

Tierärztliche Hochschule Hannover

**Entwicklung eines standardisierten, submaximalen
Laufband-Belastungstests an gesunden Beaglen und
CHIEF B1 / B2 Herzpatienten**

INAUGURAL – DISSERTATION

zur Erlangung des Grades einer Doktorin der Veterinärmedizin

- Doctor medicinae veterinariae -

(Dr. med. vet.)

vorgelegt von

Leona Franziska Wall

Geburtsort: Bremen

Hannover 2018

Wissenschaftliche Betreuung: Univ.-Prof. Dr. Ingo Nolte
Klinik für Kleintiere (TiHo)

1. Gutachter: Univ.-Prof. I. Nolte

2. Gutachter/in: Univ.-Prof. P. Stadler

Tag der mündlichen Prüfung: 07.05.2018

Die vorliegende Arbeit wurde durch ein Stipendium der Studienstiftung des Deutschen Volkes unterstützt.

Für die Wissenschaft

Folgende Publikationen sind im Rahmen dieser Arbeit entstanden und wurden zur Publikation angenommen bzw. eingereicht:

Clinical use of submaximal treadmill exercise testing and assessments of cardiac biomarkers NT-proBNP and cTnI in dogs with presymptomatic mitral regurgitation

L. Wall¹, A. Mohr¹, F. L. Ripoli¹, N. Schulze¹, C. D. Penter¹, S.O. Hungerbuehler¹, J.-P. Bach¹, K. Lucas¹, I. Nolte¹

¹Small Animal Clinic, University of Veterinary Medicine Hannover, Foundation, Bünteweg 9, 30559 Hannover, Germany

Zur Publikation angenommen beim Journal *PLoS ONE* am 30.05.2018;
doi: 10.1371/journal.pone.0199023

Relevance and Potential of Cardiac Biomarkers NT-proBNP and cTnI and Exercise Testing in Canine Cardiology

L. Wall¹, J.-P. Bach¹

¹Small Animal Clinic, University of Veterinary Medicine Hannover, Foundation, Bünteweg 9, 30559 Hannover, Germany

Eingereicht beim Journal *The Journal of Veterinary Medical Science* am 05.03.2018

**Ergebnisse dieser Dissertation wurden auf folgenden
Fachtagungen präsentiert:**

Vorträge:

24. Jahrestagung der DVG-Fachgruppe Innere Medizin und klinische Labordiagnostik
(InnLab 29. – 30. Januar 2016 in Berlin)

**Etablierung eines standardisierten, submaximalen, physischen Belastungstests am
Beagle**

L. Wall, S.O. Hungerbuehler, A. Mohr, F. Ripoli, K. Lucas, I. Nolte

25. Jahrestagung der DVG-Fachgruppe Innere Medizin und klinische Labordiagnostik
(InnLab 03. – 04. Februar 2017 in Göttingen)

**Etablierung eines standardisierten, submaximalen, physischen Belastungstests am
Beagle und CHIEF B1 / B2 Herzpatienten**

L. Wall, S.O. Hungerbuehler, A. Mohr, F. L. Ripoli, C. Penter, N. Schulze, J. Bach, I. Nolte

2017 ACVIM Forum (08. – 10. Juni 2017 in National Harbor, Maryland, U.S.A.)

**Development of a standardised, individual, submaximal treadmill exercise test in
healthy and CHIEF B1 / B2 dogs**

**L. Wall, S.O. Hungerbuehler, A. Mohr, F. Ripoli, C. Penter, N. Schulze, K. Lucas, J. Bach, I.
Nolte**

Posterpräsentationen:

2017 FASAVA Congress (11. – 14. August 2017 in Gold Coast, Australien)

**Development of a Standardized, Individual, Submaximal Treadmill Exercise Test in
Healthy and CHIEF B1 / B2 Dogs**

**L. Wall, S.O. Hungerbuehler, A. Mohr, F. L. Ripoli, C. D. Penter, N. Schulze, J.-P. Bach, I.
Nolte**

Inhaltsverzeichnis

<u>1. Einleitung</u>	1
<u>2. Literaturübersicht</u>	4
<u>2.1 Belastungsintoleranz</u>	4
<u>2.2 Relevanz von Belastungsuntersuchungen bei präsymptomatischen Mitralklappenerkrankungen des Hundes</u>	6
<u>2.3 Belastungsparameter in der Kardiologie</u>	8
<u>2.3.1. Kardiaale Biomarker</u>	8
<u>2.3.1.1 N-terminales pro-natriuretisches Peptid vom Typ B</u>	8
<u>2.3.1.2 Kardiales Troponin I</u>	9
<u>2.3.1.3 Limitierte Aussagekraft der kardialen Biomarker in Ruhe beim Hund</u>	10
<u>2.3.1.4 NT-proBNP und cTnI nach Belastung</u>	11
<u>2.3.2 Laktat und Säure-Basen-Haushalt</u>	11
<u>2.3.3 Echokardiographie und Herzfrequenz</u>	13
<u>2.3.3.1 Echokardiographie in Ruhe</u>	13
<u>2.3.3.2 Belastungsechokardiographie</u>	14
<u>2.3.3.3 Herzfrequenz</u>	15
<u>3. Untersuchungsgut, Material und Methoden</u>	17
<u>3.1 Untersuchungsgut</u>	17
<u>3.2 Material- und Geräteliste</u>	18
<u>3.3 Einschlussuntersuchung</u>	19
<u>3.4 Ablauf des submaximalen Belastungstests auf dem Laufband</u>	20
<u>3.5 Messung der Parameter</u>	23
<u>3.5.1 Messung der Herz- und Atemfrequenz sowie der Sauerstoffsättigung</u>	23
<u>3.5.2 Blutuntersuchungen</u>	23
<u>3.5.3 Belastungsechokardiographie</u>	24
<u>3.6 Datenanalyse und statistische Auswertung</u>	24
<u>4. Ergebnisse / Manuskripte</u>	26
<u>4.1 Clinical use of submaximal treadmill exercise testing and assessments of cardiac biomarkers NT-proBNP and cTnI in dogs with presymptomatic mitral regurgitation</u>	26
<u>4.2 Relevance and Potential of Cardiac Biomarkers NT-proBNP and cTnI and Exercise Testing in Canine Cardiology</u>	52

<u>5. Diskussion</u>	85
<u>6. Zusammenfassung</u>	92
<u>7. Summary</u>	94
<u>8. Literaturverzeichnis</u>	95
<u>9. Abkürzungsverzeichnis</u>	125
<u>10. Danksagung</u>	127

1. Einleitung

Die Belastungsintoleranz ist in der Regel das erste Symptom einer Herzinsuffizienz und entwickelt sich beim Hund, ähnlich wie beim Menschen, langsam progressiv. In der Anfangsphase bleibt sie häufig unentdeckt (LOPEZ-ALVAREZ et al. 2015), bis andere typische Beschwerden (u.a. Husten, Dyspnoe, Anorexie, Schwäche) im fortgeschrittenen Stadium der Erkrankung auftreten (ATKINS et al. 2009).

Um den Beginn einer Herzerkrankung so früh wie möglich festzustellen, gehören Belastungsuntersuchungen in der Kardiologie beim Menschen zu den routinediagnostischen Verfahren (GIBBONS et al. 1997; HENRI et al. 2014). Die Anpassungsfähigkeit des Herz-Kreislauf-Systems an körperliche Belastung kann damit objektiver bewertet werden und prognostische Aussagen erlangen damit eine höhere Zuverlässigkeit (KEREN et al. 1989; TUNICK et al. 1992; LEBRUN et al. 2001; PICANO et al. 2009; MILLER et al. 2016). Insbesondere bei einer nicht eindeutigen kardiologischen Ruheuntersuchung wird empfohlen, eine submaximale Belastungsuntersuchung anzuschließen, um einen Therapiebedarf festzustellen oder auszuschließen (NICKENIG et al. 2013).

Um den Patienten durch eine extreme körperliche Aktivität nicht in eine kritische Situation zu bringen, wird im Rahmen der kardiologischen Untersuchung auf ein maximales Belastungsprotokoll verzichtet, da auch submaximale Protokolle eine Herzerkrankung objektiv beurteilen können. Die Messung der absoluten Herzleistung wird hingegen in der Sportmedizin durchgeführt (SARTOR et al. 2013; HENRI et al. 2014).

Beim Hund steht bisher kein allgemein anerkannter, standardisierter Belastungstest im Rahmen der kardiologischen Diagnostik zur Verfügung. Verschiedene Belastungstests wurden zwar bereits durchgeführt, allerdings nicht mit einem Belastungsprotokoll, das rassespezifisch (also je nach Größe und Leistungsfähigkeit des Hundes) modifiziert werden kann und trotzdem eine vergleichbare Belastung des Herz-Kreislauf-Systems herbeiführt (KITTLESON et al. 1996; ROVIRA et al. 2008; HUNT et al. 2017). Zudem wurden bei einigen Studien keine gesunden Hunde als Referenz untersucht oder es fehlten Hunde mit Herzerkrankung, um spezifische Unterschiede festzustellen (FERASIN u. MARCORA 2007; PICCIONE et al. 2012; NGANVONGPANIT et al. 2013).

1. Einleitung

Eine weitere Herausforderung besteht in der objektiven Erfassung eines Therapieverlaufes mit einer optimalen Adjustierung der Herzmedikation. Derzeit werden Therapiekontrollen beim Hund nur anhand der klinischen Symptome und echokardiographischer Parameter vorgenommen. Dies ist mit entsprechendem zeitlichen und finanziellen Aufwand verbunden (BOSWOOD et al. 2016; DE LIMA u. FERREIRA 2017). Beim Menschen werden Belastungsuntersuchungen für die optimale Einstellung der Dosis einer Herzmedikation durchgeführt (HENRI et al. 2014).

Erste Studien am Menschen deuten darauf hin, dass die Berücksichtigung zirkulierender Herzmarker bei der Dosisfindung für den Patienten zusätzliche Vorteile bringt, wie die unkomplizierte Untersuchung beim Hausarzt und eine verbesserte Prognose (JOURDAIN et al. 2007; BRUNNER-LA ROCCA u. BEKTAS 2015). Auch in der Kardiologie des Hundes finden Herzmarker zunehmend Anwendung (OYAMA 2013; WOLF et al. 2013). Eine alleinige Messung anstelle der etablierten Verfahren in der kardiologischen Diagnostik wird jedoch derzeit nicht empfohlen (WESS et al. 2017). Eine genaue Charakterisierung von Referenzbereichen ist aufgrund intraindividuelle Variation, Alters- und Rasseunterschiede sowie dem Einfluss von ggf. vorhandenen nicht-kardialen Erkrankungen schwierig (KOCATURK et al. 2012; RUAUX et al. 2015; WINTER et al. 2017a; WINTER et al. 2017b). Beim Menschen hat sich inzwischen gezeigt, dass die Kombination der Messung von Herzmarkern mit einer Belastungsuntersuchung wertvolle Hinweise auf den weiteren Verlauf der Erkrankung geben kann (MAGNE et al. 2012; SINHA et al. 2016).

Mit der vorliegenden Studie sollte daher eine Methode zu einer objektiven Beurteilung der Belastungsfähigkeit des Hundes, bezogen auf die Herzleistung, erarbeitet werden. Da der standardisierte, submaximale Belastungstest auf dem Laufband der erweiterten kardiologischen Diagnostik dient, muss er im Zusammenhang mit der konventionellen Diagnostik betrachtet werden. Neben der allgemeinen klinisch-kardiologischen Diagnostik beinhaltet dies verschiedene Stoffwechselfparameter und die Echokardiographie. Die Messung herzspezifischer Biomarker NT-proBNP (N-terminales pro-natriuretisches Peptid Typ B) und cTnI (kardiales Troponin I) im Zusammenhang mit einem standardisierten, submaximalen Belastungstest ist zu evaluieren.

Für diesen Zweck muss zunächst an gesunden Beaglen ein individuell angepasster, submaximaler Belastungstest entwickelt und standardisiert werden. Mit diesem Test sollen spezifische Unterschiede unter Belastung zwischen gesunden und symptomfreien, herzkranken

1. Einleitung

Hunden (CHIEF B; Canine Heart Failure International Expert Forum) herausgearbeitet werden. Der zu entwickelnde Belastungstest sollte dazu praxistauglich und patientenangepasst gestaltet werden. Somit müssen spezifische Unterschiede (insbesondere die Körpergröße und die individuelle Leistungsfähigkeit) Berücksichtigung finden (Standardisierung) und entsprechend die individuelle Geschwindigkeit der Bewegung (submaximal) auf einem Laufband berücksichtigt werden.

2. Literaturübersicht

2.1 Belastungsintoleranz

Belastungsintoleranz ist in der Regel das erste Symptom einer Herzinsuffizienz, während andere typische Symptome (u.a. Husten, Dyspnoe, Anorexie, Schwäche) erst im fortgeschrittenen Stadium der Erkrankung auftreten. Zugrunde liegt eine chronische Aktivierung der Mechanismen zur Nutzung der funktionellen Reserve, die die Anpassungsfähigkeit an Belastung beeinträchtigt (VATNER u. PAGANI 1976; MALLIANI u. PAGANI 1983; RIMOLDI et al. 1990; TRIPOSKIADIS et al. 2009). Eine verminderte körperliche Belastbarkeit aufgrund einer kardialen Erkrankung wird jedoch vom Patientenbesitzer häufig nicht erkannt oder einer anderen Ursache zugeordnet (ATKINS et al. 2009).

Da diese subjektive Wahrnehmung auch in der Kardiologie des Menschen wichtig ist, sind Belastungstests dort ein essentieller Bestandteil der Routinediagnostik und die Ergebnisse ergänzen die Befunde der Ruheuntersuchung (GIBBONS et al. 1997; LANCELOTTI et al. 2003; MESSIKA-ZEITOUN et al. 2006).

Maximale Belastungstests bestimmen die höchstmögliche Sauerstoffaufnahme. Diese korreliert mit der Herzleistung und dem Trainingszustand (MCELROY et al. 1988; LARSEN et al. 2001). Ihre Anwendung bei Herzpatienten wird nicht empfohlen, da durch die extreme körperliche Aktivität Risiken entstehen, die in keinem Verhältnis zu dem Nutzen einer akkuraten Messung der Herzleistung stehen (CLARK u. CLELAND 2001; LARSEN et al. 2001; SARTOR et al. 2013).

Daher werden außerhalb der Sportmedizin submaximale Belastungstests durchgeführt, die ebenfalls in der Lage sind, die funktionelle Kapazität des Herz-Kreislaufsystems sowie Herzerkrankungen objektiv zu beurteilen und prognostische Aussagen anhand der Ergebnisse zu machen. Dabei wird der Entwicklung eines kritischen Zustandes der Patienten vorgebeugt, sowie weniger personeller und apparativer Aufwand benötigt (NOONAN u. DEAN 2000; HENRI et al. 2014). Für submaximale, kardiologische Belastungstests werden Endpunkte gesetzt, wie beispielsweise der Anstieg der Herzfrequenz oder die anaerobe Schwelle, da sich die Belastungsintensität bis zum Erreichen dieser Schwelle bei unterschiedlicher

2. Literaturübersicht

Leistungsfähigkeit unterscheidet (YOSHIDA et al. 1987). Dafür werden bei gradueller Steigerung der Belastung die Herzfrequenz gemessen und Blutproben genommen, aus denen die Laktatkonzentration gemessen wird (BASSETT u. HOWLEY 2000).

Verschiedene submaximale Belastungstests auf dem Laufband wurden auch beim Hund eingesetzt, um den Einfluss physischer Belastung auf den Organismus zu evaluieren und die Wirkung verschiedener Substanzen auf die Herzleistung zu untersuchen. Dies ist bislang überwiegend zu wissenschaftlichen Zwecken und meist mit invasiven Methoden erfolgt, ohne eine klinische Anwendung zum Ziel zu haben (CERRETELLI et al. 1964; TIPTON et al. 1974; STONE 1977; ORDWAY et al. 1984; SEITELBERGER et al. 1988; RADOSEVICH et al. 1989; RIMOLDI et al. 1990; PATH et al. 1991; ROVIRA et al. 2008; PICCIONE et al. 2012; NGANVONGPANIT et al. 2013).

Die Belastung wurde durch eine Steigerung der Geschwindigkeit, der Steigung oder einer Kombination von beidem erreicht (TIPTON et al. 1974; SEITELBERGER et al. 1988; KITTLESON et al. 1996; LORKE et al. 2017). Um eine minimale Belastung während des Belastungstests sicherzustellen, sollte die Herzfrequenz am Ende der 2. Stufe mindestens 150 Schläge / Min. betragen oder um mindestens 40 % im Vergleich zum Ausgangswert gestiegen sein. Da eine Anwendung am kardiologischen Patienten angestrebt wird, muss sichergestellt werden, dass der Belastungstest submaximal bleibt. Beim Menschen wurde als kritischer Wert, in dessen Rahmen sich submaximale Belastungstests bewegen sollten, 85 % der maximal erreichbaren Herzfrequenz festgelegt (HENRI et al. 2014). Dies entspricht dann einer Herzfrequenz von 240 Schlägen / Min. beim Hund, wenn 280 Schläge / Min. als Maximalwert angenommen werden (ORDWAY et al. 1984).

Nicht-standardisierte Belastungsuntersuchungen wurden beim Hund außerdem in Form von Schwimmen (NGANVONGPANIT et al. 2013), Rettungsarbeit (ROVIRA et al. 2008), Hütearbeit (HUNT et al. 2017) oder Ballspielen (ROBBINS et al. 2017) durchgeführt.

Bei Menschen mit stark einschränkender Herz- und / oder Lungenerkrankung wird der 6-Minuten-Gehtest genutzt. Die Patienten sollen in 6 Minuten so weit laufen, wie sie können. Dies spiegelt ihre Fähigkeit wider, alltäglichen Besorgungen nachzugehen und zeigt indirekt, inwiefern sie am täglichen Leben teilnehmen können (GUYATT et al. 1985), wie also ihre Lebensqualität zu bewerten ist (O'KEEFFE et al. 1998).

2. Literaturübersicht

Beim Hund wurde dieser Test ebenfalls in einigen Studien durchgeführt, in denen eine Diskriminierung zwischen gesunden und erkrankten Tieren möglich war (BODDY et al. 2004; SWIMMER u. ROZANSKI 2011; LILJA-MAULA et al. 2014) und Unterschiede zwischen adipösen und nicht adipösen Hunden gezeigt werden konnten (MANENS et al. 2014). Vorteile gegenüber einem Belastungstest auf dem Laufband ergeben sich durch die technisch weniger aufwändige Gestaltung, sowie weniger Zeit-, Platz- und Personalaufwand. Die Vergleichbarkeit und Reproduzierbarkeit der Ergebnisse ist jedoch nicht gewährleistet. Der 6-Minuten-Gehtest eignet sich daher nur für die Untersuchung von Patienten mit extrem eingeschränkter Herz-Lungenfunktion, die sich außerdem weigern, auf dem Laufband zu laufen.

Durch einen individuellen Belastungstest auf dem Laufband konnten bereits Unterschiede zwischen alten und jungen gesunden Hunden festgestellt werden (WILLEN 2016). Eine Pilotstudie untersuchte die Eignung eines Belastungstests auf dem Laufband zur Untersuchung von caninen Herzpatienten unter Medikation (FERASIN u. MARCORA 2007). In dieser Studie zeigten sich erste Hinweise darauf, dass ein submaximaler Belastungstest wertvolle Informationen zur aktuellen Belastbarkeit sowie dem weiteren klinischen Verlauf der Erkrankung geben kann.

2.2 Relevanz von Belastungsuntersuchungen bei präsymptomatischen Mitralklappenerkrankungen des Hundes

Die Mitralklappenerkrankung ist die am häufigsten auftretende Herzerkrankung des Hundes (ATKINS u. HAGGSTROM 2012). Sie verläuft langsam progressiv und wird beim Hund nach Graden bzw. Schwere der Erkrankung basierend auf der klinischen Untersuchung in Verbindung mit röntgenologischen, elektro- und echokardiographischen Befunden klassifiziert. Dies kann nach unterschiedlichen Systemen erfolgen, wie beispielsweise nach dem für den caninen Patienten modifizierten und auch in der Humanmedizin geläufigen Schema der New York Heart Association (ATKINS et al. 2009). Dieses teilt die Patienten anhand funktioneller Kriterien von Klasse I – IV ein. Das wesentliche Kriterium ist hier das (Nicht-) Vorhandensein von Symptomen bei physischer Belastung bzw. bereits in Ruhe.

Aufgrund der subjektiven Beurteilung der Belastungstoleranz beim Hund, deren Verlauf sich zudem kurzfristig ändern kann, wurde die Einteilung um die CHIEF Klassifikation ergänzt

2. Literaturübersicht

(ATKINS et al. 2009). Sie beschreibt Hunde im Stadium A als solche mit einer erhöhten Wahrscheinlichkeit, eine Herzerkrankung zu entwickeln. Stadium B umfasst Hunde, die eine asymptotische Herzerkrankung haben, wobei Hunde im Stadium B1 noch keine erkennbaren strukturellen Veränderungen des Herzens aufweisen, die im Stadium B2 jedoch vorhanden sind. Hunde im Stadium C1-C3 haben eine Herzerkrankung mit aktuellen bzw. vorhergehenden Symptomen, die geringgradig (C1), mittel- (C2) oder hochgradig (C3) ausgeprägt sind. Patienten mit einer Herzerkrankung im Stadium D sprechen nicht mehr auf eine Therapie an (ATKINS et al. 2009).

Die Diagnose einer Herzerkrankung erfolgt durch die klinische Untersuchung inklusive Auskultation des Patienten nach einer ausführlichen Anamnese. Häufig durchgeführte weiterführende Untersuchungen umfassen die Blutuntersuchung, Röntgen, Elektro- und Echokardiographie (KRAETSCHMER et al. 2008; GOUTAL et al. 2010; CHETBOUL u. TISSIER 2012). Zur Beantwortung bestimmter Fragestellungen können ebenfalls die computer- bzw. magnetresonanztomographische Untersuchung genutzt werden (HENJES et al. 2011; MEYER et al. 2013; SIESLACK et al. 2013; SIESLACK et al. 2014). Aufgrund der zur Durchführung dieser Untersuchungen an Hunden notwendigen Narkose, spielen diese Techniken bei der Untersuchung klinischer Patienten eine untergeordnete Rolle.

Ob Patienten mit einer Mitralklappenerkrankung, die sich im Stadium CHIEF B befinden, von einer medikamentösen Therapie profitieren, wurde in der Vergangenheit kontrovers diskutiert (ATKINS et al. 2002; KVART et al. 2002; ATKINS et al. 2007; POUCHELON et al. 2008; GORDON et al. 2012). Eine großangelegte Multicenter-Studie zeigte, dass die frühzeitige Gabe von Pimobendan, einem Inodilator, das Voranschreiten der Erkrankung im Stadium B2 verlangsamt, indem die mediane symptomfreie Zeit um 15 Monate verlängert wird (BOSWOOD et al. 2016). Auch bei der dilatativen Kardiomyopathie des Dobermann-Pinschers konnte die präklinische Phase durch Pimobendan verlängert werden (SUMMERFIELD et al. 2012).

Bislang wird die medikamentöse Intervention bei präsymptomatischen Patienten ohne strukturelle Veränderungen des Herzens (CHIEF B1) nicht empfohlen, weil entsprechende Studien keine belastbaren Ergebnisse brachten (KVART et al. 2002; ATKINS et al. 2009). Beim Menschen helfen Belastungsuntersuchungen, einen Therapiebedarf in einem präsymptomatischen Stadium festzustellen (BONOW et al. 2006; MAGNE et al. 2012; SINHA et al. 2016). Möglicherweise könnte daher mit Hilfe eines Belastungstests ebenfalls

2. Literaturübersicht

eine Untergruppe beim caninen CHIEF B1 Patienten identifiziert werden, die von einer frühen Therapie profitiert.

2.3 Belastungsparameter in der Kardiologie

2.3.1. Kardiale Biomarker

2.3.1.1 N-terminales pro-natriuretisches Peptid vom Typ B

Natriuretische Peptide gehören zu den Hormonen, die intravaskuläre Homöostase und Blutdruck regulieren. Sie wirken antagonistisch auf das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System. Durch eine Vasodilatation und damit einhergehende vermehrte Nierendurchblutung sowie Natriuresis führen sie zu einer vermehrten Diurese. Insgesamt verringern sie so die Vor- und Nachlast des Herzens (WILKINS et al. 1997).

In der kardiologischen Diagnostik relevant sind die natriuretischen Peptide vom Typ A (ANP; atrialer Ursprung) und B (BNP; überwiegend ventrikulärer Ursprung), die von Kardiomyozyten als Antwort auf Dehnungsreize (z. B. erhöhter hydrostatischer Druck aufgrund einer Herzerkrankung) ins Blut abgegeben werden (YASUE et al. 1994; ASANO et al. 1999). Dabei wird proBNP in das aktive BNP und das inaktive N-terminale proBNP (NT-proBNP) gespalten (DETAINT et al. 2005). Aufgrund der längeren Halbwertszeit und den damit einhergehenden bis zu 10-fach höheren Konzentrationen im Blut ist das NT-proBNP diagnostisch von größerer Bedeutung (THOMAS u. WOODS 2003; SILVER et al. 2004; PANAGOPOULOU et al. 2013).

(NT-pro-) BNP ist beim Menschen ein guter Indikator für zukünftige kardiale Zwischenfälle (kardiovaskulär bedingte Todesfälle, Notwendigkeit einer chirurgischen Versorgung der Herzklappen, stationärer Aufenthalt aufgrund eines Lungenödems oder kongestiven Herzversagens) (DETAINT et al. 2005). Es konnte gezeigt werden, dass natriuretische Peptide im Blut bei Mitralklappenregurgitation im Vergleich zu gesunden Probanden erhöht sind und dass sie sogar mit dem Schweregrad der Klappeninsuffizienz korrelieren (SUTTON et al. 2003).

2. Literaturübersicht

Auch beim Hund liefern diese Marker wichtige prognostische Informationen bei präklinischen Patienten (CHETBOUL et al. 2009; MOONARMART et al. 2010; REYNOLDS et al. 2012). Die Messung von natriuretischen Peptiden kann dabei helfen, eine Dyspnoe einer kardialen oder nicht-kardialen Ursache zuzuordnen (PROSEK et al. 2007) und die Höhe der gemessenen Werte korreliert bei Vorliegen einer Herzerkrankung mit deren Schwere (OYAMA et al. 2008; FOX et al. 2014). Außerdem sind NT-proBNP-Werte erhöht bei Hunden mit kongestivem Herzversagen gegenüber Hunden mit einer präsymptomatischen Herzerkrankung (WOLF et al. 2013) und können beim Welpen Aufschluss darüber geben, ob ein Herzgeräusch eine pathologische Ursache hat (MARINUS et al. 2017).

2.3.1.2 Kardiales Troponin I

Troponin-Protein-Komplexe sind Teil der Aktin-Myosin-Interaktion in gestreifter Muskulatur und bestehen aus 3 Untereinheiten (Troponin C, I und T), die jeweils eine kardiospezifische Isoform besitzen (FILATOV et al. 1999). Allerdings sind nur cTnI und cTnT spezifische Marker für kardiomyozytäre Schäden bei diversen kardialen Erkrankungen (BURGENER et al. 2006; O'BRIEN et al. 2006; WELLS u. SLEEPER 2008; TATER et al. 2017). cTnI wird insbesondere beim Verdacht auf eine akute Myokardischämie gemessen, und es konnte mehrfach gezeigt werden, dass es sich insbesondere dafür eignet, myokardiale Schäden anzuzeigen (FREDERICKS et al. 2001; SERRA et al. 2010).

Die höchsten Konzentrationen von cTnI werden erst einige Stunden nach einem Schaden an Kardiomyozyten (beispielsweise durch Myokardinfarkt oder Anwendung von kardiotoxischen Substanzen) gemessen (CUMMINS et al. 1987; BURGENER et al. 2006; O'BRIEN et al. 2006; STEWART et al. 2016; TATER et al. 2017). cTnI kann beim caninen Herzpatienten Aufschluss über das Ausmaß und die Prognose der Herzerkrankung geben (HORWICH et al. 2003; OYAMA u. SISSON 2004; SPRATT et al. 2005; FONFARA et al. 2010) und auch das Fortschreiten und das Ansprechen auf Medikamente können überwacht werden, wobei die cTnI-Level im Blut nach Initiation der Therapie sinken (FERASIN u. MARCORA 2007).

2. Literaturübersicht

2.3.1.3 Limitierte Aussagekraft der kardialen Biomarker in Ruhe beim Hund

Obwohl sie in vielerlei Hinsicht klinisch wichtige Informationen liefern, bestehen einige Einschränkungen bei der Messung von kardialen Biomarkern im Praxisalltag. Zu den Faktoren, die die Konzentration von NT-proBNP und / oder cTnI beeinflussen können gehören Azotämie, systemische Entzündungszustände (LANGHORN et al. 2014; HAMACHER et al. 2015) und Infektionskrankheiten (DINIZ et al. 2008; KOCATURK et al. 2012; LOBETTI et al. 2012; SILVESTRINI et al. 2012; NICOLSON et al. 2016).

Das Alter und die Rasse beeinflussen ebenfalls die Konzentration der kardialen Biomarker im Blut: es konnte gezeigt werden, dass in einer gesunden Population ältere Hunde höhere Konzentrationen aufweisen, als jüngere (OYAMA u. SISSON 2004; SERRA et al. 2010). Während allerdings cTnI weniger stark durch die Rasse beeinflusst wird (OYAMA u. SISSON 2004), besteht bei NT-proBNP scheinbar eine starke Abhängigkeit der Höhe der Werte von der Rasse des Patienten (SJOSTRAND et al. 2014).

Ein weiterer Einflussfaktor auf die Höhe der gemessenen Werte sind natürliche Schwankungen der Konzentration im Blut, sodass schwer zwischen einer normalen biologischen Variation und einem pathologischen Anstieg zu unterscheiden ist (KELLIHAN et al. 2009; RUAUX et al. 2015; WINTER et al. 2017a; WINTER et al. 2017b). Deswegen muss ein drastischer Anstieg der Marker stattfinden, damit bei Vorliegen erhöhter Werte von einer zugrundeliegenden Herzerkrankung bzw. einer Verschlechterung dieser ausgegangen werden kann.

Beim Menschen geht ein solcher Anstieg mit einer weiteren Progression der Herzerkrankung einher (FERTIN et al. 2010). Es ist jedoch bekannt, dass eine frühe therapeutische Intervention die Prognose verbessern, bzw. das Fortschreiten der Herzerkrankung verlangsamen kann (POUCHELON et al. 2008; O'GRADY et al. 2009; SUMMERFIELD et al. 2012; BOSWOOD et al. 2016).

Derzeit sind die Indikationen für eine Messung der kardialen Biomarker beim caninen Herzpatienten limitiert, nicht zuletzt auch, weil eine valide Charakterisierung fehlt (ATKINS et al. 2009; OYAMA 2013). Die Messung von cTnI und NT-proBNP in Kombination sowie die serielle Erfassung der Parameter führt beim Hund allerdings zu einer Verbesserung der prognostischen Aussagekraft (HEZZELL et al. 2012).

2. Literaturübersicht

2.3.1.4 NT-proBNP und cTnI nach Belastung

Da die hämodynamischen Konsequenzen einen größeren Einfluss auf die NT-proBNP-Konzentrationen im Blut haben als das Ausmaß der Mitralklappeninsuffizienz (BERGLER-KLEIN et al. 2014) und diese sich unter Belastung stark verändern können (PICANO et al. 2009), könnten belastungsinduzierte Veränderungen von NT-proBNP in der Zukunft die Befunde der echokardiographischen Untersuchung beim Hund ergänzen. Der belastungsinduzierte Anstieg gibt, zumindest beim Menschen, Informationen zur Prognose (MAGNE et al. 2012; SINHA et al. 2016). Bei gesunden Menschen wurde ebenfalls ein geringgradiger Anstieg unter Belastung festgestellt (BARLETTA et al. 1998) und beim Schäferhund kam es nach einem Dobutamin-Stress-Test zu erhöhten Konzentrationen im Blut (SPASOJEVIC KOSIC et al. 2012). Auch nach stärkerer physiologischer Arbeit kam es bei gesunden Hunden zu einem Anstieg der Konzentration im Blut (HUNT et al. 2017).

cTnI steigt ebenfalls unter Belastung an (MCKENZIE et al. 2007; WAKSHLAG et al. 2010; THARWAT et al. 2013). Ein verstärkter Anstieg nach Belastung konnte bei Hunden mit Herzinsuffizienz gemessen werden (FERASIN u. MARCORA 2007). Beim Menschen wurde bereits eine Studie durchgeführt, die direkt gesunde Individuen mit Patienten mit geringgradiger Herzerkrankung verglich – hierbei wurde bei der Patientengruppe ein höherer Anstieg festgestellt (SCHULZ u. KROMER 2002).

Eine detaillierte Darstellung von der Bedeutung von NT-proBNP und cTnI in der Kardiologie beim Hund, auch in Kombination mit Belastungsuntersuchungen, findet sich in Kapitel 4.2 (Review article Relevance and Potential of Cardiac Biomarkers NT-proBNP and cTnI and Exercise Testing in Canine Cardiology).

2.3.2 Laktat und Säure-Basen-Haushalt

Laktat ist ein wichtiger Indikator der Ausdauerleistungsfähigkeit bei Menschen und Pferden (YOSHIDA et al. 1987; BITSCHNAU et al. 2010; FRAIPONT et al. 2012). Auch beim Hund konnte gezeigt werden, dass es unter Belastung auf dem Laufband zu erhöhten Blutlaktatwerten kommt (CERRETELLI et al. 1964; PICCIONE et al. 2012). Typischerweise

2. Literaturübersicht

fällt die Laktatkonzentration in der kurzen Zeit nach Initiation der Belastung ab und steigt dann im weiteren Verlauf an (KITTLESON et al. 1996). Unter Belastung gemessene Werte können Hinweise auf den Trainingszustand bzw. die körperliche Leistungsfähigkeit geben (TIPTON et al. 1974; LIANG et al. 1979; SNEDDON et al. 1989).

Allerdings können die für den Menschen aufgestellten Laktatschwellen, also eine Akkumulation von Laktat im Blut aufgrund einer Belastung oberhalb der aeroben Kapazitäten, nicht einfach auf den Hund übertragen werden. Grund ist eine höhere aerobe Kapazität des Hundes, die zu Unterschieden in der Höhe der Werte sowie dem Laktatmetabolismus führt (PICCIONE et al. 2012). Auch die Ernährung kann die oxidativen Kapazitäten beeinflussen (KRONFELD et al. 1994). Mittlerweile wird das Konzept der Laktatschwelle beim Menschen ebenfalls kontrovers diskutiert (GRANT et al. 2002).

Beim Pferd allerdings werden Laktatschwellen weiterhin verwendet (MUNSTERS et al. 2014). Dabei wird die körperliche Leistung bei einer Konzentration von 2 oder 4 mmol/l verglichen, indem z.B. die Geschwindigkeit, die die Pferde beim jeweiligen Wert erreichen, gemessen und dokumentiert wird (MUNOZ et al. 1999; BITSCHNAU et al. 2010). Im Pferdesportbereich sind solche Fitnessvariablen für das optimale Training des Pferdes relevant und der Einfluss von Alter und Rasse auf Belastungsparameter wurde eingehend untersucht (EVANS u. ROSE 1988a, b; MIRANDA et al. 2014; MCKEEVER 2016; KANG u. PARK 2017).

Die Erhöhung der Werte korrelierte beim caninen Herzpatienten mit der vom Besitzer wahrgenommenen Belastungsintoleranz (FERASIN u. MARCORA 2007). In derselben Studie konnte außerdem festgestellt werden, dass die Laktatwerte reproduzierbar waren und mit Beginn einer Therapie abfielen. Zwischen den Studien lassen sich die Werte dennoch nicht vergleichen, denn verschiedene Autoren berichteten von sehr unterschiedlichen Laktatkonzentrationen (CERRETELLI et al. 1964; TIPTON et al. 1974; KITTLESON et al. 1996; PICCIONE et al. 2012).

Eine Studie konnte zeigen, dass ältere Beagle bei einem kürzeren Belastungsprotokoll und geringerer Geschwindigkeit höhere Laktatwerte nach der Belastung aufwiesen als junge Beagle (WILLEN 2016). Dies war bereits bei den Ruhewerten feststellbar. Ein diätetischer Einfluss eines Futters, das mit L-Carnitin, Antioxidantien und Omega-3 Fettsäuren angereichert war, konnte innerhalb der 6-monatigen Studiendauer nicht gezeigt werden (WILLEN 2016).

2. Literaturübersicht

Ein gesteigerter Sauerstoffbedarf wird durch vermehrte Atemaktivität ausgeglichen, was den Säure-Basen-Haushalt beeinflusst. Eine auftretende Hyperventilation unter Belastung verursacht eine hypokapnische, respiratorische Alkalose (MUSCH et al. 1986). Vermutlich wird bereits durch einen geringen Anstieg der Körpertemperatur durch die physische Aktivität eine Hechelreaktion ausgelöst, sodass die Blutgase und damit der pH-Wert sich bereits bei geringer körperlicher Aktivität verändern.

2.3.3 Echokardiographie und Herzfrequenz

2.3.3.1 Echokardiographie in Ruhe

Eine echokardiographische Untersuchung zählt zu den routinediagnostischen Maßnahmen in der caninen Kardiologie, um angeborene oder erworbene Herzerkrankungen zu evaluieren (ATKINS et al. 2009; HENJES et al. 2012). Mit Hilfe des Ultraschalls können im 2-dimensionalen B-Mode bzw. im M-Mode anatomische Strukturen (Klappen, Herzmuskel) des Herzens dargestellt und dynamisch verfolgt werden (THOMAS et al. 1993; CORNELL et al. 2004; CHETBOUL u. TISSIER 2012).

Die Doppleruntersuchung erlaubt zudem eine Darstellung des Blutflusses, sodass Druckgradienten nicht-invasiv gemessen, sowie die Strömung bzw. eine Klappenregurgitation sichtbar gemacht werden können (SCHOBER u. BAADE 2006; SERRES et al. 2006; SERRES et al. 2007). Damit ist eine sehr gute Erfassung der augenblicklichen strukturellen Situation des Herzens möglich und Messwerte können im Krankheits- bzw. Therapieverlauf dokumentiert werden (DE MADRON et al. 2011; WESS et al. 2017). Die exakte Messung mit Hilfe der Echokardiographie setzt allerdings einen sehr erfahrenen Untersucher voraus, sowie die Anschaffung eines entsprechend leistungsfähigen Ultraschallgerätes (CORNELL et al. 2004).

Neben Parametern, die standardmäßig bei der Echokardiographie erfasst werden (Kammerdimensionen in Diastole und Systole, herznahe Gefäße, Flussprofile und Druckgradienten), können bei bestimmten Fragestellungen auch weitere Messwerte erhoben werden. Das Herzminutenvolumen (HMV) beispielsweise kann bei bekannter Herzfrequenz mit der Echokardiographie abgeschätzt werden.

2. Literaturübersicht

Dazu wird der Auswurf pro Herzschlag beispielsweise mit der Simpson-Scheibchensummationsmethode oder der Teichholz-Messung erfasst (TEICHHOLZ et al. 1976; WESS et al. 2010). Beim Hund wurden beide Methoden zur volumetrischen Messung bereits erfolgreich unter Ruhebedingungen angewendet (WESS et al. 2010; MEYER et al. 2013; SIESLACK et al. 2013).

2.3.3.2 Belastungsechokardiographie

Belastungsechokardiographie wird beim Menschen vor allem bei Koronararterienerkrankungen durchgeführt, zunehmend werden damit aber auch Erkrankungen der Herzklappen untersucht (AGRICOLA et al. 2004; PICANO et al. 2009; PETEIRO u. BOUZAS-MOSQUERA 2010; HENRI et al. 2014; PICANO u. PELLIKKA 2014).

Unter Belastung können sich vermehrte Regurgitationsvolumina zeigen, die sich beim Menschen in Ruhe nicht darstellen lassen, die aber einen Einfluss auf die Leistungsfähigkeit haben (KEREN et al. 1989; TUNICK et al. 1992; LEBRUN et al. 2001). Die körperliche Aktivität wird über ein Laufband oder ein Fahrradergometer gesteigert (PETEIRO u. BOUZAS-MOSQUERA 2010; SHARMA et al. 2015).

Eine andere, zunehmend interessanter werdende Fragestellung ist, inwieweit der Druck der Pulmonalarterie steigt, wenn eine Regurgitation von Blut aus der Mitralklappe vorliegt (SHARMA et al. 2015). Wenngleich eine genaue Druckmessung nur per Herzkatheter möglich ist, kann der Druckgradient auch nicht-invasiv mit Hilfe der Dopplersonographie abgeschätzt werden (KITABATAKE et al. 1983; BURGHUBER et al. 1993). Dazu wird bei bestehender Tricuspidalklappeninsuffizienz der Druckgradient zwischen rechtem Vorhof und Ventrikel gemessen (EYSMANN et al. 1989).

Liegt keine Insuffizienz vor, kann mit dem gepulsten Doppler die Flusskurve des rechtsventrikulären Auswurftraktes aufgezeichnet werden: die Zeit, in der Blut aus dem Ventrikel in die Pulmonalarterie fließt, wird als Ejektionszeit (EZ) bezeichnet. Die Akzelerationszeit (AZ) beinhaltet den Beginn der EZ bis zum Erreichen der maximalen Ausflussgeschwindigkeit. Um den Druck indirekt abschätzen zu können, kann der Quotient

2. Literaturübersicht

aus AZ und EZ gebildet werden, wobei dieser sich im Zuge der pulmonalen Hypertension verringert (EYSMANN et al. 1989; SCHOBER u. BAADE 2006).

Eine Studie an Menschen mit Mitralklappeninsuffizienz hat eine Korrelation zwischen Zunahme des Regurgitationsvolumens und dem Pulmonalarteriendruck unter Belastung gezeigt: bei den Patienten, die die Belastung aufgrund von Dyspnoe abbrechen mussten, war dieser Druck erhöht im Vergleich zu jenen, die nur eine Erschöpfung zeigten (LEBRUN et al. 2001). Dies könnte insofern von Bedeutung sein, als dass ein solcher Befund die frühzeitige Entwicklung einer respiratorischen Beeinträchtigung detektiert.

Beim Hund ließ sich nachweisen, dass bei Mitralklappenendokardiose der Druck in der A. pulmonalis erhöht sein kann (SERRES et al. 2006). Daher könnte eine Belastungsechokardiographie auch beim caninen Patienten zusätzliche Informationen für die Prognose ergeben.

Bislang wurde dies nur mit Hilfe von Dobutamin-Infusionen für wissenschaftliche Zwecke durchgeführt (MCENTEE et al. 1998; MINORS u. O'GRADY 1998; SPASOJEVIC KOSIC et al. 2012; SUZUKI et al. 2014). Aufgrund des intravenösen Einsatzes von Dobutamin ist dieser Test nur für wenige Fragestellungen sinnvoll und unter Praxisbedingungen schlechter geeignet als ein Belastungstest auf dem Laufband, da es zu Arrhythmien kommen kann (PICANO et al. 2009). Ansonsten stehen Referenzwerte für die Echokardiographie des Hundes nur unter Ruhebedingungen zur Verfügung (CHETBOUL u. TISSIER 2012).

2.3.3.3 Herzfrequenz

Bei Belastung wird das HMV gesteigert, was einerseits durch ein erhöhtes Schlagvolumen, aber hauptsächlich durch eine Steigerung der Schlagfrequenz erreicht wird (VATNER u. PAGANI 1976). Da eine Herzinsuffizienz zu einem kompensatorisch erhöhten Sympathikotonus führt, sind diese Mechanismen bei Herzpatienten chronisch aktiv. Dadurch kann die Herzleistung bei Herzpatienten unter körperlicher Aktivität nicht im gleichen Umfang gesteigert werden wie bei gesunden Probanden (MALLIANI u. PAGANI 1983; ORDWAY et al. 1984; SIETSEMA et al. 1994; TRIPOSKIADIS et al. 2009).

Daten aus früheren Belastungsstudien enthalten wichtige Informationen zur myokardialen Sauerstoffversorgung, Blutdruck und Herzfrequenzadaptionen unter Belastung (DAI u.

2. Literaturübersicht

BACHE 1984; SEITELBERGER et al. 1988; RIMOLDI et al. 1990; PATH et al. 1991). Alle genannten Parameter steigen bei der Initiation von Belastung an und eine weitere Steigerung der zu verrichtenden Arbeit führt zwar zu einem weiteren Anstieg, jedoch nicht so deutlich wie noch zu Beginn.

Die genannten Studien untersuchten die Hunde mittels chirurgisch implantierter Messmethoden. Mit neueren Möglichkeiten der telemetrischen, nicht-invasiven Überwachung von z. B. der Herzfrequenz, können größere Populationen von Hunden mit weniger Aufwand und Manipulation der Probanden mittels eines Belastungstests auf dem Laufband untersucht werden. Dabei kann z. B. ein Brustgurt aus dem humanen Freizeitsportbereich verwendet werden (ESSNER et al. 2013).

Durch Training sinkt sowohl die Herzfrequenz in Ruhe, als auch unter Belastung (TIPTON et al. 1974; WYATT u. MITCHELL 1974; STONE 1977; HAIDET 1989; SNEDDON et al. 1989). Das Nervensystem passt sich zudem einer körperlichen Belastung an; dies ist beim herzkranken Hund jedoch nur eingeschränkt der Fall (ICHINOSE et al. 2012). Durch die Steigerung des HMV kann dem gesteigerten Sauerstoffbedarf durch die Muskelaktivität begegnet werden (CERRETELLI et al. 1964; ORDWAY et al. 1984). Beim alternden Individuum wird der maximale Sauerstoffverbrauch um ein Drittel gegenüber jungen Individuen reduziert, das maximale HMV um ein Viertel (HAIDET 1989).

Daher sollte ein Belastungstest auch die individuelle Leistungsfähigkeit berücksichtigen, da die Herzfrequenz eines älteren oder herzkranken Patienten bei submaximaler Belastung (also 85 % der maximalen Herzfrequenz (HENRI et al. 2014)) weniger stark ansteigt, als beim gesunden Individuum, wenn die maximale Herzleistung abnimmt. Insbesondere beim Herzpatienten kann eine Überlastung andernfalls gefährliche Risiken bergen (SARTOR et al. 2013).

Die Pulsfrequenz kann über ein Pulsoximeter gemessen werden, welches zusätzlich die Sauerstoffsättigung im arteriellen Blut angibt (BARKER u. TREMPER 1987; SENDAK et al. 1988). Wenngleich diese vor allem bei Lungenerkrankungen beeinflusst wird (BEHNIA et al. 2017; FURIAN et al. 2018), kann eine Herzinsuffizienz ebenfalls zu einer Beeinträchtigung der arteriellen Sauerstoffsättigung im Blut führen (KUANG et al. 2018).

3. Untersuchungsgut, Material und Methoden

3.1 Untersuchungsgut

Es wurden 12 klinisch gesunde Beagle (Referenzgruppe) im Alter von 3 ± 2 Jahren für die Erarbeitung des submaximalen Belastungstests untersucht. Das Körpergewicht betrug 13 ± 3 kg und der Body Condition Score lag zwischen 4 – 7. Die Gruppe bestand aus 3 kastrierten Hündinnen, 5 intakten und 4 kastrierten Rüden.

Anschließend wurden 12 Patienten aus dem Patientengut der Klinik für Kleintiere der Stiftung Tierärztliche Hochschule bzw. Beagle aus Universitätsinstituten, welche eine Mitralklappeninsuffizienz (CHIEF B1 / B2) aufwiesen, mit dem submaximalen Belastungstest untersucht. Die Hunde waren 9.5 ± 3 Jahre alt, wogen 18 ± 9 kg und hatten einen Body Condition Score von 4 – 7. Die Gruppe bestand aus 2 intakten und 5 kastrierten Hündinnen sowie 2 intakten und 3 kastrierten Rüden (Tabelle 1).

Die Patienten konnten nur in die Studie eingeschlossen werden, wenn sie vorberichtlich keine kardialen Symptome zeigten oder Herzmedikation erhalten hatten. Zusätzlich durften sie keine Anzeichen von einer systemischen oder orthopädischen Erkrankung aufweisen, die die Belastungsfähigkeit einschränken oder die Konzentration der Herzmarker im Blut beeinflussen könnten (Lahmheit, renale oder respiratorische Erkrankungen). Einschlusskriterium war ein Herzgeräusch von mindestens Grad 1/6 mit Punctum Maximum über der Mitralklappe.

Des Weiteren konnte ein Einschluss in die Studie nur stattfinden, wenn die Besitzer der Teilnahme an der Studie nach ausführlicher Aufklärung zugestimmt hatten.

Um die Notwendigkeit und ethische Vertretbarkeit zu gewährleisten, wurde dieser Tierversuch der zuständigen Behörde (Niedersächsisches Landesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit) angezeigt. Diese hatte keine Einwände und führt das Vorhaben unter dem Aktenzeichen 33.9-42502-05-14A484.

3. Untersuchungsgut, Material und Methoden

Tabelle 1: Rasse, Alter, Geschlecht, Gewicht und Stadium der Mitralklappeninsuffizienz der 12 Hunde aus der Patientengruppe, die mit dem submaximalen Belastungstest auf dem Laufband untersucht wurde

Patientennr.	Rasse	Alter (Jahre)	Geschlecht	Gewicht (kg)
1*	Beagle	8	WK	19,0
2 #	Beagle	12	W	14,8
3*	Beagle	8	MK	13,6
4*	Beagle	5	MK	18,3
5*	Mischling	6	WK	7,6
6*	West Highland White Terrier	11	W	9,0
7*	Weimaraner	10	MK	32,2
8*	Jack-Russel	12	WK	8,7
9*	Mischling	15	M	11,5
10#	Galgo Español	9	WK	19,1
11*	Golden Retriever	8	M	28,7
12*	Golden Retriever	8	WK	34,5

*CHIEF B1, # CHIEF B2, M: männlich, MK: männlich kastriert, W: weiblich, WK: weiblich kastriert

3.2 Material- und Geräteliste

^a ADVIA 120 (Siemens Healthcare Diagnostics GmbH, Eschborn, Deutschland)

^b Cobas c 311 Analyzer (Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland)

^c Vivid E9 (GE Healthcare, Milwaukee, U.S.A.)

3. Untersuchungsgut, Material und Methoden

^d MAC 1200 ST (GE Healthcare, Milwaukee, U.S.A.)

^e quasar (h/p/cosmos sports and medical GmbH, Nussdorf-Traunstein, Deutschland)

^f Polar H1™ Transmitter, Polar Pro Gurt (Polar Electro GmbH Deutschland, Büttelborn, Deutschland)

^g NONIN 8600V (Nonin Medical Inc., Plymouth, Minnesota, U.S.A.)

^h Rapidlab 1260 (Siemens Healthcare Diagnostics GmbH, Eschborn, Deutschland)

ⁱ Advia Centaur XP (Siemens Healthcare GmbH, Erlangen, Deutschland)

^j zweite Generation caniner Cardiopet ProBNP Test (CAHILL et al. 2015), IDEXX Laboratories, Ludwigsburg, Deutschland)

^k SAS Enterprise Guide 7.1 (SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, U.S.A.)

3.3 Einschlussuntersuchung

Vor Studieneinschluss wurden verschiedene Untersuchungen durchgeführt, um sicherzustellen, dass die Probanden der Referenzgruppe gesund waren bzw. innerhalb der Patientengruppe außer der Mitralklappeninsuffizienz keine weiteren Krankheiten vorlagen.

Alle Hunde wurden mindestens 8 Stunden vor der Untersuchung nüchtern gehalten, um einen möglichen Einfluss einer Fütterung auf die Laboruntersuchungen und die Ergebnisse des Belastungstests zu vermeiden. Wasser stand ad libitum zur Verfügung.

Zunächst wurde eine klinische Allgemeinuntersuchung durchgeführt. Im Rahmen einer Laboruntersuchung wurden ein Blutbild^a (Leukozyten, Erythrozyten, Hämatokrit) und die klinisch-chemischen Parameter^b (Alanin-Aminotransferase, Glutamatdehydrogenase, Alkalische Phosphatase, Bilirubin, Harnstoff, Kreatinin, Glukose, Gesamteiweiß, Albumin) angefertigt. Eine Urinprobe wurde aufgefangen und die Basisparameter (pH, spezifisches Gewicht und Protein) gemessen, um die Nierengesundheit zu überprüfen.

Danach wurden die Hunde echokardiographisch^c und mittels Elektrokardiogramm^d untersucht. Die Echokardiographie und die dabei angefertigten Messungen wurden von einem erfahrenen Kardiologen nach aktuellen Empfehlungen durchgeführt (CHETBOUL u. TISSIER 2012). Dabei wurde in rechter und linker Seitenlage das Herz im 2-dimensionalen

3. Untersuchungsgut, Material und Methoden

B-mode, M-mode und mittels farbkodierter Doppler-Sonographie untersucht. Arrhythmien und andere Normabweichungen wurden, falls vorhanden, dokumentiert und es erfolgte die Bestätigung der Herzgesundheit bzw. eine Einteilung nach der CHIEF-Klassifikation.

3.4 Ablauf des submaximalen Belastungstests auf dem Laufband

Das Belastungsprotokoll umfasst 6 Stufen à 3 Minuten auf einem Laufband^e, beginnend ohne Steigung und mit einer Erhöhung des Neigungswinkels nach jeder Stufe von 4 %. Die Messung der Parameter wird in Kapitel 3.4 detailliert beschrieben, der zeitliche Ablauf ist in Tabelle 2 dargestellt.

Die individuelle Geschwindigkeit der Hunde wurde in einer Habituationsphase ermittelt und dokumentiert und anschließend für alle Belastungstests des jeweiligen Hundes verwendet. Eine optimale Geschwindigkeit galt als erreicht, wenn der Hund mindestens 30 Sekunden locker und gleichmäßig trabte, ohne Beschleunigungs- oder Abbremsversuche zu unternehmen (BREBNER et al. 2006). Für diese Übungseinheiten wurde keine Steigung am Laufband eingestellt, sie dauerten nicht länger als 10 Minuten und enthielten mehrere Pausen, um einen Trainingseffekt zu verhindern.

Auf Basis einer Literaturrecherche wurde als maximale Herzfrequenz in der vorliegenden Arbeit 240 Schläge / Min. bestimmt (ORDWAY et al. 1984; HENRI et al. 2014). Bei Überschreiten dieses Wertes wurde der Belastungstest abgebrochen. Während des Belastungstests bekamen die Hunde bis zu 50 g ihres regulären Trockenfutters als Motivation.

Anschließend an die Habituationsphase wurden nach einer mindestens 15-minütigen Pause die Herz- und Atemfrequenz sowie die rektale Temperatur gemessen. Zudem wurde eine Blutprobe („vor Belastung“) entnommen. Weitere Blutproben erfolgten während der 3-minütigen Pause nach Stufe 2 und 4 sowie unmittelbar nach dem Belastungstest (Stufe 6, bzw. bei vorherigem Abbruch entsprechend direkt nach Abbruch; Tabelle 2) sowie 3 Stunden nach dem Belastungstest. Die Raumtemperatur betrug zwischen 21 und 23° C.

Jeder Hund absolvierte den gleichen Belastungstest mit derselben individuellen Geschwindigkeit ein zweites Mal im Abstand von 3 Wochen, um die Reproduzierbarkeit der gemessenen Werte zu überprüfen.

3. Untersuchungsgut, Material und Methoden

Da die im ersten Versuch erhobenen Daten sehr stark von denen des zweiten Versuches abwichen, wurde ein Hund der gesunden Gruppe 8 Wochen nach dem zweiten Versuch erneut getestet und die Ergebnisse des ersten Versuches wurden verworfen. Ein anderer Hund spielte intensiv mit den anderen Hunden seines Zwingers kurz bevor die Messungen 3 Stunden nach dem Belastungstest durchgeführt wurden, daher wurden auch diese Ergebnisse des entsprechenden Zeitpunktes für den betreffenden Tag verworfen.

3. Untersuchungsgut, Material und Methoden

Tabelle 2: Belastungsprotokoll und durchgeführte Messungen

Stufe (Steigung) / Parameter	Vor Belastung	1 (0 %)	2# (4 %)	3 (8 %)	4# (12 %)	5 (16 %)	6 (20 %)	3 h nach Belastung
NT-proBNP	X						X	
cTnI	X							X
Herzfrequenz	X	X	X	X	X	X	X	X
Laktat	X		X		X		X	X
Bikarbonat, Blutgase, pH-Wert	X		X		X		X	X
Atemfrequenz	X		X		X		X	X
Sauerstoffsättigung und Pulsfrequenz	X		X		X		X	X
Belastungs- echokardiographie	X						X	

X: Messung des Parameters zu dem Zeitpunkt

#: Blutproben wurden während einer 3-minütigen Pause am Ende der Stufe genommen

NT-proBNP: N-terminales pro-natriuretisches Peptid Typ B

cTnI: kardiales Troponin I

3.5 Messung der Parameter

3.5.1 Messung der Herz- und Atemfrequenz sowie der Sauerstoffsättigung

Zu Beginn des submaximalen Belastungstests wurde den Hunden ein Brustgurt^f umgeschallt, der die kontinuierliche, telemetrische Messung der Herzfrequenz ermöglichte. Der entsprechende Brustgurt wurde bereits am Hund erprobt (ESSNER et al. 2013). Er wurde um den Thorax gelegt und so fixiert, dass der Transmitter ventral auf dem Sternum auflag. Die Elektroden lagen zu beiden Seiten des Thorax und wurden für eine bessere Übertragung mit Ultraschallgel bedeckt. Die Haut darunter wurde zuvor geschoren. Die Herzfrequenz wurde ermittelt, indem der Mittelwert von 5 aufeinanderfolgenden Messungen während der letzten 30 Sekunden der jeweiligen Stufe gebildet wurde.

Außerdem wurde ein Pulsoximeter^g für die Messung der Sauerstoffsättigung und der Pulsfrequenz direkt vor Belastung, nach Stufe 2, 4 und nach der Belastung und 3 Stunden nach Belastung verwendet. Dazu wurde jeweils der Sensor mit Hilfe eines Clips an der Lefze des Hundes positioniert, die angezeigten Werte notiert und der Sensor anschließend wieder entfernt.

Die Messung der Atemfrequenz erfolgte durch die Adspektion der Thoraxwand vor Belastung, nach Stufe 2, 4 und nach der Belastung sowie 3 Stunden nach Belastung. Wenn die Hunde hechelten, wurde dies vermerkt und die Atemfrequenz wurde nicht ausgezählt.

3.5.2 Blutuntersuchungen

Venöse Blutproben wurden aus der V. saphena lateralis oder V. cephalica antebrachii entnommen. Die Blutproben für die Messung von Blutgasen und Elektrolyten wurden in Glaskapillaren abgenommen und unmittelbar auf Eis gelagert. Innerhalb von 10 Minuten wurden sie dann analysiert^h. Die Blutproben für die Laktatmessung wurden in Blutröhren mit Fluorid Heparin gewonnen und in einem Analysegerät für klinische Chemie^b gemessen.

Die Blutproben für cTnI (Serum) und NT-proBNP (EDTA-Plasma) wurden direkt nach Entnahme auf Eis gelagert, innerhalb von 10 Minuten zentrifugiert, bei -20° C eingefroren,

3. Untersuchungsgut, Material und Methoden

bei -80° C gelagert, bis sie gefroren auf Trockeneis versendet wurden (IDEXX Laboratories, Ludwigsburg, Deutschland). cTnI wurde mittels ultra-sensitivem Chemilumineszenz-Assayⁱ und NT-proBNP mittels Sandwich-ELISA^j gemessen.

3.5.3 Belastungsechokardiographie

Die Hunde der Referenzgruppe und 3 Hunde der Patientengruppe wurden zusätzlich zur echokardiographischen Untersuchung, die bereits zur Einschlussuntersuchung stattfand, direkt vor und direkt nach Belastung sonographisch untersucht. Alle echokardiographischen Untersuchungsgänge führte derselbe, erfahrene Kardiologe durch. Dazu wurde rechtsanliegend das Schlagvolumen nach Teichholz und Simpson ermittelt (TEICHHOLZ et al. 1976; WESS et al. 2010), sowie die maximale Flussgeschwindigkeit in der Aorta gemessen und das Flussprofil in der Arteria pulmonalis (Quotient aus Beschleunigungs- und Ejektionszeit) dargestellt. Nach einer 3-fach-Messung sämtlicher Werte wurde der Mittelwert aus diesen Messungen gebildet.

3.6 Datenanalyse und statistische Auswertung

Je zwei Tests innerhalb der Patienten- und der Referenzgruppe mussten abgebrochen werden. Die Daten der Belastungstests, welche abgebrochen werden mussten, wurden von der weiteren Analyse für alle dem Abbruch folgenden Zeitpunkte ausgeschlossen. Die Herzmarker wurden allerdings auch bei diesen Hunden nach Belastung gemessen und als einzige der Parameter in die Analyse einbezogen.

Für die statistische Datenanalyse wurde das Programm SAS Enterprise Guide^k verwendet.

Die Daten des ersten Tests bzw. deren Residuen wurden mittels Shapiro Wilk Test auf Normalverteilung überprüft und dann als Mittelwert \pm Standardabweichung angegeben.

Die Daten des ersten und zweiten Versuches wurden mit Hilfe des Intraklassen-Korrelationskoeffizienten auf Reproduzierbarkeit überprüft. Es wurde ein gemischtes Modell mit 95 % Konfidenzintervall gewählt und auf absolute Übereinstimmung getestet. Bei einem

3. Untersuchungsgut, Material und Methoden

Wert über 0,7 wurde davon ausgegangen, dass die Werte reproduzierbar waren (SUNI et al. 1996).

Die Unterschiede der Parameter zu den verschiedenen Messzeitpunkten wurden mit einer einseitigen Varianzanalyse (ANOVA) für wiederholte Messungen untersucht und mit Tukey's post-hoc-Test überprüft. Daten, für die nur 2 Messzeitpunkte vorlagen (Herzmarker), wurden mittels gepaartem t-Test getestet. Die statistischen Unterschiede zwischen der gesunden und der Patientengruppe wurde mit einem Zweistichproben-t-Test überprüft. Signifikanz wurde angenommen, wenn der p-Wert $\leq 0,05$ betrug.

4. Ergebnisse / Manuskripte

4.1 Clinical use of submaximal treadmill exercise testing and assessments of cardiac biomarkers NT-proBNP and cTnI in dogs with presymptomatic mitral regurgitation

Das folgende Manuskript wurde beim Journal *PLoS ONE* am 30.05.2018 zur Publikation angenommen (doi: 10.1371/journal.pone.0199023):

Full title: Clinical use of submaximal treadmill exercise testing and assessments of cardiac biomarkers NT-proBNP and cTnI in dogs with presymptomatic mitral regurgitation

Short title: Exercise testing in dogs for cardiological diagnostic

L. Wall¹, A. Mohr¹, F. L. Ripoli¹, N. Schulze¹, C. D. Penter¹, S.O. Hungerbuehler¹, J.-P. Bach¹, Karin Lucas¹, I. Nolte^{1*}

¹Small Animal Clinic, University of Veterinary Medicine Hannover, Foundation, Hannover, Germany

* Corresponding author

E-mail: ingo.nolte@tiho-hannover.de (IN)

Abstract

Exercise intolerance is the first symptom of heart disease. Yet an objective and standardised method in canine cardiology to assess exercise capacity in a clinical setting is lacking. In contrast, exercise testing is a powerful diagnostic tool in humans, providing valuable information on prognosis and impact of therapeutic intervention.

To investigate whether an exercise test reveals differences between dogs with early stage mitral regurgitation (MR) and dogs without cardiac disease, 12 healthy beagles (healthy group, HG) and 12 dogs with presymptomatic MR (CHIEF B1 / B2, patient group, PG) underwent a six-stage submaximal exercise test (ET) on a motorised treadmill. They trotted in their individual comfort speed for three minutes per stage, first without incline, afterwards increasing it by 4 % for every subsequent stage. Blood samples were taken at rest and during two 3-minute breaks in the course of the test. Further samples were taken after the completion of the exercise test and again after a 3-hour recovery period. Measured parameters included heart rate, lactate and the cardiac biomarkers N-terminal pro-B-Type natriuretic peptide and cardiac Troponin I. The test was performed again under the same conditions in the same dogs three weeks after the first trial to evaluate individual repeatability.

Cardiac biomarkers increased significantly in both HG and PG in the course of the test. The increase was more pronounced in CHIEF B1 / B2 dogs than in the HG. N-terminal pro-B-Type natriuretic peptide increased from 435 ± 195 to 523 ± 239 pmol/L (HG) and from 690 to 815 pmol/L (PG). cTnI increased from 0.020 to 0.024 ng/mL (HG) and from 0.06 to 0.08 ng/ml (PG).

The present study provides a method to assess exercise-induced changes in cardiac biomarkers under clinical conditions. The increase of NT-proBNP and cTnI is more pronounced in dogs with

early-stage MR than in healthy dogs. Results indicate that measuring the parameters before and after exercise is adequate and taking blood samples between the different stages of the ET does not provide additional information. Also, stress echocardiography was inconclusive. It can be concluded that exercise testing, especially in combination with measuring cardiac biomarkers, could be a helpful diagnostic tool in canine cardiology.

Introduction

Exercise intolerance as the first symptom of mitral regurgitation (MR) in dogs evolves slowly and progressively and therefore often stays unnoticed until symptoms like coughing occur during exercise [1]. In order to detect these changes as early as possible, submaximal exercise tests (ET) are commonly used in human cardiac patients for the assessment of functional capacity, prognosis, risk stratification and treatment options and for follow up-examinations in patients with heart diseases [2, 3]. Especially in unclear cases, the decision for or against therapeutic intervention is based on results of exercise tests and a post-exercise increase of cardiac biomarkers (CB) is of marked importance for the prognosis [4-7].

Although potentially providing plenty of information, ET are not used routinely in clinical cardiology in dogs. The main reasons for this are the absence of a standardised objective testing method and the fact that dogs vary immensely in regard to size and breed. However, submaximal ET have been used in studies in dogs. Considerable limitations for clinical use have been the implementation of invasive measurement methods [8-10] or the use of an unsuitable treadmill for dogs [11]. A study in canine heart patients lacked a healthy control group and therefore standardisation [12]. For these reasons an objective functional classification of canine heart patients by ET for clinical use is still lacking [1]. This might be

4. Ergebnisse / Manuskripte

why, until now, no study has investigated if exercise tolerance in canine presymptomatic heart disease provides additional information on the prognosis as it does in human patients and could therefore help distinguishing preclinical dogs with MR that might benefit from early medication.

Healthy dogs use their functional reserves in response to exercise by increasing sympathetic activity in combination with a vagotonic decrease. This leads to an increase in cardiac output, which is predominantly dependent on heart rate (HR) [13, 14]. Being chronically activated in heart failure patients, these mechanisms do not function as effective as in healthy dogs, leading to worse adjustment to exercise and thus exercise intolerance [15]. This autonomic balance can be (partially) restored by exercise training as an adjuvant therapy [16, 17]. In human patients, stress echocardiography has been shown to be helpful in clinical decision-making [2]. Parameters include cardiac output [2] and also pulmonary artery pressure as an indicator of dynamic changes in MR [18].

The cardiac biomarkers NT-proBNP and cardiac troponin I (cTnI) are promising parameters for canine cardiology, yet they are mostly used for research purposes, as solid characterisations for the use in a clinical setting are lacking [19, 20]. Resting values are subject to day-to-day variability and are influenced by age or breed and circadian rhythms [21-24].

NT-proBNP and its mature form B-type natriuretic Peptide (BNP) are markers of cardiac wall stress [25]. They can serve as a helpful tool in differentiating healthy dogs from dogs with congestive heart failure [25-27] or congenital heart anomalies [28]. Studies in humans with asymptomatic MR emphasised the importance of exercise-induced increases of BNP, as patients with an elevated exercise BNP were at high risk to experience a cardiac event [5, 7]. Previously it has been shown that the length of the regurgitant jet is less important than the

4. Ergebnisse / Manuskripte

hemodynamic consequences [29]. As these can differ during exercise and rest [4], findings from echocardiography at rest might be supplemented by post-exercise NT-proBNP values. Furthermore, exercise training leads to a decrease of baseline NT-proBNP values in dogs with MR of different stages [17].

Usually indicating myocardial damage [30], cTnI also increases after endurance exercise [31-33] and does so even more, when dogs with heart failure undergo ET [34]. In addition to this, a study in humans found a higher increase of cTnI after exercise in patients with moderate heart failure compared to healthy individuals and patients with mild heart failure [6]. Reason for elevated post-exercise cTnI levels are leakages in the cell membrane of the cardiomyocytes due to strain because of an increased cardiac output [35, 36].

As patient classification in canine cardiology is based solely on results of clinical examinations at rest, it remains unknown whether ET in dogs with presymptomatic MR is suitable to detect early onset of exercise intolerance and might therefore provide additional information on the patient's current status and the prognosis. Thus, the purpose of the present study is to investigate if results of a submaximal ET in dogs with presymptomatic MR differ from a healthy control group with particular focus on the exercise-induced changes in the cardiac biomarkers cTnI and NT-proBNP.

Materials and Methods

This study was approved by an institutional ethics commission (Lower Saxony State Office for Consumer Protection and Food Safety; 33.9-42502-05-14A484).

Animal selection

All dogs underwent physical examination, blood count and serum biochemical analysis, urinalysis, electrocardiogram and echocardiography. The dogs were included if there was no evidence of a systemic or orthopaedic disease which could affect exercise performance on the treadmill or influence biomarker concentration (e.g. lameness, renal or respiratory diseases). Further inclusion criteria were absence of any history of cardiac symptoms or medication.

Twelve healthy beagle dogs aged 3 ± 2 (mean \pm SD) years served as a healthy control group (HG). The dogs weighed 13 ± 3 kg and had a body condition score of 4 - 7. The group consisted of 3 neutered females, 5 intact and 4 neutered males. The beagles were obtained from university institutes or from a breeder for use in research (Envigo, formerly Harlan Laboratories, Gannat, France; University of Veterinary Medicine, Hannover, foundation, Hannover, Germany). The dogs were raised in the clinic for small animals at the University of Veterinary Medicine, Hannover, foundation. They lived in pens in groups of a maximum of 6 dogs with daily access to a separate open-air area. They were fed commercial dry food for adult dogs twice daily according to the manufacturer's instructions and had unlimited access to water.

Twelve dogs of various breeds with a typical heart murmur of at least grade 1/6 over the mitral valve area (patient group, PG) were also enrolled in this study (Table 1). Owners had given informed consent to participate in the study. The dogs were 9.5 ± 3 years of age (significantly older than the HG), weighed 18 ± 9 kg and had a body condition score of 4 - 7.

Table 1: Breed, age, sex and weight of dogs enrolled in the patient group

Patient no.	Breed	Age (years)	Sex	Weight (kg)
1*	Beagle	8	SF	19
2 #	Beagle	12	F	14.8
3*	Beagle	8	NM	13.6
4*	Beagle	5	NM	18.3
5*	Mixed-breed	6	SF	7.6
6*	West Highland White Terrier	11	F	9.0
7*	Weimaraner	10	NM	32.2
8*	Jack-Russel	12	SF	8.7
9*	Mixed-breed	15	M	11.5
10#	Galgo Español	9	SF	19.1
11*	Golden Retriever	8	M	28.7
12*	Golden Retriever	8	SF	34.5

*CHIEF B1, # CHIEF B2, F: female, M: male, NM: neutered male, SF: spayed female

Echocardiographic measurements

Every dog was examined by an experienced cardiologic investigator using an ultrasound system (Vivid E9, GE Healthcare, Solingen / Germany; right and left lateral recumbency, 2-dimensional, M-mode and Doppler examination).

4. Ergebnisse / Manuskripte

The HG and 3 dogs of the PG additionally underwent stress echocardiography. They were positioned in right lateral recumbency for image acquisition. Stroke volume was calculated according to Teichholz and the Simpson method of disks [37, 38]. Further parameters included maximal aortic blood flow velocity and blood flow in the pulmonary artery (ratio of the acceleration time to ejection time). All echocardiographic examinations were performed directly before and after exercise by the same investigator (S. O. Hungerbuehler). All values were measured 3 times and were averaged.

Treadmill test

The exercise test consisted of a 6-stage protocol on a motorised treadmill (“quasar”, h/p/cosmos sports and medical GmbH, Nussdorf-Traunstein / Germany) with a duration of three minutes per stage, starting with 0 % incline, increasing by 4 % at each stage. The stages and measurements are summarised in Table 2.

Table 2: Stages of the exercise test and measurements. Time points at which measurements were performed are marked with an “X”

Stage (incline) / Parameter	Prior to exercise	1 (0 %)	2# (4 %)	3 (8 %)	4# (12 %)	5 (16 %)	6 (20 %)	Recovery
NT-proBNP	X						X	
cTnI	X							X
Heart Rate	X	X	X	X	X	X	X	X
Lactate	X		X		X		X	X
Bicarbonate	X		X		X		X	X
pH value	X		X		X		X	X

X: the measurement was performed at that time point

#: blood samples were collected during a 3-minute break at the end of the stage

NT-proBNP: N-terminal pro-B-Type natriuretic peptide

cTnI: cardiac troponin I

4. Ergebnisse / Manuskripte

Each dog trotted at its individual comfort speed, which was defined as the speed at which the dogs trotted freely in a steady and clear 2-beat movement without trying to brake or accelerate for at least 30 seconds. This speed was used in all treadmill examinations. To ensure a minimal workload, heart rate (HR) at stage 2 had to exceed 150 beats per minute (bpm) or be raised by 40% compared to values obtained at rest. To ensure that the exercise remained submaximal, the maximal HR was 240 bpm [2, 9]. In case of an individual's HR exceeding this, the ET would have been cancelled. During the exercise protocol, each dog received a maximum of 50 g of food for motivation.

The dogs were familiarised with the treadmill prior to the first trial. The duration of each session was less than 10 minutes including multiple breaks. All dogs rested for at least 15 minutes before venous blood samples for baseline measurements were taken.

Room temperature was kept between 21 and 23 °C during all ETs to ensure the same ambient conditions. Each dog from the HG and 9 dogs from the PG underwent the ET with the same individual speed twice at an interval of 3 weeks to verify the repeatability of the measured parameters. Due to various outliers in the first trial, one dog of the HG was retested 8 weeks after the second trial and the first trial's results were discarded. Another dog of the HG was playing intensively with other dogs in the pen shortly before samples were taken at recovery, so the data for that time point were also excluded from analysis for that day.

Measurements

Blood was collected from the vena saphena or vena cephalica antebrachii. RF was determined by counting the number of chest rises at rest, after stages 2, 4, after the end of the ET and at recovery. In case of panting, values were not recorded. HR was measured constantly by a Polar® heart rate monitor with an electrode belt (Polar FT7N and Polar H1, Polar Electro GmbH Deutschland). It was obtained by averaging 5 consecutive values that were recorded during the last 30 seconds of each stage of exercise (during trotting) and at rest directly before the ET.

Blood samples for oxygen and carbon dioxide partial pressure (PO_2 and PCO_2) analysis and acid-base status (pH and bicarbonate) were taken anaerobically and stored on ice until analysis took place within a 10 minute timespan (Rapidlab 1260, Siemens Healthcare Diagnostics GmbH, Eschborn / Germany). Samples for lactate assessment were inserted into tubes containing fluorid heparine and measured immediately in a clinical chemistry analyser (Cobas c 311 Analyser, Roche Diagnostics, Mannheim / Germany). Because cTnI has been reported to reach peak serum levels hours after a cardiac event [34, 39], it was measured before and 3 hours after the ET. Samples for cTnI and NT-proBNP were stored on ice within seconds after extraction. After subsequent centrifugation within a 10 minute timespan, the serum (cTnI) or EDTA plasma (NT-proBNP) respectively was frozen at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ before being transferred into a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ freezer until shipment on dry ice to the laboratory (IDEXX Laboratories, Ludwigsburg / Germany) took place. cTnI was measured by an ultra sensitive chemiluminescence assay and NT-proBNP by ELISA.

Statistical procedures

The number of animals to be used was calculated by a power analysis based on the following assumptions: likelihood of type I error: 0.05, likelihood of type II error: 0.2, biologically relevant difference in cTnI: 0.15, variance of effect size 0.01, power 0.8.

4. Ergebnisse / Manuskripte

The data of cancelled ETs (n = 2 each in the HG and PG) were excluded from analysis for the time points after termination (except for cTnI and NT-proBNP). The data of the first trial are presented as mean \pm standard deviation. The data or their residuals, respectively, were tested for normal distribution by a Shapiro-Wilk test.

The values obtained on the first and second trial were compared using the intraclass correlation coefficient (ICC) with a 95 % confidence interval (mixed model, absolute agreement). An ICC > 0.7 indicated repeatability of the data [40].

Differences in the measured parameters were analysed using a one-way repeated measures analysis of variance (ANOVA) with Tukey's honestly significant difference post hoc test. For parameters with only 2 time points (NT-proBNP and cTnI), a paired t-test was used. Values from the HG were compared with the values from the PG using a 2-sample t-test. Results were regarded as significant, if the P-value was ≤ 0.05 .

Results

The submaximal ET was easy to perform and every dog was willing to run on the treadmill. All 24 dogs underwent the ET at a speed of 4.2 to 8 km/h and none of the ET had to be terminated due to an excessive increase of HR. Each dog showed increases of HR above 150 bpm or raised their resting HR by at least 40% at stage 2, indicating that the criteria for a minimum workload were met. One dog from the HG and 2 dogs from the PG refused to exercise further than stage 5 in both trials. With another dog from the HG, the test had to be stopped due to technical difficulties at stage 5 in the first trial.

Significant differences between healthy and CHIEF B1 / B2 dogs were apparent in CB and in some other parameters (see below) but not at every level of exercise.

4. Ergebnisse / Manuskripte

In Table 3 the ICC values are listed. Although the ICC did not exceed 0.7 at every time point, significant differences between distinct time points were found on both trials. The ET yielded workload-dependent alterations in the parameters NT-proBNP, cTnI, HR, lactate, bicarbonate and pH.

Table 3: Intraclass correlation coefficient of the variables between the first and the second trial at different exercise stages during graded treadmill exercise

Stage / Parameter		Prior to exercise	Stage 2	Stage 4	After exercise	Recovery
NT-proBNP	HG	0.85	-	-	0.90	-
	PG	0.92	-	-	0.95	-
cTnI	HG	0.55	-	-	-	0.60
	PG	0.99	-	-	-	0.94
Lactate	HG	<0.50	0.54	0.75	<0.50	<0.50
	PG	0.89	0.82	0.89	0.96	0.79
Bicarbonate	HG	<0.50	0.59	0.72	0.63	<0.50
	PG	0.8	0.65	0.78	<0.50	<0.50
pH	HG	<0.50	<0.50	<0.50	0.77	<0.50
	PG	<0.50	0.84	0.9	0.92	0.89

- indicates the value was not measured at that stage; values ≥ 0.7 are highlighted in bold

HG: Healthy group, PG: Patient group, pH: potential of hydrogen, cTnI: cardiac troponin I; NT-proBNP: N-terminal pro B-type natriuretic peptide

Cardiac biomarkers

NT-proBNP increased by 124 pmol/l ($P \leq 0.01$) after exercise in the PG (Table 4), which was more pronounced than in the HG (increase by 88 pmol/l), but not statistically significant. Baseline values for NT-proBNP were significantly higher in PG than in HG (690 vs. 435 pmol/l, $P \leq 0.05$).

Table 4: Means and SD of the variables at different stages during graded treadmill exercise in healthy and CHIEF B1 / B2 dogs

Parameter	Group	Prior to exercise	Stage 2	Stage 4	After exercise	Recovery
NT-proBNP (pmol/l)	HG	*435 ± 195	-	-	523 ± 239	-
	PG	*690 ± 345	-	-	815 ± 417	-
cTnI (ng/ml)	HG	*0.02 ± 0.01	-	-	-	*0.024 ± 0.01
	PG	*0.06 ± 0.06	-	-	-	*0.08 ± 0.06
Lactate (mg/dl)	HG	9.78 ± 2.6	8.3 ± 2.3	10.13 ± 4.44	11.5 ± 3.5 (n=10)	*9.5 ± 1.8 (n=10)
	PG	12.2 ± 4.7	9.8 ± 4.8	14.0 ± 6.7	14.43 ± 9.8 (n=10)	*14.33 ± 4.9 (n=10)
Bicarbonate (mmol/l)	HG	*21.0 ± 1.3	22.2 ± 2.2	21. ± 1.9	*19.7 ± 1.8 (n=10)	22.3 ± 2.0 (n=10)
	PG	*22.7 ± 1.8	23.29 ± 2.3	21.9 ± 1.5	*20.7 ± 1.2 (n=10)	22.7 ± 2.1 (n=10)
pH	HG	7.40 ± 0.02	7.40 ± 0.03	7.41 ± 0.03	7.47 ± 0.05 (n=10)	7.37 ± 0.03 (n=10)
	PG	7.41 ± 0.04	7.42 ± 0.05	7.43 ± 0.04	7.46 ± 0.03 (n=10)	7.39 ± 0.04 (n=10)

pH: potential of hydrogen; cTnI: cardiac troponin I; HG: healthy group (n=12); NT-proBNP: N-terminal pro B-type natriuretic peptide; PG: patient group (n=12)

4. Ergebnisse / Manuskripte

* indicates a significant difference between HG and PG at that stage, n is indicated in brackets if there were less than 12 dogs from which samples were available at that stage

cTnI increased by 0.004 ng/ml (HG, $P \leq 0.05$) and 0.02 ng/ml (PG, $P \leq 0.001$). Values were higher in PG than HG at rest (0.06 vs 0.02 ng/ml, $P \leq 0.05$) and at recovery (0.08 vs 0.02 ng/ml, $P \leq 0.05$) and the increase of cTnI was more pronounced in the PG ($P \leq 0.05$).

Pre and post-exercise values of NT-proBNP showed excellent repeatability in both groups. cTnI in the PG also yielded a high ICC. Also the quotient of recovery to resting values of cTnI in the HG was 0.69 when all the data were analysed and 0.8 when data from the 2 dogs that did not undergo the whole ET were excluded.

Heart Rate

HR was significantly ($p \leq 0.001$) higher at any level of exercise than at rest (Table 5) and yielded predominantly repeatable results. Mean HR did not differ between the HG and PG at the different levels of exercise and also relative increase of HR to resting values did not differ between the groups.

Table 5: Heart rate (mean \pm SD) on different levels of exercise

Group / Stage	Prior to exercise	Stage 1	Stage 2	Stage 3	Stage 4	Stage 5	Stage 6
HG	119 \pm 27	166 \pm 19	169 \pm 21	179 \pm 17	182 \pm 29	187 \pm 19	192 \pm 26
PG	117 \pm 26	166 \pm 18	168 \pm 21	171 \pm 20	181 \pm 22	186 \pm 20	190 \pm 26

HG: Healthy group, PG: Patient group

Lactate

Initially lactate decreased but further workload led to an increase (Table 4). After the 3-hour recovery period it was significantly higher in the PG than HG (14.33 ± 4.9 vs 9.5 ± 1.8 mg/dl, $P \leq 0.05$) but was not significantly different during the exercise protocol.

Acid-Base-Status

Values for pH barely changed during the ET (Table 4) but showed a significant ($P < 0.001$) difference between resting values and values after exercise. No significant difference between HG and PG was found.

Bicarbonate showed an initial increase and then decreased with further workload. It was significantly higher in PG than in HG before (22.7 vs. 21.0 mmol/l) and after exercise (22.7 vs. 22.3 mmol/l).

Respiratory frequency and blood gases

Due to panting in response to exercise, the respiratory frequency did not reveal any relevant information. Blood gases were measured from venous blood samples, therefore showed a great variation.

Echocardiography

The HG showed no evidence of heart disease in the sonographic examination.

MR in the PG was confirmed by colour Doppler echocardiography, indicated by a regurgitant jet during systole at the mitral valve. Two of the 12 dogs in the PG were classified as CHIEF B2 and the remaining 10 dogs were staged CHIEF B1 based on the results of echocardiography [1]. Values of the parameters obtained during stress echocardiography were not repeatable and yielded no significant result, as exercise HR decreased too rapidly while dogs were placed on the examination table. However, faster assessment of the parameters was not possible.

Discussion

The submaximal ET investigated in the present study introduces a method for assessing the physiological reaction of selected cardiovascular parameters under predefined exercise conditions in healthy dogs and dogs with presymptomatic MR (CHIEF B1 / B2). It yielded workload-dependent alterations in the parameters lactate, bicarbonate, HR, pH, cTnI and NT-proBNP and can be performed in a clinical setting. The most promising results include assessment of cardiac biomarkers.

Measuring the parameters at different stages of exercise revealed that significant changes occur predominantly between resting values and values after the last stage of the ET. They showed better repeatability than those values, which were measured during the exercise protocol. Therefore it can be concluded, that it is reasonable to abandon blood sample collection between stages and instead measure blood parameters before and after exercise only. However, it is

4. Ergebnisse / Manuskripte

important to observe HR continuously to register values above a submaximal level and ensure a minimal workload.

Although CB concentration can be influenced by age, this can be due to decreased renal function [41] that might occur in older individuals [42]. In order to ensure renal health in the study population, biochemical analysis and urinalysis were performed in every dog and all measurements were within the reference range. Serum BNP concentration did not correlate with age in German Shepherd dogs [43] and a study in humans found neither age nor body mass index to be correlated with exercise-induced increases in BNP [44]. A recent study showed that cTnI elevates in young people after (half-) marathon running, whereas older individuals did not show alterations [45]. Consequently, the increase in CB that was observed in the present study is more likely due to the heart disease than other differences among study populations. Still, the effect of age should be assessed in further studies and as the HG consisted of younger dogs than the PG, this is a limitation of this study.

NT-proBNP concentrations vary immensely between breeds and also show a great intrabreed variation [19, 23]. The same is not true for cTnI levels [46]. In the present study, whereas the HG consisted of Beagle dogs, there were dogs of different breeds enrolled in the PG, which should be pointed out as another limitation of the study. Due to a small sample size, it was not possible to assess the impact of the breed on the results. Although this should be considered, we expect the strain of the exercise to be the predominant effect on exercise CB levels.

Blood sampling has to be performed twice for assessment of resting and exercise CB, but the results of this study indicate, that the diagnostic benefit of the procedure justifies the additional effort. The baseline measurement can also serve as a control value for future examinations. Testing resting values has become an important aspect of daily clinical cardiology in small animal patients and increased CB levels can indicate a variety of diseases of cardiac- or non-

4. Ergebnisse / Manuskripte

cardiac cause. Still, it has been shown, that resting values of NT-proBNP vary between different breeds and also within an individual [47]. Also, baseline values decrease with initiation of exercise training [16, 17]. For these reasons, assessing post-exercise NT-proBNP could gain similar important diagnostic and prognostic value as in human cardiac patients [5, 7].

To the best of our knowledge, this is the first study that demonstrates the impact of MR on differences in CB serum concentrations after submaximal exercise by directly comparing the post-exercise values of healthy dogs to patients with presymptomatic MR. Significant mild increases of cTnI have already been reported in healthy dogs after sled races [31-33], where workload was a lot higher than in the submaximal exercise protocol. A slightly increased exercise cTnI was found in dogs with heart failure (CHIEF C) that underwent submaximal ET [34]. While samples were drawn 3 h post exercise in the present study, Ferasin et al. (2007) measured cTnI immediately after exercise. However, it has been demonstrated that serum cTnI peaks a few hours after a cardiac event like myocardial damage, exercise etc [39]. This is why NT-proBNP might be a parameter that is more feasible for the ET in a clinical setting.

Results in the PG showed a better repeatability for every parameter than in the HG, which might be due to a decreased metabolic flexibility that has been shown for older men [48], because dogs in the PG were significantly older.

Lactate accumulation tended to be increased in the PG compared to the HG, but a significant difference was only found 3 hours after exercise. A study showed that acute congestive heart failure leads to increased baseline lactate levels in dogs and cats [49]. Clearly, the dogs in the present study were in a preclinical stage of their cardiac disease and besides cardiovascular diseases, aging also lowers cardiac output and maximal oxygen consumption [50, 51]. As muscle capillarity also decreases with age, oxidative capacities might not be as high as in

4. Ergebnisse / Manuskripte

younger individuals, leading to an increased lactate accumulation, which has already been demonstrated in older rats [52].

Performing stress echocardiography was not successful in our study. The main reason for this is most likely the delay between ET and image acquisition, which occurred while the dog was taken from the treadmill to the sonography table and prepared for sonography, because HR decreased rapidly in this time. Other studies implemented a dobutamine infusion for cardiac stress testing [43, 53], but as side effects can occur, this method is not applicable as diagnostic procedure in canine clinical cardiology.

During exercise, the cardiac output is increased predominantly by an increase in HR, which is the only parameter that can be easily monitored telemetrically and indicates the strain of the exercise on the dog [13]. Measurement is therefore mandatory in canine exercise testing, although no differences were found between the groups. So far, an impairment in HR adjustment was found in (human) patients in heart failure [15]. Therefore, a significant difference might be present in dogs in a more advanced stage of heart disease than the PG in the present study. According to exercise tests in humans, 85 % of the maximal HR should not be exceeded in submaximal protocols [2], therefore the calculation was based on the findings of different studies, which reported a maximal HR of 280 bpm in dogs [9].

Therapeutic intervention using vasoactive medication in dogs with presymptomatic MR (stage CHIEF B1 / B2) is controversially discussed [54, 55]. A recent study demonstrated beneficial effects of Pimobendan in CHIEF B2 dogs [56] and the preclinical phase in dilated cardiomyopathy was prolonged in Dobermann Pinschers [57]. This suggests that early intervention can prolong the presymptomatic phase, but so far it is not possible to predict the timespan of the onset of heart failure. It might be a promising approach to identify individuals among dogs with presymptomatic MR that already show exercise intolerance by ET or

4. Ergebnisse / Manuskripte

elevated exercise CB concentrations, as suggested in human studies: whereas resting values of NT-proBNP were not suitable to differentiate individuals at higher risk, increased post-exercise NT-proBNP was of prognostic value [5, 7].

Owners see quality of life as an even more important factor than survival time, and therefore, improvement of quality of life is an important goal to be reached by therapeutic intervention [58]. As quality of life is also dependent on exercise performance, an ET could also provide valuable information on how the impact of cardiac medication can be evaluated, for instance if exercise-induced increase of CB can be reduced and if it improves or at least maintains exercise tolerance in dogs with presymptomatic MR (CHIEF B1). Also, it could be used as an improved and objective method to monitor the efficacy of a training program on exercise tolerance, which have been used as an adjunctive therapy to cardiac medication [16, 17].

Measuring the parameters before and after exercise is adequate and blood sampling between the other stages did not provide any additional information in our study. However, continuous HR measurement is obligatory. Parameters, that provide the most promising results include CB. cTnI differentiated better between the HG and PG, but NT-proBNP has been shown to be helpful in human patients in long-term investigations [5, 7], therefore both biomarkers should be measured in further studies.

Limitations of the present study include differences of breed, housing and age between the groups, although the exercise-induced increase of CB might not have been affected by these factors, contrary to the baseline values.

The present study is the first approach to assess several parameters of cardiac health in a submaximal ET on a treadmill comparing healthy and dogs with presymptomatic cardiac disease. It can be easily performed in a clinical setting and can also serve as a basis for further studies, especially for observations of therapeutic interventions. Results showed an exercise-induced,

significant increase of CB NT-proBNP and cTnI in dogs with early-stage MR, which is more pronounced than in healthy dogs. Though further studies are necessary to assess the impact of age and breed on the results and also to determine corresponding reference values, the submaximal ET presented in this study seems suitable as a new tool in canine clinical cardiology. It could provide additional value regarding prognosis and therapy as exercise tests have shown to do in human patients [2-4].

Acknowledgements

The authors would like to thank Dr. Rohn from the University of Veterinary Medicine Hannover, Foundation for the help with the statistical analysis.

References

1. Atkins C, Bonagura J, Ettinger S, Fox P, Gordon S, Haggstrom J, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of canine chronic valvular heart disease. *J Vet Intern Med.* 2009 Nov-Dec;23(6):1142-50.
2. Henri C, Pierard LA, Lancellotti P, Mongeon FP, Pibarot P, Basmadjian AJ. Exercise testing and stress imaging in valvular heart disease. *Can J Cardiol.* 2014 Sep;30(9):1012-26.
3. Miller TD, Askew JW, Anavekar NS. Noninvasive stress testing for coronary artery disease. *Cardiol Clin.* 2014 Aug;32(3):387-404.
4. Picano E, Pibarot P, Lancellotti P, Monin JL, Bonow RO. The emerging role of exercise testing and stress echocardiography in valvular heart disease. *J Am Coll Cardiol.* 2009 Dec 8;54(24):2251-60.
5. Sinha SK, Garg S, Thakur R, Krishna V, Singh K, Sachan M, et al. Prognostic Importance of Exercise Brain Natriuretic Peptide in Asymptomatic Chronic Organic Severe Mitral Regurgitation: An Observational Study. *J Clin Med Res.* 2016 Nov;8(11):797-804.PMCID: PMC5047018.
6. Schulz O, Kromer A. Cardiac troponin I: a potential marker of exercise intolerance in patients with moderate heart failure. *Am Heart J.* 2002 Aug;144(2):351-8.

4. Ergebnisse / Manuskripte

7. Magne J, Mahjoub H, Pibarot P, Pirlet C, Pierard LA, Lancellotti P. Prognostic importance of exercise brain natriuretic peptide in asymptomatic degenerative mitral regurgitation. *Eur J Heart Fail.* 2012 Nov;14(11):1293-302.
8. Tipton CM, Carey RA, Eastin WC, Erickson HH. A submaximal test for dogs: evaluation of effects of training, detraining, and cage confinement. *J Appl Physiol.* 1974 Aug;37(2):271-5.
9. Ordway GA, Floyd DL, Longhurst JC, Mitchell JH. Oxygen consumption and hemodynamic responses during graded treadmill exercise in the dog. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol.* 1984 Aug;57(2):601-7.
10. Musch TI, Friedman DB, Haidet GC, Stray-Gundersen J, Waldrop TG, Ordway GA. Arterial blood gases and acid-base status of dogs during graded dynamic exercise. *J Appl Physiol.* 1986 Nov;61(5):1914-9.
11. Kittleson MD, Johnson LE, Pion PD. Submaximal exercise testing using lactate threshold and venous oxygen tension as endpoints in normal dogs and in dogs with heart failure. *J Vet Intern Med.* 1996 Jan-Feb;10(1):21-7.
12. Ferasin L, Marcora S. Reliability of an incremental exercise test to evaluate acute blood lactate, heart rate and body temperature responses in Labrador retrievers. *J Comp Physiol B.* 2009 Oct;179(7):839-45.
13. Rimoldi O, Pagani M, Pagani MR, Baselli G, Malliani A. Sympathetic activation during treadmill exercise in the conscious dog: assessment with spectral analysis of heart period and systolic pressure variabilities. *J Auton Nerv Syst.* 1990 Jul;30 Suppl:129-32.
14. Vatner SF, Pagani M. Cardiovascular adjustments to exercise: hemodynamics and mechanisms. *Prog Cardiovasc Dis.* 1976 Sep-Oct;19(2):91-108.
15. Triposkiadis F, Karayannis G, Giamouzis G, Skoularigis J, Louridas G, Butler J. The sympathetic nervous system in heart failure physiology, pathophysiology, and clinical implications. *J Am Coll Cardiol.* 2009 Nov 3;54(19):1747-62.
16. Valandro M, Pascon J, Pereira D, Mistieri M. Exercise training of dogs with myxomatous valve disease. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.* 2017;69(2):325-32.
17. Marcondes-Santos M, Mansur AP, Fragata FS, Strunz CM. Short-term follow-up of exercise training program and beta-blocker treatment on quality of life in dogs with naturally acquired chronic mitral valve disease. *Braz J Med Biol Res.* 2015 Oct;48(10):886-94.PMCID: PMC4617114.
18. Lebrun F, Lancellotti P, Pierard LA. Quantitation of functional mitral regurgitation during bicycle exercise in patients with heart failure. *J Am Coll Cardiol.* 2001 Nov 15;38(6):1685-92.
19. de Lima GV, Ferreira FDS. N-terminal-pro brain natriuretic peptides in dogs and cats: A technical and clinical review. *Vet World.* 2017 Sep;10(9):1072-82.PMCID: PMC5639106.
20. Oyama MA. Using cardiac biomarkers in veterinary practice. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2013 Nov;43(6):1261-72.
21. Oyama MA, Sisson DD. Cardiac troponin-I concentration in dogs with cardiac disease. *J Vet Intern Med.* 2004 Nov-Dec;18(6):831-9.
22. Serra M, Papakonstantinou S, Adamcova M, O'Brien PJ. Veterinary and toxicological applications for the detection of cardiac injury using cardiac troponin. *Vet J.* 2010 Jul;185(1):50-7.
23. Sjostrand K, Wess G, Ljungvall I, Haggstrom J, Merveille AC, Wiberg M, et al. Breed differences in natriuretic peptides in healthy dogs. *J Vet Intern Med.* 2014 Mar-Apr;28(2):451-7.PMCID: PMC4857989.

4. Ergebnisse / Manuskripte

24. Herichova I, Ambrusova J, Molcan L, Vesela A, Svitok P, Zeman M. Different effects of phase advance and delay in rotating light-dark regimens on clock and natriuretic peptide gene expression in the rat heart. *Physiol Res.* 2014;63 Suppl 4:S573-84.
25. Asano K, Masuda K, Okumura M, Kadosawa T, Fujinaga T. Plasma atrial and brain natriuretic peptide levels in dogs with congestive heart failure. *J Vet Med Sci.* 1999 May;61(5):523-9.
26. Wolf J, Gerlach N, Weber K, Klima A, Wess G. The diagnostic relevance of NT-proBNP and proANP 31-67 measurements in staging of myxomatous mitral valve disease in dogs. *Vet Clin Pathol.* 2013 Jun;42(2):196-206.
27. Oyama MA, Fox PR, Rush JE, Rozanski EA, Lesser M. Clinical utility of serum N-terminal pro-B-type natriuretic peptide concentration for identifying cardiac disease in dogs and assessing disease severity. *J Am Vet Med Assoc.* 2008 May 15;232(10):1496-503.
28. Marinus SM, van Engelen H, Szatmari V. N-Terminal Pro-B-Type Natriuretic Peptide and Phonocardiography in Differentiating Innocent Cardiac Murmurs from Congenital Cardiac Anomalies in Asymptomatic Puppies. *J Vet Intern Med.* 2017 May;31(3):661-7.PMCID: PMC5435073.
29. Bergler-Klein J, Gyongyosi M, Maurer G. The Role of Biomarkers in Valvular Heart Disease: Focus on Natriuretic Peptides. *Can J Cardiol.* 2014 Sep;30(9):1027-34.
30. Burgener IA, Kovacevic A, Mauldin GN, Lombard CW. Cardiac troponins as indicators of acute myocardial damage in dogs. *J Vet Intern Med.* 2006 Mar-Apr;20(2):277-83.
31. McKenzie EC, Jose-Cunilleras E, Hinchcliff KW, Holbrook TC, Royer C, Payton ME, et al. Serum chemistry alterations in Alaskan sled dogs during five successive days of prolonged endurance exercise. *J Am Vet Med Assoc.* 2007 May 15;230(10):1486-92.
32. Tharwat M, Al-Sobayil F, Buczinski S. Influence of racing on the serum concentrations of the cardiac biomarkers troponin I and creatine kinase myocardial band (CK-MB) in racing greyhounds. *Vet J.* 2013 Sep;197(3):900-2.
33. Wakshlag JJ, Kraus MS, Gelzer AR, Downey RL, Vacchani P. The influence of high-intensity moderate duration exercise on cardiac troponin I and C-reactive protein in sled dogs. *J Vet Intern Med.* 2010 Nov-Dec;24(6):1388-92.
34. Ferasin L, Marcora S. A pilot study to assess the feasibility of a submaximal exercise test to measure individual response to cardiac medication in dogs with acquired heart failure. *Vet Res Commun.* 2007 Aug;31(6):725-37.
35. Shave R, Baggish A, George K, Wood M, Scharhag J, Whyte G, et al. Exercise-induced cardiac troponin elevation: evidence, mechanisms, and implications. *J Am Coll Cardiol.* 2010 Jul 13;56(3):169-76.
36. Nie J, George K, Duan F, Tong TK, Tian Y. Histological evidence for reversible cardiomyocyte changes and serum cardiac troponin T elevation after exercise in rats. *Physiol Rep.* 2016 Dec;4(24).PMCID: PMC5210385.
37. Wess G, Maurer J, Simak J, Hartmann K. Use of Simpson's method of disc to detect early echocardiographic changes in Doberman Pinschers with dilated cardiomyopathy. *J Vet Intern Med.* 2010 Sep-Oct;24(5):1069-76.
38. Teichholz LE, Kreulen T, Herman MV, Gorlin R. Problems in echocardiographic volume determinations: echocardiographic-angiographic correlations in the presence of absence of asynergy. *Am J Cardiol.* 1976 Jan;37(1):7-11.
39. Lucia P, Coppola A, Manetti LL, Sebastiani ML, Colliardo A, Cerroni F, et al. Cardiac troponin I in acute coronary ischemic syndromes. Epidemiological and clinical correlates. *Int J Cardiol.* 2001 Feb;77(2-3):215-22.

4. Ergebnisse / Manuskripte

40. Suni JH, Oja P, Laukkanen RT, Miilunpalo SI, Pasanen ME, Vuori IM, et al. Health-related fitness test battery for adults: aspects of reliability. *Arch Phys Med Rehabil.* 1996 Apr;77(4):399-405.
41. Porciello F, Rishniw M, Herndon WE, Biretoni F, Antognoni MT, Simpson KW. Cardiac troponin I is elevated in dogs and cats with azotaemia renal failure and in dogs with non-cardiac systemic disease. *Aust Vet J.* 2008 Oct;86(10):390-4.
42. Cianciolo RE, Benali SL, Aresu L. Aging in the Canine Kidney. *Vet Pathol.* 2016 Mar;53(2):299-308.
43. Spasojevic Kosic L, Trailovic DR, Matunovic R. Resting and dobutamine stress test induced serum concentrations of brain natriuretic peptide in German Shepherd dogs. *Res Vet Sci.* 2012 Dec;93(3):1446-53.
44. Krupicka J, Janota T, Kasalova Z, Hradec J. Effect of short-term maximal exercise on BNP plasma levels in healthy individuals. *Physiol Res.* 2010;59(4):625-8.
45. Niemela M, Kangastupa P, Niemela O, Bloigu R, Juvonen T. Individual responses in biomarkers of health after marathon and half-marathon running: is age a factor in troponin changes? *Scand J Clin Lab Invest.* 2016 Nov;76(7):575-80.
46. Fonfara S, Loureiro J, Swift S, James R, Cripps P, Dukes-McEwan J. Cardiac troponin I as a marker for severity and prognosis of cardiac disease in dogs. *Vet J.* 2010 Jun;184(3):334-9.
47. Kelliham HB, Oyama MA, Reynolds CA, Stepien RL. Weekly variability of plasma and serum NT-proBNP measurements in normal dogs. *J Vet Cardiol.* 2009 May;11 Suppl 1:93-7.
48. Consitt LA, Saxena G, Saneda A, Houmard JA. Age-related impairments in skeletal muscle PDH phosphorylation and plasma lactate are indicative of metabolic inflexibility and the effects of exercise training. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2016 Jul 01;311(1):E145-56.PMCID: PMC4967149.
49. Goutal CM, Keir I, Kenney S, Rush JE, Freeman LM. Evaluation of acute congestive heart failure in dogs and cats: 145 cases (2007-2008). *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio).* 2010 Jun;20(3):330-7.
50. Haidet GC. Dynamic exercise in senescent beagles: oxygen consumption and hemodynamic responses. *Am J Physiol.* 1989 Nov;257(5 Pt 2):1428-37.
51. Tanaka H, Seals DR. Endurance exercise performance in Masters athletes: age-associated changes and underlying physiological mechanisms. *J Physiol.* 2008 Jan 01;586(1):55-63.PMCID: PMC2375571.
52. Cartee GD. Aging skeletal muscle: response to exercise. *Exerc Sport Sci Rev.* 1994;22:91-120.
53. McEntee K, Amory H, Clercx C, Soyeur D, Michaux C, Vanhaeverbeek O, et al. Physiologic response to dobutamine infusion during cardiac stress testing of dogs. *Am J Vet Res.* 1998 Sep;59(9):1160-5.
54. Kvart C, Haggstrom J, Pedersen HD, Hansson K, Eriksson A, Jarvinen AK, et al. Efficacy of enalapril for prevention of congestive heart failure in dogs with myxomatous valve disease and asymptomatic mitral regurgitation. *J Vet Intern Med.* 2002 Jan-Feb;16(1):80-8.
55. Atkins C, Keene BW, Brown WA, Coats JR, Crawford MA, DeFrancesco TC, et al. Results of the veterinary enalapril trial to prove reduction in onset of heart failure in dogs chronically treated with enalapril alone for compensated, naturally occurring mitral valve insufficiency. *J Am Vet Med Assoc.* 2007 Oct 1;231(7):1061-9.
56. Boswood A, Haggstrom J, Gordon SG, Wess G, Stepien RL, Oyama MA, et al. Effect of Pimobendan in Dogs with Preclinical Myxomatous Mitral Valve Disease and

4. Ergebnisse / Manuskripte

- Cardiomegaly: The EPIC Study-A Randomized Clinical Trial. *J Vet Intern Med.* 2016 Nov;30(6):1765-79.PMCID: PMC5115200.
57. Summerfield NJ, Boswood A, O'Grady MR, Gordon SG, Dukes-McEwan J, Oyama MA, et al. Efficacy of pimobendan in the prevention of congestive heart failure or sudden death in Doberman Pinschers with preclinical dilated cardiomyopathy (the PROTECT Study). *J Vet Intern Med.* 2012 Nov-Dec;26(6):1337-49.PMCID: Pmc3546380.
58. Haggstrom J, Boswood A, O'Grady M, Jons O, Smith S, Swift S, et al. Longitudinal analysis of quality of life, clinical, radiographic, echocardiographic, and laboratory variables in dogs with myxomatous mitral valve disease receiving pimobendan or benazepril: the QUEST study. *J Vet Intern Med.* 2013 Nov-Dec;27(6):1441-51.

4.2 Relevance and Potential of Cardiac Biomarkers NT-proBNP and cTnI and Exercise Testing in Canine Cardiology

Das folgende Manuskript wurde beim Journal *The Journal of Veterinary Medical Science* am 05.03.2018 zur Publikation eingereicht und befindet sich unter Revision:

Review article Internal Medicine

Title: Relevance and Potential of Cardiac Biomarkers NT-proBNP and cTnI and Exercise Testing in Canine Cardiology

Running Head: NT-proBNP, cTnI AND EXERCISE TESTS IN DOGS

Leona Wall¹, Jan-Peter Bach^{1*}

¹Small Animal Clinic, University of Veterinary Medicine Hannover, Foundation, Bünteweg 9, 30559 Hannover, Germany

*Corresponding author:

Dr. Jan-Peter Bach, Small animal clinic, University of Veterinary Medicine Hannover, Foundation, Bünteweg 9, 30559 Hannover, Germany

Tel. +49 511 953 6200

Fax: +49 511 953 6203

Email: jan-peter.bach@tiho-hannover.de

Abstract

Cardiac biomarkers (CB) are gaining importance as tools for diagnosis and prognosis in cardiac diseases in dogs. N-terminal pro natriuretic peptide type B (NT-proBNP) can be used to detect occult cardiomyopathy or to decide whether respiratory symptoms are of cardiac origin. Cardiac troponin I (cTnI) can detect myocardial damage and help in the prediction of outcome of cardiac patients. However, baseline values need to be interpreted carefully, as they are not only dependent on cardiac diseases. Studies in human patients revealed an exercise induced increase in NT-proBNP and cTnI and found this to be a prognostic indicator for the individual onset of the heart disease. Recently, studies in dogs also demonstrated an influence of physical exercise on serum levels of CB and examined the effect of heart diseases on these exercise induced changes. Exercise testing in general is not routinely performed in veterinary cardiology, although various studies showed promising applications. Exercise tolerance as an important indicator for the quality of life of cardiac patients could possibly be of use to identify presymptomatic patients with a higher risk for the onset of heart diseases, monitor the progression of the disease and adjust therapy. This review provides an overview of the current literature on CB and exercise testing with particular focus on the combination of both techniques and their possible use in canine cardiology.

Keywords: Congestive heart failure, dog, exercise physiology, NT-proBNP, troponin

Introduction

Mitral valve disease is the most common heart disease in elderly dogs [4]. Established methods for the diagnosis of cardiac diseases include clinical examination with auscultation, x-rays and echocardiography [3]. However, especially in presymptomatic patients it is impossible to predict the timespan for the onset of symptoms of the heart disease [3].

Exercise testing is an important tool in human cardiology [35] and has been used in combination with measurement of cardiac biomarkers (CB) [54, 100]. Its results improve risk stratification and patient monitoring and can be helpful in guiding therapy [35, 54, 61, 100]. However, exercise testing has not been established as a routine diagnostic test in canine cardiology yet and parameters like cardiac biomarkers are only measured at rest.

The CB cardiac troponin I (cTnI) and N-terminal pro-B-type natriuretic peptide (NT-pro-BNP) can assist in the decision of whether the patient should be referred to a cardiologist if sophisticated diagnostic like echocardiography is not available [70]. They are specific and sensitive indicators for current or future cardiac incidents like myocardial injury or heart failure [17, 66, 92, 103] and provide information on prognosis in humans [12, 24, 28, 39, 58, 60, 81] and in dogs [10, 26, 36, 99]. But, CB serum levels differ considerably between breeds [101] and were reported to be influenced by various other conditions such as systemic inflammatory response syndrome [34], infections of different causes [18, 32, 44, 65] gastric dilatation volvulus [1] or renal disease [89]. However, the measurement of CB under exercise conditions improved the prognostic value in humans [54, 90, 100].

Dogs have been studied extensively under exercise conditions, but most of the studies used invasive measurement techniques, which are not adequate for the use in veterinary practice. The research in the field of canine exercise testing is developing, though, and with the possibility of non- or minimally invasive methods, exercise testing in canine cardiology could become a feasible option.

The purpose of the present review is to provide information on human exercise testing in valvular heart diseases and possible applications in canine cardiology. Specific differences between humans and dogs in regard to exercise physiology and pathology are discussed based on the current literature. A focus is put on the potential prognostic value of a combination of exercise testing with measuring CB in order to supplement current diagnostic tests in canine cardiology.

Cardiac biomarkers NT-proBNP and cTnI

Physiology

Natriuretic peptides (NP) are hormones, which regulate intravascular homeostasis and blood pressure and serve as antagonists to the renin-angiotensin-aldosterone system [94]. They increase diuresis by increasing renal blood flow and promote natriuresis and vasodilatation [116]. Cardiologically relevant NP, which are secreted by cardiomyocytes include the natriuretic peptide type A (ANP), that is of atrial, and type B (BNP) of predominantly ventricular origin [2, 55]. In dogs, BNP has been studied more intensively than other NP [15]. Pro-BNP in cardiomyocytes is cleaved to the active BNP and its inactive fragment NT-

4. Ergebnisse / Manuskripte

proBNP due to volume load and myocardial stretch [17]. Because of the longer half-life in the blood stream, NT-proBNP is of greater diagnostic relevance (20 vs 120 minutes) and serum levels are 5 to 10 fold higher than BNP [75, 97].

Another CB that has been intensively studied in the canine patient is cTnI. Troponins are part of the actin-myosin interaction in striated muscle cells. The troponin protein is a complex consisting of 3 subunits (Troponin C, I and T), which have cardiac-specific isoforms [25]. Only cTnI and cTnT are specific markers for cardiomyocyte damage [8, 66, 108, 113]. cTnI peaks a few hours post-exercise or after cardiac injury, administration of cardiotoxic drugs or myocardial infarction [8, 14, 66, 104, 108].

To avoid degradation of cTnI and especially NT-proBNP after blood collection, blood samples should be centrifuged immediately and plasma or serum should be kept frozen until analysis [19, 37, 121].

NT-proBNP is commonly measured by enzyme-linked immunosorbent assays, which are commercially available [15, 71, 119].

Measurement of cTnI in serum samples is usually performed by sandwich immunoassays with chemiluminescence detection using commercially available automated analysers like the ADVIA Centaur CP (Siemens Healthcare). The limit of detection is 0.006 $\mu\text{g/l}$ and concentrations up to 50 $\mu\text{g/l}$ can be detected [92]. The manufacturer recommends a minimum sample volume of 200 μl , but 150 μl can be used for analysis and smaller volumes may be diluted [92]. Point-of-care devices using heparinized plasma have also been successfully implemented for measurement of cTnI in dogs by enzyme-linked immunosorbent assay [76, 83].

Clinical use and limitations

Assessing (NT-pro-) BNP values at a given point in time does not provide a predictive value for dogs, as a solid characterisation is lacking [3] and indications to measure CB are limited [70]. Measuring both NT-proBNP and cTnI improves prognostic accuracy and serial assessment can provide information on the outcome [36]. Different studies show large variations in suggested cut-off values and there is no generally applicable reference interval (Table 2).

Therefore CB assays should always be interpreted alongside the medical history, physical examinations and further diagnostic tests like echocardiography and cannot replace any of them [70, 72, 115]. Still, when used in adjunction, (NT-pro-) BNP can be used to differentiate between healthy dogs and dogs with cardiac disease and also between dogs with compensated and decompensated heart failure [57, 71, 119]. It is positively correlated with severity of mitral valve disease assessed by echocardiography and higher values indicate a poorer outcome [10].

A use of NT-proBNP measurements in veterinary practice is screening for occult dilated cardiomyopathy [99]. A cutoff value of 550 pmol/l can detect preclinical cardiomyopathy in Doberman pinschers and sensitivity and specificity can be improved by combining this test with Holter electrocardiogram measurements [115]. (NT-pro-) BNP is also used for the differentiation of cardiac vs. non-cardiac causes of respiratory signs [16, 72, 84]. Lower levels suggest that a cardiac origin of the symptoms is unlikely, but a rise above the cut-off value of

4. Ergebnisse / Manuskripte

1400 pmol/l indicates that congestive heart failure might be present (Table 2). Therefore, this parameter can help in convincing the patient owner to see a cardiologist [70, 72].

Measurement of cTnI in canine patients can be performed by veterinary diagnostic laboratories or by using a point-of-care assay [83]. In dogs, cTnI helps distinguishing healthy individuals from those affected by heart disease [73]. Moreover, cTnI blood levels are associated with disease severity and decrease at the initiation of medication in heart failure patients [22, 51, 103].

Still, interpretations of CB measurements are not without constraints. Serum levels of cTnI for instance are subject to influences by non-cardiac diseases: it has been shown that systemic inflammation can lead to increased cTnI levels and this is associated with worse outcome [34, 46].

Dogs with azotaemia also have increased cTnI levels [82, 93]. An influence of decreased renal function has been considered [47, 62, 89]. However, a recent study did not find an association between glomerular filtration rate and cTnI (or NT-proBNP) serum levels, suggesting subclinical myocardial injury and increased blood volume and / or pressure as the cause of elevated CB in chronic kidney disease [77].

CB levels are also influenced by various infectious diseases (e.g. parvovirus, babesiosis, Table 1) and high serum levels can be associated with a poor outcome [18, 44, 52, 98]. Other important non-cardiac conditions influencing CB levels in dogs are age and breed. Two studies showed that healthy older dogs tend to have higher cTnI values than younger dogs [73, 92], but a different study found this association only in dogs with mild or severe myxomatous mitral valve disease [51]. Depending on the study, the median concentration for

4. Ergebnisse / Manuskripte

healthy dogs was 0.009 ng/ml [118] or 0.022 ng/ml [88]. Whereas the first study [118] investigated 10 dogs with a median body weight of 10.7 kg, the 12 dogs in the second study [88] were heavier (24.7 kg). Also, the median age differed (2.3 vs 5.5 years). Data for breed or age-dependant reference values are lacking. The study with the largest number of observed dogs concerned with identifying a general reference range for healthy dogs investigated 305 individuals and cTnI values were ≤ 0.052 ng/ml for the healthy population [92].

Whereas Oyama et al. (2004) did not find significant differences between plasma cTnI values in Doberman Pinschers and other healthy dogs, breed seems to have a considerable influence on NT-proBNP levels: In a large multicentre study, Newfoundlands and Labrador Retrievers had NT-proBNP concentrations three times as high as Dachshunds [101]. Closely related breeds seemed to have similar NT-proBNP values. The authors saw parallels in their findings with previous studies reporting differences in cardiovascular parameters among different breeds [38]. This high variation might be the underlying cause of a limited use of a population-wide reference range [88, 117]. There appears to be a grey zone, depending on the study, between 820 and 1725 pmol/l in which results of the assay cannot reliably discriminate between respiratory and cardiogenic cause of respiratory symptoms [71]. Additional studies are needed to determine breed-dependant reference ranges for NT-proBNP [101].

CB values in dogs seem to be subject to weekly physiologic changes, making it difficult to differentiate between normal biologic variability and an increase due to worsening of heart disease when monitoring a cardiac patient [42, 88, 117, 118].

In conclusion CB are useful in canine cardiology but show several limitations. Age and breed-dependent reference intervals would be favorable, but require a large number of additional studies due to the large amount of breeds. Combination of assessment of CB with other

diagnostic modalities like echocardiography or exercise testing could provide a better diagnostic method to further classify cardiac patients.

Cardiac biomarkers and echocardiography

Echocardiography is an indispensable diagnostic method in the diagnosis and the monitoring of heart diseases [11]. However, equipment and specialists are not available in most first opinion veterinary practices and therefore, CB could in some cases serve as an alternative to performing echocardiography [15, 71, 76, 83, 84, 120]. There is for instance an association of (NT-pro-) BNP measurements with severity of mitral valve disease as assessed by echocardiography [10, 31].

While electro- and echocardiography are recommended as screening methods in some heart diseases (occult dilated cardiomyopathy in Doberman Pinschers for instance), it is not feasible for some patient owners due to availability or higher financial expenses [115]. A simple blood collection allows for easy and cost-effective risk stratification of a larger population [74, 99, 114]. NT-proBNP seems to be a valuable parameter in this context, but sensitivity is highest when echocardiographic changes are already present [99, 114].

Therapeutic monitoring is usually performed using echocardiographic parameters [7]. Especially at the initiation of the therapy and if frequent dosage adaption is needed, this method includes high demands for the veterinary practice and the patient owner [15]. Furthermore, an NP-guided therapy seems to be promising in cardiac patients [71]. An NT-proBNP value of < 965 pmol/l after 7-30 days of medication (Pimobendan and furosemide)

predicted a better outcome, whereas echocardiography was not able to discriminate between 12-months non-survivors and survivors [120].

As sole parameters, CB are generally not feasible for detection or monitoring of heart diseases [15, 70]. Still, measuring both cTnI and NT-proBNP increases prognostic accuracy, because they are independent predictors of survival in cardiac patients [36]. cTnI measurements were independently associated with survival time in a multivariable model including echocardiographic variables, therefore combining these methods would improve risk stratification [36]. This has not been the case for NT-proBNP [36], although in humans, BNP supplements echocardiography by providing information on outcome for patients undergoing early mitral valve surgery [5].

In cases, in which differentiation of cardiac and non-cardiac causes of respiratory symptoms is challenging, combined measurement of NT-proBNP and echocardiographic variables is helpful [72, 84]. Also, the heterogeneous group of asymptomatic heart patients might be further classified by NT-proBNP levels, which could provide additional information regarding the onset of heart disease [10].

Exercise testing

In human medicine, exercise testing is crucial in deciding for or against therapeutic intervention in asymptomatic cardiac patients, of which only a subset benefits from early therapy [79]. Still, it has not played a major role in canine clinical cardiology so far. Due to

this, it is reasonable to evaluate exercise testing as a diagnostic method in canine cardiology to optimise therapy and examine patients' benefits from early medication.

Methods of exercise testing

So far, exercise testing in dogs has been performed for various scientific investigations. A graded treadmill exercise protocol was the most common form of physical exercise (Figure 1). Workload was increased by increasing velocity, incline, or both [53, 91, 110]. However, non-standardization of exercise conditions has been a major disadvantage in the majority of studies.

Whereas some authors described a reluctance of many dogs to walk on a treadmill [43], more recent studies reported that most dogs can be engaged to walk on the treadmill within 10 minutes of familiarisation [112]. The difference between these older and newer studies may be due to improvements in treadmill technology, with newer treadmills being less noisy and therefore better suited for examinations of animals.

There have also been studies looking at some parameters in exercise conditions without standardized procedure. The workload was initiated by swimming [64], rescue exercise [87], farm work [40] or retrieving [86].

In the 6-minute walk test, which is commonly used in humans with severe cardiovascular diseases, patients are instructed to walk as far as they are capable of within 6 minutes [67]. Similar tests have been examined in dogs and results indicated that the distance walked was significantly less in dogs with congestive heart failure than in healthy individuals [6]. Other studies were able to discriminate dogs with pulmonary disease from healthy dogs [107] or

4. Ergebnisse / Manuskripte

assess exercise tolerance in West Highland White Terriers with pulmonary fibrosis [50]. In the course of a body weight loss program in obese dogs, the distance in the 6-minute walk test increased, thus demonstrating a positive impact on exercise capacity [56].

Advantages in comparison to the treadmill exercise test are less equipment, time, space and personal requirements. Clear disadvantages include difficulties in repeatability, as the dogs might explore the environment more intensively throughout the first trial, thus changes in the distance walked might not reflect differences in the onset of the disease. Furthermore, specificity might be low in dogs in earlier stages, when exercise tolerance is not impaired enough. However, the 6-minute walk test might serve as an alternative for those dogs, which show a strong reluctance to exercise on a treadmill.

In contrast to human cardiology, standardisation of exercise testing is challenging due to large variations in size of different dog breeds [13, 48]. The various methods of exercise testing in dogs should point out, that standardized protocols should be used in future investigations in order to produce reproducible and comparable data sets [112].

Therapy studies

The value of exercise testing in therapy studies lies in the increased performance of the cardiovascular system during exercise and the resulting increased demands which reveal impairments in exercise tolerance earlier than during the patient's daily routine [30].

A limited number of studies evaluated the impact of therapy on dogs: the effect of Pimobendan, an inodilator, was compared to amrinone during exercise in healthy dogs and those with induced congestive heart failure [68]. In that study, the effect on left ventricular

contractility, relaxation and filling was better for Pimobendan at rest and during exercise. Other authors studied the feasibility of a graded exercise test to evaluate the accuracy of rate-adaptive pacemakers and their correct setting and results indicated the test was useful [21].

Because therapeutic intervention remains controversial especially in dogs with presymptomatic mitral regurgitation [7, 45], exercise testing might be helpful for defining a subgroup of patients that could benefit from early medication. At least in humans, this has been successfully performed using NT-proBNP [54, 100].

Tested Parameters

Heart Rate

Modern methods of non-invasive, telemetric measurements of heart rate allow for studying larger populations of dogs under exercise conditions and perform exercise testing in client owned dogs [20]. Increased workload goes along with sympathetic activation, including an increase of cardiac output, which is mainly realized by a faster heart beat [85]. These regulatory mechanisms are chronically activated in heart patients, leading to slower adaption to exercise and higher resting heart rate than in healthy individuals [96, 111].

Training and aging has a major effect on different measures of cardiovascular performance. Trained or younger dogs show a lower resting and exercise heart rate than untrained or older individuals [33, 122]. Another study found that exercise leads to an increase of heart rate, which is reduced by 20 beats per minute in trained individuals [105]. The authors also described an improved adaption of the nervous system to exercise by training, which is

impaired in dogs with heart failure [41]. Smaller heart rates in trained dogs have been confirmed in other studies as well [102, 110].

Also, increases of heart rate and cardiac output were smaller than in the control group for both exercised and dobutamine-infused dogs after 5 weeks [49].

Oxygen consumption

Oxygen consumption and hemodynamic measures during submaximal and maximal exercise were described in several studies. A linear relationship between O₂ consumption and cardiac output and heart rate exist, which is comparable to humans [69]. Still, O₂ consumption values are about twice the average oxygen consumption for untrained humans [9].

The effect of aging on hemodynamic responses has been investigated in a small population of female Beagle dogs (2-3 years vs. 10-14 years of age, n=7 in each group), showing that the maximal total body consumption of O₂ (measured from arterio-venous O₂ difference between pulmonary artery and aorta) is reduced by one third, and the maximal cardiac output (measured by dye-dilution) by one quarter in older dogs [33]. The authors investigated Beagles of similar genetic backgrounds to reduce the influence of genetic differences on the results. They defined a maximal workload by either the highest workload at which the dogs would voluntarily exercise for approximately 5 minutes or a plateau of heart rate or cardiac output when increasing the workload, although this plateau was not achieved in every individual [33]. Still, values obtained resembled those in other studies aiming to evaluate parameters in dogs under a maximal workload [9, 69].

Acid Base Status

Increasing O₂ demands are met by respiratory changes, which also influence acid-base status. A study measured arterial PCO₂ during mild, moderate and maximal treadmill exercise [63]. The authors found hyperventilation and thus a hypocapnic, respiratory alkalosis. This is also in accordance with findings in a different study, where pH barely changed at the beginning of the exercise test and then slightly but significantly increased [112]. Musch et al. (1986) concluded that a small increase in body temperature triggers a panting response and for this reason alterations in blood gases occur even at mild exercise [63]. Measuring O₂ and CO₂ content of inhaled and exhaled air to confirm these findings can be performed by using tracheostomized dogs [27]. However, spiroergometry remains challenging due to interference with thermoregulatory mechanisms [110].

Lactate

Lactate metabolism is an important, yet controversial measure in human exercise testing [29].

It has also been investigated in several studies in dogs, but the results are not consistent.

Baseline lactate values differ between the studies, but usually, lactate slightly decreases at the initiation of exercise and then increases with further workload [43, 80].

Differences between the studies are most likely due to differing exercise and housing conditions: dogs enrolled in the study of Piccione et al. (2012) were kept individually in small

4. Ergebnisse / Manuskripte

pens, whereas the Beagles in the study of Wall et al. (2017) were kept in groups and larger pens, which led to more exercise in their daily routine [80, 112]. This thesis can be supported by findings in another study using a submaximal exercise protocol, which describes an effect of training on lactate values [110]. Also, smaller blood lactate levels in trained dogs have been confirmed in other studies as well [102, 110]. Arterial lactate levels were reduced compared to the control group for both exercised and dobutamine-infused dogs after 5 weeks [49].

However, findings concerning lactate seem to be reliable within the same dog, as retest values from different studies indicate to some extent [23, 112]. A recent study found slightly higher baseline lactate levels in healthy Beagles than in dogs with presymptomatic mitral regurgitation [112]. This is in accordance with another study, in which circulating lactate of heart failure patients seemed to reflect their exercise tolerance; lactate levels decreased at the initiation of medication in those patients [22].

The different lactate thresholds that have been suggested for humans do not serve well in a canine model. Therefore, lactate metabolism in dogs needs to be further investigated in the future.

Cardiac Biomarkers

While CB are solely measured at rest in canine cardiology, cTnI and NT-proBNP in human cardiac patients are also measured under exercise conditions in order to improve risk stratification, prognostic accuracy and therapeutic strategy [54, 100]. There is limited data

4. Ergebnisse / Manuskripte

available on exercise-induced increases of CB in dogs, but the use of exercise tests like in human medicine could be promising and might provide more information regarding the above mentioned parameters.

NT-proBNP values can differ during rest and exercise [78] and post-exercise NT-proBNP might allow for a more accurate assessment of the patients' hemodynamic situation [79]. Exercise (NT-pro-) BNP provides important information on prognosis: elevated exercise levels were able to identify human patients, who were at higher risk of a future cardiac event (cardiovascular-related death, mitral valve surgery, hospitalisation due to acute pulmonary edema or congestive heart failure). Those patients should therefore undergo early therapeutic intervention [54, 100].

Due to exercise-induced strain on cardiomyocytes, cTnI levels increase correspondingly to the intensity of exercise [95]. In heart patients undergoing a symptom-limited exercise test, there is a correlation between post-exercise cTnI levels and degree of the patients' heart disease: individuals with moderate heart failure had higher peak post exercise cTnI levels than healthy controls or patients with mild heart failure [90]. Significant increases in cTnI after high intensity exercise can also be found in dogs [40, 59, 109].

A recent study was the first to directly compare resting values of CB with post-exercise elevations in healthy and presymptomatic dogs with mitral valve regurgitation [112]. In this study healthy dogs and dogs with presymptomatic cardiac disease both showed a significant NT-proBNP-increase following exercise. In the same study, cTnI increased significantly more pronounced in the heart patients than in the healthy control group. Five dogs with heart disease had cTnI levels above the reference range both before and after exercise.

4. Ergebnisse / Manuskripte

In a different study in canine patients suffering from congestive heart failure classified as class II or III according to the New York Heart Association system, cTnI increased after submaximal exercise [22]. After initiation of medication, cTnI concentrations generally decreased. Still, the impact of medication on exercise CB concentrations has not been satisfactorily studied in canine patients and should be subject of further investigations to improve CB-guided therapy for the patients' benefits.

Exercise echocardiography

Sonographic measurements under exercise conditions have not been practical using a treadmill test, because of an immediate and rapid decrease of heart rate after termination of exercise [112].

Dobutamine stress echocardiography however has been successfully conducted in dogs, providing an alternative to regular exercise testing [106]. Still, disadvantages include occurrence of adverse effects like arrhythmias especially in older individuals. In addition to this, the study investigated dogs under general anaesthesia, which should be avoided in cardiac patients.

Conclusion and Clinical relevance

Cardiologic examinations in dogs are performed for different reasons, like screening in breeds at higher risk of developing heart diseases, early diagnosis of asymptomatic heart diseases, emergencies, therapeutic monitoring or follow ups. Currently, established methods like echocardiography require expensive equipment and specialists, which are not available in most first opinion veterinary practices and provide insufficient data on the prognosis especially in presymptomatic heart diseases. Therefore, additional diagnostic tests are needed, which can improve early diagnosis of heart diseases, help to determine the dog's prognosis and optimise therapy.

CB cTnI and NT-proBNP are important parameters in veterinary clinical cardiology, which can be helpful as screening parameters. Guiding a cardiac therapy based on CB could be more convenient than echocardiographic examination, especially if the patient would need to be referred to a specialist for performing echocardiography. Still, assessing resting values involves some disadvantages mostly related to a large variability of measurements due to non-cardiac reasons.

Exercise testing provides an excellent method to assess exercise tolerance in dogs under standardized conditions with various cardiovascular and respiratory diseases and might mitigate some of the disadvantages of measuring CB in dogs at rest. Besides being able to detect exercise intolerance, exercise tests are useful to measure CB under a given workload.

There is evidence that the increases of CB due to exercise can provide further information on the prognosis and severity of cardiac diseases. For this reason the combination of exercise

testing with measuring CB could be an interesting tool for future studies and might also be applicable in canine clinical cardiology.

References

1. Aona, B.D., Rush, J.E., Rozanski, E.A., Cunningham, S.M., Sharp, C.R., and Freeman, L.M. 2017. Evaluation of echocardiography and cardiac biomarker concentrations in dogs with gastric dilatation volvulus. *J. Vet. Emerg. Crit. Care (San Antonio)*, **27**:631-637.
2. Asano, K., Masuda, K., Okumura, M., Kadosawa, T., and Fujinaga, T. 1999. Plasma atrial and brain natriuretic peptide levels in dogs with congestive heart failure. *J. Vet. Med. Sci.*, **61**:523-9.
3. Atkins, C., Bonagura, J., Ettinger, S., Fox, P., Gordon, S., Haggstrom, J., Hamlin, R., Keene, B., Luis-Fuentes, V., and Stepien, R. 2009. Guidelines for the diagnosis and treatment of canine chronic valvular heart disease. *J. Vet. Intern. Med.*, **23**:1142-50.
4. Atkins, C.E. and Haggstrom, J. 2012. Pharmacologic management of myxomatous mitral valve disease in dogs. *J. Vet. Cardiol.*, **14**:165-84.
5. Bergler-Klein, J., Gyongyosi, M., and Maurer, G. 2014. The Role of Biomarkers in Valvular Heart Disease: Focus on Natriuretic Peptides. *Can. J. Cardiol.*, **30**:1027-1034.
6. Boddy, K.N., Roche, B.M., Schwartz, D.S., Nakayama, T., and Hamlin, R.L. 2004. Evaluation of the six-minute walk test in dogs. *Am. J. Vet. Res.*, **65**:311-3.
7. Boswood, A., Haggstrom, J., Gordon, S.G., Wess, G., Stepien, R.L., Oyama, M.A., Keene, B.W., Bonagura, J., MacDonald, K.A., Patteson, M., Smith, S., Fox, P.R., Sanderson, K., Woolley, R., Szatmari, V., Menaut, P., Church, W.M., O'Sullivan, M.L., Jaudon, J.P., Kresken, J.G., Rush, J., Barrett, K.A., Rosenthal, S.L., Saunders, A.B., Ljungvall, I., Deinert, M., Bomassi, E., Estrada, A.H., Fernandez Del Palacio, M.J., Moise, N.S., Abbott, J.A., Fujii, Y., Spier, A., Luethy, M.W., Santilli, R.A., Uechi, M., Tidholm, A., and Watson, P. 2016. Effect of Pimobendan in Dogs with Preclinical Myxomatous Mitral Valve Disease and Cardiomegaly: The EPIC Study-A Randomized Clinical Trial. *J. Vet. Intern. Med.*, **30**:1765-1779.
8. Burgener, I.A., Kovacevic, A., Mauldin, G.N., and Lombard, C.W. 2006. Cardiac troponins as indicators of acute myocardial damage in dogs. *J. Vet. Intern. Med.*, **20**:277-83.
9. Cerretelli, P., Piiper, J., Mangili, F., and Ricci, B. 1964. Aerobic and anaerobic metabolism in exercising dogs. *J. Appl. Physiol.*, **19**:25-8.

10. Chetboul, V., Serres, F., Tissier, R., Lefebvre, H.P., Sampedrano, C.C., Gouni, V., Poujol, L., Hawa, G., and Pouchelon, J. 2009. Association of plasma N-terminal pro-B-type natriuretic peptide concentration with mitral regurgitation severity and outcome in dogs with asymptomatic degenerative mitral valve disease. *J. Vet. Intern. Med.*, **23**:984-94.
11. Chetboul, V. and Tissier, R. 2012. Echocardiographic assessment of canine degenerative mitral valve disease. *J. Vet. Cardiol.*, **14**:127-48.
12. Clavel, M.A., Tribouilloy, C., Vanoverschelde, J.L., Pizarro, R., Suri, R.M., Szymanski, C., Lazam, S., Oberti, P., Michelena, H.I., Jaffe, A., and Enriquez-Sarano, M. 2016. Association of B-Type Natriuretic Peptide With Survival in Patients With Degenerative Mitral Regurgitation. *J. Am. Coll. Cardiol.*, **68**:1297-307.
13. Cornell, C.C., Kittleson, M.D., Della Torre, P., Haggstrom, J., Lombard, C.W., Pedersen, H.D., Vollmar, A., and Wey, A. 2004. Allometric scaling of M-mode cardiac measurements in normal adult dogs. *J. Vet. Intern. Med.*, **18**:311-21.
14. Cummins, B., Auckland, M.L., and Cummins, P. 1987. Cardiac-specific troponin-I radioimmunoassay in the diagnosis of acute myocardial infarction. *Am. Heart J.*, **113**:1333-44.
15. de Lima, G.V. and Ferreira, F.D.S. 2017. N-terminal-pro brain natriuretic peptides in dogs and cats: A technical and clinical review. *Vet. World*, **10**:1072-1082.
16. DeFrancesco, T.C., Rush, J.E., Rozanski, E.A., Hansen, B.D., Keene, B.W., Moore, D.T., and 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**:243-50.
17. Detaint, D., Messika-Zeitoun, D., Avierinos, J.F., Scott, C., Chen, H., Burnett, J.C., Jr., and Enriquez-Sarano, M. 2005. B-type natriuretic peptide in organic mitral regurgitation: determinants and impact on outcome. *Circulation*, **111**:2391-7.
18. Diniz, P.P., de Moraes, H.S., Breitschwerdt, E.B., and Schwartz, D.S. 2008. Serum cardiac troponin I concentration in dogs with ehrlichiosis. *J. Vet. Intern. Med.*, **22**:1136-43.
19. Egger, M., Dieplinger, B., and Mueller, T. 2018. One-year in vitro stability of cardiac troponins and galectin-3 in different sample types. *Clin. Chim. Acta*, **476**:117-122.
20. Essner, A., Sjostrom, R., Ahlgren, E., and Lindmark, B. 2013. Validity and reliability of Polar(R) RS800CX heart rate monitor, measuring heart rate in dogs during standing position and at trot on a treadmill. *Physiol. Behav.*, **114-115**:1-5.
21. Ferasin, L., Faena, M., Henderson, S.M., Langford, K., and Darke, P.G. 2005. Use of a multi-stage exercise test to assess the responsiveness of rate-adaptive pacemakers in dogs. *J. Small Anim. Pract.*, **46**:115-20.
22. Ferasin, L. and Marcora, S. 2007. A pilot study to assess the feasibility of a submaximal exercise test to measure individual response to cardiac medication in dogs with acquired heart failure. *Vet. Res. Commun.*, **31**:725-37.

23. Ferasin, L. and Marcora, S. 2009. Reliability of an incremental exercise test to evaluate acute blood lactate, heart rate and body temperature responses in Labrador retrievers. *J. Comp. Physiol. B*, **179**:839-45.
24. Fertin, M., Hennache, B., Hamon, M., Ennezat, P.V., Biaisque, F., Elkohen, M., Nugue, O., Tricot, O., Lamblin, N., Pinet, F., and Bauters, C. 2010. Usefulness of serial assessment of B-type natriuretic peptide, troponin I, and C-reactive protein to predict left ventricular remodeling after acute myocardial infarction (from the REVE-2 study). *Am. J. Cardiol.*, **106**:1410-6.
25. Filatov, V.L., Katrukha, A.G., Bulargina, T.V., and Gusev, N.B. 1999. Troponin: structure, properties, and mechanism of functioning. *Biochemistry (Mosc)*, **64**:969-85.
26. Fonfara, S., Loureiro, J., Swift, S., James, R., Cripps, P., and Dukes-McEwan, J. 2010. Cardiac troponin I as a marker for severity and prognosis of cardiac disease in dogs. *Vet. J.*, **184**:334-9.
27. Foss, M.L., Barnard, R.J., and Tipton, C.M. 1971. Free 11-hydroxycorticosteroid levels in working dogs as affected by exercise training. *Endocrinology*, **89**:96-104.
28. Gallagher, J., Watson, C., Campbell, P., Ledwidge, M., and McDonald, K. 2017. Natriuretic Peptide-based Screening and Prevention of Heart Failure. *Card. Fail. Rev.*, **3**:83-85.
29. Grant, S., McMillan, K., Newell, J., Wood, L., Keatley, S., Simpson, D., Leslie, K., and Fairlie-Clark, S. 2002. Reproducibility of the blood lactate threshold, 4 mmol.l(-1) marker, heart rate and ratings of perceived exertion during incremental treadmill exercise in humans. *Eur. J. Appl. Physiol.*, **87**:159-66.
30. Grigioni, F. and Branzi, A. 2010. Management of asymptomatic mitral regurgitation. *Heart*, **96**:1938-45.
31. Haggstrom, J., Hansson, K., Kvarn, C., Pedersen, H.D., Vuolteenaho, O., and 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.
32. Hagman, R., Lagerstedt, A.S., Fransson, B.A., Bergstrom, A., and Haggstrom, J. 2007. Cardiac troponin I levels in canine pyometra. *Acta Vet. Scand.*, **49**:6.
33. Haidet, G.C. 1989. Dynamic exercise in senescent beagles: oxygen consumption and hemodynamic responses. *Am. J. Physiol.*, **257**:H1428-37.
34. Hamacher, L., Dorfelt, R., Muller, M., and Wess, G. 2015. Serum cardiac troponin I concentrations in dogs with systemic inflammatory response syndrome. *J. Vet. Intern. Med.*, **29**:164-70.
35. Henri, C., Pierard, L.A., Lancellotti, P., Mongeon, F.P., Pibarot, P., and Basmadjian, A.J. 2014. Exercise testing and stress imaging in valvular heart disease. *Can. J. Cardiol.*, **30**:1012-26.
36. Hezzell, M.J., Boswood, A., Chang, Y.M., Moonarmart, W., Souttar, K., and Elliott, J. 2012. The combined prognostic potential of serum high-sensitivity cardiac troponin I and N-terminal pro-B-type natriuretic peptide concentrations in dogs with degenerative mitral valve disease. *J. Vet. Intern. Med.*, **26**:302-11.
37. Hezzell, M.J., Boswood, A., Lotter, N., and Elliott, J. 2015. The effects of storage conditions on measurements of canine N-terminal pro-B-type natriuretic peptide. *J. Vet. Cardiol.*, **17**:34-41.

38. Høglund, K., Hanas, S., Carnabuci, C., Ljungvall, I., Tidholm, A., and Haggstrom, J. 2012. Blood pressure, heart rate, and urinary catecholamines in healthy dogs subjected to different clinical settings. *J. Vet. Intern. Med.*, **26**:1300-8.
39. Horwich, T.B., Patel, J., MacLellan, W.R., and Fonarow, G.C. 2003. Cardiac troponin I is associated with impaired hemodynamics, progressive left ventricular dysfunction, and increased mortality rates in advanced heart failure. *Circulation*, **108**:833-838.
40. Hunt, H., Cave, N., Bridges, J., Gedye, K., and Hill, K. 2017. Plasma NT-proBNP and Cell-Free DNA Concentrations after Prolonged Strenuous Exercise in Working Farm Dogs. *J. Vet. Intern. Med.*
41. Ichinose, M., Sala-Mercado, J.A., Coutsos, M., Li, Z., Ichinose, T.K., Dawe, E., Fano, D., and O'Leary, D.S. 2012. Dynamic cardiac output regulation at rest, during exercise, and muscle metaboreflex activation: impact of congestive heart failure. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, **303**:R757-68.
42. Kellihan, H.B., Oyama, M.A., Reynolds, C.A., and Stepien, R.L. 2009. Weekly variability of plasma and serum NT-proBNP measurements in normal dogs. *J. Vet. Cardiol.*, **11 Suppl 1**:S93-7.
43. Kittleson, M.D., Johnson, L.E., and Pion, P.D. 1996. Submaximal exercise testing using lactate threshold and venous oxygen tension as endpoints in normal dogs and in dogs with heart failure. *J. Vet. Intern. Med.*, **10**:21-7.
44. Kocaturk, M., Martinez, S., Eralp, O., Tvarijonaviciute, A., Ceron, J., and Yilmaz, Z. 2012. Tei index (myocardial performance index) and cardiac biomarkers in dogs with parvoviral enteritis. *Res. Vet. Sci.*, **92**:24-9.
45. 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., and 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**:80-8.
46. Langhorn, R., Thawley, V., Oyama, M.A., King, L.G., Machen, M.C., Trafny, D.J., Willesen, J.L., Tarnow, I., and Kjølgaard-Hansen, M. 2014. Prediction of long-term outcome by measurement of serum concentration of cardiac troponins in critically ill dogs with systemic inflammation. *J. Vet. Intern. Med.*, **28**:1492-7.
47. Langhorn, R. and Willesen, J.L. 2016. Cardiac Troponins in Dogs and Cats. *J. Vet. Intern. Med.*, **30**:36-50.
48. Larsen, A.I., Aarstrand, T., Kristiansen, M., Haugland, A., and Dickstein, K. 2001. Assessing the effect of exercise training in men with heart failure; comparison of maximal, submaximal and endurance exercise protocols. *Eur. Heart J.*, **22**:684-92.
49. Liang, C., Tuttle, R.R., Hood, W.B., Jr., and Gavras, H. 1979. Conditioning effects of chronic infusions of dobutamine. Comparison with exercise training. *J. Clin. Invest.*, **64**:613-9.
50. Lilja-Maula, L.I., Laurila, H.P., Syrja, P., Lappalainen, A.K., Krafft, E., Clercx, C., and Rajamaki, M.M. 2014. Long-term outcome and use of 6-minute walk

- test in West Highland White Terriers with idiopathic pulmonary fibrosis. *J. Vet. Intern. Med.*, **28**:379-85.
51. Ljungvall, I., Hoglund, K., Tidholm, A., Olsen, L.H., Borgarelli, M., Venge, P., and Haggstrom, J. 2010. Cardiac troponin I is associated with severity of myxomatous mitral valve disease, age, and C-reactive protein in dogs. *J. Vet. Intern. Med.*, **24**:153-9.
 52. Lobetti, R., Kirberger, R., Keller, N., Kettner, F., and Dvir, E. 2012. NT-ProBNP and cardiac troponin I in virulent canine babesiosis. *Vet. Parasitol.*, **190**:333-9.
 53. Lorke, M., Willen, M., Lucas, K., Beyerbach, M., Wefstaedt, P., Murua Escobar, H., and Nolte, I. 2017. Comparative kinematic gait analysis in young and old Beagle dogs. *J. Vet. Sci.*, **18**:521-530.
 54. Magne, J., Mahjoub, H., Pibarot, P., Pirllet, C., Pierard, L.A., and Lancellotti, P. 2012. Prognostic importance of exercise brain natriuretic peptide in asymptomatic degenerative mitral regurgitation. *Eur. J. Heart Fail.*, **14**:1293-302.
 55. Mair, J., Hammerer-Lercher, A., and Puschendorf, B. 2001. The impact of cardiac natriuretic peptide determination on the diagnosis and management of heart failure. *Clin. Chem. Lab. Med.*, **39**:571-88.
 56. Manens, J., Ricci, R., Damoiseaux, C., Gault, S., Contiero, B., Diez, M., and Clercx, C. 2014. Effect of body weight loss on cardiopulmonary function assessed by 6-minute walk test and arterial blood gas analysis in obese dogs. *J. Vet. Intern. Med.*, **28**:371-8.
 57. Marinus, S.M., van Engelen, H., and Szatmari, V. 2017. N-Terminal Pro-B-Type Natriuretic Peptide and Phonocardiography in Differentiating Innocent Cardiac Murmurs from Congenital Cardiac Anomalies in Asymptomatic Puppies. *J. Vet. Intern. Med.*, **31**:661-667.
 58. McCarthy, C.P., Donnellan, E., Phelan, D., Griffin, B.P., Enriquez-Sarano, M., and McEvoy, J.W. 2017. High sensitivity troponin and valvular heart disease. *Trends Cardiovasc. Med.*, **27**:326-333.
 59. McKenzie, E.C., Jose-Cunilleras, E., Hinchcliff, K.W., Holbrook, T.C., Royer, C., Payton, M.E., Williamson, K., Nelson, S., Willard, M.D., and Davis, M.S. 2007. Serum chemistry alterations in Alaskan sled dogs during five successive days of prolonged endurance exercise. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **230**:1486-92.
 60. Mentias, A., Patel, K., Patel, H., Gillinov, A.M., Rodriguez, L.L., Svensson, L.G., Mihaljevic, T., Sabik, J.F., Griffin, B.P., and Desai, M.Y. 2016. Prognostic Utility of Brain Natriuretic Peptide in Asymptomatic Patients With Significant Mitral Regurgitation and Preserved Left Ventricular Ejection Fraction. *Am. J. Cardiol.*, **117**:258-63.
 61. Miller, T.D., Askew, J.W., and Anavekar, N.S. 2014. Noninvasive stress testing for coronary artery disease. *Cardiol. Clin.*, **32**:387-404.
 62. Miyagawa, Y., Tominaga, Y., Toda, N., and Takemura, N. 2013. Relationship between glomerular filtration rate and plasma N-terminal pro B-type natriuretic peptide concentrations in dogs with chronic kidney disease. *Vet. J.*, **197**:445-50.
 63. Musch, T.I., Friedman, D.B., Haidet, G.C., Stray-Gundersen, J., Waldrop, T.G., and Ordway, G.A. 1986. Arterial blood gases and acid-base status of dogs during graded dynamic exercise. *J. Appl. Physiol.*, **61**:1914-9.

64. Nganvongpanit, K., Kongsawasdi, S., Chuatrakoon, B., and Yano, T. 2013. Heart rate change during aquatic exercise in small, medium and large healthy dogs. *Thai J. Vet. Med.*, **41**:455-462.
65. Nicolson, G.P., McGrath, A., Webster, R.A., Li, J., Kaye, S., Malik, R., and Beijerink, N.J. 2016. NT-proBNP and cardiac troponin I concentrations in dogs with tick paralysis caused by *Ixodes holocyclus*. *Aust. Vet. J.*, **94**:274-9.
66. O'brien, P., Smith, D., Knechtel, T., Marchak, M., Pruumboom-Brees, I., Brees, D., Spratt, D., Archer, F., Butler, P., and Potter, A. 2006. Cardiac troponin I is a sensitive, specific biomarker of cardiac injury in laboratory animals. *Lab. Anim.*, **40**:153-171.
67. O'Keeffe, S.T., Lye, M., Donnellan, C., and Carmichael, D.N. 1998. Reproducibility and responsiveness of quality of life assessment and six minute walk test in elderly heart failure patients. *Heart*, **80**:377-82.
68. Ohte, N., Cheng, C.P., Suzuki, M., and Little, W.C. 1997. The cardiac effects of pimobendan (but not amrinone) are preserved at rest and during exercise in conscious dogs with pacing-induced heart failure. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **282**:23-31.
69. Ordway, G.A., Floyd, D.L., Longhurst, J.C., and Mitchell, J.H. 1984. Oxygen consumption and hemodynamic responses during graded treadmill exercise in the dog. *J. Appl. Physiol. Respir. Environ. Exerc. Physiol.*, **57**:601-7.
70. Oyama, M.A. 2013. Using cardiac biomarkers in veterinary practice. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, **43**:1261-72, vi.
71. Oyama, M.A., Fox, P.R., Rush, J.E., Rozanski, E.A., and Lesser, M. 2008. Clinical utility of serum N-terminal pro-B-type natriuretic peptide concentration for identifying cardiac disease in dogs and assessing disease severity. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **232**:1496-503.
72. Oyama, M.A., Rush, J.E., Rozanski, E.A., Fox, P.R., Reynolds, C.A., Gordon, S.G., Bulmer, B.J., Lefbom, B.K., Brown, B.A., Lehmkuhl, L.B., Prosek, R., Lesser, M.B., Kraus, M.S., Bossbaly, M.J., Rapoport, G.S., and Boileau, J.S. 2009. Assessment of serum N-terminal pro-B-type natriuretic peptide concentration for differentiation of congestive heart failure from primary respiratory tract disease as the cause of respiratory signs in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **235**:1319-25.
73. Oyama, M.A. and Sisson, D.D. 2004. Cardiac troponin-I concentration in dogs with cardiac disease. *J. Vet. Intern. Med.*, **18**:831-9.
74. Oyama, M.A., Sisson, D.D., and 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**:42-7.
75. Panagopoulou, V., Deftereos, S., Kossyvakis, C., Raisakis, K., Giannopoulos, G., Bouras, G., Pyrgakis, V., and Cleman, M.W. 2013. NTproBNP: an important biomarker in cardiac diseases. *Curr. Top. Med. Chem.*, **13**:82-94.
76. Payne, E.E., Roberts, B.K., Schroeder, N., Burk, R.L., and Schermerhorn, T. 2011. Assessment of a point-of-care cardiac troponin I test to differentiate cardiac from noncardiac causes of respiratory distress in dogs. *J. Vet. Emerg. Crit. Care (San Antonio)*, **21**:217-25.

77. Pelander, L., Haggstrom, J., Ley, C.J., and Ljungvall, I. 2017. Cardiac Troponin I and Amino-Terminal Pro B-Type Natriuretic Peptide in Dogs With Stable Chronic Kidney Disease. *J. Vet. Intern. Med.*, **31**:805-813.
78. Peteiro, J. and Bouzas-Mosquera, A. 2010. Exercise echocardiography. *World J. Cardiol.*, **2**:223-32.
79. Picano, E., Pibarot, P., Lancellotti, P., Monin, J.L., and Bonow, R.O. 2009. The emerging role of exercise testing and stress echocardiography in valvular heart disease. *J. Am. Coll. Cardiol.*, **54**:2251-60.
80. Piccione, G., Casella, S., Panzera, M., Giannetto, C., and Fazio, F. 2012. Effect of moderate treadmill exercise on some physiological parameters in untrained Beagle dogs. *Exp. Anim.*, **61**:511-5.
81. Pizarro, R., Bazzino, O.O., Oberti, P.F., Falconi, M., Achilli, F., Arias, A., Krauss, J.G., and Cagide, A.M. 2009. Prospective validation of the prognostic usefulness of brain natriuretic peptide in asymptomatic patients with chronic severe mitral regurgitation. *J. Am. Coll. Cardiol.*, **54**:1099-106.
82. Porciello, F., Rishniw, M., Herndon, W.E., Biretoni, F., Antognoni, M.T., and Simpson, K.W. 2008. Cardiac troponin I is elevated in dogs and cats with azotaemia renal failure and in dogs with non-cardiac systemic disease. *Aust. Vet. J.*, **86**:390-4.
83. Porter, A., Rozanski, E., Price, L.L., and Shaw, S. 2016. Evaluation of cardiac troponin I in dogs presenting to the emergency room using a point-of-care assay. *Can. Vet. J.*, **57**:641-5.
84. Prosek, R., Sisson, D.D., Oyama, M.A., and 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**:238-42.
85. Rimoldi, O., Pagani, M., Pagani, M.R., Baselli, G., and Malliani, A. 1990. Sympathetic activation during treadmill exercise in the conscious dog: assessment with spectral analysis of heart period and systolic pressure variabilities. *J. Auton. Nerv. Syst.*, **30 Suppl**:S129-32.
86. Robbins, P.J., Ramos, M.T., Zanghi, B.M., and Otto, C.M. 2017. Environmental and Physiological Factors Associated With Stamina in Dogs Exercising in High Ambient Temperatures. *Front. Vet. Sci.*, **4**:144.
87. Rovira, S., Munoz, A., and Benito, M. 2008. Effect of exercise on physiological, blood and endocrine parameters in search and rescue-trained dogs. *Vet. Med. (Praha)*, **53**:333.
88. Riaux, C., Scollan, K., Suchodolski, J.S., Steiner, J.M., and Sisson, D.D. 2015. Biologic variability in NT-proBNP and cardiac troponin-I in healthy dogs and dogs with mitral valve degeneration. *Vet. Clin. Pathol.*, **44**:420-30.
89. Schmidt, M.K., Reynolds, C.A., Estrada, A.H., Prosek, R., Maisenbacher, H.W., Sleeper, M.M., and Oyama, M.A. 2009. Effect of azotemia on serum N-terminal proBNP concentration in dogs with normal cardiac function: a pilot study. *J. Vet. Cardiol.*, **11 Suppl 1**:S81-6.
90. Schulz, O. and Kromer, A. 2002. Cardiac troponin I: a potential marker of exercise intolerance in patients with moderate heart failure. *Am. Heart J.*, **144**:351-8.

91. Seitelberger, R., Guth, B.D., Heusch, G., Lee, J.D., Katayama, K., and Ross, J., Jr. 1988. Intracoronary alpha 2-adrenergic receptor blockade attenuates ischemia in conscious dogs during exercise. *Circ. Res.*, **62**:436-42.
92. Serra, M., Papakonstantinou, S., Adamcova, M., and O'Brien, P.J. 2010. Veterinary and toxicological applications for the detection of cardiac injury using cardiac troponin. *Vet. J.*, **185**:50-7.
93. Sharkey, L.C., Berzina, I., Ferasin, L., Tobias, A.H., Lulich, J.P., and Hegstad-Davies, R.L. 2009. Evaluation of serum cardiac troponin I concentration in dogs with renal failure. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **234**:767-70.
94. Sharma, A., Ahmed, V., Garg, A., and Aggarwal, C. 2015. Clinical Applications of Natriuretic Peptides in Assessment of Valvular Heart Disease. *Dis. Markers*, **2015**:807861.
95. Shave, R., Baggish, A., George, K., Wood, M., Scharhag, J., Whyte, G., Gaze, D., and Thompson, P.D. 2010. Exercise-induced cardiac troponin elevation: evidence, mechanisms, and implications. *J. Am. Coll. Cardiol.*, **56**:169-76.
96. Sietsema, K.E., Ben-Dov, I., Zhang, Y.Y., Sullivan, C., and Wasserman, K. 1994. Dynamics of oxygen uptake for submaximal exercise and recovery in patients with chronic heart failure. *Chest*, **105**:1693-700.
97. Silver, M.A., Maisel, A., Yancy, C.W., McCullough, P.A., Burnett, J.C., Jr., Francis, G.S., Mehra, M.R., Peacock, W.F.t., Fonarow, G., Gibler, W.B., Morrow, D.A., and Hollander, J. 2004. BNP Consensus Panel 2004: A clinical approach for the diagnostic, prognostic, screening, treatment monitoring, and therapeutic roles of natriuretic peptides in cardiovascular diseases. *Congest. Heart Fail.*, **10**:1-30.
98. Silvestrini, P., Piviani, M., Alberola, J., Rodriguez-Cortes, A., Planellas, M., Roura, X., O'Brien, P.J., and Pastor, J. 2012. Serum cardiac troponin I concentrations in dogs with leishmaniasis: correlation with age and clinicopathologic abnormalities. *Vet. Clin. Pathol.*, **41**:568-74.
99. Singletary, G.E., Morris, N.A., Lynne O'Sullivan, M., Gordon, S.G., and Oyama, M.A. 2012. Prospective evaluation of NT-proBNP assay to detect occult dilated cardiomyopathy and predict survival in Doberman Pinschers. *J. Vet. Intern. Med.*, **26**:1330-6.
100. Sinha, S.K., Garg, S., Thakur, R., Krishna, V., Singh, K., Sachan, M., Goel, A., Razi, M., Pandey, U., and Varma, C.M. 2016. Prognostic Importance of Exercise Brain Natriuretic Peptide in Asymptomatic Chronic Organic Severe Mitral Regurgitation: An Observational Study. *J. Clin. Med. Res.*, **8**:797-804.
101. Sjostrand, K., Wess, G., Ljungvall, I., Haggstrom, J., Merveille, A.C., Wiberg, M., Gouni, V., Lundgren Willesen, J., Hanas, S., Lequarre, A.S., Mejer Sorensen, L., Wolf, J., Tired, L., Kierczak, M., Forsberg, S., McEntee, K., Bataille, G., Seppala, E., Lindblad-Toh, K., Georges, M., Lohi, H., Chetboul, V., Fredholm, M., and Hoglund, K. 2014. Breed differences in natriuretic peptides in healthy dogs. *J. Vet. Intern. Med.*, **28**:451-7.
102. Sneddon, J.C., Minnaar, P.P., Grosskopf, J.F., and Groeneveld, H.T. 1989. Physiological and blood biochemical responses to submaximal treadmill exercise in Canaan dogs before, during and after training. *J. S. Afr. Vet. Assoc.*, **60**:87-91.

103. Spratt, D.P., Mellanby, R.J., Drury, N., and Archer, J. 2005. Cardiac troponin I: evaluation I of a biomarker for the diagnosis of heart disease in the dog. *J. Small Anim. Pract.*, **46**:139-45.
104. Stewart, G.M., Yamada, A., Haseler, L.J., Kavanagh, J.J., Chan, J., Koerbin, G., Wood, C., and Sabapathy, S. 2016. Influence of exercise intensity and duration on functional and biochemical perturbations in the human heart. *J. Physiol.*
105. Stone, H.L. 1977. Cardiac function and exercise training in conscious dogs. *J. Appl. Physiol. Respir. Environ. Exerc. Physiol.*, **42**:824-32.
106. Suzuki, R., Matsumoto, H., Teshima, T., Mochizuki, Y., and Koyama, H. 2014. Dobutamine stress echocardiography for assessment of systolic function in dogs with experimentally induced mitral regurgitation. *J. Vet. Intern. Med.*, **28**:386-92.
107. Swimmer, R.A. and Rozanski, E.A. 2011. Evaluation of the 6-minute walk test in pet dogs. *J. Vet. Intern. Med.*, **25**:405-6.
108. Tater, G., Eberle, N., Hungerbuehler, S., Joetzke, A., Nolte, I., Wess, G., and Betz, D. 2017. Assessment of cardiac troponin I (cTnI) and tissue velocity imaging (TVI) in 14 dogs with malignant lymphoma undergoing chemotherapy treatment with doxorubicin. *Vet. Comp. Oncol.*, **15**:55-64.
109. Tharwat, M., Al-Sobayil, F., and Buczinski, S. 2013. Influence of racing on the serum concentrations of the cardiac biomarkers troponin I and creatine kinase myocardial band (CK-MB) in racing greyhounds. *Vet. J.*, **197**:900-2.
110. Tipton, C.M., Carey, R.A., Eastin, W.C., and Erickson, H.H. 1974. A submaximal test for dogs: evaluation of effects of training, detraining, and cage confinement. *J. Appl. Physiol.*, **37**:271-5.
111. Triposkiadis, F., Karayannis, G., Giamouzis, G., Skoularigis, J., Louridas, G., and Butler, J. 2009. The sympathetic nervous system in heart failure physiology, pathophysiology, and clinical implications. *J. Am. Coll. Cardiol.*, **54**:1747-62.
112. Wall, L., Mohr, A., Ripoli, F.L., Schulze, N., Penter, C.D., Hungerbuehler, S.O., Bach, J.-P., Lucas, K., and Nolte, I. 2017. Clinical use of submaximal treadmill exercise testing and assessments of cardiac biomarkers NT-proBNP and cTnI in dogs with presymptomatic mitral regurgitation. *Manuscript submitted for publication.*
113. Wells, S.M. and Sleeper, M. 2008. Cardiac troponins. *J. Vet. Emerg. Crit. Care (San Antonio)*, **18**:235-245.
114. Wess, G., Butz, V., Mahling, M., and Hartmann, K. 2011. Evaluation of N-terminal pro-B-type natriuretic peptide as a diagnostic marker of various stages of cardiomyopathy in Doberman Pinschers. *Am. J. Vet. Res.*, **72**:642-9.
115. Wess, G., Domenech, O., Dukes-McEwan, J., Haggstrom, J., and Gordon, S. 2017. European Society of Veterinary Cardiology screening guidelines for dilated cardiomyopathy in Doberman Pinschers. *J. Vet. Cardiol.*, **19**:405-415.
116. Wilkins, M.R., Redondo, J., and Brown, L.A. 1997. The natriuretic-peptide family. *Lancet*, **349**:1307-10.
117. Winter, R.L., Saunders, A.B., Gordon, S.G., Buch, J.S., and Miller, M.W. 2017. Biologic variability of N-terminal pro-brain natriuretic peptide in healthy dogs and dogs with myxomatous mitral valve disease. *J. Vet. Cardiol.*, **19**:124-131.

118. Winter, R.L., Saunders, A.B., Gordon, S.G., Miller, M.W., Fosgate, G.T., Suchodolski, J.S., and Steiner, J.M. 2017. Biologic variability of cardiac troponin I in healthy dogs and dogs with different stages of myxomatous mitral valve disease using standard and high-sensitivity immunoassays. *Vet. Clin. Pathol.*, **46**:299-307.
119. Wolf, J., Gerlach, N., Weber, K., Klima, A., and Wess, G. 2013. The diagnostic relevance of NT-proBNP and proANP 31-67 measurements in staging of myxomatous mitral valve disease in dogs. *Vet. Clin. Pathol.*, **42**:196-206.
120. Wolf, J., Gerlach, N., Weber, K., Klima, A., and Wess, G. 2012. Lowered N-terminal pro-B-type natriuretic peptide levels in response to treatment predict survival in dogs with symptomatic mitral valve disease. *J. Vet. Cardiol.*, **14**:399-408.
121. Wu, A.H. 2015. Analytical validation of novel cardiac biomarkers used in clinical trials. *Am. Heart J.*, **169**:674-83.
122. Wyatt, H.L. and Mitchell, J.H. 1974. Influences of physical training on the heart of dogs. *Circ. Res.*, **35**:883-9.

4. Ergebnisse / Manuskripte

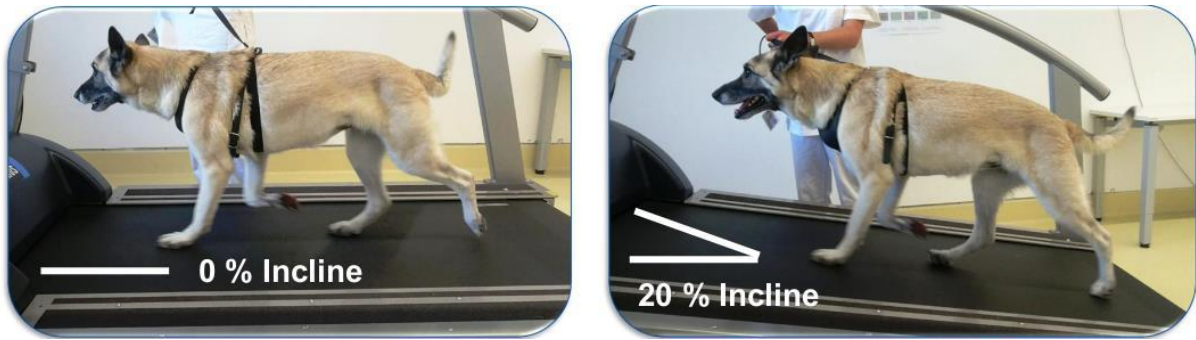


Figure 1: Dog on a treadmill at 0 % and 20 % incline. The electrode belt for telemetric measurement of heart rate is visible behind the chest belt

Table 1: Results of different studies measuring circulating cTnI values in dogs with different infectious diseases

Reference	Infection	cTnI values, healthy control (n), [ng/ml]	cTnI values, infected dogs (n), [ng/ml]
Diniz et al. 2008	Ehrlichia canis	0.00004-0.001 (16)	0.0004-0.0912 (150)
Kocaturk et al. 2012	Letal parvovirosis	0.08 (7)	0.38 (23)
Silvestrini et al. 2012	Leishmaniasis	0.021 (15)	0.043 (40)

n = number of dogs enrolled

4. Ergebnisse / Manuskripte

Table 2: Results of different studies measuring circulating NT-proBNP in dogs. Objective of the study, cut-off values, sensitivity, specificity and characteristics of the observed population are summarised. If breeds were specified in the study, they are listed in case of exceeding 30 % of the observed population.

Mixed population indicates that no breed, including mixed breeds, were represented >30 %.

Reference	Objective	Suggested Cut-off [pmol/l]	Sensitivity [%]	Specificity [%]	Status	n	Mean age [years]	Mean body weight [kg]	Breed
Fine et al. 2008	Differentiation of respiratory symptoms due to cardiac and non-cardiac disease	1400	92	100	Primary respiratory disease	46	6.9	19.3	NS
					Primary cardiac disease	25	10.9	10.0	
Oyama et al. 2008	Differentiation cardiac and non-cardiac disease	445	83.2	90	Healthy	40	7.0	19.9	33 % crossbreeds
					Cardiac disease	137	9-11.8	10-38.1	Mixed population

4. Ergebnisse / Manuskripte

Chetboul et al. 2009	Prediction of 12 month-progression in dogs with presymptomatic mitral regurgitation	466	80	76	Stable after 12 months	45	NS	NS	NS
					Congestive heart failure after 12 months	10			
Oyama et al. 2009	Differentiation of respiratory symptoms due to cardiac and non-cardiac disease	1158	85.5	81.3	Primary respiratory disease / respiratory and cardiac disease	21 / 27	NS	NS	Mixed population
					Primary cardiac disease	62			
Wess et al. 2011	Screening for occult dilated cardiomyopathy	550	78.6	90.4	Healthy	196	4.45	34.4	Doberman Pinschers
					Dilated cardiomyopathy diagnosed by echocardiography	52	NS	NS	

4. Ergebnisse / Manuskripte

Singletary et al. 2012	Screening for occult dilated cardiomyopathy	457	69.9	80.5	Healthy	82	6.0	32.7	Doberman Pinschers
					Dilated cardiomyopathy	73	6.7	36.4	
Wolf et al. 2013	Differentiation of patients with and without congestive heart failure in dogs with mitral regurgitation	1207	83	85	Presymptomatic myxomatous valve disease	214	NS	NS	32 % crossbreeds
					Myxomatous valve disease with congestive heart failure	229			

n = number of dogs enrolled; NS = not specified

5. Diskussion

In der vorliegenden Arbeit sollte ein individuell angepasster, standardisierter, submaximaler Belastungstest für die kardiologische Diagnostik entwickelt werden. Hintergrund ist, dass eine Belastungsintoleranz als erstes Symptom einer Herzerkrankung oft nicht objektiv erfasst werden kann und vom Besitzer häufig übersehen wird (ATKINS et al. 2009). Beim Menschen werden solche Belastungsuntersuchungen in der Kardiologie routinemäßig durchgeführt und verbessern damit die Diagnostik, Prognosestellung sowie die Therapieadjustierung (GIBBONS et al. 1997; LANCELLOTTI et al. 2003; MESSIKA-ZEITOUN et al. 2006). Für den Hund steht bisher eine solche standardisierte Belastungsprüfung nicht zur Verfügung, weil bisherige Studien keine Herzpatienten bzw. gesunde Hunde als Referenz untersuchten oder invasive Messverfahren einsetzten (TIPTON et al. 1974; FERASIN u. MARCORA 2007).

Daher sollte in der vorliegenden Untersuchung zunächst an gesunden Beaglen ein Belastungsprotokoll entwickelt und standardisiert werden. Im zweiten Schritt sollten auf dieser Basis spezifische Unterschiede unter Belastung zu symptomfreien, herzkranken Hunden (CHIEF B) herausgearbeitet werden. Ziel war es, eine ausschließlich submaximale Belastung zu erreichen, damit der Patient nicht durch eine Überlastung in eine kritische Situation gebracht wird (HENRI et al. 2014). Maximale Belastungstests bleiben in der Regel der Sportmedizin vorbehalten, da für kardiologische Fragestellungen auch submaximale Belastungen die Herzleistung adäquat wiedergeben (SARTOR et al. 2013).

Der hier erprobte, 6-stufige, submaximale Belastungstest konnte an den individuellen Hund, bezogen auf die Körpergröße und die Leistungsfähigkeit, angepasst werden und war unter Praxisbedingungen sicher durchführbar. Insbesondere die Messung der kardialen Biomarker cTnI und NT-proBNP in Verbindung mit der Durchführung des Belastungstests erwies sich in der vorliegenden Studie als geeignet, einen Unterschied zwischen gesunden Hunden und Hunden mit präsymptomatischer Herzerkrankung festzustellen. Somit kann anhand von diesen Messwerten eine weitgehend objektive Aussage zur Herzleistung eines Hundes unter Belastung getroffen werden.

5. Diskussion

Für die Evaluierung des Belastungstests wurden diverse Parameter vor, während und nach Belastung gemessen, um anhand der Daten jene Parameter und Zeitpunkte herauszuarbeiten, die für eine zukünftige Anwendung geeignet sind. Die Ergebnisse zeigen, dass auf die zusätzlichen Blutentnahmen zwischen den einzelnen Stufen des Belastungstests auch im Sinne einer geringeren Manipulation am Patienten verzichtet werden kann, weil sie keine Zusatzinformationen liefern und nur eingeschränkt reproduzierbar sind. Dies trifft ebenso auf die Messung der venösen Blutgase zu, die überwiegend große Varianzen aufwiesen und damit als Parameter für den Belastungstest ungeeignet sind. Eine genauere Messung wäre mit invasiven Verfahren möglich, die für den klinischen Einsatz jedoch nicht geeignet sind (TIPTON et al. 1974; KITTLESON et al. 1996). Die Herzfrequenz sollte allerdings kontinuierlich registriert werden, um die Belastungsintensität zu überwachen.

Um einen möglicherweise vorliegenden Unterschied in der Adaption an Belastung zwischen den gesunden Hunden und den präsymptomatischen Herzpatienten zu untersuchen, wurden die gemessenen Parameter zwischen den Gruppen verglichen. Weder die mittlere Herzfrequenz noch der Anstieg der Herzfrequenz im Vergleich zum Ruhewert unterschieden sich signifikant zwischen den Gruppen. Dies steht der Hypothese entgegen, dass eine verminderte Anpassungsfähigkeit an Belastung beim Herzpatienten vorliegt (MALLIANI u. PAGANI 1983; ORDWAY et al. 1984; SIETSEMA et al. 1994; TRIPOSKIADIS et al. 2009). Es ist allerdings denkbar, dass in dem frühen Stadium der Herzerkrankung, das bei den Tieren der Patientengruppe vorlag, noch keine Beeinflussung der Anpassungsfähigkeit des Herzens an gestiegene körperliche Anforderungen stattgefunden hat. Studien am Menschen legen zumindest nahe, dass dies in einem späteren Stadium auftritt (TRIPOSKIADIS et al. 2009).

Um die Veränderungen des Herzens unter Belastung darzustellen, wurden echokardiographische Messungen direkt nach Belastung durchgeführt. Diese Belastungsechokardiographie konnte jedoch nicht erfolgreich durchgeführt werden. Ursächlich ist dies vermutlich hauptsächlich auf die zeitliche Verzögerung zwischen dem Ende des Belastungstests und der Bildaufnahme zurückzuführen. Die Herzfrequenz war zum Zeitpunkt der Echokardiographie schon stark gesunken, nachdem die Hunde vom Laufband auf den Ultraschalltisch verbracht wurden. Die in einer Studie durchgeführte Dobutamin-Infusion für die Belastungssonographie (SPASOJEVIC KOSIC et al. 2012) kommt für den klinischen Einsatz als Diagnostikum aufgrund möglicher Nebenwirkungen des Dobutamins

5. Diskussion

nicht in Frage (PICANO et al. 2009). Somit gibt es derzeit weiterhin keine Möglichkeit, nicht-invasive dynamische Messungen des Herzens beim Hund im klinischen Kontext unter Belastung durchzuführen.

Die Hunde, die in der vorliegenden Studie untersucht wurden, liefen nach einer kurzen Eingewöhnung grundsätzlich bereitwillig auf dem Laufband. Eine derartige Untersuchung eignet sich allerdings nicht für sehr ängstliche Hunde oder Patienten mit orthopädischen Problemen, für die ggf. ein 6-Minuten Gehtest eine bessere Alternative darstellt (GUYATT et al. 1985; BODDY et al. 2004; SWIMMER u. ROZANSKI 2011; LILJA-MAULA et al. 2014).

Für eine nicht-invasive Messung der Pulsfrequenz sowie der Sauerstoffsättigung wurde ein Pulsoximeter verwendet. Die Werte der Sauerstoffsättigung waren jedoch für einen lebenden Hund viel zu niedrig. Die Sauerstoffsättigung sowie die Pulsfrequenz können beim anästhesierten Hund an der Lefze grundsätzlich zuverlässig gemessen werden (HUSS et al. 1995). Allerdings berichtete eine andere Studie von eingeschränkter Messbarkeit am wachen Hund, wenn die Patienten sich bewegten (FAIRMAN 1992). Aufgrund der parallel stattfindenden Blutentnahmen ließ sich dies nicht ausschließen. Zudem lieferte das Pulsoximeter erst nach einer Zeit von mindestens 20 Sekunden (länger bei Abwehrbewegungen des Tieres) die ersten Werte, sodass die Pulsfrequenz, ähnlich wie beim Ultraschall, bereits abgefallen war. Daher kann dieses nicht-invasive Verfahren beim Belastungstest nicht angewendet werden.

Der Effekt von Alter oder Rasse auf die Ergebnisse ließen sich statistisch in der vorliegenden Studie nicht absichern, da der Stichprobenumfang zu gering war. Auch wenn die Herzpatienten im Mittel signifikant älter als die gesunden Hunde waren, sind die Unterschiede im Anstieg der kardialen Biomarker in der vorliegenden Arbeit sehr wahrscheinlich auf die bestehende Herzerkrankung zurückzuführen und weniger auf den Altersunterschied der Gruppen. Der BNP-Serum-Spiegel korrelierte nicht mit dem Alter der in einer Studie untersuchten Deutschen Schäferhunde (SPASOJEVIC KOSIC et al. 2012) und eine Studie am Menschen fand keinen Zusammenhang zwischen Alter oder Body-Mass-Index mit dem belastungsinduzierten Anstieg von BNP (KRUPICKA et al. 2010). Eine neuere

5. Diskussion

Studie zeigte außerdem, dass cTnI in jungen Individuen nach einem (Halb-) Marathon anstieg, jedoch nicht bei Älteren (NIEMELA et al. 2016).

Geringgradige, aber signifikante Anstiege des cTnI unter Belastung wurden bereits bei gesunden Hunden nach Schlittenrennen gezeigt (MCKENZIE et al. 2007; WAKSHLAG et al. 2010; THARWAT et al. 2013), die eine deutlich höhere Belastung darstellen, als das in der vorliegenden Arbeit verwendete submaximale Belastungsprotokoll.

Eine leicht erhöhte Konzentration von cTnI direkt im Anschluss an einen submaximalen Belastungstest konnte bereits bei Hunden mit Herzinsuffizienz gemessen werden (FERASIN u. MARCORA 2007). Da gezeigt wurde, dass cTnI erst mehrere Stunden nach einem kardialen Vorfall (myokardialer Schaden, Belastung etc.) seine Maximalkonzentration im Blut erreicht (LUCIA et al. 2001), wurde in der vorliegenden Arbeit cTnI 3 Stunden nach der Belastung gemessen. Für den klinischen Einsatz eignet sich daher unter Umständen NT-proBNP besser, da es unmittelbar nach der Belastung gemessen werden kann.

Die Ergebnisse der Hunde im Stadium CHIEF B1 / B2 waren bei allen gemessenen Parametern besser reproduzierbar als die der gesunden Gruppe. Dies könnte auf eine durch das höhere Alter der Hunde in der Patientengruppe bedingte reduzierte metabolische Flexibilität zurückzuführen sein, sodass die Tagesform weniger Einfluss auf den Metabolismus hat. Eine entsprechende reduzierte metabolische Flexibilität konnte bei älteren Menschen demonstriert werden (CONSITT et al. 2016).

Es ergaben sich ebenfalls Unterschiede in den Haltungsbedingungen, da die Beagle der Referenzgruppe überwiegend zu den Universitätsinstituten (in der Regel aus der Klinik für Kleintiere) gehörten. Die Hunde der Patientengruppe hingegen lebten bei ihren Besitzern. Da die Beagle allerdings in der Gruppe in Ausläufen gehalten wurden, bewegten sie sich entsprechend viel, abhängig vom individuellen Temperament. Die tägliche Bewegung der Hunde im Privatbesitz war ebenfalls abhängig von der Aktivität des jeweiligen Hundes und den vom Besitzer vorgegebenen Lebensumständen. Die Besitzer wurden angewiesen, die Aktivität der Tiere zwischen dem ersten und zweiten Versuch möglichst nicht zu verändern. Außerdem wurden alle Hunde mindestens 8 Stunden vor dem Versuch nüchtern gehalten und keines der Tiere trainierte zwischen den beiden Zeitpunkten ein weiteres Mal auf dem

5. Diskussion

Laufband. Deswegen kann angenommen werden, dass die Unterschiede im Trainingszustand oder der täglichen Routine keinen signifikanten Effekt auf die Ergebnisse hatten.

Der Einfluss der Rasse auf die NT-proBNP-Konzentrationen konnte bereits belegt werden (SJOSTRAND et al. 2014). Dies ist gleichwohl beim cTnI nicht der Fall (OYAMA u. SISSON 2004; FONFARA et al. 2010). Es befanden sich nur 4 Beagle unter den Herzpatienten, während die gesunde Gruppe ausschließlich aus Beaglen bestand. Aufgrund der relativ kleinen Stichprobenzahl konnte der Einfluss der Rasse auf den belastungsinduzierten Anstieg der kardialen Biomarker nicht statistisch abgesichert werden. Auch wenn ein Einfluss der Rasse auf die in der Patienten- und der Referenzgruppe gemessenen Werte nicht vollständig auszuschließen ist, spielt vermutlich das Vorliegen einer Herzerkrankung eine deutlich größere Rolle bezüglich des Ausmaßes des belastungsinduzierten Anstiegs der kardialen Biomarker. Die Ruhewerte sind bereits ein wichtiger Parameter der klinischen Kardiologie beim Hund (OYAMA 2013). Da die Werte jedoch zwischen den Rassen und sogar innerhalb eines Individuums stark variieren (KELLIHAN et al. 2009; RUAUX et al. 2015; WINTER et al. 2017a; WINTER et al. 2017b), könnte die diagnostische und prognostische Bedeutung von kardialen Biomarkern unter Belastung ebenso wichtig werden, wie beim Menschen (MAGNE et al. 2012; SINHA et al. 2016).

Die Laktat-Konzentration im Blut war tendenziell etwas höher in der Patientengruppe verglichen mit der Referenzgruppe. Erhöhte Laktatwerte in Ruhe bei akutem, kongestiven Herzversagen kommen sowohl bei Hunden als auch bei Katzen vor (GOUTAL et al. 2010). Die Hunde in der vorliegenden Studie waren in einem sehr viel früheren Stadium der kardialen Erkrankung. Neben kardiovaskulären Erkrankungen kann auch ein fortgeschrittenes Alter zu einem geringeren Herzminutenvolumen und damit zu einer geringeren maximalen Sauerstoffverbrauchsleistung führen (HAIDET 1989; TANAKA u. SEALS 2008). Da weiterhin die Kapillarisation der Skelettmuskeln abnimmt, ist eine verminderte oxidative Kapazität mit einer dadurch entstehenden vermehrten Laktatanreicherung zu erwarten, wie bereits in älteren Ratten und Hunden demonstriert werden konnte (CARTEE 1994; WILLEN 2016).

5. Diskussion

Der Einsatz von vasoaktiven Medikamenten zur Intervention bei Hunden mit präsymptomatischer Mitralklappeninsuffizienz wird kontrovers bewertet. (KVART et al. 2002; ATKINS et al. 2007). Eine neuere, großangelegte Multicenter-Studie zeigte bei Hunden im Stadium CHIEF B2, dass Pimobendan einen deutlichen, positiven Effekt sowohl auf die zu erwartende Überlebenszeit als auch die symptomfreie Zeit betroffener Hunde hat (BOSWOOD et al. 2016). Dies deckt sich mit Angaben anderer Studien, in denen ebenfalls die präklinische Phase bei dilatativer Kardiomyopathie durch den Einsatz von Pimobendan verlängern werden konnte (SUMMERFIELD et al. 2012; VOLLMAR u. FOX 2016).

Ob eine frühe Intervention im Stadium CHIEF B1 die präsymptomatische Phase verlängern und damit auch die Überlebenszeit positiv beeinflussen kann, ist bisher noch nicht geklärt. Es ist nicht möglich, das Fortschreiten der Herzerkrankung im präsymptomatischen Stadium für den einzelnen Patienten prognostisch einzuschätzen oder im Verlauf zu überwachen, bis erste Veränderungen am Herzen oder Symptome auftreten. Daher wäre es hilfreich, wenn Risikofaktoren mit Hilfe von Belastungstests identifiziert werden, anhand derer der weitere Verlauf besser bewertet werden kann oder mit dem die Adjustierung der Herzmedikation verbessert werden könnte.

Der Belastungsfähigkeit bzw. dem Anstieg von NT-proBNP unter Belastung könnte dabei eine ähnlich wichtige Rolle zukommen wie in der humanmedizinischen Kardiologie (MAGNE et al. 2012; SINHA et al. 2016). Hundebesitzer bewerten die Lebensqualität höher als die absolute Überlebenszeit ihres Tieres, sodass eine Verbesserung der Lebensqualität bei der Therapie ein vorrangiges Ziel sein sollte (HAGGSTROM et al. 2013). Die Lebensqualität ist auch abhängig von der Fähigkeit, alltägliche körperliche Belastungen zu bewältigen (O'KEEFFE et al. 1998). Aus diesem Grund könnte ein Belastungstest wertvolle Informationen liefern, ob eine medikamentöse Intervention bei präsymptomatischer Mitralklappeninsuffizienz sinnvoll ist und zu einer Verbesserung oder längeren Erhaltung der Lebensqualität führen kann.

Die vorliegende Arbeit untersucht erstmalig einen Ansatz zur Erfassung mehrerer kardiovaskulärer Parameter unter dem Einfluss eines submaximalen Belastungstests, bei dem gesunde Hunde mit Patienten im Frühstadium einer Mitralklappenendokardiose verglichen werden. Die Eignung der vorgestellten Methode, diese Parameter unter Praxisbedingungen zu

5. Diskussion

erfassen, ließ sich bestätigen. Die Erkenntnisse dieser Studie bilden somit eine notwendige Grundlage für die nachfolgende Durchführung von Therapiestudien.

Diagnostisch, aber vor allem prognostisch und therapeutisch könnte der belastungsinduzierte Anstieg der kardialen Biomarker von Relevanz sein. Etablierte diagnostische Methoden wie beispielsweise die Echokardiographie stellen hohe apparative und personelle Anforderungen und sind daher nicht in jeder Tierarztpraxis verfügbar. Außerdem stellt der finanzielle Aufwand für einige Besitzer eine große Hürde dar. Für die Ruhemessung der kardialen Biomarker bestehen ebenfalls diverse Einschränkungen, sodass die Messung nach Belastung viele Vorteile aufweist.

Obwohl weitere Studien notwendig sind, um den Einfluss von Alter und Rasse einschätzen und genaue Referenzwerte festlegen zu können, ist der Belastungstest in Kombination mit der Messung der kardialen Biomarker eine vielversprechende Erweiterung der kardiologischen Diagnostik beim caninen Patienten und könnte zukünftig eine Rolle bei der Prognosestellung und der Entscheidung zu einer geeigneten Therapie spielen.

6. Zusammenfassung

Leona Franziska Wall

Entwicklung eines standardisierten, submaximalen Laufband-Belastungstests an gesunden Beaglen und CHIEF B1 / B2 Herzpatienten

Obwohl Belastungsintoleranz das erste Symptom von Herzinsuffizienz ist, existiert für den Hund bisher keine praxistaugliche, objektive und standardisierte Methode zur Messung der körperlichen Belastbarkeit. Belastungstests werden beim Menschen in der kardiologischen Routinediagnostik verwendet, weil sie wertvolle Informationen zu Prognose und Einfluss einer Therapie geben. In der vorliegenden Studie wurden entsprechende Parameter unter einem standardisierten, submaximalen Belastungsprotokoll auf dem Laufband bei gesunden Hunden gemessen, um physiologische Basisdaten zu erhalten. Zusätzlich wurden Hunde in einem frühen Stadium der Mitralklappeninsuffizienz mit demselben Belastungstest untersucht, um mögliche Unterschiede festzustellen.

Zwölf gesunde Beagle sowie 12 Hunde mit Mitralklappeninsuffizienz (CHIEF B1 / B2) absolvierten auf dem Laufband einen 6-stufigen, submaximalen Belastungstest. Sie liefen in ihrem individuellen Tempo pro Stufe 3 Minuten, beginnend ohne Steigung und mit einer Erhöhung des Neigungswinkels je Stufe um 4 %. Venöse Blutproben wurden vor der Belastung, innerhalb von zwei 3-minütigen Pausen während des Tests, direkt im Anschluss an die Belastung sowie 3 Stunden danach genommen. Ausgewählte Parameter, darunter die Herzfrequenz, Laktat und die kardialen Biomarker N-terminales pro-B-Typ natriuretisches Peptid (NT-proBNP) und kardiales Troponin I (cTnI) wurden gemessen. Um die Reproduzierbarkeit der Messungen zu überprüfen, wurde der Test unter gleichen Bedingungen 3 Wochen nach dem ersten Versuch an denselben Hunden erneut durchgeführt.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen den Einfluss submaximaler Belastung auf die kardialen Biomarker unter Praxisbedingungen beim Hund. Der Anstieg von NT-proBNP und cTnI war bei der Patientengruppe stärker ausgeprägt als bei der Referenzgruppe. Es konnte gezeigt werden, dass es ausreicht die Parameter vor und nach Belastung zu messen, da die Ergebnisse der zwischen den Stufen des Belastungstests gemessenen Blutuntersuchungen

6. Zusammenfassung

keine zusätzlichen relevanten Informationen lieferten. Die Durchführung eines Belastungsultraschalls erwies sich als nicht praktikabel.

Belastungsuntersuchungen, insbesondere in Kombination mit der Erfassung der kardialen Biomarker NT-proBNP und cTnI, könnten eine wertvolle Ergänzung der aktuellen Routinediagnostik in der caninen Kardiologie sein.

7. Summary

Leona Franziska Wall

Evaluation of a standardised, submaximal treadmill exercise test in healthy beagles and dogs with presymptomatic mitral valve regurgitation

Exercise intolerance is the first symptom of heart disease. Still, a practical, objective and standardised method to assess exercise capacity in canine cardiology is lacking. Exercise testing is a powerful diagnostic tool in human cardiac patients, providing valuable information on prognosis and impact of therapeutic intervention. In this study, multiple parameters were investigated to provide physiological basis data in healthy dogs in a standardised, submaximal treadmill exercise test. Furthermore, the exercise test was performed in dogs with early-stage mitral valve regurgitation to reveal differences in parameters relevant to cardiology.

Twelve healthy beagle dogs and 12 presymptomatic dogs with mitral valve regurgitation (CHIEF B1 / B2) underwent a 6-stage, submaximal exercise protocol on a motorised treadmill. They trotted in their individual comfort speed for three minutes per stage, beginning without incline and increasing it by 4 % for every subsequent stage. Venous blood samples were taken at rest, within two 3-minute pauses during the test, directly after the exercise test and after a 3-hour recovery period. Selected parameters including heart rate, lactate and the cardiac biomarkers N-terminal pro-B-Type natriuretic peptide and cardiac Troponin I were measured. To evaluate repeatability, the test was repeated under the same conditions three weeks after the first trial in the same dogs.

The present study provides a method to assess exercise-induced changes in cardiac biomarkers under clinical conditions. The increase of NT-proBNP and cTnI is more pronounced in dogs with early-stage MR than in healthy dogs. Results indicate that measuring the parameters before and after exercise is adequate and taking blood samples between the different stages of the ET does not provide additional information. Also, stress echocardiography was inconclusive. Exercise testing, especially in combination with measuring cardiac biomarkers, could be a helpful diagnostic tool in canine cardiology.

8. Literaturverzeichnis

AGRICOLA, E., M. OPPIZZI, M. PISANI u. A. MARGONATO (2004):

Stress echocardiography in heart failure.

Cardiovascular ultrasound 2, 11

ASANO, K., K. MASUDA, M. OKUMURA, T. KADOSAWA u. T. FUJINAGA (1999):

Plasma atrial and brain natriuretic peptide levels in dogs with congestive heart failure.

The Journal of veterinary medical science / the Japanese Society of Veterinary Science 61, 523-529

ATKINS, C., J. BONAGURA, S. ETTINGER, P. FOX, S. GORDON, J. HAGGSTROM, R. HAMLIN, B. KEENE, V. LUIS-FUENTES u. R. STEPIEN (2009):

Guidelines for the diagnosis and treatment of canine chronic valvular heart disease.

Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine 23, 1142-1150

ATKINS, C., B. W. KEENE, W. A. BROWN, J. R. COATS, M. A. CRAWFORD, T. C. DEFRANCESCO, N. J. EDWARDS, P. R. FOX, L. B. LEHMKUHL, M. W. LUETHY, K. M. MEURS, J. P. PETRIE, F. S. PIPERS, S. L. ROSENTHAL, J. A. SIDLEY u. J. H. STRAUS (2007):

Results of the veterinary enalapril trial to prove reduction in onset of heart failure in dogs chronically treated with enalapril alone for compensated, naturally occurring mitral valve insufficiency.

Journal of the American Veterinary Medical Association 231, 1061-1069

ATKINS, C. E., W. A. BROWN, J. R. COATS, M. A. CRAWFORD, T. C. DEFRANCESCO, J. EDWARDS, P. R. FOX, B. W. KEENE, L. LEHMKUHL, M. LUETHY, K. MEURS, J. P. PETRIE, F. PIPERS, S. ROSENTHAL, J. A. SIDLEY u. J. STRAUS (2002):

Effects of long-term administration of enalapril on clinical indicators of renal function in dogs with compensated mitral regurgitation.

Journal of the American Veterinary Medical Association 221, 654-658

8. Literaturverzeichnis

ATKINS, C. E. u. J. HAGGSTROM (2012):

Pharmacologic management of myxomatous mitral valve disease in dogs.

Journal of veterinary cardiology : the official journal of the European Society of Veterinary Cardiology 14, 165-184

BARKER, S. J. u. K. K. TREMPER (1987):

Pulse oximetry: applications and limitations.

International anesthesiology clinics 25, 155-175

BARLETTA, G., L. STEFANI, R. DEL BENE, C. FRONZAROLI, S. VECCHIARINO, C. LAZZERI, F. FANTINI u. G. LA VILLA (1998):

Effects of exercise on natriuretic peptides and cardiac function in man.

International journal of cardiology 65, 217-225

BASSETT, D. R., JR. u. E. T. HOWLEY (2000):

Limiting factors for maximum oxygen uptake and determinants of endurance performance.

Medicine and science in sports and exercise 32, 70-84

BEHNIA, M., C. M. WHEATLEY, A. AVOLIO u. B. D. JOHNSON (2017):

Alveolar-capillary reserve during exercise in patients with chronic obstructive pulmonary disease.

International journal of chronic obstructive pulmonary disease 12, 3115-3122

BERGLER-KLEIN, J., M. GYONGYOSI u. G. MAURER (2014):

The Role of Biomarkers in Valvular Heart Disease: Focus on Natriuretic Peptides.

The Canadian journal of cardiology 30, 1027-1034

BITSCHNAU, C., T. WIESTNER, D. S. TRACHSEL, J. A. AUER u. M. A. WEISHAUP (2010):

Performance parameters and post exercise heart rate recovery in Warmblood sports horses of different performance levels.

Equine veterinary journal. Supplement 17-22

8. Literaturverzeichnis

BODDY, K. N., B. M. ROCHE, D. S. SCHWARTZ, T. NAKAYAMA u. R. L. HAMLIN (2004):

Evaluation of the six-minute walk test in dogs.

American journal of veterinary research 65, 311-313

BONOW, R. O., B. A. CARABELLO, C. KANU, A. C. DE LEON, JR., D. P. FAXON, M. D. FREED, W. H. GAASCH, B. W. LYTLE, R. A. NISHIMURA, P. T. O'GARA, R. A. O'ROURKE, C. M. OTTO, P. M. SHAH, J. S. SHANEWISE, S. C. SMITH, JR., A. K. JACOBS, C. D. ADAMS, J. L. ANDERSON, E. M. ANTMAN, D. P. FAXON, V. FUSTER, J. L. HALPERIN, L. F. HIRATZKA, S. A. HUNT, B. W. LYTLE, R. NISHIMURA, R. L. PAGE u. B. RIEGEL (2006):

ACC/AHA 2006 guidelines for the management of patients with valvular heart disease: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (writing committee to revise the 1998 Guidelines for the Management of Patients With Valvular Heart Disease): developed in collaboration with the Society of Cardiovascular Anesthesiologists: endorsed by the Society for Cardiovascular Angiography and Interventions and the Society of Thoracic Surgeons.

Circulation 114, e84-231

BOSWOOD, A., J. HAGGSTROM, S. G. GORDON, G. WESS, R. L. STEPIEN, M. A. OYAMA, B. W. KEENE, J. BONAGURA, K. A. MACDONALD, M. PATTESON, S. SMITH, P. R. FOX, K. SANDERSON, R. WOOLLEY, V. SZATMARI, P. MENAUT, W. M. CHURCH, M. L. O'SULLIVAN, J. P. JAUDON, J. G. KRESKEN, J. RUSH, K. A. BARRETT, S. L. ROSENTHAL, A. B. SAUNDERS, I. LJUNGVALL, M. DEINERT, E. BOMASSI, A. H. ESTRADA, M. J. FERNANDEZ DEL PALACIO, N. S. MOISE, J. A. ABBOTT, Y. FUJII, A. SPIER, M. W. LUETHY, R. A. SANTILLI, M. UECHI, A. TIDHOLM u. P. WATSON (2016):

Effect of Pimobendan in Dogs with Preclinical Myxomatous Mitral Valve Disease and Cardiomegaly: The EPIC Study-A Randomized Clinical Trial.

Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine 30, 1765-1779

BREBNER, N. S., N. M. MOENS u. J. R. RUNCIMAN (2006):

Evaluation of a treadmill with integrated force plates for kinetic gait analysis of sound and lame dogs at a trot.

Veterinary and comparative orthopaedics and traumatology : V.C.O.T 19, 205-212

8. Literaturverzeichnis

BRUNNER-LA ROCCA, H. P. u. S. BEKTAS (2015):

Biomarker Guided Therapy in Chronic Heart Failure.

Cardiac failure review 1, 96-101

BURGENER, I. A., A. KOVACEVIC, G. N. MAULDIN u. C. W. LOMBARD (2006):

Cardiac troponins as indicators of acute myocardial damage in dogs.

Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine
20, 277-283

BURGHUBER, O. C., C. H. BRUNNER, P. SCHENK u. M. WEISSEL (1993):

Pulsed Doppler echocardiography to assess pulmonary artery hypertension in chronic obstructive pulmonary disease.

Monaldi archives for chest disease 48, 121-125

CAHILL, R. J., K. PIGEON, M. I. STRONG-TOWNSEND, J. P. DREXEL, G. H. CLARK u. J. S. BUCH (2015):

Analytical validation of a second-generation immunoassay for the quantification of N-terminal pro-B-type natriuretic peptide in canine blood.

Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc 27, 61-67

CARTEE, G. D. (1994):

Aging skeletal muscle: response to exercise.

Exercise and sport sciences reviews 22, 91-120

CERRETELLI, P., J. PIIPER, F. MANGILI u. B. RICCI (1964):

Aerobic and anaerobic metabolism in exercising dogs.

Journal of applied physiology 19, 25-28

CHETBOUL, V., F. SERRES, R. TISSIER, H. P. LEFEBVRE, C. C. SAMPEDRANO, V. GOUNI, L. POUJOL, G. HAWA u. J. POUCHOLON (2009):

8. Literaturverzeichnis

Association of plasma N-terminal pro-B-type natriuretic peptide concentration with mitral regurgitation severity and outcome in dogs with asymptomatic degenerative mitral valve disease.

Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine 23, 984-994

CHETBOUL, V. u. R. TISSIER (2012):

Echocardiographic assessment of canine degenerative mitral valve disease.

Journal of veterinary cardiology : the official journal of the European Society of Veterinary Cardiology 14, 127-148

CLARK, A. L. u. J. G. CLELAND (2001):

How do you measure exercise capacity in chronic heart failure?

European heart journal 22, 627-628

CONSITT, L. A., G. SAXENA, A. SANEDA u. J. A. HOUMARD (2016):

Age-related impairments in skeletal muscle PDH phosphorylation and plasma lactate are indicative of metabolic inflexibility and the effects of exercise training.

American journal of physiology. Endocrinology and metabolism 311, E145-156

CORNELL, C. C., M. D. KITTLESON, P. DELLA TORRE, J. HAGGSTROM, C. W. LOMBARD, H. D. PEDERSEN, A. VOLLMAR u. A. WEY (2004):

Allometric scaling of M-mode cardiac measurements in normal adult dogs.

Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine 18, 311-321

CUMMINS, B., M. L. AUCKLAND u. P. CUMMINS (1987):

Cardiac-specific troponin-I radioimmunoassay in the diagnosis of acute myocardial infarction.

American heart journal 113, 1333-1344

DAI, X. Z. u. R. J. BACHE (1984):

Effect of indomethacin on coronary blood flow during graded treadmill exercise in the dog.

The American journal of physiology 247, H452-458

8. Literaturverzeichnis

DE LIMA, G. V. u. F. D. S. FERREIRA (2017):

N-terminal-pro brain natriuretic peptides in dogs and cats: A technical and clinical review.

Veterinary world 10, 1072-1082

DE MADRON, E., J. N. KING, G. STREHLAU u. R. V. WHITE (2011):

Survival and echocardiographic data in dogs with congestive heart failure caused by mitral valve disease and treated by multiple drugs: a retrospective study of 21 cases.

The Canadian veterinary journal. La revue veterinaire canadienne 52, 1219-1225

DETAINT, D., D. MESSIKA-ZEITOUN, J. F. AVIERINOS, C. SCOTT, H. CHEN, J. C. BURNETT, JR. u. M. ENRIQUEZ-SARANO (2005):

B-type natriuretic peptide in organic mitral regurgitation: determinants and impact on outcome.

Circulation 111, 2391-2397

DINIZ, P. P., H. S. DE MORAIS, E. B. BREITSCHWERDT u. D. S. SCHWARTZ (2008):

Serum cardiac troponin I concentration in dogs with ehrlichiosis.

Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine 22, 1136-1143

ESSNER, A., R. SJOSTROM, E. AHLGREN u. B. LINDMARK (2013):

Validity and reliability of Polar(R) RS800CX heart rate monitor, measuring heart rate in dogs during standing position and at trot on a treadmill.

Physiology & behavior 114-115, 1-5

EVANS, D. L. u. R. J. ROSE (1988a):

Cardiovascular and respiratory responses in Thoroughbred horses during treadmill exercise.

The Journal of experimental biology 134, 397-408

EVANS, D. L. u. R. J. ROSE (1988b):

Cardiovascular and respiratory responses to submaximal exercise training in the thoroughbred horse.

8. Literaturverzeichnis

Pflugers Archiv : European journal of physiology 411, 316-321

EYSMANN, S. B., H. I. PALEVSKY, N. REICHEK, K. HACKNEY u. P. S. DOUGLAS (1989):

Two-dimensional and Doppler-echocardiographic and cardiac catheterization correlates of survival in primary pulmonary hypertension.

Circulation 80, 353-360

FAIRMAN, N. B. (1992):

Evaluation of Pulse Oximetry as a Continuous Monitoring Technique in Critically Ill Dogs in the Small Animal Intensive Care Unit.

Journal of Veterinary Emergency and Critical Care 2, 50-56

FERASIN, L. u. S. MARCORA (2007):

A pilot study to assess the feasibility of a submaximal exercise test to measure individual response to cardiac medication in dogs with acquired heart failure.

Veterinary research communications 31, 725-737

FERTIN, M., B. HENNACHE, M. HAMON, P. V. ENNEZAT, F. BIAUSQUE, M. ELKOHEN, O. NUGUE, O. TRICOT, N. LAMBLIN, F. PINET u. C. BAUTERS (2010):

Usefulness of serial assessment of B-type natriuretic peptide, troponin I, and C-reactive protein to predict left ventricular remodeling after acute myocardial infarction (from the REVE-2 study).

The American journal of cardiology 106, 1410-1416

FILATOV, V. L., A. G. KATRUKHA, T. V. BULARGINA u. N. B. GUSEV (1999):

Troponin: structure, properties, and mechanism of functioning.

Biochemistry. Biokhimiia 64, 969-985

FONFARA, S., J. LOUREIRO, S. SWIFT, R. JAMES, P. CRIPPS u. J. DUKES-MCEWAN (2010):

Cardiac troponin I as a marker for severity and prognosis of cardiac disease in dogs.

Veterinary journal (London, England : 1997) 184, 334-339

8. Literaturverzeichnis

FOX, P. R., M. A. OYAMA, M. J. HEZZELL, J. E. RUSH, T. P. NGUYENBA, T. C. DEFRANCESCO, L. B. LEHMKUHL, H. B. KELLIHAN, B. BULMER, S. G. GORDON, S. M. CUNNINGHAM, J. MACGREGOR, R. L. STEPIEN, B. LEFBOM, D. ADIN u. K. LAMB (2014):

Relationship of plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide concentrations to heart failure classification and cause of respiratory distress in dogs using a 2nd generation ELISA assay.

Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine 29, 171-179

FRAIPONT, A., E. VAN ERCK, E. RAMERY, G. FORTIER, P. LEKEUX u. T. ART (2012):

Assessing fitness in endurance horses.

The Canadian veterinary journal. La revue veterinaire canadienne 53, 311-314

FREDERICKS, S., G. K. MERTON, M. J. LERENA, P. HEINING, N. D. CARTER u. D. W. HOLT (2001):

Cardiac troponins and creatine kinase content of striated muscle in common laboratory animals.

Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry 304, 65-74

FURIAN, M., S. E. HARTMANN, T. D. LATSHANG, D. FLUECK, C. MURER, P. M. SCHEIWILLER, B. OSMONOV, S. ULRICH, M. KOHLER, M. J. POULIN u. K. E. BLOCH (2018):

Exercise Performance of Lowlanders with COPD at 2,590 m: Data from a Randomized Trial.

Respiration; international review of thoracic diseases

GIBBONS, R. J., G. J. BALADY, J. W. BEASLEY, J. T. BRICKER, W. F. DUVERNOY, V. F. FROELICHER, D. B. MARK, T. H. MARWICK, B. D. MCCALLISTER, P. D. THOMPSON, JR., W. L. WINTERS, F. G. YANOWITZ, J. L. RITCHIE, R. J. GIBBONS, M. D. CHEITLIN, K. A. EAGLE, T. J. GARDNER, A. GARSON, JR., R. P. LEWIS, R. A. O'ROURKE u. T. J. RYAN (1997):

ACC/AHA Guidelines for Exercise Testing. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on Exercise Testing).

Journal of the American College of Cardiology 30, 260-311

8. Literaturverzeichnis

GORDON, S. G., A. B. SAUNDERS, C. D. HARIU, M. M. BOGGESS u. M. W. MILLER (2012):

Retrospective review of carvedilol administration in 38 dogs with preclinical chronic valvular heart disease.

Journal of veterinary cardiology : the official journal of the European Society of Veterinary Cardiology 14, 243-252

GOUTAL, C. M., I. KEIR, S. KENNEY, J. E. RUSH u. L. M. FREEMAN (2010):

Evaluation of acute congestive heart failure in dogs and cats: 145 cases (2007-2008).

Journal of veterinary emergency and critical care (San Antonio, Tex. : 2001) 20, 330-337

GRANT, S., K. MCMILLAN, J. NEWELL, L. WOOD, S. KEATLEY, D. SIMPSON, K. LESLIE u. S. FAIRLIE-CLARK (2002):

Reproducibility of the blood lactate threshold, 4 mmol.l(-1) marker, heart rate and ratings of perceived exertion during incremental treadmill exercise in humans.

European journal of applied physiology 87, 159-166

GUYATT, G. H., M. J. SULLIVAN, P. J. THOMPSON, E. L. FALLEN, S. O. PUGSLEY, D. W. TAYLOR u. L. B. BERMAN (1985):

The 6-minute walk: a new measure of exercise capacity in patients with chronic heart failure.

Canadian Medical Association journal 132, 919-923

HAGGSTROM, J., A. BOSWOOD, M. O'GRADY, O. JONS, S. SMITH, S. SWIFT, M. BORGARELLI, B. GAVAGHAN, J. G. KRESKEN, M. PATTESON, B. ABLAD, C. M. BUSSADORI, T. GLAUS, A. KOVACEVIC, M. RAPP, R. A. SANTILLI, A. TIDHOLM, A. ERIKSSON, M. C. BELANGER, M. DEINERT, C. J. LITTLE, C. KVART, A. FRENCH, M. RONN-LANDBO, G. WESS, A. EGGERTSDOTTIR, M. LYNNE O'SULLIVAN, M. SCHNEIDER, C. W. LOMBARD, J. DUKES-MCEWAN, R. WILLIS, A. LOUVET u. R. DIFRUSCIA (2013):

Longitudinal analysis of quality of life, clinical, radiographic, echocardiographic, and laboratory variables in dogs with myxomatous mitral valve disease receiving pimobendan or benazepril: the QUEST study.

Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine 27, 1441-1451

HAIDET, G. C. (1989):

8. Literaturverzeichnis

Dynamic exercise in senescent beagles: oxygen consumption and hemodynamic responses.

The American journal of physiology 257, 1428-1437

HAMACHER, L., R. DORFELT, M. MULLER u. G. WESS (2015):

Serum cardiac troponin I concentrations in dogs with systemic inflammatory response syndrome.

Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine 29, 164-170

HENJES, C. R., S. HUNGERBUHLER, I. B. BOJARSKI, I. NOLTE u. P. WEFSTAEDT (2012):

Comparison of multi-detector row computed tomography with echocardiography for assessment of left ventricular function in healthy dogs.

American journal of veterinary research 73, 393-403

HENJES, C. R., I. NOLTE u. P. WEFSTAEDT (2011):

Multidetector-row computed tomography of thoracic aortic anomalies in dogs and cats: patent ductus arteriosus and vascular rings.

BMC veterinary research 7, 57

HENRI, C., L. A. PIERARD, P. LANCELLOTTI, F. P. MONGEON, P. PIBAROT u. A. J. BASMADJIAN (2014):

Exercise testing and stress imaging in valvular heart disease.

The Canadian journal of cardiology 30, 1012-1026

HEZZELL, M. J., A. BOSWOOD, Y. M. CHANG, W. MOONARMART, K. SOUTTAR u. J. ELLIOTT (2012):

The combined prognostic potential of serum high-sensitivity cardiac troponin I and N-terminal pro-B-type natriuretic peptide concentrations in dogs with degenerative mitral valve disease.

Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine 26, 302-311

HORWICH, T. B., J. PATEL, W. R. MACLELLAN u. G. C. FONAROW (2003):

8. Literaturverzeichnis

Cardiac troponin I is associated with impaired hemodynamics, progressive left ventricular dysfunction, and increased mortality rates in advanced heart failure.

Circulation 108, 833-838

HUNT, H., N. CAVE, J. BRIDGES, K. GEDYE u. K. HILL (2017):

Plasma NT-proBNP and Cell-Free DNA Concentrations after Prolonged Strenuous Exercise in Working Farm Dogs.

Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine 32, 135-141

HUSS, B., M. ANDERSON, K. BRANSON, C. WAGNER-MANN u. F. MANN (1995):

Evaluation of pulse oximeter probes and probe placement in healthy dogs.

Journal of the American Animal Hospital Association 31, 9-14

ICHINOSE, M., J. A. SALA-MERCADO, M. COUTSOS, Z. LI, T. K. ICHINOSE, E. DAWE, D. FANO u. D. S. O'LEARY (2012):

Dynamic cardiac output regulation at rest, during exercise, and muscle metaboreflex activation: impact of congestive heart failure.

American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology 303, R757-768

JOURDAIN, P., G. JONDEAU, F. FUNCK, P. GUEFFET, A. LE HELLOCO, E. DONAL, J. F. AUPETIT, M. C. AUMONT, M. GALINIER, J. C. EICHER, A. COHEN-SOLAL u. Y. JUILLIERE (2007):

Plasma brain natriuretic peptide-guided therapy to improve outcome in heart failure: the STARS-BNP Multicenter Study.

Journal of the American College of Cardiology 49, 1733-1739

KANG, O. D. u. Y. S. PARK (2017):

Effect of age on heart rate, blood lactate concentration, packed cell volume and hemoglobin to exercise in Jeju crossbreed horses.

Journal of animal science and technology 59, 2

KELLIHAN, H. B., M. A. OYAMA, C. A. REYNOLDS u. R. L. STEPIEN (2009):

8. Literaturverzeichnis

Weekly variability of plasma and serum NT-proBNP measurements in normal dogs.

Journal of veterinary cardiology : the official journal of the European Society of Veterinary Cardiology 11 Suppl 1, 93-97

KEREN, G., S. KATZ, J. STROM, E. H. SONNENBLICK u. T. H. LEJEMTEL (1989):

Dynamic mitral regurgitation. An important determinant of the hemodynamic response to load alterations and inotropic therapy in severe heart failure.

Circulation 80, 306-313

KITABATAKE, A., M. INOUE, M. ASAO, T. MASUYAMA, J. TANOUCI, T. MORITA, M. MISHIMA, M. UEMATSU, T. SHIMAZU, M. HORI u. H. ABE (1983):

Noninvasive evaluation of pulmonary hypertension by a pulsed Doppler technique.

Circulation 68, 302-309

KITTLESON, M. D., L. E. JOHNSON u. P. D. PION (1996):

Submaximal exercise testing using lactate threshold and venous oxygen tension as endpoints in normal dogs and in dogs with heart failure.

Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine 10, 21-27

KOCATURK, M., S. MARTINEZ, O. ERALP, A. TVARIJONAVICIUTE, J. CERON u. Z. YILMAZ (2012):

Tei index (myocardial performance index) and cardiac biomarkers in dogs with parvoviral enteritis.

Research in veterinary science 92, 24-29

KRAETSCHMER, S., K. LUDWIG, F. MENESES, I. NOLTE u. D. SIMON (2008):

Vertebral heart scale in the beagle dog.

The Journal of small animal practice 49, 240-243

KRONFELD, D. S., P. L. FERRANTE u. D. GRANDJEAN (1994):

Optimal nutrition for athletic performance, with emphasis on fat adaptation in dogs and horses.

8. Literaturverzeichnis

The Journal of nutrition 124, 2745s-2753s

KRUPICKA, J., T. JANOTA, Z. KASALOVA u. J. HRADEC (2010):

Effect of short-term maximal exercise on BNP plasma levels in healthy individuals.

Physiological research 59, 625-628

KUANG, H. Y., Y. H. WU, Q. J. YI, J. TIAN, C. WU, W. N. SHOU u. T. W. LU (2018):

The efficiency of endothelin receptor antagonist bosentan for pulmonary arterial hypertension associated with congenital heart disease: A systematic review and meta-analysis.

Medicine 97, e0075

KVART, C., J. HAGGSTROM, H. D. PEDERSEN, K. HANSSON, A. ERIKSSON, A. K. JARVINEN, A. TIDHOLM, K. BSENKO, E. AHLGREN, M. ILVES, B. ABLAD, T. FALK, E. BJERKFAS, S. GUNDLER, P. LORD, G. WEGELAND, E. ADOLFSSON u. J. CORFITZEN (2002):

Efficacy of enalapril for prevention of congestive heart failure in dogs with myxomatous valve disease and asymptomatic mitral regurgitation.

Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine 16, 80-88

LANCELLOTTI, P., P. TROISFONTAINES, A. C. TOUSSAINT u. L. A. PIERARD (2003):

Prognostic importance of exercise-induced changes in mitral regurgitation in patients with chronic ischemic left ventricular dysfunction.

Circulation 108, 1713-1717

LANGHORN, R., V. THAWLEY, M. A. OYAMA, L. G. KING, M. C. MACHEN, D. J. TRAFNY, J. L. WILLESEN, I. TARNOW u. M. KJELGAARD-HANSEN (2014):

Prediction of long-term outcome by measurement of serum concentration of cardiac troponins in critically ill dogs with systemic inflammation.

Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine 28, 1492-1497

LARSEN, A. I., T. AARSLAND, M. KRISTIENSEN, A. HAUGLAND u. K. DICKSTEIN (2001):

8. Literaturverzeichnis

Assessing the effect of exercise training in men with heart failure; comparison of maximal, submaximal and endurance exercise protocols.

European heart journal 22, 684-692

LEBRUN, F., P. LANCELLOTTI u. L. A. PIERARD (2001):

Quantitation of functional mitral regurgitation during bicycle exercise in patients with heart failure.

Journal of the American College of Cardiology 38, 1685-1692

LIANG, C., R. R. TUTTLE, W. B. HOOD, JR. u. H. GAVRAS (1979):

Conditioning effects of chronic infusions of dobutamine. Comparison with exercise training.

The Journal of clinical investigation 64, 613-619

LILJA-MAULA, L. I., H. P. LAURILA, P. SYRJA, A. K. LAPPALAINEN, E. KRAFFT, C. CLERCX u. M. M. RAJAMAKI (2014):

Long-term outcome and use of 6-minute walk test in West Highland White Terriers with idiopathic pulmonary fibrosis.

Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine 28, 379-385

LOBETTI, R., R. KIRBERGER, N. KELLER, F. KETTNER u. E. DVIR (2012):

NT-ProBNP and cardiac troponin I in virulent canine babesiosis.

Veterinary parasitology 190, 333-339

LOPEZ-ALVAREZ, J., J. ELLIOTT, D. PFEIFFER, Y. M. CHANG, M. MATTIN, W. MOONARMART, M. J. HEZZELL u. A. BOSWOOD (2015):

Clinical severity score system in dogs with degenerative mitral valve disease.

Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine 29, 575-581

LORKE, M., M. WILLEN, K. LUCAS, M. BEYERBACH, P. WEFSTAEDT, H. MURUA ESCOBAR u. I. NOLTE (2017):

Comparative kinematic gait analysis in young and old Beagle dogs.

8. Literaturverzeichnis

Journal of veterinary science 18, 521-530

LUCIA, P., A. COPPOLA, L. L. MANETTI, M. L. SEBASTIANI, A. COLLIARDO, F. CERRONI, C. DE MARTINIS u. P. M. STRAPPINI (2001):

Cardiac troponin I in acute coronary ischemic syndromes. Epidemiological and clinical correlates.

International journal of cardiology 77, 215-222

MAGNE, J., H. MAHJOUB, P. PIBAROT, C. PIRLET, L. A. PIERARD u. P. LANCELLOTTI (2012):

Prognostic importance of exercise brain natriuretic peptide in asymptomatic degenerative mitral regurgitation.

European journal of heart failure 14, 1293-1302

MALLIANI, A. u. M. PAGANI (1983):

The role of the sympathetic nervous system in congestive heart failure.

European heart journal 4 Suppl A, 49-54

MANENS, J., R. RICCI, C. DAMOISEAUX, S. GAULT, B. CONTIERO, M. DIEZ u. C. CLERCX (2014):

Effect of body weight loss on cardiopulmonary function assessed by 6-minute walk test and arterial blood gas analysis in obese dogs.

Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine 28, 371-378

MARINUS, S. M., H. VAN ENGELEN u. V. SZATMARI (2017):

N-Terminal Pro-B-Type Natriuretic Peptide and Phonocardiography in Differentiating Innocent Cardiac Murmurs from Congenital Cardiac Anomalies in Asymptomatic Puppies.

Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine 31, 661-667

MCELROY, P. A., J. S. JANICKI u. K. T. WEBER (1988):

Cardiopulmonary exercise testing in congestive heart failure.

The American journal of cardiology 62, 35a-40a

8. Literaturverzeichnis

MCENTEE, K., H. AMORY, C. CLERCX, D. SOYEUR, C. MICHAUX, O. VANHAEVERBEEK, O. JACQMOT u. M. HENROTEAUX (1998):

Physiologic response to dobutamine infusion during cardiac stress testing of dogs.

American journal of veterinary research 59, 1160-1165

MCKEEVER, K. H. (2016):

Exercise and Rehabilitation of Older Horses.

The Veterinary clinics of North America. Equine practice 32, 317-332

MCKENZIE, E. C., E. JOSE-CUNILLERAS, K. W. HINCHCLIFF, T. C. HOLBROOK, C. ROYER, M. E. PAYTON, K. WILLIAMSON, S. NELSON, M. D. WILLARD u. M. S. DAVIS (2007):

Serum chemistry alterations in Alaskan sled dogs during five successive days of prolonged endurance exercise.

Journal of the American Veterinary Medical Association 230, 1486-1492

MESSIKA-ZEITOUN, D., B. D. JOHNSON, V. NKOMO, J. F. AVIERINOS, T. G. ALLISON, C. SCOTT, A. J. TAJIK u. M. ENRIQUEZ-SARANO (2006):

Cardiopulmonary exercise testing determination of functional capacity in mitral regurgitation: physiologic and outcome implications.

Journal of the American College of Cardiology 47, 2521-2527

MEYER, J., P. WEFSTAEDT, P. DZIALLAS, M. BEYERBACH, I. NOLTE u. S. O. HUNGERBUHLER (2013):

Assessment of left ventricular volumes by use of one-, two-, and three-dimensional echocardiography versus magnetic resonance imaging in healthy dogs.

American journal of veterinary research 74, 1223-1230

MILLER, T. D., J. W. ASKEW u. N. S. ANAVEKAR (2016):

Noninvasive Stress Testing for Coronary Artery Disease.

Heart failure clinics 12, 65-82

MINORS, S. L. u. M. R. O'GRADY (1998):

8. Literaturverzeichnis

Resting and dobutamine stress echocardiographic factors associated with the development of occult dilated cardiomyopathy in healthy Doberman pinscher dogs.

Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine 12, 369-380

MIRANDA, M. C., A. QUEIROZ-NETO, J. R. SILVA-JUNIOR, M. C. PEREIRA, O. A. SOARES, R. T. BORGHI u. G. C. FERRAZ (2014):

Comparison of the lactate minimum speed and the maximal lactate steady state to determine aerobic capacity in purebred Arabian horses.

New Zealand veterinary journal 62, 15-20

MOONARMART, W., A. BOSWOOD, V. LUIS FUENTES, D. BRODBELT, K. SOUTTAR u. J. ELLIOTT (2010):

N-terminal pro B-type natriuretic peptide and left ventricular diameter independently predict mortality in dogs with mitral valve disease.

The Journal of small animal practice 51, 84-96

MUNOZ, A., R. SANTISTEBAN, M. D. RUBIO, E. I. AGUERA, B. M. ESCRIBANO u. F. M. CASTEJON (1999):

Locomotor, cardiocirculatory and metabolic adaptations to training in Andalusian and Anglo-Arabian horses.

Research in veterinary science 66, 25-31

MUNSTERS, C. C., A. VAN IWAARDEN, R. VAN WEEREN u. M. M. SLOET VAN OLDRUITENBORGH-OOSTERBAAN (2014):

Exercise testing in Warmblood sport horses under field conditions.

Veterinary journal (London, England : 1997) 202, 11-19

MUSCH, T. I., D. B. FRIEDMAN, G. C. HAIDET, J. STRAY-GUNDERSEN, T. G. WALDROP u. G. A. ORDWAY (1986):

Arterial blood gases and acid-base status of dogs during graded dynamic exercise.

Journal of applied physiology 61, 1914-1919

NGANVONGPANIT, K., S. KONGSAWASDI, B. CHUATRAKOON u. T. YANO (2013):

8. Literaturverzeichnis

Heart rate change during aquatic exercise in small, medium and large healthy dogs.

The Thai Journal of Veterinary Medicine 41, 455-462

NICKENIG, G., F. MOHR, M. KELM, K.-H. KUCK, P. BOEKSTEGERS, J. HAUSLEITER, W. SCHILLINGER, J. BRACHMANN, R. LANGE u. H. REICHENSPURNER (2013):

Konsensus der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie–Herz-und Kreislaufforschung–und der Deutschen Gesellschaft für Thorax-, Herz-und Gefäßchirurgie zur Behandlung der Mitralklappeninsuffizienz.

Der Kardiologe 7, 76-90

NICOLSON, G. P., A. MCGRATH, R. A. WEBSTER, J. LI, S. KAYE, R. MALIK u. N. J. BEIJERINK (2016):

NT-proBNP and cardiac troponin I concentrations in dogs with tick paralysis caused by *Ixodes holocyclus*.

Australian veterinary journal 94, 274-279

NIEMELA, M., P. KANGASTUPA, O. NIEMELA, R. BLOIGU u. T. JUVONEN (2016):

Individual responses in biomarkers of health after marathon and half-marathon running: is age a factor in troponin changes?

Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation 76, 575-580

NOONAN, V. u. E. DEAN (2000):

Submaximal exercise testing: clinical application and interpretation.

Physical therapy 80, 782-807

O'BRIEN, P., D. SMITH, T. KNECHTEL, M. MARCHAK, I. PRUIMBOOM-BREES, D. BREES, D. SPRATT, F. ARCHER, P. BUTLER u. A. POTTER (2006):

Cardiac troponin I is a sensitive, specific biomarker of cardiac injury in laboratory animals.

Laboratory Animals 40, 153-171

O'GRADY, M. R., M. L. O'SULLIVAN, S. L. MINORS u. R. HORNE (2009):

Efficacy of benazepril hydrochloride to delay the progression of occult dilated cardiomyopathy in Doberman Pinschers.

8. Literaturverzeichnis

Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine 23, 977-983

O'KEEFFE, S. T., M. LYE, C. DONNELLAN u. D. N. CARMICHAEL (1998):

Reproducibility and responsiveness of quality of life assessment and six minute walk test in elderly heart failure patients.

Heart (British Cardiac Society) 80, 377-382

ORDWAY, G. A., D. L. FLOYD, J. C. LONGHURST u. J. H. MITCHELL (1984):

Oxygen consumption and hemodynamic responses during graded treadmill exercise in the dog.

Journal of applied physiology: respiratory, environmental and exercise physiology 57, 601-607

OYAMA, M. A. (2013):

Using cardiac biomarkers in veterinary practice.

The Veterinary clinics of North America. Small animal practice 43, 1261-1272

OYAMA, M. A., P. R. FOX, J. E. RUSH, E. A. ROZANSKI u. M. LESSER (2008):

Clinical utility of serum N-terminal pro-B-type natriuretic peptide concentration for identifying cardiac disease in dogs and assessing disease severity.

Journal of the American Veterinary Medical Association 232, 1496-1503

OYAMA, M. A. u. D. D. SISSON (2004):

Cardiac troponin-I concentration in dogs with cardiac disease.

Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine 18, 831-839

PANAGOPOULOU, V., S. DEFTEREOS, C. KOSSYVAKIS, K. RAISAKIS, G. GIANNOPOULOS, G. BOURAS, V. PYRGAKIS u. M. W. CLEMAN (2013):

NTproBNP: an important biomarker in cardiac diseases.

Current topics in medicinal chemistry 13, 82-94

8. Literaturverzeichnis

PATH, G. J., X. Z. DAI, J. S. SCHWARTZ, D. G. BENDITT u. R. J. BACHE (1991):

Effects of amiodarone with and without polysorbate 80 on myocardial oxygen consumption and coronary blood flow during treadmill exercise in the dog.

Journal of cardiovascular pharmacology 18, 11-16

PETEIRO, J. u. A. BOUZAS-MOSQUERA (2010):

Exercise echocardiography.

World journal of cardiology 2, 223-232

PICANO, E. u. P. A. PELLIKKA (2014):

Stress echo applications beyond coronary artery disease.

European heart journal 35, 1033-1040

PICANO, E., P. PIBAROT, P. LANCELLOTTI, J. L. MONIN u. R. O. BONOW (2009):

The emerging role of exercise testing and stress echocardiography in valvular heart disease.

Journal of the American College of Cardiology 54, 2251-2260

PICCIONE, G., S. CASELLA, M. PANZERA, C. GIANNETTO u. F. FAZIO (2012):

Effect of moderate treadmill exercise on some physiological parameters in untrained Beagle dogs.

Experimental animals / Japanese Association for Laboratory Animal Science 61, 511-515

POUCHELON, J. L., N. JAMET, V. GOUNI, R. TISSIER, F. SERRES, C. CARLOS SAMPEDRANO, M. CASTAIGNET, H. P. LEFEBVRE u. V. CHETBOUL (2008):

Effect of benazepril on survival and cardiac events in dogs with asymptomatic mitral valve disease: a retrospective study of 141 cases.

Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine 22, 905-914

PROSEK, R., D. D. SISSON, M. A. OYAMA u. P. F. SOLTER (2007):

Distinguishing cardiac and noncardiac dyspnea in 48 dogs using plasma atrial natriuretic factor, B-type natriuretic factor, endothelin, and cardiac troponin-I.

8. Literaturverzeichnis

Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine
21, 238-242

RADOSEVICH, P. M., J. A. NASH, D. B. LACY, C. O'DONOVAN, P. E. WILLIAMS u. N. N. ABUMRAD (1989):

Effects of low- and high-intensity exercise on plasma and cerebrospinal fluid levels of ir-beta-endorphin, ACTH, cortisol, norepinephrine and glucose in the conscious dog.

Brain research 498, 89-98

REYNOLDS, C. A., D. C. BROWN, J. E. RUSH, P. R. FOX, T. P. NGUYENBA, L. B. LEHMKUHL, S. G. GORDON, H. B. KELLIHAN, R. L. STEPIEN, B. K. LEFBOM, C. K. MEIER u. M. A. OYAMA (2012):

Prediction of first onset of congestive heart failure in dogs with degenerative mitral valve disease: the PREDICT cohort study.

Journal of veterinary cardiology : the official journal of the European Society of Veterinary Cardiology 14, 193-202

RIMOLDI, O., M. PAGANI, M. R. PAGANI, G. BASELLI u. A. MALLIANI (1990):

Sympathetic activation during treadmill exercise in the conscious dog: assessment with spectral analysis of heart period and systolic pressure variabilities.

Journal of the autonomic nervous system 30 Suppl, 129-132

ROBBINS, P. J., M. T. RAMOS, B. M. ZANGHI u. C. M. OTTO (2017):

Environmental and Physiological Factors Associated With Stamina in Dogs Exercising in High Ambient Temperatures.

Frontiers in veterinary science 4, 144

ROVIRA, S., A. MUNOZ u. M. BENITO (2008):

Effect of exercise on physiological, blood and endocrine parameters in search and rescue-trained dogs.

Veterinární medicína 53, 333

RUAUX, C., K. SCOLLAN, J. S. SUCHODOLSKI, J. M. STEINER u. D. D. SISSON (2015):

8. Literaturverzeichnis

Biologic variability in NT-proBNP and cardiac troponin-I in healthy dogs and dogs with mitral valve degeneration.

Veterinary clinical pathology / American Society for Veterinary Clinical Pathology 44, 420-430

SARTOR, F., G. VERNILLO, H. M. DE MORREE, A. G. BONOMI, A. LA TORRE, H. P. KUBIS u. A. VEICSTEINAS (2013):

Estimation of maximal oxygen uptake via submaximal exercise testing in sports, clinical, and home settings.

Sports medicine (Auckland, N.Z.) 43, 865-873

SCHOBER, K. E. u. H. BAADE (2006):

Doppler echocardiographic prediction of pulmonary hypertension in West Highland white terriers with chronic pulmonary disease.

Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine 20, 912-920

SCHULZ, O. u. A. KROMER (2002):

Cardiac troponin I: a potential marker of exercise intolerance in patients with moderate heart failure.

American heart journal 144, 351-358

SEITELBERGER, R., B. D. GUTH, G. HEUSCH, J. D. LEE, K. KATAYAMA u. J. ROSS, JR. (1988):

Intracoronary alpha 2-adrenergic receptor blockade attenuates ischemia in conscious dogs during exercise.

Circulation research 62, 436-442

SENDAK, M. J., A. P. HARRIS u. R. T. DONHAM (1988):

Accuracy of pulse oximetry during arterial oxyhemoglobin desaturation in dogs.

Anesthesiology 68, 111-114

SERRA, M., S. PAPAKONSTANTINO, M. ADAMCOVA u. P. J. O'BRIEN (2010):

8. Literaturverzeichnis

Veterinary and toxicological applications for the detection of cardiac injury using cardiac troponin.

Veterinary journal (London, England : 1997) 185, 50-57

SERRES, F., V. CHETBOUL, V. GOUNI, R. TISSIER, C. C. SAMPEDRANO u. J. L. POUCHELON (2007):

Diagnostic value of echo-Doppler and tissue Doppler imaging in dogs with pulmonary arterial hypertension.

Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine 21, 1280-1289

SERRES, F., V. CHETBOUL, R. TISSIER, C. CARLOS SAMPEDRANO, V. GOUNI, A. P. NICOLLE u. J. L. POUCHELON (2006):

Doppler echocardiography-derived evidence of pulmonary arterial hypertension in dogs with degenerative mitral valve disease: 86 cases (2001-2005).

Journal of the American Veterinary Medical Association 229, 1772-1778

SHARMA, V., D. E. NEWBY, R. A. STEWART, M. LEE, R. GABRIEL, N. VAN PELT u. A. J. KERR (2015):

Exercise stress echocardiography in patients with valvular heart disease.

Echo research and practice 2, 89-98

SIESLACK, A. K., P. DZIALLAS, I. NOLTE u. P. WEFSTAEDT (2013):

Comparative assessment of left ventricular function variables determined via cardiac computed tomography and cardiac magnetic resonance imaging in dogs.

American journal of veterinary research 74, 990-998

SIESLACK, A. K., P. DZIALLAS, I. NOLTE, P. WEFSTAEDT u. S. O. HUNGERBUHLER (2014):

Quantification of right ventricular volume in dogs: a comparative study between three-dimensional echocardiography and computed tomography with the reference method magnetic resonance imaging.

BMC veterinary research 10, 242

8. Literaturverzeichnis

SIETSEMA, K. E., I. BEN-DOV, Y. Y. ZHANG, C. SULLIVAN u. K. WASSERMAN (1994):

Dynamics of oxygen uptake for submaximal exercise and recovery in patients with chronic heart failure.

Chest 105, 1693-1700

SILVER, M. A., A. MAISEL, C. W. YANCY, P. A. MCCULLOUGH, J. C. BURNETT, JR., G. S. FRANCIS, M. R. MEHRA, W. F. T. PEACOCK, G. FONAROW, W. B. GIBLER, D. A. MORROW u. J. HOLLANDER (2004):

BNP Consensus Panel 2004: A clinical approach for the diagnostic, prognostic, screening, treatment monitoring, and therapeutic roles of natriuretic peptides in cardiovascular diseases.

Congestive heart failure 10, 1-30

SILVESTRINI, P., M. PIVIANI, J. ALBEROLA, A. RODRIGUEZ-CORTES, M. PLANELLAS, X. ROURA, P. J. O'BRIEN u. J. PASTOR (2012):

Serum cardiac troponin I concentrations in dogs with leishmaniasis: correlation with age and clinicopathologic abnormalities.

Veterinary clinical pathology / American Society for Veterinary Clinical Pathology 41, 568-574

SINHA, S. K., S. GARG, R. THAKUR, V. KRISHNA, K. SINGH, M. SACHAN, A. GOEL, M. RAZI, U. PANDEY u. C. M. VARMA (2016):

Prognostic Importance of Exercise Brain Natriuretic Peptide in Asymptomatic Chronic Organic Severe Mitral Regurgitation: An Observational Study.

Journal of clinical medicine research 8, 797-804

SJOSTRAND, K., G. WESS, I. LJUNGVALL, J. HAGGSTROM, A. C. MERVEILLE, M. WIBERG, V. GOUNI, J. LUNDGREN WILLESEN, S. HANAS, A. S. LEQUARRE, L. MEJER SORENSEN, J. WOLF, L. TIRET, M. KIERCZAK, S. FORSBERG, K. MCENTEE, G. BATAILLE, E. SEPPALA, K. LINDBLAD-TOH, M. GEORGES, H. LOHI, V. CHETBOUL, M. FREDHOLM u. K. HOGLUND (2014):

Breed differences in natriuretic peptides in healthy dogs.

Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine 28, 451-457

SNEDDON, J. C., P. P. MINNAAR, J. F. GROSSKOPF u. H. T. GROENEVELD (1989):

8. Literaturverzeichnis

Physiological and blood biochemical responses to submaximal treadmill exercise in Canaan dogs before, during and after training.

Journal of the South African Veterinary Association 60, 87-91

SPASOJEVIC KOSIC, L., D. R. TRAILOVIC u. R. MATUNOVIC (2012):

Resting and dobutamine stress test induced serum concentrations of brain natriuretic peptide in German Shepherd dogs.

Research in veterinary science 93, 1446-1453

SPRATT, D. P., R. J. MELLANBY, N. DRURY u. J. ARCHER (2005):

Cardiac troponin I: evaluation I of a biomarker for the diagnosis of heart disease in the dog.

The Journal of small animal practice 46, 139-145

STEWART, G. M., A. YAMADA, L. J. HASELER, J. J. KAVANAGH, J. CHAN, G. KOERBIN, C. WOOD u. S. SABAPATHY (2016):

Influence of exercise intensity and duration on functional and biochemical perturbations in the human heart.

The Journal of physiology 594, 3031-3044

STONE, H. L. (1977):

Cardiac function and exercise training in conscious dogs.

Journal of applied physiology: respiratory, environmental and exercise physiology 42, 824-832

SUMMERFIELD, N. J., A. BOSWOOD, M. R. O'GRADY, S. G. GORDON, J. DUKES-MCEWAN, M. A. OYAMA, S. SMITH, M. PATTESON, A. T. FRENCH, G. J. CULSHAW, L. BRAZ-RUIVO, A. ESTRADA, M. L. O'SULLIVAN, J. LOUREIRO, R. WILLIS u. P. WATSON (2012):

Efficacy of pimobendan in the prevention of congestive heart failure or sudden death in Doberman Pinschers with preclinical dilated cardiomyopathy (the PROTECT Study).

Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine 26, 1337-1349

8. Literaturverzeichnis

SUNI, J. H., P. OJA, R. T. LAUKKANEN, S. I. MIILUNPALO, M. E. PASANEN, I. M. VUORI, T. M. VARTIAINEN u. K. BOS (1996):

Health-related fitness test battery for adults: aspects of reliability.

Archives of physical medicine and rehabilitation 77, 399-405

SUTTON, T. M., R. A. STEWART, I. L. GERBER, T. M. WEST, A. M. RICHARDS, T. G. YANDLE u. A. J. KERR (2003):

Plasma natriuretic peptide levels increase with symptoms and severity of mitral regurgitation.

Journal of the American College of Cardiology 41, 2280-2287

SUZUKI, R., H. MATSUMOTO, T. TESHIMA, Y. MOCHIZUKI u. H. KOYAMA (2014):

Dobutamine stress echocardiography for assessment of systolic function in dogs with experimentally induced mitral regurgitation.

Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine 28, 386-392

SWIMMER, R. A. u. E. A. ROZANSKI (2011):

Evaluation of the 6-minute walk test in pet dogs.

Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine 25, 405-406

TANAKA, H. u. D. R. SEALS (2008):

Endurance exercise performance in Masters athletes: age-associated changes and underlying physiological mechanisms.

The Journal of physiology 586, 55-63

TATER, G., N. EBERLE, S. HUNGERBUEHLER, A. JOETZKE, I. NOLTE, G. WESS u. D. BETZ (2017):

Assessment of cardiac troponin I (cTnI) and tissue velocity imaging (TVI) in 14 dogs with malignant lymphoma undergoing chemotherapy treatment with doxorubicin.

Veterinary and comparative oncology 15, 55-64

TEICHHOLZ, L. E., T. KREULEN, M. V. HERMAN u. R. GORLIN (1976):

8. Literaturverzeichnis

Problems in echocardiographic volume determinations: echocardiographic-angiographic correlations in the presence of absence of asynergy.

The American journal of cardiology 37, 7-11

THARWAT, M., F. AL-SOBAYIL u. S. BUCZINSKI (2013):

Influence of racing on the serum concentrations of the cardiac biomarkers troponin I and creatine kinase myocardial band (CK-MB) in racing greyhounds.

Veterinary journal 197, 900-902

THOMAS u. R. L. WOODS (2003):

Haemodynamic action of B-type natriuretic peptide substantially outlasts its plasma half-life in conscious dogs.

Clinical and experimental pharmacology & physiology 30, 369-375

THOMAS, W. P., C. E. GABER, G. J. JACOBS, P. M. KAPLAN, C. W. LOMBARD, N. S. MOISE u. B. L. MOSES (1993):

Recommendations for standards in transthoracic two-dimensional echocardiography in the dog and cat. Echocardiography Committee of the Specialty of Cardiology, American College of Veterinary Internal Medicine.

Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine 7, 247-252

TIPTON, C. M., R. A. CAREY, W. C. EASTIN u. H. H. ERICKSON (1974):

A submaximal test for dogs: evaluation of effects of training, detraining, and cage confinement.

Journal of applied physiology 37, 271-275

TRIPOSKIADIS, F., G. KARAYANNIS, G. GIAMOYZIS, J. SKOULARIGIS, G. LOURIDAS u. J. BUTLER (2009):

The sympathetic nervous system in heart failure physiology, pathophysiology, and clinical implications.

Journal of the American College of Cardiology 54, 1747-1762

TUNICK, P. A., R. S. FREEDBERG, A. GARGIULO u. I. KRONZON (1992):

8. Literaturverzeichnis

Exercise Doppler echocardiography as an aid to clinical decision making in mitral valve disease.

Journal of the American Society of Echocardiography : official publication of the American Society of Echocardiography 5, 225-230

VATNER, S. F. u. M. PAGANI (1976):

Cardiovascular adjustments to exercise: hemodynamics and mechanisms.

Progress in cardiovascular diseases 19, 91-108

VOLLMAR, A. C. u. P. R. FOX (2016):

Long-term Outcome of Irish Wolfhound Dogs with Preclinical Cardiomyopathy, Atrial Fibrillation, or Both Treated with Pimobendan, Benazepril Hydrochloride, or Methyldigoxin Monotherapy.

Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine 30, 553-559

WAKSHLAG, J. J., M. S. KRAUS, A. R. GELZER, R. L. DOWNEY u. P. VACCHANI (2010):

The influence of high-intensity moderate duration exercise on cardiac troponin I and C-reactive protein in sled dogs.

Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine 24, 1388-1392

WELLS, S. M. u. M. SLEEPER (2008):

Cardiac troponins.

Journal of veterinary emergency and critical care 18, 235-245

WESS, G., O. DOMENECH, J. DUKES-MCEWAN, J. HAGGSTROM u. S. GORDON (2017):

European Society of Veterinary Cardiology screening guidelines for dilated cardiomyopathy in Doberman Pinschers.

Journal of veterinary cardiology : the official journal of the European Society of Veterinary Cardiology 19, 405-415

8. Literaturverzeichnis

WESS, G., J. MAURER, J. SIMAK u. K. HARTMANN (2010):

Use of Simpson's method of disc to detect early echocardiographic changes in Doberman Pinschers with dilated cardiomyopathy.

Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine 24, 1069-1076

WILKINS, M. R., J. REDONDO u. L. A. BROWN (1997):

The natriuretic-peptide family.

Lancet 349, 1307-1310

WILLEN, M. (2016):

Untersuchungen zum Einfluss einer angepassten Ernährung auf die physische Fitness älterer Hunde unter Anwendung eines individuellen Belastungstests und Berücksichtigung kinetischer Daten.

Hannover, tierärztl. Hochsch., Diss.

WINTER, R. L., A. B. SAUNDERS, S. G. GORDON, J. S. BUCH u. M. W. MILLER (2017a):

Biologic variability of N-terminal pro-brain natriuretic peptide in healthy dogs and dogs with myxomatous mitral valve disease.

Journal of veterinary cardiology : the official journal of the European Society of Veterinary Cardiology 19, 124-131

WINTER, R. L., A. B. SAUNDERS, S. G. GORDON, M. W. MILLER, G. T. FOSGATE, J. S. SUCHODOLSKI u. J. M. STEINER (2017b):

Biologic variability of cardiac troponin I in healthy dogs and dogs with different stages of myxomatous mitral valve disease using standard and high-sensitivity immunoassays.

Veterinary clinical pathology / American Society for Veterinary Clinical Pathology 46, 299-307

WOLF, J., N. GERLACH, K. WEBER, A. KLIMA u. G. WESS (2013):

The diagnostic relevance of NT-proBNP and proANP 31-67 measurements in staging of myxomatous mitral valve disease in dogs.

8. Literaturverzeichnis

Veterinary clinical pathology / American Society for Veterinary Clinical Pathology 42, 196-206

WYATT, H. L. u. J. H. MITCHELL (1974):

Influences of physical training on the heart of dogs.

Circulation research 35, 883-889

YASUE, H., M. YOSHIMURA, H. SUMIDA, K. KIKUTA, K. KUGIYAMA, M. JOUGASAKI, H. OGAWA, K. OKUMURA, M. MUKOYAMA u. K. NAKAO (1994):

Localization and mechanism of secretion of B-type natriuretic peptide in comparison with those of A-type natriuretic peptide in normal subjects and patients with heart failure.

Circulation 90, 195-203

YOSHIDA, T., M. CHIDA, M. ICHIOKA u. Y. SUDA (1987):

Blood lactate parameters related to aerobic capacity and endurance performance.

European journal of applied physiology and occupational physiology 56, 7-11

9. Abkürzungsverzeichnis

A.	Arteria
ANOVA	Analysis of variance
ANP	Natriuretisches Peptid Typ A
AZ	Akzelerationszeit
BNP	Natriuretisches Peptid Typ B
bpm	beats per minute
CB	Cardiac biomarkers
CHIEF	Canine Heart Failure International Expert Forum
CK	Kreatinkinase
CK-MB	Kreatinkinase Muscle-Brain
cTnI	kardiales Troponin I
cTnT	kardiales Troponin T
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ET	exercise test
EZ	Ejektionszeit
HG	healthy group
HMV	Herzminutenvolumen
HR	heart rate
ICC	intraclass correlation coefficient
MR	mitral regurgitation
n	Stichprobengröße / number of dogs enrolled
NT-proBNP	N-terminales pro-natriuretisches Peptid Typ B

9. Abkürzungsverzeichnis

NP	Natriuretic peptides
NS	Not specified
PG	patient group
SD	standard deviation
V.	Vena

10. Danksagung

Zunächst möchte ich mich bei meinem Doktorvater Prof. Nolte für die Bereitstellung dieses interessanten Forschungsthemas sowie die Betreuung und Unterstützung bedanken. Ich habe in meiner Zeit sehr viel auch über wissenschaftliches Arbeiten hinaus lernen können und bin dafür sehr dankbar.

Meiner Arbeitsgruppe möchte ich dafür danken, dass ich mich immer auf sie verlassen konnte und sie mir mit Rat und Tat, auch in schweren Zeiten zur Seite stand. Sogar beim Katzensitten konnte ich auf euch zählen. Insbesondere möchte ich Annika Mohr, Florenza Ripoli und Camila Penter für die Mithilfe bei den Versuchen danken. Dr. Jan-Peter Bach danke ich für die gemeinsame Zeit im Büro und die Durchsicht diverser Texte mit konstruktiven Vorschlägen und Nayeli Schulze für die Weiterführung „meines“ Projektes und die tolle Zusammenarbeit. Auch Frau Bante, die immer den Durchblick hatte und mit viel Fingerspitzengefühl alles organisieren konnte möchte ich danken.

Ich möchte mich außerdem bei allen HundebesitzerInnen bedanken, die mit ihrer Teilnahme diese Studie möglich gemacht haben, sowie beim Institut für Tierernährung für die Kooperation, namentlich Dr. Mareike Kölln. In unserem Labor möchte ich herzlich allen für die Mithilfe, und vor allem Helen Tschörtner danken, die immer eine Lösung für alles hatte und immer ein offenes Ohr für mich.

Dr. Stephan Hungerbühler und Anna Pilgram danke ich für die Ultraschalluntersuchungen, die Fachgespräche und die moralische Unterstützung. Frau Dr. Nather von der Firma IDEXX möchte ich für ihre organisatorische Hilfe und Kooperation danken, insbesondere für die Kontakte zu IDEXX Australia.

Ich danke besonders meiner Mutter, Beatrix Wall, die mich immer unterstützt und gefördert hat und die in manchen Phasen auch viel zurückstecken musste. Ich weiß sehr zu schätzen, was du für mich getan hast und ohne dich und deine Liebe würde ich heute nicht da stehen, wo ich bin. Auch meine Oma, Edith Ehrhardt und „Tante Bärbel“ Barbara Voigt möchte ich an dieser Stelle meinen tiefen Dank für die Unterstützung aussprechen. Auch meinem

10. Danksagung

gesamten Freundeskreis herzlichsten Dank dafür, dass ihr die empathischsten, sportlichsten, nachdenklichsten, spontansten, reiselustigsten, humorvollsten Freunde seid!

Mein besonderer Dank gilt Maximilian Nussbaum: du hast mich inspiriert und motiviert und warst ein Antrieb und Sonnenschein. Ich bin unendlich dankbar, dass unsere Wege sich gekreuzt haben und wir einander so viel geben konnten. Du hast mein Leben wahrlich bereichert!

Der Studienstiftung gebührt mein großer Dank, dass sie mich nicht nur finanziell unterstützt, sondern mir ermöglicht hat mit so vielen außergewöhnlichen Menschen in Kontakt zu kommen. Das ideelle Programm hat meinen Horizont ungemein erweitert, mir Einblicke in sehr viele interessante Themenfelder gegeben und mir einen völlig neuen und spannenden Lebensweg aufgezeigt. Dabei möchte ich auch die konstruktive und respektvolle Zusammenarbeit mit meinem Vertrauensdozenten Prof. Gasse positiv hervorheben und mich für die tolle und spannende Zeit in Ihrer Vertrauensdozentengruppe bedanken, sowie Ihre Mühe, die Treffen immer zu einem besonderen Erlebnis zu machen! Meinen Dank auch an all die StipendiatInnen, die ich auf diesen Wegen kennenlernen durfte und mit denen ich einzigartige Erfahrungen machen konnte auf Doktorandenforen, Sprachkursen und Seminaren! Die Kongressreisen waren ein besonderes Erlebnis und ich bin sehr dankbar, dass mir dieser wissenschaftliche Austausch im internationalen Kontext ermöglicht wurde.

Robert Lieck möchte ich für die abwechslungsreiche, lustige, spannende und erkenntnisreiche Zeit danken und die moralische Unterstützung gerade während einiger „Durststrecken“. Du wirst immer ein besonderer Mensch in meinem Leben bleiben und die Zeit, die wir zusammen verbringen ist wunderschön!

Ich könnte die Liste nahezu unendlich fortführen und danke allen, die nicht namentlich erwähnt wurden ebenso sehr, dass sie in mein Leben getreten sind und es bereichert haben. Jeder einzelne Kontakt macht die Reise des Lebens einzigartig und ich wünsche allen Glück, Frieden, Erfolg und Liebe.