einem statistisch bedeutenden Unterschied zwischen dieser Gruppe und der Placebogruppe, der für die verbleibende Studiendauer bestehen blieb (Abbildung 4.22, Tabelle 4.23).

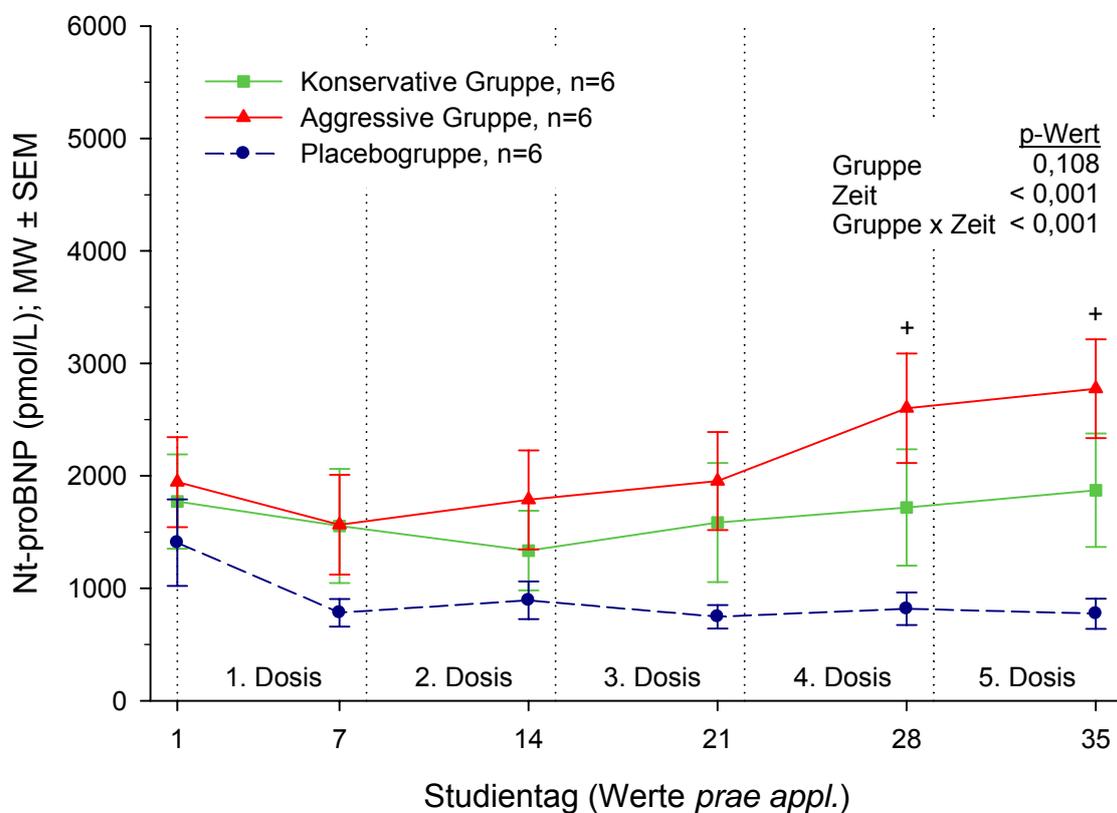
Tabelle 4.23: Plasmagehalt von Nt-proBNP in den Behandlungsgruppen (MW \pm SEM) und Ergebnisse (p-Werte) der multiplen ANOVA t-Test Methode, Messungen 2h *post applicationem* (+2h)

	Nt-proBNP (pmol/L)			p-Wert (2-seitig)		
	Konserv. Gruppe (n=6)	Aggr. Gruppe (n=6)	Placebo-gruppe (n=6)	Konserv. vs. Placebo	Aggr. vs. Placebo	Konserv. vs. Aggr.
Ausgangswert	1771 \pm 419	1945 \pm 400	1406 \pm 385	0,530	0,358	0,764
Tag 7 +2h	1645 \pm 492	1721 \pm 487	840 \pm 197	0,222	0,184	0,901
Tag 14 +2h	1751 \pm 502	2010 \pm 472	914 \pm 149	0,167	0,076	0,660
Tag 21 +2h	1709 \pm 492	2269 \pm 466	863 \pm 110	0,152	0,024	0,334
Tag 28 +2h	2022 \pm 527	2664 \pm 486	862 \pm 138	0,071	0,009	0,299
Tag 35 +2h	1963 \pm 467	2833 \pm 429	945 \pm 189	0,079	0,003	0,129

Nt-proBNP - Messungen *prae applicationem*

Die Messergebnisse sind in folgender Abbildung getrennt für die drei Behandlungsgruppen dargestellt und in Tabelle 4.24 wiedergegeben.

Abbildung 4.23: Entwicklung des Nt-proBNP Plasmagehalts in den Behandlungsgruppen in den Messungen *prae applicationem* und Ergebnisse (p-Werte) der ANOVA für wiederholte Messungen (F-Tests)



Symbole beziehen sich auf Ergebnisse der multiplen ANOVA t-Test Methode: +: $p < 0,05$ Aggressive Gruppe vs. Placebogruppe

Die Beobachtungen bezüglich des Plasmagehalts von Nt-proBNP in den Messungen *prae applicationem* sind nahezu identisch mit denen der Messungen *2h post applicationem*. Im Verlauf der Behandlungsphase fand in der Gesamtpopulation eine Zunahme des Nt-proBNP Gehalts statt. Es bestand kein globaler Unterschied zwischen den Gruppen, jedoch ein Zusammenhang zwischen der Gruppe und dem zeitlichen Verlauf der Ergebnisse (Abbildung 4.23). Die auftretenden Zu- und Abnahmen lagen dabei in der gleichen Größenordnung.

wie die Veränderungen in den Messungen 2h *post applicationem*. Innerhalb der 1. Behandlungswoche erfolgte in allen Gruppen eine Abnahme des Nt-proBNP Gehalts und im weiteren Verlauf der Studie ein Wiederanstieg des Gehalts in den mit Bisoprolol behandelten Gruppen. Im Fall der Messungen *prae applicationem* konnte erst am Ende der 4. Behandlungswoche ein statistisch erkennbarer Unterschied zwischen der aggressiv behandelten Gruppe und der Placebogruppe festgestellt werden, der wiederum bis zum Ende der Studie bestehen blieb (Abbildung 4.23, Tabelle 4.24).

Tabelle 4.24: Plasmagehalt von Nt-proBNP in den Behandlungsgruppen (MW \pm SEM) und Ergebnisse (p-Werte) der multiplen ANOVA t-Test Methode, Messungen *prae applicationem* (+0h)

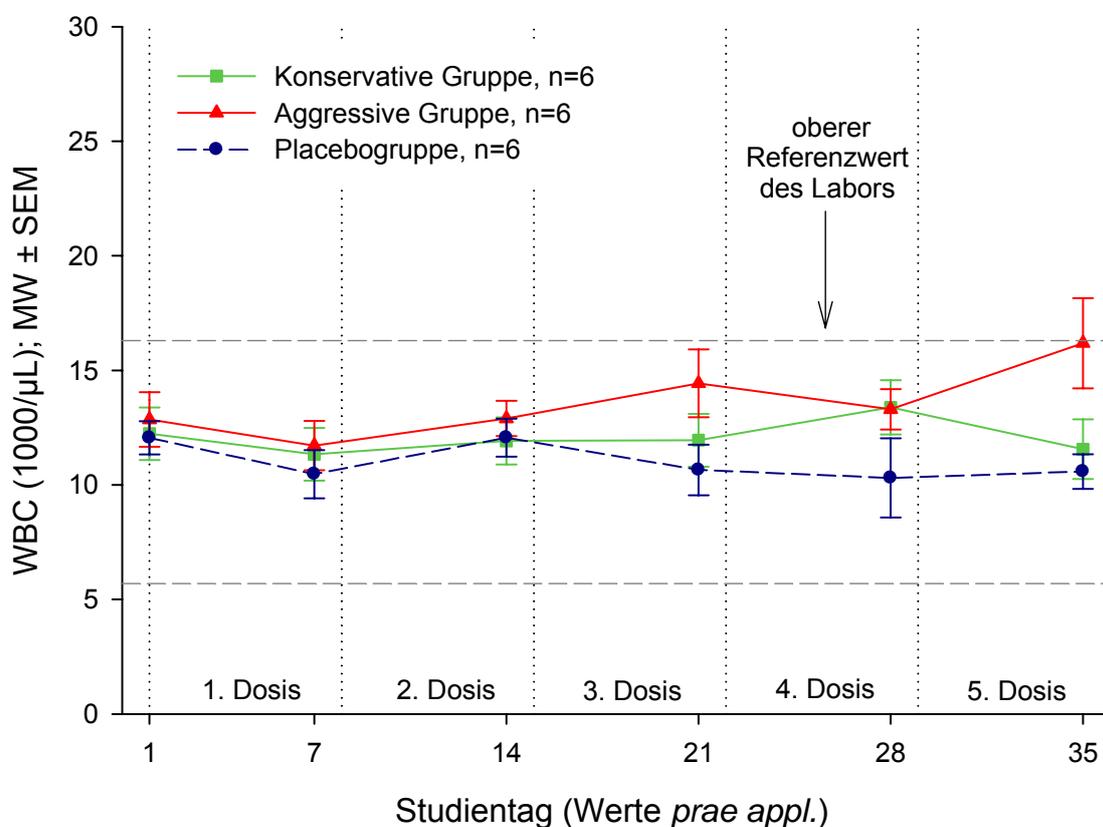
	Nt-proBNP (pmol/L)			p-Wert (2-seitig)		
	Konserv. Gruppe (n=6)	Aggr. Gruppe (n=6)	Placebo-gruppe (n=6)	Konserv. vs. Placebo	Aggr. vs. Placebo	Konserv. vs. Aggr.
Ausgangswert	1771 \pm 419	1945 \pm 400	1406 \pm 385	0,530	0,358	0,764
Tag 7 +0h	1554 \pm 507	1565 \pm 443	782 \pm 123	0,187	0,182	0,985
Tag 14 +0h	1335 \pm 354	1768 \pm 439	893 \pm 167	0,371	0,082	0,362
Tag 21 +0h	1585 \pm 530	1953 \pm 435	747 \pm 104	0,160	0,050	0,526
Tag 28 +0h	1719 \pm 518	2602 \pm 487	818 \pm 145	0,149	0,009	0,157
Tag 35 +0h	1872 \pm 505	2775 \pm 440	774 \pm 134	0,068	0,003	0,126

4.2.5.2 Hämatologie

Die hämatologischen Parameter (Anzahl der eosinophilen, basophilen und neutrophilen Granulozyten, Monozytenzahl, Erythrozytenzahl, Thrombozytenzahl, Lymphozytenzahl, Hämatokrit, Hämoglobingehalt, mittlerer Hämoglobingehalt der Einzelerthrozyten (MCH), mittleres Erythrozytenvolumen (MCV) und mittlere Hämoglobinkonzentration der Erythrozyten (MCHC)) veränderten sich während der Behandlungsphase ausschließlich innerhalb der physiologischen Referenzbereiche. Die auftretenden Zu- oder Abnahmen waren gering und die Unterschiede zwischen den Gruppen vernachlässigbar.

Abweichend von den übrigen Laborparametern verhielt sich der Leukozytengehalt (WBC). Die Ergebnisse der Messungen *prae applicationem* sind in folgender Abbildung getrennt für die drei Behandlungsgruppen dargestellt und in Tabelle 4.25 wiedergegeben. Die horizontal gestrichelten Linien in der Abbildung geben den Referenzbereich des Labors (5,7 – 16,3 1000/ μ L) an.

Abbildung 4.24: Entwicklung des Leukozytengehalts (WBC) in den Behandlungsgruppen in den Messungen *prae applicationem*



Aus Abbildung 4.24 wird ersichtlich, dass der arithmetische Mittelwert des WBC in der aggressiv behandelten Gruppe im Verlauf der Behandlungsphase anstieg. Besonders ab dem Ende der 3. Woche lag der mittlere Wert in dieser Gruppe bei der Mehrzahl der Messungen über dem Wert in den Vergleichsgruppen. In der konservativ behandelten Gruppe und in der Placebogruppe traten während der Behandlungsphase geringere Schwankungen des Leukozytengehalts auf und die

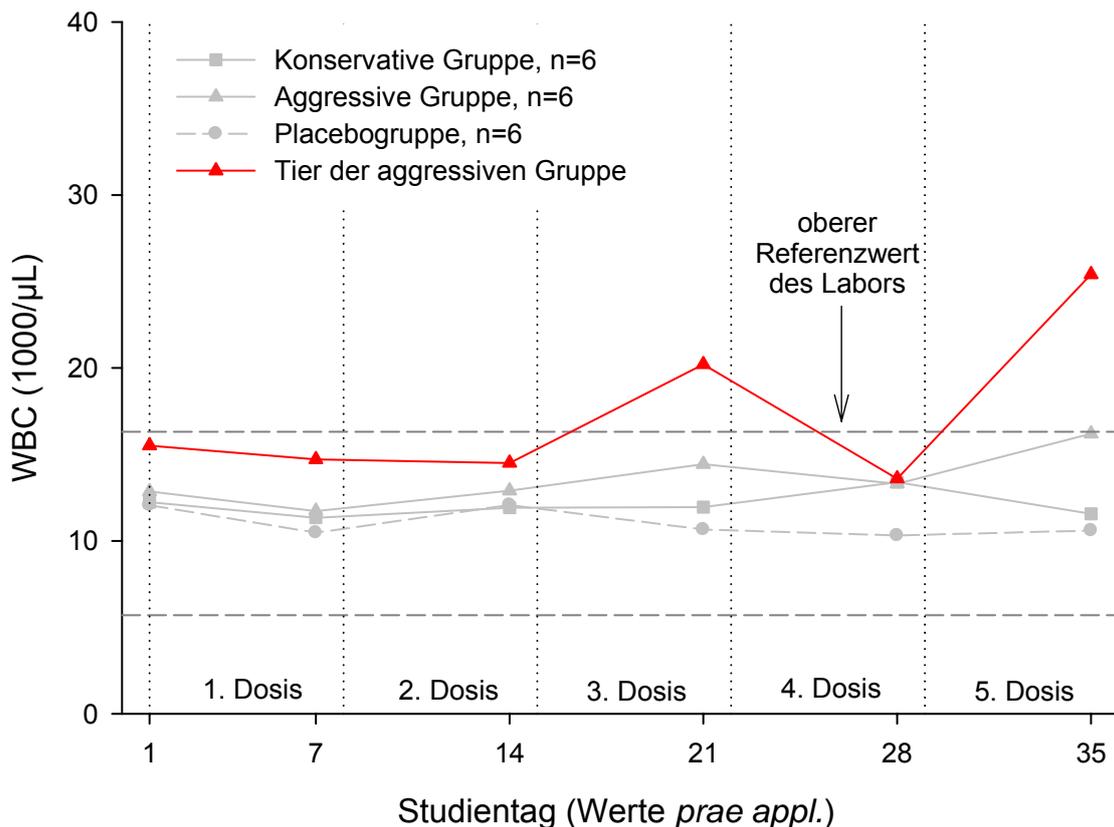
Mittelwerte lagen am Ende der Behandlungsphase im Bereich um den Ausgangswert (Tabelle 4.25).

Tabelle 4.25: Leukozytengehalt (WBC) in den Behandlungsgruppen (MW \pm SEM), Messungen *prae applicationem* (+0h)

	WBC (1000/ μ L)		
	Konservative Gruppe (n=6)	Aggressive Gruppe (n=6)	Placebo-gruppe (n=6)
Ausgangswert	12,2 \pm 1,1	12,9 \pm 1,2	12,1 \pm 0,7
Tag 7 +0h	11,3 \pm 1,1	11,7 \pm 1,1	10,5 \pm 1,1
Tag14 +0h	11,9 \pm 1,0	12,9 \pm 0,8	12,8 \pm 0,4
Tag 21 +0h	12,0 \pm 1,2	14,4 \pm 1,5	10,7 \pm 1,1
Tag 28 +0h	13,4 \pm 1,2	13,3 \pm 0,9	10,3 \pm 1,7
Tag 35 +0h	11,6 \pm 1,3	16,2 \pm 2,0	10,6 \pm 0,8

Die Zunahme des arithmetischen Mittelwertes des WBC in der aggressiv behandelten Gruppe wurde maßgeblich durch ein Tier dieser Gruppe verursacht. Besonders am Ende der 3. Woche und noch mehr am Ende der 5. Woche wies der WBC bei diesem Hund Werte auf, die zu einer sichtbaren Beeinflussung des Gruppenmittelwertes führten. Abbildung 4.25 zeigt die Entwicklung des WBC des betroffenen Hundes im Vergleich zur Entwicklung der mittleren Werte in den Behandlungsgruppen in den Messungen *prae applicationem*. Die horizontal gestrichelten Linien geben wieder den Referenzbereich des Labors an. Um die Werte des Einzeltieres am Ende der Behandlungsphase darstellen zu können, wurde der dargestellte Bereich des WBC (y-Achse) gegenüber Abbildung 4.24 geringfügig erweitert.

Abbildung 4.25: Entwicklung des Leukozytengehalts (WBC) eines Hundes der aggressiv behandelten Gruppe im Vergleich zur Entwicklung des mittleren WBC in den Behandlungsgruppen in den Messungen *prae applicationem*

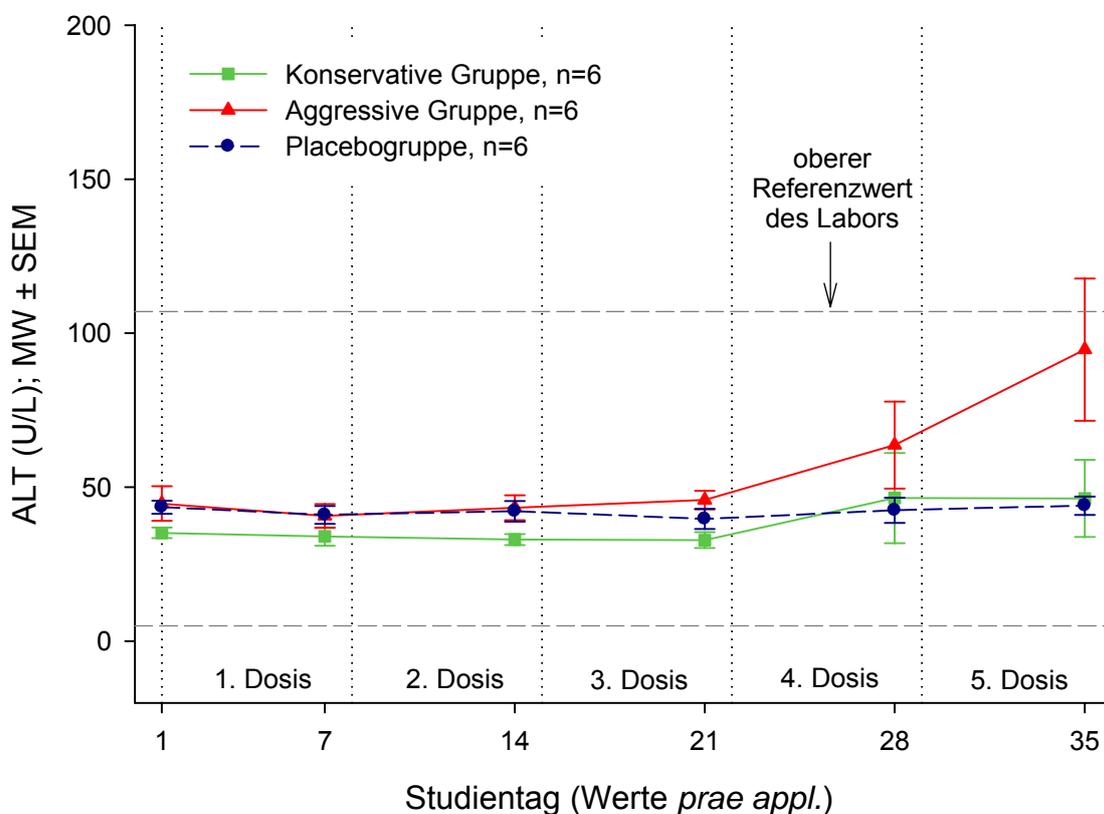


4.2.5.3 Klinische Chemie

Auch die Parameter der klinischen Chemie (Gesamtprotein, Gesamtbilirubin, Kreatinin, Glucose, Alanin-Amino-Transferase (ALT), Aspartat-Amino-Transferase (AST), Alkalische Phosphatase (AP), Calcium, Phosphor, Chlorid, Kalium und Natrium) veränderten sich während der Behandlungsphase ausschließlich innerhalb der physiologischen Referenzbereiche. Die auftretenden Zu- oder Abnahmen waren gering, und es traten keine ausgeprägten Unterschiede zwischen den Gruppen auf.

Eine Ausnahme hiervon bildete die Serumkonzentration der Alanin-Aminotransferase (ALT). Die Ergebnisse der Messungen *prae applicationem* sind getrennt für die drei Behandlungsgruppen in folgender Abbildung dargestellt und in Tabelle 4.26 wiedergegeben. Die horizontal gestrichelten Linien in der Abbildung geben den Referenzbereich des Labors (5 – 107 U/L) an.

Abbildung 4.26: Entwicklung der ALT Serumkonzentration in den Behandlungsgruppen in den Messungen *prae applicationem*



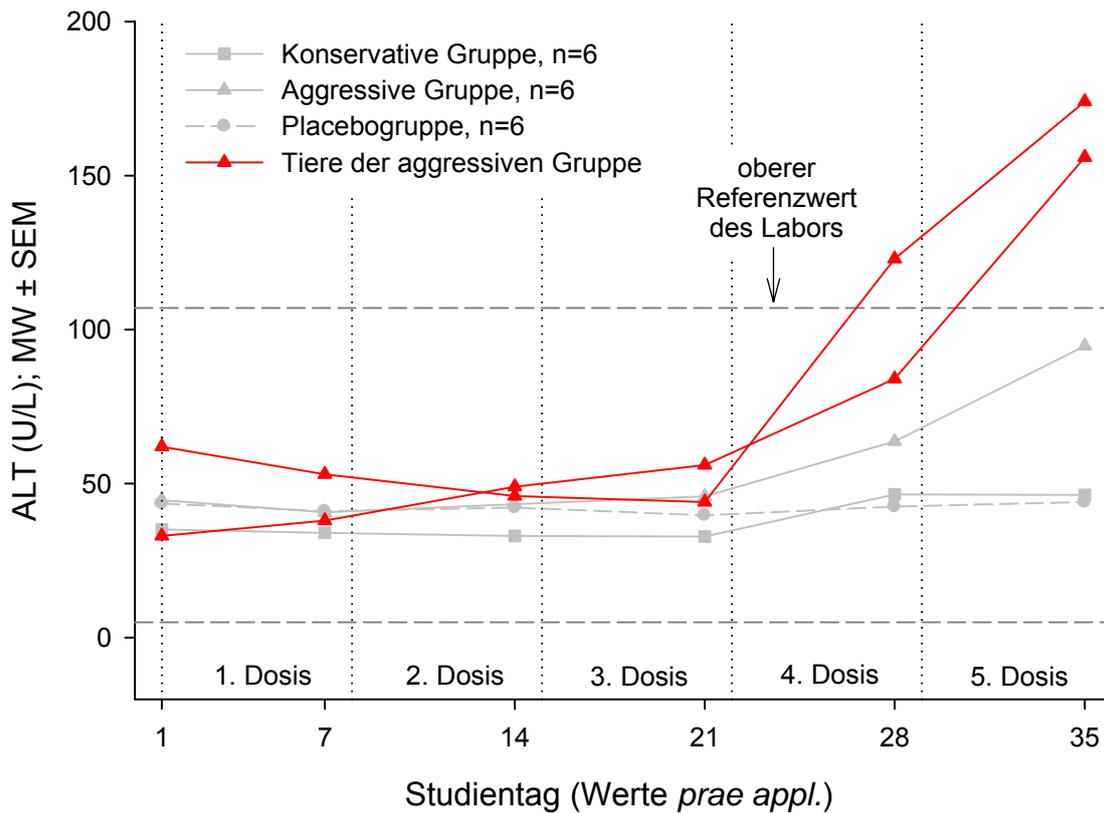
Aus Abbildung 4.26 wird ersichtlich, dass der arithmetische Mittelwert der ALT Serumkonzentration in der aggressiv behandelten Gruppe besonders im Verlauf der 4. und 5. Behandlungswoche anstieg, wobei er jedoch für die gesamte Studiendauer im angegebenen Referenzbereich verblieb. In der konservativ behandelten Gruppe und der Placebogruppe traten während der Behandlungsphase lediglich geringe Schwankungen der ALT Serumkonzentration auf (Abbildung 4.26, Tabelle 4.26).

Tabelle 4.26: ALT Serumkonzentration in den Behandlungsgruppen (MW \pm SEM), Messungen *prae applicationem* (+0h)

	ALT (U/L)		
	Konservative Gruppe (n=6)	Aggressive Gruppe (n=6)	Placebo-gruppe (n=6)
Ausgangswert	35,2 \pm 1,7	44,7 \pm 5,6	43,5 \pm 2,1
Tag 7 +0h	34,0 \pm 3,0	40,7 \pm 3,8	41,0 \pm 2,9
Tag14 +0h	33,0 \pm 1,8	43,3 \pm 4,0	42,2 \pm 3,3
Tag 21 +0h	32,8 \pm 2,5	45,8 \pm 3,0	39,7 \pm 3,3
Tag 28 +0h	46,5 \pm 14,6	63,7 \pm 14,1	42,5 \pm 4,1
Tag 35 +0h	46,3 \pm 12,5	94,7 \pm 23,1	44,0 \pm 3,0

Die Zunahme des arithmetischen Mittelwertes der ALT Serumkonzentration in der aggressiv behandelten Gruppe wurde maßgeblich durch zwei Tiere dieser Gruppe verursacht. Ab dem Ende der 3. Woche stiegen die Werte bei diesen Tieren in einem Ausmaß an, dass zu einer sichtbaren Beeinflussung des Gruppenmittelwertes führte. Abbildung 4.27 zeigt die Entwicklung der ALT Serumkonzentrationen der betroffenen Hunde im Vergleich zur Entwicklung der mittleren Werte in den Behandlungsgruppen in den Messungen *prae applicationem*. Die horizontal gestrichelten Linien geben wieder den Referenzbereich des Labors an.

Abbildung 4.27: Entwicklung der ALT Serumkonzentration zweier Hunde der aggressiv behandelten Gruppe im Vergleich zur Entwicklung der mittleren ALT Serumkonzentration in den Behandlungsgruppen in den Messungen *prae applicationem*



4.2.5.4 Pharmakokinetik

Die Messergebnisse der Serumkonzentration von Bisoprolol werden in folgenden Tabellen getrennt nach den Behandlungsgruppen wiedergegeben.

Tabelle 4.27: Serumkonzentration von Bisoprolol in den Behandlungsgruppen (MW \pm SEM), Messungen 2h *post applicationem* (+2h)

	Serumkonzentration Bisoprolol ($\mu\text{g/L}$)		
	Konservative Gruppe (n=6)	Aggressive Gruppe (n=6)	Placebo-gruppe (n=6)
Ausgangswert	< BG	< BG	< BG
Tag 7 +2h	1,00 \pm 0,11	2,28 \pm 0,28	< BG
Tag 14 +2h	1,98 \pm 0,18	11,65 \pm 0,85	< BG
Tag 21 +2h	6,23 \pm 0,70	23,41 \pm 1,96	< BG
Tag 28 +2h	9,32 \pm 0,66	115,68 \pm 11,10	< BG
Tag 35 +2h	19,81 \pm 1,29	245,30 \pm 22,59	< BG

< BG = unterhalb der Bestimmungsgrenze

Tabelle 4.28: Serumkonzentration von Bisoprolol in den Behandlungsgruppen (MW \pm SEM), Messungen *prae applicationem* (+0h)

	Serumkonzentration Bisoprolol ($\mu\text{g/L}$)		
	Konservative Gruppe (n=6)	Aggressive Gruppe (n=6)	Placebo-gruppe (n=6)
Ausgangswert	< BG	< BG	< BG
Tag 7 +0h	0,15 \pm 0,00	0,21 \pm 0,03	< BG
Tag14 +0h	0,15 \pm 0,00	0,88 \pm 0,20	< BG
Tag 21 +0h	0,38 \pm 0,07	1,55 \pm 0,43	< BG
Tag 28 +0h	0,55 \pm 0,13	7,82 \pm 1,71	< BG
Tag 35 +0h	1,06 \pm 0,25	16,79 \pm 3,99	< BG

< BG = unterhalb der Bestimmungsgrenze

Die Konzentration von Bisoprolol im Serum nahm mit steigender Dosierung von Bisoprolol proportional zu, wobei die Konzentrationen in der aggressiv behandelten Gruppe deutlich über denen der konservativ behandelten Gruppe lagen. In der Placebogruppe wurde kein Bisoprolol im Serum gefunden. Die maximale mittlere Serumkonzentration – ermittelt in den Messungen 2h *post applicationem* am Ende der 5. Behandlungswoche - betrug $19,81 \pm 1,29 \mu\text{g/L}$ in der konservativ behandelten Gruppe (Dosierung: 0,1 mg/kg KGW) und $245,30 \pm 22,59 \mu\text{g/L}$ in der aggressiv behandelten Gruppe (Dosierung: 1,0 mg/kg KGW).

Die Serumkonzentrationen von Bisoprolol wiesen in den Messungen 2h *post applicationem* eine geringe interindividuelle Variabilität auf. Der Variationskoeffizient der gemessenen Konzentrationen lag in der konservativ behandelten Gruppe in einem Bereich von 15,9% bis 27,6% und in der aggressiv behandelten Gruppe in einem Bereich von 17,8% bis 29,7% (Tabelle 4.29).

Tabelle 4.29: Variationskoeffizienten der Serumkonzentrationen von Bisoprolol, Messungen 2h *post applicationem* (+2h)

	Konservative Gruppe (n=6)	Aggressive Gruppe (n=6)
Tag 7 +2h	26,1%	29,7%
Tag 14 +2h	22,6%	17,8%
Tag 21 +2h	27,6%	20,5%
Tag 28 +2h	17,3%	23,5%
Tag 35 +2h	15,9%	22,5%

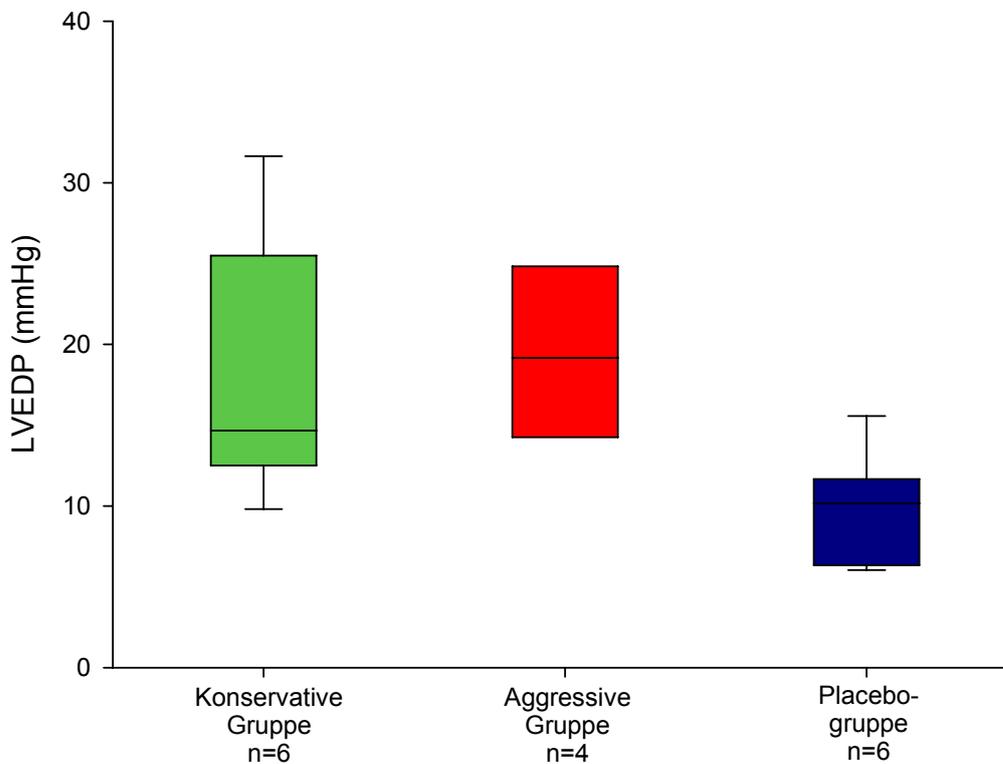
4.2.6 Intrakardiale Druckparameter

Für zwei Tiere der aggressiv behandelten Gruppe konnten keine Daten erhoben werden, da sie in der Narkose kurz nach Einführung des Katheters in den linken Ventrikel noch während der 15-minütigen Wartezeit vor Beginn der Messung verstarben.

Die Messergebnisse der intrakardialen Druckmessungen, die jeweils zwei bis drei Stunden nach der Behandlung mit Bisoprolol stattfanden, werden in den folgenden Abbildungen als Box and Whisker Plots dargestellt und in Tabelle 4.30 wiedergegeben.

Tabelle 4.31 listet die Ergebnisse (zweiseitige p-Werte) der statistischen Analyse auf.

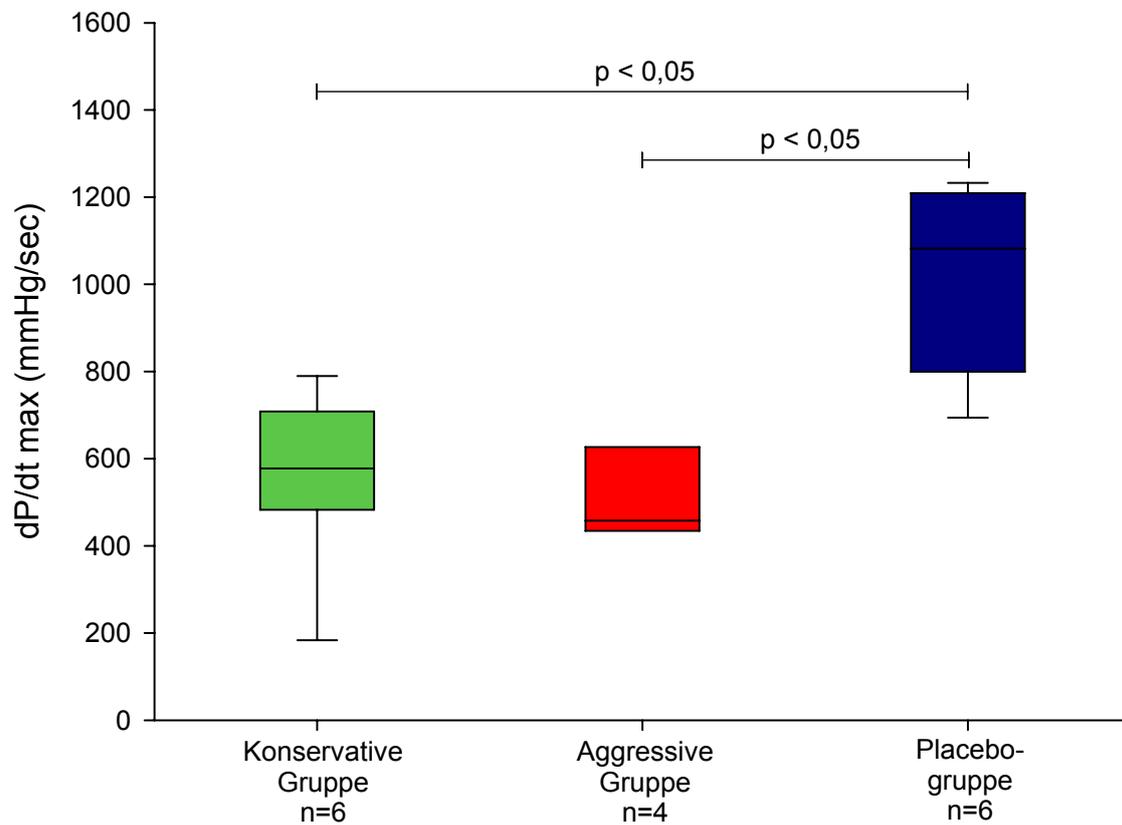
Abbildung 4.28: Linksventrikulärer enddiastolischer Druck (LVEDP) in den Behandlungsgruppen



Die horizontale Linie in der Box kennzeichnet den Median, die Box begrenzt das 25% bzw. 75% Quartil und die Whiskers begrenzen das 5% bzw. 95% Quantil. Aufgrund der geringen Anzahl an Daten, konnten das 5% und 95% Quantil für die aggressive Gruppe nicht berechnet werden.

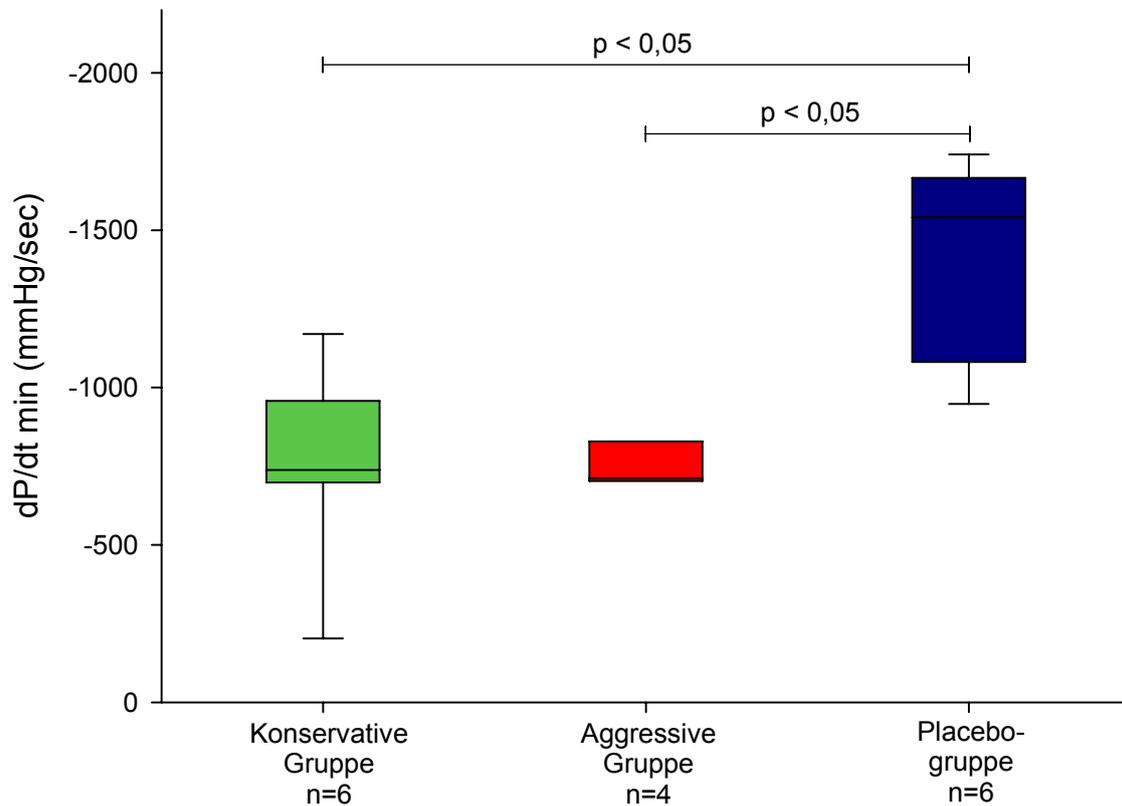
Der mittlere linksventrikuläre enddiastolische Druck (LVEDP) war zum Zeitpunkt der intrakardialen Druckmessung in den mit Bisoprolol behandelten Gruppen deutlich größer als in der Placebogruppe (Abbildung 4.28, Tabelle 4.30), wodurch jedoch kein statistisch offensichtlicher Unterschied entstand (Tabelle 4.31).

Abbildung 4.29: Maximale Drockanstiegsgeschwindigkeit (dP/dt max) in den Behandlungsgruppen



Die horizontale Linie in der Box kennzeichnet den Median, die Box begrenzt das 25% bzw. 75% Quartil und die Whiskers begrenzen das 5% bzw. 95% Quantil. Aufgrund der geringen Anzahl an Daten, konnten das 5% und 95% Quantil für die aggressive Gruppe nicht berechnet werden.

Abbildung 4.30: Maximale Druckabfallsgeschwindigkeit (dP/dt min) in den Behandlungsgruppen



Die horizontale Linie in der Box kennzeichnet den Median, die Box begrenzt das 25% bzw. 75% Quartil und die Whiskers begrenzen das 5% bzw. 95% Quantil. Aufgrund der geringen Anzahl an Daten, konnten das 5% und 95% Quantil für die aggressive Gruppe nicht berechnet werden.

Die Werte der maximalen Druckanstiegsgeschwindigkeit (dP/dt max) und der maximalen Druckabfallsgeschwindigkeit (dP/dt min) wiesen in den mit Bisoprolol behandelten Gruppen einen geringeren Betrag auf als in der Placebogruppe (Tabelle 4.30, Abbildung 4.29, Abbildung 4.30). Für beide Parameter ergab die statistische Analyse einen erkennbaren Unterschied zwischen beiden mit Bisoprolol behandelten Gruppen und der Placebogruppe (Tabelle 4.31).

Tabelle 4.30: Ergebnisse der intrakardialen Druckmessung in den Behandlungsgruppen (MW \pm SEM)

	Konservative Gruppe (n=6)	Aggressive Gruppe (n=4)	Placebo-gruppe (n=6)
LVEDP (mmHg)	18,2 \pm 3,59	19,5 \pm 3,55	10,1 \pm 1,56
dP/dt max (mmHg/sec)	549,1 \pm 92,21	530,4 \pm 83,68	1014,9 \pm 92,03
dP/dt min (mmHg/sec)	-745,5 \pm 142,39	-766,1 \pm 58,62	-1418,4 \pm 138,24

Tabelle 4.31: Ergebnisse (2-seitige p-Werte) der multiplen ANOVA t-Test Methode für die Parameter der intrakardialen Druckmessung

	Konservativ vs. Placebo	Aggressiv vs. Placebo	Konservativ vs. Aggressiv
LVEDP	0,061	0,052	0,766
dP/dt max	0,002	0,004	0,894
dP/dt min	0,002	0,006	0,919

5 Diskussion

Der Beginn einer Therapie mit β -Blockern im symptomatischen Stadium einer Herzerkrankung stellt beim Menschen und auch beim Hund initial eine zusätzliche Belastung des Organismus dar, da wichtige Kompensationsmechanismen wie die Erhöhung der Herzfrequenz und die Steigerung der Kontraktilität des Herzens „gebremst“ werden.

Aus diesem Grund war das erste Ziel der vorliegenden Arbeit, die Verträglichkeit des β_1 -selektiven Adrenozeptorblockers Bisoprolol in Hunden mit pacing-induzierter Herzinsuffizienz zu untersuchen. Da Hunde mit symptomatischer Herzinsuffizienz standardmäßig mit ACE-Inhibitoren, Diuretika und zum Teil auch Digoxin (β -Methyldigoxin oder Digitoxin in Europa) behandelt werden, wurde die Bisoprolol- bzw. Placeboformulierung zusätzlich zu Enalapril, Furosemid und Digoxin verabreicht.

Aufgrund der bekannten kardiodepressiven Eigenschaften von β -Blockern erfolgt in der Humanmedizin die Einleitung der Behandlung immer schrittweise und gemäß dem Merkspruch „start low, go slow“¹³³. Eine zusätzliche Fragestellung in der vorliegenden Studie bestand daher in der Etablierung eines potentiell Dekompensation vermeidenden Protokolls zur Dosissteigerung von Bisoprolol, welches für den Hund (und damit auch für den Tierarzt und Besitzer) sicher in der Anwendung ist. Zwei verschiedene Dosierungsprotokolle - ein konservativ und ein aggressiv gestaltetes - wurden in der vorliegenden Studie getestet.

5.1 Induktionsphase

5.1.1 Entwicklung der Herzinsuffizienz

Das Pacingmodell ist eine etablierte Methode zur Erzeugung einer kongestiven Herzinsuffizienz^{11,350} und wurde in der Vergangenheit regelmäßig in der Erforschung und Bewertung von Medikamenten wie zum Beispiel ACE-Hemmern und Angiotensin II Rezeptor Blockern eingesetzt^{350,203}.

Die Entstehung einer Herzinsuffizienz wurde in der vorliegenden Studie über die Reduktion der linksventrikulären Verkürzungsfraktion (LVFS) um mindestens 15% absolut definiert. Innerhalb der zwölfwöchigen Induktionsphase sank die mittlere LVFS bei den Hunden von $32,5 \pm 1,0\%$ auf $12,8 \pm 1,2\%$. Dieser Befund ist,

angesichts dessen, dass eine LVFS von weniger als 25% bereits als pathologisch bewertet wird^{152,330}, ein sicheres Zeichen dafür, dass die Tiere eine schwere systolische Dysfunktion entwickelt hatten.

Trotz der durchschnittlich sehr deutlichen Abnahme der LVFS von nahezu 20% erfüllten vier Hunde die oben genannte Bedingung der 15%igen absoluten Reduktion am Ende der Induktionsphase nicht. Bei drei der vier Hunde war die Ursache dafür ein Wiederanstieg der LVFS im Anschluss an die Reduktion der Schrittmacherfrequenz am Ende der 9. Induktionswoche von 220 auf 180 Schläge/min. Es ist bekannt, dass sich Hunde nach einer Deaktivierung des Herzschrittmachers spontan von einer zuvor entwickelten Dysfunktion des Herzens erholen^{137,202} und dass bereits eine Reduktion der Pacingfrequenz zu einer Verbesserung klinischer Symptome und verschiedener hämodynamischer und echokardiographisch erfasster Parameter führt^{8,301}. Die in der vorliegenden Studie beobachtete Zunahme der LVFS ist deshalb auf die partielle Erholung der Tiere infolge der Reduktion der Schrittmacherfrequenz zurückzuführen. Der vierte Hund erfüllte während der Induktionsphase zu keiner Zeit das Kriterium einer absoluten 15%igen Abnahme der LVFS vom Ausgangswert. Bei diesem Hund betrug die Abnahme der LVFS 14,6%. Obwohl das Einschlusskriterium nicht vollständig erfüllt war, wurde der Hund für die Studie zugelassen, da ein Ausschluss und die damit verbundene Verminderung der Fallzahl einen bei weitem negativeren Einfluss auf das Gesamtergebnis gehabt hätte als der Einschluss des Hundes, der echokardiographisch sicher als ein Fall von Herzinsuffizienz eingestuft werden konnte.

Das Vorliegen einer Herzinsuffizienz bei den Hunden wurde zusätzlich bestätigt durch einen pathologisch erhöhten Gehalt von Nt-proBNP im Blut der Tiere am Ende der Induktionsphase. Die Konzentration von Nt-proBNP nimmt proportional zur Schwere einer Herzerkrankung zu^{181,182,72} und stieg in der vorliegenden Studie im Verlauf der Induktionsphase von durchschnittlich 244 ± 88 pmol/L auf 1707 ± 224 pmol/L an.

Der bei vier Hunden im Verlauf der Induktionsphase aufgetretene Husten war nicht erwünscht, da ein Ausfall von Tieren während der Studie kontraproduktiv für das zu erzielende Studienergebnis gewesen wäre. Bei den betroffenen Tieren wurde deshalb die Schrittmacherfrequenz reduziert, um ihnen eine Erholung und Verbesserung der klinischen Symptome zu ermöglichen^{8,301}. Nachdem die Pacingfrequenz reduziert worden war, verschwanden die beobachteten Symptome

innerhalb kurzer Zeit. Die Abnahme des Körpergewichts bei nahezu allen Tieren während der Induktionsphase ist ein Indiz dafür, dass keines der Tiere in klinisch relevantem Ausmaß Flüssigkeit in Form von Ödemen oder eines Aszites im Körper eingelagert hatte²⁰⁰.

Die übrigen Parameter entwickelten sich im Verlauf der Induktionsphase wie es aufgrund der Ergebnisse in anderen Studien mit diesem Tiermodell erwartet werden konnte^{11,137,284,216}.

Elektrokardiographisch war eine deutliche Zunahme der Herzfrequenz – gemessen während der temporären Deaktivierung des Herzschrittmachers - die auffälligste Veränderung. Die Dauer des PQ-Intervalls blieb konstant, wohingegen die Dauer des QRS-Komplexes und des korrigierten QT-Intervalls QTcF geringgradige Verlängerungen aufwiesen. Im Echokardiogramm konnte eine Dilatation des Herzens beobachtet werden, die sich in einer Zunahme des linksventrikulären Durchmessers darstellte. Weiterhin kam es zu einer Abnahme der Blutdruckparameter, vor allem des systolischen und mittleren arteriellen Blutdrucks. Auf die Parameter der Hämatologie und der klinisch-chemischen Blutuntersuchung konnten keine Auswirkungen des Pacings beobachtet werden.

Die Zunahme der Herzfrequenz während der Induktionsphase betrug bei den Hunden im Mittel 17 ± 5 Schläge/min und ist eine unmittelbare Folge der durch das Pacing verursachten systolischen Dysfunktion des Herzens. Die Abnahme des Schlagvolumens und der damit verbundene Abfall des arteriellen Blutdrucks führen zu einer reflektorischen Aktivierung des sympathischen Nervensystems. Dessen Neurotransmitter Noradrenalin bewirkt u.a. die Erhöhung der HF mit dem Ziel, das Herzminutenvolumen zu steigern und einen physiologischen Blutdruck wieder herzustellen²⁷⁹.

Die Dauer des QRS-Komplexes verlängerte sich während der Induktionsphase im Durchschnitt um 4 ± 1 msec. Die Zunahme ist ein Ausdruck für eine Vergrößerung der Herzkammern^{212,216}, die in der vorliegenden Studie durch die echokardiographischen Untersuchungen bestätigt wurde. Des Weiteren treten im Zuge einer Herzinsuffizienz Verzögerungen in der intraventrikulären Überleitungszeit auf, die zusätzlich zu einer Verlängerung des QRS-Komplexes beitragen. Welche pathologischen Veränderungen in den elektrophysiologischen Eigenschaften des Myokards zu der Verzögerung in der Überleitungszeit führen, ist noch weitgehend unbekannt²¹⁶.

Da sich die Dauer des QT-Intervalls negativ proportional zur HF verhält, ist zur Beurteilung von Veränderungen des QT-Intervalls dessen Korrektur um die HF erforderlich. Im Laufe der Zeit wurden verschiedene Formeln für eine solche Korrektur vorgeschlagen und angewandt, von denen sich keine als perfekt bewiesen hat¹²⁵. In der vorliegenden Studie wurde die Korrekturformel nach Fridericia⁹¹ gewählt, die sich als geeignete Methode für den Hund bewährt hat^{122,216}. Das nach Fridericia korrigierte QT-Intervall (QTcF) verlängerte sich während der Induktionsphase bei den Hunden im Mittel um 7 ± 3 msec. Diese Beobachtung unterscheidet sich von Ergebnissen einer Studie von Nishijima et al.²¹⁶, in der auch nach 12 Monaten tachykarden Pacings keine signifikante Zunahme von QTcF bei den Hunden festgestellt werden konnte. Hingegen beobachteten Koyama et al.¹⁶¹ eine signifikante Verlängerung von QTcF bei natürlich an Herzinsuffizienz erkrankten Hunden gegenüber einer gesunden Kontrollgruppe. Als mögliche Ursachen für diese Verlängerung nennt Koyama die parallel beobachtete Verlängerung des QRS-Komplexes, sowie eine verzögerte Repolarisation im Bereich der Herzkammern aufgrund pathologischer Veränderungen der elektrophysiologischen Eigenschaften des Myokards¹⁶¹. In der vorliegenden Studie überstieg die mittlere Zunahme von QTcF (7 ± 3 msec) während der Induktionsphase die mittlere Zunahme des QRS-Komplexes (4 ± 1 msec), so dass der Anstieg von QTcF nicht allein auf die Verlängerung des QRS-Komplexes zurückzuführen ist. Diese Ergebnisse lassen daher vermuten, dass das tachykarde Pacing der Hunde zu einer Verzögerung in der ventrikulären Repolarisation geführt hat. Die Frage nach den zugrunde liegenden Mechanismen sowie nach der Ursache für die Differenz zu den Ergebnissen der Studie von Nishijima et al.²¹⁶ kann im Rahmen der vorliegenden Studie nicht beantwortet werden.

Ebenfalls charakteristisch für das Pacingmodell ist eine Dilatation der Herzkammern ohne begleitende Hypertrophie der Herzmuskelzellen^{137,276,284}. Im Mittel betrug die Zunahme des linksventrikulären Durchmessers in der vorliegenden Studie $0,92 \pm 0,08$ cm in den enddiastolischen Messungen und $1,46 \pm 0,11$ cm in den endsystolischen Messungen. Die diastolische Kammerdilatation stellt einen weiteren Kompensationsmechanismus des Körpers dar, mit dem Ziel, die kardiale Leistung aufrechtzuerhalten¹¹. Durch eine Vergrößerung des Ventrikeldurchmessers kann zunächst trotz herabgesetzter Kontraktilität und reduzierter Ejektionsfraktion das Schlagvolumen annähernd

erhalten bzw. wiedererlangt werden^{158,81}. Dabei wird jedoch ein Punkt erreicht, an dem selbst bei einer akuten Volumenbelastung und Steigerung der Vorlast keine weitere Zunahme des enddiastolischen Volumens erfolgen kann und eine Erschöpfung des physiologischen Frank-Starling-Mechanismus eintritt¹⁵⁸. Die Zunahme des systolischen Kammerdurchmessers ist ein direktes Anzeichen der reduzierten systolischen Funktion des Myokards und stimmt daher mit der beobachteten Abnahme der LVFS überein.

Die Abnahme des Blutdrucks im Verlauf der Induktionsphase war in der vorliegenden Studie vergleichsweise gering und betrug im Mittel 10 ± 4 mmHg für den systolischen Blutdruck, 2 ± 5 mmHg für den diastolischen Blutdruck und 7 ± 5 mmHg für den mittleren arteriellen Blutdruck. Wie schon im Rahmen der Erhöhung der HF erläutert wurde, erklärt sich die Reduktion über den negativen Einfluss, den das Pacing auf die Pumpleistung des linken Ventrikels ausübt. Kontinuierliches tachykardes Pacing führt zu einer chronischen Überlastung des Herzens¹¹, die mit einer Schädigung der Herzmuskelzellen³⁵⁰ und einer Abnahme der myokardialen Kontraktilität²⁸⁴ einhergeht. In der vorliegenden Studie wird dieser Prozess durch die Abnahme der LVFS bestätigt. Als Folge der reduzierten systolischen Funktion sinkt langfristig das Herzminutenvolumen auf ein Maß, das für eine Erhaltung des Blutdrucks nicht mehr ausreicht.

Die beschriebenen Veränderungen der Parameter stellten sich überwiegend innerhalb der ersten sechs Wochen nach Aktivierung des Herzschrittmachers ein. Diese zeitliche Entwicklung stimmt mit Angaben aus der Literatur überein, nach denen tachykardes Pacing innerhalb von drei bis fünf Wochen eine schwere systolische Dysfunktion erzeugt^{11,202,200}. Pacingprotokolle von längerer Dauer haben den Vorteil, dass eine langfristig stabilere Form der Dysfunktion erzeugt wird^{233,301,216}. Für die vorliegende Studie wurde daher ein zwölfwöchiges Protokoll zur Erzeugung und Etablierung der Herzinsuffizienz gewählt. Darüber hinaus wurde das Pacing der Tiere auch während der Behandlungsphase fortgeführt, um eine spontane Erholung der Tiere auszuschließen und sicherzustellen, dass die Hunde während der gesamten Behandlungsphase eine Herzinsuffizienz aufwiesen.

5.1.2 Bewertung des Pacingmodells

Ein großer Vorteil des Pacingmodells besteht darin, dass ähnlich wie bei einer natürlich auftretenden Herzerkrankung, eine Aktivierung neurohormoneller Regelkreise wie zum Beispiel des sympathischen Nervensystems stattfindet^{82,200,301}. Das Modell ist daher besonders gut geeignet für die Untersuchung von Substanzen, deren Wirkungsmechanismus darauf beruht, die aktivierten Regelkreise zu durchbrechen. Angesichts dieses Vorteils wurde in Kauf genommen, dass die durch das Pacing hervorgerufenen Veränderungen vor allem in der Größe und Morphologie des Herzens denen einer dilatativen Kardiomyopathie (DCM) entsprechen²³³. Da es auch infolge einer Klappeninsuffizienz zu einer Dilatation des linken Vorhofes und des linken Ventrikels kommt¹⁰⁹, kann vermutet werden, dass das Modell als ebenfalls indirekt repräsentativ für die in der Veterinärmedizin weitaus häufiger vorkommende chronisch valvuläre Herzerkrankung (CVHD) angesehen werden kann.

Der Einsatz des Pacingmodells in der vorliegenden Studie ermöglichte die Untersuchung der Verträglichkeit einer Therapie mit Bisoprolol bei Hunden, die infolge tachykarden Pacings eine schwere systolische Dysfunktion entwickelt hatten. Des Weiteren war ein Monitoring der untersuchten Parameter in kurzen Zeitabständen möglich, um die Auswirkungen der zwei verschiedenen Dosierungsprotokolle von Bisoprolol auf das Herzkreislaufsystem der Tiere verfolgen zu können. Bei der Interpretation der Ergebnisse muss beachtet werden, dass Bisoprolol aufgrund des über die gesamte Studiendauer fortgeführten Pacings nicht die für β -Blocker typische Reduktion der HF bewirken konnte. Da das Pacing der Tiere auch während der Behandlungsphase fortgeführt wurde, liegt die Vermutung nahe, dass sich hämodynamische Parameter, die unter dem Einfluss der HF stehen, in der überwiegenden Zeit der Studiendauer nicht so verhielten, wie das in einem nicht gepacten Tier zu erwarten gewesen wäre. Die bei den Untersuchungen deutlich unter der Pacingfrequenz liegende HF der Tiere, erlaubt jedoch den Schluss, dass die Deaktivierung des Herzschrittmachers im Vorfeld der Messungen eine „Normalisierung“ der Parameter erlaubte und der Einfluss des Pacings auf die Ergebnisse der Untersuchungen als gering eingestuft werden kann.

5.2 Behandlungsphase

Die Hauptgefahr während der Einleitung einer β -Blocker Therapie bei Patienten im Stadium der Herzinsuffizienz ist eine mögliche kardiale Dekompensation aufgrund der negativen hämodynamischen Auswirkungen (Senkung der HF, negative Inotropie) des β -Blockers³⁸. In der vorliegenden Studie wurden die Messungen immer 2h *post applicationem* - zum Zeitpunkt des maximalen Serumspiegels von Bisoprolol - und vor der nächsten Applikation, das heißt zum Zeitpunkt des minimalen Serumspiegels durchgeführt. So war es möglich, die maximalen und minimalen Auswirkungen von Bisoprolol auf das Herzkreislaufsystem der Hunde zu erfassen, um die Gefahr einer akuten Dekompensation einschätzen zu können.

5.2.1 Klinische Symptome und Körpergewicht

Während der Behandlungsphase zeigte keiner der Hunde klinische Symptome einer kongestiven Herzinsuffizienz oder eine Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens in direktem Zusammenhang mit der Behandlung. Bemerkenswert an der Entwicklung des Körpergewichtes war eine mittlere Reduktion des Gewichtes von 0,4 – 0,6 kg in allen Gruppen im Verlauf der 1. Behandlungswoche. Diese kann durch die diuretischen Wirkung von Furosemid erklärt werden, welches zu einer erhöhten Flüssigkeitsausscheidung führt⁵³ und so eine mäßige Abnahme des Körpergewichtes verursachen kann. Für die verbleibende Dauer der Studie blieb das Körpergewicht in den Gruppen konstant, was als weiterer Hinweis auf ein gutes Allgemeinbefinden und einen klinisch stabilen Zustand der Tiere gewertet werden kann.

5.2.2 Elektrokardiogramm

Das Hauptinteresse bei der Auswertung der elektrokardiographisch erfassten Daten galt den Parametern der HF und der Dauer des PQ-Intervalls, da aufgrund der bekannten pharmakodynamischen Eigenschaften von β -Blockern Veränderungen dieser Parameter unter der Behandlung mit Bisoprolol zu erwarten waren.

Die **Herzfrequenz (HF)** sank mit Beginn der Behandlung in jeder der drei Gruppen sowohl in den Messungen 2h *post applicationem* als auch in den Messungen *prae*

applicationem. Dabei konnte in der konservativ behandelten Gruppe in den Messungen 2h *post applicationem* während der ersten zwei Behandlungswochen (0,005 bzw. 0,01 mg/kg KGW) keine Reduktion der HF zusätzlich zu der durch die Standardtherapie verursachte beobachtet werden. Erst ab einer Dosierung von 0,03 mg/kg KGW, die in der 3. Woche verabreicht wurde, sank die mittlere HF in der konservativ behandelten Gruppe in den 2h-Messungen unter die Frequenz in der Placebogruppe. In der aggressiv behandelten Gruppe hingegen lag die HF bereits ab der 1. Woche und einer Dosierung von 0,01 mg/kg KGW in den Messungen 2h *post applicationem* konstant unter der mittleren Frequenz in der Placebogruppe.

Die Befunde der vorliegenden Studie bestätigen Ergebnisse experimenteller und klinischer Studien, dass durch eine Gabe von β -Blockern die HF bei kardial erkrankten Hunden gesenkt werden kann^{208,256,316}. Im Fall von Bisoprolol ist offenbar unabhängig von der Komedikation ab einer Dosierung von 0,03 mg/kg KGW mit einer deutlichen Reduktion der HF zu rechnen.

Eine weitere Beobachtung bezüglich der Entwicklung der HF in den Behandlungsgruppen bestand darin, dass ab einer Dosierung von 0,1 mg/kg KGW auch mit steigenden Dosierungen von Bisoprolol in den 2h-Messungen keine weitere deutliche Abnahme der HF hervorgerufen werden konnte. Das weist auf einen maximal erreichbaren Effekt hin und ist ein Indiz für die vollständige Blockade der vorhandenen β_1 -Rezeptoren. Von klinischer Relevanz ist dabei, dass die HF auch bei maximaler Senkung (auf 85 ± 5 Schläge/min in der konservativ behandelten Gruppe und 83 ± 3 Schläge/min in der aggressiv behandelten Gruppe im Vergleich zu 101 ± 7 Schläge/min in der Placebogruppe) deutlich über der Frequenz von 60 Schlägen/min blieb, die bei einem wachen und gesunden Hund als Grenze zur Bradykardie gilt¹⁴⁸. Bei herzkranken Hunden muss allerdings beachtet werden, dass diese auf eine höhere HF angewiesen sind, um trotz der myokardialen Dysfunktion ein ausreichendes Herzminutenvolumen aufrechtzuerhalten. Die Hunde in der vorliegenden Studie wiesen keine Nebenwirkungen wie Synkopen oder eine auffallende Leistungsschwäche auf, die als Hinweis auf eine mangelnde Auswurfleistung des Herzens gewertet werden könnten^{205,100}. Diese Beobachtungen werden durch Studien an natürlich erkrankten Hunden bestätigt, in denen die Gabe des jeweiligen β -Blockers (Metoprolol, Propranolol, Carvedilol) zwar zu einer Abnahme der HF führte, aber kaum bzw. keine Nebenwirkungen berichtet wurden, die auf eine Bradykardie hingewiesen hätten^{256,316,186}.

Die in der Placebogruppe beobachtete Reduktion der HF ist auf die begleitend gegebenen Medikamente zurückzuführen, wobei eine negativ chronotrope Wirkung nicht zu den charakteristischen Eigenschaften von Diuretika und ACE-Hemmern zählt. Hinsichtlich der frequenzsenkenden Eigenschaften von Digoxin bei kardial erkrankten Hunden finden sich widersprüchliche Angaben in der Literatur^{242,262,192}, wobei die Veröffentlichungen, in denen von einer Senkung der HF durch Digoxin berichtet wird, überwiegen^{242,192,154}. Es muss jedoch beachtet werden, dass die Dosierung von Digoxin in der vorliegenden Studie mit 0,003 mg/kg KGW sehr gering war und es daher fraglich ist, ob die Ergebnisse auf einen negativ chronotropen Effekt von Digoxin bei den Hunden hinweisen. Eine weitere mögliche Erklärung für die beobachtete Abnahme der HF ist, dass die Begleitmedikation den Kreislaufzustand der Hunde allgemein so verbesserte, dass eine geringere Frequenz für die Erhaltung des Herzminutenvolumens ausreichend war. Dazu beigetragen haben vermutlich die Volumenentlastung des Herzens durch die diuretische Wirkung des Furosemids⁵³ und die Senkung des peripheren Gefäßwiderstandes durch Enalapril⁸.

Auch in den Messungen *prae applicationem* konnte in allen Gruppen eine Senkung der HF mit Beginn der Behandlung beobachtet werden. Diese fiel jedoch geringer aus als in den Messungen *2h post applicationem* und zwischen den Gruppen traten zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede auf. Die beobachtete Reduktion ist damit wie bereits oben für die Placebogruppe beschrieben auf eine allgemeine Verbesserung der hämodynamischen Situation der Tiere durch die Standardmedikation zurückzuführen.

Die Zunahme der Dauer des **PQ-Intervalls** ist eine bekannte Eigenschaft von β -Blockern²⁴³ und trat in der vorliegenden Studie in beiden mit Bisoprolol behandelten Gruppen in den Messungen *2h post applicationem* bereits während der 1. Behandlungswoche auf. Die Beobachtung, dass Bisoprolol schon in der geringsten Dosierung von 0,005 mg/kg KGW einen deutlich sichtbaren Effekt hervorrief, ist ein Indiz für seine hohe Potenz und seine guten pharmakokinetischen Eigenschaften (absolute Bioverfügbarkeit von > 90%)²³. Mit steigenden Dosierungen von Bisoprolol nahm auch die Dauer des PQ-Intervalls weiter zu, was dazu führte, dass in den 2h-Messungen in der aggressiv behandelten Gruppe erstmalig bei einer Dosierung von 0,1 mg/kg KGW (3. Behandlungswoche) ein statistisch bedeutender Unterschied im Vergleich zur Placebogruppe auftrat. Bei der gleichen Dosierung (0,1 mg/kg KGW in der

5. Behandlungswoche) konnte für die konservativ behandelte Gruppe ein relevanter Unterschied zur Placebogruppe beobachtet werden. Das Ausmaß der Verlängerung des PQ-Intervalls in der vorliegenden Studie (maximale Dauer des PQ-Intervalls 118 ± 2 msec in der konservativ behandelten Gruppe und 121 ± 7 msec in der aggressiv behandelten Gruppe) stimmt mit den Ergebnissen einer Studie überein, in der die elektrophysiologischen Eigenschaften von Bisoprolol und Sotalol in einem kaninen Infarktmodell verglichen wurden. Eine intravenöse Applikation von $0,2$ mg/kg KGW Bisoprolol verursachte bei wachen Hunden eine Verlängerung des mittleren Intervalls von 93 ± 6 auf 116 ± 12 msec⁷. Trotz der signifikanten Verlängerung des PQ-Intervalls in den mit Bisoprolol behandelten Gruppen blieb die Dauer des Intervalls in der vorliegenden Studie im physiologischen Bereich von unter 130 msec^{148,67,125} und es kam bei keinem der Tiere zu einem AV-Block 1. oder 2. Grades. Diese Beobachtung ist ein weiterer Hinweis darauf, dass die Anwendung von Bisoprolol in einer Dosierung von bis zu $1,0$ mg/kg KGW bei kardial erkrankten Hunden gut verträglich ist und bestätigt die geringe Nebenwirkungsrate von β -Blockern^{256,316,186,226}.

In den Messungen *2h post applicationem* wurde ebenfalls eine leichte Zunahme des PQ-Intervalls in der Placebogruppe über die Dauer der Behandlung beobachtet. Neben β -Blockern können Medikamente wie Glykoside oder Calcium Kanal Blocker in hohen Dosierungen eine Verlängerung des PQ-Intervalls auslösen^{148,348}, weshalb die begleitende Gabe von Digoxin eine mögliche Ursache für die Verlängerung des PQ-Intervalls in der Placebogruppe darstellt. Die beobachtete Zunahme von 4 ± 2 msec in der vorliegenden Studie ist jedoch wesentlich geringer als die Zunahme (31 msec), die McMahon et al.¹⁹² als Reaktion auf die Behandlung mit Digoxin in ihrem Pacingmodell beobachteten. Ein möglicher Grund für das unterschiedliche Ausmaß der Verlängerung ist die unterschiedliche Dosierung der Hunde, die mit $0,003$ mg/kg KGW in der vorliegenden Studie wesentlich geringer war als in der Studie von McMahon. In dessen Studie wurden die Hunde mit einer Dosierung von $0,01 - 0,02$ mg/kg KGW Digoxin behandelt, wodurch mittlere Plasmalevel in dem als therapeutisch angesehenen Bereich von $1 - 2$ ng/mL erzielt werden konnten³⁴⁸.

In den Messungen *prae applicationem* trat ebenfalls eine signifikante Verlängerung des PQ-Intervalls auf, die jedoch geringer ausfiel als in den Messungen *2h post applicationem*. In allen Gruppen wiesen die Messwerte eine ähnliche Entwicklung auf, so dass keine signifikanten Unterschiede zwischen den

Gruppen auftraten. Diese Ergebnisse sind nicht überraschend, da angenommen werden kann, dass zu den Zeitpunkten *prae applicationem* die geringsten Serumkonzentrationen der Substanzen im Blut und auch am Wirkort vorlagen. Wie schon für die Messungen 2h *post applicationem* diskutiert wurde, ist die Behandlung mit Digoxin eine mögliche Erklärung für die dennoch beobachtete geringfügige Verlängerung des PQ-Intervalls in den Gruppen.

Die weiteren elektrokardiographisch erfassten Parameter (**QRS-Komplex, korrigiertes QT-Intervall QTcF**) unterlagen während der Behandlungsphase lediglich geringfügigen physiologischen Schwankungen und zeigten in den Gruppen keine unterschiedliche Entwicklung. Auffallend an den Ergebnissen des QRS-Komplexes war, dass sowohl in den Messungen 2h *post applicationem* als auch in den Messungen *prae applicationem* die Placebogruppe im Mittel konstant geringere Werte aufwies als die mit Bisoprolol behandelten Gruppen, wodurch zu verschiedenen Zeitpunkten statistisch erkennbare Unterschiede zwischen diesen Gruppen auftraten. Ein Unterschied zwischen den Gruppen bestand jedoch bereits im Ausgangswert, also vor jeglicher Medikamentengabe. Die geringen Schwankungen, die in der Dauer des QRS-Komplexes in den mit Bisoprolol behandelten Gruppen auftraten, lagen in der gleichen Größenordnung wie die Zu- und Abnahmen in der Placebogruppe, so dass sie nicht auf die Behandlung mit Bisoprolol zurückgeführt werden können. Diese Schlussfolgerung stimmt mit Ergebnissen humanmedizinischer Studien überein, in denen ebenfalls keine Auswirkungen von Bisoprolol auf die Dauer des QRS-Komplexes oder das QT-Intervall (korrigiert um die HF) festgestellt wurden^{214,243}. Ebenso blieben in einem kaninen Infarktmodell die Dauer des QRS-Komplexes und die Dauer des QT-Intervalls (bei konstanter HF) nach Applikation von Bisoprolol unverändert⁷.

Die Ergebnisse der elektrokardiographisch erfassten Parameter zeigen, dass Bisoprolol vor allem zu Veränderungen der Reizbildung im Bereich des Sinusknotens und der Reizweiterleitung im Bereich des AV-Knotens führt. Diese Beobachtungen sind von Interesse bei der Frage nach den Mechanismen, die den antiarrhythmischen Eigenschaften von Bisoprolol zugrunde liegen. Die genannten Punkte im kardialen Reizleitungssystem stehen unter starker Kontrolle des SNS²⁴³, weshalb Proclemer et al.²⁴³ folgerten, dass die antiarrhythmischen Eigenschaften von Bisoprolol ausschließlich darauf beruhen würden, die sympathische Stimulation dieser Punkte durch Blockade der adrenergen Rezeptoren zu inhibieren. Eine direkte Wirkung von Bisoprolol auf Ionenkanäle wurde

ausgeschlossen. Tang et al.³⁰⁶ untersuchten hingegen vor kurzem die Wirkung von Bisoprolol an isolierten Myozyten von Ratten mit einer diastolischen Funktionsstörung des Herzens. Sie beobachteten eine Reduktion transmembraner Natriumströme und führten diese auf einen direkten Effekt von Bisoprolol auf die Natriumkanäle der Zellmembran zurück. Weitere Studien auf diesem Gebiet sind erforderlich, um die Wirkungsmechanismen, über die Bisoprolol seine antiarrhythmischen Eigenschaften vermittelt, weiter aufzuklären.

5.2.3 Echokardiogramm

Die Veränderungen des **linsventrikulären Durchmessers (LVID)** während der Behandlungsphase waren im Vergleich zu den Veränderungen während der Induktionsphase wesentlich geringer, wodurch bestätigt wird, dass das tachykarde Pacing der Hunde zu einer persistierenden und stabilen Form der Herzinsuffizienz geführt hatte. Im Fall des enddiastolischen LVID (LVIDd) lagen die Zu- bzw. Abnahmen in den Behandlungsgruppen in einer Größenordnung von $0,04 \pm 0,08$ cm bis $0,19 \pm 0,10$ cm und im Fall des systolischen LVID (LVIDs) in einer Größenordnung von $0,03 \pm 0,06$ cm bis $0,22 \pm 0,13$ cm. Damit sind die in der vorliegenden Studie beobachteten Veränderungen deutlich geringer als in einer ähnlichen Studie von Allworth et al.⁸, die die Auswirkungen von Enalapril in einem Pacingmodell untersuchten. Sie beobachteten nach einer vierwöchigen Monotherapie mit Enalapril Veränderungen in einem Bereich von 0,4 – 0,5 cm im Durchmesser des linken Ventrikels und das sowohl in den diastolischen als auch in den systolischen Messungen. Mögliche Ursachen für die größeren Veränderungen des LVID in Allworths Studie sind ein höheres Körpergewicht der eingeschlossenen Hunde (15 - 30 kg im Vergleich zu 10,0 – 15,8 kg in der vorliegenden Studie) und vor allem Unterschiede im Pacing- und Therapieprotokoll. Allworth und seine Mitarbeiter begannen die Behandlung ihrer Tiere direkt im Anschluss an die Induktion der Herzinsuffizienz nach einer mittleren Pacingdauer von 4,2 Wochen. Da jedoch durch eine Verlängerung der Induktionsphase eine stabilere Form der myokardialen Dysfunktion erzeugt werden kann^{233,301}, war mit hoher Wahrscheinlichkeit das Myokard der Tiere in der vorliegenden Studie nach 12 Wochen tachykarden Pacings in höherem Ausmaß und schwerer reversibel geschädigt als das der Hunde in Allworths Studie. Es ist

daher nicht überraschend, dass die Veränderungen des LVID in der vorliegenden Studie vergleichsweise geringer waren.

In den enddiastolischen Messungen konnte im Verlauf der Behandlungsphase sowohl in den Messungen 2h *post applicationem* als auch in den Messungen *prae applicationem* in den mit Bisoprolol behandelten Gruppen eine minimale Zunahme des LVIDd beobachtet werden, während der Durchmesser in der Placebogruppe geringfügig abnahm. Die Veränderungen waren jedoch über den Gesamtbehandlungszeitraum nicht signifikant und führten auch zu keinen signifikanten Unterschieden zwischen den Gruppen. Eine mögliche Erklärung für die leichte Zunahme des LVIDd in der konservativ und der aggressiv behandelten Gruppe vor allem in den Messungen 2h *post applicationem* liegt in der geringeren HF, die die Tiere in diesen Gruppen zu diesen Messzeitpunkten aufwiesen. Veränderungen in der HF wirken sich in erster Linie auf die Dauer der Diastole aus, so dass bei einer Reduktion der Frequenz die diastolische Füllungsphase und damit die Zeit für eine Ausdehnung des Ventrikels verlängert werden²⁵⁸.

Die Messungen des LVIDd zeigen, dass es im Studienzeitraum unter der Therapie mit Bisoprolol zu keiner Veränderung der Ventrikelgröße kam. Dieses Ergebnis ist positiv zu bewerten, da aufgrund der kardiodepressiven Eigenschaften von Bisoprolol auch eine zunächst negative Beeinflussung des Kammerdurchmessers denkbar gewesen wäre. Eine mögliche Begründung für die stabilen Werte des LVIDd in den mit Bisoprolol behandelten Gruppen sind die positiven Auswirkungen der begleitenden Therapie, die in der Placebogruppe zu einer leichten Abnahme der Ventrikelgröße geführt hat.

Mehrere tierexperimentelle Studien haben gezeigt, dass β -Blocker das Myokard vor Remodelingprozessen schützen können. So beobachteten sowohl Morita et al.²⁰⁸ als auch Sabbah et al.²⁶² in einem Mikroembolisationsmodell, dass durch die Gabe von Metoprolol bei Hunden eine Dilatation des Herzens verhindert wurde. In beiden genannten Studien wurde mit der Therapie der Tiere in einem Stadium des Krankheitsverlaufes begonnen, in dem mit einer fortschreitenden Vergrößerung des Herzens aufgrund der Erfahrungen mit dem Modell zu rechnen gewesen war. McDonald et al.¹⁹¹ hingegen interessierten sich für die Wirkungen von Metoprolol auf ein bereits vergrößertes Herz. Für ihre Untersuchungen wählten sie ein kanines Infarktmodell und begannen mit der Therapie erst Monate nach der Erzeugung des Infarkts, nachdem sich die Umbauprozesse am Herzen der Hunde bereits vollzogen hatten. Nach dreimonatiger Therapie mit Metoprolol hatte sich

das enddiastolische Volumen des linken Ventrikels bei den behandelten Tieren verringert¹⁹¹. Den beschriebenen Studien ist gemeinsam, dass die Hunde mindestens drei Monate lang mit dem β -Blocker behandelt wurden, wodurch sich erklärt, weshalb ein solcher Effekt in der vorliegenden fünfwöchigen Verträglichkeitsstudie nicht zu erwarten war. Ebenso unterstreichen die Ergebnisse der genannten Studien die Wichtigkeit einer langfristigen Behandlungsdauer, wenn das Studienziel darin besteht, die Wirksamkeit einer Therapie mit β -Blockern zu untersuchen.

Die Ergebnisse der Untersuchungen des LVID zum Zeitpunkt der Systole ähneln den Ergebnissen des LVIDd. Über den Behandlungszeitraum hinweg erfolgten sowohl in den Messungen *2h post applicationem* als auch in den Messungen *prae applicationem* keine wesentlichen Veränderungen des LVIDs in den mit Bisoprolol behandelten Gruppen und eine geringe Abnahme des Kammerdurchmessers in der Placebogruppe.

Die zu beiden Messzeitpunkten in der Placebogruppe beobachtete Abnahme des LVIDs spricht für eine verbesserte systolische Funktion des linken Ventrikels in dieser Gruppe. Die Ursache für diese Entwicklung ist in den Auswirkungen der begleitend gegebenen Medikamente auf die hämodynamischen Verhältnisse zu suchen. Sowohl Diuretika als auch ACE-Hemmer tragen zu einer Volumenentlastung des Herzens bei und führen zu einer Abnahme der Vor- und Nachlast^{298,71}. Vor allem die Senkung der Nachlast erleichtert dem Herzen die Kontraktion und verbessert die systolische Entleerung des Ventrikels, die sich in einer Reduktion des LVID am Ende der Systole widerspiegelt⁴⁷. Für Enalapril konnte eine solche Wirkung sowohl experimentell im Pacingmodell⁸ als auch bei natürlich erkrankten Hunden gezeigt werden³¹⁴. Humanmedizinische Studien ergaben weiterhin, dass bei herzkranken Patienten die Senkung der Nachlast neben der Reduktion des LVIDs gleichzeitig eine leichte Reduktion des LVIDd hervorruft⁴⁷. Diese wird über eine Abnahme des enddiastolischen linksventrikulären Füllungsdruckes (LVEDP) erklärt⁴⁷ und konnte auch in der vorliegenden Studie in der Placebogruppe beobachtet werden (siehe oben). Eine weitere Erklärung für eine verbesserte systolische Funktion des Herzens ist die Steigerung der Kontraktionskraft durch die Begleitmedikation mit Digoxin^{242,262,192}, wobei - wie schon zuvor diskutiert - fraglich ist, ob die Dosierung von Digoxin in der vorliegenden Studie ausreichend war, um therapeutisch wirksame Plasmaspiegel bei den Tieren zu erzielen.

Die Ursache für die trotz gleicher Basistherapie unterschiedliche Entwicklung sowohl des LVIDd als auch des LVIDs in der Placebogruppe im Vergleich zu den mit Bisoprolol behandelten Gruppen liegt möglicherweise in den negativ inotropen Eigenschaften von Bisoprolol. Diese üben wie bei β -Blockern typisch im Anfangsstadium der Therapie einen negativen Einfluss auf die ventrikuläre Leistungsfähigkeit aus^{37,229} und wirken so einer Verbesserung der systolischen Funktion durch die Standardmedikation entgegen. Durch die Kombination aus positiven Effekten der Begleittherapie und negativen Effekten der akuten β -Blockade ist das konstante Verhalten der linksventrikulären Dimensionen zu erklären.

Die Messung der **LVFS** diente in der vorliegenden Studie neben dem systolischen Kammerdurchmesser zur Beurteilung der systolischen Funktionsfähigkeit des linken Ventrikels. Dabei ist zu beachten, dass die LVFS nicht gleichzusetzen ist mit der systolischen Funktion, sondern abhängig ist von der am Herzen herrschenden Vor- und Nachlast, der Kontraktilität des Herzmuskels²⁶⁸ und der HF³⁰. Zu berücksichtigen ist weiterhin, dass eine Abnahme der systolischen Verkürzung in der Kurzachse, die in der vorliegenden Studie gemessen wurde, durch eine Zunahme der Verkürzung in der Längsachse kompensiert werden kann^{268,272}. Andere Umstände, unter denen die LVFS keine Beurteilung der systolischen Funktion zulässt, sind das Vorliegen einer Aortenstenose oder einer Mitralklappeninsuffizienz³⁰. Die LVFS sollte deshalb im Idealfall zusammen mit anderen Indizes der systolischen Funktion, der HF und der Herzlast interpretiert werden²⁷².

Es ist bekannt, dass Bisoprolol die Kontraktilität des Herzens reduziert¹²⁷, weshalb aufgrund der pharmakokinetischen Eigenschaften von Bisoprolol vor allem in den Messungen 2h *post applicationem* mit einer Abnahme der LVFS als Reaktion auf die Behandlung mit Bisoprolol zu rechnen gewesen war. Über den Gesamtbehandlungszeitraum hinweg traten jedoch keine signifikanten Veränderungen der LVFS zu diesen Messzeitpunkten auf und die erwartete initiale Reduktion der LVFS als Reaktion auf die Einleitung der Therapie mit Bisoprolol blieb aus. Im Vergleich zum Ausgangswert hatte die LVFS in der 2h-Messung am Ende der 1. Behandlungswoche in der konservativ behandelten Gruppe um $0,5 \pm 0,8\%$ und in der aggressiv behandelten Gruppe um $3,1 \pm 1,8\%$ zugenommen. Auch steigende Dosierungen von Bisoprolol hatten in den Messungen 2h *post applicationem* keinen anhaltend negativen Effekt auf die

Entwicklung der LVFS, so dass sich die Werte am Ende der Behandlungsphase in den mit Bisoprolol behandelten Gruppen kaum vom Ausgangswert unterschieden. Diese Beobachtungen zeigen, dass die Hunde die negativ inotrope Wirkung von Bisoprolol gut tolerierten.

Auch in den Messungen *prae applicationem* fand keine statistisch oder klinisch relevante Verschlechterung der LVFS aufgrund der Behandlung mit Bisoprolol statt. In der konservativ behandelten Gruppe stieg die LVFS um $1,7 \pm 1,6\%$ im Verlauf der Behandlungsphase und die Abnahme in der aggressiv behandelten Gruppe war mit $1,1 \pm 1,1\%$ so gering, dass sie im Zusammenhang mit dem konstant stabilen klinischen Zustand der Hunde vernachlässigt werden kann.

Zu der guten Verträglichkeit von Bisoprolol hat möglicherweise die begleitend durchgeführte Standardtherapie beigetragen. Diese Vermutung wird durch die Entwicklung der LVFS in der Placebogruppe gestützt, die sowohl in den Messungen *2h post applicationem* als auch *prae applicationem* etwas deutlichere Zunahmen in der LVFS aufwies ($1,7 \pm 2,3\%$ bzw. $3,0 \pm 2,4\%$ Zunahme während der Behandlungsphase) als die mit Bisoprolol behandelten Gruppen. Bei der Diskussion des LVID wurde bereits darauf hingewiesen, dass die in der vorliegenden Studie begleitend eingesetzten Medikamente zu einer Verbesserung der systolischen Funktion des Herzens führen, die sich ebenfalls in einer Steigerung der LVFS äußert. Allworth et al.⁸ beobachteten in ihrem Pacingmodell als Reaktion auf die Behandlung mit Enalapril eine Zunahme der LVFS um 6%, die sie auf eine positive Beeinflussung der hämodynamischen Verhältnisse - hauptsächlich eine Senkung der Nachlast - durch den ACE-Hemmer zurückführten. Es erscheint daher durchaus möglich, dass in der vorliegenden Studie die Verbesserung der systolischen Funktion des Herzens durch die Standardtherapie die negativ inotropen Effekte von Bisoprolol kompensiert hat. Aus den vorliegenden Ergebnissen kann geschlossen werden, dass Bisoprolol in den verwendeten Dosierungen und bei einer Gabe zusätzlich zu der hier eingesetzten Standardtherapie bei klinisch stabilen Tieren zu keiner kritischen Abnahme der LVFS führt.

5.2.4 Blutdruck

Bei der Bewertung der Parameter des Blutdrucks ist zu beachten, dass diese sehr sensibel auf Stress und äußere Einflüsse wie wechselndes Personal, eine fremde

Umgebung oder Lärm reagieren^{328,25}. Insbesondere bei nicht invasiven Messmethoden können Schwankungen oder Ungenauigkeiten der Ergebnisse auch durch Bewegungen des Tieres oder einen schwachen und unregelmäßigen Puls verursacht werden²⁸⁶. Die Ergebnisse der Blutdruckmessungen zeichneten sich deshalb wie erwartet durch zum Teil starke intraindividuelle Schwankungen aus.

In den Messungen 2h *post applicationem* konnte für alle Blutdruckparameter eine signifikante Reduktion im Verlauf der Behandlungsphase beobachtet werden. Es bestand jedoch in keinem Fall eine Beziehung zwischen den Gruppen und dem zeitlichen Verlauf und zu keinem Zeitpunkt traten signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen auf. Der **systolische Blutdruck (SBP)** reagierte am auffälligsten auf den Beginn der Therapie. In allen Gruppen konnte in den Messungen 2h *post applicationem* bereits während der 1. Behandlungswoche ein deutlicher Abfall des SBP beobachtet werden, der in der aggressiv behandelten Gruppe mit 37 ± 12 mmHg am stärksten ausfiel. Für die restliche Studiendauer blieben die Werte vergleichsweise stabil und auch steigende Dosierungen von Bisoprolol hatten keinen erkennbaren zusätzlich reduzierenden Effekt auf den SBP. Für den **diastolischen Blutdruck (DBP)** und den **mittleren arteriellen Blutdruck (MAP)** waren die Beobachtungen ähnlich, wobei die initiale Reduktion der Werte im Verlauf der 1. Behandlungswoche bei diesen beiden Parametern deutlich geringer ausfiel als im Fall des SBP. Bemerkenswert ist die Zunahme des DBP und MAP in der konservativ behandelten Gruppe im Verlauf der 2. und 3. Behandlungswoche, in denen die genannten Parameter in der konservativ behandelten Gruppe über den Werten in den Vergleichsgruppen lagen. Die Untersuchungen im Rahmen der vorliegenden Studie lieferten keine offensichtliche Erklärung für diese Entwicklung und die Ursache dafür bleibt unklar. Bis zum Ende der Behandlungsphase fielen der DBP und der MAP jedoch auch in der konservativ behandelten Gruppe wieder ab und lagen am Studienende gleichauf mit den Werten der aggressiv behandelten Gruppe.

Die blutdrucksenkende Wirkung von Bisoprolol wurde sowohl in tierexperimentellen^{107,127} als auch in humanmedizinischen Studien bereits mehrfach beschrieben^{168,16,85} und stellt daher eine erwartete Reaktion auf die Behandlung mit Bisoprolol dar. Es handelt sich um einen erwünschten Effekt bei der Therapie einer Herzinsuffizienz, da ein geringerer Blutdruck die Nachlast am Herzen senkt und dieses entlastet¹⁵⁰. Verschiedene Mechanismen werden für die

blutdrucksenkende Wirkung von β -Blockern verantwortlich gemacht. Genannt werden die kardiodepressive Beeinflussung des Herzens²⁸¹ und die Blockade renaler β_1 -Rezeptoren, über die die Freisetzung von Renin inhibiert und damit auch die Bildung des stark vasokonstriktorisch wirkenden Angiotensins II reduziert wird. Weitere Mechanismen bestehen in einer Blockade präsynaptischer β_2 -Rezeptoren, durch die die Ausschüttung des ebenfalls vasokonstriktorisch wirkenden Noradrenalins gehemmt wird, und in einer zentralen Dämpfung der Vasomotorik¹⁷⁷. Da einerseits die Kontraktilität des Herzens in der vorliegenden Studie nur unwesentlich durch Bisoprolol beeinflusst wurde (siehe Diskussion der echokardiographischen Parameter) und andererseits eine Affinität zu präsynaptischen β_2 -Rezeptoren für Bisoprolol infolge seiner hohen Selektivität für β_1 -Rezeptoren⁴¹ nicht festgestellt werden konnte¹⁰⁷, liegt die Vermutung nahe, dass in der vorliegenden Studie die Blockade renaler β_1 -Rezeptoren den Hauptfaktor für die Blutdrucksenkung darstellte.

Die Reduktion des Blutdrucks in der Placebogruppe ist in erster Linie auf eine Senkung des Plasmagehalts von Angiotensin II durch Enalapril zurückzuführen, dessen blutdrucksenkende Wirkung sowohl bei Hunden mit pacinginduzierter Herzinsuffizienz⁸ als auch bei natürlich erkrankten Hunden³¹⁴ demonstriert wurde.

Die Entwicklung der Blutdruckparameter in den Messungen *prae applicationem* war größeren Schwankungen unterworfen als in den Messungen *2h post applicationem*. Eine signifikante Reduktion über den Behandlungszeitraum hinweg erfolgte lediglich im Fall des SBP und des MAP und war geringer ausgeprägt als in den Messungen *2h post applicationem*. Für keinen der Parameter traten signifikante Gruppenunterschiede zu einem der Messzeitpunkte auf. Insgesamt waren am Ende der Behandlungsphase die Blutdruckparameter in der konservativ behandelten und der aggressiv behandelten Gruppe auf ein vergleichbares Niveau gefallen und lagen unter den Werten der Placebogruppe, was vor allem durch einen Wiederanstieg der Blutdruckparameter in der Placebogruppe im Verlauf der 4. und 5. Behandlungswoche verursacht wurde.

Die geringere Reduktion der Blutdruckparameter in den Messungen *prae applicationem* ist nicht überraschend, da zu diesen Zeitpunkten mit der geringsten Konzentration der verabreichten Substanzen im Plasma zu rechnen war. Die Dauer des Effektes von Enalapril wird mit 12 bis 14 Stunden angegeben¹⁵⁰, so dass die blutdrucksenkende Wirkung des ACE-Hemmers knapp 24 Stunden nach der vorhergehenden Behandlung nur noch gering gewesen sein dürfte.

Insgesamt zeigen die Ergebnisse der Blutdruckmessungen, dass die Hunde trotz ihrer Herzerkrankung in der Lage waren, die kardiodepressive Wirkung von Bisoprolol in den verwendeten Dosierungen zu kompensieren und einen für die Perfusion des Organismus ausreichend hohen Blutdruck aufrechtzuerhalten. Zum Teil lagen die gemessenen Werte des Blutdrucks unterhalb des in der Literatur als physiologisch beschriebenen Referenzbereiches^{288,35}, jedoch wurde die Grenze zur Hypotonie, die für den SBP mit 80 mmHg und für den MAP mit 60 mmHg angegeben wird³³³, nicht unterschritten. Nebenwirkungen wie extreme Mattheit, blasse Schleimhäute oder kalte Extremitäten, die auf das Vorhandensein einer Hypotonie hingewiesen hätten³³³, wurden nicht beobachtet und in der klinisch-chemischen Blutuntersuchung traten keine Veränderungen des Kreatiningehaltes als Anzeichen einer verminderten Nierendurchblutung auf.

5.2.5 Nt-proBNP

Das große Interesse an Biomarkern wie Nt-proBNP resultiert aus der Hoffnung, anhand ihrer Konzentration im Blut nicht nur diagnostische und prognostische Informationen zu erhalten, sondern auch ein Instrument für die Überwachung und individuelle Anpassung der Therapie herzkranker Patienten zu erlangen⁷⁰. In der Veterinärmedizin wird daneben nach einer geeigneten und kostengünstigen Screeningmethode für das Erkennen von Herzerkrankungen im präklinischen Frühstadium gesucht²²⁷.

Die Beobachtungen bezüglich des Plasmagehaltes von Nt-proBNP waren für die Messungen 2h *post applicationem* und die Messungen *prae applicationem* nahezu identisch. Es erfolgte jeweils ein signifikanter Anstieg des Nt-proBNP Gehaltes im Verlauf der Behandlungsphase mit einer signifikanten Beziehung zwischen den Gruppen und dem zeitlichen Verlauf, welche durch eine unterschiedliche Entwicklung des Plasmagehaltes von Nt-proBNP in den mit Bisoprolol behandelten Gruppen im Vergleich zur Placebogruppe verursacht wurde. Im Anschluss an einen initialen Abfall während der 1. Behandlungswoche in allen Gruppen stieg in der konservativ behandelten Gruppe und noch mehr in der aggressiv behandelten Gruppe der Gehalt von Nt-proBNP im Verlauf der Behandlungsphase stetig an, so dass dieser in der letzten Messung (2h-Wert am Ende der 5. Behandlungswoche) deutlich höher war als in der Placebogruppe (1963 ± 467 pmol/L in der konservativ behandelten Gruppe und

2833 ± 429 pmol/L in der aggressiv behandelten Gruppe im Vergleich zu 945 ± 189 pmol/L in der Placebogruppe). Die Zunahme des Nt-proBNP Gehaltes in der aggressiv behandelten Gruppe führte zu signifikanten Unterschieden zwischen dieser Gruppe und der Placebogruppe ab dem Ende der 3. Behandlungswoche in den Messungen 2h *post applicationem* und ab dem Ende der 4. Behandlungswoche in den Messungen *prae applicationem*.

Das Ausmaß der Freisetzung von BNP bzw. Nt-proBNP steht in engem Zusammenhang mit den im Herz herrschenden hämodynamischen Verhältnissen, da durch die vermehrte Dehnung ventrikulärer Myozyten die Synthese und Freisetzung von BNP stimuliert wird²⁷¹. Der in der ersten Woche in allen Gruppen beobachtete Abfall der NT-proBNP Plasmakonzentration kann mit Hilfe der diuretischen Wirkung von Furosemid erklärt werden. Durch die Abnahme des Körperflüssigkeitsvolumens sinken die intrakardialen Füllungsdrücke^{327,62} und der Stimulus für die Freisetzung von BNP wird reduziert. Der in den mit Bisoprolol behandelten Gruppen erfolgte Wiederanstieg der Konzentration von Nt-proBNP ist auf die veränderten hämodynamischen Verhältnisse während der frühen Phase einer β -Blocker Therapie zurückzuführen. Die Abnahme der HF führt zu einer Verlängerung der kardialen Füllungsphase, die zusammen mit der gesenkten myokardialen Kontraktilität einen Anstieg des enddiastolischen Druckes und der Wandspannung bewirkt⁷⁰. Gestützt wird diese Erklärung durch die Ergebnisse der Messungen des linksventrikulären enddiastolischen Druckes (LVEDP). Der LVEDP (gemessen 2 – 3h *post applicationem*) lag in den mit Bisoprolol behandelten Gruppen am Ende der Behandlungsphase deutlich über dem Druck in der Placebogruppe, wodurch auf eine vermehrte Dehnung der ventrikulären Myozyten bei diesen Tieren geschlossen werden kann.

Humanmedizinische Studien, die den Effekt von β -Blockern auf den Plasmaspiegel natriuretischer Peptide untersuchten, lieferten zum Teil recht unterschiedliche Ergebnisse, vermutlich aufgrund von Unterschieden in der Dosierung, der Behandlungsdauer, des klinischen Status der eingeschlossenen Patienten und der pharmakodynamischen Eigenschaften der eingesetzten β -Blocker⁷⁰. Sowohl für Metoprolol als auch für Bisoprolol wurden Anstiege des Gehaltes von BNP im Blut sechs bzw. acht Wochen nach Therapiebeginn berichtet^{70,325}. Eine Reduktion der Plasmakonzentration der natriuretischen Peptide wurde hingegen in Studien mit einer längeren Beobachtungsdauer (sechs Monate bzw. zwölf Monate) festgestellt^{126,302}. Insgesamt sprechen die Ergebnisse

der Studien dafür, dass eine Therapie mit β -Blockern initial zu einer Erhöhung der Konzentration natriuretischer Peptide im Blut führt, langfristig jedoch zu einer Reduktion derselben⁷⁰. In der Veterinärmedizin liegen bisher kaum Veröffentlichungen vor, in denen die Auswirkung einer Behandlung von Hunden mit β -Blockern auf den Gehalt der natriuretischen Peptide im Blut der Tiere untersucht wurde. Übereinstimmend mit den Ergebnissen der humanmedizinischen Studien beobachteten Sabbah et al.²⁶² in einem Mikroembolisationsmodell nach dreimonatiger Therapie mit Metoprolol eine Abnahme der ANP Konzentration im Blut der behandelten Hunde.

5.2.6 Hämatologie und klinische Chemie

Die Parameter der hämatologischen und klinisch-chemischen Blutuntersuchung wiesen keine unterschiedlichen Entwicklungen in den Behandlungsgruppen auf und verblieben während der gesamten Behandlungsphase innerhalb der Referenzbereiche. Sie bestätigen damit die gute Verträglichkeit von Bisoprolol und seine sichere Anwendbarkeit bei kardial erkrankten Hunden bis zu einer Dosierung von 1,0 mg/kg KGW.

Der einzige abweichende Befund in der hämatologischen Blutuntersuchung war ein während der letzten zwei Wochen erhöhter Leukozytengehalt im Blut eines Tieres der aggressiv behandelten Gruppe. Es gibt keine Hinweise auf Veränderungen des Differentialblutbildes im Zusammenhang mit einer Behandlung mit Bisoprolol¹⁶⁸, weshalb Bisoprolol als Auslöser für den Anstieg des Leukozytengehaltes ausgeschlossen werden kann. Die Frage nach der Ursache für den Anstieg kann mit Hilfe der vorliegenden Studie nicht schlüssig beantwortet werden. Möglicherweise ist der Befund Ausdruck einer systemisch inflammatorischen Reaktion des Organismus im Rahmen des kardialen Krankheitsgeschehens. Untersuchungen in der Human- und in der Veterinärmedizin haben gezeigt, dass Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz erhöhte Konzentrationen inflammatorischer Zytokine im Blut aufweisen^{200,353,352,26}, und dass neben dem Myokard weitere Gewebe und Zellen wie Leukozyten, Makrophagen und endotheliale Zellen an den Entzündungsvorgängen beteiligt sind³⁵². Da sich das wissenschaftliche Interesse auf diesem Gebiet jedoch mehrheitlich auf Zytokine wie TNF α und verschiedene Interleukine richtet^{4,220,18,238}, finden sich in der Literatur wenig Angaben über die Entwicklung

des Leukozytengehalts im Blut der untersuchten Patienten, mit denen die Ergebnisse der vorliegenden Studie verglichen werden könnten. Wäre es infolge der Gabe von Bisoprolol regelmäßig zu einer Erhöhung der Leukozytenzahl gekommen, wäre dieses auch in den zur Einreichung geforderten toxikologischen Studien beobachtet worden und würde in der Patienteninformation oder FOI (Freedom Of Information) erwähnt. Dies ist aber nicht der Fall.

Eine Ausnahme von den unauffälligen Befunden der klinisch-chemischen Blutuntersuchung bildete ein geringgradiger Anstieg der ALT Serumkonzentration um weniger als das Doppelte des vom Labor angegebenen oberen Referenzwertes bei zwei Hunden in der aggressiv behandelten Gruppe. Die ALT ist ein beim Hund leberspezifisches Enzym, das im Zytosol der Zellen lokalisiert ist und bei einer Schädigung der Zellmembran ins Plasma gelangt³³⁷. Da Bisoprolol im Gegensatz zu anderen β -Blockern nur zu 40-50% in der Leber metabolisiert wird und eine übermäßige Belastung der Leber durch Bisoprolol nicht bekannt ist¹⁶⁸, kann ein Zusammenhang zwischen der Zunahme der ALT und der Behandlung mit Bisoprolol ausgeschlossen werden. Ein Anstieg der ALT Serumkonzentration tritt bei primären Lebererkrankungen auf und in Situationen, in denen es aufgrund einer Hypoxie oder eines systemisch zu niedrigen Blutdrucks zu einer Schädigung von Leberzellen kommt^{337,20}. Dabei wird in der Veterinärmedizin eine Aktivitätssteigerung der ALT bis zum Dreifachen noch als geringgradig eingestuft¹⁶² und erst ein Anstieg der Aktivität darüber spricht für einen Austritt des Enzyms aus den Leberzellen³⁴³. In der Humanmedizin werden bei Patienten mit kongestiver Herzinsuffizienz regelmäßig Leberdysfunktionen diagnostiziert, die in der Regel jedoch so milde sind, dass sie zu keinen klinischen Symptomen führen¹⁶⁴. Welche Mechanismen bei den Tieren in der vorliegenden Studie zu der als geringgradig einzustufenden Erhöhung der ALT Serumkonzentration geführt haben und ob dabei eine Hypoxie aufgrund der kardialen Erkrankung eine Rolle gespielt hat, bleibt offen, da für die Aufklärung erforderliche hämodynamische Messungen wie die Bestimmung des zentralen Venendruckes, des Herzminutenvolumens oder eine Blutgasanalyse²⁰ nicht durchgeführt wurden.

5.2.7 Intrakardiale Druckparameter

Bei der Auswertung der intrakardialen Druckparameter muss beachtet werden, dass in der aggressiv behandelten Gruppe lediglich vier Tiere im Gegensatz zu

jeweils sechs Tieren in der konservativ behandelten Gruppe und der Placebogruppe ausgewertet werden konnten, was möglicherweise einen nicht unerheblichen Einfluss auf die Mittelwerte der Daten für diese Gruppe gehabt haben könnte. Am Ende der Behandlungsphase war der LVEDP in den mit Bisoprolol behandelten Gruppen höher und der Betrag der maximalen Druckanstiegsgeschwindigkeit ($dP/dt \max$) und der maximalen Druckabfallsgeschwindigkeit ($dP/dt \min$) signifikant geringer als in der Placebogruppe.

Experimentelle Studien an kardial erkrankten Hunden zeigten, dass bei einer mehrmonatigen β -Blocker Therapie eine Verbesserung intrakardial gemessener Blutdruckparameter eintritt^{262,213,208}. Offenbar ist aber ähnlich wie bei der Ventrikelgröße und der Plasmakonzentration der natriuretischen Peptide die Dauer der Behandlung von entscheidender Bedeutung für die Entwicklung der Parameter. Das bestätigt eine Studie von Tallaj et al.³⁰³, in der Hunde mit experimentell erzeugter Mitralklappeninsuffizienz zwei bzw. vier Wochen mit Metoprolol behandelt wurden. Zwei Wochen nach Therapiebeginn war in der mit Metoprolol behandelten Gruppe der linksventrikuläre enddiastolische Druck (LVEDP) höher und die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit ($dP/dt \max$) geringer als in der unbehandelten Vergleichsgruppe. Nach vier Wochen Therapie hingegen konnte für beide Parameter bereits eine positive Entwicklung in der mit Metoprolol behandelten Gruppe beobachtet werden³⁰³. Im Fall der vorliegenden Studie muss beachtet werden, dass anders als in der Studie von Tallaj et al.³⁰³ die Therapie der Hunde mit jeweils sehr geringen Dosierungen von Bisoprolol begonnen wurde. Möglicherweise war daher die Dauer, in der die Hunde eine als therapeutisch zu erachtende Dosierung von Bisoprolol erhielten, zu kurz, um eine Verbesserung der intrakardial gemessenen Druckverhältnisse zu erzielen. Damit würden die Ergebnisse der vorliegenden Studie die bei Tallaj et al.³⁰³ initial beobachteten Gegebenheiten nach zwei Wochen β -Blocker Therapie bestätigen.

Der höhere **LVEDP** in den mit Bisoprolol behandelten Gruppen reflektiert eine - aufgrund der deutlichen Abnahme der HF - verlängerte diastolische Füllungsphase bei diesen Tieren. Die zeitliche Ausdehnung der Diastole ist ein erwünschter Effekt und wird unter anderem für die gute Verträglichkeit von β -Blockern verantwortlich gemacht¹⁰. Sie gewährleistet eine bessere Sauerstoffversorgung des Myokards^{10,177} und führt zu einer verstärkten Kontraktion der Myozyten in der folgenden Systole²⁵⁸, wodurch die negativ inotrope Wirkung des β -Blockers besser kompensiert werden kann. Die positiven Effekte, die sich aus einer Verlängerung

der Diastole ergeben, überwiegen damit die Nachteile eines vorübergehend erhöhten LVEDP, so dass diesem Befund keine große Bedeutung beizumessen ist.

Die **dP/dt max** ist ein weiterer Parameter zur Beurteilung der systolischen Funktion des Ventrikels. Sie ist eine von der Vorlast des Herzens abhängige Messgröße²⁰⁵ und steigt unter physiologischen Umständen bei einer Erhöhung der Vorlast an^{183,246}. Dass in der vorliegenden Studie die Werte der dP/dt max in den mit Bisoprolol behandelten Gruppen trotz einer höheren Vorlast (erkennbar an den höheren Werten des LVEDP) geringer ausfielen als in der Placebogruppe, ist mit den negativ inotropen Eigenschaften von Bisoprolol zu erklären und eine bekannte akute Reaktion auf die Applikation eines β -Blockers^{127,163,106}. Ein positiver Aspekt der negativen Inotropie ist, dass sie zusammen mit der Reduktion der HF zu einer Senkung des myokardialen Sauerstoffbedarfs beiträgt¹⁰ und das Myokard so vor einer kardiotoxischen Ischämie schützt¹⁷⁷.

Die **dP/dt min** ist ein Maß für die aktive Relaxationsfähigkeit des Ventrikels in der frühen diastolischen Füllungsphase^{199,98}. In einer humanmedizinischen Studie untersuchten Haber et al.¹⁰⁶ die akuten Auswirkungen einer intravenösen Applikation von Metoprolol auf die diastolische Funktion des Herzens. Sie beobachteten zwar eine Abnahme der dP/dt min, jedoch auch, dass die passive späte Phase der Diastole durch die Gabe des β -Blockers nicht verändert wurde. Von einer negativen Beeinflussung des Lungenkapillardruckes oder der Elastizität des Ventrikels durch die β -Rezeptorblockade kann daher nicht ausgegangen werden¹⁰⁶. Die in der vorliegenden Studie beobachtete Abnahme der dP/dt min in den mit Bisoprolol behandelten Gruppen stimmt weiterhin mit Ergebnissen tierexperimenteller Studien überein, in denen eine Verlangsamung der frühen diastolischen Relaxation infolge einer β -Rezeptorblockade beobachtet wurde²¹¹. Die Ursache für die Abnahme der dP/dt min bei Einsatz eines β -Blockers liegt darin, dass unter physiologischen Umständen die Relaxation des Ventrikels durch die adrenerge Stimulation kardialer Rezeptoren gefördert wird^{211,205}.

5.3 Verträglichkeit von Bisoprolol

Aufgrund ihrer kardiodepressiven Wirkung galten β -Blocker in der Therapie der Herzinsuffizienz lange Zeit als kontraindiziert. Ein erhöhter Sympathikotonus wurde als notwendiger Kompensationsmechanismus des Organismus beurteilt,

um die kardiale Leistungsfähigkeit aufrechtzuerhalten und es erschien unwahrscheinlich, dass herzkrankte Patienten eine Blockade dieses Mechanismus tolerieren würden^{229,2}. Erst Mitte der 70er Jahre beobachtete Waagstein, dass der Einsatz eines β -Blockers nicht nur gut vertragen wurde, sondern sogar positive Effekte auf den klinischen Zustand seiner Patienten ausübte³³².

Die gute Verträglichkeit und Wirksamkeit von Bisoprolol und anderen β -Blockern wurde seither in mehreren groß angelegten klinischen Studien bei Tausenden von humanen Patienten mit Herzinsuffizienz bestätigt^{194,60,106}, so dass sie inzwischen als Standardtherapie bei klinisch stabilen Patienten mit systolischer Dysfunktion empfohlen werden^{138,296}.

Bisoprolol erwies sich in der vorliegenden Studie innerhalb eines Dosierungsintervalls von 0,005 - 1,0 mg/kg KGW als sicher und gut verträglich bei Hunden mit einer pacinginduzierten systolischen Dysfunktion, die zusätzlich eine bei kongestiver Herzinsuffizienz anerkannte Standardtherapie erhielten. Keiner der Hunde entwickelte klinische Symptome einer akuten Dekompensation und es traten keine Nebenwirkungen auf, die in einem offensichtlichen Zusammenhang mit der Gabe von Bisoprolol standen. Das Körpergewicht der Tiere blieb nach einer diuretisch bedingten initialen Reduktion im Verlauf der Behandlungsphase stabil und die Ergebnisse der hämatologischen und klinisch-chemischen Blutuntersuchung ergaben ebenfalls keine Anhaltspunkte, die Bedenken hinsichtlich der Sicherheit einer Behandlung mit Bisoprolol auslösen würden. HF, elektrokardiographische Parameter und Blutdruck verblieben stets im physiologischen Referenzbereich und trotz der negativ inotropen Eigenschaften von Bisoprolol erfolgte keine klinisch relevante Abnahme der kardialen Leistungsfähigkeit in den mit Bisoprolol behandelten Gruppen.

Die beobachtete gute Verträglichkeit von Bisoprolol in der vorliegenden Studie bestätigt bisherige Erfahrungen mit β -Blockern bei natürlich erkrankten Hunden. Die Nebenwirkungsrate von Metoprolol in einer retrospektiven Studie von Rush et al.²⁵⁶ betrug 16% und lag damit in der gleichen Größenordnung wie die vergleichbarer humanmedizinischer Studien²⁵⁶. In einer weiteren retrospektiven Studie erwies sich Propranolol ebenfalls als gut verträglich. Obwohl es sich um Hunde mit schwerer DCM handelte, musste bei keinem der Tiere die Therapie abgebrochen werden und es traten keine Nebenwirkungen im Zusammenhang mit der Gabe von Propranolol auf³¹⁶. Carvedilol wurde in klinischen Studien

problemlos sowohl bei Hunden mit einer DCM als auch bei Hunden mit einer chronisch valvulären Herzerkrankung eingesetzt^{226,186}.

Für die ursprünglich überraschend gute Verträglichkeit der β -Blocker bestehen verschiedene Erklärungsansätze. Entscheidend für die Prävention einer kardialen Dekompensation ist, dass der negativ inotrope Effekt der β -Blocker durch eine gleichzeitige Reduktion der Nachlast ausgeglichen werden kann¹⁰⁶, wodurch eine Aufrechterhaltung des Herzminutenvolumens ermöglicht wird³⁷. Die Reduktion der Nachlast beruht auf einer Senkung des Blutdrucks, die durch die Vasodilatation peripherer Gefäße erzielt wird. Das erklärt ebenfalls, weshalb die Substanzen der zweiten und dritten Generation der β -Blocker besser vertragen werden als die der ersten^{133,177}. Bei nicht-selektiven Substanzen der ersten Generation kommt es aufgrund einer Blockade der vaskulären β_2 -Rezeptoren in der Peripherie zu einer Vasokonstriktion, infolge derer die Nachlast erhöht und das Herzminutenvolumen reduziert wird³⁷. Umstritten ist, ob bei den β_1 -selektiven Substanzen der zweiten Generation eine Unterstützung der myokardialen Funktion durch endogene Katecholamine via der unblockierten und freien kardialen β_2 -Rezeptoren stattfindet³⁷. Gegen diese Theorie spricht die Beobachtung, dass bei der Entwicklung einer Herzinsuffizienz im Myokard eine Abkopplung der β_2 -Rezeptoren von ihrer intrazellulären Signalkaskade stattfindet^{155,258}.

Die Reduktion der HF durch β -Blocker hat weitere, sofort wirksame Vorteile. In einem gesunden Herzen nimmt bei einer Erhöhung der HF die Kontraktilität des Myokards zu (positive Kraft-Frequenz Beziehung, Bowditch Phänomen), während bei Vorliegen einer Herzinsuffizienz diese Beziehung aufgehoben ist (negative Kraft-Frequenz Beziehung) und sich gerade die Reduktion der Frequenz in einer verstärkten Kontraktion äußert^{133,42}. Eine Erklärung für dieses Phänomen liegt in der Verlängerung der diastolischen Füllungsphase, während der mehr Calcium in die intrazellulären Speicher des sarkoplasmatischen Retikulums aufgenommen werden kann und in der folgenden Systole für die Kontraktion zur Verfügung steht²⁵⁸. Weiterhin führen die negativ chronotropen und inotropen Eigenschaften der β -Blocker zu einer Abnahme des myokardialen Sauerstoffbedarfs¹⁰, der gleichzeitig besser gedeckt werden kann, da mit der Verlängerung der Diastole auch die Perfusion des Myokards zunimmt²⁵⁸.

Bei der Übertragung der Ergebnisse der vorliegenden Studie auf klinische Patienten muss beachtet werden, dass das kontinuierliche Pacing der Hunde möglicherweise eine kardiale Dekompensation verhindert hat. Zu den häufigsten

Nebenwirkungen von β -Blockern in der Humanmedizin zählen Bradykardie, eine Zunahme von Stauungserscheinungen und Hypotonie^{138,2,296}. Dass es bei Hunden zu ähnlichen Reaktionen kommen kann, zeigt die Studie von Rush et al.²⁵⁶, in der Synkopen, das erstmalige oder erneute Auftreten von Stauungssymptomen und Diarrhoe die häufigsten beobachteten Nebenwirkungen bei der Behandlung mit Metoprolol waren²⁵⁶. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass nicht auch die Hunde der vorliegenden Studie ohne die Unterstützung des Herzschrittmachers eine klinisch bedeutsame Bradykardie entwickelt hätten. Allerdings erscheint diese Möglichkeit angesichts dessen, dass die HF bei den mit Bisoprolol behandelten Tieren auch bei inaktiviertem Herzschrittmacher stets sicher im physiologischen Bereich lag, eher unwahrscheinlich. Es besteht daher kein Grund zur Annahme, dass Bisoprolol nicht auch von natürlich erkrankten Hunden, die klinisch stabil und frei von Symptomen einer akuten Dekompensation sind, gut toleriert würde.

Unterstützt wird die gute Verträglichkeit von Bisoprolol durch seine vorteilhaften pharmakokinetischen Eigenschaften^{52,23}, die zu einer geringen interindividuellen Variabilität der Serumspiegel von Bisoprolol (< 30% zu jedem Zeitpunkt) führen und eine genaue Dosierung der Substanz und Steuerung der pharmakologischen Wirksamkeit ermöglichen.

5.4 Bewertung der Titrationsprotokolle

Aufgrund der negativ chronotropen und inotropen Eigenschaften eines β -Blockers, ist eine vorsichtige Dosissteigerung des Medikaments von entscheidender Bedeutung für den Erfolg der Therapie. Mit Hilfe des Pacingmodells konnten in der vorliegenden Studie die direkten Auswirkungen von Bisoprolol auf so wichtige klinische Parameter wie die HF, das PQ-Intervall, die Größe des linken Ventrikels und den Blutdruck in regelmäßigen Zeitabständen über die Dauer der Behandlungsphase untersucht werden. Die Ergebnisse der Studie ermöglichen damit eine Bewertung der verwendeten Protokolle zur Dosissteigerung und eine Empfehlung hinsichtlich des Dosierungsschemas von Bisoprolol in klinischen Patienten.

Beide in der vorliegenden Studie verwendeten Titrationsschemata erwiesen sich unter den vorhandenen Umständen als sicher. Es wurde jedoch bereits erwähnt, dass das kontinuierliche Pacing der Hunde möglicherweise das Auftreten einer Bradykardie und eine kardiale Dekompensation verhindert hat. Diese Bedenken

beziehen sich vor allem auf die aggressiv mit Bisoprolol behandelte Gruppe, in der die HF bereits unter der Anfangsdosis von 0,01 mg/kg KGW im Verlauf der 1. Behandlungswoche um ein Maß sank, das bei Tieren ohne implantierten Herzschrittmacher unter Umständen zu klinischen Symptomen geführt hätte. Im Gegensatz zu den aggressiv behandelten Tieren war in der konservativ behandelten Gruppe mit der Anfangsdosis von 0,005 mg/kg KGW keine Reduktion der HF zusätzlich zu der durch die Standardtherapie verursachte zu erkennen. In bereits erkrankten Hunden wäre ein Therapiebeginn mit einer Dosierung in dieser Größenordnung daher als sicher und empfehlenswert anzusehen.

Weiterhin ist von Interesse, dass ab einer Dosierung von 0,1 mg/kg KGW auch mit steigenden Dosierungen von Bisoprolol keine weitere Reduktion der HF gemessen werden konnte. Diese Beobachtung deutet auf einen maximal erreichbaren Effekt hin, der auf einer vollständigen Blockade der vorhandenen β_1 -Rezeptoren durch Bisoprolol beruht. In der Annahme, dass die Blockade der Rezeptoren das Herz vor den schädlichen Folgen einer anhaltenden adrenergen Stimulation schützt und sich positiv auf den Verlauf der Erkrankung auswirkt, wäre damit eine Dosierung von mindestens 0,1 mg/kg KGW eine anzustrebende Erhaltungsdosis für eine dauerhafte Therapie.

Diese Überlegungen führen zu dem Schluss, dass in einer klinischen Studie ein Dosierungsprotokoll, welches sich an den konservativen Ansatz anlehnt, bei Hunden mit kongestiver Herzinsuffizienz eine sichere Einleitung und effektive Erhaltung der Therapie gewährleisten würde.

5.5 Ausblick

In der Humanmedizin besitzen β -Blocker seit einigen Jahren einen festen Platz in der Behandlung von herzkranken Patienten mit systolischer Dysfunktion^{38,177}. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen, dass der β_1 -selektive Adrenozeptorblocker Bisoprolol von Hunden mit pacinginduzierter Herzinsuffizienz gut vertragen wird und keine Bedenken hinsichtlich eines klinischen Einsatzes von Bisoprolol bei Hunden mit kardialen Erkrankungen bestehen. Die Erfahrungen aus der Humanmedizin lassen vermuten, dass Studien mit einer Therapiedauer von über drei Monaten positive Auswirkungen von Bisoprolol auf die Erkrankung der Tiere zeigen würden.

Die erforderliche lange Behandlungsdauer stellt jedoch gleichzeitig einen möglichen Nachteil des Einsatzes von β -Blockern in der Veterinärmedizin dar. Viele herzkranken Tiere werden erst in einem fortgeschrittenen Stadium der Erkrankung dem Tierarzt vorgestellt mit einer dementsprechend schlechten Prognose hinsichtlich der verbleibenden Lebenserwartung. Es ist nicht auszuschließen, dass ein Teil der behandelten Tiere sterben könnte, bevor der β -Blocker seine positive Wirkung entfalten würde^{2,53}. Weiterhin ist zu beachten, dass ein entscheidender Wirkungsmechanismus der β -Blocker darin besteht, das Herz vor den kardiotoxischen Effekten von Noradrenalin zu schützen^{229,42}, dessen Konzentration im kardialen Gewebe sehr früh im Verlauf der Erkrankung mit der Aktivierung des sympathischen Nervensystems ansteigt^{279,100}. Um eine maximale Wirkung von Bisoprolol zu erhalten, muss daher das Ziel sein, eine kardiale Erkrankung bei einem Hund so früh wie möglich zu erkennen und mit Bisoprolol zu behandeln. Der erwartete Nutzen bestünde in einer Verlangsamung der Progression der Erkrankung, einer Erhaltung der linksventrikulären Funktion und einem späteren Einsetzen von klinischen Symptomen. Eine Überprüfung dieser Thesen erfordert allerdings langfristige klinische Feldstudien mit grossen Patientenzahlen in natürlich erkrankten Hunden¹⁰⁰.

6 Zusammenfassung

Die Behandlung der kongestiven Herzinsuffizienz ist ein derzeit viel diskutiertes Thema in der Kleintierkardiologie. Neue Optionen in der Therapie der Herzinsuffizienz zielen auf eine Durchbrechung dauerhaft aktivierter neuroendokriner Regelkreise, die eine zentrale Rolle in der Progression der Erkrankung spielen. In der Humanmedizin konnte gezeigt werden, dass β -Adrenozeptorblocker (β -Blocker), die den kardiotoxischen Wirkungen des sympathischen Nervensystems entgegenwirken, bei Patienten mit Herzinsuffizienz den Krankheitsverlauf verzögern und eine lebensverlängernde Wirkung haben. Hierbei ist jedoch zu beachten, dass β -Blocker initial zu einer Verschlechterung der Hämodynamik führen und erst in der Langzeittherapie positive Ergebnisse zu erzielen sind. In Vorbereitung eines möglichen Einsatzes von β -Blockern bei der Herzinsuffizienz des Hundes war es daher das Ziel der vorliegenden Studie, die Verträglichkeit des β_1 -selektiven Adrenozeptorblockers Bisoprolol bei Hunden mit pacinginduzierter Herzinsuffizienz zu untersuchen und ein geeignetes Protokoll zur Dosissteigerung zu etablieren.

Bei 18 Beagle Hunden wurde in einer zwölfwöchigen Induktionsphase durch tachykardes Pacing eine kongestive Herzinsuffizienz erzeugt. Diese war durch eine Dilatation des Herzens, eine Abnahme der linksventrikulären systolischen Funktion und einen Anstieg des Plasmagehaltes von Nt-proBNP gekennzeichnet. Während der fünföchigen Behandlungsphase wurde das Pacing beibehalten und der Herzschrittmacher nur temporär während der Messungen deaktiviert. Die Hunde wurden einer von drei Behandlungsgruppen zugeordnet. Gruppe 1 wurde nach einem konservativen Protokoll zur Dosissteigerung mit Bisoprolol behandelt (0,005 – 0,1 mg/kg KGW) und Gruppe 2 nach einem aggressiven Protokoll (0,01 - 1,0 mg/kg KGW). Gruppe 3 erhielt eine Placeboformulierung. Alle Hunde wurden zusätzlich mit Furosemid (4,0 mg/kg KGW), Enalapril (0,5 mg/kg KGW) und Digoxin (0,003 mg/kg KGW) therapiert. Vor Beginn der Behandlung und am 7. Tag jeder Woche wurden jeweils vor und zwei Stunden nach der Behandlung eine elektrokardiographische und echokardiographische Untersuchung durchgeführt, sowie der arterielle Blutdruck gemessen und Blutproben für eine hämatologische und klinisch-chemische Untersuchung gewonnen. Zusätzlich erfolgte eine Bestimmung des Plasmagehalts von Nt-proBNP. Am Ende der Behandlungsphase fand unter Narkose eine intrakardiale Druckmessung statt.

Die Therapie mit Bisoprolol wurde von allen Hunden gut vertragen und es traten keine Nebenwirkungen in Zusammenhang mit der Behandlung auf. Im Elektrokardiogramm verursachte Bisoprolol eine Senkung der Herzfrequenz und eine Verlängerung des PQ-Intervalls. Die Dauer des QRS-Komplexes und das um die Herzfrequenz korrigierte QT-Intervall QTcF wiesen keine behandlungsbedingten Veränderungen auf. Die echokardiographisch erfassten Parameter veränderten sich in beiden Bisoprololgruppen nur unwesentlich, während es in der Placebogruppe zu einer geringgradigen Abnahme des linken Ventrikeldurchmessers und eine geringe Verbesserung der systolischen Funktion kam. Die Blutdruckwerte waren am Ende der Behandlungsphase in allen Gruppen vergleichbar gesunken. In den mit Bisoprolol behandelten Gruppen erfolgte während der Behandlungsphase ein Anstieg des Plasmagehaltes von Nt-proBNP, nicht dagegen in der Placebogruppe. Dies war übereinstimmend mit höheren linksventrikulären enddiastolischen Füllungsdrücken und verminderten systolischen und diastolischen Druckänderungsgeschwindigkeiten in den mit Bisoprolol behandelten Gruppen am Ende der Behandlungsphase. Mit wenigen Ausnahmen bei einzelnen Hunden waren die Befunde der hämatologischen und klinisch-chemischen Blutuntersuchung unauffällig.

Die vorliegende Studie ermöglichte eine regelmäßige und detaillierte Beobachtung der Auswirkung von Bisoprolol auf das Herzkreislaufsystem von kardial erkrankten Hunden. So konnte gezeigt werden, dass eine Behandlung mit Bisoprolol zusätzlich zu einer anerkannten Standardtherapie von Hunden mit pacing-induzierter Herzinsuffizienz gut vertragen wird und sicher in der Anwendung ist. Sowohl das konservative als auch das aggressive Dosierungsprotokoll wurden von den Hunden gut und ohne Nebenwirkungen toleriert. Da natürlich erkrankte Hunde im Gegensatz zu den Tieren in der vorliegenden Studie nicht durch einen Herzschrittmacher unterstützt werden, ist bei der Dosissteigerung größere Vorsicht geboten und ein Schema angelehnt an den konservativen Ansatz zu empfehlen. Klinische Studien mit β -Blockern aus der Humanmedizin zeigen, dass ab einer Behandlungsdauer von drei Monaten mit erkennbaren Verbesserungen der Funktion des Herzens zu rechnen ist. Das in der vorliegenden Studie erprobte konservative Dosierungsprotokoll für Bisoprolol bildet die Grundlage zur Durchführung einer groß angelegten Feldstudie zwecks Überprüfung dieser Ergebnisse bei herzinsuffizienten Hunden.

7 Summary

Treatment of congestive heart failure is a topic of considerable interest in small animal cardiology. New therapeutic options aim at counteracting the deleterious effects of chronically activated neuroendocrine systems that play a major role in the progression of the disease. In humans, it has been demonstrated that by inhibiting the cardiotoxic effects of the sympathetic nervous system, β -adrenoceptor blockers (β -blockers) slow down disease progression and improve survival in patients with heart failure. It should be kept in mind that β -blockers initially cause adverse hemodynamic effects and that only chronic treatment leads to beneficial results. Therefore, in preparation for the use of β -blockers in dogs with cardiac disease, the aim of this study was to examine the tolerance of the β_1 -selective adrenoceptor blocker bisoprolol in dogs with pacing-induced heart failure, and to establish an appropriate protocol for the initiation and up-titration of bisoprolol.

Congestive heart failure was induced in 18 Beagle dogs through 12 weeks of rapid ventricular pacing. Heart failure was characterized by a dilatation of the heart, decrease in left ventricular function and an increase in plasma concentrations of Nt-proBNP. Pacing was continued for five weeks of treatment, with the exception of temporal deactivation of the pacemaker during times of data collection. Dogs were allocated to one of three treatment groups: group 1 was treated with escalating doses of bisoprolol according to a conservative titration protocol (0.005 - 0.1 mg/kg bw) and group 2 according to an aggressive protocol (0.01 - 1.0 mg/kg bw). Group 3 was treated with a placebo control. Additionally, all dogs received furosemide (4.0 mg/kg bw), enalapril (0.5 mg/kg bw) and digoxin (0.003 mg/kg bw). Prior to the first treatment and at day 7 of each week, data was collected before and two hours after treatment. An electrocardiogram and echocardiogram were performed and arterial blood pressure was measured. Blood samples were collected for complete blood count, as well as the determination of serum chemistry and the plasma concentration of Nt-proBNP. At the end of the treatment period, dogs were anaesthetized and left ventricular intracardiac filling pressure was determined.

Treatment with Bisoprolol was well tolerated by all dogs and no side effects associated with treatment were observed. Bisoprolol reduced heart rate and caused a prolongation of the PQ-Interval. No treatment related change was

observed in the duration of the QRS-complex, nor in the corrected QT interval QTcF. Echocardiographic variables showed no substantial changes in both bisoprolol treated groups and a slight improvement of left ventricular diameter and systolic function in the placebo group. Blood pressure was reduced in a similar way in all groups at the end of the study. Plasma concentration of Nt-proBNP increased during the treatment period in the bisoprolol treated groups, but not in the placebo treated group. This result corresponded with a higher end-diastolic left ventricular pressure and a lower systolic and diastolic peak rate of change in left ventricular pressure in these groups at the end of the study. With the exception of sporadic findings in single animals, blood and laboratory parameters remained stable throughout the study.

This study permitted a regular and detailed observation of the effects of bisoprolol on the heart and circulatory system of dogs with cardiac disease. In conclusion, treatment with bisoprolol on top of a standard therapy is safe in dogs with pacing induced heart failure. Both the conservative and the aggressive titration protocol were well tolerated without causing any signs of treatment related side effects. In naturally diseased dogs, a protocol according to the conservative one appears to be more prudent as these dogs are not supported by a pacemaker. Clinical studies in human patients show that approximately three months after initiation of β -blocker therapy, improvement of cardiac performance can be observed. The conservative titration protocol as it has been established in this study provides the basis for a comprehensive field study for the purpose of verifying these results in dogs with heart disease.

8 Literaturverzeichnis

1. Abbott, J. A. (2003), "Canine mitral valve disease - current therapy", *Proc. 21st ACVIM Forum*, Charlotte.
2. Abbott, J. A. (2004), "Beta-blockade in the management of systolic dysfunction", *Vet Clin North Am Small Anim Pract.*, 34, 1157-1170.
3. Abbott, J. A. (2005), "Echocardiography: placing findings in clinical context", *Proc. 23rd ACVIM Forum*, Birmingham.
4. Adamopoulos, S., Parissis, J. T., Kremastinos, D. T. (2001), "A glossary of circulating cytokines in chronic heart failure", *Eur.J.Heart Fail.*, 3, 517-526.
5. Adams, J. E., III, Bodor, G. S., Vila-Roman, V. G., Delmez, J. A., Apple, F. S., Ladenson, J. H., Jaffe, A. S. (1993), "Cardiac troponin I. A marker with high specificity for cardiac injury", *Circulation*, 88, 101-106.
6. Adams, K. F., Jr. (2004), "Pathophysiologic role of the renin-angiotensin-aldosterone and sympathetic nervous systems in heart failure", *Am J.Health Syst.Pharm.*, 61 Suppl 2, S4-13.
7. Aidonidis, I., Rizos, I., Hilbel, T., Kuebler, W., Brachmann, J. (1994), "Electrophysiological mechanisms of action of the levorotatory isomer of sotalol in a canine infarct model of inducible ventricular tachycardia: comparison with the beta-1 receptor antagonist bisoprolol", *J.Mol.Cell Cardiol.*, 26, 841-848.
8. Allworth, M. S., Church, D. B., Maddison, J. E., Einstein, R., Brennan, P., Abdul, Hussein N., Matthews, R. (1995), "Effect of enalapril in dogs with pacing-induced heart failure", *Am J.Vet Res.*, 56, 85-94.
9. Amberger, C. (2006), "Controversies in treatment of heart failure: a european perspective", *Proc. 24th ACVIM Forum*, Louisville.
10. Andersson, B., Lomsky, M., Waagstein, F. (1993), "The link between acute haemodynamic adrenergic beta-blockade and long-term effects in patients with heart failure. A study on diastolic function, heart rate and myocardial metabolism following intravenous metoprolol", *Eur.Heart J.*, 14, 1375-1385.
11. Armstrong, P. W., Stopps, T. P., Ford, S. E., de Bold, A. J. (1986), "Rapid ventricular pacing in the dog: pathophysiologic studies of heart failure", *Circulation*, 74, 1075-1084.
12. Asano, K., Masuda, K., Okumura, M., Kadosawa, T., Fujinaga, T. (1999), "Plasma atrial and brain natriuretic peptide levels in dogs with congestive heart failure", *J.Vet Med.Sci.*, 61, 523-529.
13. Atkins, C. E. (2006), "An approach to asymptomatic acquired heart disease in dogs", *Vortragzusammenfassung des 52.Jahreskongresses der DGK-DVG*, Düsseldorf.

14. Atkins, C. E., Brown, W. A., Coats, J. R., Crawford, M. A., DeFrancesco, T. C., Edwards, J., Fox, P. R., Keene, B. W., Lehmkuhl, L., Luethy, M., Meurs, K., Petrie, J. P., Pipers, F., Rosenthal, S., Sidley, J. A., Straus, J. (2002), "Effects of long-term administration of enalapril on clinical indicators of renal function in dogs with compensated mitral regurgitation", *J.Am.Vet.Med.Assoc.*, 221, 654-658.
15. Badino, P., Odore, R., Re, G. (2005), "Are so many adrenergic receptor subtypes really present in domestic animal tissues? A pharmacological perspective", *Vet.J.*, 170, 163-174.
16. Bailliar, O., Kedra, A. W., Bonnin, P., Savin, E., Martineaud, J. P. (1987), "Effects of bisoprolol on local vascular resistance", *Eur.Heart J.*, 8 Suppl M, 87-93.
17. Baker, J. G. (2005), "The selectivity of beta-adrenoceptor antagonists at the human beta1, beta2 and beta3 adrenoceptors", *Br.J.Pharmacol.*, 144, 317-322.
18. Balakumar, P., Singh, M. (2006), "Anti-tumour necrosis factor-alpha therapy in heart failure: future directions", *Basic Clin.Pharmacol.Toxicol.*, 99, 391-397.
19. Barlucchi, L., Leri, A., Dostal, D. E., Fiordaliso, F., Tada, H., Hintze, T. H., Kajstura, J., Nadal-Ginard, B., Anversa, P. (2001), "Canine ventricular myocytes possess a renin-angiotensin system that is upregulated with heart failure", *Circ.Res.*, 88, 298-304.
20. Bauer, N. B., Schneider, M. A., Neiger, R., Moritz, A. (2006), "Liver disease in dogs with tracheal collapse", *J.Vet.Intern.Med.*, 20, 845-849.
21. Baumgartner, C., Glaus, T. M. (2004), "[Acquired cardiac diseases in the dog: a retrospective analysis]", *Schweiz.Arch.Tierheilkd.*, 146, 423-430.
22. Beardow, A. W., Buchanan, J. W. (1993), "Chronic mitral valve disease in cavalier King Charles spaniels: 95 cases (1987-1991)", *J.Am.Vet.Med.Assoc.*, 203, 1023-1029.
23. Beddies, G., Fox, P. R., Papich, M., Kanikanti, V. R., Krebber, R., Keene, B. W. (2007), "Pharmacokinetics of bisoprolol versus carvedilol in dogs", *Proc. 25th ACVIM Forum, Seattle*.
24. Belanger, M. C. (2005), "Echocardiography", in *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, Ettinger, S. J. and Feldman, E. C. (eds), 6th edition, Elsevier Saunders, 311-326.
25. Belew, A. M., Barlett, T., Brown, S. A. (1999), "Evaluation of the white-coat effect in cats", *J.Vet.Intern.Med.*, 13, 134-142.
26. Bhang, D. H., Kim, S. S., Choi, E. W., Seo, K. W., Jung, J. Y., Oh, T. H., Hwang, C. Y., Youn, H. Y. (2007), "Evaluation of TNF- α and IL-1 β mRNA expression level in peripheral blood mononuclear cells from dogs with heart failure", *Proc. 25th ACVIM Forum, Seattle*.

27. Biondo, A. W., Liu, Z. L., Wiedmeyer, C. E., de Moraes, H. S., Sisson, D. D., Solter, P. E. (2002), "Genomic sequence and cardiac expression of atrial natriuretic peptide in cats", *Am.J.Vet.Res.*, 63, 236-240.
28. Biondo, A. W., Wiedmeyer, C. E., Sisson, D. D., Solter, P. F. (2003), "Comparative sequences of canine and feline endothelin-1", *Vet.Clin.Pathol.*, 32, 188-194.
29. Blais, C., Jr., Drapeau, G., Raymond, P., Lamontagne, D., Gervais, N., Venneman, I., Adam, A. (1997), "Contribution of angiotensin-converting enzyme to the cardiac metabolism of bradykinin: an interspecies study", *Am.J.Physiol.*, 273, H2263-H2271.
30. Bonagura, J. D. (1983), "M-mode echocardiography. Basic principles", *Vet.Clin.North Am.Small Anim Pract.*, 13, 299-319.
31. Bonagura, J. D., Luis-Fuentes, V. (2003), "Echocardiography: auscultatory correlations", *Proc. 21st ACVIM Forum*, Charlotte.
32. Bonnett, B. N., Egenvall, A., Hedhammar, A., Olson, P. (2005), "Mortality in over 350,000 insured Swedish dogs from 1995-2000: I. Breed-, gender-, age- and cause-specific rates", *Acta Vet Scand.*, 46, 105-120.
33. Borgarelli, M., Savarino, P., Santili, R., Poggi, M., Chiavegato, D., Crosara, S., Bruno, B., Bellino, C., Tarducci, A. (2006), "Natural history of canine valve disease", *Proc. 24th ACVIM Forum*, Louisville.
34. Boswood, A., Attree, S., Page, K. (2003), "Clinical validation of a proANP 31-67 fragment ELISA in the diagnosis of heart failure in the dog", *J.Small Anim Pract.*, 44, 104-108.
35. Bright, J. M., Dentino, M. (2002), "Indirect arterial blood pressure measurement in nonsedated Irish wolfhounds: reference values for the breed", *J.Am Anim Hosp.Assoc.*, 38, 521-526.
36. Bristow, M. R. (1997), "Mechanism of action of beta-blocking agents in heart failure", *Am J.Cardiol.*, 80, 26L-40L.
37. Bristow, M. R. (2000), "beta-adrenergic receptor blockade in chronic heart failure", *Circulation*, 101, 558-569.
38. Bristow, M. R. (2000), "Mechanistic and clinical rationales for using beta-blockers in heart failure", *J.Card Fail.*, 6, 8-14.
39. Bristow, M. R., Ginsburg, R., Umans, V., Fowler, M., Minobe, W., Rasmussen, R., Zera, P., Menlove, R., Shah, P., Jamieson, S., . (1986), "Beta 1- and beta 2-adrenergic-receptor subpopulations in nonfailing and failing human ventricular myocardium: coupling of both receptor subtypes to muscle contraction and selective beta 1-receptor down-regulation in heart failure", *Circ.Res.*, 59, 297-309.
40. Brixius, K., Frank, K. F., Bolck, B., Hoyer, F., Schwinger, R. H. (2006), "[Reverse remodeling of the intracellular Ca(2+)-homeostasis: new concepts of

- pathophysiology and therapy of heart failure]", *Wien.Med.Wochenschr.*, 156, 209-215.
41. Brodde, O. E. (1986), "Bisoprolol (EMD 33512), a highly selective beta 1-adrenoceptor antagonist: in vitro and in vivo studies", *J.Cardiovasc.Pharmacol.*, 8 Suppl 11, S29-S35.
 42. Brodde, O. E. (2007), "Beta-adrenoceptor blocker treatment and the cardiac beta-adrenoceptor-G-protein(s)-adenylyl cyclase system in chronic heart failure", *Naunyn Schmiedebergs Arch.Pharmacol.*, 374, 361-372.
 43. Brodde, O. E., Bruck, H., Leineweber, K. (2006), "Cardiac adrenoceptors: physiological and pathophysiological relevance", *J.Pharmacol.Sci.*, 100, 323-337.
 44. Brodde, O. E., Schuler, S., Kretsch, R., Brinkmann, M., Borst, H. G., Hetzer, R., Reidemeister, J. C., Warnecke, H., Zerkowski, H. R. (1986), "Regional distribution of beta-adrenoceptors in the human heart: coexistence of functional beta 1- and beta 2-adrenoceptors in both atria and ventricles in severe congestive cardiomyopathy", *J.Cardiovasc.Pharmacol.*, 8, 1235-1242.
 45. Brownlie, S. E., Cobb, M. A. (1999), "Observations on the development of congestive heart failure in Irish wolfhounds with dilated cardiomyopathy", *J.Small Anim Pract.*, 40, 371-377.
 46. Brum, P. C., Rolim, N. P., Bacurau, A. V., Medeiros, A. (2006), "Neurohumoral activation in heart failure: the role of adrenergic receptors", *An.Acad.Bras.Cienc.*, 78, 485-503.
 47. Buch, J., Waldorff, S., Hansen, P. B., Rasmussen, O. O. (1983), "Non-invasive measuring of the circulatory effect of afterload reduction in order to monitor the pharmacodynamic effect of drugs in normal volunteers", *Br.Heart J.*, 50, 170-175.
 48. Buchanan, J. W. (1977), "Chronic valvular disease (endocardiosis) in dogs", *Adv.Vet Sci.Comp Med.*, 21, 75-106.
 49. Buchanan, J. W. (2000), "Vertebral scale system to measure heart size in radiographs", *Vet Clin North Am Small Anim Pract.*, 30, 379-93, vii.
 50. Buchanan, J. W. (2004), "Vertebral heart size revisited", *Proc. 22nd ACVIM Forum*, Minneapolis.
 51. Buchanan, J. W., Bucheler, J. (1995), "Vertebral scale system to measure canine heart size in radiographs", *J.Am Vet Med.Assoc.*, 206, 194-199.
 52. Buhring, K. U., Sailer, H., Faro, H. P., Leopold, G., Pabst, J., Garbe, A. (1986), "Pharmacokinetics and metabolism of bisoprolol-14C in three animal species and in humans", *J.Cardiovasc.Pharmacol.*, 8 Suppl 11, S21-S28.
 53. Bulmer, B. J., Sisson, D. D. (2005), "Therapy of Heart Failure", in *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, Ettinger, S. J. and Feldman, E. C. (eds), 6th edition, Elsevier Saunders, 948-972.

54. Bussadori, C., DeMadron, E., Santilli, R. A., Borgarelli, M. (2001), "Balloon valvuloplasty in 30 dogs with pulmonic stenosis: effect of valve morphology and annular size on initial and 1-year outcome", *J. Vet Intern. Med.*, 15, 553-558.
55. Calvert, C. A., Hall, G., Jacobs, G., Pickus, C. (1997), "Clinical and pathologic findings in Doberman pinschers with occult cardiomyopathy that died suddenly or developed congestive heart failure: 54 cases (1984-1991)", *J. Am Vet Med. Assoc.*, 210, 505-511.
56. Cha, A. J., Malecha, S. E., Judge, K. W. (2000), "Aldosterone, a new appreciation of its role in heart failure", *Pharmacotherapy*, 20, 1107-1115.
57. Chetboul, V., Lefebvre, H. P., Sampedrano, C. C., Gouni, V., Saponaro, V., Serres, F., Concordet, D., Nicolle, A. P., Pouchelon, J. L. (2007), "Comparative adverse cardiac effects of pimobendan and benazepril monotherapy in dogs with mild degenerative mitral valve disease: a prospective, controlled, blinded, and randomized study", *J. Vet Intern. Med.*, 21, 742-753.
58. Chetboul, V., Sampedrano, C. C., Gouni, V., Nicolle, A. P., Pouchelon, J. L., Tissier, R. (2006), "Ultrasonographic assessment of regional radial and longitudinal systolic function in healthy awake dogs", *J. Vet Intern. Med.*, 20, 885-893.
59. Chow, E., Woodard, J. C., Farrar, D. J. (1990), "Rapid ventricular pacing in pigs: an experimental model of congestive heart failure", *Am J. Physiol*, 258, H1603-H1605.
60. CIBIS Investigators and Committees (1994), "A randomized trial of beta-blockade in heart failure. The Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study (CIBIS)", *Circulation*, 90, 1765-1773.
61. CIBIS-II Investigators and Committees (1999), "The Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study II (CIBIS-II): a randomised trial", *Lancet*, 353, 9-13.
62. Cioffi, G., Tarantini, L., Stafenelli, C., Azzetti, G., Marco, R., Carlucci, S., Furlanello, F. (2006), "Changes in plasma N-terminal proBNP levels and ventricular filling pressures during intensive unloading therapy in elderly with decompensated congestive heart failure and preserved left ventricular systolic function", *J. Card Fail.*, 12, 608-615.
63. Cohn, J. N., Ferrari, R., Sharpe, N. (2000), "Cardiac remodeling--concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. Behalf of an International Forum on Cardiac Remodeling", *J. Am Coll. Cardiol.*, 35, 569-582.
64. Coker, M. L., Thomas, C. V., Clair, M. J., Hendrick, J. W., Krombach, R. S., Galis, Z. S., Spinale, F. G. (1998), "Myocardial matrix metalloproteinase activity and abundance with congestive heart failure", *Am J. Physiol*, 274, H1516-H1523.

65. Communal, C., Singh, K., Pimentel, D. R., Colucci, W. S. (1998), "Norepinephrine stimulates apoptosis in adult rat ventricular myocytes by activation of the beta-adrenergic pathway", *Circulation*, 98, 1329-1334.
66. Communal, C., Singh, K., Sawyer, D. B., Colucci, W. S. (1999), "Opposing effects of beta(1)- and beta(2)-adrenergic receptors on cardiac myocyte apoptosis : role of a pertussis toxin-sensitive G protein", *Circulation*, 100, 2210-2212.
67. Cote, E., Ettinger, S. J. (2005), "Electrocardiography and cardiac arrhythmias", in *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, Ettinger, S. J. and Feldman, E. C. (eds), 6th edition, Elsevier Saunders, 1040-1076.
68. Cummins, B., Cummins, P. (1987), "Cardiac specific troponin-I release in canine experimental myocardial infarction: development of a sensitive enzyme-linked immunoassay", *J.Mol.Cell Cardiol.*, 19, 999-1010.
69. Das, K. M., Tashjian, R. J. (1965), "Chronic mitral valve disease in the dog", *Vet Med.Small Anim Clin*, 60, 1209-1216.
70. Davis, M. E., Richards, A. M., Nicholls, M. G., Yandle, T. G., Frampton, C. M., Troughton, R. W. (2006), "Introduction of metoprolol increases plasma B-type cardiac natriuretic peptides in mild, stable heart failure", *Circulation*, 113, 977-985.
71. de Madron, E. (2004), "Diuretics in CHF: new strategies", *Proc. 22nd ACVIM Forum*, Minneapolis.
72. DeFrancesco, T. C., Rush, J. E., Rozanski, E. A., Hansen, B. D., Keene, B. W., Moore, D. T., Atkins, C. E. (2007), "Prospective clinical evaluation of an ELISA B-type natriuretic peptide assay in the diagnosis of congestive heart failure in dogs presenting with cough or dyspnea", *J.Vet Intern.Med.*, 21, 243-250.
73. Delehanty, J. M., Himura, Y., Elam, H., Hood, W. B., Jr., Liang, C. S. (1994), "Beta-adrenoceptor downregulation in pacing-induced heart failure is associated with increased interstitial NE content", *Am J.Physiol*, 266, H930-H935.
74. DeLellis, L. A., Thomas, W. P., Pion, P. D. (1993), "Balloon dilation of congenital subaortic stenosis in the dog", *J.Vet Intern.Med.*, 7, 153-162.
75. Detweiler, D. K., Patterson, D. F. (1965), "The prevalence and types of cardiovascular disease in dogs", *Ann.N.Y.Acad.Sci.*, 127, 481-516.
76. Dillon, A. R., Tillson, D. M., Hathcock, J., Denney, T., Killingsworth, C., Dell'Italia, L. J. (2007), "Cardiac remodeling and hypertrophy in experimental mitral valve disease", *Proc. 25th ACVIM Forum*, Seattle.
77. Doi, M., Yano, M., Kobayashi, S., Kohno, M., Tokuhisa, T., Okuda, S., Suetsugu, M., Hisamatsu, Y., Ohkusa, T., Kohno, M., Matsuzaki, M. (2002), "Propranolol prevents the development of heart failure by restoring FKBP12.6-mediated stabilization of ryanodine receptor", *Circulation*, 105, 1374-1379.

78. Du, X. J., Cox, H. S., Dart, A. M., Esler, M. D. (1999), "Sympathetic activation triggers ventricular arrhythmias in rat heart with chronic infarction and failure", *Cardiovasc.Res.*, 43, 919-929.
79. Dukes-McEwan, J., Borgarelli, M., Tidholm, A., Vollmar, A. C., Haggstrom, J. (2003), "Proposed guidelines for the diagnosis of canine idiopathic dilated cardiomyopathy", *J. Vet Cardiol.*, 5, 7-19.
80. Elliott, J. (2007), "Spironolactone - more than just a potassium sparing diuretic", *Proc. 50th BSAVA Congress*, Birmingham.
81. Elsner, D., Riegger, G. A. (1995), "Characteristics and clinical relevance of animal models of heart failure", *Curr.Opin.Cardiol.*, 10, 253-259.
82. Elsner, D., Riegger, G. A. (1995), "Experimental heart failure produced by rapid ventricular pacing in the dog", *J.Card Fail.*, 1, 229-247.
83. Endoh, M. (2002), "Mechanisms of action of novel cardiotonic agents", *J.Cardiovasc.Pharmacol.*, 40, 323-338.
84. Engelhardt, S., Hein, L., Wiesmann, F., Lohse, M. J. (1999), "Progressive hypertrophy and heart failure in beta1-adrenergic receptor transgenic mice", *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.*, 96, 7059-7064.
85. Esper, R. J., Esper, R. C., Burrieza, O. H., Menna, J. (1986), "Noninvasive assessment of left ventricular performance after administration of bisoprolol", *J.Cardiovasc.Pharmacol.*, 8 Suppl 11, S87-S91.
86. Ettinger, S. J., Benitz, A. M., Ericsson, G. F., Cifelli, S., Jernigan, A. D., Longhofer, S. L., Trimboli, W., Hanson, P. D. (1998), "Effects of enalapril maleate on survival of dogs with naturally acquired heart failure. The Long-Term Investigation of Veterinary Enalapril (LIVE) Study Group", *J.Am Vet Med.Assoc.*, 213, 1573-1577.
87. Fine, D. M., DeClue, A. E., Reiner, C. R. (2007), "Brain natriuretic peptide for discrimination of respiratory distress due to congestive heart failure or primary pulmonary disease", *Proc. 25th ACVIM Forum*, Seattle.
88. Floras, J. S. (2003), "Sympathetic activation in human heart failure: diverse mechanisms, therapeutic opportunities", *Acta Physiol Scand.*, 177, 391-398.
89. Fowler, M. B., Laser, J. A., Hopkins, G. L., Minobe, W., Bristow, M. R. (1986), "Assessment of the beta-adrenergic receptor pathway in the intact failing human heart: progressive receptor down-regulation and subsensitivity to agonist response", *Circulation*, 74, 1290-1302.
90. Freeman, L. M., Rush, J. E. (2007), "Medical and nutritional management of heart failure", *Proc. 25th ACVIM Forum*, Seattle.
91. Fridericia, L. S. (1920), "Die Systolendauer im Elektrokardiogramm bei normalen Menschen und bei Herzkranken", *Acta Med Scand.*, 53, 469-486.

92. Frishman, W. H. (1983), "Multifactorial actions of beta-adrenergic blocking drugs in ischemic heart disease: current concepts", *Circulation*, 67, 111-118.
93. Frishman, W. H., Lazar, E. J., Gorodokin, G. (1991), "Pharmacokinetic optimisation of therapy with beta-adrenergic blocking agents", *Clin Pharmacokinet.*, 20, 311-318.
94. Fuentes, V. L. (2004), "Use of pimobendan in the management of heart failure", *Vet Clin North Am Small Anim Pract.*, 34, 1145-1155.
95. Fuentes, V. L., Corcoran, B., French, A., Schober, K. E., Kleemann, R., Justus, C. (2002), "A double-blind, randomized, placebo-controlled study of pimobendan in dogs with dilated cardiomyopathy", *J. Vet Intern. Med.*, 16, 255-261.
96. Gavin, P. R. (2005), "Cardiac MRI", *Proc. 23rd ACVIM Forum*, Baltimore.
97. Gilbert, E. M., Abraham, W. T., Olsen, S., Hattler, B., White, M., Mealy, P., Larrabee, P., Bristow, M. R. (1996), "Comparative hemodynamic, left ventricular functional, and antiadrenergic effects of chronic treatment with metoprolol versus carvedilol in the failing heart", *Circulation*, 94, 2817-2825.
98. Gill, R. M., Jones, B. D., Corbly, A. K., Wang, J., Braz, J. C., Sandusky, G. E., Wang, J., Shen, W. (2006), "Cardiac diastolic dysfunction in conscious dogs with heart failure induced by chronic coronary microembolization", *Am J. Physiol Heart Circ. Physiol*, 291, H3154-H3158.
99. Gopal, A. S., Schnellbaecher, M. J., Shen, Z., Buxt, L. M., Katz, J., King, D. L. (1997), "Freehand three-dimensional echocardiography for determination of left ventricular volume and mass in patients with abnormal ventricles: comparison with magnetic resonance imaging", *J. Am Soc. Echocardiogr.*, 10, 853-861.
100. Gordon, S. G. (2007), "Proposed study: delay of advancement of endocardiosis (DELAyS)", *Proc. 25th ACVIM Forum*, Seattle.
101. Gordon, S. G., Miller, M. W., Saunders, A. B. (2006), "Pimobendan in heart failure therapy--a silver bullet?", *J. Am Anim Hosp. Assoc.*, 42, 90-93.
102. Gottdiener, J. S., Bednarz, J., Devereux, R., Gardin, J., Klein, A., Manning, W. J., Morehead, A., Kitzman, D., Oh, J., Quinones, M., Schiller, N. B., Stein, J. H., Weissman, N. J. (2004), "American Society of Echocardiography recommendations for use of echocardiography in clinical trials", *J. Am Soc. Echocardiogr.*, 17, 1086-1119.
103. Griendling, K. K., Murphy, T. J., Alexander, R. W. (1993), "Molecular biology of the renin-angiotensin system", *Circulation*, 87, 1816-1828.
104. Gupta, R. C., Shimoyama, H., Tanimura, M., Nair, R., Lesch, M., Sabbah, H. N. (1997), "SR Ca(2+)-ATPase activity and expression in ventricular myocardium of dogs with heart failure", *Am J. Physiol*, 273, H12-H18.

105. Gupta, S., Neyses, L. (2006), "Current thinking regarding the use of diuretics in heart failure", *Heart Fail.Monit.*, 5, 50-53.
106. Haber, H. L., Simek, C. L., Gimple, L. W., Bergin, J. D., Subbiah, K., Jayaweera, A. R., Powers, E. R., Feldman, M. D. (1993), "Why do patients with congestive heart failure tolerate the initiation of beta-blocker therapy?", *Circulation*, 88, 1610-1619.
107. Haeusler, G., Schliep, H. J., Schelling, P., Becker, K. H., Klockow, M., Minck, K. O., Enenkel, H. J., Schulze, E., Bergmann, R., Schmitges, C. J., . (1986), "High beta 1-selectivity and favourable pharmacokinetics as the outstanding properties of bisoprolol", *J.Cardiovasc.Pharmacol.*, 8 Suppl 11, S2-15.
108. Hagemeyer, F. (1993), "Calcium sensitization with pimobendan: pharmacology, haemodynamic improvement, and sudden death in patients with chronic congestive heart failure", *Eur.Heart J.*, 14, 551-566.
109. Haggstrom, J., Duelund, Pedersen H., Kwart, C. (2004), "New insights into degenerative mitral valve disease in dogs", *Vet Clin North Am Small Anim Pract.*, 34, 1209-viii.
110. Haggstrom, J., Hamlin, R. L., Hansson, K., Kwart, C. (1996), "Heart rate variability in relation to severity of mitral regurgitation in Cavalier King Charles spaniels", *J.Small Anim Pract.*, 37, 69-75.
111. Haggstrom, J., Hansson, K., Karlberg, B. E., Kwart, C., Olsson, K. (1994), "Plasma concentration of atrial natriuretic peptide in relation to severity of mitral regurgitation in Cavalier King Charles Spaniels", *Am J.Vet Res.*, 55, 698-703.
112. Haggstrom, J., Hansson, K., Kwart, C., Karlberg, B. E., Vuolteenaho, O., Olsson, K. (1997), "Effects of naturally acquired decompensated mitral valve regurgitation on the renin-angiotensin-aldosterone system and atrial natriuretic peptide concentration in dogs", *Am J.Vet Res.*, 58, 77-82.
113. Haggstrom, J., Hansson, K., Kwart, C., Pedersen, H. D., Vuolteenaho, O., Olsson, K. (2000), "Relationship between different natriuretic peptides and severity of naturally acquired mitral regurgitation in dogs with chronic myxomatous valve disease", *J.Vet Cardiol.*, 2, 7-16.
114. Haggstrom, J., Kwart, C. (2003), "New and old treatments of myxomatous mitral valve disease in dogs", *Proc. 21st ACVIM Forum*, Charlotte.
115. Haggstrom, J., Kwart, C. (2005), "Prognostic variables in asymptomatic mitral valve disease in dogs", *Proc. 23rd ACVIM Forum*, Baltimore.
116. Haggstrom, J., Kwart, C., Hansson, K. (1995), "Heart sounds and murmurs: changes related to severity of chronic valvular disease in the Cavalier King Charles spaniel", *J.Vet Intern.Med.*, 9, 75-85.
117. Haggstrom, J., Kwart, C., Pedersen, H. D. (2005), "Acquired Valvular Heart Disease", in *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, Ettinger, S. J. and Feldman, E. C. (eds), 6th edition, Elsevier Saunders, 1022-1039.

118. Hall, J. A., Kaumann, A. J., Brown, M. J. (1990), "Selective beta 1-adrenoceptor blockade enhances positive inotropic responses to endogenous catecholamines mediated through beta 2-adrenoceptors in human atrial myocardium", *Circ.Res.*, 66, 1610-1623.
119. Hamlin, R. L. (1968), "Electrocardiographic detection of ventricular enlargement in the dog", *J.Am Vet Med.Assoc.*, 153, 1461-1469.
120. Hamlin, R. L. (2003), "Arguments for and against use of ACE inhibitors", *Proc. 21st ACVIM Forum*, Charlotte.
121. Hamlin, R. L. (2004), "Electrocardiography is not dead", *Proc. 22nd ACVIM Forum*, Minneapolis.
122. Hamlin, R. L., Nakayama, T., Nakayama, H., Carnes, C. A. (2003), "Effects of changing heart rate on electrophysiological and hemodynamic function in the dog", *Life Sci.*, 72, 1919-1930.
123. Hankes, G. H., Ardell, J. L., Tallaj, J., Wei, C. C., Aban, I., Holland, M., Rynders, P., Dillon, R., Cardinal, R., Hoover, D. B., Armour, J. A., Husain, A., Dell'Italia, L. J. (2006), "Beta1-adrenoceptor blockade mitigates excessive norepinephrine release into cardiac interstitium in mitral regurgitation in dog", *Am J.Physiol Heart Circ.Physiol*, 291, H147-H151.
124. Hansson, K. (2004), "Diagnostic imaging of cardiopulmonary structures in normal dogs and dogs with mitral regurgitation", Thesis, *Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala*
125. Hanton, G., Rabemampianina, Y. (2006), "The electrocardiogram of the Beagle dog: reference values and effect of sex, genetic strain, body position and heart rate", *Lab Anim*, 40, 123-136.
126. Hara, Y., Hamada, M., Shigematsu, Y., Suzuki, M., Kodama, K., Kuwahara, T., Hashida, H., Ikeda, S., Ohtsuka, T., Hiasa, G., Hiwada, K. (2000), "Effect of beta-blocker on left ventricular function and natriuretic peptides in patients with chronic heart failure treated with angiotensin-converting enzyme inhibitor", *Jpn.Circ.J.*, 64, 365-369.
127. Harting, J., Becker, K. H., Bergmann, R., Bourgois, R., Enenkel, H. J., Fuchs, A., Jonas, R., Lettenbaur, H., Minck, K. O., Schelling, P., . (1986), "Pharmacodynamic profile of the selective beta 1-adrenoceptor antagonist bisoprolol", *Arzneimittelforschung.*, 36, 200-208.
128. Hasenfuss, G. (1998), "Animal models of human cardiovascular disease, heart failure and hypertrophy", *Cardiovasc.Res.*, 39, 60-76.
129. Hasenfuss, G., Holubarsch, C., Heiss, H. W., Allgeier, M., Just, H. (1989), "Effects of pimobendan on hemodynamics and myocardial energetics in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy: comparison with nitroprusside", *J.Cardiovasc.Pharmacol.*, 14 Suppl 2, S31-S35.
130. Heilbrunn, S. M., Shah, P., Bristow, M. R., Valantine, H. A., Ginsburg, R., Fowler, M. B. (1989), "Increased beta-receptor density and improved hemodynamic

- response to catecholamine stimulation during long-term metoprolol therapy in heart failure from dilated cardiomyopathy", *Circulation*, 79, 483-490.
131. Heinke, M. Y., Wheeler, C. H., Yan, J. X., Amin, V., Chang, D., Einstein, R., Dunn, M. J., dos Remedios, C. G. (1999), "Changes in myocardial protein expression in pacing-induced canine heart failure", *Electrophoresis*, 20, 2086-2093.
 132. Heinke, M. Y., Yao, M., Chang, D., Einstein, R., dos Remedios, C. G. (2001), "Apoptosis of ventricular and atrial myocytes from pacing-induced canine heart failure", *Cardiovasc.Res.*, 49, 127-134.
 133. Hoffman, J., Grimm, W., Maisch, B. (2002), "[Beta blockers in therapy of chronic heart failure]", *Herz*, 27, 150-165.
 134. Hogan, D. F., Green, H. W., III, Gordon, S., Miller, M. W. (2004), "Transarterial coil embolization of patent ductus arteriosus in small dogs with 0.025-inch vascular occlusion coils: 10 cases", *J.Vet Intern.Med.*, 18, 325-329.
 135. Høglund, K., French, A., Dukes-McEwan, J., Haggstrom, J., Smith, P., Corcoran, B., Kvart, C. (2004), "Low intensity heart murmurs in boxer dogs: inter-observer variation and effects of stress testing", *J.Small Anim Pract.*, 45, 178-185.
 136. Hollenberg, N. K. (2000), "Implications of species difference for clinical investigation: studies on the renin-angiotensin system", *Hypertension*, 35, 150-154.
 137. Howard, R. J., Stopps, T. P., Moe, G. W., Gotlieb, A., Armstrong, P. W. (1988), "Recovery from heart failure: structural and functional analysis in a canine model", *Can.J.Physiol Pharmacol.*, 66, 1505-1512.
 138. Hunt, S. A., Baker, D. W., Chin, M. H., Cinquegrani, M. P., Feldman, A. M., Francis, G. S., Ganiats, T. G., Goldstein, S., Gregoratos, G., Jessup, M. L., Noble, R. J., Packer, M., Silver, M. A., Stevenson, L. W., Gibbons, R. J., Antman, E. M., Alpert, J. S., Faxon, D. P., Fuster, V., Gregoratos, G., Jacobs, A. K., Hiratzka, L. F., Russell, R. O., Smith, S. C., Jr. (2001), "ACC/AHA Guidelines for the Evaluation and Management of Chronic Heart Failure in the Adult: Executive Summary A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee to Revise the 1995 Guidelines for the Evaluation and Management of Heart Failure): Developed in Collaboration With the International Society for Heart and Lung Transplantation; Endorsed by the Heart Failure Society of America", *Circulation*, 104, 2996-3007.
 139. Johnson, M. S., Martin, M. (2004), "Results of balloon valvuloplasty in 40 dogs with pulmonic stenosis", *J.Small Anim Pract.*, 45, 148-153.
 140. Johnson, M. S., Martin, M. W., Henley, W. (2007), "Results of pacemaker implantation in 104 dogs", *J.Small Anim Pract.*, 48, 4-11.
 141. Jougasaki, M., Grantham, J. A., Redfield, M. M., Burnett, J. C., Jr. (2001), "Regulation of cardiac adrenomedullin in heart failure", *Peptides*, 22, 1841-1850.

142. Kajstura, J., Zhang, X., Liu, Y., Szoke, E., Cheng, W., Olivetti, G., Hintze, T. H., Anversa, P. (1995), "The cellular basis of pacing-induced dilated cardiomyopathy. Myocyte cell loss and myocyte cellular reactive hypertrophy", *Circulation*, 92, 2306-2317.
143. Kaye, D. M., Lefkovits, J., Jennings, G. L., Bergin, P., Broughton, A., Esler, M. D. (1995), "Adverse consequences of high sympathetic nervous activity in the failing human heart", *J.Am Coll.Cardiol.*, 26, 1257-1263.
144. Keene B.W. (2007), "The evidence for therapies in cardiac disease", *Proc. 25th ACVIM Forum*, Seattle.
145. Khattar, R. S. (2003), "Effects of ACE-inhibitors and beta-blockers on left ventricular remodeling in chronic heart failure", *Minerva Cardioangiol.*, 51, 143-154.
146. Khattar, R. S., Senior, R., Soman, P., van der, Does R., Lahiri, A. (2001), "Regression of left ventricular remodeling in chronic heart failure: Comparative and combined effects of captopril and carvedilol", *Am Heart J.*, 142, 704-713.
147. Kihara, Y., Sasayama, S., Miyazaki, S., Onodera, T., Susawa, T., Nakamura, Y., Fujiwara, H., Kawai, C. (1988), "Role of the left atrium in adaptation of the heart to chronic mitral regurgitation in conscious dogs", *Circ.Res.*, 62, 543-553.
148. Kittleson, M. D. (1998), "Diagnosis and Treatment of Arrhythmias (Dysrhythmias)", in *Small Animal Cardiovascular Medicine*, Kittleson, M. D. and Kienle, R. D. (eds), Mosby, 449-494.
149. Kittleson, M. D. (1998), "Electrocardiography: Basic Concepts, Diagnosis of Chamber Enlargement, and Intraventricular Conduction Disturbances", in *Small Animal Cardiovascular Medicine*, Kittleson, M. D. and Kienle, R. D. (eds), Mosby, 72-94.
150. Kittleson, M. D. (1998), "Management of Heart Failure", in *Small Animal Cardiovascular Medicine*, Kittleson, M. D. and Kienle, R. D. (eds), Mosby, 149-194.
151. Kittleson, M. D. (1998), "Pathophysiology of Heart Failure", in *Small Animal Cardiovascular Medicine*, Kittleson, M. D. and Kienle, R. D. (eds), Mosby, 136-148.
152. Kittleson, M. D. (1998), "Primary Myocardial Disease Leading to Chronic Myocardial Failure (Dilated Cardiomyopathy and Related Diseases)", in *Small Animal Cardiovascular Medicine*, Kittleson, M. D. and Kienle, R. D. (eds), Mosby, 319-346.
153. Kittleson, M. D., Eyster, G. E., Knowlen, G. G., Bari, Olivier N., Anderson, L. K. (1984), "Myocardial function in small dogs with chronic mitral regurgitation and severe congestive heart failure", *J.Am Vet Med.Assoc.*, 184, 455-459.

154. Kittleson, M. D., Eyster, G. E., Knowlen, G. G., Olivier, N. B., Anderson, L. K. (1985), "Efficacy of digoxin administration in dogs with idiopathic congestive cardiomyopathy", *J.Am Vet Med.Assoc.*, 186, 162-165.
155. Kiuchi, K., Shannon, R. P., Komamura, K., Cohen, D. J., Bianchi, C., Homcy, C. J., Vatner, S. F., Vatner, D. E. (1993), "Myocardial beta-adrenergic receptor function during the development of pacing-induced heart failure", *J.Clin Invest*, 91, 907-914.
156. Kleaveland, J. P., Kussmaul, W. G., Vinciguerra, T., Ditters, R., Carabello, B. A. (1988), "Volume overload hypertrophy in a closed-chest model of mitral regurgitation", *Am J.Physiol*, 254, H1034-H1041.
157. Klein, R., Müller, E. (2005), "Labordiagnostik bei Herzerkrankungen?!", *Veterinärspiegel*, 20-22.
158. Komamura, K., Shannon, R. P., Ihara, T., Shen, Y. T., Mirsky, I., Bishop, S. P., Vatner, S. F. (1993), "Exhaustion of Frank-Starling mechanism in conscious dogs with heart failure", *Am J.Physiol*, 265, H1119-H1131.
159. Kono, T., Rosman, H., Alam, M., Stein, P. D., Sabbah, H. N. (1993), "Hemodynamic correlates of the third heart sound during the evolution of chronic heart failure", *J.Am Coll.Cardiol.*, 21, 419-423.
160. Kono, T., Sabbah, H. N., Rosman, H., Alam, M., Jafri, S., Goldstein, S. (1992), "Left ventricular shape is the primary determinant of functional mitral regurgitation in heart failure", *J.Am Coll.Cardiol.*, 20, 1594-1598.
161. Koyama, H., Yoshii, H., Yabu, H., Kumada, H., Fukuda, K., Mitani, S., Rousselot, J. F., Hirose, H., Uchino, T. (2004), "Evaluation of QT interval prolongation in dogs with heart failure", *J.Vet Med.Sci.*, 66, 1107-1111.
162. Kraft, W., Dürr, U. M., Klee, W., Bostedt, H., Heinritzi, K. (1995), *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin*, Schattauer
163. Krumpl, G., Winkler, M., Schneider, W., Raberger, G. (1988), "Comparison of the haemodynamic effects of the selective bradycardic agent UL-FS 49, with those of propranolol during treadmill exercise in dogs", *Br.J.Pharmacol.*, 94, 55-64.
164. Kubo, S. H., Walter, B. A., John, D. H., Clark, M., Cody, R. J. (1987), "Liver function abnormalities in chronic heart failure. Influence of systemic hemodynamics", *Arch.Intern.Med.*, 147, 1227-1230.
165. Kwart, C., Haggstrom, J., Pedersen, H. D., Hansson, K., Eriksson, A., Jarvinen, A. K., Tidholm, A., Bsenko, K., Ahlgren, E., Ilves, M., Ablad, B., Falk, T., Bjerkfas, E., Gundler, S., Lord, P., Wegeland, G., Adolfsson, E., Corfitzen, J. (2002), "Efficacy of enalapril for prevention of congestive heart failure in dogs with myxomatous valve disease and asymptomatic mitral regurgitation", *J.Vet Intern.Med.*, 16, 80-88.
166. Lamb, C. R., Boswood, A. (2002), "Role of survey radiography in diagnosing canine cardiac disease", *Compend.Contin Educ.*, 24, 316-326.

167. Lamb, C. R., Wikeley, H., Boswood, A., Pfeiffer, D. U. (2001), "Use of breed-specific ranges for the vertebral heart scale as an aid to the radiographic diagnosis of cardiac disease in dogs", *Vet Rec.*, 148, 707-711.
168. Lancaster, S. G., Sorkin, E. M. (1988), "Bisoprolol. A preliminary review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic efficacy in hypertension and angina pectoris", *Drugs*, 36, 256-285.
169. Lang, R. M., Bierig, M., Devereux, R. B., Flachskampf, F. A., Foster, E., Pellikka, P. A., Picard, M. H., Roman, M. J., Seward, J., Shanewise, J. S., Solomon, S. D., Spencer, K. T., Sutton, M. S., Stewart, W. J. (2005), "Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology", *J.Am Soc.Echocardiogr.*, 18, 1440-1463.
170. Larosa, G., Armstrong, P. W., Seeman, P., Forster, C. (1993), "Beta adrenoceptor recovery after heart failure in the dog", *Cardiovasc.Res.*, 27, 489-493.
171. Lefebvre, H. P., Brown, S. A., Chetboul, V., King, J. N., Pouchelon, J. L., Toutain, P. L. (2007), "Angiotensin-converting enzyme inhibitors in veterinary medicine", *Curr.Pharm.Des*, 13, 1347-1361.
172. Lombard, C. W. (2003), "Use of pimobendan in DCM and endocardiosis", *Proc. 13th ECVIM-CA Congress*, Uppsala.
173. Lombard, C. W. (2004), "Pimobendan in mitral regurgitation vs dilated cardiomyopathy", *Proc. 22nd ACVIM Forum*, Minneapolis.
174. Lombard, C. W. (2006), "Clinical assesment of cardiac failure: main point radiology", *Programme ESVC PreCongress Day*, Prague.
175. Lombard, C. W., Jons, O., Bussadori, C. M. (2006), "Clinical efficacy of pimobendan versus benazepril for the treatment of acquired atrioventricular valvular disease in dogs", *J.Am Anim Hosp.Assoc.*, 42, 249-261.
176. Lombard, C. W., Spencer, C. P. (1985), "Correlation of radiographic, echocardiographic, and electrocardiographic signs of left heart enlargement in dogs with mitral regurgitation", *Vet Radiol.Ultrasound*, 26, 89-97.
177. Lopez-Sendon, J., Swedberg, K., McMurray, J., Tamargo, J., Maggioni, A. P., Dargie, H., Tendera, M., Waagstein, F., Kjekshus, J., Lechat, P., Torp-Pedersen, C. (2004), "Expert consensus document on beta-adrenergic receptor blockers", *Eur.Heart J.*, 25, 1341-1362.
178. Lowes, B. D., Gilbert, E. M., Abraham, W. T., Minobe, W. A., Larrabee, P., Ferguson, D., Wolfel, E. E., Lindenfeld, J., Tsvetkova, T., Robertson, A. D., Quaife, R. A., Bristow, M. R. (2002), "Myocardial gene expression in dilated cardiomyopathy treated with beta-blocking agents", *N.Engl.J.Med.*, 346, 1357-1365.

179. Lowes, B. D., Minobe, W., Abraham, W. T., Rizeq, M. N., Bohlmeyer, T. J., Quaife, R. A., Roden, R. L., Dutcher, D. L., Robertson, A. D., Voelkel, N. F., Badesch, D. B., Groves, B. M., Gilbert, E. M., Bristow, M. R. (1997), "Changes in gene expression in the intact human heart. Downregulation of alpha-myosin heavy chain in hypertrophied, failing ventricular myocardium", *J.Clin Invest*, 100, 2315-2324.
180. Lubsen, J., Just, H., Hjalmarsson, A. C., La, Framboise D., Remme, W. J., Heinrich-Nols, J., Dumont, J. M., Seed, P. (1996), "Effect of pimobendan on exercise capacity in patients with heart failure: main results from the Pimobendan in Congestive Heart Failure (PICO) trial", *Heart*, 76, 223-231.
181. Luchner, A., Burnett, J. C., Jr., Jougasaki, M., Hense, H. W., Riegger, G. A., Schunkert, H. (1998), "Augmentation of the cardiac natriuretic peptides by beta-receptor antagonism: evidence from a population-based study", *J.Am Coll.Cardiol.*, 32, 1839-1844.
182. MacDonald, K. A., Kittleson, M. D., Munro, C., Kass, P. (2003), "Brain natriuretic peptide concentration in dogs with heart disease and congestive heart failure", *J.Vet Intern.Med.*, 17, 172-177.
183. Mahler, F., Ross, J., Jr., O'Rourke, R. A., Covell, J. W. (1975), "Effects of changes in preload, afterload and inotropic state on ejection and isovolumic phase measures of contractility in the conscious dog", *Am J.Cardiol.*, 35, 626-634.
184. Mann, D. L., Kent, R. L., Parsons, B., Cooper, G. (1992), "Adrenergic effects on the biology of the adult mammalian cardiocyte", *Circulation*, 85, 790-804.
185. Marcondes, Santos M., Strunz, C. M., Larsson, M. H. (2006), "Correlation between activation of the sympathetic nervous system estimated by plasma concentrations of norepinephrine and Doppler echocardiographic variables in dogs with acquired heart disease", *Am J.Vet Res.*, 67, 1163-1168.
186. Marcondes-Santos, M., Tarasoutchi, F., Mansur, A. P., Strunz, C. M. (2007), "Effects of carvedilol treatment in dogs with chronic mitral valvular disease", *J.Vet Intern.Med.*, 21, 996-1001.
187. Margiocco, M. L., Bulmer, B. J., Mosley, C. A., Sisson, D. D. (2007), "Invasive validation of doppler-derived strain rate imaging in anesthetized healthy adult dogs", *Proc. 25th ACVIM Forum*, Seattle.
188. Margulies, K. B., Hildebrand, F. L., Jr., Lerman, A., Perrella, M. A., Burnett, J. C., Jr. (1990), "Increased endothelin in experimental heart failure", *Circulation*, 82, 2226-2230.
189. Martin, M. W. (2003), "Treatment of congestive heart failure a neuroendocrine disorder", *J.Small Anim Pract.*, 44, 154-160.
190. Maxwell, M. P., Hearse, D. J., Yellon, D. M. (1987), "Species variation in the coronary collateral circulation during regional myocardial ischaemia: a critical determinant of the rate of evolution and extent of myocardial infarction", *Cardiovasc.Res.*, 21, 737-746.

191. McDonald, K. M., Rector, T., Carlyle, P. F., Francis, G. S., Cohn, J. N. (1994), "Angiotensin-converting enzyme inhibition and beta-adrenoceptor blockade regress established ventricular remodeling in a canine model of discrete myocardial damage", *J.Am Coll.Cardiol.*, 24, 1762-1768.
192. McMahon, W. S., Holzgrefe, H. H., Walker, J. D., Mukherjee, R., Arthur, S. R., Cavallo, M. J., Child, M. J., Spinale, F. G. (1996), "Cellular basis for improved left ventricular pump function after digoxin therapy in experimental left ventricular failure", *J.Am Coll.Cardiol.*, 28, 495-505.
193. Meredith, I. T., Broughton, A., Jennings, G. L., Esler, M. D. (1991), "Evidence of a selective increase in cardiac sympathetic activity in patients with sustained ventricular arrhythmias", *N.Engl.J.Med.*, 325, 618-624.
194. Merit-HF Study Group (1999), "Effect of metoprolol CR/XL in chronic heart failure: Metoprolol CR/XL Randomised Intervention Trial in Congestive Heart Failure (MERIT-HF)", *Lancet*, 353, 2001-2007.
195. Meurs, K. M., Fox, P. R., Norgard, M., Spier, A. W., Lamb, A., Koplitz, S. L., Baumwart, R. D. (2007), "A prospective genetic evaluation of familial dilated cardiomyopathy in the Doberman pinscher", *J.Vet Intern.Med.*, 21, 1016-1020.
196. Meurs, K. M., Lehmkuhl, L. B., Bonagura, J. D. (2005), "Survival times in dogs with severe subvalvular aortic stenosis treated with balloon valvuloplasty or atenolol", *J.Am Vet Med.Assoc.*, 227, 420-424.
197. Miller, T. S., Tilley, L. P. (1995), *Manual of Canine and Feline Cardiology*, WB Saunders
198. Miyata, S., Minobe, W., Bristow, M. R., Leinwand, L. A. (2000), "Myosin heavy chain isoform expression in the failing and nonfailing human heart", *Circ.Res.*, 86, 386-390.
199. Moe, G. W., Angus, C., Howard, R. J., Parker, T. G., Armstrong, P. W. (1992), "Evaluation of indices of left ventricular contractility and relaxation in evolving canine experimental heart failure", *Cardiovasc.Res.*, 26, 362-366.
200. Moe, G. W., Armstrong, P. (1999), "Pacing-induced heart failure: a model to study the mechanism of disease progression and novel therapy in heart failure", *Cardiovasc.Res.*, 42, 591-599.
201. Moe, G. W., Grima, E. A., Howard, R. J., Armstrong, P. W. (1996), "Batrial appendage hypertrophy but not ventricular hypertrophy: a unique feature of canine pacing-induced heart failure", *J.Card Fail.*, 2, 127-132.
202. Moe, G. W., Stopps, T. P., Howard, R. J., Armstrong, P. W. (1988), "Early recovery from heart failure: insights into the pathogenesis of experimental chronic pacing-induced heart failure", *J.Lab Clin Med.*, 112, 426-432.
203. Monnet, E., Chachques, J. C. (2005), "Animal models of heart failure: what is new?", *Ann.Thorac.Surg.*, 79, 1445-1453.

204. Mor-Avi, V., Sugeng, L., Weinert, L., MacEneaney, P., Caiani, E. G., Koch, R., Salgo, I. S., Lang, R. M. (2004), "Fast measurement of left ventricular mass with real-time three-dimensional echocardiography: comparison with magnetic resonance imaging", *Circulation*, 110, 1814-1818.
205. Morais, H. A., Schwartz, D. S. (2005), "Pathphysiology of Heart Failure", in *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, Ettinger, S. J. and Feldman, E. C. (eds), 6th edition, Elsevier Saunders, 914-940.
206. Morales, M., Ynaraja, E., Montoya, J. A. (2001), "Dilated cardiomyopathy in Presa canario dogs: ECG findings", *J. Vet Med. A Physiol Pathol. Clin Med.*, 48, 577-580.
207. Morillo, C. A., Klein, G. J., Jones, D. L., Guiraudon, C. M. (1995), "Chronic rapid atrial pacing. Structural, functional, and electrophysiological characteristics of a new model of sustained atrial fibrillation", *Circulation*, 91, 1588-1595.
208. Morita, H., Suzuki, G., Mishima, T., Chaudhry, P. A., Anagnostopoulos, P. V., Tanhehco, E. J., Sharov, V. G., Goldstein, S., Sabbah, H. N. (2002), "Effects of long-term monotherapy with metoprolol CR/XL on the progression of left ventricular dysfunction and remodeling in dogs with chronic heart failure", *Cardiovasc. Drugs Ther.*, 16, 443-449.
209. Morrison, S. A., Moise, N. S., Scarlett, J., Mohammed, H., Yeager, A. E. (1992), "Effect of breed and body weight on echocardiographic values in four breeds of dogs of differing somatotype", *J. Vet Intern. Med.*, 6, 220-224.
210. Muders, F., Elsner, D. (2000), "Animal models of chronic heart failure", *Pharmacol. Res.*, 41, 605-612.
211. Murphy, S. W. (2004), "Diastolic Dysfunction", *Curr. Treat. Options. Cardiovasc. Med.*, 6, 61-68.
212. Nakayama, H., Nakayama, T., Hamlin, R. L. (2001), "Correlation of cardiac enlargement as assessed by vertebral heart size and echocardiographic and electrocardiographic findings in dogs with evolving cardiomegaly due to rapid ventricular pacing", *J. Vet Intern. Med.*, 15, 217-221.
213. Nemoto, S., Hamawaki, M., De, Freitas G., Carabello, B. A. (2002), "Differential effects of the angiotensin-converting enzyme inhibitor lisinopril versus the beta-adrenergic receptor blocker atenolol on hemodynamics and left ventricular contractile function in experimental mitral regurgitation", *J. Am Coll. Cardiol.*, 40, 149-154.
214. Neuss, H., Conrad, A., Mitrovic, V., Schlepper, M. (1986), "Electrophysiologic effects of an acute beta-blockade induced by bisoprolol in patients with supraventricular tachycardia as assessed by His-bundle electrograms", *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 8 Suppl 11, S167-S170.
215. Newton, G. E., Tong, J. H., Schofield, A. M., Baines, A. D., Floras, J. S., Parker, J. D. (1996), "Digoxin reduces cardiac sympathetic activity in severe congestive heart failure", *J. Am Coll. Cardiol.*, 28, 155-161.

216. Nishijima, Y., Feldman, D. S., Bonagura, J. D., Ozkanlar, Y., Jenkins, P. J., Lacombe, V. A., Abraham, W. T., Hamlin, R. L., Carnes, C. A. (2005), "Canine nonischemic left ventricular dysfunction: a model of chronic human cardiomyopathy", *J.Card Fail.*, 11, 638-644.
217. Nosir, Y. F., Fioretti, P. M., Vletter, W. B., Boersma, E., Salustri, A., Postma, J. T., Reijs, A. E., Ten Cate, F. J., Roelandt, J. R. (1996), "Accurate measurement of left ventricular ejection fraction by three-dimensional echocardiography. A comparison with radionuclide angiography", *Circulation*, 94, 460-466.
218. O'Grady, M., Gordon, S. G., Braz-Ruivo, L. (2002), "Pimobendan: the north american experience", *Proc. 20th ACVIM Forum*, Dallas.
219. O'Sullivan, M. L., O'Grady, M. (2005), "Interpretation of heart sounds", *Proc. 23rd ACVIM Forum*, Baltimore.
220. Ohtsuka, T., Hamada, M., Hiasa, G., Sasaki, O., Suzuki, M., Hara, Y., Shigematsu, Y., Hiwada, K. (2001), "Effect of beta-blockers on circulating levels of inflammatory and anti-inflammatory cytokines in patients with dilated cardiomyopathy", *J.Am Coll.Cardiol.*, 37, 412-417.
221. Olsen, L. H., Fredholm, M., Pedersen, H. D. (1999), "Epidemiology and inheritance of mitral valve prolapse in Dachshunds", *J.Vet Intern.Med.*, 13, 448-456.
222. Orrenius, S., McConkey, D. J., Bellomo, G., Nicotera, P. (1989), "Role of Ca²⁺ in toxic cell killing", *Trends Pharmacol.Sci.*, 10, 281-285.
223. Oyama, M. A. (2004), "Advances in echocardiography", *Vet Clin North Am Small Anim Pract.*, 34, 1083-104, v.
224. Oyama, M. A. (2007), "Evaluation of an N-terminal pro-BNP assay in dogs with heart disease", *Proc. 25th ACVIM Forum*, Seattle.
225. Oyama, M. A., Sisson, D. D. (2004), "Cardiac troponin-I concentration in dogs with cardiac disease", *J.Vet Intern.Med.*, 18, 831-839.
226. Oyama, M. A., Sisson, D. D., Prosek, R., Bulmer, B. J., Luethy, M. W., Fuentes, V. L. (2007), "Carvedilol in dogs with dilated cardiomyopathy", *J.Vet Intern.Med.*, 21, 1272-1279.
227. Oyama, M. A., Sisson, D. D., Solter, P. F. (2007), "Prospective screening for occult cardiomyopathy in dogs by measurement of plasma atrial natriuretic peptide, B-type natriuretic peptide, and cardiac troponin-I concentrations", *Am J.Vet Res.*, 68, 42-47.
228. Oyama, M. A., Sisson, D. D., Thomas, W. P., Bonagura J.D. (2005), "Congenital Heart Disease", in *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, Ettinger, S. J. and Feldman, E. C. (eds), 6th edition, Elsevier Saunders, 972-1021.
229. Packer, M. (2001), "Current role of beta-adrenergic blockers in the management of chronic heart failure", *Am J.Med.*, 110 Suppl 7A, 81S-94S.

230. Packer, M., Carver, J. R., Rodeheffer, R. J., Ivanhoe, R. J., DiBianco, R., Zeldis, S. M., Hendrix, G. H., Bommer, W. J., Elkayam, U., Kukin, M. L., . (1991), "Effect of oral milrinone on mortality in severe chronic heart failure. The PROMISE Study Research Group", *N.Engl.J.Med.*, 325, 1468-1475.
231. Packer, M., Colucci, W. S., Sackner-Bernstein, J. D., Liang, C. S., Goldscher, D. A., Freeman, I., Kukin, M. L., Kinhal, V., Udelson, J. E., Klapholz, M., Gottlieb, S. S., Pearle, D., Cody, R. J., Gregory, J. J., Kantrowitz, N. E., LeJemtel, T. H., Young, S. T., Lukas, M. A., Shusterman, N. H. (1996), "Double-blind, placebo-controlled study of the effects of carvedilol in patients with moderate to severe heart failure. The PRECISE Trial. Prospective Randomized Evaluation of Carvedilol on Symptoms and Exercise", *Circulation*, 94, 2793-2799.
232. Packer, M., Fowler, M. B., Roecker, E. B., Coats, A. J., Katus, H. A., Krum, H., Mohacsi, P., Rouleau, J. L., Tendera, M., Staiger, C., Holcslaw, T. L., mann-Zalan, I., DeMets, D. L. (2002), "Effect of carvedilol on the morbidity of patients with severe chronic heart failure: results of the carvedilol prospective randomized cumulative survival (COPERNICUS) study", *Circulation*, 106, 2194-2199.
233. Patel, H. J., Pilla, J. J., Polidori, D. J., Pusca, S. V., Plappert, T. A., Sutton, M. S., Lankford, E. B., Acker, M. A. (2000), "Ten weeks of rapid ventricular pacing creates a long-term model of left ventricular dysfunction", *J.Thorac.Cardiovasc.Surg.*, 119, 834-841.
234. Pauschinger, M., Chandrasekharan, K., Li, J., Schwimmbeck, P. L., Noutsias, M., Schultheiss, H. P. (2002), "[Mechanisms of extracellular matrix remodeling in dilated cardiomyopathy]", *Herz*, 27, 677-682.
235. Pedersen, H. D., Haggstrom, J., Falk, T., Mow, T., Olsen, L. H., Iversen, L., Jensen, A. L. (1999), "Auscultation in mild mitral regurgitation in dogs: observer variation, effects of physical maneuvers, and agreement with color Doppler echocardiography and phonocardiography", *J.Vet Intern.Med.*, 13, 56-64.
236. Pedersen, H. D., Kristensen, B. O., Lorentzen, K. A., Koch, J., Jensen, A. L., Flagstad, A. (1995), "Mitral valve prolapse in 3-year-old healthy Cavalier King Charles Spaniels. An echocardiographic study", *Can.J.Vet Res.*, 59, 294-298.
237. Pedersen, H. D., Lorentzen, K. A., Kristensen, B. O. (1999), "Echocardiographic mitral valve prolapse in cavalier King Charles spaniels: epidemiology and prognostic significance for regurgitation", *Vet Rec.*, 144, 315-320.
238. Petersen, J. W., Felker, G. M. (2006), "Inflammatory biomarkers in heart failure", *Congest.Heart Fail.*, 12, 324-328.
239. Phrommintikul, A., Chattipakorn, N. (2006), "Roles of cardiac ryanodine receptor in heart failure and sudden cardiac death", *Int.J.Cardiol.*, 112, 142-152.
240. Pitt, B., Zannad, F., Remme, W. J., Cody, R., Castaigne, A., Perez, A., Palensky, J., Wittes, J. (1999), "The effect of spironolactone on morbidity and

- mortality in patients with severe heart failure. Randomized Aldactone Evaluation Study Investigators", *N.Engl.J.Med.*, 341, 709-717.
241. Poulsen Nautrup, C., Wölfel, I. (2007), "Neues zur Diagnostik der AV-Klappen (3D, PISA, Pulmonalvenenfluss, TDI)", *Vortragsszusammenfassung der DGK-DVG Arbeitstagung*, Duisburg.
242. Prasad, K., O'Neil, C. L., Bharadwaj, B. (1984), "Effects of chronic digoxin treatment on cardiac function, electrolytes, and sarcolemmal ATPase in the canine failing heart due to chronic mitral regurgitation", *Am Heart J.*, 108, 1487-1494.
243. Proclemer, A., Gradnik, R., Savonitto, S., Feruglio, G. A. (1987), "Electrophysiological effects of bisoprolol", *Eur.Heart J.*, 8 Suppl M, 81-85.
244. Prosek, R., Sisson, D. D., Oyama, M. A., Biondo, A. W., Solter, P. F. (2004), "Plasma endothelin-1 immunoreactivity in normal dogs and dogs with acquired heart disease", *J. Vet Intern.Med.*, 18, 840-844.
245. Prosek, R., Sisson, D. D., Oyama, M. A., Solter, P. F. (2007), "Distinguishing cardiac and noncardiac dyspnea in 48 dogs using plasma atrial natriuretic factor, B-type natriuretic factor, endothelin, and cardiac troponin-I", *J. Vet Intern.Med.*, 21, 238-242.
246. Quinones, M. A., Gaasch, W. H., Alexander, J. K. (1976), "Influence of acute changes in preload, afterload, contractile state and heart rate on ejection and isovolumic indices of myocardial contractility in man", *Circulation*, 53, 293-302.
247. Rademaker, M. T., Charles, C. J., Espiner, E. A., Frampton, C. M., Nicholls, M. G., Richards, A. M. (1996), "Natriuretic peptide responses to acute and chronic ventricular pacing in sheep", *Am J. Physiol*, 270, H594-H602.
248. Re, G., Bergamasco, L., Badino, P., Borgarelli, M., Odore, R., Tarducci, A., Zanatta, R., Girardi, C. (1999), "Canine dilated cardiomyopathy: lymphocyte and cardiac alpha(1)- and beta-adrenoceptor concentrations in normal and affected great danes", *Vet J.*, 158, 120-127.
249. Reddy, S., Benatar, D., Gheorghide, M. (1997), "Update on digoxin and other oral positive inotropic agents for chronic heart failure", *Curr. Opin. Cardiol.*, 12, 233-241.
250. Reiken, S., Wehrens, X. H., Vest, J. A., Barbone, A., Klotz, S., Mancini, D., Burkhoff, D., Marks, A. R. (2003), "Beta-blockers restore calcium release channel function and improve cardiac muscle performance in human heart failure", *Circulation*, 107, 2459-2466.
251. Ricchiuti, V., Sharkey, S. W., Murakami, M. M., Voss, E. M., Apple, F. S. (1998), "Cardiac troponin I and T alterations in dog hearts with myocardial infarction: correlation with infarct size", *Am J. Clin Pathol.*, 110, 241-247.
252. Riegger, A. J., Liebau, G. (1982), "The renin-angiotensin-aldosterone system, antidiuretic hormone and sympathetic nerve activity in an experimental model of congestive heart failure in the dog", *Clin Sci.(Lond)*, 62, 465-469.

253. Roig, E., Perez-Villa, F., Morales, M., Jimenez, W., Orus, J., Heras, M., Sanz, G. (2000), "Clinical implications of increased plasma angiotensin II despite ACE inhibitor therapy in patients with congestive heart failure", *Eur. Heart J.*, 21, 53-57.
254. Rosenthal, S. L., Ferguson, M. J., Lefbom, B. K., Tyrrell, W. D. (2006), "Association of pimobendan with ventricular arrhythmias in dogs with congestive heart failure", *Proc. 24th ACVIM Forum*, Louisville.
255. Rush, J. E. (2007), "Emergency management of congestive heart failure: new diagnostic and therapeutic options", *Proc. 25th ACVIM Forum*, Seattle.
256. Rush, J. E., Freeman, L. M., Hiler, C., Brown, D. J. (2002), "Use of metoprolol in dogs with acquired heart disease", *J. Vet Cardiol.*, 4, 23-28.
257. Sabbah, H. N. (1999), "The cellular and physiologic effects of beta blockers in heart failure", *Clin Cardiol.*, 22 Suppl 5, V16-V20.
258. Sabbah, H. N. (2004), "Biologic rationale for the use of beta-blockers in the treatment of heart failure", *Heart Fail.Rev.*, 9, 91-97.
259. Sabbah, H. N., Sharov, V. G., Gupta, R. C., Mishra, S., Rastogi, S., Undrovinas, A. I., Chaudhry, P. A., Todor, A., Mishima, T., Tanhehco, E. J., Suzuki, G. (2003), "Reversal of chronic molecular and cellular abnormalities due to heart failure by passive mechanical ventricular containment", *Circ.Res.*, 93, 1095-1101.
260. Sabbah, H. N., Sharov, V. G., Gupta, R. C., Todor, A., Singh, V., Goldstein, S. (2000), "Chronic therapy with metoprolol attenuates cardiomyocyte apoptosis in dogs with heart failure", *J. Am Coll. Cardiol.*, 36, 1698-1705.
261. Sabbah, H. N., Sharov, V. G., Lesch, M., Goldstein, S. (1995), "Progression of heart failure: a role for interstitial fibrosis", *Mol. Cell Biochem.*, 147, 29-34.
262. Sabbah, H. N., Shimoyama, H., Kono, T., Gupta, R. C., Sharov, V. G., Scicli, G., Levine, T. B., Goldstein, S. (1994), "Effects of long-term monotherapy with enalapril, metoprolol, and digoxin on the progression of left ventricular dysfunction and dilation in dogs with reduced ejection fraction", *Circulation*, 89, 2852-2859.
263. Sabbah, H. N., Stein, P. D., Kono, T., Gheorghide, M., Levine, T. B., Jafri, S., Hawkins, E. T., Goldstein, S. (1991), "A canine model of chronic heart failure produced by multiple sequential coronary microembolizations", *Am J. Physiol*, 260, H1379-H1384.
264. Sadoshima, J., Izumo, S. (1993), "Molecular characterization of angiotensin II-induced hypertrophy of cardiac myocytes and hyperplasia of cardiac fibroblasts. Critical role of the AT1 receptor subtype", *Circ.Res.*, 73, 413-423.
265. Sahn, D. J., DeMaria, A., Kisslo, J., Weyman, A. (1978), "Recommendations regarding quantitation in M-mode echocardiography: results of a survey of echocardiographic measurements", *Circulation*, 58, 1072-1083.

266. Sameluck, N. (2003), "Klinische Aspekte der dilatativen Kardiomyopathie beim Hund - retrospektive und prospektive Untersuchungen", Dissertation, *Freie Universität Berlin*
267. Schliep, H. J., Schulze, E., Harting, J., Haeusler, G. (1986), "Antagonistic effects of bisoprolol on several beta-adrenoceptor-mediated actions in anaesthetized cats", *Eur.J.Pharmacol.*, 123, 253-261.
268. Schneider, M. (2006), "Echokardiographie bei Hund und Katze", *Seminarunterlagen, 52. Jahreskongress der DGK-DVG*, Düsseldorf.
269. Schneider, M. (2007), "Klassifikation der Herzinsuffizienz von NYHA bis CHIEF", *Vortragsszusammenfassungen, DGK-DVG Arbeitstagung*, Duisburg.
270. Schneider, M., Hildebrandt, N., Schweigl, T., Schneider, I., Hagel, K. H., Neu, H. (2001), "Transvenous embolization of small patent ductus arteriosus with single detachable coils in dogs", *J. Vet Intern.Med.*, 15, 222-228.
271. Schober, K. E. (2005), "Biochemical Markers of Cardiovascular Disease", in *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, Ettinger, S. J. and Feldman, E. C. (eds), 6th edition, Elsevier Saunders, 940-947.
272. Schober, K. E., Luis Fuentes, V., Baade, H., Oechtering, G. (2002), "Echokardiographische Referenzwerte beim Boxer", *Tierärztliche Praxis*, 30(K), 417-426.
273. Sharov, V. G., Kostin, S., Todor, A., Schaper, J., Sabbah, H. N. (2005), "Expression of cytoskeletal, linkage and extracellular proteins in failing dog myocardium", *Heart Fail.Rev.*, 10, 297-303.
274. Sharov, V. G., Sabbah, H. N., Shimoyama, H., Goussev, A. V., Lesch, M., Goldstein, S. (1996), "Evidence of cardiocyte apoptosis in myocardium of dogs with chronic heart failure", *Am J.Pathol.*, 148, 141-149.
275. Sharov, V. G., Todor, A., Suzuki, G., Morita, H., Tanhehco, E. J., Sabbah, H. N. (2003), "Hypoxia, angiotensin-II, and norepinephrine mediated apoptosis is stimulus specific in canine failed cardiomyocytes: a role for p38 MAPK, Fas-L and cyclin D1", *Eur.J.Heart Fail.*, 5, 121-129.
276. Shinbane, J. S., Wood, M. A., Jensen, D. N., Ellenbogen, K. A., Fitzpatrick, A. P., Scheinman, M. M. (1997), "Tachycardia-induced cardiomyopathy: a review of animal models and clinical studies", *J.Am Coll.Cardiol.*, 29, 709-715.
277. Singh, B. N. (2005), "Beta-Adrenergic blockers as antiarrhythmic and antifibrillatory compounds: an overview", *J.Cardiovasc.Pharmacol.Ther.*, 10 Suppl 1, S3-S14.
278. Sisson, D., Thomas, W. P., Woodfield, J., Pion, P. D., Luethy, M., DeLellis, L. A. (1991), "Permanent transvenous pacemaker implantation in forty dogs", *J. Vet Intern.Med.*, 5, 322-331.
279. Sisson, D. D. (2004), "Neuroendocrine evaluation of cardiac disease", *Vet Clin North Am Small Anim Pract.*, 34, 1105-1126.

280. Smith, P. J., French, A. T., Van, Israel N., Smith, S. G., Swift, S. T., Lee, A. J., Corcoran, B. M., Dukes-McEwan, J. (2005), "Efficacy and safety of pimobendan in canine heart failure caused by myxomatous mitral valve disease", *J.Small Anim Pract.*, 46, 121-130.
281. Snyder, P. S., Cooke, K. L. (2005), "Management of hypertension", in *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, Ettinger, S. J. and Feldman, E. C. (eds), 6th edition, Elsevier Saunders, 477-479.
282. Spinale, F. G., Coker, M. L., Bond, B. R., Zellner, J. L. (2000), "Myocardial matrix degradation and metalloproteinase activation in the failing heart: a potential therapeutic target", *Cardiovasc.Res.*, 46, 225-238.
283. Spinale, F. G., Coker, M. L., Thomas, C. V., Walker, J. D., Mukherjee, R., Hebbard, L. (1998), "Time-dependent changes in matrix metalloproteinase activity and expression during the progression of congestive heart failure: relation to ventricular and myocyte function", *Circ.Res.*, 82, 482-495.
284. Spinale, F. G., Holzgrefe, H. H., Mukherjee, R., Arthur, S. R., Child, M. J., Powell, J. R., Koster, W. H. (1995), "LV and myocyte structure and function after early recovery from tachycardia-induced cardiomyopathy", *Am J.Physiol*, 268, H836-H847.
285. Spinale, F. G., Tomita, M., Zellner, J. L., Cook, J. C., Crawford, F. A., Zile, M. R. (1991), "Collagen remodeling and changes in LV function during development and recovery from supraventricular tachycardia", *Am J.Physiol*, 261, H308-H318.
286. Stepien, R. L. (2005), "Diagnostic blood pressure measurement", in *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, Ettinger, S. J. and Feldman, E. C. (eds), 6th edition, Elsevier Saunders, 282-285.
287. Stepien, R. L., Bonagura, J. D., Bednarski, R. M., Muir, W. W., III (1995), "Cardiorespiratory effects of acepromazine maleate and buprenorphine hydrochloride in clinically normal dogs", *Am J.Vet Res.*, 56, 78-84.
288. Stepien, R. L., Rapoport, G. S. (1999), "Clinical comparison of three methods to measure blood pressure in nonsedated dogs", *J.Am Vet Med.Assoc.*, 215, 1623-1628.
289. Stiles, G. L., Caron, M. G., Lefkowitz, R. J. (1984), "Beta-adrenergic receptors: biochemical mechanisms of physiological regulation", *Physiol Rev.*, 64, 661-743.
290. Strickland, K. N. (2004), "Echocardiography: case studies", *Proc. 22nd ACVIM Forum*, Minneapolis.
291. Struyker-Boudier, H. A., Smits, J. F. (1989), "Antihypertensive action of beta-adrenoceptor blocking drugs. The role of intrarenal mechanisms", *Am J.Hypertens.*, 2, 237S-240S.
292. Studer, R., Reinecke, H., Bilger, J., Eschenhagen, T., Bohm, M., Hasenfuss, G., Just, H., Holtz, J., Drexler, H. (1994), "Gene expression of the cardiac

- Na(+)-Ca²⁺ exchanger in end-stage human heart failure", *Circ.Res.*, 75, 443-453.
293. Sun, Y. L., Hu, S. J., Wang, L. H., Hu, Y., Zhou, J. Y. (2005), "Effect of beta-blockers on cardiac function and calcium handling protein in postinfarction heart failure rats", *Chest*, 128, 1812-1821.
294. Suzuki, G., Mishima, T., Tanhehco, E. J., Sharov, V. G., Todor, A., Rostogi, S., Gupta, R. C., Chaudhry, P. A., Anagnostopoulos, P. V., Nass, O., Goldstein, S., Sabbah, H. N. (2003), "Effects of the AT1-receptor antagonist eprosartan on the progression of left ventricular dysfunction in dogs with heart failure", *Br.J.Pharmacol.*, 138, 301-309.
295. Suzuki, G., Morita, H., Mishima, T., Sharov, V. G., Todor, A., Tanhehco, E. J., Rudolph, A. E., McMahon, E. G., Goldstein, S., Sabbah, H. N. (2002), "Effects of long-term monotherapy with eplerenone, a novel aldosterone blocker, on progression of left ventricular dysfunction and remodeling in dogs with heart failure", *Circulation*, 106, 2967-2972.
296. Swedberg, K., Cleland, J., Dargie, H., Drexler, H., Follath, F., Komajda, M., Tavazzi, L., Smiseth, O. A., Gavazzi, A., Haverich, A., Hoes, A., Jaarsma, T., Korewicki, J., Levy, S., Linde, C., Lopez-Sendon, J. L., Nieminen, M. S., Pierard, L., Remme, W. J. (2005), "[Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Chronic Heart Failure: executive summary (update 2005)]", *Rev.Esp.Cardiol.*, 58, 1062-1092.
297. Swedberg, K., Hjalmarson, A., Waagstein, F., Wallentin, I. (1979), "Prolongation of survival in congestive cardiomyopathy by beta-receptor blockade", *Lancet*, 1, 1374-1376.
298. Sweet, C. S., Gaul, S. L., Reitz, P. M., Blaine, E. H., Ribeiro, L. T. (1983), "Mechanism of action of enalapril in experimental hypertension and acute left ventricular failure", *J.Hypertens.Suppl*, 1, 53-63.
299. Swenson, L., Haggstrom, J., Kwart, C., Juneja, R. K. (1996), "Relationship between parental cardiac status in Cavalier King Charles spaniels and prevalence and severity of chronic valvular disease in offspring", *J.Am Vet Med.Assoc.*, 208, 2009-2012.
300. Takagaki, M., McCarthy, P. M., Goormastic, M., Ochiai, Y., Doi, K., Kopcak, M. W., Jr., Tabata, T., Cardon, L. A., Thomas, J. D., Fukamachi, K. (2003), "Determinants of the development of mitral regurgitation in pacing-induced heart failure", *Circ.J.*, 67, 78-82.
301. Takagaki, M., McCarthy, P. M., Tabata, T., Dessoify, R., Cardon, L. A., Connor, J., Ochiai, Y., Thomas, J. D., Francis, G. S., Young, J. B., Fukamachi, K. (2002), "Induction and maintenance of an experimental model of severe cardiomyopathy with a novel protocol of rapid ventricular pacing", *J.Thorac.Cardiovasc.Surg.*, 123, 544-549.
302. Takeda, Y., Fukutomi, T., Suzuki, S., Yamamoto, K., Ogata, M., Kondo, H., Sugiura, M., Shigeyama, J., Itoh, M. (2004), "Effects of carvedilol on plasma B-type natriuretic peptide concentration and symptoms in patients

- with heart failure and preserved ejection fraction", *Am J. Cardiol.*, 94, 448-453.
303. Tallaj, J., Wei, C. C., Hankes, G. H., Holland, M., Rynders, P., Dillon, A. R., Ardell, J. L., Armour, J. A., Lucchesi, P. A., Dell'Italia, L. J. (2003), "Beta1-adrenergic receptor blockade attenuates angiotensin II-mediated catecholamine release into the cardiac interstitium in mitral regurgitation", *Circulation*, 108, 225-230.
304. Tan, L. B., Benjamin, I. J., Clark, W. A. (1992), "beta Adrenergic receptor desensitisation may serve a cardioprotective role", *Cardiovasc. Res.*, 26, 608-614.
305. Tanaka, M., Ito, H., Adachi, S., Akimoto, H., Nishikawa, T., Kasajima, T., Marumo, F., Hiroe, M. (1994), "Hypoxia induces apoptosis with enhanced expression of Fas antigen messenger RNA in cultured neonatal rat cardiomyocytes", *Circ. Res.*, 75, 426-433.
306. Tang, H. F., Wu, S. L., Deng, C. Y., Zhang, W. C., Kuang, S. J. (2007), "Bisoprolol inhibits sodium current in ventricular myocytes of rats with diastolic heart failure", *Clin Exp. Pharmacol. Physiol.*, 34, 714-719.
307. Tarducci, A., Borgarelli, M., Zanatta, R., Cagnasso, A. (2003), "Asymptomatic dilated cardiomyopathy in Great Danes: clinical, electrocardiographic, echocardiographic and echo-Doppler features", *Vet Res. Commun.*, 27 Suppl 1, 799-802.
308. Tarnow, I., Pedersen, H. D., Kwart, C., Hoglund, K., Kampstrup, T. S., Olsen, L. H., Haggstrom, J. (2007), "Natriuretic peptides are elevated in Cavalier King Charles Spaniels with congestive heart failure but not in dogs with clinically inapparent mitral valve disease", *Proc. 25th ACVIM Forum*, Seattle.
309. Teshima, K., Asano, K., Sasaki, Y., Kato, Y., Kutara, K., Edamura, K., Hasegawa, A., Tanaka, S. (2005), "Assessment of left ventricular function using pulsed tissue Doppler imaging in healthy dogs and dogs with spontaneous mitral regurgitation", *J. Vet Med. Sci.*, 67, 1207-1215.
310. Tessier-Vetzel, D., Tissier, R., Chetboul, V., Carlos, C., Nicolle, A., Benbaron, D., Dandrieux, J., Thoulon, F., Carayon, A., Pouchelon, J. L. (2006), "Diagnostic and prognostic value of endothelin-1 plasma concentrations in dogs with heart and respiratory disorders", *Vet Rec.*, 158, 783-788.
311. The BENCH (BENazepril in Canine Heart disease) Study Group (1999), "The effect of benazepril on survival times and clinical signs of dogs with congestive heart failure: Results of a multicenter, prospective, randomized, double-blinded, placebo-controlled, long-term clinical trial", *J. Vet Cardiol.*, 1, 7-18.
312. The COVE Study Group (1995), "Controlled clinical evaluation of enalapril in dogs with heart failure: results of the Cooperative Veterinary Enalapril Study Group", *J. Vet Intern. Med.*, 9, 243-252.
313. The Digitalis Investigation Group (1997), "The effect of digoxin on mortality and morbidity in patients with heart failure", *N. Engl. J. Med.*, 336, 525-533.

314. The IMPROVE Study Group (1995), "Acute and short-term hemodynamic, echocardiographic, and clinical effects of enalapril maleate in dogs with naturally acquired heart failure: results of the Invasive Multicenter PROspective Veterinary Evaluation of Enalapril study", *J. Vet Intern. Med.*, 9, 234-242.
315. The SOLVD Investigators (1992), "Effect of enalapril on mortality and the development of heart failure in asymptomatic patients with reduced left ventricular ejection fractions", *N.Engl.J.Med.*, 327, 685-691.
316. Tidholm, A. (2006), "Survival in dogs with dilated cardiomyopathy and congestive heart failure treated with digoxin, furosemid and propranolol: A retrospective study of 62 dogs", *J. Vet Cardiol.*, 8, 41-47.
317. Tidholm, A., Haggstrom, J., Borgarelli, M., Tarducci, A. (2001), "Canine idiopathic dilated cardiomyopathy. Part I: Aetiology, clinical characteristics, epidemiology and pathology", *Vet J.*, 162, 92-107.
318. Tidholm, A., Jonsson, L. (1997), "A retrospective study of canine dilated cardiomyopathy (189 cases)", *J. Am Anim Hosp. Assoc.*, 33, 544-550.
319. Tidholm, A., Jonsson, L. (2005), "Histologic characterization of canine dilated cardiomyopathy", *Vet Pathol.*, 42, 1-8.
320. Tomita, M., Spinale, F. G., Crawford, F. A., Zile, M. R. (1991), "Changes in left ventricular volume, mass, and function during the development and regression of supraventricular tachycardia-induced cardiomyopathy. Disparity between recovery of systolic versus diastolic function", *Circulation*, 83, 635-644.
321. Travill, C. M., Williams, T. D., Pate, P., Song, G., Chalmers, J., Lightman, S. L., Sutton, R., Noble, M. I. (1992), "Haemodynamic and neurohumoral response in heart failure produced by rapid ventricular pacing", *Cardiovasc. Res.*, 26, 783-790.
322. Tsutsui, H., Spinale, F. G., Nagatsu, M., Schmid, P. G., Ishihara, K., DeFreyte, G., Cooper, G., Carabello, B. A. (1994), "Effects of chronic beta-adrenergic blockade on the left ventricular and cardiocyte abnormalities of chronic canine mitral regurgitation", *J. Clin Invest*, 93, 2639-2648.
323. Uechi, M., Matsuoka, M., Kuwajima, E., Kaneko, T., Yamashita, K., Fukushima, U., Ishikawa, Y. (2003), "The effects of the loop diuretics furosemide and torasemide on diuresis in dogs and cats", *J. Vet Med. Sci.*, 65, 1057-1061.
324. Unger, T. (2002), "The role of the renin-angiotensin system in the development of cardiovascular disease", *Am J. Cardiol.*, 89, 3A-9A.
325. van den Meiracker, A. H., Lameris, T. W., van, de, V., Boomsma, F. (2003), "Increased plasma concentration of natriuretic peptides by selective beta1-blocker bisoprolol", *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 42, 462-468.
326. van Zwieten, P. A., de Jonge A. (1986), "Interaction between the adrenergic and renin-angiotensin-aldosterone-systems", *Postgrad. Med. J.*, 62 Suppl 1, 23-27.

327. Verma, S. P., Silke, B., Hussain, M., Nelson, G. I., Reynolds, G. W., Richmond, A., Taylor, S. H. (1987), "First-line treatment of left ventricular failure complicating acute myocardial infarction: a randomised evaluation of immediate effects of diuretic, venodilator, arteriodilator, and positive inotropic drugs on left ventricular function", *J.Cardiovasc.Pharmacol.*, 10, 38-46.
328. Vincent, I. C., Michell, A. R., Leahy, R. A. (1993), "Non-invasive measurement of arterial blood pressure in dogs: a potential indicator for the identification of stress", *Res.Vet.Sci.*, 54, 195-201.
329. Vollmar, A. C. (1999), "Use of echocardiography in the diagnosis of dilated cardiomyopathy in Irish wolfhounds", *J.Am Anim Hosp.Assoc.*, 35, 279-283.
330. Vollmar, A. C. (2000), "The prevalence of cardiomyopathy in the Irish wolfhound: a clinical study of 500 dogs", *J.Am Anim Hosp.Assoc.*, 36, 125-132.
331. Vollmar, A. C. (2007), "Dilatative Kardiomyopathie beim Hund (DCM): Ätiologie, Rassedispositionen und Diagnostik", *Vortragzusammenfassungen, DGK-DVG Arbeitstagung*, Duisburg.
332. Waagstein, F., Hjalmarson, A., Varnauskas, E., Wallentin, I. (1975), "Effect of chronic beta-adrenergic receptor blockade in congestive cardiomyopathy", *Br.Heart J.*, 37, 1022-1036.
333. Waddell, L. S. (2005), "Hypotension", in *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, Ettinger, S. J. and Feldman, E. C. (eds), 6th edition, Elsevier Saunders, 480-483.
334. Ware, W. A., Lund, D. D., Subieta, A. R., Schmid, P. G. (1990), "Sympathetic activation in dogs with congestive heart failure caused by chronic mitral valve disease and dilated cardiomyopathy", *J.Am Vet Med.Assoc.*, 197, 1475-1481.
335. Watson, A. M., Hood, S. G., May, C. N. (2006), "Mechanisms of sympathetic activation in heart failure", *Clin Exp.Pharmacol.Physiol*, 33, 1269-1274.
336. Weber, K. T., Sun, Y., Tyagi, S. C., Cleutjens, J. P. (1994), "Collagen network of the myocardium: function, structural remodeling and regulatory mechanisms", *J.Mol.Cell Cardiol.*, 26, 279-292.
337. Webster, C. R. L. (2005), "History, Clinical Signs, and Physical Findings in Hepatobiliary Disease", in *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, Ettinger, S. J. and Feldman, E. C. (eds), 6th edition, Elsevier Saunders, 1422-1434.
338. Wehrens, X. H., Marks, A. R. (2004), "Molecular determinants of altered contractility in heart failure", *Ann.Med.*, 36 Suppl 1, 70-80.
339. Wei, C. C., Meng, Q. C., Palmer, R., Hageman, G. R., Durand, J., Bradley, W. E., Farrell, D. M., Hankes, G. H., Oparil, S., Dell'Italia, L. J. (1999), "Evidence for angiotensin-converting enzyme- and chymase-mediated angiotensin II

- formation in the interstitial fluid space of the dog heart in vivo", *Circulation*, 99, 2583-2589.
340. Weil, J., Schunkert, H. (2006), "[Pathophysiology of chronic heart failure]", *Clin Res. Cardiol.*, 95 Suppl 4, 1-15.
341. Wess, G., Timper, N., Hirschberger, J. (2007), "The utility of Nt-proBNP to differentiate cardiac and respiratory causes of coughing or dyspnoe in dogs", *Proc. 25th ACVIM Forum*, Seattle.
342. White, M., Yanowitz, F., Gilbert, E. M., Larrabee, P., O'Connell, J. B., Anderson, J. L., Renlund, D., Mealey, P., Abraham, W. T., Bristow, M. R. (1995), "Role of beta-adrenergic receptor downregulation in the peak exercise response in patients with heart failure due to idiopathic dilated cardiomyopathy", *Am J. Cardiol.*, 76, 1271-1276.
343. Willard, M. D., Tvedten, H. (2008), *Labordiagnostik in der Kleintierpraxis*, Elsevier Urban & Fischer
344. Wilson, J. L., Scheel, K. W. (1989), "Septal collateralization: demonstration of canine intramyocardial collaterals", *Am J. Anat.*, 184, 62-65.
345. Wilson, J. R., Douglas, P., Hickey, W. F., Lanoce, V., Ferraro, N., Muhammad, A., Reichel, N. (1987), "Experimental congestive heart failure produced by rapid ventricular pacing in the dog: cardiac effects", *Circulation*, 75, 857-867.
346. Winslow, R. L., Rice, J., Jafri, S., Marban, E., O'Rourke, B. (1999), "Mechanisms of altered excitation-contraction coupling in canine tachycardia-induced heart failure, II: model studies", *Circ. Res.*, 84, 571-586.
347. Woolley, R., Smith, P., Munro, E., Smith, S., Swift, S., Devine, C., Corcoran, B., French, A. (2007), "Effects of treatment type on vertebral heart size in dogs with myxomatous mitral valve disease", *Intern J Appl Res Vet Med.*, 5, 43-48.
348. Wotton, P. (2006), "Arrhythmias - diagnosis & treatment", *Programme ESVC PreCongress Day*, Prague.
349. Yanagisawa, M., Kurihara, H., Kimura, S., Goto, K., Masaki, T. (1988), "A novel peptide vasoconstrictor, endothelin, is produced by vascular endothelium and modulates smooth muscle Ca²⁺ channels", *J. Hypertens. Suppl*, 6, S188-S191.
350. Yarbrough, W. M., Spinale, F. G. (2003), "Large animal models of congestive heart failure: a critical step in translating basic observations into clinical applications", *J. Nucl. Cardiol.*, 10, 77-86.
351. Yasumura, Y., Takemura, K., Sakamoto, A., Kitakaze, M., Miyatake, K. (2003), "Changes in myocardial gene expression associated with beta-blocker therapy in patients with chronic heart failure", *J. Card Fail.*, 9, 469-474.

-
352. Yndestad, A., Damas, J. K., Oie, E., Ueland, T., Gullestad, L., Aukrust, P. (2006), "Systemic inflammation in heart failure--the whys and wherefores", *Heart Fail.Rev.*, 11, 83-92.
 353. Yndestad, A., Damas, J. K., Oie, E., Ueland, T., Gullestad, L., Aukrust, P. (2007), "Role of inflammation in the progression of heart failure", *Curr.Cardiol.Rep.*, 9, 236-241.
 354. Young, A. A., Orr, R., Smaill, B. H., Dell'Italia, L. J. (1996), "Three-dimensional changes in left and right ventricular geometry in chronic mitral regurgitation", *Am J.Physiol*, 271, H2689-H2700.
 355. Zannad, F., Dousset, B., Alla, F. (2001), "Treatment of congestive heart failure: interfering the aldosterone-cardiac extracellular matrix relationship", *Hypertension*, 38, 1227-1232.
 356. Zaugg, M., Xu, W., Lucchinetti, E., Shafiq, S. A., Jamali, N. Z., Siddiqui, M. A. (2000), "Beta-adrenergic receptor subtypes differentially affect apoptosis in adult rat ventricular myocytes", *Circulation*, 102, 344-350.

9 Anhang

Tabelle 9.1: Entwicklung des QT-Intervalls während der Induktionsphase in der Gesamtpopulation (MW \pm SEM, N=18) und p-Wert des t-Tests für verbundene Stichproben (Vergleich der Messungen „Start Pacing“ und „12. Woche“)

	Start Pacing	6. Woche	9. Woche	12. Woche	p-Wert (2-seitig)
QT-Intervall (msec)	195 \pm 3	194 \pm 2	194 \pm 4	193 \pm 4	0,496

Tabelle 9.2: Ergebnisse (p-Werte) der ANOVA für wiederholte Messungen (F-Test) für das QT-Intervall in den Messungen *prae applicationem* und *2h post applicationem*

	p-Wert (2-seitig)		
	Gruppe	Zeit	Gruppe x Zeit
<i>prae applicationem</i>	0,465	0,002	0,484
<i>2h post applicationem</i>	0,121	< 0,001	0,043

Tabelle 9.3: QT-Intervall in den Behandlungsgruppen (MW \pm SEM) und Ergebnisse (p-Werte) der multiplen ANOVA t-Test Methode, Messungen 2h post *applicationem* (+2h)

	QT-Intervall (msec)			p-Wert (2-seitig)		
	Konserv. Gruppe (n=6)	Aggr. Gruppe (n=6)	Placebo-gruppe (n=6)	Konserv. vs. Placebo	Aggr. vs. Placebo	Konserv. vs. Aggr.
Ausgangswert	188 \pm 8	194 \pm 5	195 \pm 7	0,453	0,921	0,513
Tag 7 +2h	211 \pm 6	226 \pm 5	213 \pm 7	0,766	0,147	0,087
Tag 14 +2h	210 \pm 5	215 \pm 6	208 \pm 6	0,756	0,336	0,509
Tag 21 +2h	222 \pm 5	219 \pm 4	208 \pm 5	0,043	0,094	0,674
Tag 28 +2h	219 \pm 2	225 \pm 3	210 \pm 5	0,106	0,011	0,249
Tag 35 +2h	221 \pm 3	231 \pm 2	208 \pm 6	0,028	0,001	0,086

Tabelle 9.4: QT-Intervall in den Behandlungsgruppen (MW \pm SEM) und Ergebnisse (p-Werte) der multiplen ANOVA t-Test Methode, Messungen *prae applicationem* (+0h)

	QT-Intervall (msec)			p-Wert (2-seitig)		
	Konserv. Gruppe (n=6)	Aggr. Gruppe (n=6)	Placebo-gruppe (n=6)	Konserv. vs. Placebo	Aggr. vs. Placebo	Konserv. vs. Aggr.
Ausgangswert	188 \pm 8	194 \pm 5	195 \pm 7	0,453	0,921	0,513
Tag 7 +0h	195 \pm 3	194 \pm 4	203 \pm 5	0,134	0,109	0,906
Tag 14 +0h	194 \pm 4	204 \pm 6	202 \pm 4	0,258	0,789	0,168
Tag 21 +0h	202 \pm 3	205 \pm 5	199 \pm 4	0,651	0,316	0,573
Tag 28 +0h	202 \pm 2	210 \pm 2	203 \pm 4	0,780	0,111	0,067
Tag 35 +0h	200 \pm 5	206 \pm 3	200 \pm 6	0,938	0,359	0,322

10 Danksagung

Herrn PD Dr. M. Schneider danke ich herzlich für die Vertretung der Arbeit in der Kleintierklinik der Justus-Liebig Universität Giessen, für die geistigen Herausforderungen und fruchtbaren Diskussionen bei der Interpretation der Ergebnisse und für seine Überstunden an Wochenenden und Feiertagen während der Korrektur der Arbeit (dieser Dank gilt ebenfalls seiner Familie).

Bei der Bayer HealthCare AG, insbesondere bei Herrn Prof. Dr. N. Schmeer, bedanke ich mich für die Überlassung der Forschungsmittel, die hervorragenden Arbeitsbedingungen und die herzliche Aufnahme in die Abteilung. Weiterhin danke ich Dr. Martina Rehagen und meinen Kolleginnen und Kollegen im Labor, dass sie mir stets so weit wie möglich den Rücken frei gehalten haben.

Ein großer Dank gilt Dr. Gerald Beddies für die Ermöglichung der Mitarbeit an diesem interessanten Projekt und für die intensive Einbindung in das Projektteam. Ich danke ihm für seine zahlreichen konstruktiven und wertvollen Vorschläge und Korrekturen bei der Erstellung der Arbeit, für seine Geduld und sein Vertrauen.

Herrn Dr. R. Hamlin und Herrn D. Hamlin danke ich für die freundliche Aufnahme in ihr Labor während des praktischen Teils der Arbeit in Columbus, Ohio.

Ein weiterer Dank gehört meinen Kolleginnen und Kollegen bei der Bayer HealthCare AG, die mir immer wieder durch ein offenes Ohr, ein gutes Wort und motivierende Durchhalteparolen den Rücken gestärkt haben. Der Breakfast Club und die Mittagsrunde waren häufig das Highlight der langen Tage vor dem Computer.

Für die Hilfe bei der statistischen Auswertung danke ich Herrn T. Settje und Herrn W. Baurecht, sowie Frau Iris Schröder für ihre wertvollen Ratschläge bei Formulierungsschwierigkeiten und computertechnischen Problemen.

Ein besonderer Dank gilt schließlich meiner Familie und meinen Freunden, insbesondere Bärbel Schütte und Jutta Lohsträter, die mich verlässlich und unterstützend durch die zahlreichen Hochs und Tiefs der letzten Jahre begleitet haben. Ohne Euch wäre ich heute nicht das, was ich bin.