

Aus der Klinik für Pferde,
Allgemeine Chirurgie und Radiologie
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Kardiale Biomarker bei Pferden mit Herzerkrankungen in Ruhe und nach Belastung

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Ina Hofheinz
Tierärztin
aus Karlsruhe

Berlin 2015

Journal-Nr.: 3762

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Jürgen Zentek
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Heidrun Gehlen
Zweiter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Kerstin E. Müller
Dritter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Johanna Plendl

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

horses, heart diseases, biochemical markers, blood plasma, aldosterone,
angiotensin, peptides, rest, exercise

Tag der Promotion: 04.11.2015

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

ISBN: 978-3-86387-667-8

Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2015

Dissertation, Freie Universität Berlin

D 188

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written authorization of the publisher.

Alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© Mensch und Buch Verlag 2015

Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

INHALTSVERZEICHNIS

I. EINLEITUNG	6
II. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	8
III. LITERATURÜBERSICHT	15
1. Angiotensin-II (ANG-II)	15
1.1. Struktur	15
1.2. Synthese und Regulation.....	15
1.3. Rezeptoren	17
1.4. Regulation der Rezeptoraktivität	19
1.5. Die wichtigsten Effekte des ANG-II.....	20
1.6. Die CpANG-II als kardialer Marker in der Humanmedizin	23
1.7. Die CpANG-II als kardialer Marker in der Tiermedizin	24
1.8. Einfluss von körperlicher Belastung auf die CpANG-II.....	24
2. Aldosteron (ALD)	25
2.1. Struktur und Synthese	25
2.2. Rezeptoren	26
2.3. Regulation der Rezeptoraktivität und Aldosteronsekretion	26
2.4. Die wichtigsten Effekte des Aldosterons	27
2.5. Aldosteron als kardialer Marker in der Humanmedizin	28
2.6. Aldosteron als kardialer Marker in der Tiermedizin.....	29
2.7. Einfluss von körperlicher Belastung auf die CpALD	29
3. Endothelin-1 (ET-1)	30
3.1. Struktur, Isopeptide und Synthese	31
3.2. Rezeptoren	32
3.3. Regulation der Rezeptoraktivität	33
3.4. Die wichtigsten Effekte des ET-1	33
3.5. Die CpET-1 als kardialer Marker in der Humanmedizin.....	35
3.6. Die CpET-1 als kardialer Marker in der Tiermedizin.....	36
3.7. Einfluss von körperlicher Belastung auf die CpET-1	37
4. Atriales Natriuretisches Peptid (ANP)	38
4.1. Struktur und Synthese	38
4.2. Rezeptoren	39
4.3. Regulation der Synthese und Sekretion	40
4.4. Die wichtigsten Effekte des ANP	42

4.5. Die CpANP als kardialer Marker in der Humanmedizin.....	44
4.6. Die CpANP als kardialer Marker in der Tiermedizin.....	45
4.7. Einfluss von körperlicher Belastung auf die CpANP.....	46
IV. MATERIAL UND METHODIK.....	47
1. Patientengut.....	47
1.1. Untersuchung der Pferde.....	47
1.2. Anamnese und Allgemeinuntersuchung.....	47
1.3. Spezielle Untersuchung des Herz-Kreislauf-Apparates.....	48
1.4. Elektrokardiographische Untersuchung.....	48
1.5. Echokardiographische Untersuchung.....	48
1.6. Graduierung der Klappeninsuffizienzen.....	58
1.7. Belastung der Pferde.....	59
2. Präanalytik.....	59
2.1. Probenahme in Ruhe.....	59
2.2. Probenahme nach Belastung der Pferde.....	60
2.3. Probenverarbeitung.....	60
2.4. Probenaufbewahrung und Transport ins Untersuchungslabor.....	60
2.5. Auswertung der Proben.....	60
3. Statistische Auswertung.....	67
V. ERGEBNISSE.....	69
1. Ergebnisse der Anamnese und Allgemeinuntersuchung.....	69
2. Ergebnisse der speziellen Untersuchung des Herz-Kreislauf-Apparates.....	70
3. Ergebnisse der Ultraschalluntersuchung.....	71
3.1. Ergebnisse der Untersuchungen im B-Mode.....	71
3.2. Ergebnisse der Untersuchungen im M-Mode.....	79
4. Ergebnisse der elektrokardiographischen Untersuchung.....	80
5. Weitere Erkrankungen und weiterführende Untersuchungen.....	81
6. Einteilung der Gruppen nach vollständiger Untersuchung.....	81
7. Belastung der Pferde.....	82
8. Ergebnisse der CpANG-II Bestimmung.....	82
9. Ergebnisse der CpALD Bestimmung.....	83
10. Ergebnisse der CpET-1 Bestimmung.....	86
11. Ergebnisse der CpANP Bestimmung.....	95
VI. DISKUSSION DER ERGEBNISSE.....	99
1. Diskussion des Probandenguts und der Gruppeneinteilung.....	99
2. Diskussion der Belastungsuntersuchung.....	102

3. Diskussion der Ergebnisse der CpANG-II Bestimmung.....	103
4. Diskussion der Ergebnisse der CpALD Bestimmung	104
5. Diskussion der Ergebnisse der CpET-1 Bestimmung	105
6. Diskussion der Ergebnisse der CpANP Bestimmung	108
VII. ZUSAMMENFASSUNG.....	112
VIII. SUMMARY	114
IX. LITERATURVERZEICHNIS.....	116
X. ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	184
XI. TABELLENVERZEICHNIS.....	186
XII. ANHANG	187
1. Untersuchungsprotokoll	187
2. Stammdaten aller Pferde mit kardiologischen Befunden.....	190
XIII. DANKSAGUNG.....	195
XIV. SELBSTSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG	196

I. EINLEITUNG

Beim Pferd können kardiologische Erkrankungen bisher nur sicher mit Hilfe der Echokardiographie und Elektrokardiographie festgestellt werden. Aufgrund des dafür nötigen relativ hohen technischen Aufwands sind solche Untersuchungen jedoch überwiegend in entsprechend personell und technisch ausgerüsteten Kliniken durchführbar.

In der Humanmedizin, und seit einigen Jahren auch in der Kleintiermedizin, erleichtern biochemische Marker die Diagnose kardialer Erkrankungen. Solche Marker, wie das aminoterminale Fragment des Prohormons des brain natriuretischen Peptids (NT-pro-BNP), ermöglichen insbesondere die Früherkennung kardialer Erkrankungen, bevor im Ultraschall Struktur- und/oder Dimensionsveränderungen oder Motilitätsstörungen sichtbar werden. Die Bestimmung ist im Gegensatz zur Echokardiographie mit geringem Aufwand verbunden. Zudem liefern solche Marker wichtige prognostische Informationen und dienen der Verlaufskontrolle in der täglichen Praxis.

NT-pro-BNP ist dabei anderen kardialen Markern überlegen und hat sich deshalb etabliert. Für Pferde steht bisher kein kommerzieller BNP oder NT-pro-BNP Test zur Verfügung. Humanmedizinische Tests sind aufgrund der Speziespezifität des brain natriuretischen Peptids (BNP) nicht bei Pferden einsetzbar. Allerdings haben andere - überwiegend in der Humanmedizin aber auch in der Tiermedizin - als Marker untersuchte Peptide wie atriales natriuretisches Peptid (ANP), Endothelin-1 (ET-1), Angiotensin-II (ANG-II) und das Hormon Aldosteron (ALD) ebenso ihren Nutzen als diagnostische und prognostische Indikatoren für Herzerkrankungen gezeigt.

Daher sollen in der vorliegenden Arbeit die Plasmawerte der Peptide ANG-II, ALD, ET-1 und ANP bei Pferden auf ihre Eignung als frühdiagnostische und prognostische Indikatoren, sowie zur Einschätzung des Schweregrades von Herzerkrankungen untersucht und mit den Werten herzgesunder Pferde verglichen werden.

Ferner hat sich in humanmedizinischen Untersuchungen gezeigt, dass einige dieser Marker bei Menschen mit verschiedenen Herzerkrankungen unter Belastung stärker ansteigen als bei gesunden Menschen. Daher sollen in der vorliegenden Arbeit erstmals auch die ANG-II-, ALD-, ET-1- und ANP-Plasmawerte bei Pferden mit Herzerkrankungen nach körperlicher Belastung untersucht und mit den Werten herzgesunder Pferde verglichen werden.

Dabei soll festgestellt werden, ob die nach Belastung gewonnenen Werte als Hilfsmittel in der Frühdiagnostik, Graduierung und Prognostik von Herzerkrankungen bei Pferden von Nutzen sein können.

II. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ACE	angiotensin-converting-enzyme
ANG	Angiotensin
ACTH	adrenocorticotropes Hormon
ADH	antidiuretisches Hormon
ANP	atrial natriuretic peptide/ atriales natriuretisches Peptid/ A-Typ natriuretisches Peptid
AOd	Durchmesser Aorta enddiastolisch
AP-1	Aktivator Protein 1
Arg	Arginin
Asp	Aspartat
AT-1	Angiotensin-II-Rezeptor Subtyp 1
AT-2	Angiotensin-II-Rezeptor Subtyp 2
AT-3	Angiotensin-II-Rezeptor Subtyp 3
AT-4	Angiotensin-II-Rezeptor Subtyp 4
ATP	Adenosintriphosphat
ADH	antidiuretisches Hormon
AV	atrioventrikulär
AVI	Aortenklappeninsuffizienz
B-Mode	brightness modulation
BNP	brain natriuretic peptide/ brain natriuretisches Peptid/ B-Typ natriuretisches Peptid
C	Cystein
Ca 2+	Calciumionen
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
CG	Guanylatcyclase
cGMP	cyclisches Guanosenmonophosphat
CNP	C-Typ natriuretisches Peptid
c-Src	cellular Rous sarcoma oncogene

CpALD _R	Aldosteronplasmakonzentration in Ruhe aldosterone plasma concentration at rest
CpALD _B	Aldosteronplasmakonzentration nach Belastung
CpALD _E	aldosterone plasma concentration after exercise
CpANG-II _R	Angiotensin-II-Plasmakonzentration in Ruhe angiotensine II plasma concentration at rest
CpANG-II _E	angiotensine II plasma concentration after exercise
CpANG-II _B	Angiotensin-II-Plasmakonzentration nach Belastung
CpANP _R	ANP-Plasmakonzentration in Ruhe ANP plasma concentration at rest
CpANP _B	ANP-Plasmakonzentration nach Belastung
CpANP _E	ANP plasma concentration after exercise
CpET-1 _R	Endothelin-1-Plasmakonzentration in Ruhe endothelin-1 plasma concentration at rest
CpET-1 _B	Endothelin-1-Plasmakonzentration nach Belastung
CpET-1 _E	endothelin-1 plasma concentration after exercise
CW-Doppler	continuous wave doppler
D	Aspartat
DAG	Diacylglycerol
2D	zweidimensional
DCM	Dilatative Kardiomyopathie
DNA	Desoxyribonukleinsäure
ECE	endothelin converting enzyme
ECD	extrazelluläre Domäne
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EGFR	epidermal growth factor receptor
EKG	Elektrokardiographie
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
ERK	extracellular signal regulated kinases
ES	Extrasystolen
ET	Endothelin

F	Phenylalanin
FAK	focal adhesion kinase
fmol	Fentomol
FS %	fractional shortening
G	Glutaminsäure
GCD	Guanylatcyclase Domäne
ggr	geringgradig
G6PD	Glucose-6-Phosphatdehydrogenase
GTP	Guanosintriphosphat
GFR	glomeruläre Filtrationsrate
H	Histidin
h	Stunde
H+	Wasserstoffionen
HCO ₃	Hydrogencarbonat
HF	Herzfrequenz
HG	Herzgeräusch
hgr	hochgradig
His	Histidin
HWZ	Halbwertszeit
H ₂ SO ₄	Schwefelsäure
I	Isoleucin
IDE	Insulin degradierendes Enzym
IL	Interleukin
Ile	Isoleucin
IP3	Inositoltriphosphat
ISACHC	international small animal cardiac health council
IVSd	Durchmesser Interventrikularseptum enddiastolisch
IVSDd	Durchmesser Interventrikularseptum enddiastolisch
IVSs	Durchmesser Interventrikularseptum endsystolisch
JAK	Janus activated kinase
JNK	C-Jun-N terminale Kinase

K ⁺	Kaliumionen
KFZ	kapilläre Füllungszeit
kg	Kilogramm
KHD	Kinase-homologe-Domäne
KIU	kallikrein inhibitor unit
LA	linkes Atrium
LA/Ao Ratio	Relation des linken Atriums zur Aorta
LAD	linksatrialer Durchmesser
LADd	Durchmesser linkes Atrium enddiastolisch
L, Leu	Leucin
LKDLA	linke kaudale lange Achse
LKDLA-AO	linke kaudale lange Achse mit Aorta
LPS	Lipopolysaccharide
LVDd	Durchmesser linker Ventrikel enddiastolisch
LVIDd	innerer Durchmesser linker Ventrikel enddiastolisch
LVIDs	innerer Durchmesser linker Ventrikel endsystolisch
LVDpmd	Durchmesser des linken Ventrikels post Mitralklappe in der Diastole
LVD <i>PPM</i> d	Durchmesser linker Ventrikel auf Papillarmuskelhöhe
LVD _{uMVD}	Durchmesser linker Ventrikel unter der Mitralklappe enddiastolisch
LVPWd	Durchmesser linke hintere Ventrikelwand enddiastolisch
LVPWs	Durchmesser linke hintere Ventrikelwand endsystolisch
LVWd	Durchmesser linke Ventrikelwand enddiastolisch
LVWs	Durchmesser linke Ventrikelwand endsystolisch
M	Methionin
MADd	Durchmesser Mitralklappenannulus enddiastolisch
MAPK	mitogen aktivierte Protein Kinasen
MEK	mitogen aktivierte Protein Kinase Kinase

mgr	mittelgradig
MHz	Megahertz
min	Minute
MKP	MAP Kinase Phosphatase
ml	Milliliter
M-Mode, MM	motion mode
MR	Mineralocorticoidrezeptor
mRNA	messenger Ribonukleinsäure
MVI	Mitralklappeninsuffizienz
Na ⁺	Natriumionen
NADPH	Nicotinsäureamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat
NEP	Endopeptidase Neprilysin
NFAT	nuclear factor of activated T cells
NF-kB	Nuclear factor-kB
ng	Nanogramm
nm	Nanometer
NNR	Nebennierenrinde
NO	Stickoxid
NPR	natriuretischer Peptidrezeptor
NT	N-terminal
OD	optische Dichte
p	Signifikanzwert
PC	Personal Computer
PDE	Phosphodiesterase
PDGF	platelet derived growth factor
PGE	Prostaglandin E
pg/ml	Pikogramm/Milliliter
Phe	Phenylalanin
PKC	Proteinkinase C
PKG	Proteinkinase G
PLA	Phospholipase

PLC	Phospholipase C
PPA2	Protein Phosphatase 2
Pro	Prolin
PVI	Pulmonalklappeninsuffizienz
RA	rechtes Atrium
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
Raf	rapidly accelerated fibrosarcoma
RADd	Durchmesser rechtes Atrium enddiastolisch
RAO	recurrent airway obstruction
RIA	Radioimmunoassay
RKDKA	rechte kaudale kurze Achse
RKDLA	rechte kaudale lange Achse
RKDLA-AO	rechte kaudale lange Achse mit Aorta
RKRKA	rechte kraniale kurze Achse
RKRLA	rechte kraniale lange Achse
ROS	reaktive Sauerstoffspezies
rpm	rotations per minute
r_s	Korrelationskoeffizient nach Spearman
RV	rechter Ventrikel
RVDd	Durchmesser rechter Ventrikel enddiastolisch
RVWd	Durchmesser rechte Ventrikelwand enddiastolisch
S	Serin
SHP-1	src homology region 2 domain containing phosphatase-1
STAT	signal transducers and activators of transcription
T	Threonin
Tab	Tabelle
TGF	transforming growth factor
TMB	Tetramethylbenzidin
TNF	Tumor Nekrose Faktor
TVI	Trikuspidalklappeninsuffizienz

Tyr	Tyrosin
µl	Mikroliter
V, Val	Valin
VF	Vorhofflimmern
VSD	Ventrikelseptumdefekt
VO ₂ max	maximale Sauerstoffaufnahme
W	Tryptophan
z.B.	zum Beispiel
ZNS	zentrales Nervensystem
%	Prozent

III. LITERATURÜBERSICHT

1. Angiotensin-II (ANG-II)

1.1. Struktur

Das equine ANG-II wurde 1956 erstmals von SKEGGS isoliert und sequenziert (SKEGGS, et al. 1956b). Es handelt sich um ein Oktapeptid, bestehend aus den Aminosäuren Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe (SKEGGS, et al. 1956c).

Die Aminosäuresequenz des equinen ANG-II ist identisch mit der Sequenz des humanen und porcinen ANG-II und unterscheidet sich vom bovinen ANG-II durch eine einzelne Aminosäure an Position 5 (DE GASPARO, et al. 2000).

1.2. Synthese und Regulation

ANG-II ist zum einen Bestandteil des klassischen systemischen Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS) und zum anderen Bestandteil von lokalen, autonom regulierten endokrinen RAA Systemen in verschiedenen Geweben wie Herz, Niere, Gefäßen und Gehirn (BADER 2010).

Die ANG-II Synthese wird im Wesentlichen durch das Enzym Renin reguliert (Abbildung 1). Renin wird in den juxtaglomerulären Zellen der Niere gebildet und dort in Granula gespeichert. Auf Stimuli hin wird Renin zunächst in die renale Zirkulation sezerniert und gelangt von dort aus in die systemische Blutzirkulation (VALLOTTON 1987).

Die Reninsekretion wird durch verschiedene Mechanismen gesteuert. Barorezeptoren in den afferenten Arteriolen der Nieren erkennen Veränderungen in der Nierendurchblutung. Fällt der Blutdruck, wird vermehrt Renin ausgeschüttet (HOFBAUER, et al. 1976).

Macula densa Zellen der distalen Nierentubuli registrieren Veränderungen der Natriumkonzentration und der Chloridkonzentration des Plasmas. Eine verminderte Plasmakonzentration dieser Elektrolyte stimuliert die Reninsekretion (VEYRAT, et al. 1967a; VEYRAT, et al. 1967b; YAMAMOTO, et al. 1969). Außerdem wird die Reninsekretion durch eine erhöhte Sympathikusaktivität, respektive in Stresssituationen, die mit Ausschüttung von Adrenalin und Noradrenalin einhergehen, stimuliert (VANDER 1965).

Ein negativer Feedback-Mechanismus hemmt die Reninsekretion. So haben hohe ANG-II Konzentrationen eine direkte hemmende Wirkung auf die juxtaglomerulären Zellen der Nieren (VANDER and GEELHOED 1965). Auch hohe Natrium- und Chlorid-Plasmakonzentrationen hemmen die Reninsekretion.

Renin katalysiert die Umwandlung von Angiotensinogen zu ANG-I im Blutplasma durch die Abspaltung des N-terminalen Teils des Angiotensinogens (SKEGGS, et al. 1957; SKEGGS, et al. 1956a) (Abbildung 1).

Das Globulin Angiotensinogen wird kontinuierlich in der Leber synthetisiert und in die Zirkulation abgegeben (NASJETTI and MASSON 1971). Auch extrahepatisch wird in zahlreichen Geweben wie in den Nieren, im Gehirn und in kardialen Gewebe Angiotensinogen als Bestandteil lokaler RAAS exprimiert und synthetisiert (CAMPBELL and HABENER 1986).

Der letzte Schritt in der ANG-II-Synthese ist die Umwandlung von ANG-I zu ANG-II unter anderem durch das Angiotensin-converting-Enzym (ACE) (GUTHRIE 1982; SKEGGS, et al. 1957). ACE spaltet vom biologisch inaktiven Dekapeptid ANG-I (Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu) die beiden C-terminalen Aminosäuren Histidin und Leucin ab, wodurch das aktive Peptid ANG-II entsteht (LENTZ, et al. 1956) (Abbildung 1).

Die ANG-II-Synthese wird unter anderem von membrangebundenem ACE im Gefäßsystem katalysiert. Dies geschieht überwiegend in der Lunge, wo ACE in großen Mengen auf der Oberfläche pulmonaler Endothelzellen exprimiert wird (NG and VANE 1967). Auch kardiale Fibroblasten und Endothelzellen der Koronargefäße exprimieren ACE (KATWA, et al. 1995). ANG-I wird zudem auf ACE-unabhängigen Wegen in ANG-II umgewandelt, wie z.B. durch die Proteinase Tonin, Kallikrein (LOPES, et al. 1997), Trypsin, Cathepsin G (RAMAHA and PATSTON 2002) und durch die Chymase (DELL'ITALIA, et al. 1995; URATA, et al. 1990). Bei den Proteinase sind speziesspezifische Unterschiede bekannt (BECARI, et al. 2011).

Neben ANG-II sind weitere Angiotensine wie ANG-III und ANG-IV bekannt. Diese werden von Aminopeptidasen aus ANG-II durch Abspaltung von Aminosäuren vor allem im Gehirn aber auch in anderen Geweben synthetisiert (SWANSON, et al. 1992; TONNAER, et al. 1983). ANG-III hat eine wichtige Funktion als Effektorpeptid des lokalen RAAS im Gehirn (ZINI, et al. 1996). ANG-IV spielt eine Rolle bei kognitiven Prozessen im Gehirn (WISNIEWSKI, et al. 1993) und hat außerdem gefäßerweiternde Eigenschaften (LI, et al. 1997).

Ein weiteres Angiotensin, das ANG-(1-7), wird durch verschiedene Endopeptidasen und durch die Carboxylpeptidase ACE-2 aus ANG-I oder ANG-II synthetisiert (MENTLEIN and ROOS 1996; TIPNIS, et al. 2000). Es spielt vor allem in lokalen RAA-Systemen wie dem RAAS des Herzens eine Rolle. Es steht den Effekten des ANG-II entgegen, indem es gefäß-erweiternd wirkt (BROSNIHAN, et al. 1996), den Blutdruck senkt (BENTER, et al. 1995) und antiproliferative Eigenschaften hat (TALLANT, et al. 1999).

Die Plasma-HWZ von ANG-I und ANG-II ist mit etwa 30 sec (VAN KATS, et al. 1997) sehr kurz.

In Geweben mit hoher AT-1-Rezeptordichte, wie in kardialem Gewebe, ist die HWZ von ANG-II dagegen durch Akkumulation mit 15 min deutlich länger als im Plasma (VAN KATS, et al. 1997).

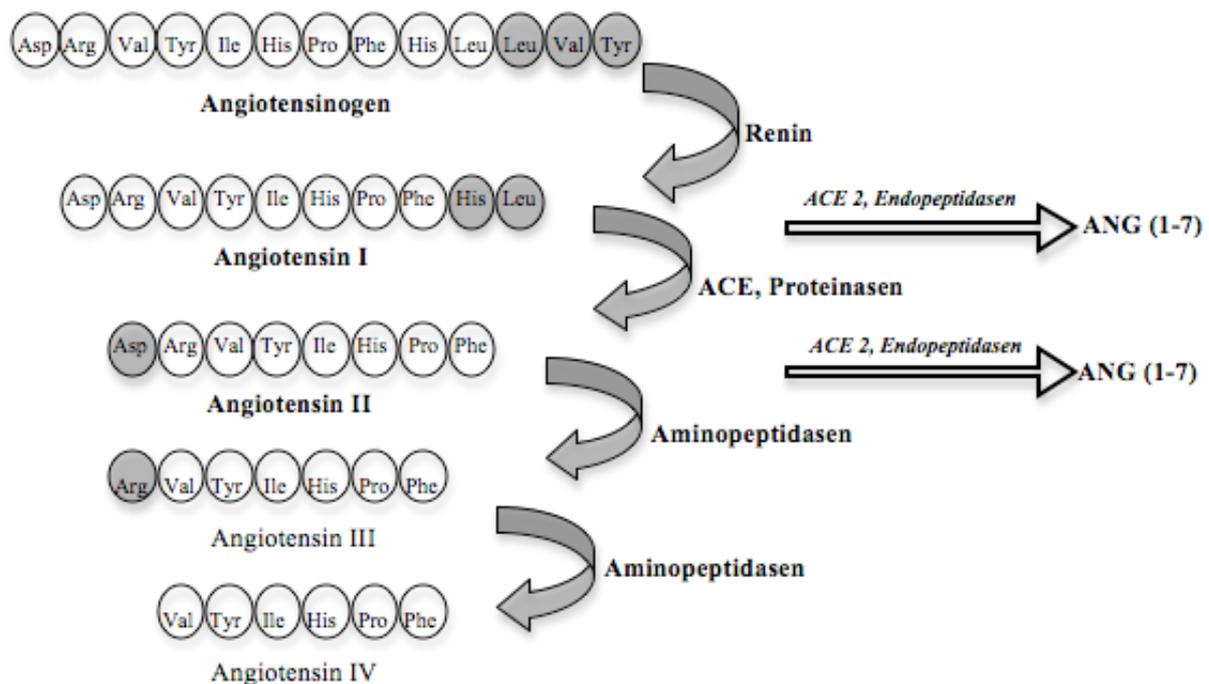


Abbildung 1: Synthese der Angiotensine, Aminosäurekodierung nach dem Dreibuchstabensystem (siehe Abkürzungsverzeichnis)

ACE 2= Angiotensin-converting-Enzym 2, ANG (1-7)= Angiotensin (1-7)

1.3. Rezeptoren

Bisher sind 5 Angiotensin Rezeptorsubtypen bekannt: Der Angiotensinrezeptor Subtyp 1 (AT-1), Subtyp 2 (AT-2), Subtyp 3 (AT-3), Subtyp 4 (AT-4) und der MAS-Rezeptor (SANTOS, et al. 2003) (Abbildung 2). ANG-II bindet mit gleicher Affinität an AT-1- und

AT-2-Rezeptoren (GRIENDLING, et al. 1996), kann aber auch mit hoher Affinität an AT-3-Rezeptoren binden (CHAKI and INAGAMI 1992).

Auch ANG-III bindet an AT-1- und AT-2-Rezeptoren (BLUME, et al. 2005) und mit nur geringer Affinität an AT-3-Rezeptoren (DE GASPARO, et al. 2000). ANG-(1-7) bindet spezifisch an MAS-Rezeptoren (SANTOS, et al. 2003), wohingegen ANG-IV spezifisch an AT-4-Rezeptoren bindet (DE GASPARO, et al. 2000).

Die Struktur des AT-1-Rezeptors und des AT-2-Rezeptors weist eine gewisse Ähnlichkeit auf. Diese besteht vor allem in den 7 transmembranen Domänen. Allerdings fehlen dem AT-2-Rezeptor einige für G-Protein gekoppelte Rezeptoren typische Charakteristika (NAHMIAS and STROSBURG 1995).

AT-1-Rezeptoren kommen in großer Zahl in verschiedenen Geweben und Organen, wie im Herz (ALLEN, et al. 1990), Gefäßen, Nieren (ZHUO, et al. 1997), Nebennieren (MONTIEL, et al. 1993) und Gehirn (BARNES, et al. 1993; SONG, et al. 1992) vor.

Der AT-2-Rezeptor wird in fetalem und neonatalem Gewebe stärker exprimiert als der AT-1-Rezeptor. Post partum reduziert sich die Dichte der AT-2-Rezeptoren zunehmend (SHANMUGAM, et al. 1996). Ihr Vorkommen beschränkt sich dann auf wenige Organe wie Gehirn, Nebennieren, Nieren, Herz, Ovarien und Myometrium (CAO, et al. 2000; NOUET and NAHMIAS 2000). Kommt es allerdings zur Schädigung bestimmter Organe, kann die Genexpression reaktiviert und der AT-2-Rezeptor in diesen Geweben zahlreich exprimiert werden (NOUET and NAHMIAS 2000).

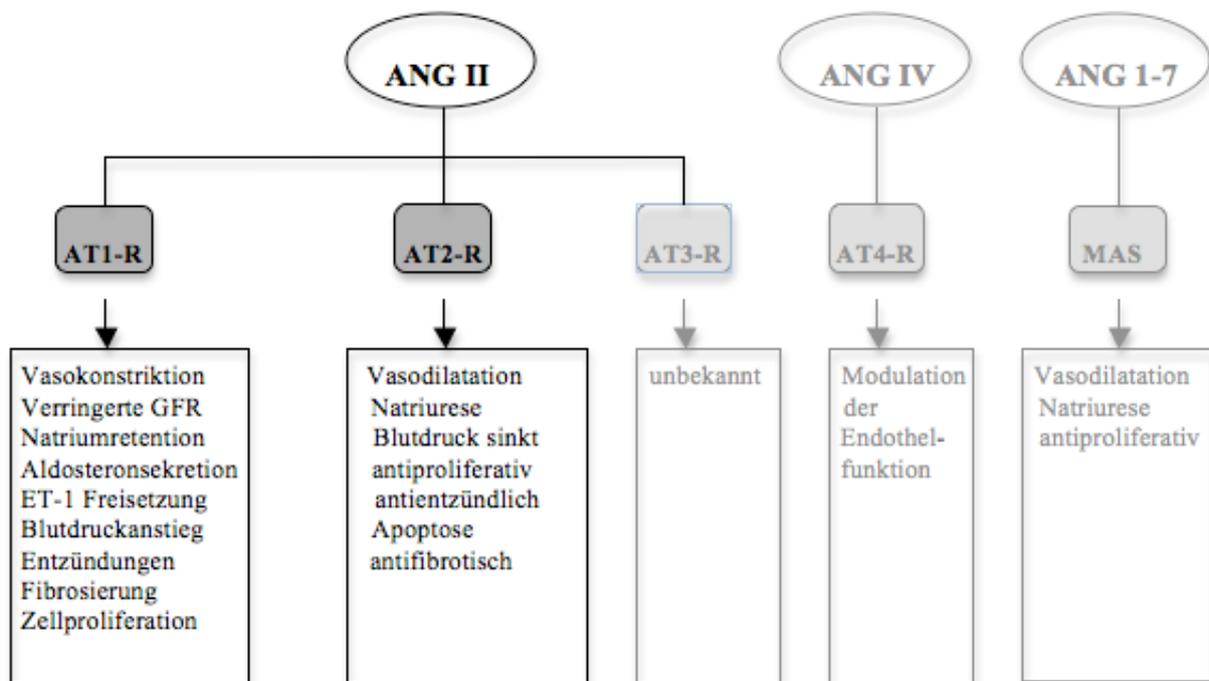


Abbildung 2: Angiotensinrezeptoren

1.4. Regulation der Rezeptoraktivität

Die Genexpression des AT-1-Rezeptors wird durch verschiedene Faktoren reguliert.

Dazu gehören ANG-II, Östrogene, Glucocorticoide, Stickoxid (NO), Wachstumsfaktoren und eine restriktive Salzaufnahme, die die Genexpression herunterregulieren (DELLA BRUNA, et al. 1995; ICHIKI, et al. 1998; WU, et al. 2003; WYSE and SERNIA 1997).

Eine Hochregulation der AT-1 Genexpression erfolgt z.B. durch Progesteron, Aldosteron und Insulin (DELLA BRUNA, et al. 1995; NICKENIG, et al. 1998; NICKENIG, et al. 2000).

Die mechanische Dehnung von Kardiomyozyten kann die AT-1 Genexpression im Herz hochregulieren (KIJIMA, et al. 1996; MALHOTRA, et al. 1999).

Für den AT-2-Rezeptor gilt: Faktoren wie eine erhöhte Natriumaufnahme, Angiotensin-II, Norepinephrin, Glucocorticoide, NO und verschiedene Wachstumsfaktoren können die Expression des AT-2-Rezeptors herunterregulieren (GONZALEZ, et al. 2005; ICHIKI, et al. 1998; KAMBAYASHI, et al. 1993; KIJIMA, et al. 1995; KIJIMA, et al. 1996).

Die Hochregulation der Genexpression kann unter anderem erfolgen durch inflammatorische Zytokine, reduzierte Natriumaufnahme und unter Östrogeneinfluss (AKISHITA, et al. 2000; BAIARDI, et al. 2005; GOETTE, et al. 2000; OZONO, et al. 1997). Auch Herzerkrankungen können die Genexpression beeinflussen. So konnte bei Menschen mit Vorhofflimmern eine

reduzierte AT-1 Expression und eine verstärkte AT-2 Expression festgestellt werden (GOETTE, et al. 2000).

1.5. Die wichtigsten Effekte des ANG-II

Die Wirkungen des ANG-II sind abhängig vom Rezeptorsubtyp, an den es bindet.

Über AT1-Rezeptoren bewirkt ANG-II eine Kontraktion der Blutgefäße, sowie eine Reduktion der glomerulären Filtrationsrate in den Nieren und eine verminderte Ausscheidung von Natrium (KASCHINA and UNGER 2003). In der Folge steigt der Blutdruck an. Außerdem stimuliert es die Freisetzung von Aldosteron (MARRERO, et al. 1995) und Endothelin-1 (EMORI, et al. 1991) wodurch der blutdrucksteigernde Effekt potenziert wird.

Weitere AT-1 vermittelte Effekte des ANG-II sind die Stimulation der Zellproliferation von glatten Gefäßmuskelzellen und Kardiomyozyten, die Stimulation von Entzündungsreaktionen sowie die Fibrosierung von Zellen (HUNYADY and CATT 2006; LEMARIE and SCHIFFRIN 2010).

Über AT-2-Rezeptoren vermittelt ANG-II gegenteilige Effekte (CAREY, et al. 2000).

Durch Vasodilatation und verstärkte Ausscheidung von Natrium und Wasser sinkt der Blutdruck (GROSS, et al. 2000). Entzündungsreaktionen und fibrotische Prozesse werden gehemmt (CAREY, et al. 2000) und die Apoptose von Zellen stimuliert (YAMADA, et al. 1996).

Der blutdrucksteigernde Effekt des ANG-II wird über folgende Signalwege vermittelt:

Über den Phospholipase C/Inositoltriphosphat/Diacylglycerol (PLC/IP3/DAG) Signalweg wird die Aldosteronsekretion in der Zona glomerulosa der Nebennierenrinde (NNR) angeregt (CHRIST, et al. 1995). Zudem werden durch Aktivierung der PLC und Freisetzung von IP3 und DAG intrazelluläre Calciumspeicher entleert und so eine schnelle Kontraktion glatter Gefäßmuskelzellen bewirkt (GRIENDLING, et al. 1986). DAG aktiviert die Proteinkinase C (PKC) und den rapidly accelerated fibrosarcoma/mitogen activated protein kinase kinase (Raf/MEK/MAPK) Signaltransduktionsweg. Nachfolgend werden Schlüsselproteine phosphoryliert, die wiederum zum vasokonstriktischen aber auch zum proproliferativen Effekt von ANG-II beitragen (HARNETT and BIANCANI 2003; ITOH, et al. 2001; WALSH, et al. 1995). Auch die Aktivierung der Phospholipase D (PLD) über AT-1, PKC und Tyrosinkinase (BILLAH 1993; USHIO-FUKAI, et al. 1999), sowie P38 mitogen aktivierte Protein Kinase (MAPK) und den epidermal growth factor receptor - extracellular signal regulated kinase (EGFR-ERK) Signaltransduktionsweg trägt zu diesen Effekten bei

(HIRANYACHATTADA and HARRIS 1996; KASCHINA and UNGER 2003). In den Nieren reduziert lokal sezerniertes ANG-II über AT-1 den renalen Blutfluss und die glomeruläre Filtrationsrate und stimuliert die Reabsorption von Natrium und Wasser, was ebenfalls zur Blutdruckregulation beiträgt (KASCHINA and UNGER 2003).

Über AT-1 aktiviert ANG-II die Phospholipase A2 (PLA2), wodurch Arachidonsäure freigesetzt wird. Arachidonsäuremetaboliten wie Leukotriene und Thromboxane wirken vasokonstriktorisches, modulieren das vaskuläre Zellwachstum und mediiere Entzündungsreaktionen (FREEMAN, et al. 1998; LIN, et al. 1992; MEHTA and GRIENGLING 2007). Ebenfalls an Entzündungsreaktionen, aber auch an der Fibrosierung von Zellen und der Stimulation des Zellwachstums beteiligt, sind durch ANG-II aktivierte Serin/Threonin-Kinasen wie MAPK einschließlich P38 MAPK, ERK 1/2 und C-Jun-N terminale Kinase (JNK), sowie verschiedene Isoformen der PKC (BOOZ and BAKER 1995; SUZUKI, et al. 2005; YIN, et al. 2003). Direkt und indirekt proinflammatorisch und proliferativ wirken auch reaktive Sauerstoffspezies (ROS), die durch ANG-II aktivierte Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat (NAD(P)H) Oxidasen freigesetzt werden (BENDALL, et al. 2002; HENSLEY, et al. 2000; RAO and BERK 1992; SEN and PACKER 1996; WINYARD and BLAKE 1997).

NAD(P)H Oxidase mediiert induziert ANG-II auch die Expression von ET-1 (AN, et al. 2007).

Ein „Crosstalk“, also ein Austausch von Signalen zwischen verschiedenen Signalwegen des AT-1, z.B. mit Mineralocorticoidrezeptoren (MR) (MIN, et al. 2007), aktiviert mitogen aktivierte Protein (MAP) -Kinasen und stimuliert so ebenfalls Entzündungsreaktionen und das Zellwachstum (LEMARIE, et al. 2008).

ANG-II entfaltet die beschriebenen Effekte auf zellulärer Ebene auch durch Crosstalk mit anderen Rezeptoren wie dem EGFR, dem platelet derived growth factor (PDGF), dem Insulinrezeptor und Nicht-Rezeptor-Tyrosinkinasen wie cellular Rous sarcoma oncogene (c-Src), focal adhesion kinase (FAK) und Januskinase (JAK) (MEHTA and GRIENGLING 2007).

Über den JAK - signal transducers and activators of transcription (STAT) Signalweg (MARRERO, et al. 1995) reguliert ANG-II die Expression von bestimmten Genen. Die Wirkung der STATs ist vom Zelltyp abhängig.

In kardialen Gewebe können die lokale Angiotensinogenexpression, die Proliferation von Zellen bzw. Remodeling- und Reparatursprozesse stimuliert werden (KUNISADA, et al. 2000; MANABE, et al. 2002; MASCARENO, et al. 1998; NEGORO, et al. 2000).

Bestimmte STATs werden bei myokardialer Hypertrophie und Ischämie selektiv aktiviert (MASCARENO and SIDDIQUI 2000).

Neuere Studienergebnisse legen nahe, dass der AT-1 Rezeptor nicht als Monomer agiert, sondern auch Homo- und Heterodimere mit anderen Rezeptoren wie dem AT-2, Endothelin-B-Rezeptor, Dopaminrezeptor und Bradykininrezeptor-B2 bilden kann (ABDALLA, et al. 2000; BARKI-HARRINGTON, et al. 2003; ZENG, et al. 2003; 2005).

Auch kleine Guanosintriphosphat (GTP) -bindende Proteine wie Rho, Ras und Rac werden über den AT1-Rezeptor aktiviert (OHTSU, et al. 2006; YAMAKAWA, et al. 2000). Als Folge werden über diverse Transkriptionsfaktoren wie nuclear factor-kB (NF-kB) und STATs auf Wachstum bezogene Gene exprimiert (AZNAR and LACAL 2001; FARUQI, et al. 2001). Außerdem kommt es durch die kleinen GTP-bindenden Proteine zu einer verstärkten Vasokonstriktion und Zellmigration glatter Gefäßmuskelzellen (SEASHOLTZ and BROWN 2004).

Eine Überexpression kleiner GTP-bindender Proteine wird außerdem mit kardialer Hypertrophie, aber auch mit Dilatation, Verlust der kardialen Kontraktilität und Rhythmusstörungen wie Vorhofflimmern assoziiert. Rho, Ras und Rac scheinen von Bedeutung für die Wahrung der Integrität der Kardiomyozyten zu sein (CLERK and SUGDEN 2000; SAH, et al. 1999; SUSSMAN, et al. 2000).

Insgesamt sind die Signaltransduktionsmechanismen des AT-2 im Vergleich zum AT-1 noch wenig erforscht. Klar ist jedoch, dass die Effekte des AT-2 den Effekten des AT-1 entgegenstehen und diese zum Teil direkt antagonisieren:

Bradykinin/Stickoxid (NO)/cyclisches Guanosinmonophosphat (cGMP) abhängig hemmt ANG-II über AT-2 die Fibrosierung von kardialem Gewebe (KURISU, et al. 2003). Über diese Kaskade wird vermutlich auch der vasodilatatorische und somit blutdrucksenkende Effekt des AT-2 vermittelt (TSUTSUMI, et al. 1999). In den Nieren bewirkt NO eine verstärkte Ausscheidung von Natrium und Wasser, was ebenfalls den Blutdruck sinken lässt (ROCZNIAK and BURNS 1996).

Über AT-2 wird, wie auch über AT-1, die PLA-2 aktiviert und so die Produktion von Arachidonsäure stimuliert. Über AT-2 freigesetzte Arachidonsäure trägt vermutlich zur Aktivierung des Natrium/Hydrogencarbonat ($\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$) - Symporter Systems bei, wodurch der intrazelluläre PH-Wert unter anderem in Kardiomyozyten und Nierenzellen reguliert wird (KOHOUT and ROGERS 1995; SANDMANN, et al. 2001). Der Arachidonsäuremetabolit Epoxyeicosa-

triensäure hat zudem entzündungshemmende Eigenschaften. Bremsend auf Entzündungsreaktionen wirkt auch die Hemmung des NF- κ B über AT-2 (ROMPE, et al. 2010).

Über AT-2-Rezeptoren entfaltet ANG-II antiproliferative und proapoptische Effekte, indem es die Phosphorylierung von Tyrosinkinasen wie ERK 1/2 und andere Kinase-gesteuerte Phosphorylierungsschritte hemmt. An der Dephosphorylierung und somit Inaktivierung sind die Phosphatasen MKP-1, Src homology region 2 domain containing phosphatase-1 (SHP-1) und Protein Phosphatase 2A (PP2A) beteiligt (CUI, et al. 2001; HORIUCHI, et al. 1998; HUANG, et al. 1996; STOLL, et al. 1995; YAMADA, et al. 1996). Auch die Inaktivierung von STATs über AT-2 trägt zur Hemmung des Zellwachstums bei (HORIUCHI, et al. 1999). Nach ischämischer Myokardschädigung bei Mäusen haben sich die antiproliferativen, antifibrotischen und antiinflammatorischen Effekte des AT-2 als kardioprotektiv erwiesen (OISHI, et al. 2003). Doch auch in Bezug auf neuronales Gewebe bzw. Gewebsschädigung werden dem AT-2 protektive und regenerative Eigenschaften zugeschrieben (LI, et al. 2005).

Struktur und Signaltransduktionsmechanismen des AT-3 sind nicht bekannt. Der Rezeptor wurde bisher nur in Zelllinien gefunden (CHAKI and INAGAMI 1992; DE GASPARO, et al. 1995).

1.6. Die CpANG-II als kardialer Marker in der Humanmedizin

Während der Pathogenese einer Herzinsuffizienz wird das RAAS in variabler Weise aktiviert, was sich auch in einer erhöhten ANG-II Plasmakonzentration (CpANG-II) widerspiegelt (DZAU, et al. 1981; REMES, et al. 1991). Akute Wirkungen von ANG-II, wie die Erhöhung des Blutdrucks über verschiedene Wege, sind dabei kurzzeitig wirksame Kompensationsmechanismen. Dagegen können chronisch hohe ANG-II Plasmakonzentrationen zu kardialen strukturellen und elektrophysiologischen Umbauprozessen führen, denn ANG-II beeinflusst viele Prozesse, die zum Fortschreiten einer Herzerkrankung beitragen. Dazu gehören kardiale Hypertrophie, atriale und vaskuläre Fibrosierung, Apoptose und Entzündungsreaktionen (SUN, et al. 1997; VUKELIC and GRIENGLING 2014). Die schädigenden Effekte von ANG-II bilden in der Humanmedizin die Basis für die Therapie mit ACE-Hemmern und Angiotensin-II-Rezeptorblockern (ATKINS, et al. 2009; YANCY, et al. 2013). Im Rahmen der Diagnosestellung und Klassifikation der Herzinsuffizienz wurde ANG-II allerdings in der Vergangenheit nicht verwendet und wird auch aktuell nicht verwendet (JAROLIM 2006).

Die ANG-II Plasmakonzentration (CpANG-II) hat aber durchaus prognostischen Wert. SWEDBERG und Mitarbeiter, sowie ROIG und Mitarbeiter konnten zeigen, dass eine hohe CpANG-II bei Patienten mit kongestiver Herzinsuffizienz mit einer schlechteren Prognose bzw. einer höheren Sterblichkeit korreliert (ROIG, et al. 2000; SWEDBERG, et al. 1990).

1.7. Die CpANG-II als kardialer Marker in der Tiermedizin

Bei Pferden mit Herzerkrankungen wurde die CpANG-II in der vorliegenden Arbeit erstmals untersucht.

Bei Hunden mit Mitralklappeninsuffizienz (MVI) wurden bereits mehrere Untersuchungen durchgeführt.

In diesen Untersuchungen sind die Aussagen zur Aktivierung des systemischen RAAS und zur CpANG-II allerdings kontrovers. So konnten PERRY und Mitarbeiter bei Hunden mit induzierter chronischer MVI eine deutlich erhöhte CpANG-II gegenüber gesunden Hunden feststellen, während FUJII und Mitarbeiter bei Hunden mit induzierter MVI ohne klinische Symptome keinen Unterschied in der CpANG-II gegenüber Gesunden feststellen (FUJII, et al. 2007; PERRY, et al. 2002). HAGGSTROM und Mitarbeiter fanden im späten dekompensierten Stadium der MVI sogar eine reduzierte CpANG-II gegenüber dem frühen dekompensierten Stadium (HAGGSTROM, et al. 1997).

Zur routinemäßigen Diagnose und Klassifikation oder zur prognostischen Einschätzung von Herzerkrankungen wird die CpANG-II in der Tiermedizin bisher nicht herangezogen.

1.8. Einfluss von körperlicher Belastung auf die CpANG-II

Während körperlicher Belastung beim gesunden Pferd wird vermehrt ANG-II produziert, um die Aufrechterhaltung des arteriellen Blutdrucks und einen ausreichenden Blutfluss während der Belastungsphase zu gewährleisten. Durch ANG-II wird zudem das Durstzentrum stimuliert, wodurch der Ausgleich von Flüssigkeits- und Elektrolytdefiziten angeregt wird. (DE MELLO COSTA, et al. 2012; MCKEEVER 1998; MUNOZ, et al. 2010). Die Aktivierung des RAAS und somit auch die ANG-II Produktion während Belastung korreliert dabei offenbar mit der Belastungsintensität bzw. der Herzfrequenz (MCKEEVER, et al. 1992). Der Anstieg der ANG-II Plasmakonzentration kann je nach Dehydratationsgrad und Elektrolytverlusten von Pferd zu Pferd variabel hoch sein (MUNOZ, et al. 2010).

Bei herzkranken Menschen ist die Aktivierung des neuroendokrinen Systems verbunden mit einer schlechten Langzeitprognose. Körperliches Training kann die CpANG-II bei Patienten

mit chronischer Herzinsuffizienz deutlich reduzieren und deren Langzeitprognose verbessern (BRAITH, et al. 1999).

Der Einfluss körperlicher Belastung auf das RAAS von herzkranken Pferden wurde in der vorliegenden Arbeit erstmals untersucht.

2. Aldosteron (ALD)

1953 gelang SIMPSON und Mitarbeitern ein bis dahin unbekanntes Steroidhormon mit starker mineralocorticoider Wirkung aus Nebennierenextrakten von Rindern zu isolieren, zu kristallisieren und in den folgenden Jahren auch zu charakterisieren (SIMPSON, et al. 1953; 1954a; 1954b). Sie nannten das neue Mineralocorticoid zunächst „Electrocortin“. Nachdem die chemische Struktur identifiziert war (SIMPSON, et al. 1954b), wurde das Hormon von REICHSTEIN, der mit der Gruppe um SIMPSON zusammenarbeitete und dem eine wesentliche Rolle bei der Identifizierung des Hormons zukam (TAIT, et al. 2004), in „Aldosteron“ umbenannt (SIMPSON, et al. 1954a; 1954b).

2.1. Struktur und Synthese

Die Synthese des Aldosterons (C₂₁H₂₈O₅) erfolgt in der äußeren Zone der Nebennierenrinde, der Zona glomerulosa (GIROUD, et al. 1956).

Die Grundlage der Steroidhormonbiosynthese ist das Cholesterin. Zunächst wird die Seitenkette des Cholesterins bestehend aus 6 Kohlenstoffatomen abgespalten. Dies geschieht durch Hydroxylierung an C-20 und C-22 und anschließender Spaltung der Bindung zwischen C-20 und C-22, wodurch Pregnenolon entsteht. Pregnenolon wird in 2 weiteren Schritten zu Progesteron umgewandelt. Aus Progesteron entsteht schließlich in den nächsten Schritten das Aldosteron. Progesteron wird zunächst am C-21 Atom zum Desoxycorticosteron hydroxyliert. Dieses wird an C-11 zum 11-Desoxycorticosteron hydroxyliert. Durch Oxidation der C-18-Methylgruppe entsteht letztlich Aldosteron. Die letzten 3 Reaktionen werden von der Aldosteronsynthase katalysiert (BERG, et al. 2003). Aldosteron hat eine biologische HWZ von ca. 30 Minuten (SCHMIDT, et al. 1999).

2.2. Rezeptoren

Aldosteron bindet an Mineralocorticoidrezeptoren (MR). Diese werden exprimiert in Natrium transportierenden Geweben wie den Nieren (HERMAN, et al. 1968), dem Dickdarm (SCHULMAN, et al. 1986), den Speichel- und Schweißdrüsen (SASANO, et al. 1992) aber auch im Gehirn (ANDERSON and FANESTIL 1976), in Leukozyten (ARMANINI, et al. 1985), großen Blutgefäßen (CAPRIO, et al. 2008) und im Herzen. Kardiale Aldosteronrezeptoren konnten immunohistochemisch in allen Kardiomyozyten, sowie in kardialen Endothelzellen und Fibroblasten nachgewiesen werden (BONVALET, et al. 1995). Auch in glatten Gefäßmuskelzellen und Adipozyten finden sich MR (NGUYEN DINH CAT, et al. 2011; NGUYEN DINH CAT, et al. 2010).

Der MR ist ein intrazellulärer Rezeptor, ein sogenannter Kernrezeptor, der als Transkriptionsfaktor funktioniert und so die Genexpression beeinflusst. Bindet Aldosteron an den Rezeptor, ändert dieser seine Konformation, und der Komplex aus Aldosteron und Rezeptor transloziert zum Zellkern. Der Komplex bindet an die Kernpore, es folgt eine Dimerisierung. Das Dimer wird dann durch die Pore ins Plasma des Zellkerns transportiert. Dort bindet der Aldosteron-Rezeptor-Komplex an seine spezifische Ziel-DNA und löst die Transkription seiner Zielgene aus.

2.3. Regulation der Rezeptoraktivität und Aldosteronsekretion

Aldosteron ist das letzte Glied in der Kette des RAAS und wird in diesem Zusammenhang reguliert.

Renin ist das Schlüsselenzym des RAAS. Renin katalysiert die Umwandlung von Angiotensinogenen zu ANG-I, das durch ACE zu ANG-II umgewandelt wird. ANG-II wiederum stimuliert die Aldosteronfreisetzung. Auch renale sympathische Reize und Katecholamine, Hypovolämie, verminderte Natriumaufnahme und eine erhöhte Plasmakaliumkonzentration stimulieren die Reninsekretion und ANG-II-Synthese und folglich die Aldosteronausschüttung. Auch das Adrenocorticotrope Hormon (ACTH) stimuliert die Aldosteronausschüttung. Dies geschieht direkt über Melanocortinrezeptoren in der NNR (BOYD, et al. 1971; MULROW and GANONG 1961; SPAT and HUNYADY 2004; VANDER 1965).

Ebenso stimulieren β -Endorphin (RABINOWE, et al. 1985), Melanotropin (MATSUOKA, et al. 1981), Serotonin (SHENKER, et al. 1985) und Entzündungsmediatoren wie Prostaglandine (JENSEN, et al. 1996) die Aldosteronsekretion.

Auch Endothelin regt die Aldosteronsekretion an. Dies geschieht direkt über ET-Rezeptoren in der Zona glomerulosa der NNR (ANDREIS, et al. 2001; HINSON, et al. 1991; MORISHITA, et al. 1989; ZENG, et al. 1992).

Die natriuretischen Peptide ANP und BNP bremsen die Aldosteronausschüttung (ANDERSON, et al. 1986; ANDREIS, et al. 2001; NAWATA, et al. 1991).

Auch hohe ANG-II Konzentrationen wirken über einen negativen Feedback-Mechanismus hemmend auf die Aldosteronsekretion (APTEL, et al. 1996).

Ebenso hemmen eine niedrige Plasmakaliumkonzentration und eine hohe Plasmanatriumkonzentration die Aldosteronausschüttung (BOOTH, et al. 2002; MULLER and HUBER 1969).

2.4. Die wichtigsten Effekte des Aldosterons

Als letztes Glied in der Kette des RAAS wirkt Aldosteron über seine genomischen Effekte als wichtiger Regulator des Elektrolyt- und Flüssigkeitshaushaltes und des Blutdrucks.

Aldosteron stimuliert die Expression von Natriumkanälen, Kaliumkanälen und des Transporters Natrium/Kalium-Adenosintriphosphatase (Na^+/K^+ -ATPase) (BOOTH, et al. 2002).

Es dauert etwa 30 min von der Bindung des Aldosterons bis zur Transkription der Zielgene. Dies ist der langsame genomische Wirkmechanismus des Aldosterons.

Daneben sind schnelle, nicht genomische Effekte bekannt, die innerhalb von Minuten vermittelt werden (STOCKAND 2002).

Es gibt Hinweise darauf, dass diese nicht genomischen Effekte von Aldosteron sowohl durch den klassischen zytosolischen MR vermittelt werden als auch durch membrangebundene Rezeptoren (MIHAILIDOU and FUNDER 2005).

In den klassischen Zielorganen wie Nieren und Kolon werden die schnellen Effekte des Aldosterons über verschiedene Signaltransduktionsmechanismen vermittelt, in die PKC, Calcium (Ca^{2+}), der EGFR, und die MAP-Kinasen ERK 1/2 involviert sind (GEKLE, et al. 2001; KRUG, et al. 2002; THOMAS, et al. 2007). Die Endeffektoren sind Natrium/Protonen (Na^+/H^+)-Austauscher, ATP sensitive und calciumabhängige Kaliumkanäle sowie Proteine, die den Elektrolyt- und Flüssigkeitshaushalt, sowie den Calciumstoffwechsel der Zellen regulieren. Der Effekt liegt letztlich in einer Veränderung des intrazellulären pH-Werts, und der intrazellulären Natrium-, -Calcium-, -und Kaliumkonzentration (FUNDER 2005). Aldosteron induziert die Retention von Natrium und bewirkt eine vermehrte Ausscheidung von Kalium im distalen Colon und in den Nieren. Wasser folgt passiv, wodurch der Blutdruck steigt. Auch

über MR im Zentralnervensystem (ZNS) beeinflusst Aldosteron wichtige Funktionen, die zur Regulation des Blutdrucks beitragen, wie z.B. den Salzappetit (SAKAI, et al. 2000).

Für einen stabilen Blutdruck ist die Barorezeptorsensibilität von großer Bedeutung. Diese kann durch Aldosteron auf schnellem, nicht genomischem Wege reduziert werden (2007; WANG, et al. 1992).

In den nicht klassischen Aldosteron-Zielorganen sind die physiologischen nicht genomischen Effekte des Aldosterons allerdings nach wie vor weitgehend unbekannt (BOOTH, et al. 2002).

Unter pathologischen Bedingungen kann Aldosteron über nicht genomische Wege die Kollagensynthese in kardialen Fibroblasten stimulieren (BRILLA, et al. 1995; MIHAILIDOU 2005), die Expression von Ionenkanälen im Myokard beeinflussen und die Hypertrophie kardialer Myozyten fördern. Diese aldosteroninduzierten Umbauwirkungen können Reizleitungsstörungen in den Vorhöfen verursachen und die Entstehung von Vorhofflimmern und Extrasystolen begünstigen (OUVRARD-PASCAUD, et al. 2005).

Über die Tyrosinkinase c-Src aktiviert Aldosteron auf nicht genomischen Weg die NADPH-Oxidase und MAP38-Kinase. ROS werden verstärkt produziert und aktivieren ihrerseits proinflammatorische Transkriptionsfaktoren wie NF- κ B und Aktivator Protein 1 (AP-1) und begünstigen so die Fibrosierung und Produktion proinflammatorischer und chemotaktischer Zytokine in kardialem Gewebe und in Gefäßmuskelzellen (CALLERA, et al. 2005; FIEBELER, et al. 2001).

Auch über den ERK 1/2 und den JNK Signalweg und die Hemmung der Glucose-6-Phosphatdehydrogenase (G6PD) kann Aldosteron Entzündungsreaktionen und profibrotische Effekte medieren (LEE, et al. 2004; LEOPOLD, et al. 2007; NAGAI, et al. 2005).

Durch „Crosstalk“ zwischen MR und AT-1 Rezeptoren entfalten ANG-II und ALD synergistische Effekte (siehe oben) (LEMARIE, et al. 2008).

2.5. Aldosteron als kardialer Marker in der Humanmedizin

Pathologisch erhöhte Aldosteronkonzentrationen führen zur Retention von Natrium und zur verstärkten Ausscheidung von Kalium, stören die Barorezeptorfunktion, begünstigen Entzündungsprozesse und induzieren kardiale Umbauprozesse wie Fibrosierung und Hypertrophie sowie vaskuläre Fibrosierung in Verbindung und synergistisch mit ANG-II.

Die CpALD ist ein unabhängiger prognostischer Indikator für das Sterblichkeitsrisiko bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz und nach Herzinfarkt. Eine hohe CpALD geht mit

einer schlechteren Prognose bzw. einem erhöhten Sterberisiko aufgrund der Herzerkrankung einher (BEYGUI, et al. 2006; GUDER, et al. 2007; PALMER, et al. 2008; YUYUN, et al. 2012).

Dementsprechend können Aldosteronrezeptorblocker die Sterblichkeit bei Patienten mit Herzinsuffizienz deutlich reduzieren. Die höhere Überlebensrate ist vermutlich auf die Blockade der direkten negativen Effekte von Aldosteron zurückzuführen (BRILLA 2000; PITT, et al. 1999) (REIL, et al. 2011).

2.6. Aldosteron als kardialer Marker in der Tiermedizin

Bei Hunden mit geringgradiger (ggr.) Mitralklappeninsuffizienz fanden PEDERSEN und RUSH eine erhöhte CpALD. FUJII und Mitarbeiter konnten dagegen keinen Unterschied in der ALD Plasmakonzentration (CpALD) zwischen gesunden Hunden und Hunden mit ggr. Mitralklappeninsuffizienz finden (PEDERSEN 1996; PEDERSEN, et al. 1995; RUSH, et al. 2000).

Auch bei Hunden mit dilatativer Kardiomyopathie (DCM) ohne klinische Symptome wurde eine erhöhte CpALD gegenüber gesunden Hunden festgestellt. Bei fortschreitender Erkrankung mit klinischen Symptomen stieg die CpALD weiter an und unterschied sich signifikant von den Werten asymptomatischer Tiere (TIDHOLM, et al. 2001).

Analog zum Menschen können Aldosteronrezeptorblocker bei Hunden mit Herzinsuffizienz die Prognose durch eine um 69% reduzierte Sterblichkeit deutlich verbessern (BERNAY, et al. 2010).

Auch bei Pferden mit Herzinsuffizienz ist die CpALD erhöht. Die Plasmawerte korrelieren dabei positiv mit dem Schweregrad der Erkrankung. Pferde mit Herzklappenerkrankung und gleichzeitigen kardialen Dimensionsveränderungen zeigen höhere Werte als Pferde ohne Dimensionsveränderungen (GEHLEN, et al. 2008).

2.7. Einfluss von körperlicher Belastung auf die CpALD

Abhängig von der Belastungsintensität bzw. der Herzfrequenz und dem Verlust von Wasser und Elektrolyten über das Schwitzen, steigt die CpALD bei gesunden Pferden und beim Menschen durch körperliche Belastung deutlich an. Der Anstieg der CpALD korreliert dabei mit dem Anstieg der Herzfrequenz, dem Grad der Dehydratation und den Elektrolytverlusten. Die CpALD bleibt auch Stunden nach der Belastung noch erhöht, wodurch eine Art Langzeiteffekt entsteht, der mit einem Anstieg des Plasmavolumens einhergeht und einen schnellen

Ausgleich von Flüssigkeits- und Elektrolytdefiziten gewährleistet (GUTHRIE 1982; MASRI, et al. 1990; MCKEEVER, et al. 1992 und 2002b; MUNOZ, et al. 2010).

Bei Menschen mit kongestiver Herzinsuffizienz konnte ein Anstieg der CpALD während Belastung festgestellt werden (FERRARI, et al. 1996; KATO, et al. 1996).

Über den Effekt von körperlichem Training auf die Aldosteron Plasmakonzentration in Ruhe (CpALD_R) bei Herzkranken gibt es kontroverse Aussagen. In einer Studie an Patienten mit kongestiver Herzinsuffizienz zeigte sich nach einer 4-monatigen Trainingsperiode eine deutlich geringere CpALD_R als zu Beginn des Trainings (BRAITH, et al. 1999). Eine andere Studie konnte keinen signifikanten Effekt des Trainings auf die CpALD bei Herzkranken feststellen (PASSINO, et al. 2006).

Die Auswirkung von körperlicher Belastung auf die CpALD bei Pferden mit Herzerkrankungen wurde in der vorliegenden Studie erstmals untersucht.

3. Endothelin-1 (ET-1)

1985 fanden HICKEY und Kollegen in den Endothelzellen von Rinderaorten eine vasoaktive Substanz, die dosisabhängig zur Konstriktion isolierter Koronararterien von Rindern, Schweinen und Hunden führte (HICKEY, et al. 1985).

Diese Substanz, das Endothelin-1, wurde einige Jahre später erstmals von YANAGISAWA und MASAKI aus dem Überstand eines Kulturmediums aus porcinen Aortenendothelzellen isoliert und sequenziert (YANAGISAWA and MASAKI 1989). An Schweinen konnte die ET-1 Synthese durch Endothelzellen auch in vivo nachgewiesen werden. KLOOG und Mitarbeiter entdeckten und charakterisierten 1988 das Sarafotoxin (KLOOG, et al. 1988).

Sarafotoxin ist im Gift der Schlange *Atractaspis engaddensis* enthalten. Ihre Aminosäuresequenz zeigt große Ähnlichkeit mit der Sequenz der Endothelgruppe. Safafotoxin bewirkt rasch nach dem Biss der Schlange einen Herzstillstand. Es führt zu einer massiven Vasokonstriktion der Koronargefäße, wirkt sehr stark positiv inotrop und verursacht kardiale Reizleitungsstörungen.

Die große strukturelle und funktionelle Ähnlichkeit der beiden Peptidgruppen erstaunte die Forscher angesichts der tödlichen Wirkung des Toxins gegenüber dem physiologisch im Endothel von Säugetieren vorkommenden Endothelins. Die Vermutung lag nahe, dass Endothelin unter pathologischen Bedingungen ähnlich toxische Wirkung haben könnte und daher an

der Pathophysiologie kardiovaskulärer Erkrankungen beteiligt sein könnte, was sich zu einem späteren Zeitpunkt bestätigen sollte (KLOOG, et al. 1988).

3.1. Struktur, Isopeptide und Synthese

Endothelin-1 ist ein Polypeptid, bestehend aus 21 Aminosäuren (Abbildung 3). Zum Endothelin-System gehören neben ET-1 noch 3 weitere Isopeptide: ET-2, ET-3 (INOUE, et al. 1989) und ET-4, das nur im Intestinaltrakt exprimiert wird (SAIDA, et al. 1989). Die Isopeptide werden von verschiedenen Genen codiert, sind sich strukturell aber sehr ähnlich, denn sie bestehen alle aus 21 Aminosäureresten und unterscheiden sich voneinander in nur wenigen Aminosäurepositionen (YANAGISAWA, et al. 1988). Die Aminosäuresequenz der einzelnen Endotheline ist unter Säugetieren sehr ähnlich (TAKASUKA, et al. 1994). Das reife ET-1 von Menschen, Ratten, Schweinen, Rindern und Hunden ist zu 100 % identisch. Beim Präpro-ET-1, einer Vorstufe des reifen ET-1, beträgt die Interspezieshomologie dagegen nur zwischen 68 % und 78% (SAKURAI, et al. 1991).

ET-1 wird in verschiedenen Geweben synthetisiert und freigesetzt. Dazu gehören Gefäßendothelzellen, kardiale Myozyten und Fibroblasten (GRAY, et al. 1998). Daneben wurde die Synthese auch in mesangialen (SAKAMOTO, et al. 1990) und juxtaglomerulären (CHEN, et al. 1993) Zellen der Nieren, im Endometrium (ECONOMOS, et al. 1992), in Epithelzellen der Lunge (BLACK, et al. 1989; GIAID, et al. 1991) und in Makrophagen (EHRENREICH, et al. 1990) nachgewiesen.

Der erste Schritt der ET-1-Biosynthese besteht in der Synthese eines Präpropeptids, dem Präpro-ET-1 (YANAGISAWA, et al. 1988) als primärem Transkriptionsprodukt. Durch die Abspaltung eines kurzen Signalpeptids entsteht daraus das Pro-ET-1. Dieses wird im nächsten Schritt durch eine Furin-Konvertase proteolytisch gespalten, so dass das inaktive Vorläuferpeptid Big-ET-1 entsteht (DENAULT, et al. 1995).

Die Umwandlung des Big-ET-1 zum aktiven ET-1 erfolgt erst durch die Endothelin-Converting-Enzyme 1 (ECE-1) (XU, et al. 1994) und 2 (ECE-2) (EMOTO and YANAGISAWA 1995), Chymasen (WYPIJ, et al. 1992) und nicht-ECE-Metalloproteinasen (IKEDA, et al. 1999).

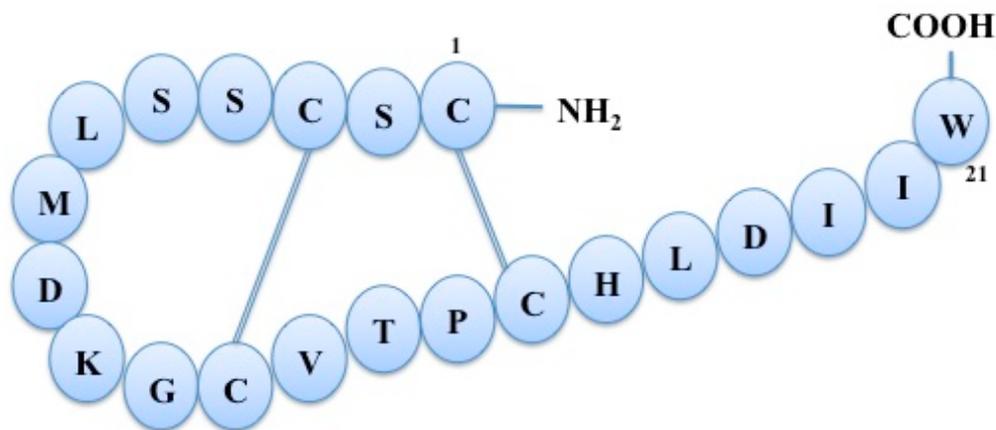


Abbildung 3: Humanes Endothelin-1, Aminosäurekodierung nach dem Einbuchstabensystem (siehe Abkürzungsverzeichnis)

3.2. Rezeptoren

Endothelin-Rezeptoren sind G-Protein-gekoppelte Rezeptoren vom Rhodopsin-Typ (MASAKI, et al. 1991). Bei Säugetieren kommen 3 Rezeptortypen vor (LUSCHER and BARTON 2000). Der ET-A- Rezeptor (ARAI, et al. 1990), der ET-B-Rezeptor (SAKURAI, et al. 1990) und ein kombinierter ANG-II/ET-1-Rezeptor, der vor allem in zerebralem und kardialem Gewebe exprimiert wird (RUIZ-OPAZO, et al. 1998). ET-A und ET-B-Rezeptoren finden sich in zahlreichen verschiedenen Geweben (DAVENPORT, et al. 1989).

ET-A-Rezeptoren wurden im Herz-Kreislauf-System, dem Atmungstrakt, dem ZNS, im Urogenitaltrakt, im Gastrointestinaltrakt und im Pankreas nachgewiesen. ET-B-Rezeptoren kommen im Herz-Kreislauf-System, dem Atmungstrakt, dem ZNS, in Knochengewebe, in den Nieren und Pankreas vor (WATTS 2010).

Beide Rezeptorsubtypen, ET-A und ET-B, kommen auch in der Zona glomerulosa der NNR vor (KAPAS, et al. 1996).

Am Herz finden sich ET-A und ET-B Rezeptoren zahlreich verteilt in Herzmuskelzellen, im Endokard, sowie im Reizbildungs- und Reizleitungssystem (RUSSELL and MOLENAAR 2000).

Die Affinität der Isopeptide zum ET-A-Rezeptor ist unterschiedlich. ET-1 und ET-2 haben eine sehr viel höhere Affinität zum ET-A-Rezeptor als ET-3. Der ET-B-Rezeptor ist dagegen

nicht selektiv, so dass alle 3 Isopeptide eine ähnliche Bindungsaffinität zu diesem Rezeptor aufweisen (SAKURAI, et al. 1990; WATTS 2010).

3.3. Regulation der Rezeptoraktivität

Die Synthese des ET-1 wird zum überwiegenden Teil auf Ebene der messenger Ribonukleinsäure (mRNA) -Transkription (YANAGISAWA, et al. 1988), und zu einem kleineren Teil durch posttranskriptionale Modifikation geregelt.

Zahlreiche verschiedene physikalische und chemische Faktoren bewirken eine vermehrte oder eine verringerte ET-1-Synthese. Zu denjenigen Einflussfaktoren, die eine vermehrte ET-1-Synthese bzw. Freisetzung bewirken, gehören die Zytokine Transforming Growth Factor β (TGF- β) (KURIHARA, et al. 1989) und Tumor Nekrose Faktor α (TNF- α) (MARSDEN and BRENNER 1992), Thrombin (BOULANGER and LUSCHER 1990), Sauerstoffmangel (KOUREMBANAS, et al. 1991), Insulin (HU, et al. 1993), Testosteron (PEARSON, et al. 2008) und ANG-II (PEARSON, et al. 2008), sowie Scherstress und mechanische Dehnung als physikalische Faktoren (MACARTHUR, et al. 1994; MALEK and IZUMO 1992; YOSHIZUMI, et al. 1989).

Neuere Untersuchungen zeigen, dass auch Aldosteron eine Hochregulation der ET-1 Genexpression u.a. an den Herzmuskelzellen bewirkt (DOI, et al. 2008; WONG, et al. 2007).

Gehemmt wird die ET-1-Genexpression auf posttranskriptionaler Ebene durch vasodilatatorische und blutdrucksenkende Faktoren wie ANP (GLENN, et al. 2009; HU, et al. 1992) und NO (BOULANGER and LUSCHER 1990).

Die Freisetzung von ET-1 aus ET-1-produzierenden Zellen erfolgt zum einen kontinuierlich ohne Zwischenspeicherung. Zum anderen wurde ET-1 in sogenannten Weibel-Palade-Körperchen nachgewiesen. Diese Zellorganellen dienen als Speicherorgane für diverse Mediatoren und sind ausschließlich im Gefäßendothel lokalisiert. Aus ihnen kann ET-1 auf bestimmte Stimuli hin schnell durch Exozytose freigesetzt werden (OZAKA, et al. 1997).

3.4. Die wichtigsten Effekte des ET-1

Über die PLC/IP3/DAG Signalkaskade setzt ET-1 Calcium aus intrazellulären Calciumspeichern frei (GARDNER, et al. 1992; GIANNESSEI, et al. 2001). An Gefäßmuskelzellen führt dieser Calciumeinstrom zur Vasokonstriktion. Der vasokonstriktorische Effekt entspricht dem des ANG-II, setzt jedoch etwas später ein und hält wesentlich länger an (CLARKE, et al. 1989).

Der second messenger DAG stimuliert die PKC und ihre Isoenzyme, die wiederum Na^+/H^+ und $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$ Antiporter aktivieren, wodurch der intrazelluläre pH-Wert ansteigt. Der veränderte pH-Wert sensibilisiert die kardialen Myofilamente für Calcium und bewirkt außerdem einen Einstrom von Calciumionen aus dem Extrazellularraum. Beide Effekte erhöhen die Kontraktionskraft der Herzmuskelzellen. (KRAMER, et al. 1991). Allerdings scheint es auch speziesspezifische Unterschiede in der Wirkung von ET-1 auf die Kontraktionskraft myokardialer Zellen zu geben (DE GIUSTI, et al. 2008).

ET-1 aktiviert auch die NADPH-Oxidase, wodurch vermehrt ROS gebildet werden, die Na^+/H^+ Antiporter stimulieren (SNABAITIS, et al. 2002) und so zum positiv inotropen Effekt von ET-1 beitragen (CINGOLANI, et al. 2006). Die PKC und die ERK 1/2 sind ebenfalls an diesem Effekt beteiligt (SNABAITIS, et al. 2002).

In vitro zeigt ET zudem ein direktes proarrhythmogenes Potential (YORIKANE and KOIKE 1990; YORIKANE, et al. 1990). Dabei spielen der durch ET vermittelte intrazelluläre Anstieg der Calciumkonzentration und die proliferative Wirkung auf Fibroblasten eine wichtige Rolle (GREISER, et al. 2011).

Über die Isoenzyme der PKC und den ERK 1/2 Signalweg wird die proliferative Wirkung des ET-1 vermittelt. So stimuliert ET-1 die Proliferation von Gefäß- und Herzmuskelzellen, kardialen Fibroblasten (NISHIZUKA 1986; PIACENTINI, et al. 2000) und glatten Muskelzellen der Bronchien (WHELCHER, et al. 1997).

Auch eine Reihe kleiner G-Proteine wie Ras werden durch ET-1 aktiviert und sind mit kardialer Hypertrophie assoziiert. Sie aktivieren ihrerseits den ERK 1/2 Signalweg, was eine Reihe von Signalproteinen wie die PLA2 und Transkriptionsfaktoren beeinflusst, wodurch das Zellwachstum moduliert werden kann.

Über andere Proteinkinasen wie JNKs und P38-MAPKs kann ET-1 zytoprotektive, prohypertrophe oder proapoptotische Effekte vermitteln (SUGDEN 2003).

Über NF- κ B und die Freisetzung von Zytokinen wie Interleukin-1 (IL-1) und Interleukin-6 (IL-6) wirkt ET-1 proinflammatorisch (YANG, et al. 2004). Zudem stimulieren diese und andere Zytokine wiederum die Endothelinausschüttung (KAHALEH and FAN 1997).

Die über ET-B Rezeptoren vermittelten Effekte von ET-1 stehen den ET-A vermittelten Effekten entgegen, so dass die Wirkung von ET-1 auch von der Rezeptorverteilung abhängt. Über ET-B-Rezeptoren vermittelt hat ET-1 eine negativ inotrope Wirkung (LEITE-MOREIRA and BRAS-SILVA 2004; LEITE-MOREIRA 2003), kann die Apoptose von Zel-

len induzieren (OKAZAWA, et al. 1998) und die Synthese von Vasodilatoren wie NO (HIRATA, et al. 1993) und Prostacyclin (SEO, et al. 1994) stimulieren.

Des Weiteren scheint der ET-B-Rezeptor für den Abbau von ET-1 von Bedeutung zu sein (FUKURODA, et al. 1994). Im Lungenparenchym, wo ein großer Teil des ET-1 abgebaut wird (DUPUIS, et al. 1994 und 1996; SIRVIO, et al. 1990), finden sich vor allem ET-B Rezeptoren (NAKAMICHI, et al. 1992). Die Plasmahalbwertszeit von ET-1 beträgt nur 1-2 Minuten (WEITZBERG, et al. 1991).

Das Endothelin-System ist eng mit dem RAAS verknüpft. Mehrere Untersuchungen belegen einen hemmenden Effekt von ET auf die Reninausschüttung aus den Nieren (ACKERMANN, et al. 1995; BEIERWALTES and CARRETERO 1992; MOE, et al. 1991), während die Aldosteronausschüttung durch ET-1 direkt an der Zona glomerulosa stimuliert wird (ANDREIS, et al. 2001; HINSON, et al. 1991; MORISHITA, et al. 1989; ZENG, et al. 1992). ANG-II stimuliert wiederum die ET-1 Synthese (GLENN, et al. 2009; GRAY, et al. 1998; PEARSON, et al. 2008).

ET-1 interagiert nicht nur mit dem RAAS, sondern auch mit dem natriuretischen-Peptid-System. ET-1 stimuliert die kardiale ANP- und BNP- Freisetzung (FUKUDA, et al. 1988; MILLER, et al. 1989; SUZUKI, et al. 1992). ANP hemmt wiederum in einem negativen Feedback-Mechanismus die Ausschüttung von ET-1 (GLENN, et al. 2009).

3.5. Die CpET-1 als kardialer Marker in der Humanmedizin

Eine chronisch hohe ET-1 Plasmakonzentration (CpET-1) begünstigt das Fortschreiten von Herzerkrankungen. Denn wie ANG-II und ALD ist auch ET-1 an kardialen und vaskulären Umbauprozessen wie Fibrosierung und Hypertrophie beteiligt. Zudem stimuliert es die Aldosteronausschüttung, so dass sich die negativen Effekte beider Neurohormone synergisieren.

Des Weiteren stimuliert ET-1 Entzündungsreaktionen, fördert die Entstehung atrialer und ventrikulärer Arrhythmien und erhöht durch seine vasokonstriktorisches Eigenschaften die Nachlast des Herzens.

Bei Patienten mit kongestiver Herzinsuffizienz ist die CpET-1 ein unabhängiger prognostischer Marker für die Sterblichkeit. Eine hohe CpET-1 korreliert mit einer höheren Mortalität (GALATIUS-JENSEN, et al. 1996; LATINI, et al. 2004; POUSET, et al. 1997; SELVAIS, et al. 2000; VAN BENEDEN, et al. 2004; WEI, et al. 1994).

Dabei übersteigt die Aussagekraft der CpET-1 bezüglich des Überlebens sogar die der natriuretischen Peptide ANP und BNP (VAN BENEDEN, et al. 2004).

Außerdem ist die CpET-1 ein Marker für den Schweregrad der Herzinsuffizienz, wobei die höchsten Werte bei Patienten mit hochgradiger (hgr.) Herzinsuffizienz gefunden wurden (GALATIUS-JENSEN, et al. 1996; WEI, et al. 1994). Die CpET-1 korreliert mit verschiedenen kardialen Funktionsparametern wie der linksventrikulären Ejektionsfraktion (WEI, et al. 1994) und ist bei Patienten mit systolischer Herzinsuffizienz ein Marker für die linksventrikuläre Dysfunktion (KOCHEGURA, et al. 2013). WEI und Mitarbeiter konnten allerdings keinen Unterschied in der CpET-1 gesunder Menschen gegenüber asymptomatischen und ggr. symptomatischen Patienten mit kongestiver Herzinsuffizienz feststellen (WEI, et al. 1994). Auch bei Patienten mit Herzinfarkt hat sich ET-1 als prognostischer Biomarker erwiesen (EITEL, et al. 2010).

3.6. Die CpET-1 als kardialer Marker in der Tiermedizin

Bei Hunden mit symptomatischer kongestiver Herzinsuffizienz wurde eine signifikant höhere CpET-1 als bei gesunden Hunden festgestellt (CAVERO, et al. 1990; PROSEK, et al. 2004). PROSEK und Mitarbeiter fanden dabei auch eine Korrelation der CpET-1 mit folgenden Parametern: dem linken Vorhofdurchmesser im Verhältnis zum Durchmesser der Aortenwurzel (LA/Ao Ratio), dem linksventrikulären inneren Durchmesser in der Diastole (LVIDd) und dem linksventrikulären inneren Durchmesser in der Systole (LVIDs) (PROSEK, et al. 2004). Auch bei Katzen mit Herzinsuffizienz unterschiedlicher Ursache wurde eine höhere CpET-1 gegenüber gesunden Katzen gefunden, wobei die Werte von Katzen mit kongestiver Herzinsuffizienz höher waren als die Werte von Katzen ohne kongestive Herzinsuffizienz (PROŠEK, et al. 2004).

Zum prognostischen Wert der CpET-1 gibt es unterschiedliche Aussagen. Während TESSIER-VETZEL und Mitarbeiter eine Korrelation der CpET-1 bei Hunden mit Herzerkrankungen mit dem Schweregrad der Erkrankung fanden (TESSIER-VETZEL, et al. 2006), konnten FUKUMOTO und Mitarbeiter bei Hunden mit chronisch degenerativen Klappenerkrankungen keine solche Korrelation finden (FUKUMOTO, et al. 2014).

Bei Hunden mit Dyspnoe hat sich die CpET-1 als diagnostischer Biomarker für eine kongestive Herzinsuffizienz erwiesen. Dabei zeigten Hunde mit Herzerkrankung höhere Werte als Hunde ohne Herzerkrankung (PROŠEK, et al. 2007). Auch TESSIER-VETZEL und Mitarbeiter konnten bei Hunden mit geringgradigen (ggr.) bis mittelgradigen (mgr.) Symptomen anhand der CpET-1 zwischen herz- und lungenkranken Tieren unterscheiden (TESSIER-VETZEL, et al. 2006).

Bei Pferden mit Herzerkrankungen wurde die CpET-1 in der vorliegenden Arbeit erstmals untersucht.

3.7. Einfluss von körperlicher Belastung auf die CpET-1

Zum Einfluss von akuter Belastung auf die CpET-1 existieren kontroverse Aussagen.

Mehrere humanmedizinische Studien beschreiben eine gegenüber der CpET-1 in Ruhe (CpET-1_R) reduzierte CpET-1 nach Belastung (CpET-1_B) (ALLEVARD, et al. 1991; CAMSARL, et al. 2003; MAEDA, et al. 2004; MATSAKAS and MOUGIOS 2004). Andere Studien kommen zu gegenteiligen Ergebnissen (MAEDA, et al. 1994; MATSAKAS and MOUGIOS 2004) oder finden keinen Unterschied zwischen CpET-1_R und CpET-1_B (GILES, et al. 2011; LENZ, et al. 1998; LETIZIA, et al. 1995; PETIDIS, et al. 2008).

Körperliches Training scheint die CpET-1 zu beeinflussen. MATSAKAS und MOUGIOS, sowie OTSUKI und Mitarbeiter verglichen die CpET-1 von gesunden trainierten und untrainierten Menschen in Ruhe und nach Belastung. Die CpET-1_B war bei untrainierten höher als die CpET-1_R und bei trainierten Personen geringer als die CpET-1_R (MATSAKAS and MOUGIOS 2004; OTSUKI, et al. 2007). Folglich steigt die CpET-1 bei gesunden untrainierten Menschen nach körperlicher Belastung an, während sie bei trainierten Menschen gegenüber den Ruhewerten unverändert bleibt oder gar absinkt, was auch MAEDA und Mitarbeiter in mehreren Untersuchungen bestätigen konnten (MAEDA, et al. 1994, 2004 und 2009).

Bei Menschen mit chronischer Herzinsuffizienz konnte kein signifikanter Unterschied zwischen CpET-1_R und CpET-1_B festgestellt werden (MCMURRAY, et al. 1992). Training scheint bei herzkranken Menschen keinen Einfluss auf die CpET-1 zu haben (CALLAERTS-VÉGH, et al. 1998).

Ebenso kontrovers wie in der Humanmedizin, sind die Aussagen zur Auswirkung von Belastung auf die CpET-1 bei gesunden Pferden. MCKEEVER und Mitarbeiter fanden einen Anstieg der CpET-1 durch Belastung (MCKEEVER, et al. 2002a). In einer anderen Studie konnte dagegen kein Unterschied zwischen CpET-1_R und CpET-1_B im Zusammenhang mit submaximaler Laufbandbelastung bei untrainierten Pferden festgestellt werden (MCKEEVER und MALINOWSKI 1999).

Die Auswirkung von körperlicher Belastung auf die ET-1 Antwort bei herzkranken Pferden wurde in der vorliegenden Arbeit erstmals untersucht.

4. Atriales Natriuretisches Peptid (ANP)

Bereits 1956 identifizierte KISCH Granula in den Herzvorhöfen von Meerschweinchen, die denen in endokrinen Zellen ähnelten (KISCH 1956). Allerdings blieb die Bedeutung dieser Entdeckung bzw. die Funktion der Granula noch bis in die achtziger Jahre unbekannt.

DE BOLD und Mitarbeiter entdeckten Anfang der achtziger Jahre, dass die Injektion eines Extraktes aus Herzvorhofgewebe bei Ratten die Ausscheidung von Natrium über den Harn erhöht (DE BOLD, et al. 1981). Schließlich wurde 1984 die Aminosäuresequenz des humanen ANP vollständig aufgedeckt (KANGAWA and MATSUO 1984).

4.1. Struktur und Synthese

ANP (auch atriales natriuretisches Peptid, A-Typ-natriuretisches Peptid) ist ein Peptidhormon, das aus 28 Aminosäuren besteht.

Die Familie der natriuretischen Peptide besteht neben ANP aus weiteren Peptiden, die dem ANP strukturell sehr ähnlich sind. Dazu gehören das brain natriuretic peptide oder B-Typ-natriuretische-Peptid (BNP) (SUDOH, et al. 1988) und das C-Typ-natriuretische-Peptid (CNP) (SUDOH, et al. 1988), von dem 4 Isoformen bekannt sind. Ein weiteres Peptid, das Urodilatin, wird ausschließlich in den Nieren synthetisiert. Es ist strukturell mit dem ANP identisch, besitzt jedoch 4 zusätzliche Aminosäuren (SCHULZ-KNAPPE, et al. 1988).

2 weitere Peptide kommen nicht bei Säugetieren vor: Das Dendroaspis-natriuretische-Peptid (DNP), das aus dem Speichel der grünen Mamba isoliert wurde (SCHWEITZ, et al. 1992) und das Ventrikel-natriuretische-Peptid (VNP), welches nur bei Fischen vorkommt (TAKEI, et al. 1991).

Das charakteristische strukturelle Merkmal aller natriuretischen Peptide ist ein Ring aus 17 Aminosäuren, der zwischen 2 Cysteinresten durch eine Disulfidbrücke zusammengehalten wird (KOLLER and GOEDDEL 1992). Trotz der strukturellen und funktionellen Ähnlichkeit unter den natriuretischen Peptiden, wird jedes der Peptide von einem eigenen Gen kodiert (ARDEN, et al. 1995).

Hauptsyntheseort von ANP ist das Herz. Während der Embryonalentwicklung wird ANP in den atrialen und ventrikulären Kardiomyozyten, sowie im kardialen Reizleitungssystem synthetisiert. Auch bei Neugeborenen ist noch eine nennenswerte ANP-Synthese in den Ventrikeln nachweisbar. Danach fällt die Syntheserate in den Ventrikeln kontinuierlich ab und fin-

det einige Wochen post partum fast ausschließlich in atrialen Kardiomyozyten und im ventrikulären Reizleitungssystem statt (JOUGASAKI, et al. 1989; WU, et al. 1988).

Im rechten Vorhof wird offenbar mehr ANP synthetisiert als im linken (MIFUNE, et al. 1991).

ANP wird auch in zahlreichen extrakardialen Geweben synthetisiert. Allerdings ist die Genexpression in diesen Geweben wesentlich geringer als in kardialen Geweben (DAGNINO, et al. 1991). Nachgewiesen wurde die Synthese in Nebennierenmark (MOREL, et al. 1988), Lunge (GARDNER, et al. 1986; GUTKOWSKA, et al. 1987), Darm (VOLLMAR 1990), Milz (THROSBY, et al. 1991), ZNS (GARDNER, et al. 1987), Hypophyse (GARDNER, et al. 1986), Thymus, Milz, Lymphknoten (VOLLMAR, et al. 1990; VOLLMAR and SCHULZ 1990a; b) und Ovarien (GUTKOWSKA and NEMER 1989).

Die Synthese verläuft ähnlich wie bei anderen Peptidhormonen. Zunächst wird von den Kardiomyozyten ein Präpropeptid aus 151 Aminosäuren synthetisiert. Aus diesem wird durch Abspaltung eines 25 Aminosäuren langen Signalpeptids das pro-ANP gebildet (POTTER, et al. 2006). Pro-ANP wird in Granula gespeichert (RICHTER, et al. 1998). Erst nach der Freisetzung aus den Granula der Herzmuskelzellen entsteht aus dem Prohormon in einem weiteren Schritt das aktive Peptid ANP (BLOCH, et al. 1985). Corin, eine Serin-Protease, hat die Aufgabe eines pro-ANP-converting-Enzyms. Es spaltet das inaktive 126 Aminosäuren lange pro-ANP in N-terminales-pro-ANP (NT-pro-ANP) und das 28 Aminosäuren lange biologisch aktive ANP (YAN, et al. 2000). Nicht nur ANP, sondern auch die inaktiven Vorstufen NT-pro-ANP und pro-ANP zirkulieren im Blut (BUCKLEY, et al. 1990; FRANZ, et al. 2001; THIBAUT, et al. 1988). Im Gegensatz zum sehr speziesspezifischen proBNP (GOETZE 2010) und BNP (KOLLER and GOEDDEL 1992; LIU, et al. 2002), ist die Aminosäurestruktur von proANP bei verschiedenen Säugetieren sehr ähnlich. So sind humanes und equines pro-ANP zu 88% homolog (RICHTER, et al. 1998). Eine noch weit höhere Interspezieshomologie besteht beim biologisch aktiven ANP. Das ANP von Pferden ist zu 100% identisch mit dem ANP von Rindern, Schafen, Schweinen, Hunden, Katzen und Menschen (BIONDO, et al. 2002; FORSSMANN, et al. 1998).

4.2. Rezeptoren

Bisher sind 4 Rezeptoren bekannt, die natriuretische Peptide binden. Der natriuretische-Peptid-Rezeptor-A (NPR-A, syn. NPR1 oder GC-A), der natriuretische-Peptid-Rezeptor-B

(NPR-B, syn. NPR2 oder GC-B) und der natriuretische-Peptid-Rezeptor-C (NPR-C, syn. NPR3)

(CHANG, et al. 1989; PORTER, et al. 1990; SCHULZ, et al. 1989).

ANP bindet an NPR-A, -B und -C, jedoch mit unterschiedlich hoher Affinität. Die höchste Bindungsaffinität hat ANP zum NPR-A und NPR-C; eine niedrigere Affinität besteht zum NPR-B (SUGA, et al. 1992). Sowohl NPR-A als auch NPR-B sind membranständige Guanylatcyclasen, die sich an der Zelloberfläche befinden. Diese homodimeren enzymgekoppelten Rezeptoren bestehen aus einer intrazellulären Domäne, einem Transmembransegment und einer extrazellulären Domäne (ECD). Die intrazelluläre Domäne unterteilt sich in eine Guanylatcyclase (CG)-Domäne und eine Kinase-homologe-Domäne (KHD) (CHINKERS, et al. 1989).

Der NPR-C ähnelt strukturell dem NPR-A und NPR-B, ist aber im Gegensatz zu diesen ein G-Protein gekoppelter Rezeptor. Er besitzt keine Guanylatcyclase- oder Proteinkinase-Aktivität. Stattdessen weist der Rezeptor in der intrazellulären, zytoplasmatischen Domäne ein Peptid auf, das selektiv G-Proteine bindet (ANAND-SRIVASTAVA, et al. 1996; MURTHY and MAKHLOUF 1999).

Der NPR-A konnte im gesamten Myokard, in endokardialen Zellen, Koronararterien und in kleinen intramyokardialen Gefäßen nachgewiesen werden (SINGH, et al. 2006). Der NPR-A befindet sich aber auch in zahlreichen extrakardialen Geweben wie z.B. Nieren, Nebennieren, Lunge, Fettgewebe (SARZANI, et al. 1996) und Gehirn (HERMAN, et al. 1996b).

Der NPR-B befindet sich u.a. auf kardialen Myozyten (LIN, et al. 1995), im Gehirn (HERMAN, et al. 1996b), in der Lunge, im Ileum, der Leber (SARZANI, et al. 1996), Ovarien (NOUBANI, et al. 2000) und Gefäßen (DEL RY, et al. 2011).

Der NPR-C wurde in Vorhof- und Ventrikelgewebe, Lunge, Nieren, Nebennieren, Gefäßendothel (FULLER, et al. 1988; LIN, et al. 1995; WILCOX, et al. 1991) und Gehirn nachgewiesen (HERMAN, et al. 1996a) Die 3 ANP bindenden Rezeptoren wurden zudem auf kardialen Fibroblasten gefunden (LIN, et al. 1995).

4.3. Regulation der Synthese und Sekretion

Im inaktiven Zustand liegen NP-Rezeptoren als Homodimere und Oligomere vor. Ihre KHD ist mehrfach phosphoryliert, wodurch die Guanylatcyclase-Aktivität unterdrückt wird.

Die Bindung von ANP an den Rezeptor bewirkt dessen Konformationsänderung und führt zur Aktivierung der CG und zur Umwandlung von Guanosintriphosphat (GTP) in cyclisches Guanosinmonophosphat (cGMP) (CHINKERS, et al. 1989). cGMP wiederum reguliert eine Reihe von Proteinen, wie verschiedene cGMP-abhängige Ionenkanäle und die Proteinkinasen 1 (PKG1) und 2 (PKG2), die für die Effekte des ANP verantwortlich sind.

Die Bindung von ANP an den Rezeptor bewirkt eine Downregulation des Rezeptors (HIRATA, et al. 1985).

ANP wird kontinuierlich im Vorhofmyokard synthetisiert und gespeichert. Verschiedene Faktoren können die Synthese und Freisetzung stimulieren. Eine hohe Wandspannung in den Vorhöfen gilt als Hauptstimulus für eine verstärkte ANP Freisetzung und Wirkung (DIETZ 1984; 2005). Dies gilt sowohl für den linken Vorhof als auch für den rechten Vorhof (HAASS, et al. 1988). Andere Faktoren sind Glucocorticoide, antidiuretisches Hormon (ADH), ANG-III, ANG-(1-9), ANG-(1-7), ROS und proinflammatorische Zytokine wie IL-6 (CHA, et al. 2013; LIU, et al. 2011; MANNING, et al. 1985; PARK, et al. 2013; SHAH, et al. 2011; SHAH, et al. 2010; TANAKA, et al. 2004).

Gehemmt wird ANP durch CNP (LEE, et al. 2000), ANG-II (OH, et al. 2011), NO (LESKINEN, et al. 1995; SKVORAK and DIETZ 1997) und andere Faktoren wie Histamin (LI, et al. 2003), Somatostatin (GAO, et al. 2011) und eine restriktive Salzaufnahme (SUDHIR, et al. 1989).

Alle natriuretischen Peptide werden über den Clearance-Rezeptor NPR-C (MAACK, et al. 1987) und durch Enzyme abgebaut. Über die Bindung an NPR-C wird ANP lysosomal hydrolysiert. Der Rezeptor wird danach internalisiert, recycled und gelangt anschließend wieder an die Zelloberfläche. Die Internalisierung des Rezeptors findet allerdings auch unabhängig von der Bindung eines Liganden statt (COHEN, et al. 1996). Die Expression des NPR-C wird durch ANG-II und durch Katecholamine reguliert. Eine hohe ANG-II-Plasmakonzentration hemmt die NPR-C Genexpression und hemmt somit den Abbau von ANP (YOSHIMOTO, et al. 1996). Zu den ANP abbauenden Enzymen gehören die Endopeptidase Neprilysin (NEP) (SONNENBERG, et al. 1988) und das Insulin-degradierende-Enzym (IDE) (MULLER, et al. 1992). NEP ist in vielen Geweben anzutreffen und sorgt auch für den Abbau zahlreicher anderer Peptide, darunter Endothelin (OEFNER, et al. 2000) und ANG-II (RICE, et al. 2004). ANP wird in vivo sehr schnell abgebaut. Die Halbwertszeit (HWZ) im Plasma beträgt nur 2-5 min (RUSKOAHO 2003), und kann speziesspezifisch etwas variieren (POTTER 2011).

Der Abbau findet hauptsächlich in der Lunge, aber auch in Leber und Nieren statt (HOLLISTER, et al. 1989). Die Plasma-HWZ von proANP beträgt bei Menschen etwa 1 h, bei Hunden 45 min (ACKERMAN, et al. 1992) und ist damit deutlich länger als die HWZ des ANP (YANDLE, et al. 1986). Das N-terminale Fragment des proANP hat mit etwa 50 min (Ratte) (THIBAUT, et al. 1988) eine bis zu 10 mal längere HWZ als ANP und eine ähnliche HWZ wie proANP. Wie groß allerdings die speziesspezifischen Unterschiede in der HWZ von NT-pro-ANP und pro-ANP sind, ist nicht bekannt.

Über den Metabolismus von proANP und NT-pro-ANP ist wenig bekannt. Allerdings finden sich proANP und NT-pro-ANP im Urin, so dass ein renaler Ausscheidungsmechanismus vermutet wird (WYETH, et al. 1990).

Durch die längere HWZ und die geringe biologische Aktivität von proANP und NT-pro-ANP ist die Plasmakonzentration von proANP und NT-pro-ANP höher als die Plasmakonzentration von ANP. So ist beim Pferd eine 30 mal höhere Plasmakonzentration von NT-pro-ANP gegenüber ANP nachgewiesen worden (KOKKONEN, et al. 1999).

4.4. Die wichtigsten Effekte des ANP

Das Peptidhormon ANP wirkt zum einen auf endokriner Ebene und weist zum anderen autokrine und parakrine Aktivität auf.

Über die kardiale Synthese gelangt ANP in die Blutzirkulation, um in verschiedenen peripheren Geweben seine Wirkung zu entfalten. Gleichzeitig hat es direkte Wirkung auf das Myokard.

In extrakardialen Geweben, wo ANP nur in sehr geringen Mengen sezerniert wird, wirkt es vor allem auf autokrine und parakrine Weise, also auf die sezernierenden Zellen selbst und auf direkt benachbarte Zellen (DAGNINO, et al. 1991; MORISHITA, et al. 1994).

Die vielfältigen Effekte von ANP sind sehr zell- und organspezifisch: Am Herz hat ANP einerseits durch seine lokalen, andererseits durch seine systemischen Effekte eine protektive Wirkung. Vermittelt über lokale, kardiale NPR-A kann ANP das Wachstum kardialer Muskelzellen modulieren und wirkt hemmend auf fibrotische Prozesse (OLIVER, et al. 1997). Der antihypertrophe Effekt wird hauptsächlich über die ANP induzierte Hemmung der Calcineurin/nuclear factor of activated T cells (NFAT) -Signalkaskade vermittelt. Calcineurin ist eine calciumabhängige Phosphatase, die den Transkriptionsfaktor NFAT dephosphoryliert und transloziert und mit myokardialer Hypertrophie assoziiert ist.

Der antifibrotische Effekt von ANP kommt durch die Antagonisierung der Wirkung von TGF- β 1 über die cGMP/PKG Signalkaskade in kardialen Fibroblasten zustande. ANP hemmt die TGF- β 1 induzierte Umwandlung von kardialen Fibroblasten zu Myofibroblasten, sowie die Kollagensynthese und Proliferation kardialer Fibroblasten (LI, et al. 2008). Außerdem unterdrückt ANP die Genexpression von ET-1 in kardialen Fibroblasten, wodurch die profibrotische Wirkung des ET-1 verhindert wird (GLENN, et al. 2009).

Kontrovers diskutiert wird, ob ANP einen inotropen Effekt auf das Myokard hat. MIAO und Mitarbeiter konnten einen negativ inotropen und chronotropen Effekt von ANP auf die Vorhofkontraktion nachweisen (MIAO, et al. 2010). ANP kann offenbar über die cGMP/Phosphodiesterase 2 (PDE2)/cAMP Signalkaskade kardiale Calciumkanäle beeinflussen und so den Einstrom von Calcium in die Zellen steuern (MIAO, et al. 2010).

ANP hat zudem ein antiinflammatorisches Potenzial. Über Prostaglandin-E-II (PGE-II), TNF α und Lipopolysaccharide (LPS) medierte Entzündungsprozesse können durch ANP über eine Reduktion der Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF- κ B gehemmt und die endotheliale Barrierefunktion geschützt werden. Diese Eigenschaften wurden vor allem in Lungengewebe beobachtet (FURST, et al. 2008; KIEMER, et al. 2002; MORI, et al. 2010; XING and BIRUKOVA 2010). In der Lunge wirkt ANP zudem bronchienerweiternd (HULKS and THOMSON 1994).

ANP steht mit seinen Effekten dem RAAS entgegen: In den Nieren hemmt ANP die Reninsekretion (BURNETT, et al. 1984) und die renale Wirkung von ANG-II. Dies geschieht über cGMP und eine Reduzierung der cAMP und PLC Aktivität (HARRIS, et al. 1987; KURTZ, et al. 1986). Auch die Aldosteronsekretion wird direkt in der NNR über die cGMP/cAMP Signalkaskade und indirekt über die reduzierte Reninplasmakonzentration und folglich reduzierte CpANG-II gehemmt (ATARASHI, et al. 1984; CHARTIER, et al. 1984; MACFARLAND, et al. 1991). In der Konsequenz wird die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) gesteigert und vermehrt Natrium und Wasser ausgeschieden, wodurch der Blutdruck sinkt (SCHNERMANN and BRIGGS 1987). Zum blutdrucksenkenden, natriuretischen und diuretischen Effekt von ANP trägt auch die über NPR-C vermittelte verstärkte NO Freisetzung bei (COSTA, et al. 2006).

Im Gehirn hemmt ANP über NPR-A die Vasopressinsekretion, reduziert den Salzzappetit und beeinflusst das Durstzentrum (BLACKBURN, et al. 1995).

Im Dünndarm reduziert ANP die Natriumchlorid und Wasserabsorption. Über den PLC/IP3/Ca²⁺ und den PLC/DAG/PKC Signalweg stimuliert es über NPR-C zudem die Pankreassekretion und beeinflusst dosisabhängig die Elektrolytzusammensetzung des Pankreassekrets (GOWER, et al. 2003; MATSUSHITA, et al. 1991; SABBATINI 2009).

Im Magen wirkt ANP über NPR-A stimulierend auf die Somatostatinsekretion und hemmend auf die Histamin- und Gastrinsekretion (GOWER, et al. 2003).

4.5. Die CpANP als kardialer Marker in der Humanmedizin

Während der Pathogenese von Herzerkrankungen wird das natriuretische-Peptid-System verstärkt aktiviert. Mit seinen antifibrotischen, antihypertrophen, antiinflammatorischen, natriuretischen, diuretischen und blutdrucksenkenden Eigenschaften wirkt ANP dem RAAS entgegen.

Vor allem die erhöhte kardiale Wandspannung durch vermehrte Druck- und Volumenbelastung bei verschiedenen Herzerkrankungen führt zur gesteigerten Synthese von ANP in den Vorhöfen, aber auch in den Ventrikeln (RUSKOAHO 2003) und so zu einer erhöhten ANP Plasmakonzentration (CpANP).

Bei Patienten mit Herzinsuffizienz kann die CpANP diagnostische Informationen liefern.

DAGGUBATI und Mitarbeiter untersuchten Patienten mit Herzinsuffizienz unterschiedlicher Genese und fanden bei mittelgradig (mgr.) bis hochgradig (hgr.) erkrankten Patienten eine deutlich höhere CpANP als bei Gesunden (DAGGUBATI, et al. 1997).

Auch bei Patienten mit Mitralklappeninsuffizienz und Aortenstenose wurde von mehreren Autoren eine höhere CpANP als bei Gesunden gefunden. Dabei wurde auch festgestellt, daß die CpANP mit dem Schweregrad der Erkrankung anstieg, so dass im symptomatischen Stadium höhere ANP-Werte gemessen wurden als bei Patienten im asymptomatischen Stadium (DETAINT, et al. 2006; GERBER, et al. 2003; RADZISZEWSKI, et al. 1993; SUTTON, et al. 2003).

Bei Patienten mit hochgradiger (hgr.) MVI, vergrößertem linken Atrium und gleichzeitigem Vorhofflimmern (VF) stellten SHIMAMOTO und Mitarbeiter allerdings eine reduzierte CpANP fest. Die Autoren erklären diese Beobachtung damit, dass eine chronische Volumenüberladung des linken Atriums bei diesen Patienten zu degenerativen Veränderungen der atrialen ANP sezernierenden Myozyten des linken Atriums führe (SHIMAMOTO, et al. 2007).

Sowohl GERBER und Mitarbeiter (GERBER, et al. 2003) als auch GROENNING und Mitarbeiter (GROENNING, et al. 2001) konnten Korrelationen zwischen der CpANP und verschiedenen kardialen Funktionsparametern wie dem Durchmesser des linken Atriums (LAD) finden.

ANP im Plasma kann zudem auch als prognostischer Indikator von Nutzen sein. SWEDBERG und Mitarbeiter fanden bei Patienten mit hochgradiger kongestiver Herzinsuffizienz eine positive Korrelation zwischen der CpANP und der Mortalität (SWEDBERG, et al. 1990).

Dennoch hat sich ANP als kardialer Marker in der Humanmedizin nicht durchgesetzt. Vielmehr wird routinemäßig zur Diagnose, Risikoeinschätzung und Verlaufskontrolle bei Herzerkrankungen das wesentlich stabilere und dem ANP in seinen Eigenschaften als diagnostischer und prognostischer Marker überlegene BNP und NT-proBNP bestimmt (VAN KIMMENADE and JANUZZI 2009).

4.6. Die CpANP als kardialer Marker in der Tiermedizin

Bei Hunden mit Herzerkrankungen kann ANP wie beim Menschen diagnostische und prognostische Informationen liefern. Hunde mit okkulten und klinisch manifester DCM haben eine signifikant höhere CpANP als gesunde Hunde. Die CpANP korreliert mit Funktionsparametern wie dem LVIDd und LVIDs (O'SULLIVAN, et al. 2007b; OYAMA und SOLTER 2007). HORI und Mitarbeiter fanden bei Hunden mit verschiedenen Herzerkrankungen einen Anstieg der CpANP mit dem Schweregrad der Erkrankung nach der International Small Animal Cardiac Health Council (ISACHC) Klassifikation. Die CpANP korrelierte zudem positiv mit dem Schweregrad des Herzgeräuschs, dem Auftreten von Husten und Lungenödem und Funktionsparametern wie dem La/Ao Ratio (HORI, et al. 2011).

GRECO untersuchten die CpANP bei Hunden mit Herzinsuffizienz bedingt durch Mitralklappeninsuffizienz (MVI), Trikuspidalklappeninsuffizienz (TVI) oder DCM, und stellten bei Hunden mit hgr. Herzinsuffizienz eine deutlich höhere CpANP fest als bei ggr. bis mgr. erkrankten Tieren. Hunde mit einer CpANP > 95 pg/ml hatten zudem eine signifikant geringere Überlebenszeit als Hunde mit einer CpANP < 95 pg/ml (GRECO, et al. 2003).

Trotz dieser Erkenntnisse scheint sich, aus ähnlichen Gründen wie in der Humanmedizin, auch in der Kleintiermedizin das NT-proBNP als routinemäßiger kardialer Marker gegenüber dem ANP durchzusetzen (VAN KIMMENADE and JANUZZI 2009).

Bei Pferden mit Herzklappenerkrankungen konnten GEHLEN und Mitarbeiter keinen signifikanten Unterschied in der CpANP im Vergleich zu gesunden Pferden feststellen. Allerdings wurden tendenziell höhere CpANP Werte bei Pferden mit vergrößerten atrialen und ventrikulären Herzdimensionen gemessen (GEHLEN, et al. 2007b).

TRACHSEL und Mitarbeiter konnten dagegen eine signifikant höhere CpANP bei Pferden mit Herzerkrankung und Vergrößerung des linken Atriums (LA), LA Dysfunktion und/oder linksventrikulärer Vergrößerung gegenüber gesunden Pferden feststellen (TRACHSEL, et al. 2011). Auch VAN DER VEKENS und Mitarbeiter stellten bei herzkranken Pferden mit Vorhofdilatation eine signifikant höhere CpANP gegenüber Gesunden fest (VAN DER VEKENS, et al. 2013).

4.7. Einfluss von körperlicher Belastung auf die CpANP

ANP ist beteiligt an der Regulation des Blutdrucks und des Blutflusses während körperlicher Belastung (MCKEEVER und HINCHCLIFF 1995).

Bei gesunden Pferden steigt die CpANP durch körperliche Belastung an (KOKKONEN, et al. 1999; 2002). Dies entspricht Beobachtungen beim Menschen (BARLETTA, et al. 1998; NISHIKIMI, et al. 1997; PERRAULT, et al. 1989; WIJBENGA, et al. 1999). Der Anstieg des Plasmaspiegels korreliert dabei mit der Dauer und Intensität der Belastung und mit der Herzfrequenz. Während der Belastung steigen die Herzleistung und der linksatriale diastolische Druck, was die ANP-Freisetzung stimuliert. Auch 60 min nach Ende der Belastung ist die CpANP bei Pferden noch deutlich erhöht, was offenbar auf das erhöhte zirkulierende Blutvolumen zurückzuführen ist (BARLETTA, et al. 1998; KOKKONEN, et al. 1999; 2002).

Bei Menschen mit verschiedenen Herzerkrankungen steigt die CpANP nach Belastung stärker an als bei gesunden Menschen (ENGELMANN, et al. 2005; RADZISZEWSKI, et al. 1993; WOZAKOWSKA-KAPLON und OPOLSKI 2009). Dabei erreichen Herzkranken unter Belastung den CpANP-Peak früher als Gesunde (KJAER, et al. 2004).

Bei herzkranken Pferden wurde der Einfluss körperlicher Belastung auf die CpANP in der vorliegenden Arbeit erstmals untersucht.

IV. MATERIAL UND METHODIK

1. Patientengut

Das Patientengut bestand aus insgesamt 54 Pferden, die zwischen Juli 2011 und Juli 2012 an der Klinik für Pferde der Freien Universität Berlin vorgestellt wurden. Alle Patienten hatten vorberichtlich eine Leistungsinsuffizienz oder wurden mit Verdacht auf eine Herzerkrankung in die Klinik überwiesen. Entsprechend den Untersuchungsergebnissen wurden die Pferde in 3 Gruppen eingeteilt.

1.1. Untersuchung der Pferde

Bei allen Pferden erfolgte zunächst eine vollständige Anamnese und eine Allgemeinuntersuchung sowie eine spezielle Untersuchung des Herz-Kreislauf-Apparates.

Wenn möglich, wurden die Pferde stationär aufgenommen und für 24 h in der Klinik eingestallt. War eine stationäre Aufnahme nicht möglich, wurden die Pferde für 1 h in eine ruhige Box verbracht. Die Blutentnahme erfolgte bei stationären Patienten am Morgen nach der Aufnahme, bei ambulanten Patienten nach einstündiger Boxenruhe.

Die Belastungsuntersuchung wurde bei ambulanten Patienten im Anschluss durchgeführt, bei stationären Patienten am Folgetag. Anschließend wurden die Pferde in Ruhe sonographisch und elektrokardiographisch (Vivid 7 und M4S Phased Array Transducer von GE Healthcare) untersucht. Die Untersuchungsergebnisse wurden in einem standardisierten Untersuchungsprotokoll festgehalten (siehe Anhang: S. 188).

1.2. Anamnese und Allgemeinuntersuchung

Alle Pferde wurden gewogen und gemessen. Die vollständige Anamnese beinhaltete Fragen nach Alter, Geschlecht, Rasse, Verwendungszweck, Trainingszustand und dem Vorstellungsgrund, sowie nach Vorerkrankungen bzw. Vorbehandlungen, Impf- und Entwurmungsstatus.

Im Rahmen der Allgemeinuntersuchung wurde das Signalement aufgenommen sowie Haltung, Verhalten, Ernährungszustand, Pflegezustand, Mandibularlymphknoten, sichtbare Schleimhäute und das Allgemeinbefinden beurteilt. Es wurden die Körpertemperatur und die Puls- und Atemfrequenz gemessen.

1.3. Spezielle Untersuchung des Herz-Kreislauf-Apparates

Beurteilt wurden die kapilläre Füllungszeit (KFZ) und die Farbe der sichtbaren Schleimhäute, die Zeichnung der Episkleralgefäße, der Hautturgor, Anstaubarkeit der Venen, Venenabfluss und Venenpuls, falls vorhanden. Brust, Unterbauch und Beine wurden auf das Vorhandensein von Ödemen untersucht. Die Pulsfrequenz wurde an der Arteria facialis gemessen und die Pulsqualität beurteilt.

Bei der Herzauskultation wurden Frequenz, Intensität, Rhythmus und Abgesetztheit der Herztöne beurteilt und auf Herzgeräusche geachtet.

Herzgeräusche wurden beurteilt nach Phasenzugehörigkeit und Dauer des Geräuschs, Punctum maximum und Art des Geräuschs (GEHLEN 2010). Die Herzgeräusche wurden in Anlehnung an das Graduierungsschema von Stadler in 5 Schweregrade eingeteilt (STADLER 1995).

1.4. Elektrokardiographische Untersuchung

Bei allen Pferden wurde die elektrokardiographische Untersuchung parallel zur Sonographie durchgeführt. Dazu wurde das im Ultraschallgerät integrierte EKG verwendet und anhand einer modifizierten Herzbasis-Herzspitzen-Brustwandableitung Herzfrequenz und Herzrhythmus der Pferde bestimmt.

Bei allen Pferden, die vorberichtlich, auskultatorisch oder im Ruhe-EKG mit einer Herzarrhythmie auffielen, wurden zusätzlich ein Belastungs-EKG und ein Langzeit-EKG durchgeführt (Televet 100, ECG & Holter).

1.5. Echokardiographische Untersuchung

Die echokardiographische Untersuchung wurde in ruhiger Umgebung von einem routinierten Team, bestehend aus 2 mit der Durchführung des Herzultraschalls erfahrenen Tierärzten und einem Tierpfleger, durchgeführt.

Dazu wurde das Ultraschallgerät Vivid 7 (GE Medical Systems, Horton, Norway) und ein 3,5 MHz Phased-Array Schallkopf mit einer Eindringtiefe von 30 cm (GE Medical Systems, Horton, Norway) verwendet.

1.5.1 Vorbereitung der Patienten

Für die sonographische Untersuchung wurde bei allen Pferden beidseits am Thorax ein etwa 8 x 8 cm großes Feld kaudal des Olecranon auf Höhe des 3. und 4. Interkostalraumes rasiert. Anschließend wurde die Haut mit Alkohol entfettet und Ultraschallkontaktgel aufgetragen, um die Ankopplung zu verbessern.

1.5.2 Untersuchung im B-Mode

Die Untersuchung der Pferde im B-Mode wurde nach einem standardisierten Schema aus den folgenden parasternalen Anschallpositionen (BOON 2011; GEHLEN 2010; STADLER 1988) durchgeführt:

- Rechte kaudale lange Achse (RKDLA) (Abbildung 4)
- Rechte kaudale lange Achse mit Aorta (RKDLA-AO) (Abbildung 5)
- Rechte kaudale kurze Achse (RKDKA) (Abbildung 6)
- Rechte kraniale lange Achse (RKRLA) (Abbildung 7)
- Rechte kraniale kurze Achse (RKRKA) (Abbildung 8)
- Linke kaudale lange Achse (LKDLA) (Abbildung 9)
- Linke kaudale lange Achse mit Aorta LKDLA-AO (Abbildung 10)

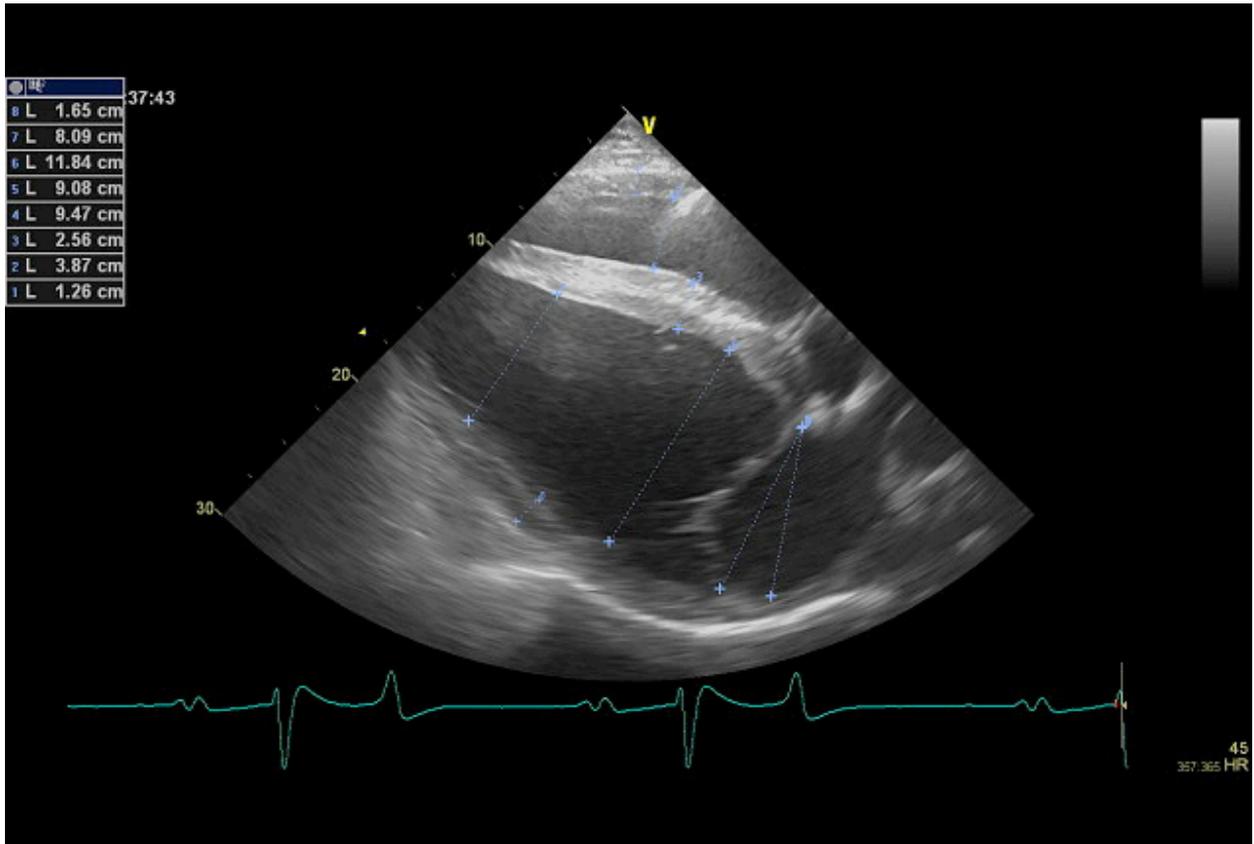


Abbildung 4: RKDLA (rechte kaudale lange Achse im 4. Interkostalraum)

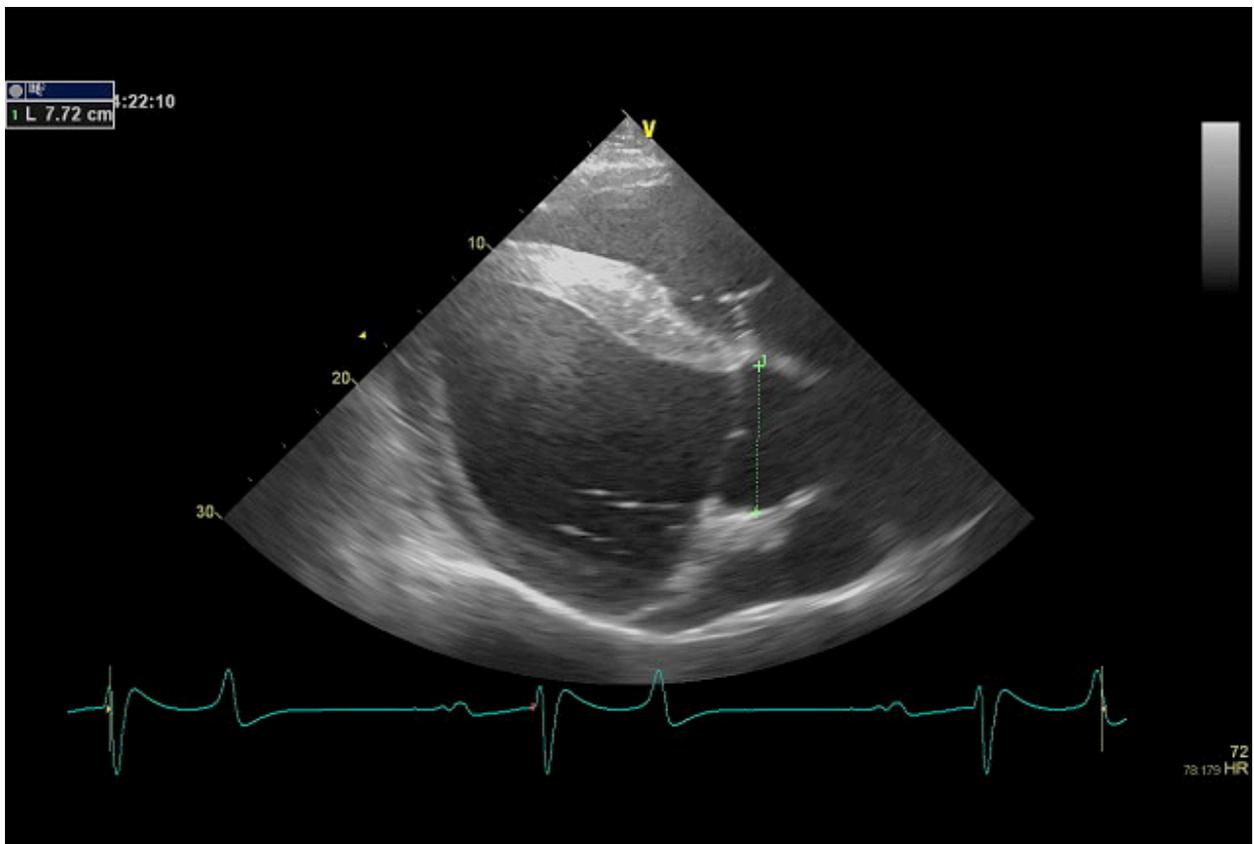


Abbildung 5: RKDLA-AO (rechte kaudale lange Achse im 4. Interkostalraum mit Aorta)

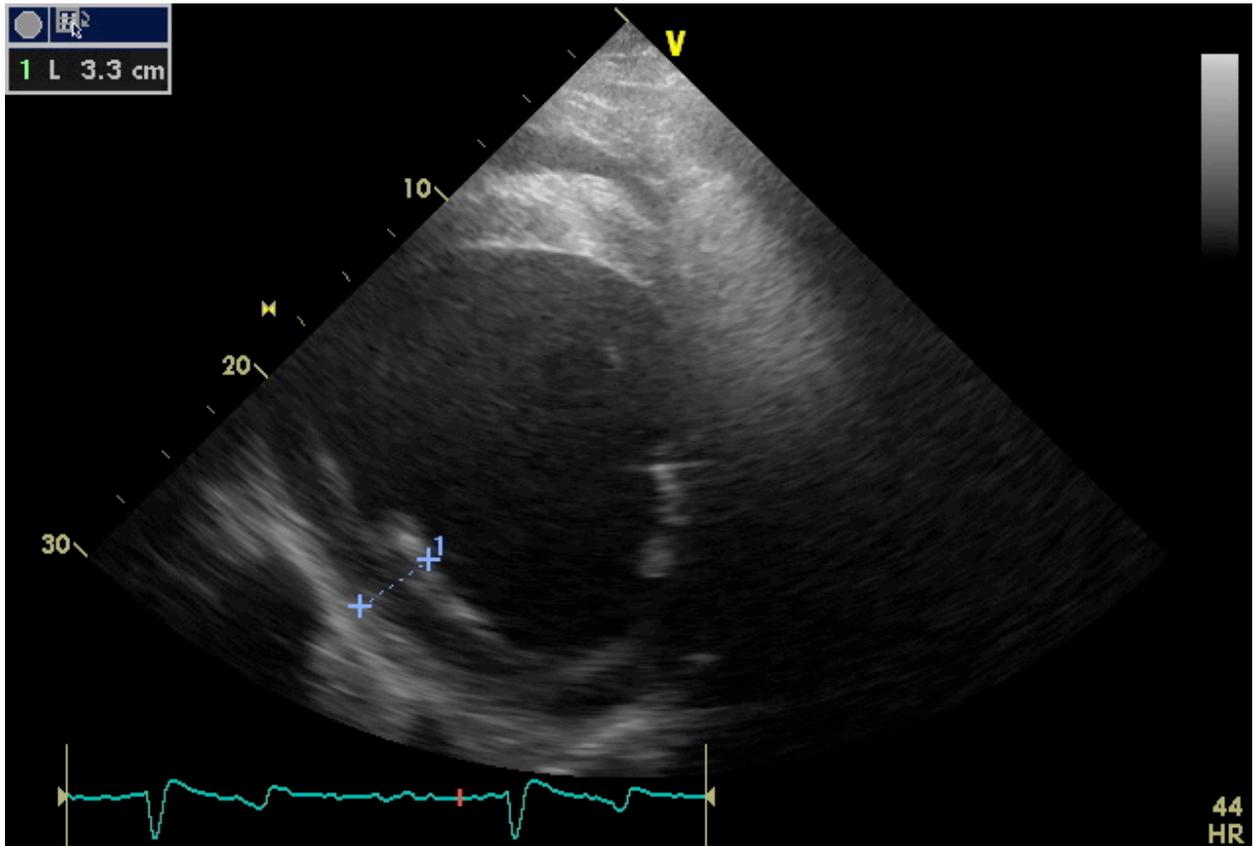


Abbildung 6: RKDKA (rechte kaudale kurze Achse im 4. Interkostalraum)

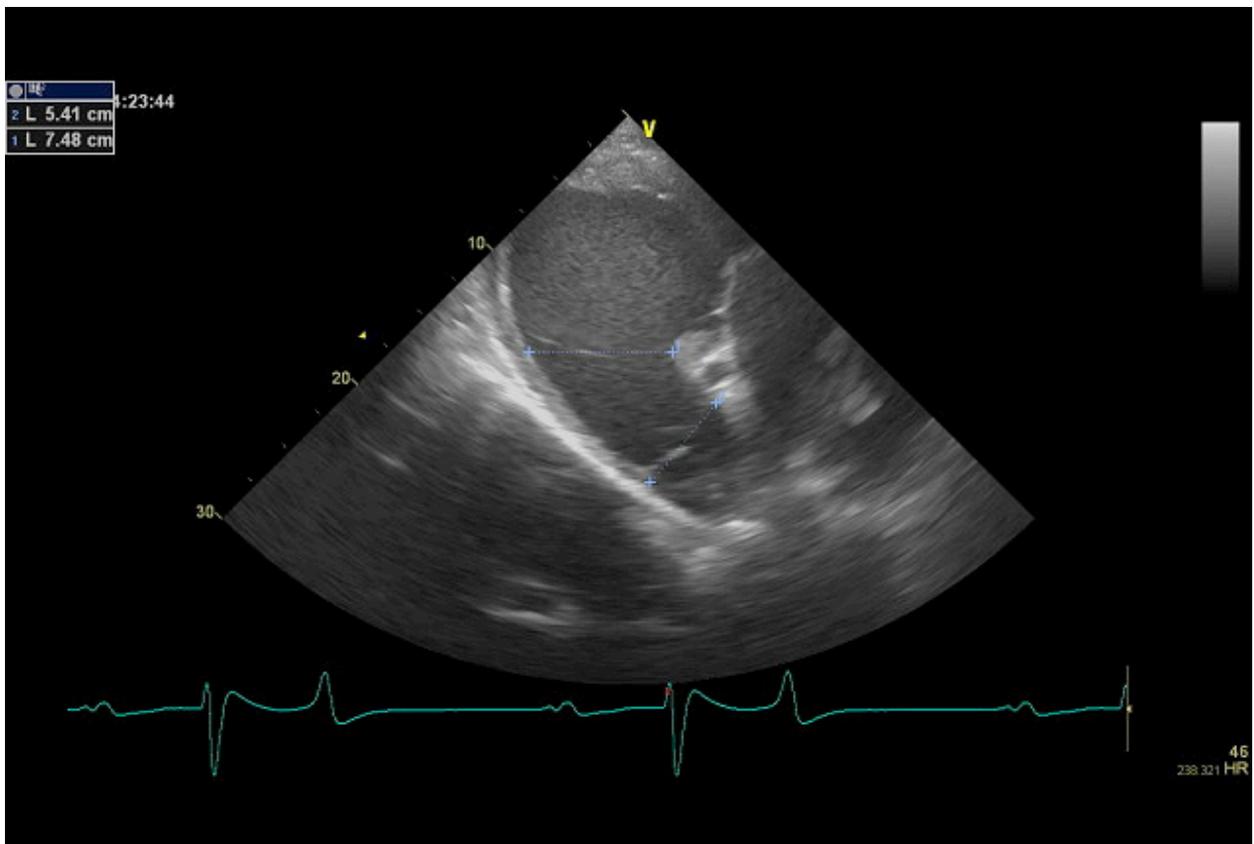


Abbildung 7: RKRLA (rechte kraniale lange Achse im 3. Interkostalraum)

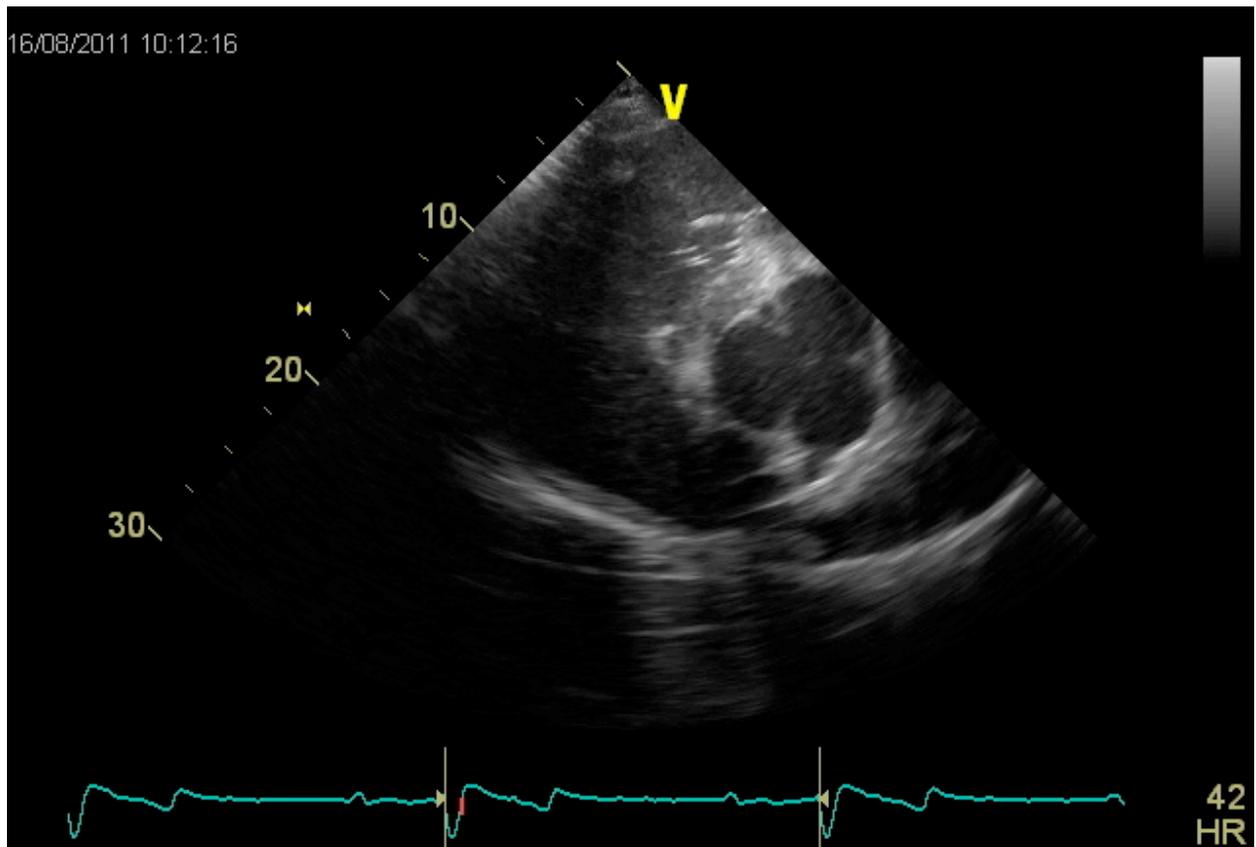


Abbildung 8: RKRKA (rechte kraniale kurze Achse im 3. Interkostalraum)

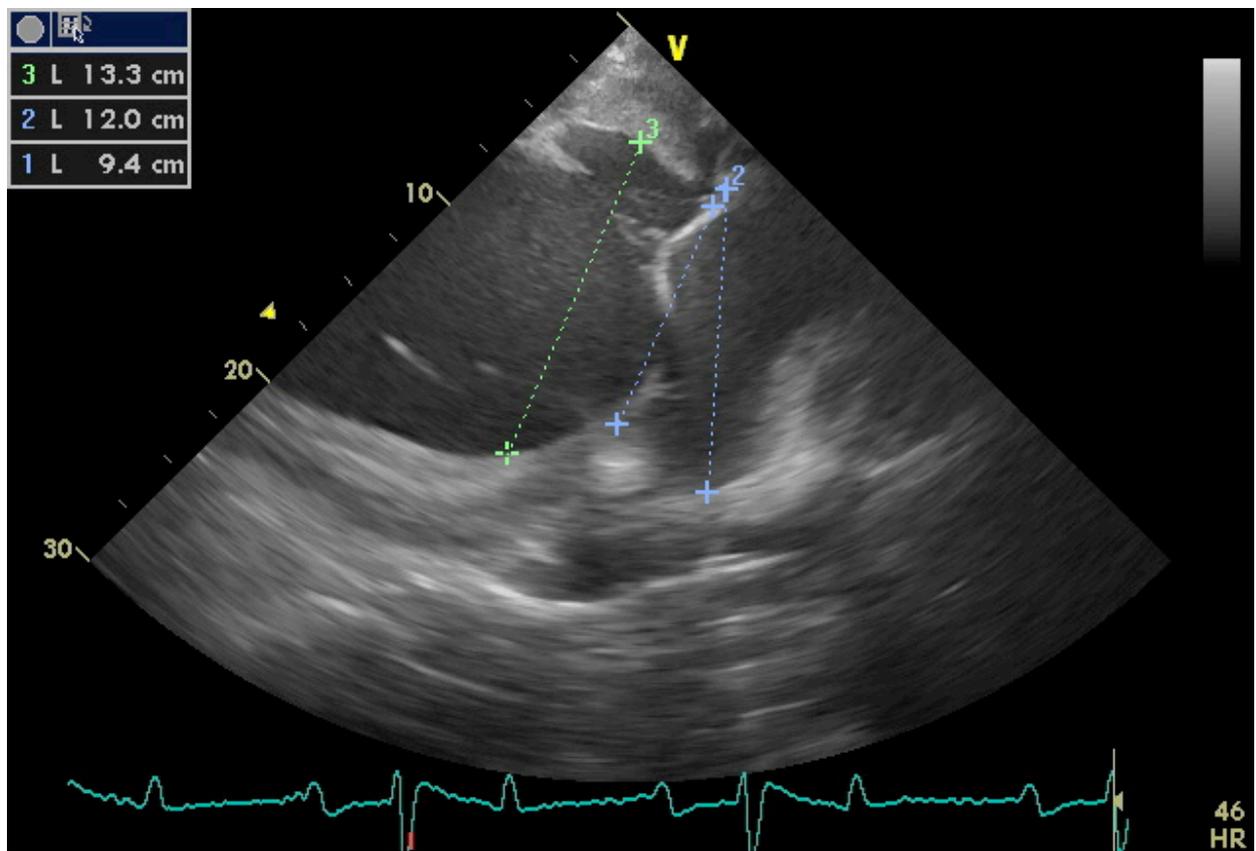


Abbildung 9: LKDLA (linke kaudale lange Achse im 4. Interkostalraum)

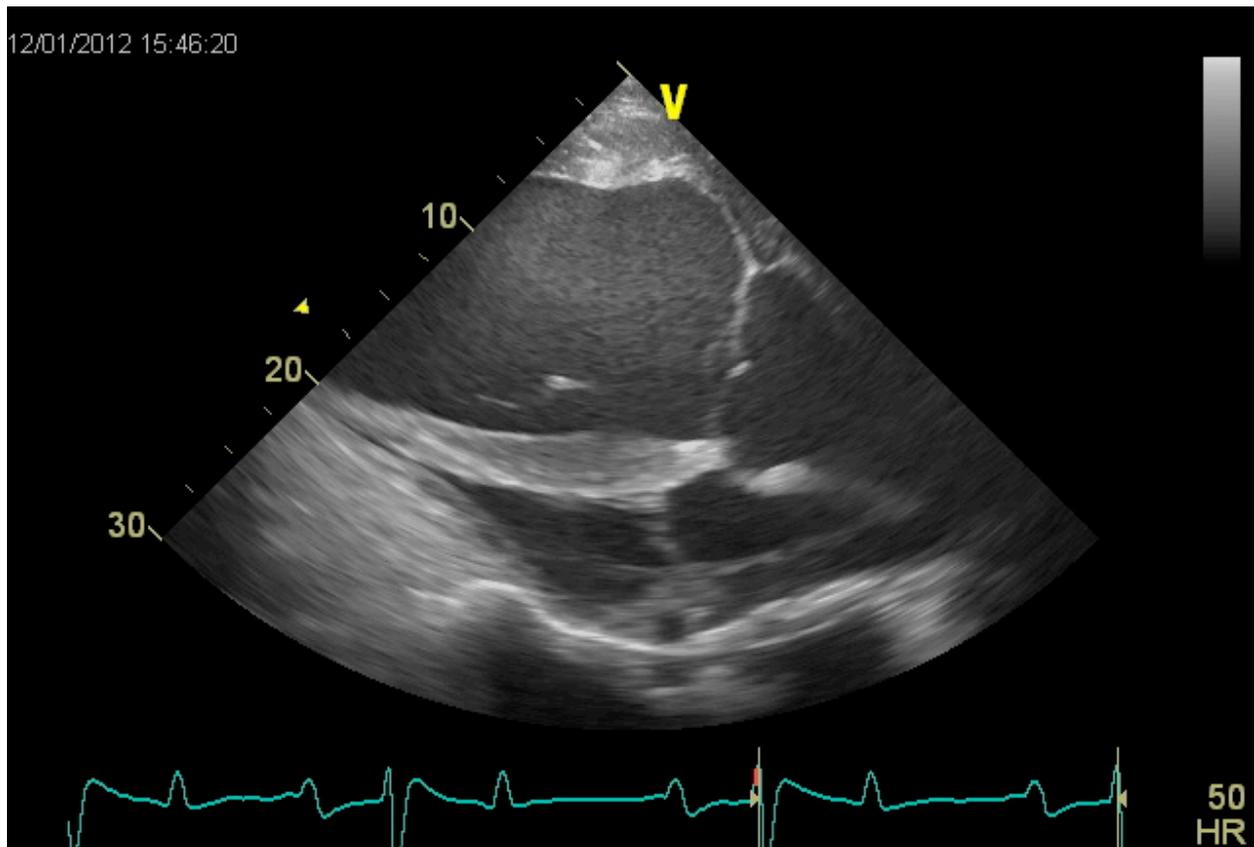


Abbildung 10: LKD LA-AO (linke kaudale lange Achse 4. Interkostalraum mit Aorta)

Von jeder Anschallposition wurden im 2D-Mode und im Farbdoppler mehrere Cineloops mit je 5 aufeinanderfolgenden Herzzyklen digital auf dem Ultraschallgerät gespeichert und anschließend auf einen PC Arbeitsplatz übertragen. Alle linearen Messungen für diese Studie wurden im Anschluss an die Untersuchung offline von einer Person mit der Software EchoPac® (Version 7.0 EchoPac Software Only, GE HealthcareHorton, Norway) durchgeführt. Dazu wurde das gespeicherte Bildmaterial verwendet.

Es wurden je 3 aufeinanderfolgende Herzzyklen gemessen und dann das arithmetische Mittel aus den 3 Werten errechnet. Folgte ein Zyklus auf einen AV-Block 2. Grades oder sinuatrialen Block, wurde dieser Zyklus nicht ausgewertet. Bei Pferden mit Vorhofflimmern wurden 5 Zyklen ausgewertet. Es wurden nur Sequenzen ausgewertet, bei denen die Herzfrequenz im Ruhebereich lag. Zum Zeitpunkt der Bildanalyse war der Untersucher mit den Ergebnissen der Blutuntersuchung verblindet.

Die gemessenen Werte wurden mit den von verschiedenen Autoren erarbeiteten Normwerten für die Herzdimensionen bei Pferden in der Literatur verglichen (BOON 2011; PATTESON, et al. 1995b; SLATER and HERRTAGE 1995a; STADLER and ROBINE 1996).

Im B-Mode wurden folgende lineare Messungen in Anlehnung an die von STADLER und ROBINE vorgeschlagenen Messlokalisationen durchgeführt (STADLER and ROBINE 1996).

1.5.3. Lineare Messungen im B-Mode

1.5.3.1. Rechte parasternale lange kaudale Achse

- RVWd in cm (Durchmesser rechte Ventrikelwand enddiastolisch)
- RVDd in cm (Durchmesser rechter Ventrikel enddiastolisch)
- RADd in cm (Durchmesser rechtes Atrium enddiastolisch)
- IVSDd in cm (Durchmesser Interventrikularseptum enddiastolisch)
- MADd in cm (Durchmesser Mitralklappenannulus enddiastolisch)
- LADd in cm (Durchmesser linkes Atrium enddiastolisch)
- LVD_{uMV}d in cm (Durchmesser linker Ventrikel unter der Mitralklappe enddiastolisch)
- LVD_{PPM}d in cm (Durchmesser linker Ventrikel auf Papillarmuskelhöhe enddiastolisch)
- LWd in cm (Durchmesser linksventrikuläre Wand enddiastolisch)

1.5.3.2. Rechte parasternale lange kaudale Achse mit Aorta

- AOd in cm (Durchmesser Aorta enddiastolisch)

1.5.3.3. Rechte parasternale kurze Achse

- LWd in cm (Durchmesser linke ventrikuläre Wand enddiastolisch)
- LVWs in cm (Durchmesser linke ventrikuläre Wand endsystolisch)

1.5.3.4. Rechte parasternale lange kraniale Achse

- RADd in cm (Durchmesser rechtes Atrium enddiastolisch)
- RVDd in cm (Durchmesser rechter Ventrikel enddiastolisch)
- PADd in cm (Durchmesser Pulmonalarterie enddiastolisch)

1.5.3.5. Linke parasternale lange kaudale Achse

- MADd in cm (Durchmesser Mitralklappenannulus enddiastolisch)
- LVDd in cm (Durchmesser linker Ventrikel enddiastolisch)
- LADd in cm (Durchmesser linkes Atrium enddiastolisch)

1.5.3.6. Linke parasternale lange kaudale Achse mit Aorta

- AOD in cm (Durchmesser Aorta enddiastolisch)

Die Definition der Endsystole und Enddiastole erfolgte anhand des EKG. Alle enddiastolischen Messungen wurden auf der Q-Zacke, alle endsystolischen Messungen wurden auf der T-Welle durchgeführt.

Alle Herzklappen wurden mittels Farbdoppler auf pathologische Rückflüsse hin untersucht. Mit Hilfe des CW-Dopplers konnte die Geschwindigkeit, Intensität und Dauer der Rückflüsse bestimmt werden (Abbildung 11).

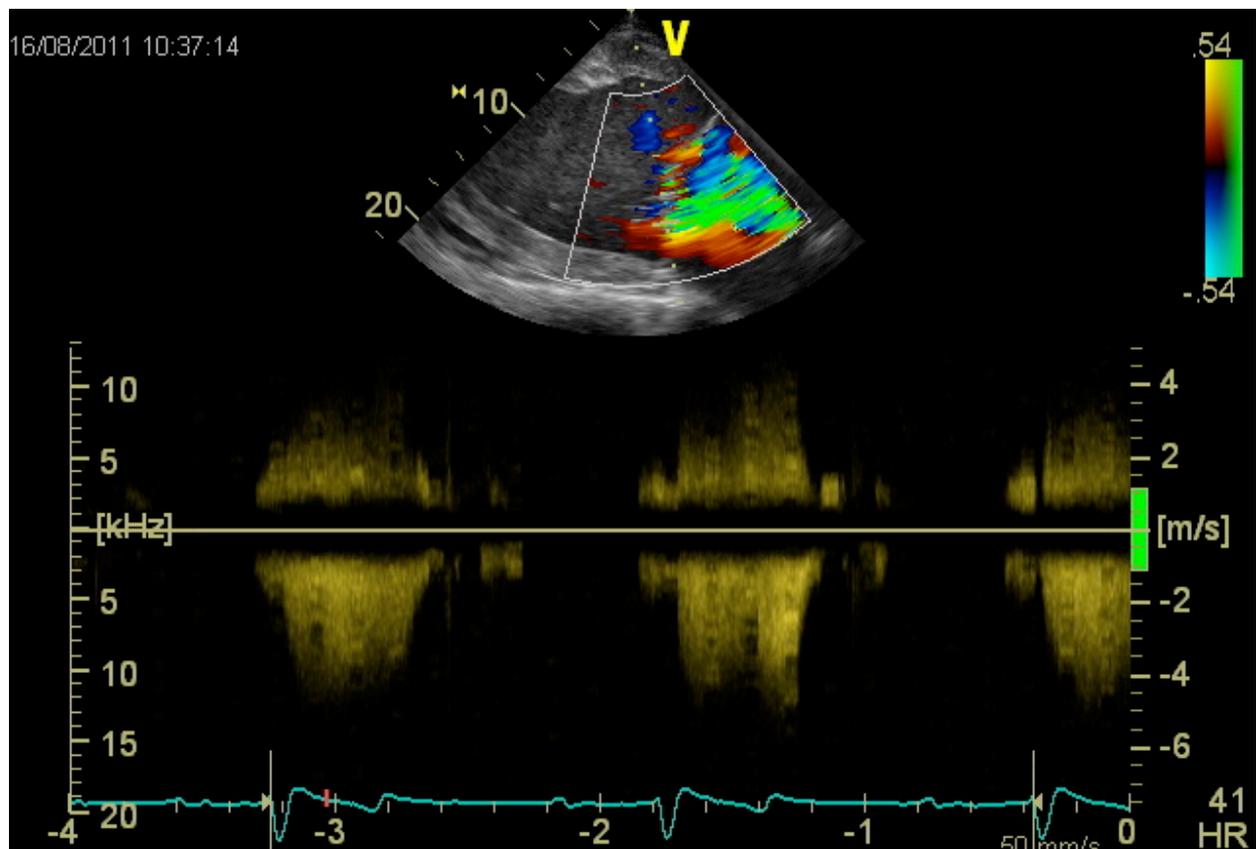


Abbildung 11: CW-Doppler, hgr. MVI (Patient Nr. 5)

1.5.4. Untersuchung im M-Mode

Der konventionelle M-Mode wurde aus der rechten parasternalen kurzen Achse (Abbildung 12) und aus der rechten parasternalen langen Achse (Abbildung 13) durchgeführt.

Beim M-Mode aus der kurzen Achse wurde der Schallkopf so ausgerichtet, dass sich der linke Ventrikel zwischen Mitralklappe und Papillarmuskeln unmittelbar unterhalb der Mitralklappebene darstellte, und die linksventrikuläre Wand in ihrer Gesamtheit möglichst symmetrisch rund erschien. Der Cursor wurde so positioniert, dass er den linken Ventrikel in zwei möglichst symmetrische Hälften teilte (MARR 2010a).

Beim M-Mode aus der langen Achse wurde das Meßtor so positioniert, dass die Mitralklappe und Aortenklappensegel dargestellt werden konnten (GEHLEN 2010).

Es wurden mindestens 2 Standbilder mit je 3 aufeinander folgenden Herzzyklen im M-Mode als Rohdaten digital gespeichert.

Alle M-Mode-Messungen für diese Studie wurden mit dem Programm EchoPac anhand der gespeicherten M-Mode Standbilder durchgeführt.

Es wurden je 3 aufeinanderfolgende Herzzyklen analysiert und dann der Mittelwert aus den 3 Einzelwerten eines jeden Parameters gebildet. Bei Pferden mit Arrhythmien wurden 5 aufeinanderfolgende Zyklen ausgewertet. Die linksventrikuläre Größen- und Funktionsmessung wurden enddiastolisch zu Beginn des QRS-Komplexes und endsystolisch am Punkt der maximalen Bewegung des Interventrikularseptums und der linken Ventrikelwand durchgeführt (PATTESON, et al. 1995b).

1.5.4.1. Echokardiographische Messungen im M-Mode

- IVSd in cm (Interventrikularseptum enddiastolisch)
- IVSs in cm (Interventrikularseptum endsystolisch)
- LVIDd in cm (linksventrikulärer innerer Durchmesser enddiastolisch)
- LVIDs in cm (linksventrikulärer innerer Durchmesser endsystolisch)
- LVPWd in cm (linke Ventrikelwand enddiastolisch)
- LVPWs in cm (linke Ventrikelwand endsystolisch)
- FS in % = $(LVIDd - LVIDs) / LVIDd \times 100$

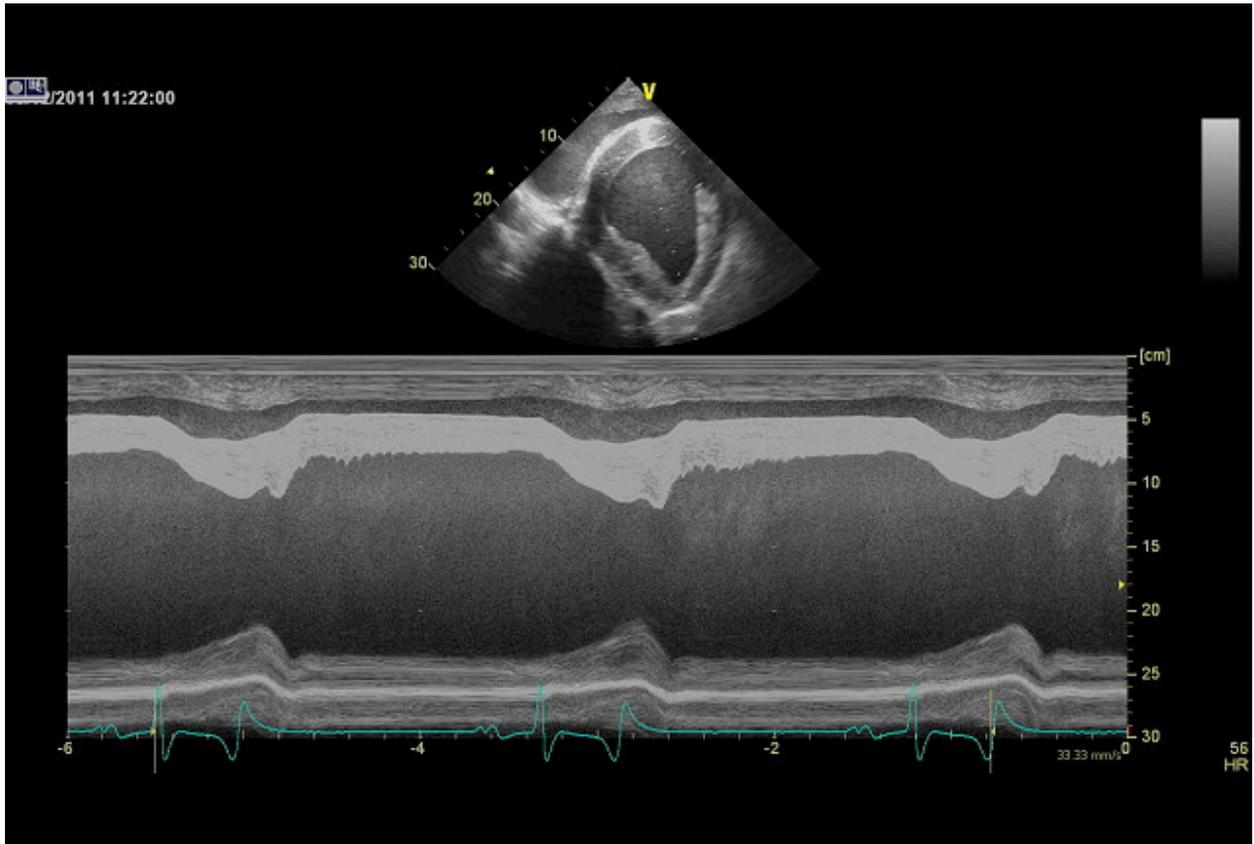


Abbildung 12: M-Mode kurze Achse

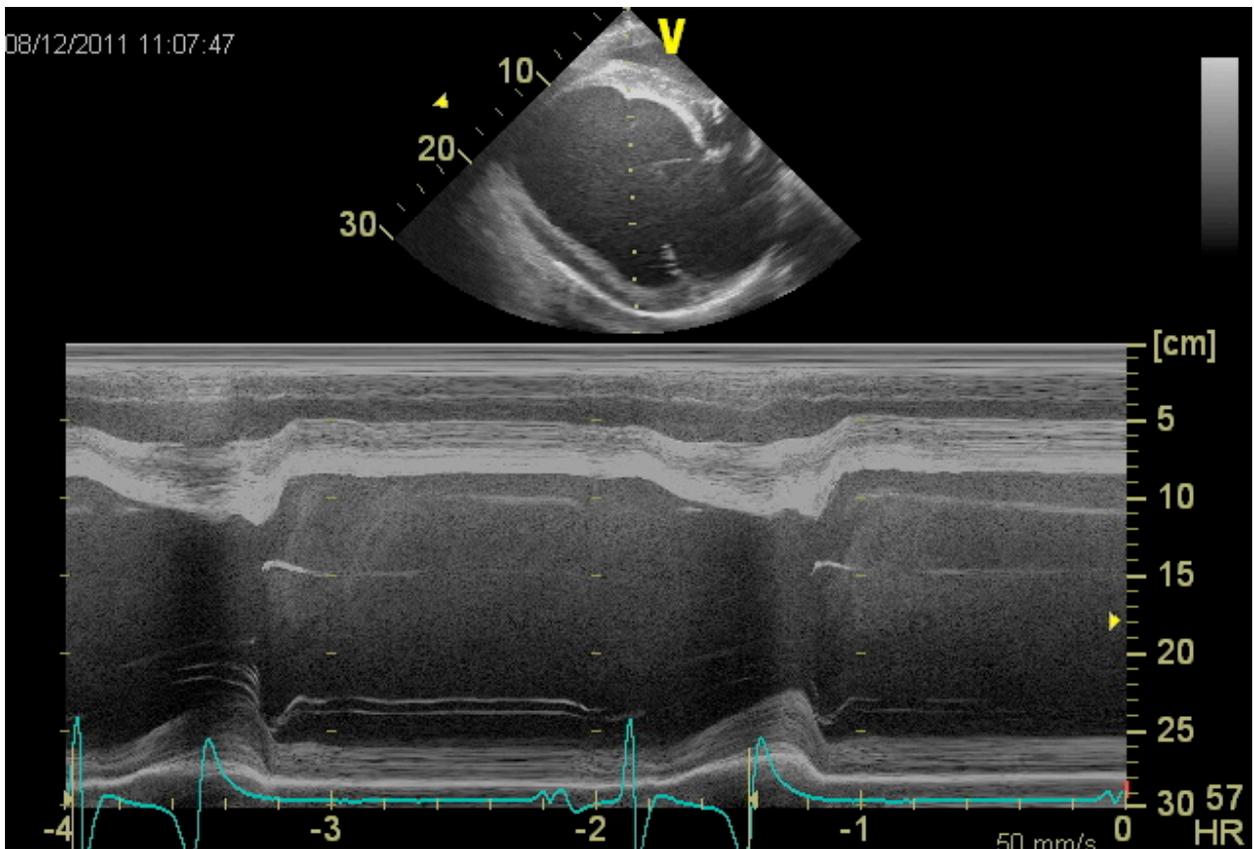


Abbildung 13: M-Mode lange Achse, deutlich dilatierter linker Ventrikel

Die Beurteilung der Mitralklappenbewegung im M-Mode wurde ausgehend von den gespeicherten 2D-Cineloops der rechten parasternalen langen Achse im 4-Kammerblick durchgeführt. Der Cursor wurde dazu möglichst senkrecht zum Septum und senkrecht zu den geöffneten Mitralklappensegeln über die Mitralklappe gelegt. Es wurde besonders auf Abweichungen im Bewegungsmuster der Klappensegel geachtet (Abbildung 14).

Die Aortenklappe wurde ausgehend von gespeicherten 2D-Cineloops der rechten parasternalen langen kaudalen Achse mit linksventrikulärem Ausflusstrakt beurteilt. Auch hier wurde besonders auf Abweichungen im Bewegungsmuster geachtet. Dazu wurde der Cursor über die Aortenklappensegel gelegt.

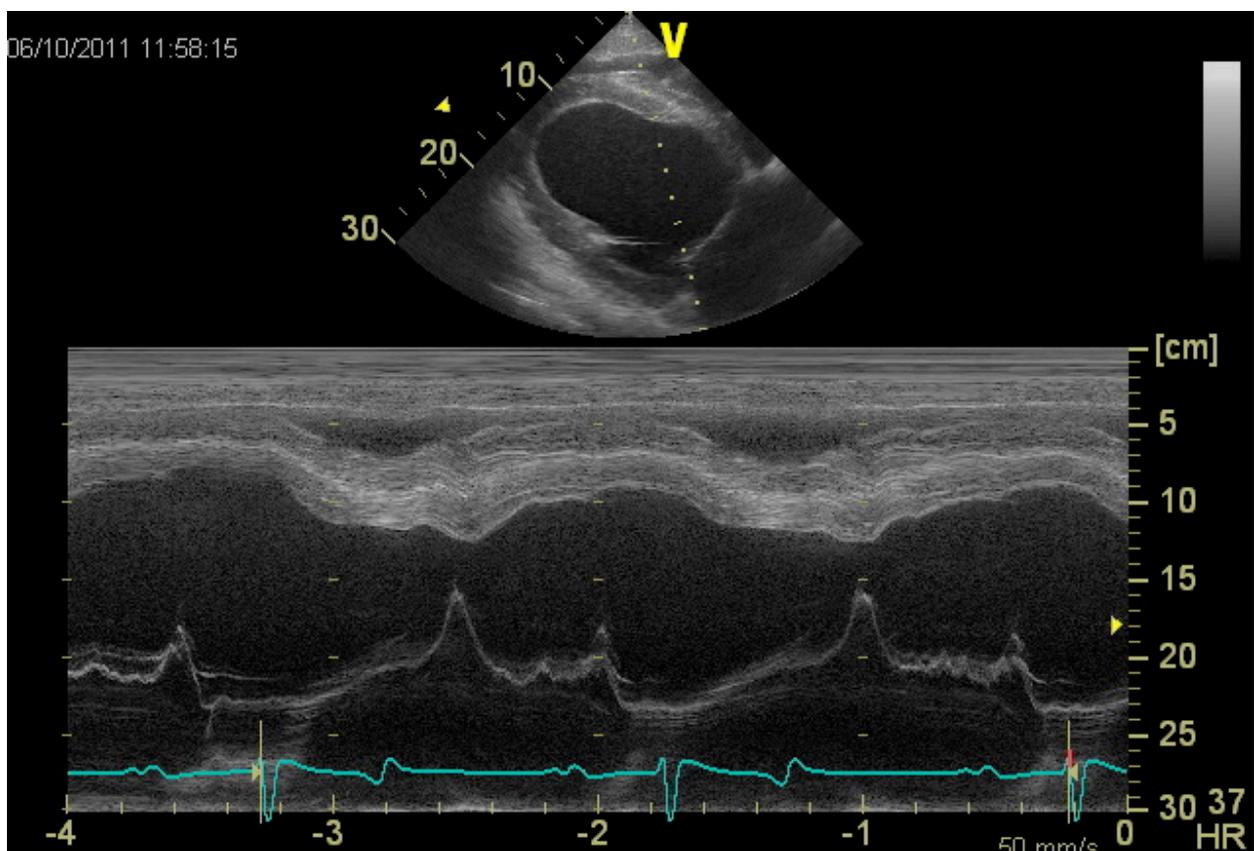


Abbildung 14: Hochfrequentes Flattern des septalen Mitralklappensegels bei hgr. Aortenklappeninsuffizienz

1.6. Graduierung der Klappeninsuffizienzen

Die Graduierung der Klappeninsuffizienzen wurde entsprechend den in der Literatur erwähnten Quantifizierungsmethoden durchgeführt (GEHLEN 1998; STADLER 1995; VAHANIAN, et al. 2007; YOUNG, et al. 2005). Anhand dieser objektiven Kriterien erfolgte

eine Einteilung der Klappeninsuffizienzen nach einem semiquantitativen Bewertungssystem in 3 Grade: geringgradige Insuffizienz, mittelgradige Insuffizienz, hochgradige Insuffizienz (Tabelle 3).

1.7. Belastung der Pferde

Die Belastungsuntersuchung wurde stets vormittags zwischen 9:30 und 11:30 Uhr nach mehrstündiger Boxenruhe durchgeführt, um eine Veränderung der Parameter durch vorausgehende psychische oder physische Belastung zu vermeiden und den Einfluss einer zirkadianen Rhythmik (JANSSON and DAHLBORN 1999) auf die Blutparameter kalkulierbar zu halten.

Vor Belastung wurden die Ruheherzfrequenz und die Ruheatemfrequenz bestimmt. Dann wurden die Pferde am Halfter oder mit Trense in einem Zirkel longiert. Die Pferde wurden nach einer kurzen Schrittphase entsprechend den Empfehlungen von GEHLEN (GEHLEN 2010) für die Belastungsuntersuchung von Warmblutpferden mit Verdacht auf Herzerkrankung bzw. Leistungsinsuffizienz 10 min im Trab und 5 min im Galopp longiert.

Unmittelbar nach Belastung wurden nochmals Herz- und Atemfrequenz bestimmt und dokumentiert. Anschließend wurde die Herz- und Atemfrequenz alle 5 min bis zum Erreichen der Ausgangswerte dokumentiert.

2. Präanalytik

2.1. Probenahme in Ruhe

Aldosteron folgt beim Menschen einer zirkadianen Rhythmik (MICHELAKIS und HORTON 1970), und auch beim Pferd ist ein solcher Rhythmus für Aldosteron nachgewiesen worden (JANSSON und DAHLBORN 1999). Deshalb wurden, so weit möglich, alle Proben am Vormittag genommen.

Es wurde besonders darauf geachtet, dass die Probennahme in einer ruhigen, stressfreien Umgebung stattfand. Die Pferde wurden deshalb in ihrer Box belassen und stets von derselben Hilfsperson ohne Anwendung von Zwangsmaßnahmen fixiert.

Außerdem wurde darauf geachtet, dass die Pferde vor der Blutentnahme über einen Zeitraum von mindestens einer halben Stunde Heu ad libitum zur Verfügung hatten, da bekannt ist, dass Aldosteron bei Pferden fütterungsabhängig ansteigt (CLARKE, et al. 1988).

Die Blutentnahme erfolgte mit vorgekühlten 20 ml Polypropylenspritzen (Firma B. Braun, Melsungen, Deutschland) durch Punktion einer Jugularvene.

Unmittelbar nach der Entnahme wurden 4 ml des entnommenen Blutes für die Endothelin-1- und Angiotensinbestimmung in ein vorgekühltes 4 ml K3E Plastik-Röhrchen (1,6 mg EDTA/ml Blut, Firma Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) verbracht und bis zum Zentrifugieren auf Eis gekühlt.

Für die ANP-Bestimmung wurden 5 ml Blut unmittelbar nach der Entnahme in eine vorgekühlte 5 ml Glasvakuette mit K3 EDTA 0,054 ml (15%) + 250 KIU Aprotinin (Firma BD, Heidelberg, Deutschland) verbracht und ebenfalls bis zum Zentrifugieren auf Eis gekühlt.

Für die Aldosteronbestimmung wurden 10 ml des entnommenen Blutes in ein 10 ml Serumröhrchen (Firma Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) verbracht.

2.2. Probenahme nach Belastung der Pferde

Die Beprobung wurde unmittelbar nach der Belastung in gleicher Weise wie die Ruheprobenahme durchgeführt.

2.3. Probenverarbeitung

Bis zur vollständigen Gerinnung wurden die Proben in den Serumröhrchen für 30 bis 45 min bei Raumtemperatur ruhen gelassen und anschließend bei Raumtemperatur zentrifugiert (10 min, 3800 rpm, Hermle Z 300).

Alle EDTA-Blutproben wurden innerhalb von 10 min nach Entnahme zentrifugiert (10 min bei 4 °C, 2000 x g, Hermle Z 326 K).

Der Überstand wurde abpipettiert, in mindestens 2 Aliquots zu je 1 ml aufgeteilt und bei -80°C tiefgefroren.

2.4. Probenaufbewahrung und Transport ins Untersuchungslabor

Alle Proben wurden innerhalb von 12 Monaten untersucht. Der Transport ins Labor erfolgte durch den laboreigenen Kurierdienst unter Kühlung der Proben mit Trockeneis.

2.5. Auswertung der Proben

Die Auswertung der Proben wurde in einem Fachlabor für veterinärmedizinische klinische Diagnostik (Laboklin GmbH & Co.KG, Bad Kissingen) durchgeführt.

Es wurden verschiedene Enzym Immunoassay (ELISA) Verfahren verwendet, wobei ausschließlich kommerziell erhältliche Enzym Immunoassay (ELISA) Testkits zum Einsatz kamen. Humanmedizinische Testkits wurden durch das Auswertungslabor vor Auswertung der Proben für den Gebrauch beim Pferd validiert.

2.5.1. Prinzip des ELISA

Der enzyme-linked immunosorbent assay ist ein immunologisches Verfahren zum Nachweis von Proteinen und anderen Antigenen mit Hilfe von enzymgekoppelten Antikörpern.

Es gibt verschiedene ELISA Verfahren, wobei im Folgenden nur eine kurze Übersicht gegeben werden soll.

2.5.1.1. Kompetitiver ELISA

Beim kompetitiven ELISA konkurriert das gesuchte Antigen in der Probe mit enzymmarkiertem Antigen um die Bindungsstellen spezifischer primärer Antikörper auf einer Mikrotiterplatte. Die Antikörper sind dabei fest an die Platte gebunden.

Durch Zugabe eines Substrats entsteht ein farbiges Produkt. Die Farbintensität verhält sich umgekehrt proportional zur Menge des gesuchten Antigens in der Probe. Je mehr Antigen sich in der Probe befindet, desto geringer ist die Farbreaktion.

Anhand einer Standardkurve aus bekannten Konzentrationen von Antigen und Antikörper wird dann die Antigenkonzentration in der Probe bestimmt.

2.5.1.2. Sandwich ELISA

Auch bei dieser Technik sind Antikörper an die feste Phase, also an die Mikrotiterplatte gebunden. Das in der Probe vorhandene gesuchte Antigen bindet an diese Antikörper. Ein zweiter, enzymgekoppelter Antikörper wird hinzugegeben und bindet nun wiederum an das bereits gebundene Antigen, worin der Unterschied zum kompetitiven ELISA besteht. Durch Zugabe eines Enzymsubstrats kommt es zur Farbreaktion, wodurch das Antigen in der Probe nachgewiesen werden kann. Die Farbreaktion ist hier proportional zur gesuchten Antigenmenge.

2.5.2. Bestimmung der CpALD

Zum Aldosteronnachweis im Serum wurde ein kommerzieller humanmedizinischer kompetitiver direkter ELISA verwendet (DB52001, Firma IBL International, Hamburg). Der Test wurde zuvor mit Serumproben von gesunden Pferden validiert und entsprechend der Arbeitsanleitung des Herstellers durchgeführt.

Vor Beginn der Testdurchführung wurde der mitgelieferte Waschpuffer 1:10 mit Aqua bidestillata verdünnt und das konzentrierte Enzymkonjugat 1:50 mit Puffer verdünnt.

Im ersten Testschritt wurden 50 µl der Proben, Standards und Kontrollen in die entsprechenden Vertiefungen der Mikrotiterplatte pipettiert. Nach Zugabe von 100 µl Enzymkonjugat (mit Meerrettichperoxidase konjugiertes ALD) wurde die Platte 1 h bei Raumtemperatur auf einem Orbitalschüttler bei 200 rpm inkubiert. Das Aldosteron in Proben, Standards und Kontrollen konkurrierte nun mit dem enzymgekoppelten Aldosteron um die Bindungsstellen der auf der Mikrotiterplatte fixierten polyklonalen Anti-Aldosteron-Antikörper.

Nach Ende der Inkubationszeit wurde durch dreimaliges Waschen mit Waschpufferlösung nicht gebundenes enzymmarkiertes Antigen abgewaschen. Anschließend wurden 150 µl Tetramethylbenzidin (TMB) -Substratlösung hinzugegeben und erneut für 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Das farblose TMB wurde in Anwesenheit der Meerrettichperoxidase in einen blauen Farbstoff umgewandelt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 50 µl Schwefelsäure (H₂SO₄) gestoppt, wobei ein Farbumschlag von blau nach gelb erfolgte. Die optische Dichte (OD) wurde direkt im Anschluss mit einem Photometer (Anthos HT2) bei 450 nm gemessen. Das Erstellen der Standardkurve erfolgte mit einem integrierten Computerprogramm (WinRead v 2.3.6), wobei die OD der Standards auf der y-Achse und die Aldosteronkonzentration auf der x-Achse aufgetragen wurde. Die Konzentration der Serumproben konnte dann direkt von der Standardkurve abgelesen werden.

Sensitivität: Die untere Nachweisgrenze betrug 10 pg/ml.

Der Intraassayvariationskoeffizient des Tests lag bei 4,1%, der Interassayvariationskoeffizient bei 9,7%.

2.5.3. Bestimmung der CpANG-II

Zur Bestimmung des ANG-II im EDTA-Plasma der Pferde wurde ein kommerziell erhältlicher, pferdespezifischer Sandwich-ELISA verwendet (CSB-EQ027597HO, Horse Angiotensin-II (ANG-II) ELISA Kit, Firma Cusabio, China) und genau nach Herstellerangaben durchgeführt. Zunächst wurden alle Reagenzien auf Raumtemperatur gebracht und vorbereitet.

120 µl des Biotinantikörperkonzentrats und 120 µl des HRP-Avidin-Konzentrats wurden im Verhältnis 1:100 mit destilliertem Wasser verdünnt. 20 ml konzentrierte Waschpufferlösung wurde im Verhältnis 1:25 mit destilliertem Wasser verdünnt. Die Proben wurden 500fach mit NaCl verdünnt.

Das gefriergetrocknete Standardkonzentrat wurde mit 1 ml 0,9 prozentiger NaCl verdünnt. Diese als Standard 7 definierte Lösung enthielt eine ANG-II-Konzentration von 500 pg/ml. Aus Standardlösung 7 wurden dann in einer Verdünnungsreihe die Standardlösungen 1-6 mit folgenden Konzentrationen hergestellt: 250 pg/ml (Standard 6), 125 pg/ml (Standard 5), 62,5 pg/ml (Standard 4), 31,2 pg/ml (Standard 3), 15,8 pg/ml (Standard 2), 7,8 pg/ml (Standard 1). Als Negativkontrolle wurden 250 µl NaCl verwendet.

Dann wurden je 100 µl der Standards und der Proben in die entsprechenden Vertiefungen der Mikrotiterplatte hineinpipettiert, die Platte mit Klebefolie abgedeckt und für 2 h bei 37 °C inkubiert. Während der Inkubationszeit wurde das ANG-II in den Proben und Standards an die auf der Platte fixierten, spezifischen anti-ANG-II-Antikörper gebunden.

Nach der Inkubationszeit wurde der Überstand abgegossen und anschließend in jede Vertiefung 100 µl der Biotin-Antikörper Lösung hineinpipettiert. Es folgte eine erneute Inkubation über 1 h bei 37 °C. Während der Inkubation wurden die an Biotin konjugierten Sekundärantikörper an ANG-II gebunden.

Nach dem Inkubieren wurden alle Vertiefungen 3x mit Waschpufferlösung gewaschen und auf einem sauberen Papiertuch abgeklopft. Anschließend wurde in jede Vertiefung 100 µl der Avidin konjugierten Meerrettichperoxidase Lösung hineingegeben und erneut für 1 h bei 37 °C inkubiert und anschließend mit Waschpufferlösung 3 mal gewaschen. Während des dritten Inkubierens wurde die Avidin konjugierte Meerrettichperoxidase an das Biotin gebunden.

In jede Vertiefung wurden dann 90 µl Substratlösung (Tetramethylbenzidin und Wasserstoffperoxid) hinzugegeben und weitere 30 min bei 37 °C inkubiert. Das farblose TMB dient dem Nachweis der Peroxidase, da es in Anwesenheit der Meerrettichperoxidase zu einem blauen Farbstoff, dem Tetramethylbenzidin-Diamin umgesetzt wird. Wegen der Lichtempfindlichkeit des Substrats wurde die Inkubation unter Lichtabschluss durchgeführt.

Nach der Inkubation wurden in jede Vertiefung 50 µl der Stop-Lösung hineinpipettiert, wodurch es zu einem Farbumschlag von blau nach gelb kam. Innerhalb von 5 min wurde die optische Dichte mit einem Photometer (Anthos HT2) bei 450 nm gemessen.

Die Extinktionen der Doppelmessungen aller Proben und Standards wurden gemittelt und die Extinktion des Leerwerts subtrahiert.

Mit Hilfe eines integrierten Computerprogramms (WinRead v 2.3.6), wurde eine Standardkurve erstellt, mit den Standardkonzentrationen auf der x-Achse und der Extinktion auf der y-Achse, und die ANG-II-Konzentration berechnet.

Sensitivität: Die niedrigste messbare ANG-II-Konzentration im EDTA-Plasma lag bei 2 pg/ml.

Der Intraassayvariationskoeffizient des Tests lag bei 8%, der Interassayvariationskoeffizient bei 10%.

2.5.4. Bestimmung der CpET-1

Zur Bestimmung der Endothelinkonzentration im EDTA-Plasma wurde ein kommerzieller humanmedizinischer Sandwich-ELISA verwendet (BI-20052, Firma Biomedica Medizinprodukte GmbH & Co KG, Österreich).

Die Kreuzreaktivität mit equinem Endothelin war zu 100% gegeben.

Der Test wurde durch COSTA und Mitarbeiter, sowie durch TETENS und Mitarbeiter bereits für den Gebrauch beim Pferd validiert (COSTA, et al. 2009; TETENS, et al. 2004). TETENS und Mitarbeiter geben einen Interassaykoeffizienten von 15,4 % und einen Intraassaykoeffizienten von 6,4 % an. Der Standardbereich des Tests liegt nach Herstellerangaben bei 0-10 fmol/ml, wobei die Detektionsgrenze mit 0,02 fmol/ml angegeben wird.

Es besteht 100 %ige Kreuzreaktivität mit ET-2 (1-21). Auch mit ET-3 (1-21) und Big-Endothelin (1-38) besteht Kreuzreaktivität, allerdings ist diese mit <5% und <1% gering.

Der Test wurde streng nach der Arbeitsanleitung des Herstellers durchgeführt. Zunächst wurden die Standard- und Kontrolllösungen hergestellt. Dazu wurde lyophilisiertes, synthetisches, humanes Endothelin (1-21) in 6 verschiedenen Konzentrationen (0-10 fmol/ml) in je 0,5 ml destilliertem Wasser gelöst. Zur Herstellung der Kontrollen wurde lyophilisiertes humanes Endothelin (1-21) in humanem Serum in 2 unbekanntem Konzentrationen in je 0,5 ml destilliertem Wasser gelöst.

Das mitgelieferte Waschpufferkonzentrat wurde 1:20 mit destilliertem Wasser verdünnt. Dann wurden 50 µl der Standards, Kontrollen und Proben jeweils im Doppelansatz in die entsprechenden Vertiefungen hineinpipettiert (mit Ausnahme des Leerwerts).

Im nächsten Schritt wurden 200 µl monoklonaler Anti-Maus-Anti-Endothelin-Antikörper zugegeben.

Es folgte eine 24 stündige Inkubationszeit bei Raumtemperatur. Während der Inkubationszeit erfolgte die Bindung des in Proben, Standards und Kontrollen enthaltenen Endothelins an die auf der Mikrotiterplatte fixierten polyklonalen Anti-Endothelin-Antikörper. Die gegen Endothelin gerichteten sekundären Antikörper wurden dann wiederum an das Endothelin aus Pro-

ben, Standards und Kontrollen gebunden, so dass sich das Probenantigen zwischen 2 Antikörpern befand. Nach Inkubation wurde der Inhalt der Vertiefungen verworfen, und im nächsten Schritt durch fünfmaliges Waschen mit der vorbereiteten Waschpufferlösung alle nicht gebundenen Antikörper entfernt.

Nach Zugabe von 200 µl Konjugat, bestehend aus mit Meerrettichperoxidase konjugierten anti-Maus-IgG-Antikörpern, erfolgte eine erneute Inkubation bei Raumtemperatur über einen Zeitraum von 1 h, um die Bindung des Konjugats an den Sekundärantikörper zu bewirken.

Nach erneutem fünfmaligen Waschen mit Waschpufferlösung zur Entfernung nicht gebundenen Konjugats wurden je 200 µl des gebrauchsfertigen Substrats (Tetramethylbenzidin und Wasserstoffperoxid) zugegeben. Das farblose TMB diente dem Nachweis der Peroxidase, da es in Anwesenheit der Meerrettichperoxidase zu einem blauen Farbstoff, dem Tetramethylbenzidin-Diamin umgesetzt wird. Wegen der Lichtempfindlichkeit des Substrats wurde die Inkubation unter Lichtabschluss durchgeführt.

Die Reaktion wurde schließlich nach 30 min durch die Zugabe von 50 µl H₂SO₄ gestoppt, wobei ein Farbumschlag von blau nach gelb erfolgte. Anschließend wurde die Extinktion mit Hilfe eines Photometers (Anthos HT2) bei einer Wellenlänge von 450 nm gemessen. Aus den gemessenen Extinktionen jedes Doppelansatzes wurde der Mittelwert berechnet. Der Mittelwert der Extinktion des Leerwertes wurde von den einzelnen Extinktionen abgezogen. Mit Hilfe eines integrierten Computerprogramms (WinRead v 2.3.6) wurde eine Standardkurve erstellt und die Endothelinkonzentration errechnet.

Sensitivität: Die niedrigste messbare Endothelin-Konzentration lag bei 0,02 fmol/ml.

Der Intrassayvariationskoeffizient des Tests lag bei 4%, der Interassayvariationskoeffizient bei 6%.

2.5.5. Bestimmung der CpANP

Zur Bestimmung der ANP-Konzentration wurde ein kommerzieller humanmedizinischer EIA der Firma Ray Biotech verwendet (RayBio Human/Mouse/Rat ANP Enzyme Immunoassay Kit, EIA-ANP-1, Ray Biotech, Norcross, USA), der nach dem Prinzip des kompetitiven ELISA funktioniert. Der Test wurde vor Auswertung des Probenmaterials durch das auswertende Labor für den Gebrauch beim Pferd validiert.

Zunächst wurde die Anti-ANP-Antikörperlösung hergestellt. Dazu wurde das mitgelieferte Pufferkonzentrat 1:5 mit destilliertem Wasser verdünnt. Dann wurde die mitgelieferte Anti-ANP-Antikörper-Lösung vorsichtig zentrifugiert und mit 50 µl der verdünnten Pufferlösung

versetzt. Dieses Antikörperkonzentrat wurde im nächsten Schritt 1:100 mit Pufferlösung verdünnt. 5 µl des mitgelieferten biotinylierten ANP-Konzentrats wurden vorsichtig zentrifugiert und mit 5 ml Pufferlösung verdünnt, so dass die ANP Konzentration 10 pg/ml betrug.

Zur Herstellung der Standards in 6 verschiedenen Konzentrationen wurde zunächst die Stammlösung aus 450 µl biotinylierter ANP-Lösung und 8 µl der mitgelieferten Standard-ANP-Lösung, sowie 792 µl der zuvor hergestellten biotinylierten ANP-Lösung hergestellt (Standard 1 mit Konzentration 1000 pg/ml). Aus Standardlösung 1 wurden dann unter Zusatz von jeweils 450 µl biotinylierter ANP-Lösung (10 pg/ml) in einer Verdünnungsreihe die Standardlösungen 2 bis 5 mit folgenden Konzentrationen hergestellt: 100 pg/ml (Standard 2) 10 pg/ml (Standard 3), 1 pg/ml (Standard 4) und 0,1 pg/ml (Standard 5) und 0 pg/ml (Standard 6) bzw. 10 pg/ml biotinylierte ANP-Lösung. Zur Herstellung der Kontrolllösung wurde die mitgelieferte Kontrolllösung mit 101 µl Pufferlösung und 2 µl 10fach verdünnter ANP-Lösung versetzt. Die Plasmaproben wurden in folgender Weise für die Analyse vorbereitet. Je 62,5 µl Plasmaprobe wurde mit 2,5 µl 10-fach verdünnter biotinylierter ANP-Lösung und 185 µl NaCl verdünnt. Im nächsten Schritt wurden 100 µl der zuvor hergestellten Anti-ANP-Antikörperlösung im Doppelansatz in jede Vertiefung pipettiert und die Mikrotiterplatten für 1,5 h bei Raumtemperatur auf dem Orbitalschüttler (2 Drehungen/sec) inkubiert. Während der Inkubationszeit haben die Anti-ANP-Antikörper an die auf der Platte gebundenen sekundären Antikörper gebunden. Nach der Inkubation wurden die Platten 4 x mit Waschpufferlösung gewaschen, um alle nicht gebundenen Antikörper zu entfernen.

Dann wurden je 100 µl Standardlösung, Kontrolllösung und Probe im Doppelansatz in die entsprechenden Vertiefungen pipettiert und die Mikrotiterplatten bei Raumtemperatur 2,5 h auf dem Orbitalschüttler (120 rpm) inkubiert. Für den Leerwert wurde eine Vertiefung ausgespart. Dabei wurde das in Standardlösung, Kontrolllösung und Proben enthaltene ANP bzw. biotinyliertes ANP an die Anti-ANP-Antikörper gebunden. Nach dem Inkubieren wurden die Platten wieder 4 x mit Waschpufferlösung gewaschen, um alle nicht gebundenen Antikörper zu entfernen.

Im nächsten Schritt wurden je 100 µl des zuvor 200fach mit Waschpufferkonzentrat verdünnten, mit Meerrettich-Peroxidase konjugierten, Streptavidins in jede Vertiefung pipettiert und die Mikrotiterplatten bei Raumtemperatur 45 min auf dem Orbitalschüttler (120 rpm) inkubiert. Das Streptavidin wurde während des Inkubierens an das biotinylierte ANP gebunden. Nach dem Inkubieren wurden die Platten wieder 4 x mit Waschpufferlösung gewaschen um nicht gebundenes Streptavidin zu entfernen.

Anschließend wurden in jede Vertiefung 100 µl des TMB-Substrats hineinpipettiert und anschließend die Mikrotiterplatten 30 min bei Raumtemperatur inkubiert (120 rpm).

Das farblose TMB diente dem Nachweis der Peroxidase, da es in Anwesenheit der Meerretichperoxidase zu einem blauen Farbstoff, dem TMB-Diamin umgesetzt wurde.

Nach dem Inkubieren wurden die Platten 4 x mit Waschpufferlösung gewaschen, um nicht gebundenes TMB-Substrat zu entfernen.

Im letzten Schritt wurde die Reaktion durch Zugabe von 50 µl H₂SO₄ gestoppt, wobei ein Farbumschlag von blau nach gelb erfolgte. Anschließend wurde die Extinktion (OD) mit Hilfe eines Photometers (Anthos HT2) bei einer Wellenlänge von 450 nm gemessen. Die gemessene Farbintensität war umgekehrt proportional zur ANP-Menge in den Proben.

Aus den gemessenen Extinktionen jedes Doppelansatzes wurde der Mittelwert berechnet. Der Mittelwert der Extinktion des Leerwertes wurde von den einzelnen Extinktionen abgezogen.

Mit Hilfe eines integrierten Computerprogramms (WinRead v 2.3.6) wurde eine Standardkurve erstellt und die ANP-Konzentration errechnet, wobei die Standardkonzentration auf der x-Achse und die Extinktion (in %) auf der y-Achse aufgetragen war.

Sensitivität: Die geringste messbare ANP-Konzentration lag bei 2,3 pg/ml.

Der Intrassayvariationskoeffizient des Tests lag bei 10%, der Interassayvariationskoeffizient bei 15%.

3. Statistische Auswertung

Die Datenanalyse und statistische Auswertung wurde mit der kommerziellen Computersoftware SPSS Statistics Version 20.0 für Mac durchgeführt. Als Signifikanzniveau wurde $p \leq 0,05$ definiert.

Zunächst wurden in einer deskriptiven Datenanalyse Mittelwert und Standardabweichung für die Parameter Alter, Größe, Gewicht, CpALD_R, CpANG-II_R, CpET_R, CpANP_R, CpALD_B, CpANG-II_B, CpET_B, CpANP_B, Herzfrequenz in Ruhe und nach Belastung sowie für die echokardiographischen Dimensionsmessungen ermittelt. Für die Blutparameter wurde zusätzlich der Median mit Minimum und Maximum ermittelt und angegeben. Die Prüfung auf Verteilung der abhängigen Variablen wurde anhand von Q-Q-Plots und mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests durchgeführt.

Aufgrund fehlender Normalverteilung der Daten in allen 3 Gruppen wurden nicht parametrische statistische Tests für die Datenanalyse gewählt.

In der herzgesunden Kontrollgruppe wurde der Einfluss der metrischen Variablen Alter und Gewicht auf die Ruhe- und Belastungswerte der einzelnen Blutparameter mit Hilfe einer Korrelationsanalyse nach Spearman untersucht.

Um einen Zusammenhang zwischen den Werten der Blutparameter und den echokardiographisch gemessenen Herzdimensionen zu ermitteln, wurde ebenfalls eine Korrelationsanalyse nach Spearman durchgeführt. Die Korrelation wurde auf einem Niveau von 0,05 (2-seitig) als schwach signifikant und auf einem Niveau von 0,01 (2-seitig) als hoch signifikant erachtet. Signifikante Ergebnisse wurden in Streudiagrammen dargestellt.

Um zu analysieren, ob der kardiologische Befund (Art der Klappeninsuffizienz bzw. das Auftreten von VF), zusätzliche Erkrankungen neben Herzerkrankungen, die Rasse, das Geschlecht oder der Trainingszustand der Pferde einen Einfluss auf die Werte der Blutparameter vor und nach Belastung hatten, wurde ein Kruskal-Wallis-H-Test durchgeführt. Ergaben sich in einer Gruppe signifikante Unterschiede der Mittelwerte gegenüber den anderen Gruppen, wurden die Unterschiede mit Hilfe des Man-Whitney-U-Tests (Post-Hoc-Test) im Paarvergleich genau lokalisiert.

Zusätzlich wurde mit Hilfe des Kruskal-Wallis-H-Tests untersucht, ob die Lokalisation der Dimensionsveränderungen des Herzens bei Patienten der Gruppe 3 einen Einfluss auf die Werte der Blutparameter vor und nach Belastung hatte. Wurden signifikante Unterschiede bei einem Parameter ermittelt, konnten die Unterschiede mit Hilfe des Man-Whitney-U-Tests (Post-Hoc-Test) im Paarvergleich genau lokalisiert werden. Signifikante Ergebnisse wurden in Boxplots dargestellt.

Der Vergleich der CpALD, CpANG-II, CpET und CpANP vor und nach Belastung *innerhalb* der 3 Gruppen wurde mit Hilfe des Wilcoxon-Vorzeichen-Rangtests für verbundene Stichproben durchgeführt. Signifikante Ergebnisse wurden in Boxplots grafisch dargestellt.

Um die Mittelwerte der Blutparameter vor und nach Belastung *zwischen* den 3 Gruppen zu vergleichen, wurden zunächst für jede Gruppe die Differenzen zwischen Belastungs- und Ruhewerten gebildet und dann die Unterschiede in den Differenzen mit Hilfe des Kruskal-Wallis-H-Tests untersucht.

V. ERGEBNISSE

1. Ergebnisse der Anamnese und Allgemeinuntersuchung

In die Studie wurden insgesamt 54 Patienten der Pferdeklinik FU Berlin einbezogen. Dies waren im einzelnen 21 Stuten, 30 Wallache und 3 Hengste im Alter zwischen 4 und 30 Jahren. Die Pferde waren zwischen 141 und 188 cm groß und 351 bis 690 kg schwer. Es handelte sich überwiegend um Pferde der Rasse Warmblut (34) aus unterschiedlichen Zuchtgebieten und Traber (11). Die übrigen Pferde gehörten den Rassen englisches Vollblut (2), deutsches Reitpony (3), American Quarter Horse (1), Araber (2) und Criollo (1) an (Siehe Anhang: Seite 189).

Genutzt wurden die Pferde zum überwiegenden Teil als Freizeitpferde (22 Pferde). 16 Pferde waren reine Weidepferde, 7 Pferde wurden turniersportlich (Dressur/Springen) genutzt, 2 Pferde waren als Remonten am Beginn ihrer Ausbildung und 2 Pferde wurden als Rennpferde genutzt. Bei 5 Pferden wurde zur Art der Nutzung von den Besitzern keine Angaben gemacht.

Entsprechend der Angaben der Besitzer wurden 20 Pferde als trainiert und 32 Pferde als untrainiert eingestuft. Bei 2 Pferden konnte der Trainingszustand nicht ermittelt werden.

Vorberichtlich war bei 30 Pferden ein Herzgeräusch aufgefallen, 17 Pferde wurden wegen Leistungsinsuffizienz vorgestellt, bei 7 Pferden wurde vorberichtlich eine Arrhythmie festgestellt und ein Pferd fiel mit Dyspnoe auf.

7 Pferde zeigten einen mäßigen bis schlechten Ernährungszustand.

Pflegezustand, Haltung, Verhalten und Körpertemperatur waren bei allen Pferden unauffällig. Die Patienten hatten eine mittlere Atemfrequenz von 16/min ($\pm 4,8$) und eine mittlere Pulsfrequenz von 38/min ($\pm 7,9$). Bei einem Pferd fielen einseitig ggr. verdickte Mandibularlymphknoten auf.

Ein Pferd mit Dyspnoe war im Allgemeinbefinden mgr. gestört.

2. Ergebnisse der speziellen Untersuchung des Herz-Kreislauf-Apparates

3 Pferde hatten auffällig blasse Schleimhäute, und bei 6 Pferden war die KFZ deutlich verlängert (zwischen 3 und 5 sec).

Die Pulsqualität war bei 41 Pferden kräftig und regelmäßig, bei 6 Pferden schwach und regelmäßig, bei 4 Pferden kräftig aber unregelmäßig und bei 3 Pferden schwach und unregelmäßig.

Die Episkleralgefäße waren bei allen Pferden fein gezeichnet und der Hautturgor stets erhalten.

1 Pferd hatte deutlich gestaute Jugularvenen, und bei 2 Pferden wurde ein Unterbauch- und/oder Unterbrustödem festgestellt.

Die auskultierte Herzfrequenz lag im Mittel bei 39/min ($\pm 8,5$).

Alle Pferde mit Auffälligkeiten in der Herz-Kreislauf-Untersuchung haben sich nach vollständiger Untersuchung als herzkrank erwiesen.

Bei insgesamt 28 Pferden konnte auskultatorisch ein Herzgeräusch festgestellt werden. Bei 2 von diesen Pferden konnte ein Herzgeräusch in Kombination mit einer Arrhythmie festgestellt werden.

Bei 4 Pferden war auskultatorisch ausschließlich eine Arrhythmie wahrnehmbar. Davon hatten 2 Pferde ausschließlich Extrasystolen. Diese 2 Pferde wurden von der Auswertung ausgeschlossen.

Bei 22 Pferden konnte weder eine Arrhythmie noch ein Herzgeräusch festgestellt werden. Dazu gehörten auch 4 Pferde, bei denen vorberichtlich ein Herzgeräusch und 2 Pferde, bei denen vorberichtlich eine Arrhythmie aufgetreten sein soll. Diese vorberichtlichen Befunde konnten während der speziellen klinischen Untersuchung nicht nachvollzogen werden und auch durch weitere Untersuchungen nicht bestätigt werden. Diese 6 Pferde wurden später in die Gruppe der herzgesunden Pferde eingeteilt (Gruppe 1).

Am häufigsten wurde links ein systolisches Herzgeräusch auskultiert (20 Pferde), 10 Pferde hatten links ein diastolisches Herzgeräusch.

Bei 5 Pferden war auch rechts ein Herzgeräusch hörbar. Bei 3 Pferden war dies ein diastolisches Geräusch, bei 2 Pferden ein systolisches Geräusch.

Bezüglich des Schweregrades der Herzgeräusche wurde folgende Verteilung ermittelt:

Tabelle 1: Schweregrad des Herzgeräuschs und Anzahl der zugeordneten Pferde, Graduierungsschema nach STADLER und Mitarbeitern (STADLER et al. 1995)

Schweregrad des HG	Anzahl der Pferde
1/5	6
2/5	4
3/5	10
4/5	5
5/5	3
Gesamt	28

Legende: HG= Herzgeräusch

3. Ergebnisse der Ultraschalluntersuchung

Alle 54 Pferde konnten echokardiographisch untersucht werden.

3.1. Ergebnisse der Untersuchungen im B-Mode

Durch die Farbdoppleruntersuchung konnte bei insgesamt 36 Pferden eine Klappeninsuffizienz an einer oder mehreren Klappen festgestellt werden (Tabelle 2).

13 Pferde hatten eine solitäre Aortenklappeninsuffizienz (AVI). Bei 4 Pferden konnte eine solitäre Mitralklappeninsuffizienz (MVI), bei 2 Pferden eine solitäre Trikuspidalklappeninsuffizienz (TVI) und bei einem Pferd eine solitäre Pulmonalklappeninsuffizienz (PVI) festgestellt werden. 7 Pferde hatten eine AVI in Kombination mit einer MVI, 3 Pferde eine kombinierte MVI und TVI, 2 Pferde eine MVI und PVI, 1 Pferd eine AVI und PVI, 1 Pferd eine AVI, PVI und TVI, 1 Pferd eine PVI und TVI. Bei einem Pferd konnte neben einer MVI, AVI und TVI auch ein Ventrikelseptumdefekt (VSD) festgestellt werden.

Tabelle 2: Anzahl der Pferde mit entsprechenden Befunden

Befund	Anzahl der Pferde
AVI	13
AVI+VF	1
MVI	4
TVI	1
TVI+VF	1
PVI	1
AVI+MVI	6
AVI+MVI+VF	1
MVI+TVI	2
MVI+TVI+VF	1
MVI+PVI	2
AVI+PVI	1
AVI+PVI+TVI	1
PVI+TVI	1
AVI+MVI+TVI+VSD+VF	1
Gesamt	36

Legende:

AVI= Aortenklappeninsuffizienz, MVI= Mitralklappeninsuffizienz,
 TVI= Trikuspidalklappeninsuffizienz, PVI=Pulmonalklappeninsuffizienz,
 VSD=Ventrikelseptumdefekt, VF=Vorhofflimmern

Tabelle 3: Verteilung der Graduierung der Klappeninsuffizienzen

Grad	AVI	MVI	TVI	PVI
Geringgradig	6	6	3	6
Mittelgradig	5	6	5	0
Hochgradig	12	5	0	0

Legende: AVI= Aortenklappenklappeninsuffizienz, MVI= Mitralklappeninsuffizienz, TVI= Trikuspidalklappeninsuffizienz, PVI= Pulmonalklappeninsuffizienz

Die Vermessung der Herzdimensionen in den verschiedenen Anschallpositionen ergab bei 17 Pferden Dimensionsveränderungen des Herzens. Am häufigsten wurde eine Dilatation des LV festgestellt (9 Pferde), 3 Pferde hatten ein dilatiertes LA, 1 Pferd ein dilatiertes LA und einen dilatierten LV, 1 Pferd eine Dilatation des LA und RA und des RV, 1 Pferd eine Dilatation des RA und des RV, und 2 Pferde eine Dilatation des RA (Tabelle 4).

Darunter war ein Pferd mit hochgradiger sekundärer Rechtsherzdilatation aufgrund eines VSD, ein Pferd mit sekundärer Rechtsherzdilatation aufgrund einer chronischen Lungenerkrankung, und 2 Pferde mit dilatiertem RA aufgrund einer TVI. 37 Pferde hatten normale Herzdimensionen.

Tabelle 4: Lokalisation der Dimensionsveränderung und Anzahl der Pferde

Lokalisation der Dimensionsveränderung	Anzahl der Pferde
LA	3
LV	9
LA+LV	1
RA	2
RA+RV	1
LA+RA+RV	1
Gesamt	17

Legende: LA= linkes Atrium, LV=linker Ventrikel, RA= rechtes Atrium, RV= rechter Ventrikel

Bei 7 Pferden konnten außerdem Klappenvegetationen festgestellt werden. Bei 2 Pferden waren mehrere Klappen betroffen, bei 4 Pferden war die Mitralklappe und bei einem Pferd die Aortenklappe betroffen.

Bei einem Pferd war ein deutlicher Prolaps der Aortenklappensegel zu sehen (Abbildung 15).

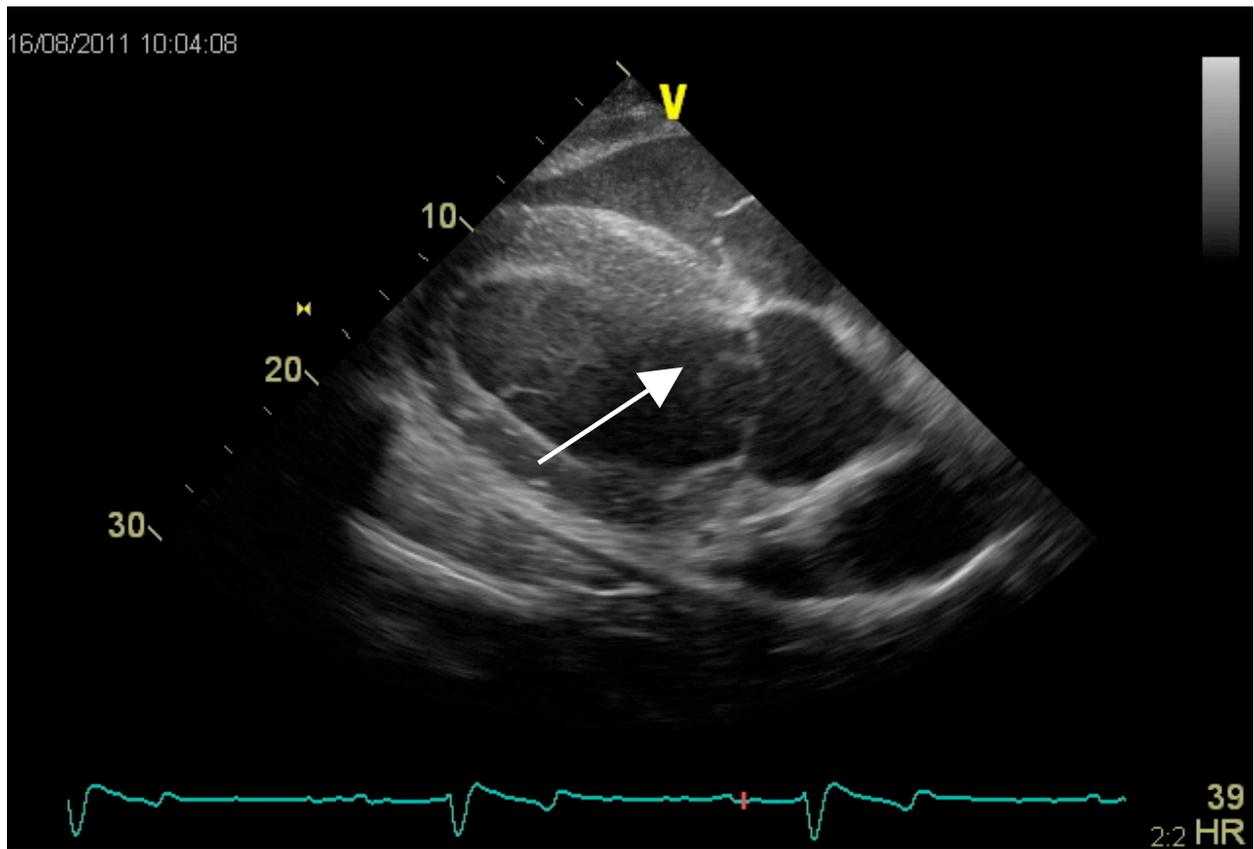


Abbildung 15: Aortenklappenprolaps (Pfeil)

In den folgenden Tabellen (Tabellen 5 bis 10) sind alle Ergebnisse der Dimensionsmessungen aus den verschiedenen Anschallpositionen im B-Mode in den einzelnen Gruppen wiedergegeben:

Tabelle 5: Mittelwerte und Standardabweichungen, sowie Referenzwerte nach STADLER und ROBINE (STADLER and ROBINE 1996) und GEHLEN (GEHLEN 2010; 1998) der Dimensionsmessungen im B-Mode aus der rechten parasternalen kaudalen langen Achse in den einzelnen Gruppen

Position RKDLA	Referenz	Herzgesund (Gruppe 1)	Herzkrank ohne Dimensions- veränderungen (Gruppe 2)	Herzkrank mit Di- mensions- veränderungen (Gruppe 3)
RVWd (cm)	1,5 ± 0,2	1,58 ± 0,24	1,43 ± 0,34	1,63 ± 0,31
RVDd (cm)	7,3 ± 1,5	4,22 ± 1,07	4,14 ± 0,9	4,43 ± 2,43
RADd (cm)	6,7 ± 0,8	-	10,1 ± 0	14,65 ± 0
IVSDd (cm)	2,3 ± 0,3	2,52 ± 0,45	2,55 ± 0,29	2,55 ± 0,44
MADd (cm)	10,0 ± 0,9	9,6 ± 1,4	9,85 ± 1,24	10,93 ± 1,4
LADd (cm)	10,5 ± 1,2	9,74 ± 1,28	9,71 ± 1,28	10,86 ± 1,46
LVDuMVd (cm)	13,0 ± 5,0	11,55 ± 1,15	12,02 ± 0,58	13,55 ± 1,7
LVDpmd (cm)	9,3 ± 1,1	8,41 ± 0,97	8,82 ± 0,95	10,27 ± 2,87
LVWd (cm)	2,2 ± 0,3	2,16 ± 0,38	2,85 ± 0,45	2,23 ± 0,58

Legende: RKDLA=rechte parasternale kaudale lange Achse, RVWd=rechte Ventrikelwand in der Diastole, RVDd=Durchmesser des rechten Ventrikels in der Diastole, RADd=Durchmesser des rechten Atriums in der Diastole, IVSDd=Durchmesser des Interventrikularseptums in der Diastole, MADd=Durchmesser des Mitralklappenannulus in der Diastole, LADd=Durchmesser des linken Atriums in der Diastole, LVDuMVd=Durchmesser des linken Ventrikels unter der Mitralklappe in der Diastole, LVDpmd=Durchmesser des linken Ventrikels post Mitralklappe in der Diastole, LVWd=Durchmesser linke Ventrikelwand

Tabelle 6: Mittelwerte und Standardabweichungen der Dimensionsmessungen im B-Mode sowie Referenzwerte nach STADLER und ROBINE (STADLER and ROBINE 1996) und GEHLEN (GEHLEN 2010; 1998) aus der rechten parasternalen kaudalen langen Achse mit Aorta in den einzelnen Gruppen

Position	Referenz	Herzgesund (Gruppe 1)	Herzkrank ohne Dimensions- veränderungen (Gruppe 2)	Herzkrank mit Di- mensions- veränderungen (Gruppe 3)
RKDLA-AO				
AO (cm)	8,0 ± 1,0	7,52 ± 0,89	7,78 ± 0,62	8,12 ± 0,89

Legende: RKDLA-AO=rechte kaudale lange Achse mit Aorta

Tabelle 7: Mittelwerte und Standardabweichungen der Dimensionsmessungen im B-Mode sowie Referenzwerte nach nach STADLER und ROBINE (STADLER and ROBINE 1996) und Gehlen (GEHLEN 2010; 1998) aus der rechten parasternalen kaudalen kurzen Achse in den einzelnen Gruppen

Position	Referenz	Herzgesund (Gruppe 1)	Herzkrank ohne Dimensions- veränderungen (Gruppe 2)	Herzkrank mit Di- mensions- veänderungen (Gruppe 3)
Rechte para- sternale kurze Achse				
LVWd (cm)	3,7 ± 0,6	2,93 ± 0,53	2,95 ± 0,52	2,94 ± 0,38
LVWs (cm)	5,3 ± 0,3	4,15 ± 0,57	4,33 ± 0,59	4,28 ± 0,67

Legende: LVWd= Linke Ventrikelwand in der Diastole, LVWs= linke Ventrikelwand in der Systole

Tabelle 8: Mittelwerte und Standardabweichungen sowie Referenzwerte nach nach STADLER und ROBINE (STADLER and ROBINE 1996) und Gehlen (GEHLEN 2010; 1998) der Dimensionsmessungen im B-Mode aus der rechten parasternalen langen kranialen Achse in den einzelnen Gruppen

Position	Referenz	Herzgesund (Gruppe 1)	Herzkrank ohne Dimensions- veränderungen (Gruppe 2)	Herzkrank mit Di- mensions- veränderungen (Gruppe 3)
Rechte parasterna- le lange kraniale Achse				
RADd (cm)	6,9 ± 0,1	-	8,01 ± 0,99	10,8 ± 2,36
RVDd (cm)	7,4 ± 0,9	7,87 ± 0,78	7,9 ± 1,1	8,35 ± 0,92
PADd (cm)	5,6 ± 0,7	5,81 ± 1,08	5,71 ± 0,5	6,5 ± 0,86

Legende: RADd= Durchmesser des rechten Atriums in der Diastole, RVDd= Durchmesser des rechten Ventrikels in der Diastole, PADd= Durchmesser der Pulmonalarterie in der Diastole

Tabelle 9: Mittelwerte und Standardabweichungen der Dimensionsmessungen im B-Mode sowie Referenzwerte nach STADLER und ROBINE (STADLER and ROBINE 1996) und GEHLEN (GEHLEN 2010; 1998) aus der linken parasternalen langen kaudalen Achse in den einzelnen Gruppen

Position	Referenz	Herzgesund (Gruppe 1)	Herzkrank ohne Dimensions- veränderungen (Gruppe 2)	Herzkrank mit Di- mensions- veränderungen (Gruppe 3)
LKDLA				
MADd (cm)	10,7 ± 0,8	7,91 ± 1,05	10,23 ± 1,34	11,3 ± 1,52
LVDD (cm)	<13,5	10,26 ± 0,95	12,1 ± 0,91	13,45 ± 1,9
LADd (cm)	<13,5	8,42 ± 1,11	11,2 ± 1,4	12,85 ± 1,61

Legende: LKDLA= linke parasternale kaudale lange Achse, MADd= Durchmesser des Mitralklappenannulus in der Diastole, LVDD= Durchmesser des linken Ventrikels in der Diastole, LADd= diastolischer Durchmesser des linken Atriums

Tabelle 10: Mittelwerte und Standardabweichungen der Dimensionsmessungen im B-Mode sowie Referenzwerte nach STADLER und ROBINE (STADLER and ROBINE 1996) und GEHLEN (GEHLEN 2010; 1998) aus der linken parasternalen langen Achse mit Aorta in den einzelnen Gruppen.

Position LKDLA-AO	Referenz	Herzgesund (Gruppe 1)	Herzkrank ohne Dimensions- veränderungen (Gruppe 2)	Herzkrank mit Dimen- sions-veränderungen (Gruppe 3)
AO (cm)	8,0 ± 1,0	6,82 ± 0	7,9 ± 0,76	8,63 ± 0,37

Legende: LKDLA-AO= linke parasternale kaudale lange Achse mit Aorta, AO= Aorta

3.2. Ergebnisse der Untersuchungen im M-Mode

Im M-Mode aus der rechten parasternalen langen Achse konnte bei 6 Pferden ein hochfrequentes diastolisches Flattern des septalen Mitralklappensegels festgestellt werden (Abbildung 14). Alle 6 Pferde hatten eine hgr. AVI. Die geöffnete Mitralklappe „flatterte“ im diastolischen Rückstrom durch die insuffiziente Aortenklappe.

Tabelle 11: Ergebnisse der M-Mode Messungen ausgedrückt als Mittelwerte und Standardabweichungen sowie Referenzwerte nach ZUCCA und Mitarbeitern (ZUCCA, et al. 2008) aus der rechten kaudalen langen Achse in den einzelnen Gruppen

Position	Referenz	Herzgesund (Gruppe 1)	Herzkrank ohne Dimensions- veränderungen (Gruppe 2)	Herzkrank mit Di- mensions- veränderungen (Gruppe 3)
MM-RKDLA				
IVSd (mm)	3,1 ± 0,41	3,84 ± 2,92	3,16 ± 0,47	2,83 ± 0,41
IVSs (mm)	4,48 ± 0,36	4,27 ± 0,73	4,73 ± 0,44	4,73 ± 0,92
LVIDd (mm)	11,6 ± 1,29	11,1 ± 1,25	11,47 ± 0,89	13,37 ± 2,55
LVIDs (mm)	7,42 ± 1,05	6,97 ± 1,28	6,71 ± 0,87	7,86 ± 1,73
LVPWd (mm)	2,52 ± 0,03	2,08 ± 0,51	2,68 ± 0,58	2,25 ± 0,58
LVPWs (mm)	3,64 ± 0,52	3,52 ± 0,58	3,95 ± 0,68	3,81 ± 0,67
FS %	36,2 ± 3,9	37,78 ± 5,43	41,16 ± 5,55	40,57 ± 7,10

Legende: MM-RKDLA=M-Mode der rechten kaudalen langen Achse, IVSd=Interventrikularseptum in der Diastole, IVSs= Interventrikularseptum in der Systole, LVIDd=Innerer Durchmesser des linken Ventrikels in der Diastole, LVIDs=Innerer Durchmesser des linken Ventrikels in der Systole, LVPWd=linke hintere Ventrikelwand in der Diastole, LVPWs=linke hintere Ventrikelwand in der Systole, FS%=Verkürzungsfraktion in Prozent

Tabelle 12: Ergebnisse der M-Mode Messungen ausgedrückt als Mittelwerte und Standardabweichungen sowie Referenzwerte nach ZUCCA und Mitarbeitern (ZUCCA, et al. 2008) aus der rechten kaudalen kurzen Achse in den einzelnen Gruppen

Position MM-RKDKA	Referenz	Herzgesund (Gruppe 1)	Herzkrank ohne Dilatation (Gruppe 2)	Herzkrank mit Dilatation (Gruppe 3)
IVSd (mm)	3,1 ± 0,41	3,13 ± 0,54	3,1 ± 0,36	3,1 ± 0,34
IVSs (mm)	4,48 ± 0,36	4,54 ± 0,63	4,58 ± 0,60	4,85 ± 0,85
LVIDd (mm)	11,6 ± 1,29	11,60 ± 1,34	12,17 ± 0,80	13,97 ± 2,85
LVIDs (mm)	7,42 ± 1,05	7,48 ± 1,05	7,23 ± 1,53	8,82 ± 1,92
LVPWd (mm)	2,52 ± 0,03	2,42 ± 0,44	2,59 ± 0,55	2,50 ± 0,44
LVPWs (mm)	3,64 ± 0,52	3,19 ± 0,57	3,44 ± 0,65	3,62 ± 0,62
FS %	36,2 ± 3,9	35,51 ± 3,88	37,58 ± 4,76	36,85 ± 6,30

Legende: MM-RKDKA=M-Mode der rechten kaudalen kurzen Achse, IVSd=Interventrikularseptum in der Diastole, IVSs= Interventrikularseptum in der Systole, LVIDd=Innerer Durchmesser des linken Ventrikels in der Diastole, LVIDs=Innerer Durchmesser des linken Ventrikels in der Systole, LVPWd=linke hintere Ventrikelwand in der Diastole, LVPWs=linke hintere Ventrikelwand in der Systole, FS%=Verkürzungsfraktion in Prozent

4. Ergebnisse der elektrokardiographischen Untersuchung

Bei der elektrokardiographischen Untersuchung konnte bei insgesamt 8 Pferden eine Arrhythmie festgestellt werden. 5 Pferde zeigten Vorhofflimmern in Kombination mit verschiedenen Klappeninsuffizienzen.

Bei 2 Pferden konnten im Langzeit-EKG Extrasystolen festgestellt werden, wobei bei einem Pferd gehäuft atriale Extrasystolen und bei einem Pferd atriale und ventrikuläre Extrasystolen gemeinsam auftraten. Bei diesen beiden Pferden konnten keine Klappeninsuffizienzen festgestellt werden.

Pferde ohne Klappeninsuffizienzen, die ausschließlich unter Arrhythmien litten, wurden aus der weiteren Auswertung ausgeschlossen (2 Pferde).

5. Weitere Erkrankungen und weiterführende Untersuchungen

Bei 15 Pferden wurden während der klinischen Untersuchung weitere Erkrankungen festgestellt. 7 Pferde litten an Lungenerkrankungen, 9 Pferde hatten eine orthopädische Problematik und 3 Pferde hatten Hautneoplasien unterschiedlicher Größe (Sarkoide).

Bei einem Pferd mit vorberichtlicher Leistungsinsuffizienz erwies sich eine Lungenerkrankung als alleinige Ursache für die eingeschränkte Leistungsfähigkeit, bei 9 Pferden war ein orthopädisches Problem die eigentliche Ursache der Leistungsinsuffizienz. Diese Pferde wurden in die Gruppe der herzgesunden Pferde eingeteilt.

6 Pferde mit Herzerkrankungen hatten gleichzeitig Lungenerkrankungen unterschiedlicher Art und unterschiedlichen Grades.

Bei allen Pferden mit Verdacht auf eine Lungenerkrankung wurden zusätzlich Blutgasuntersuchungen und in Einzelfällen eine Bronchoskopie und/oder Röntgenaufnahmen zur weiterführenden Diagnostik angefertigt.

6. Einteilung der Gruppen nach vollständiger Untersuchung

Anhand der vollständigen Untersuchungsergebnisse wurden die Pferde in 3 Gruppen eingeteilt (Tabelle 13):

Herzgesund (Gruppe 1), herzkrank ohne Dimensionsveränderungen (Gruppe 2) und herzkrank mit Dimensionsveränderungen (Gruppe 3). 15 Pferde wurden in Gruppe 1 eingeteilt. Die Gruppe 2 bestand aus insgesamt 20 Pferden und Gruppe 3 aus 17 Pferden:

Tabelle 13: Mittelwerte und Standardabweichungen der Stammdaten der Pferde in den einzelnen Gruppen

Gruppen	Anzahl	Alter (Jahre)	Größe (cm)	Gewicht (Kg)	S	W	H	HF/min
1	15	14,3 ± 7,1	160,8 ± 10,8	515,9 ± 88,7	9	5	1	38,7 ± 6,3
2	20	15,8 ± 7,6	162,2 ± 7,4	507,3 ± 69,3	7	15	0	36,9 ± 5,5
3	17	17,6 ± 7,7	164,5 ± 8,6	544,5 ± 77,2	4	11	2	41,2 ± 12,3

Legende: S= Stute, W=Wallach, H=Hengst, HF= Herzfrequenz, Gruppe 1=herzgesund, Gruppe 2=herzkrank ohne Dimensionsveränderungen, Gruppe 3=herzkrank mit Dimensionsveränderungen

7. Belastung der Pferde

Insgesamt konnten 37 Pferde belastet werden. Bei 17 Pferden war eine Belastung aus verschiedenen Gründen nicht möglich.

Tabelle 14 zeigt, wie lange die Pferde in den einzelnen Gruppen im Mittel belastet wurden und welche Herzfrequenzen im Mittel direkt nach Belastung gemessen wurden:

Tabelle 14: Mittlere Belastungszeit (min) der Pferde in den 3 Gangarten und Herzfrequenz nach Belastung (HF n.B)

Gruppe	Schritt (min)	Trab (min)	Galopp (min)	HF n.B./min
1	5,9 ± 2	12,7 ± 2,6	5 ± 0	98 ± 46
2	5,1 ± 1,5	12 ± 2,5	5 ± 0	76 ± 13
3	5,8 ± 1,9	10,2 ± 4	5 ± 0	55 ± 6

Legende: Gruppe 1=herzgesund, Gruppe 2=herzkrank ohne Dimensionsveränderungen, Gruppe 3=herzkrank mit Dimensionsveränderungen

8. Ergebnisse der CpANG-II Bestimmung

Es konnte keine signifikante Korrelation zwischen Alter, Gewicht, Geschlecht oder Rasse der Pferde und der Angiotensin-II-Plasmakonzentration in Ruhe (CpANG-II_R) bzw. der Angiotensin-II-Plasmakonzentration nach Belastung (CpANG-II_B) festgestellt werden.

Auch zwischen der Art der Klappeninsuffizienz bzw. dem Auftreten von Vorhofflimmern (VF) und der CpANG-II gab es keine Korrelation.

Die echokardiographisch gemessenen Herzdimensionen korrelierten in keiner Gruppe mit der CpANG-II. Auch die Lokalisation der Dimensionsveränderungen in Gruppe 3 hatte keinen Einfluss auf die CpANG-II.

Die mittlere CpANG-II_R betrug in Gruppe 1 21,81 (± 52,64) ng/ml. Die mittlere CpANG-II_B betrug 57,15 (± 134,76) ng/ml. Der Unterschied zwischen Ruhe- und Belastungswert war statistisch nicht signifikant. In der Gruppe 2 konnte eine mittlere CpANG-II_R von 17,27 (± 34,7) ng/ml und eine mittlere CpANG-II_B von 19,6 (± 42,12) ng/ml gemessen werden. Auch

in dieser Gruppe war der Unterschied zwischen Ruhe- und Belastungswerten statistisch nicht signifikant. In Gruppe 3 lag die mittlere CpANG-II in Ruhe bei 13,0 (\pm 30,5) ng/ml und der nach Belastung gemessenen Werte bei 10,79 (\pm 14,83) ng/ml. Der Unterschied war auch hier statistisch nicht signifikant.

Für die Differenzen vor und nach Belastung konnte zwischen den Gruppen 1, 2 und 3 kein statistisch signifikanter Unterschied festgestellt werden.

Der Trainingszustand hatte ebenfalls keinen Einfluss auf die CpANG-II. Tabelle 15 zeigt die Ergebnisse der CpANG-II-Bestimmung in den einzelnen Gruppen:

Tabelle 15: Mittelwert und Standardabweichung der Angiotensin-II-Plasmakonzentration

Gruppe	Mittelwert ANG-II _R (ng/ml)	Median ANG-II _R (ng/ml)	Mittelwert ANG-II _B (ng/ml)	Median ANG-II _B (ng/ml)
1	21,81 \pm 52,64	2,3 (0,1-309,8)	57,15 \pm 134,76	3,3 (0,1-864,4)
2	17,27 \pm 34,7	5,5 (0,1-292,2)	19,6 \pm 42,12	5,4 (0,1-318,8)
3	13,0 \pm 30,5	1,9 (0,1-236,3)	10,79 \pm 14,83	3,6 (0,1-73,4)

Legende: CpANG-II_R=Plasmakonzentration von Angiotensin-II in Ruhe, CpANG-II_B=Plasmakonzentration von Angiotensin-II nach Belastung, Gruppe 1=herzgesund, Gruppe 2=herzkrank ohne Dimensionsveränderungen, Gruppe 3=herzkrank mit Dimensionsveränderungen

9. Ergebnisse der CpALD Bestimmung

Zwischen der CpALD_R, bzw. der CpALD_B und dem Gewicht, dem Geschlecht, dem Alter sowie der Rasse der Pferde in Gruppe 1 bestand kein Zusammenhang.

Die Art der Klappeninsuffizienz bzw. das Auftreten von VF korrelierte in keiner Gruppe mit der CpALD. Auch die echokardiographisch gemessenen Herzdimensionen korrelierten in keiner Gruppe mit der CpALD.

Der Trainingszustand hatte keinen Einfluss auf die CpALD in den 3 Gruppen.

In den Gruppen 1 und 2 waren die in Ruhe gemessenen Werte geringer als die nach Belastung gemessenen Werte. So wurde in der Gruppe 1 eine mittlere CpALD_R von 215,4 (\pm 240,6)

pg/ml und eine mittlere CpALD_B von 426,8 (± 374,3) gemessen. In Gruppe 2 betrug die mittlere CpALD_R 359,0 (±383,3) pg/ml und die mittlere CpALD_B 471,9 (± 416,2) pg/ml.

In Gruppe 3 war die mittlere CpALD_R mit 367,6 (± 400,6) pg/ml geringer als der nach Belastung gemessene Wert mit 322,8 (± 346,9) pg/ml.

Die Unterschiede zwischen der mittleren CpALD_R und CpALD_B waren innerhalb der Gruppen 2 und 3 statistisch nicht signifikant. Anders war es in Gruppe 1. Hier war die CpALD_B signifikant höher (p= 0,039) als die CpALD_R (Abbildung 16).

Für die Differenzen zwischen CpALD_B und CpALD_R konnte im Vergleich zwischen den 3 Gruppen kein statistisch signifikanter Unterschied festgestellt werden.

Tabelle 16 zeigt die Ergebnisse der CpALD-Bestimmung in den einzelnen Gruppen im Überblick:

Tabelle 16: Mittelwert mit Standardabweichung und Median der ALD Plasmakonzentration in Ruhe und nach Belastung in den einzelnen Gruppen.

Gruppe	Mittelwert	Median	Mittelwert	Median
	CpALD _R (pg/ml)	CpALD _R (pg/ml)	CpALD _B (pg/ml)	CpALD _B (pg/ml)
1	215,4 ± 240,6	129,9 (51,6-1000)	426,8 ± 374,3	284,7 (48,3-1000)
2	359,0 ± 383,3	137,9 (39,5-1000)	471,9 ± 416,2	295 (36-1000)
3	367,6 ± 400,6	134,8 (0,1-1000)	322,8 ± 346,9	196 (0,1-1000)

Legende: CpALD_R= Aldosteron-Plasmakonzentration in Ruhe, CpALD_B= Aldosteron-Plasmakonzentration nach Belastung, Gruppe 1=herzgesund, Gruppe 2=herzkrank ohne Dimensionsveränderungen, Gruppe 3=herzkrank mit Dimensionsveränderungen.

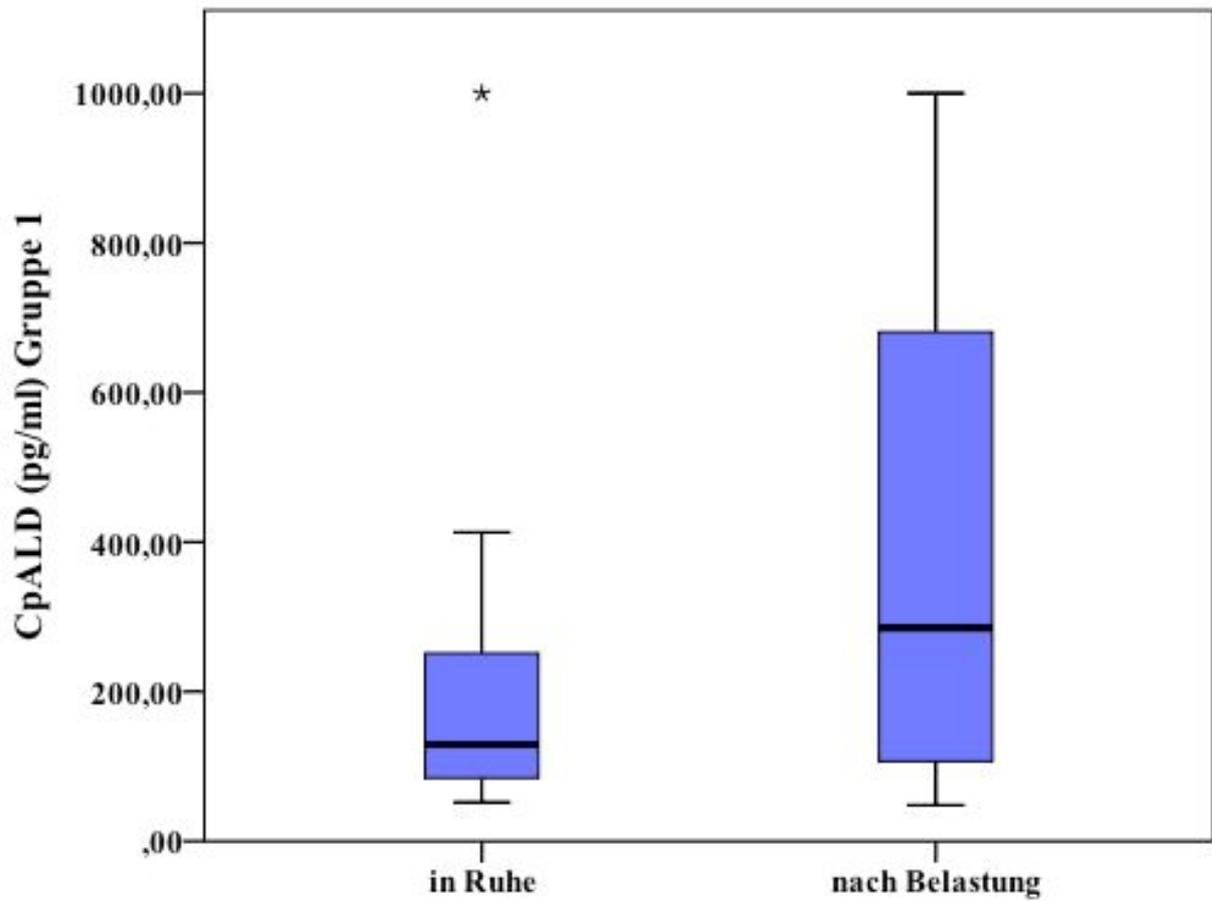


Abbildung 16: Boxplot: Signifikant geringere mittlere Aldosteron-Plasmakonzentration in Ruhe gegenüber den nach Belastung gemessenen Aldosteron Werten in Gruppe 1.
CpALD= mittlere Aldosteron-Plasmakonzentration, Gruppe 1= herzgesunde Pferde

10. Ergebnisse der CpET-1 Bestimmung

Eine signifikante positive Korrelation konnte in Gruppe 1 zwischen dem Gewicht der Pferde und der CpET-1_R ($r_s=0,592$, $p=0,026$), bzw. der CpET-1_B ($r_s=0,766$, $p=0,01$) festgestellt werden. (Abbildungen 17, 18).

In Gruppe 1 zeigte sich zudem eine positive Korrelation zwischen dem Alter der Pferde und der CpET-1 in Ruhe und nach Belastung, die jedoch nur für die nach Belastung gemessenen Werte statistisch signifikant war ($r_s=0,707$, $p=0,022$). Je höher das Alter der Pferde, desto höher waren auch die gemessenen Endothelinwerte (Abbildung 19).

Am höchsten waren die gemessenen Werte bei den > 20 jährigen Pferden, die niedrigsten Werte wurden bei den <10 jährigen Pferden gemessen.

Wurde der Einfluss des Körpergewichts auf die Herzdimensionen und die CpET-1 beachtet, konnte zwischen dem Durchmesser des LA und des LV und der CpET-1_R bzw. der CpET-1_B in Gruppe 1 zwar eine schwache positive, jedoch nicht signifikante Korrelation festgestellt werden.

Ein schwacher positiver nicht signifikanter Zusammenhang bestand in Gruppe 1 auch zwischen dem Durchmesser der PA und der CpET-1. Auch hier wurde der Einfluss des Körpergewichts auf die CpET-1 und die Herzdimensionen beachtet.

Der Durchmesser der Aorta wurde vom Alter und vom Körpergewicht der Pferde beeinflusst. Beide Faktoren beeinflussten auch die CpET-1. Unter Beachtung dieser Einflüsse zeigte sich ein positiver, jedoch nicht signifikanter Zusammenhang zwischen der CpET-1_R bzw. der CpET-1_B und dem Durchmesser der Aorta.

Kein Zusammenhang bestand zwischen Geschlecht oder Rasse der Pferde und der CpET-1 in Gruppe 1.

Auch in Gruppe 2 konnten positive, jedoch nicht signifikante Korrelationen zwischen dem Durchmesser des linken Atriums und des linken Ventrikels und der CpET-1 festgestellt werden.

Der Durchmesser der PA korrelierte in dieser Gruppe ebenfalls positiv mit der CpET-1, erreichte jedoch nur für die CpET-1_R das Signifikanzniveau ($r_s=0,683$, $p=0,007$) (Abbildung 20).

Keine Korrelation konnte in der Gruppe 2 für den Aortendurchmesser und die CpET-1 festgestellt werden.

Der Durchmesser des LA in Gruppe 3 korrelierte signifikant positiv mit der CpET-1_R ($r_s=0,622$, $p=0,23$) und der CpET-1_B ($r_s=0,769$, $p=0,009$) (Abbildungen 21, 22).

Ein schwacher, nicht signifikanter positiver Zusammenhang konnte in dieser Gruppe zwischen dem Durchmesser der PA und dem Durchmesser der Aorta und der CpET-1 festgestellt werden.

Keine Korrelation konnte dagegen zwischen dem Durchmesser des LV und der CpET-1 festgestellt werden.

Zwischen der Lokalisation der Dimensionsveränderung und der CpET-1 in Gruppe 3 bestand kein Zusammenhang.

In Gruppe 3 konnte ein signifikanter Unterschied ($p=0,038$) in der CpET-1_R bei trainierten und untrainierten Pferden festgestellt werden. Bei trainierten Pferden war die mittlere CpET-1_R mit $17,5 (\pm 8,5)$ pg/ml deutlich höher als bei untrainierten Pferden mit einer mittleren CpET-1_R von $8,27 (\pm 10,25)$ pg/ml (Abbildung 23). In den anderen Gruppen zeigte sich kein Einfluss des Trainingszustandes auf die CpET-1.

Zwischen der Art des Befundes und der CpET-1 bestand in keiner der Gruppen ein Zusammenhang.

Die CpET-1_R unterschied sich in keiner Gruppe signifikant von der CpET-1_B. Und auch für die Differenzen vor und nach Belastung konnte zwischen den Gruppen 1, 2 und 3 kein statistisch signifikanter Unterschied festgestellt werden.

Tabelle 17 zeigt die Ergebnisse der CpET-Bestimmung in den einzelnen Gruppen im Überblick:

Tabelle 17: Mittelwert und Standardabweichung der Endothelin-1-Plasmakonzentration in Ruhe und nach Belastung in den einzelnen Gruppen.

Gruppe	Mittelwert ET-1 _R (pg/ml)	Median ET-1 _R (pg/ml)	Mittelwert ET-1 _B (pg/ml)	Median ET-1 _B (pg/ml)
1	$9,09 \pm 10,26$	3,8 (1,9-25,2)	$9,18 \pm 9,0$	3,54 (1,4-25,2)
2	$12,73 \pm 10,25$	13,8 (0,25-25,2)	$13,88 \pm 11,05$	17,9 (0,8-25,2)
3	$14,23 \pm 10,46$	6,4 (0,8-25,2)	$14,86 \pm 10,84$	10,6 (0,1-25,2)

Legende: CpET-1_R=Endothelin-Plasmakonzentration in Ruhe, CpET-1_B=Endothelin-Plasmakonzentration nach Belastung, Gruppe 1=herzgesund, Gruppe 2=herzkrank ohne Dimensionsveränderungen, Gruppe 3=herzkrank mit Dimensionsveränderungen.

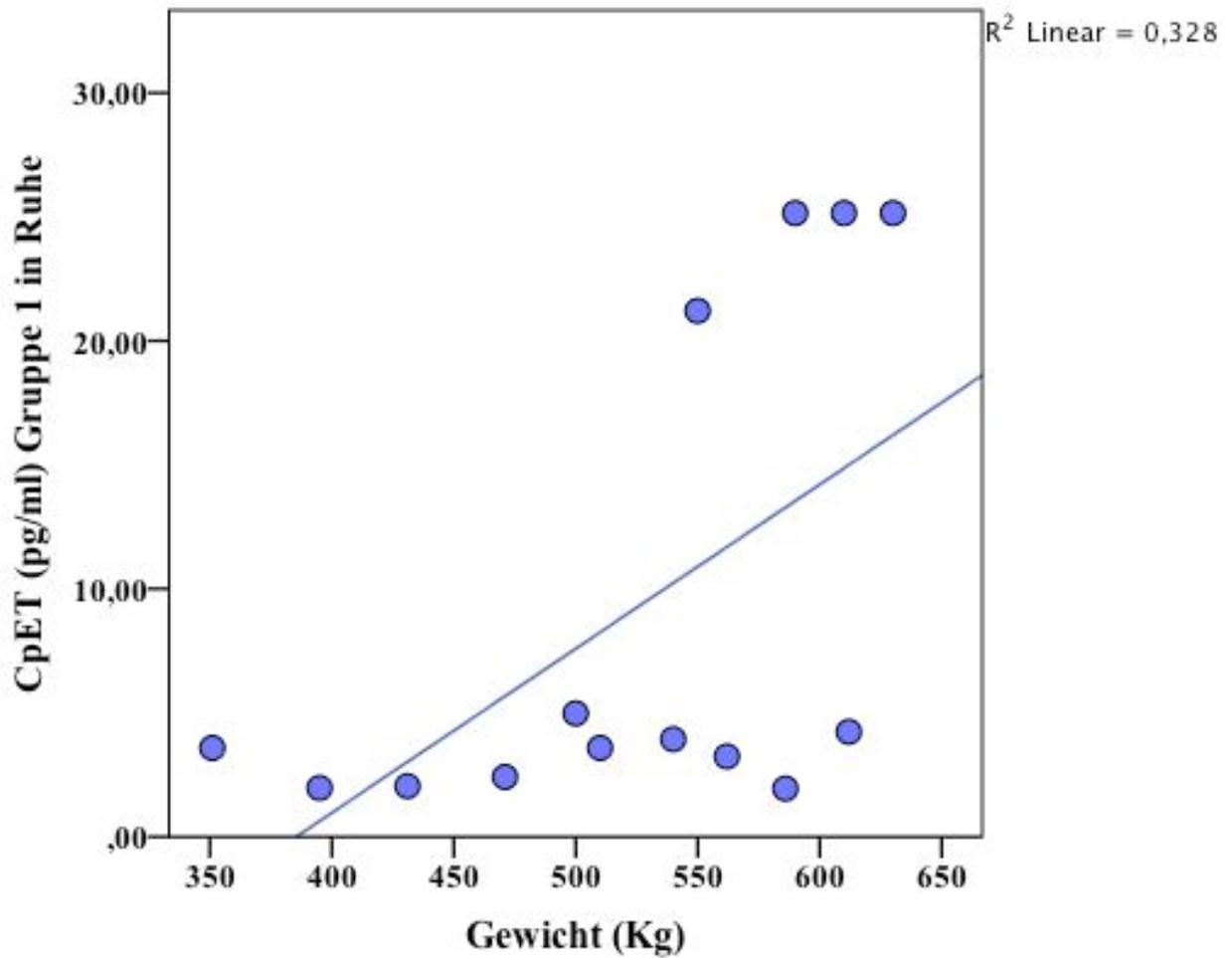


Abbildung 17: Streudiagramm: Signifikant positive Korrelation zwischen dem Gewicht der Pferde in Gruppe 1 und der Endothelin-Plasmakonzentration in Ruhe
CpET=Endothelin-Plasmakonzentration, Gruppe 1=herzgesunde Pferde, R^2 =Bestimmtheitsmaß

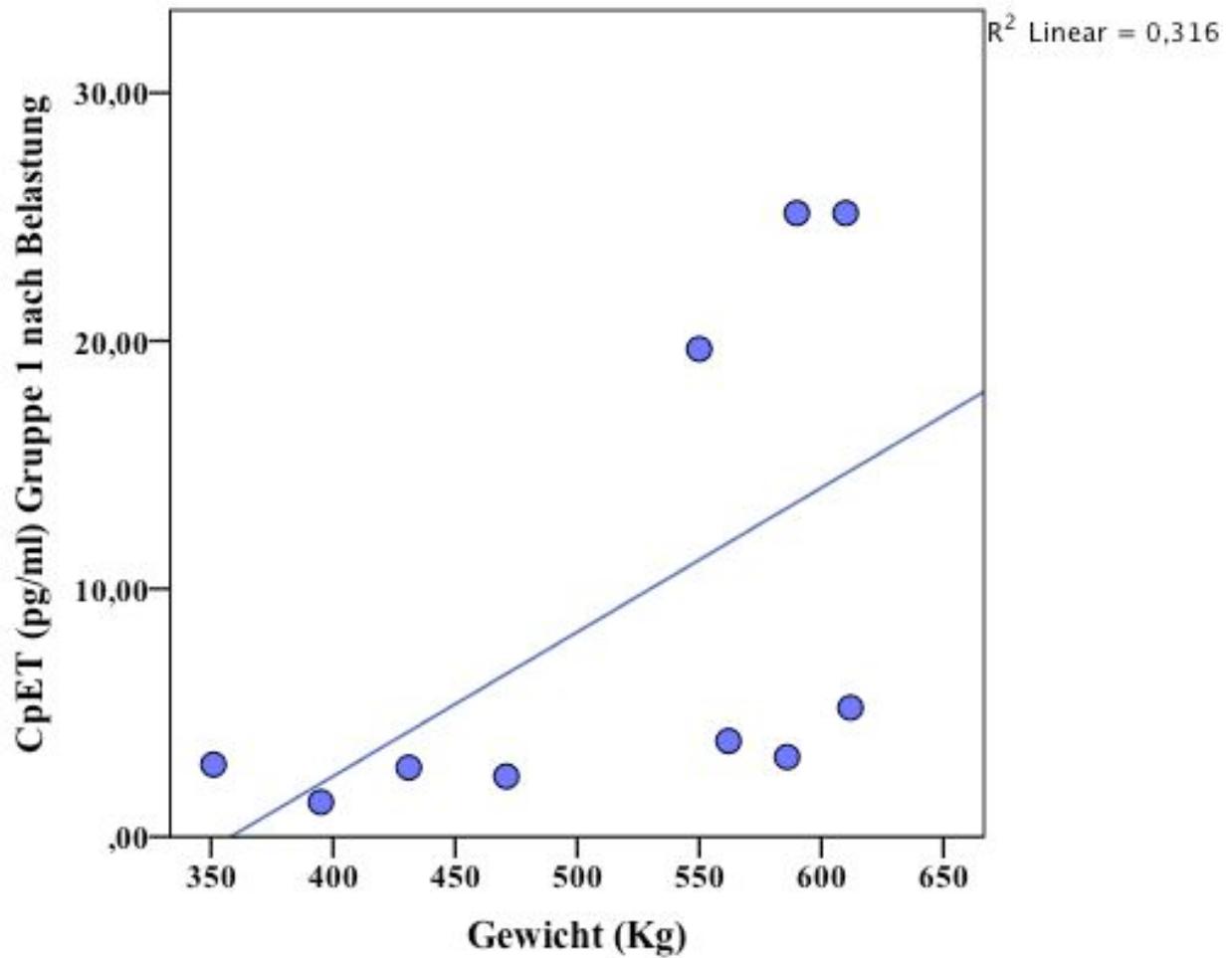


Abbildung 18: Streudiagramm: Signifikant positive Korrelation zwischen dem Gewicht der Pferde in Gruppe 1 und der Endothelin-Plasmakonzentration nach Belastung
CpET=Endothelin-Plasmakonzentration, Gruppe 1=herzgesunde Pferde, R^2 =Bestimmtheitsmaß

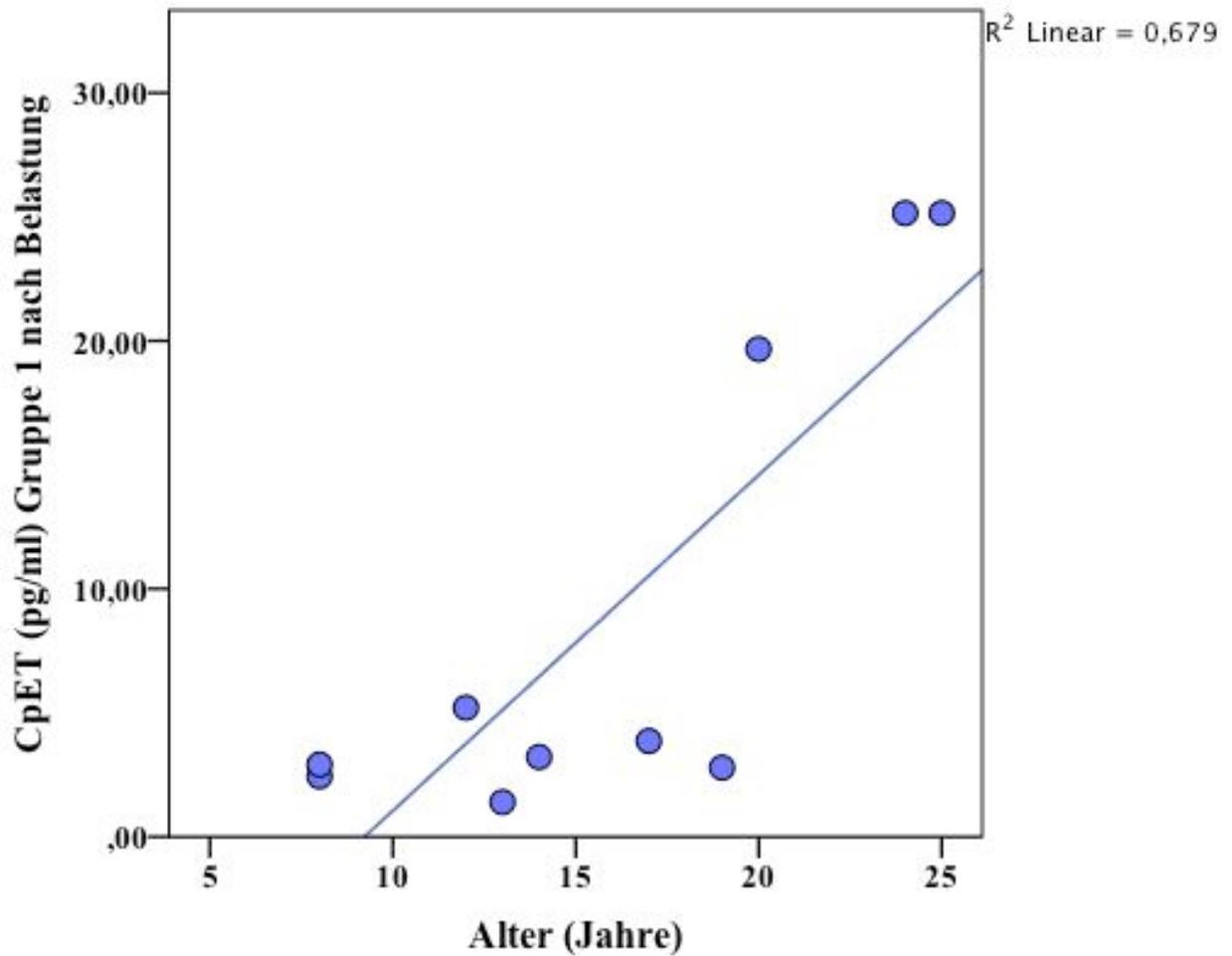


Abbildung 19: Streudiagramm: Signifikant positive Korrelation zwischen dem Alter der Pferde in Gruppe 1 und der Endothelin-1-Plasmakonzentration nach Belastung
CpET=Endothelin-Plasmakonzentration, Gruppe 1=herzgesunde Pferde, R²=Bestimmtheitsmaß

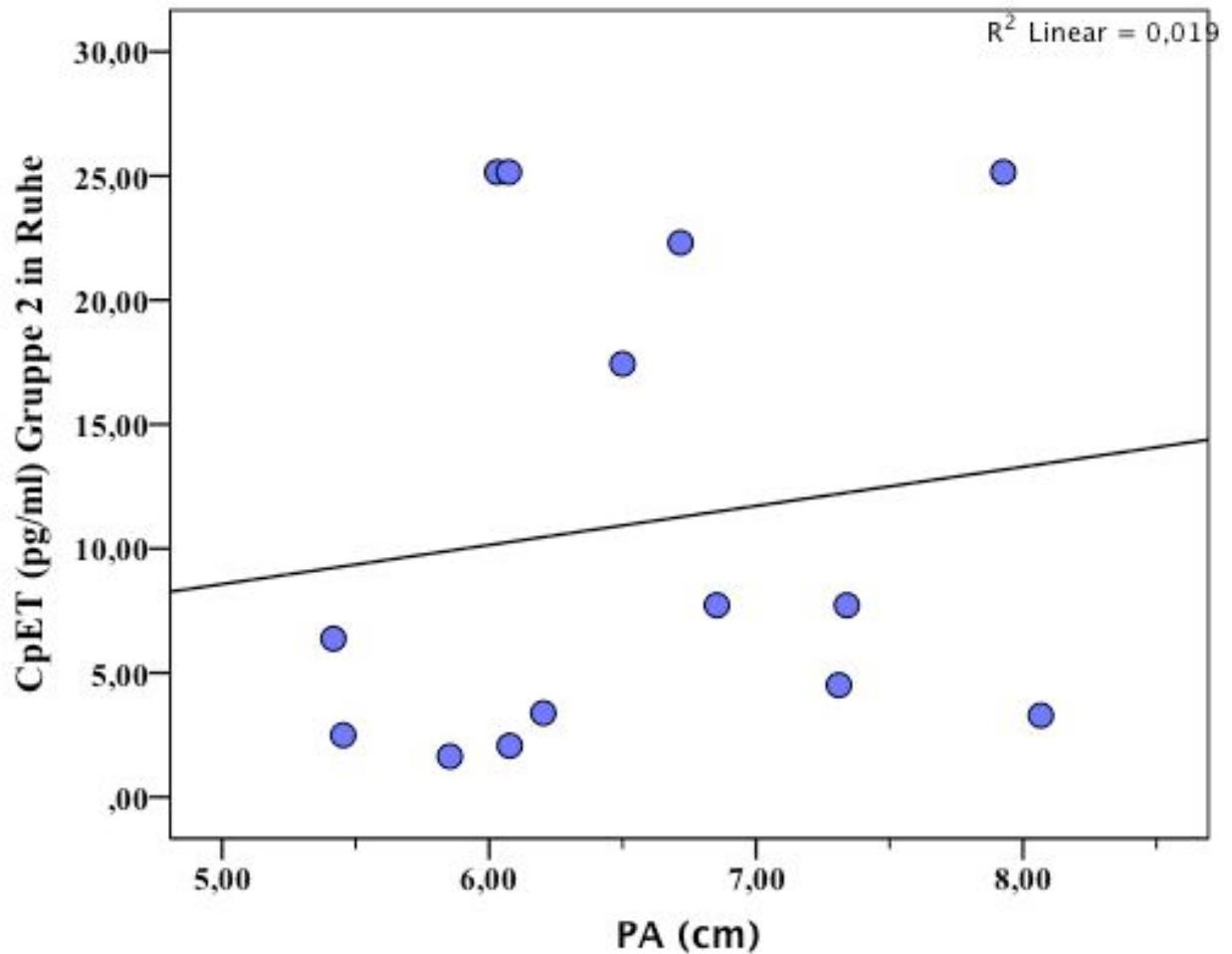


Abbildung 20: Streudiagramm: Signifikant positiver Zusammenhang zwischen dem Durchmesser der Pulmonalarterie in Gruppe 2 und der Endothelin-1-Plasmakonzentration in Ruhe
CpET=Endothelin-Plasmakonzentration, Gruppe 2= herzkrankte Pferde ohne Dimensionsveränderungen, R^2 = Bestimmtheitsmaß

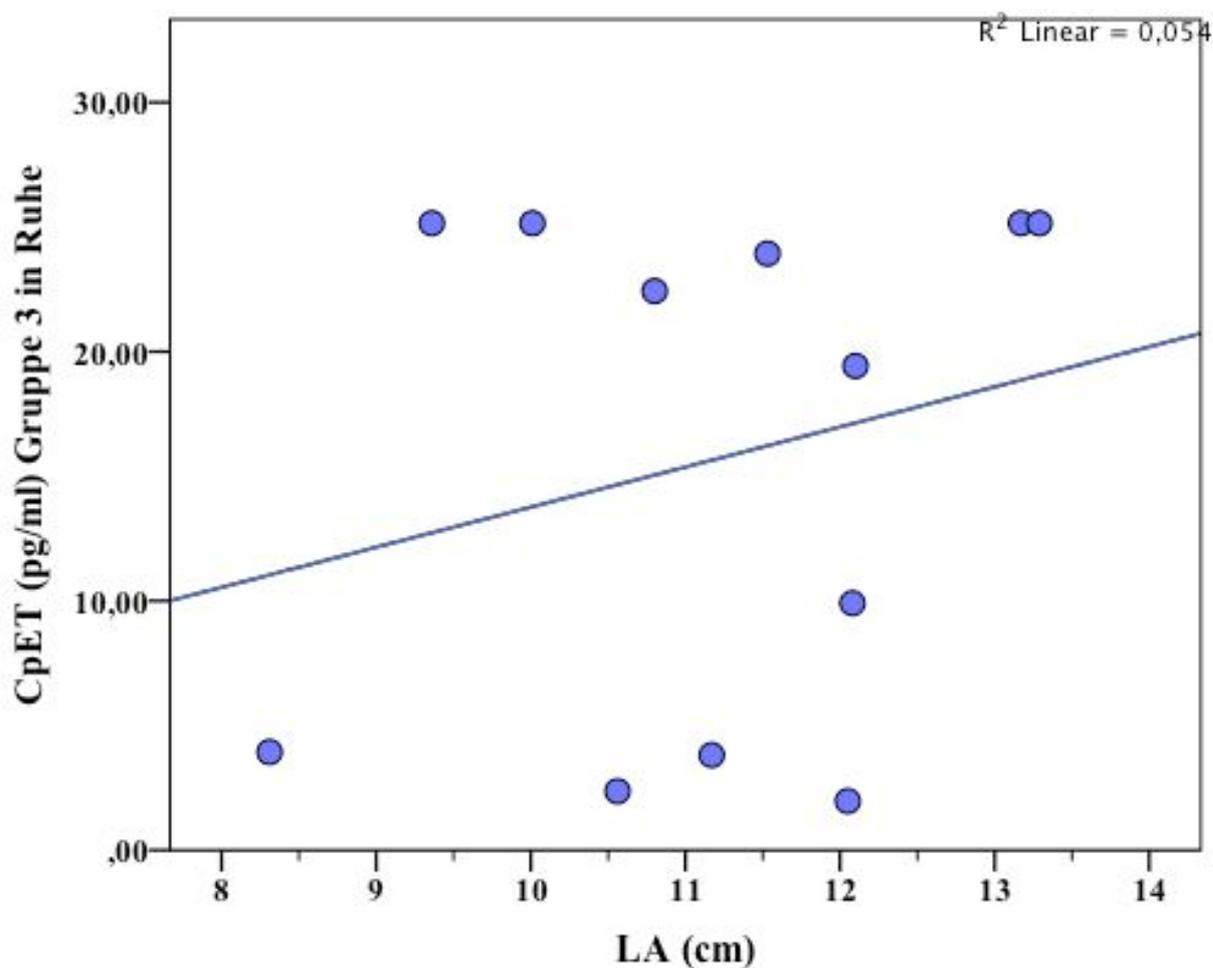


Abbildung 21: Streudiagramm: Signifikante Korrelation zwischen der Größe des linken Atriums der Pferde in Gruppe 3 und der Endothelin-1-Plasmakonzentration in Ruhe
CpET=Endothelin-Plasmakonzentration, LA=linkes Atrium, Gruppe 3=herzkranken Pferde mit Dimensionsveränderungen, R^2 =Bestimmtheitsmaß

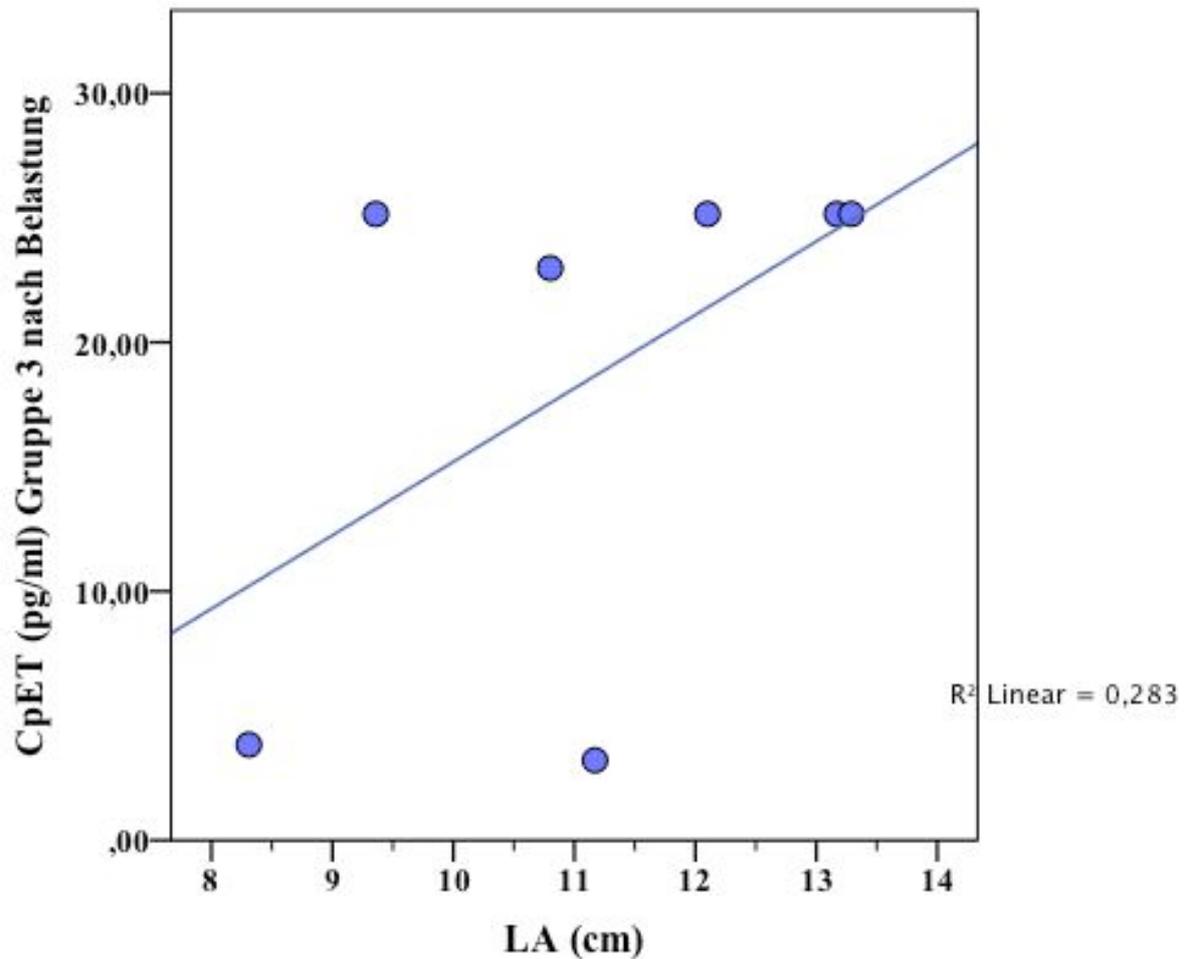


Abbildung 22: Streudiagramm: Signifikant positive Korrelation zwischen der Größe des linken Atriums (cm) der Pferde in Gruppe 3 und der Endothelin-1-Plasmakonzentration nach Belastung CpET=Endothelin-Plasmakonzentration, LA=linkes Atrium, Gruppe 3=herzkranke Pferde mit Dimensionsveränderungen, R^2 =Bestimmtheitsmaß

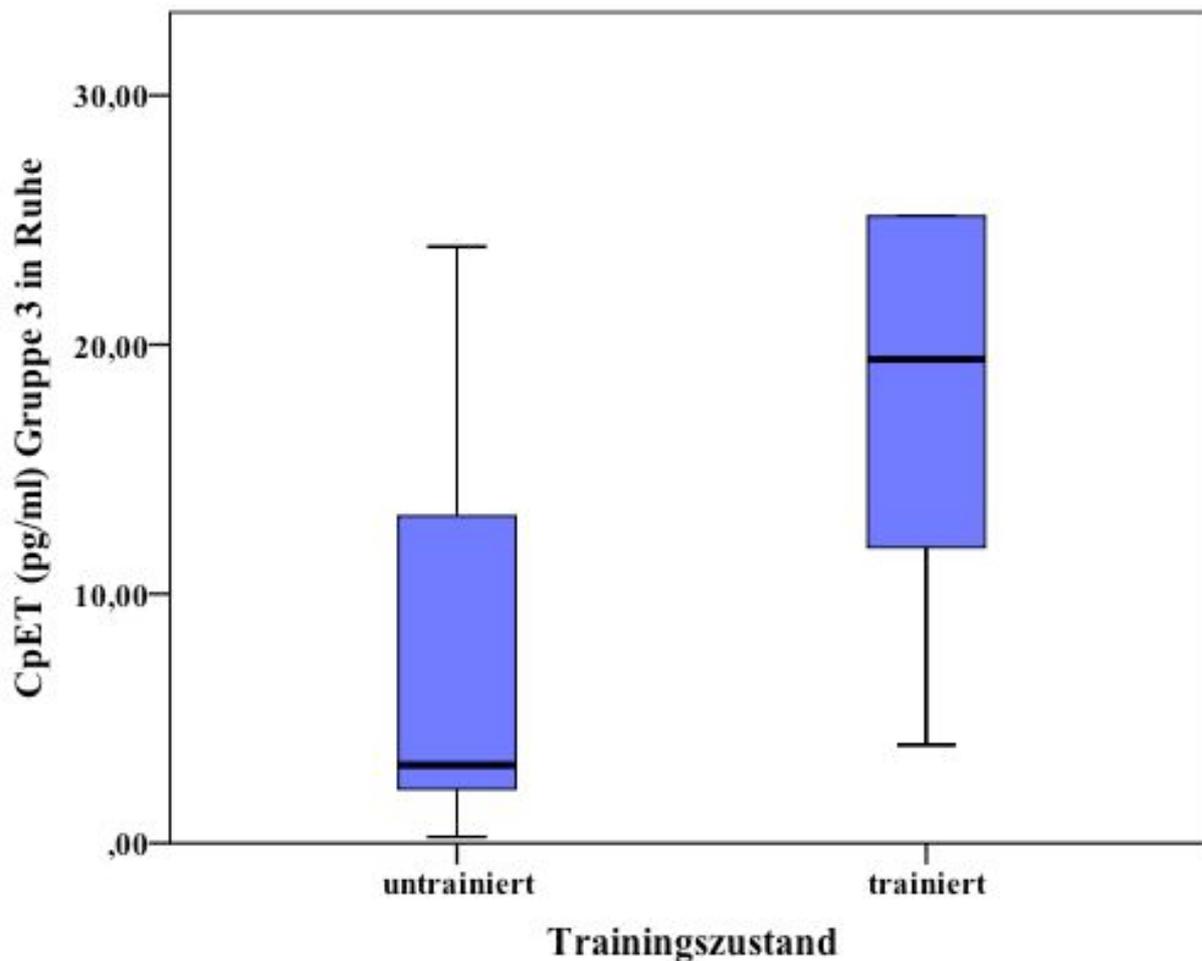


Abbildung 23: Boxplot: Signifikanter Unterschied in der Endothelin-1 Plasmakonzentration zwischen trainierten und untrainierten Pferden in Ruhe in Gruppe 3
CpET= Endothelin-Plasmakonzentration, Gruppe 3=herzkranke Pferde ohne Dimensionsveränderungen

11. Ergebnisse der CpANP Bestimmung

Es konnte kein Zusammenhang zwischen Alter, Gewicht, Geschlecht oder Rasse der Pferde und der CpANP_R bzw. der CpANP_B festgestellt werden.

Eine signifikant positive Korrelation bestand in Gruppe 1 zwischen der CpANP und dem Durchmesser des LV ($r_s=0,900$, $p=0,001$) (Abbildung 26). Zwischen allen anderen Dimensionmessungen und der CpANP bestand in keiner der Gruppen ein Zusammenhang. Auch zwischen der Art des Befundes in Gruppe 2 und 3 und der Lokalisation der Dimensionsveränderung in Gruppe 3 und der CpANP gab es keine Korrelation. Der Trainingszustand hatte ebenfalls keinen Einfluss auf die CpANP in den drei Gruppen.

In Gruppe 1 wurde eine CpANP_R von $76,3 \pm 53,8$ pg/ml und eine CpANP_B von $67,1 \pm 43,0$ pg/ml gemessen. In Gruppe 2 wurden $21,0 \pm 52,3$ pg/ml in Ruhe und $4,5 \pm 10,4$ pg/ml nach Belastung gemessen. In Gruppe 3 wurde eine CpANP_R von $14,9 \pm 50,7$ pg/ml und eine CpANP_B von $8,6 \pm 25,7$ pg/ml gemessen. Sowohl die in Ruhe als auch die nach Belastung gemessenen Werte waren in Gruppe 2 signifikant geringer als die Werte in Gruppe 1 ($p=0,015$ für CpANP_R und $p=0,014$ für CpANP_B), ebenso in Gruppe 3 ($p=0,07$ für CpANP_R und $p=0,037$ für CpANP_B) (Abbildung 24, 25).

Innerhalb der Gruppen 1, 2 und 3 konnte kein signifikanter Unterschied zwischen CpANP_R und CpANP_B festgestellt werden. Auch die Differenzen zwischen CpANP_B und CpANP_R unterschieden sich im Gruppenvergleich nicht signifikant. Tabelle 18 zeigt die Ergebnisse der CpANP-Bestimmung in den einzelnen Gruppen im Überblick:

Tabelle 18: Mittelwert mit Standardabweichung und Median der ANP-Plasmakonzentration in Ruhe und nach Belastung in den einzelnen Gruppen

Gruppe	Mittelwert	Median	Mittelwert	Median
	CpANP _R (pg/ml)	CpANP _R (pg/ml)	CpANP _B (pg/ml)	CpANP _B (pg/ml)
1	$76,3 \pm 53,8$	75,82 (0,4-161,1)	$67,1 \pm 43,0$	85,3 (0,2-108,9)
2	$21,0 \pm 52,3$	0,28 (0,1-183,7)	$4,5 \pm 10,4$	0,6 (0,01-97,2)
3	$14,9 \pm 50,7$	0,66 (0,01-209,1)	$8,6 \pm 25,7$	0,72 (0,08-30,3)

Legende: CpANP_R=ANP-Plasmakonzentration in Ruhe, CpANP_B=ANP-Plasmakonzentration nach Belastung, Gruppe 1=herzgesund, Gruppe 2=herzkrank ohne Dimensionsveränderungen, Gruppe 3=herzkrank mit Dimensionsveränderungen

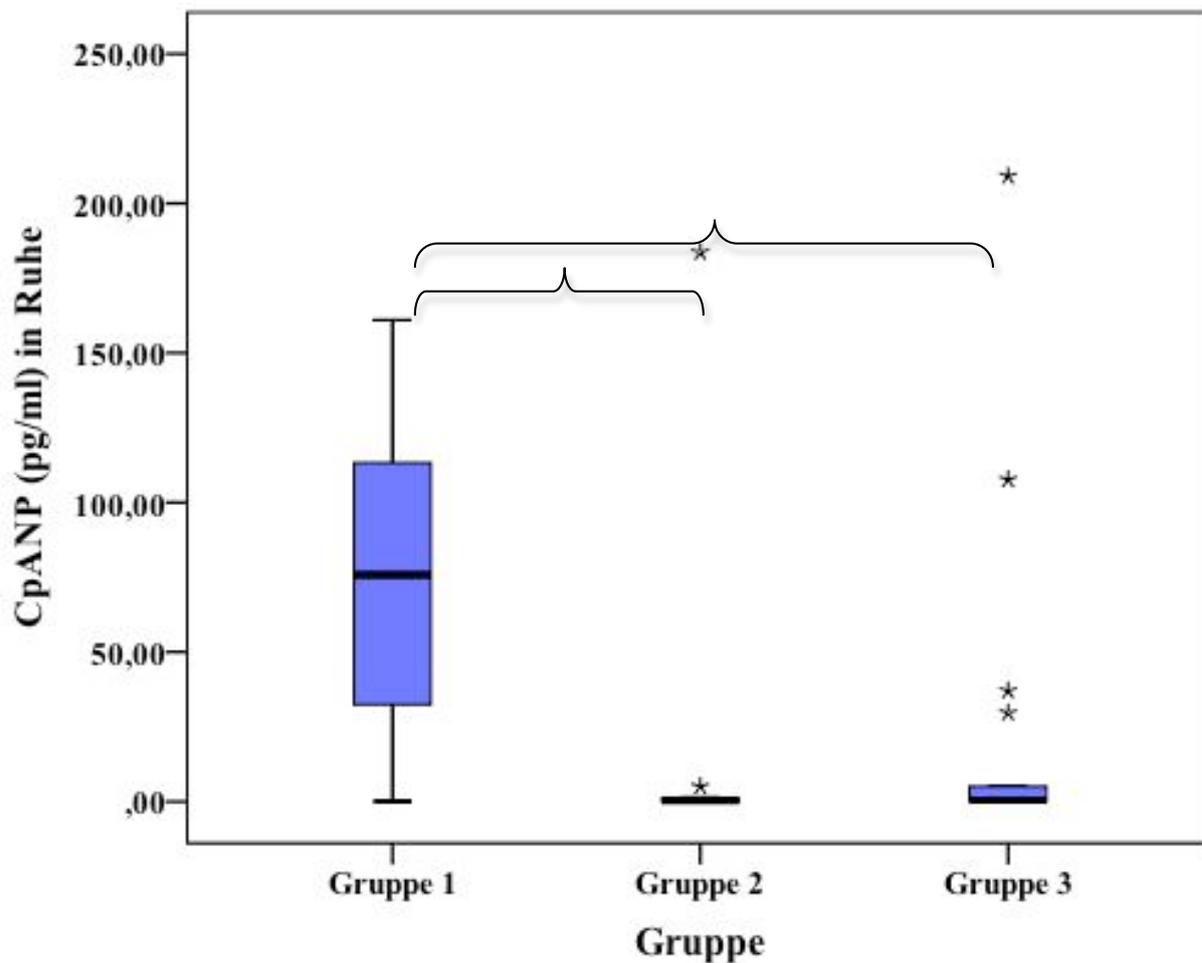


Abbildung 24: Boxplot: Signifikant höhere ANP Plasmakonzentration der Gruppe 1 in Ruhe gegenüber den Gruppen 2 und 3

Geschweifte Klammer= signifikanter Unterschied, CpANP=ANP-Plasmakonzentration, Gruppe 1=herzgesunde Pferde, Gruppe 2= herzkranken Pferde ohne Dimensionsveränderungen, Gruppe 3= herzkranken Pferde mit Dimensionsveränderungen

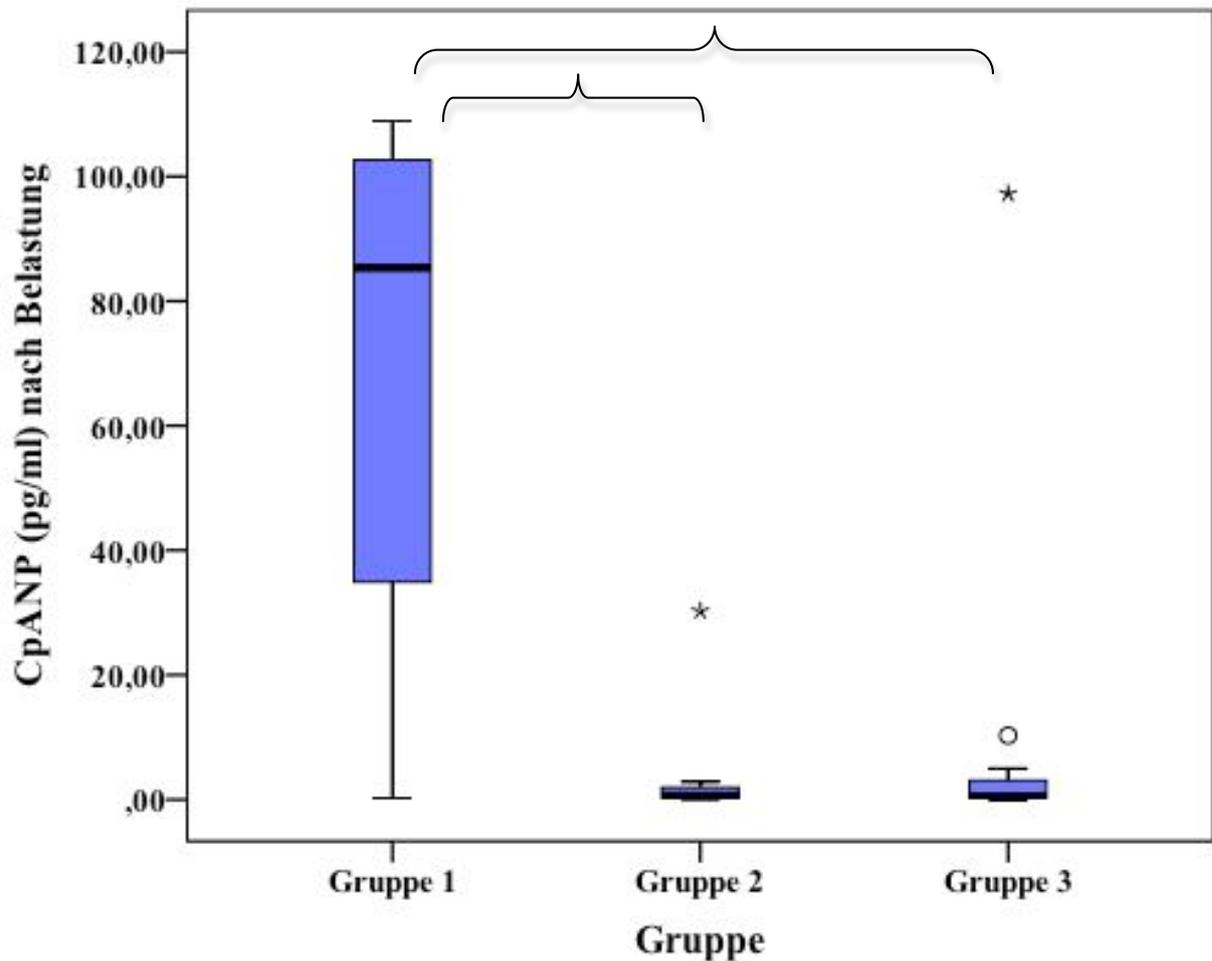


Abbildung 25: Boxplot: Signifikant höhere ANP Plasmakonzentration in Gruppe 1 nach Belastung gegenüber den Gruppen 2 und 3

Geschweifte Klammer= signifikanter Unterschied, CpANP=ANP-Plasmakonzentration, Gruppe 1=herzgesunde Pferde, Gruppe 2= herzkranken Pferde ohne Dimensionsveränderungen, Gruppe 3= herzkranken Pferde mit Dimensionsveränderungen

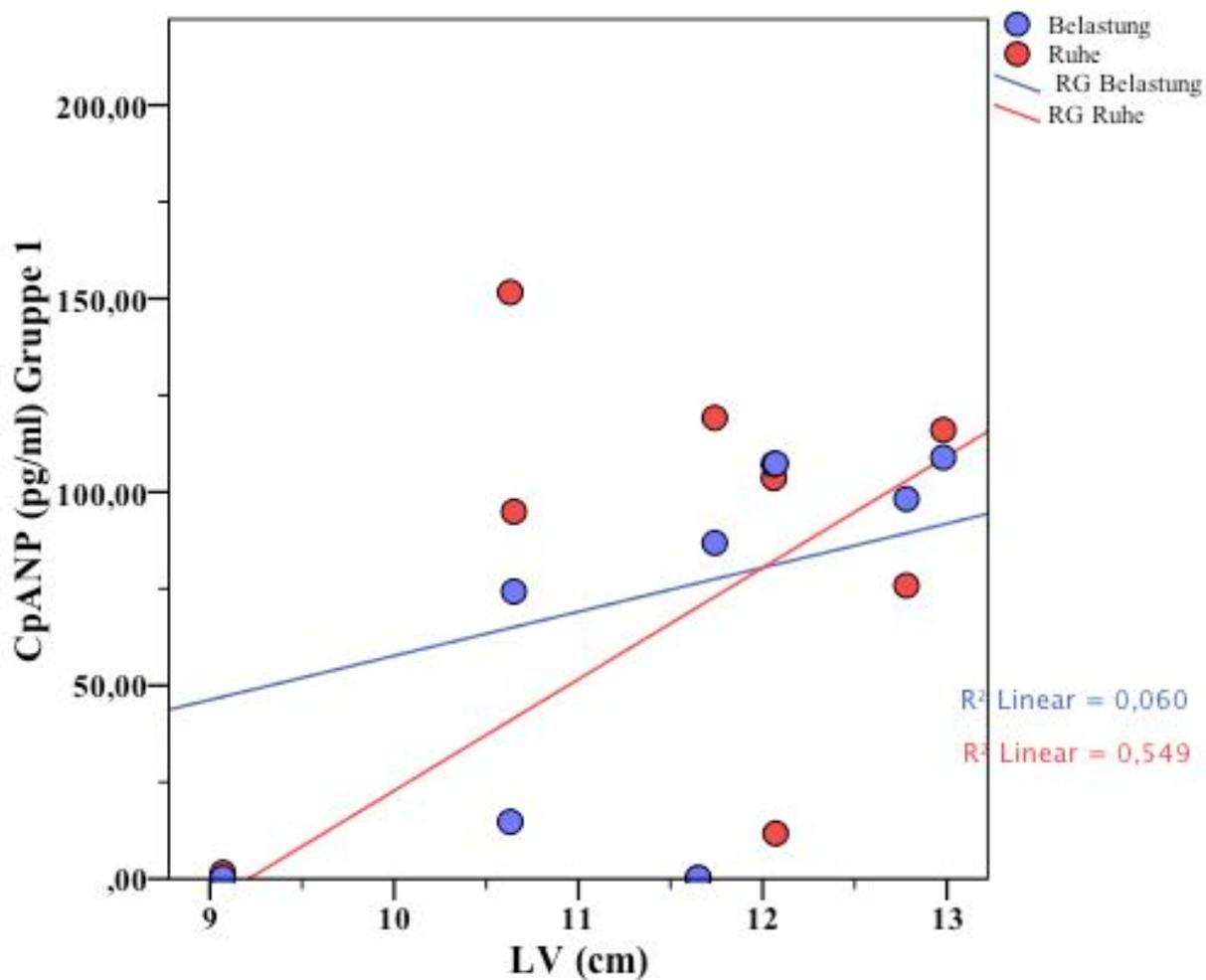


Abbildung 26: Streudiagramm: Signifikant positive Korrelation zwischen der ANP Plasmakonzentration in Gruppe 1 in Ruhe bzw. nach Belastung und den echokardiographisch gemessenen Dimensionen des linken Ventrikels
 CpANP=ANP-Plasmakonzentration, LV= Durchmesser des linken Ventrikels, R^2 =Bestimmtheitsmaß, RG=Regressionsgerade

VI. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

In dieser Studie sollte untersucht werden, inwieweit die kardialen Biomarker ANG-II, ALD, ET-1 und ANP bei Pferden messbar und zur Erweiterung des kardialen Diagnostikspektrums geeignet sind.

1. Diskussion des Probandenguts und der Gruppeneinteilung

Bei der Untersuchung der Pferde fiel auf, dass bei nur 28 von 36 Pferden (66,7 %) mit pathologischen Klappeninsuffizienzen ein Herzgeräusch auskultierbar war. Dies zeigt übereinstimmend mit den Aussagen anderer Autoren (GEHLEN 2010; PATTESON and BLISSIT 1996), dass eine Herzerkrankung nur mit Hilfe der Echokardiographie sicher ausgeschlossen werden kann und unterstreicht die Notwendigkeit der Entwicklung einer neuen, einfachen diagnostischen Methode zur frühen Erkennung und Schweregradbeurteilung von Herzerkrankungen bei Pferden.

Die Aortenklappeninsuffizienz ist die häufigste Erkrankung bei mittelalten bis alten Pferden (BISHOP, et al. 1966; REEF und SPENCER 1987). Das mittlere Alter der herzkranken Pferde in der vorliegenden Untersuchung war mit $15,8 \pm 7,6$ Jahren in Gruppe 2 und $17,6 \pm 7,7$ Jahren in Gruppe 3 vergleichsweise hoch. Entsprechend wurde als häufigste Herzerkrankung eine AVI entweder solitär (13 Pferde) oder in Kombination mit einer MVI (7 Pferde) diagnostiziert. In den meisten vergleichbaren Studien bestand das Patientengut überwiegend aus jüngeren Pferden, und als Kontrolltiere wurden ausschließlich jüngere Pferde herangezogen. So lag das mittlere Alter der herzkranken Pferde in den Untersuchungen von GEHLEN und Mitarbeitern bei $9,7 \pm 3,8$ bzw. 10 ± 4 , das der Kontrollpferde bei $9 \pm 0,8$ bzw. $9 \pm 0,5$ Jahren (GEHLEN, et al. 2007b; 2008). Entsprechend des Alters wurden in diesen Untersuchungen am häufigsten Mitralklappeninsuffizienzen diagnostiziert. Auch bei VAN DER VEKENS und Mitarbeitern war das mittlere Alter der herzkranken Pferde mit $13,7 \pm 5,2$ bzw. $13,7 \pm 5,2$ Jahren und der Kontrollpferde mit $7,9 \pm 5,2$ Jahren geringer als in der vorliegenden Studie (VAN DER VEKENS, et al. 2013). Aufgrund des vergleichsweise hohen Alters der Studienpopulation in der vorliegenden Studie traten vermehrt Begleiterkrankungen wie Arthropathien auf, die die Ergebnisse der Untersuchung beeinflusst haben könnten (siehe unten).

Ähnlich wie bei TRACHSEL und Mitarbeitern und im Gegensatz zu VAN DER VEKENS sowie zu GEHLEN und Mitarbeitern, die nur Warmblüter einbezogen, war das Patientengut der vorliegenden Studie bezüglich Rasse, Gewicht und auch Geschlecht relativ inhomogen (GEHLEN, et al. 2007b; 2008; TRACHSEL, et al. 2011; VAN DER VEKENS, et al. 2013).

Große Gewichtsunterschiede erschweren die Vergleichbarkeit der echokardiographischen Messungen, denn zwischen Gewicht und echokardiographisch gemessenen Herzdimensionen besteht über einem weitgefassten Gewichtsbereich ein linearer Zusammenhang (SLATER und HERRTAGE 1995b). Auch in der vorliegenden Studie zeigte sich ein linearer Zusammenhang zwischen linksventrikulären und linksatrialen Herzdimensionen (Sowohl im M-Mode als auch im 2-DMode) und Körpergewicht.

Um dieses Problem zu beheben und eine bessere Vergleichbarkeit zu gewährleisten, verwendeten TRACHSEL und Mitarbeiter die Methode der allometrischen Skalierung nach CORNELL und Mitarbeitern. Die Messwerte wurden dabei an ein Körpergewicht von 500 kg angepasst (CORNELL, et al. 2004; TRACHSEL, et al. 2011).

Aber nicht nur das Körpergewicht, sondern auch die Rasse und der Trainingszustand beeinflussen die echokardiographischen Messungen (GEHLEN, et al. 2007a; 2005) und erschweren die Vergleichbarkeit.

Die in der vorliegenden Arbeit vorgenommene Einteilung in die Gruppen herzgesund (Gruppe 1), herzkrank ohne Dimensionsveränderungen (Gruppe 2) und herzkrank mit Dimensionsveränderungen (Gruppe 3), muss daher vorsichtig betrachtet werden. Um sicher zu gehen, dass alle Pferde korrekt eingeteilt wurden, wurden zusätzlich zu den oben angegebenen Referenzwerten entsprechende Referenzwerte für die echokardiographischen Messungen einzelner Rassen herangezogen. Solche Referenzwerte sind neben Warmblütern auch für Vollblüter (PATTESON, et al. 1995a) und für Ponys (SLATER und HERRTAGE 1995a) bekannt.

Betrachtet man den direkten Einfluss der Variablen Rasse, Geschlecht und Gewicht auf die Parameter CpANG-II, CpALD, CpET-1 und CpANP in der vorliegenden Untersuchung, so zeigte sich aber, dass weder die Rasse, noch das Geschlecht einen signifikanten Einfluss auf die Blutparameter hatten. Auch beim Gewicht konnte lediglich ein signifikanter Einfluss auf die CpET, jedoch nicht auf die anderen Parameter beobachtet werden.

Anders als in den Untersuchungen von GEHLEN und Mitarbeitern, sowie von TRACHSEL und Mitarbeitern (GEHLEN, et al. 2007b; 2008; TRACHSEL, et al. 2011), die ausschließlich herzkranken Pferde mit linksatrialer oder linksventrikulärer Dilatation und/oder Dysfunktion in

ihre Studienpopulationen einbezogen, wurden in die vorliegende Studie auch herzkranken Pferde mit rechtsatrialer und/oder rechtsventrikulärer Dilatation miteinbezogen, da eine neurohumorale Aktivierung grundsätzlich auch bei isolierter Rechtsherzinsuffizienz stattfinden kann (NOOTENS, et al. 1995).

Kritisch betrachtet werden muss die Einbeziehung von Pferden in das Patientengut, die neben der Herzerkrankung an weiteren Erkrankungen litten. Dies waren im einzelnen Lungenerkrankungen, orthopädische Erkrankungen und Hauterkrankungen.

Da in die vorliegende Untersuchung nur Patienten einbezogen wurden, die in der Klinik wegen Leistungsinsuffizienz vorgestellt wurden, konnten in die Kontrollgruppe (Gruppe 1) nicht ausschließlich gesunde Tiere eingeteilt werden, sondern lediglich Tiere, bei denen eine Herzerkrankung ausgeschlossen werden konnte. Eines der 15 Pferde in Gruppe 1 litt an einer Lungenerkrankung, und 9 Pferde hatten orthopädische Erkrankungen.

Ebenso konnten in die Gruppen 2 und 3 nicht ausschließlich herzkranken Pferde eingeteilt werden. 6 herzkranken Pferde hatten zusätzlich Lungenerkrankungen, 3 Pferde litten an einer Hauterkrankung. Dies muss kritisch betrachtet werden, denn es kann nicht ausgeschlossen werden, dass diese Erkrankungen einen oder mehrere Blutparameter beeinflusst haben. So ist bekannt, dass chronische Lungenerkrankungen bei Pferden zu erhöhten ET-1 Werten im Plasma führen (BENAMOU, et al. 1998; COSTA, et al. 2009). In der vorliegenden Studie konnte für die Gruppe 2 eine signifikante Korrelation der CpET_R-1 und des Durchmessers der PA festgestellt werden ($r=0,683$, $p=0,007$). Außerdem konnte bei Betrachtung der gesamten Studienpopulation ein schwach positiver Zusammenhang zwischen dem echokardiographisch gemessenen Durchmesser der PA und den ET-1 Werten in Ruhe ($p=0,011$, $r=0,40$) und nach Belastung ($p=0,017$, $r=0,46$) festgestellt werden.

Die echokardiographische Bestimmung des Pulmonalarteriendurchmessers gibt beim Pferd wie beim Menschen Hinweise auf einen erhöhten Pulmonalarteriendruck (REEF, et al. 1998). Bei Pferden mit RAO steigt der Pulmonalarteriendruck, und durch akute pulmonale Obstruktion kann es zur Vergrößerung des Durchmessers der Arteria pulmonalis kommen (JOHANSSON, et al. 2007). Aber auch bei Pferden mit hgr. MVI ist der Pulmonalarteriendruck erhöht, und der Durchmesser der Arteria pulmonalis kann vergrößert sein (REEF, et al. 1998). Bei genauer Betrachtung der Ergebnisse wurde deutlich, dass in Gruppe 3 der Durchmesser der Pulmonalarterie im Allgemeinen größer war als in Gruppe 2. Der Unterschied erwies sich als statistisch signifikant ($p=0,02$). Dies könnte auf die höhere Zahl an Pferden mit

hgr. MVI in Gruppe 3 gegenüber Gruppe 2 zurückzuführen sein, oder durch die höhere Zahl an Pferden mit Lungenerkrankungen in Gruppe 3 gegenüber Gruppe 2 verursacht sein.

Statistisch konnte jedenfalls kein signifikanter Zusammenhang zwischen den ET-1 Werten und dem Herzbefund bzw. weiteren Erkrankungen festgestellt werden. Dennoch können die Lungenbefunde die CpET-1 beeinflusst haben.

Es gibt zwar keine Studien zu ANG-II, ALD, ET-1 und ANP Werten im Plasma bei Pferden mit orthopädischen Erkrankungen und Hauterkrankungen, doch sind sowohl ANG-II als auch ALD und ET-1 an Entzündungsreaktionen beteiligt, so dass ein Einfluss etwaiger Entzündungsreaktionen auf den Plasmaspiegel der Parameter nicht völlig ausgeschlossen werden kann.

Ein weiterer kritischer Faktor vor allem für die Bestimmung von ANG-II und ALD ist Stress. Es ist bekannt, dass in Stresssituationen die Reninausschüttung steigt und in der Folge auch die ANG-II-ALD-Kaskade aktiviert wird (AGUILERA, et al. 1995).

Es wurde zwar versucht, durch Aufstallen der Pferde in einer ruhigen Box das Stressniveau der Tiere in dieser für sie fremden Umgebung gering zu halten und sie an die Umgebung zu gewöhnen, dennoch ist der Umgebungswechsel und die Blutentnahme für die Pferde als Stresssituation zu betrachten, so dass ein Einfluss von Stress auf die Plasmawerte nicht ausgeschlossen werden kann.

2. Diskussion der Belastungsuntersuchung

Da zur Belastungsuntersuchung nur ein Longierzirkel zur Verfügung stand, konnte keine ausreichend standardisierte Untersuchung durchgeführt werden. Es ist davon auszugehen, dass nicht alle Pferde gleich intensiv belastet wurden bzw. dass die Belastungsintensität insgesamt möglicherweise nicht ausreichend war.

Als weitere Einschränkung wurde die Herzfrequenz nicht während der Belastung bestimmt, sondern erst unmittelbar nach Belastung. Sinnvoll wäre ein standardisiertes Belastungsprotokoll auf einem Laufband mit Monitoring der HF unter Belastung. Zusätzlich kann ein Monitoring der Sauerstoffaufnahme zur Optimierung der Untersuchung beitragen.

Die HF eines gesunden Pferdes steigt physiologischerweise direkt nach Belastungsbeginn durch die Aktivierung des sympathischen Nervensystems und die Freisetzung von Katecholaminen schnell an und erreicht nach 2-3 min ein individuelles Plateau. Auf diesem Plateau findet die individuelle submaximale Belastung eines Pferdes statt. Dabei werden physiolo-

gischerweise Herzfrequenzbereiche zwischen 80-120/min im Trab bzw. 150-180/min im Galopp erreicht (MARR 2010b). Dabei korreliert die Herzfrequenz mit der Sauerstoffaufnahme, die ebenfalls ihr individuelles Maximum erreicht (EVANS and ROSE 1988).

Herzfrequenzen zwischen 80-120/min im Trab bzw. 150-180/min im Galopp wurden in der vorliegenden Arbeit vermutlich nur in den Gruppen 1 und 2 erreicht, da in diesen Gruppen unmittelbar nach Belastung noch mittlere Herzfrequenzen zwischen 76/min und 98/min gemessen wurden. In Gruppe 3 war die mittlere Belastungszeit im Trab und Galopp im Vergleich zu den anderen Gruppen am kürzesten. Nach Belastung wurde lediglich eine mittlere Herzfrequenz von 55 ± 6 /min gemessen.

In dieser Gruppe waren Begleiterkrankungen wie Lahmheiten und Lungenerkrankungen bei einigen Pferden ein zusätzlich einschränkender Faktor, der zu einer unzureichenden Belastung geführt haben kann.

3. Diskussion der Ergebnisse der CpANG-II Bestimmung

Die bei den herzgesunden Pferden gemessene mittlere CpANG-II von 21,81 ($\pm 52,64$) ng/ml in Ruhe lag in etwa im Bereich der von MUNOZ und Mitarbeitern bei Distanzpferden in Ruhe gemessenen Werte (8-22 ng/ml). Nach Belastung war die mittlere CpANG-II in der vorliegenden Arbeit mit 57,15 ($\pm 134,76$) ng/ml höher als die von MUNOZ und Mitarbeitern gemessenen Werte (zwischen 12 und 40 ng/ml je nach Belastungsintensität bzw. Grad der Dehydratation und Verlust an Elektrolyten), obwohl alle Pferde normhydriert waren und keine Elektrolytdefizite aufwiesen (MUNOZ, et al. 2010).

KOSUNEN und PAKARINEN beschreiben eine ansteigende CpANG-II bei Pferden während körperlicher Belastung (KOSUNEN and PAKARINEN 1976). MCKEEVER, GORDON und HINCHCLIFF gehen davon aus, dass die Renin-Angiotensin-Kaskade eine wichtige Bedeutung in der Regulation des Blutdrucks beim Pferd während Belastung hat (MCKEEVER 2008).

Zwar wurden in der vorliegenden Arbeit die absolut höchsten ANG-II Werte in Gruppe 1 nach Belastung gemessen, insgesamt unterschieden sich die Werte nach Belastung aber in keiner der Gruppen signifikant von den Ruhewerten. Möglicherweise war die Belastungsintensität zu gering (siehe oben).

In der vorliegenden Arbeit wurde zum ersten Mal die CpANG-II bei herzkranken Pferden untersucht. Aus diesem Grund liegen keine Vergleichswerte vor.

Insgesamt differierten die ANG-II Werte der herzkranken Pferde nicht signifikant von denen der Kontrollgruppe.

4. Diskussion der Ergebnisse der CpALD Bestimmung

Die in dieser Studie gemessene mittlere CpALD gesunder Pferde in Ruhe entsprach mit 215,4 (\pm 240,6) pg/ml etwa den bei (MUNOZ, et al. 2010) gemessenen Werten (um 200 pg/ml). GEHLEN und Mitarbeiter, GUTHRIE, sowie MCKEEVER und Mitarbeiter stellten deutlich niedrigere Werte bei gesunden Pferden in Ruhe fest (GEHLEN, et al. 2008; GUTHRIE 1982; MCKEEVER, et al. 2002b).

Diese Differenzen lassen sich damit erklären, dass unterschiedliche Messmethoden verwendet wurden. Während in dieser Studie wie bei MUNOZ und Mitarbeitern (2010) ein kommerzieller humanmedizinischer ELISA verwendet wurde, wurde in anderen Untersuchungen stets mit einem RIA gearbeitet.

Offenbar führt die Verwendung eines ELISA zu höheren Werten als die Verwendung eines RIA. NAGY bestätigen diese Vermutung in einer Studie zu Progesteron beim Pferd, die RIA und ELISA miteinander vergleicht. Mit dem ELISA wurden höhere Progesteronwerte aus denselben Proben gemessen als mit dem RIA (NAGY, et al. 1998).

Auch die in dieser Studie gemessene mittlere CpALD gesunder Pferde nach Belastung ist mit 426,8 (\pm 374,3) pg/ml ähnlich den von MUNOZ und Mitarbeitern (2010) gemessenen Werten (zwischen 300 pg/ml und je nach Belastungsintensität bis $>$ 1000 pg/ml bei Pferden während Distanzritten). In der Gruppe der herzgesunden Pferde (Gruppe 1) konnte übereinstimmend mit GUTHRIE, MCKEEVER und Mitarbeitern, sowie MUNOZ und Mitarbeitern ein signifikanter Anstieg der CpALD gegenüber den Werten in Ruhe festgestellt werden (GUTHRIE 1982; MCKEEVER, et al. 1992; MUNOZ, et al. 2010).

Bei den herzkranken Pferden konnten in Ruhe insgesamt etwas höhere ALD Werte gemessen werden als in der Kontrollgruppe (Gruppe 1). Der Unterschied war jedoch im Gegensatz zu den Ergebnissen von GEHLEN und Mitarbeitern (2008) nicht signifikant.

Diese stellten eine signifikant höhere CpALD bei herzkranken Pferden mit linksatrialer und ventrikulärer Dilatation gegenüber gesunden Pferden und Pferden mit Herzerkrankung ohne Dimensionsveränderungen fest (GEHLEN, et al. 2008).

Ursache für die fehlende Signifikanz in der vorliegenden Arbeit kann die geringe Gruppengröße sein, wofür auch die große Streuung der Werte spricht.

In der vorliegenden Studie wurde erstmalig die CpALD bei herzkranken Pferden nach Belastung bestimmt. Auch in der Humanmedizin fehlen Untersuchungen zur CpALD spezifisch bei Patienten mit Herzklappenerkrankungen, und Untersuchungen an unbehandelten Patienten mit anderen Herzerkrankungen sind rar. Insofern gibt es diesbezüglich keine sinnvollen Vergleichswerte.

Insgesamt unterschieden sich die Werte der herzkranken Pferde nach Belastung nicht signifikant von den Ruhewerten und von den Werten der Kontrollgruppe. Die Differenz zwischen Belastungswert und Ruhewert war bei herzkranken Pferden mit und ohne Dimensionsveränderungen nicht höher als bei gesunden Pferden.

5. Diskussion der Ergebnisse der CpET-1 Bestimmung

Die mittlere CpET-1 bei den herzgesunden Pferden war mit $9,09 \pm 10,26$ pg/ml in Ruhe höher als die von BENAMOU und Mitarbeitern ($3,74 \pm 0,25$) pg/ml und COSTA und Mitarbeitern ($<1,5$ pg/ml) gemessenen Werte, und mit $9,18 \pm 9,0$ pg/ml nach Belastung höher als die von MCKEEVER und MALINOWSKI 1999 ($0,23 \pm 0,04$ bei jungen Pferden und $0,18 \pm 0,03$ pg/ml bei alten Pferden) bzw. die von MCKEEVER und Mitarbeitern 2002 ($0,2 \pm 0,03$ pg/ml) gemessenen Werte (BENAMOU, et al. 1998).

Die Differenz der Werte lässt sich auch hier durch methodische Unterschiede erklären. COSTA (2009) benutzen zwar denselben ELISA zur Analyse der CpET-1. Allerdings machen die Autoren keine genauen Angaben zur Handhabung der Proben bis zum Einfrieren. Offenbar wurden die Proben bei Raumtemperatur zentrifugiert.

Aufgrund der bekannten Instabilität von ET-1 bei Raumtemperatur (SCHUETZ, et al. 2008) wurde in der aktuellen Studie in Anlehnung an die Methodik anderer Autoren (O'SULLIVAN, et al. 2007a; TESSIER-VETZEL, et al. 2006) auf eine kontinuierliche Kühlung des Probenmaterials von der Blutentnahme bis zum Einfrieren bei -80 °C geachtet, was die höheren Werte gegenüber COSTA (2009) erklären kann.

COSTA und Mitarbeiter, MCKEEVER und Mitarbeiter, sowie MCKEEVER und MALINOWSKI verwendeten einen RIA zur Bestimmung der CpET-1 (COSTA, et al. 2009; MCKEEVER, et al. 2002a; MCKEEVER und MALINOWSKI 1999). Wie bei der Aldosteronbestimmung scheinen sich hier abweichende Werte bei Verwendung eines ELISA gegenüber der Verwendung eines RIA zu ergeben.

ROLINSKI und Mitarbeiter beschreiben zudem, dass diverse Faktoren bei der Vorbereitung der Proben zur Analyse die ET-1 Immunreaktivität beeinflussen können (ROLINSKI, et al. 1994).

MCKEEVER und Mitarbeiter konnten nach Belastung bei gesunden Pferden einen signifikanten Anstieg der CpET-1 feststellen (MCKEEVER, et al. 2002a). Dies kann in der vorliegenden Studie für die herzgesunden Pferde nicht bestätigt werden. Die ET-1 Werte herzgesunder Pferde in Ruhe unterschieden sich nicht signifikant von den Werten nach Belastung.

Bei herzkranken Pferden wurde in der aktuellen Studie zum ersten Mal die CpET-1 bestimmt, so dass weder für die Ruhe- noch für die Belastungswerte sinnvolle Vergleichswerte zur Verfügung stehen. Beim Menschen (GALATIUS-JENSEN, et al. 1996; WEI, et al. 1994) sowie bei Hunden und Katzen (CAVERO, et al. 1990; PROSEK, et al. 2004; PROŠEK, et al. 2004; TESSIER-VETZEL, et al. 2006) wurde eine ansteigende CpET-1 mit dem Schweregrad der Herzerkrankung beobachtet. In der vorliegenden Studie konnte ein solcher Zusammenhang bei Pferden nicht beobachtet werden. Die ET-1 Werte der herzkranken Pferde waren im Allgemeinen nicht signifikant höher als in der Kontrollgruppe, obwohl die festgestellte signifikante Korrelation zwischen der CpET-1 und dem maximalen Durchmesser des LA in Gruppe 3 (sowohl in Ruhe als auch nach Belastung) für einen Zusammenhang zwischen Herzerkrankung und CpET-1 spricht. Bei Pferden mit einem vergrößerten LA ($> 13,5$ cm) war die CpET-1 signifikant höher als bei Pferden mit normal großem LA.

Anders als bei MCKEEVER und MALINOWSKI (MCKEEVER und MALINOWSKI 1999) konnten in der vorliegenden Studie bei den älteren Pferden insgesamt betrachtet etwas höhere Werte gemessen werden als bei den jungen Pferden. Ein signifikanter Zusammenhang zwischen CpET-1 und Alter konnte jedoch nur in Gruppe 1 nach Belastung festgestellt werden. Auch beim Menschen ist ein Zusammenhang zwischen CpET-1 und Alter bekannt (KOMATSUMOTO und NARA 1995; THIJSEN, et al. 2007). Es wird vermutet, dass die Aktivierung des ET-1-Systems für die reduzierte Gefäßfunktion im Alter mitverantwortlich ist. Die Fähigkeit zur Dilatation arterieller Gefäße sinkt mit steigender CpET-1 im Alter (DONATO, et al. 2009).

In der herzgesunden Kontrollgruppe konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen der CpET-1 und dem Gewicht der Pferde festgestellt werden. Bei den Pferden mit den höchsten ET-1 Plasmakonzentrationen in Gruppe 1 wurde bei der Allgemeinuntersuchung ein guter bis sehr guter Ernährungszustand registriert. Humanmedizinische Studien zeigen, dass adipöse Menschen höhere Endothelinwerte im Plasma aufweisen als normalgewichtige Menschen (PONTIROLI, et al. 2004) und dass diese Aktivierung des Endothelin-Systems bei übergewichtigen Menschen zur Insulinresistenz beiträgt (LTEIF, et al. 2007). Auch bei Pferden besteht ein Zusammenhang zwischen Body Condition Score (BCS), Körperfettanteil und Insulinresistenz. VICK und Mitarbeiter konnten zeigen, dass die Insulinsensitivität bei Pferden mit steigendem Körperfettanteil und steigendem BCS abnimmt, während vermehrt proinflammatorische Zytokine wie IL-1 und TNF- α gebildet werden (VICK, et al. 2007). Diese und andere Zytokine stimulieren wiederum die Endothelinausschüttung (KAHALEH and FAN 1997), was die hohen Endothelinwerte im Plasma der Pferde mit gutem bis sehr gutem Ernährungszustand in der Gruppe 1 erklären könnte.

Ein signifikanter Einfluss des Trainingszustandes auf die CpET-1 zeigte sich bei den herzkranken Pferden mit normalen Herzdimensionen (Gruppe 2). Trainierte Pferde hatten im Allgemeinen höhere Endothelinwerte als untrainierte Pferde sowohl in Ruhe als auch nach Belastung. Dagegen waren bei den herzkranken Pferden mit veränderten Herzdimensionen (Gruppe 3) häufiger höhere, jedoch nicht signifikant höhere Werte als bei den untrainierten Pferden zu beobachten. Bei den herzgesunden Pferden der Kontrollgruppe (Gruppe 1), konnte keine unterschiedliche Verteilung der CpET zwischen trainierten und untrainierten Pferden festgestellt werden.

Die Ergebnisse müssen kritisch interpretiert werden, da die Erhebung des Trainingszustandes als reine Besitzerbefragung im Rahmen der Anamnese erfolgte. Es handelt sich also um ein rein subjektives Empfinden des Besitzers, und nicht um eine objektive Untersuchung anhand geeigneter Parameter. Als ein solcher zur Beurteilung des Trainingszustandes geeigneter Parameter hat sich die Bestimmung des Blutlaktatwertes erwiesen. Bei trainierten Pferden ist der Laktatwert nach Belastung niedriger als bei untrainierten Pferden (EVANS, et al. 1995). Die Bestimmung des Blutlaktatwertes war im Rahmen der vorliegenden Studie jedoch mangels eines entsprechenden Gerätes nicht möglich.

Bei Menschen mit chronischer Herzinsuffizienz ist bekannt, dass körperliches Training die neurohumorale Aktivierung reduzieren kann (TABET, et al. 2009). Dennoch konnte bei Men-

schen mit Herzerkrankungen kein Einfluss von körperlichem Training auf die CpET-1 nachgewiesen werden (CALLAERTS-VÉGH, et al. 1998; WISLØFF, et al. 2007).

Vergleichbare Untersuchungen bei Pferden gibt es bisher nicht.

6. Diskussion der Ergebnisse der CpANP Bestimmung

In Gruppe 1 war die CpANP in Ruhe mit $76,3 \pm 53,8$ pg/ml höher als die von GEHLEN und Mitarbeitern ($21 \pm 5,4$ pg/ml), TRACHSEL und Mitarbeitern ($12,5$ pg/ml), sowie von MCKEEVER ($5-10$ pg/ml) beschriebenen Werte für herzgesunde Pferde (GEHLEN, et al. 2007b). Von allen Autoren wurde ein RIA zur Analyse verwendet, während in der vorliegenden Studie ein ELISA verwendet wurde. Wie schon bei der Aldosteron- und der Endothelin-1-Bestimmung scheinen sich auch für ANP abweichende Werte bei Verwendung eines ELISA gegenüber der Verwendung eines RIA zu ergeben (s.o.).

In Gruppe 2 entsprach die CpANP mit $21 \pm 53,8$ pg/ml in Ruhe etwa den von GEHLEN und Mitarbeitern (2007b) gemessenen Werten für herzkrankte Pferde ohne Dimensionsveränderungen ($20,1 \pm 5,6$) pg/ml. TRACHSEL und Mitarbeiter fanden im Gegensatz dazu etwas geringere Werte bei solchen Pferden ($12,5$ ($6,3-19,8$) pg/ml).

In der Gruppe der herzkranken Pferde mit Dimensionsveränderungen waren die in der vorliegenden Untersuchung gemessenen Werte mit $14,9 \pm 50,7$ pg/ml geringer als die von GEHLEN und Mitarbeitern (2007b) ($27,6 \pm 17,4$ pg/ml), und auch geringer als die von TRACHSEL und Mitarbeitern ($53,5$ ($36,0-70,7$) pg/mL) gemessenen Werte.

Bei den gesunden Pferden korrelierte die CpANP in der vorliegenden Arbeit nach Belastung, jedoch nicht in Ruhe mit der Größe des linken Ventrikels. Je größer der LVIDd, desto höher war auch die gemessene CpANP. Zwischen CpANP und Größe des linken Atriums konnte dagegen keine Korrelation festgestellt werden.

Bei den herzkranken Pferden war kein signifikanter Zusammenhang zwischen den Herzdimensionen und der CpANP ersichtlich. Dagegen konnten TRACHSEL und Mitarbeiter (2011) die CpANP aus dem maximalen Durchmesser de LA vorhersagen.

Anders als bei GEHLEN und Mitarbeitern (2007), die keinen signifikanten Unterschied in der CpANP zwischen Pferden mit Herzklappenerkrankungen und herzgesunden Pferden feststellen konnten, wurden in der vorliegenden Studie bei den herzkranken Pferden insgesamt so-

wohl in Ruhe als auch nach Belastung signifikant geringere ANP Werte gemessen als in der herzgesunden Kontrollgruppe. Dies widerspricht den Beobachtungen von TRACHSEL und Mitarbeitern (2011), die bei herzkranken Pferden mit linksatrialer Vergrößerung, linksatrialer Dysfunktion und/oder linksventrikulärer Vergrößerung signifikant höhere Werte feststellten als bei gesunden Pferden. Auch VAN DER VEEKENS und Mitarbeiter stellten bei herzkranken Pferden mit Vorhofdilatation signifikant höhere ANP Werte als bei gesunden und herzkranken Pferden mit normalen Herzdimensionen fest (VAN DER VEKENS, et al. 2013).

Allerdings zeigen humanmedizinische Untersuchungen, dass die CpANP bei Patienten mit hgr. MVI gegenüber herzgesunden Patienten auch reduziert sein kann. Als Ursache wird die Degeneration atrialer ANP sezernierender Myozyten in Folge ausgeprägter Veränderungen des linken Atriums beschrieben (SHIMAMOTO, et al. 2007).

Möglicher Weise ist die gegenüber den herzgesunden Pferden reduzierte CpANP bei den herzkranken Pferden mit Dimensionsveränderungen und/oder Vorhofflimmern (Gruppe 3) in der vorliegenden Arbeit ebenfalls auf solche degenerativen Veränderungen in Folge chronischer Volumenüberladung und kompensatorischer atrialer und ventrikulärer Dilatation zurückzuführen. Denn auch bei Pferden mit hgr. MVI sind umfangreiche fibrotische Veränderungen des Myokards ein häufiger Befund (REEF, et al. 1998). Ebenso treten solche degenerativen Veränderungen in Form von Fibrosierungen des Vorhofmyokards bei Pferden mit Vorhofflimmern auf (ELSE and HOLMES 1971). Bei Pferden mit Aortenklappeninsuffizienz sind neben degenerativen Veränderungen der Aortenklappensegel ebenfalls degenerative, fibrotische Veränderungen des Myokards beschrieben (BISHOP, et al. 1966).

Auch die Aufbewahrungszeit der Blutproben bis zur Analyse kann die ANP Werte beeinflusst haben. Alle Proben wurden in Anlehnung an die Untersuchungen von ZOLTY und Mitarbeitern innerhalb von 12 Monaten ausgewertet. Die Autoren konnten zeigen, daß humanes ANP bei minus 80 °C für mindestens 12 Monate stabil ist (ZOLTY, et al. 2008).

Neuere Untersuchungen - die zum Zeitpunkt der Studienplanung und Durchführung noch nicht vorlagen - geben jedoch Hinweise darauf, dass dies nicht auf equines ANP übertragbar ist. So beschreiben VAN DER VEKENS und Mitarbeiter eine signifikante Abnahme der equinen ANP Werte nach einer 15-60 tägigen Aufbewahrungszeit bei -80 °C und empfehlen eine zeitnahe Analyse der Proben (VAN DER VEKENS, et al. 2013).

Bei genauerer Betrachtung der Daten in der vorliegenden Arbeit fiel übereinstimmend mit den Aussagen von VAN DER VEEKENS und Mitarbeitern ein negativer Zusammenhang zwi-

schen den ANP Werten und der Aufbewahrungszeit der Blutproben auf. Je kürzer die Aufbewahrungszeit, desto höher waren die ANP Werte. Die Proben der Gruppe 1 wurden überwiegend in einem Zeitraum zwischen 3 und 6 Monaten aufbewahrt, während die Proben der Gruppen 2 und 3 überwiegend zwischen 6 und 12 Monaten aufbewahrt wurden.

Daher empfehlen sich weitere Untersuchungen mit zeitnaher Analyse der Blutproben, um bessere Rückschlüsse auf das Verhalten der CpANP bei herzkranken Pferden in Ruhe und vor allem nach Belastung ziehen zu können.

KOKKONEN und Mitarbeiter beschreiben einen signifikanten Anstieg der CpANP bei gesunden Pferden nach Belastung, mit einer CpANP von 60 pg/ml bei maximaler Belastung (bei $VO_2\text{max}$) (KOKKONEN, et al. 1999; 2002).

Zwar wurden in der aktuellen Studie bei gesunden Pferden mit $67,1 \pm 43,0$ pg/ml ähnliche Werte nach Belastung gemessen, allerdings wurde sowohl bei den herzgesunden Pferden, als auch bei den herzkranken Pferden nach Belastung kein Anstieg, sondern eine geringere, jedoch nicht signifikant geringere CpANP als in Ruhe festgestellt.

Einerseits könnte die Intensität der Belastung zu gering gewesen sein, denn der Anstieg des ANP Plasmaspiegels korreliert mit der Dauer und Intensität der Belastung und mit der Herzfrequenz (KOKKONEN, et al. 1999; 2002; MCKEEVER 2008). Denn während die Pferde in der Studie von KOKKONEN und Mitarbeitern (2002) eine maximale mittlere Herzfrequenz von 205 ± 5 /min nach 8 min submaximaler Laufbandbelastung erreichten, wurden in der aktuellen Studie in keiner der 3 Gruppen entsprechend hohe Herzfrequenzen erreicht. Andererseits könnten die ANP Werte bei den herzkranken Pferden nach Belastung auch auf degenerative Veränderungen des Myokards und/oder die relativ lange Aufbewahrungszeit der Blutproben zurückzuführen sein (s.o.).

Auch stellten KOKKONEN und Mitarbeiter (2002) fest, dass der „ANP-Peak“, also der maximale Anstieg der CpANP, erst 5 min nach Ende der Belastung eintritt. In dieser Studie fand die Blutentnahme zur ANP Bestimmung aber schon unmittelbar nach Belastung statt, so dass der ANP-Peak zu diesem Zeitpunkt möglicher Weise noch nicht erreicht war. Der Zeitpunkt unmittelbar nach Belastung wurde gewählt, weil ET-1 und ANG-II, die gleichzeitig bestimmt wurden, eine sehr geringe Plasmahalbwertszeit von nur 1-2 Minuten (ET-1) (WEITZBERG, et al. 1991) bzw. von nur wenigen Sekunden (ANG-II) haben (THIEL 2009). Die Plasmahalbwertszeit von ANP beträgt dagegen 2-5 min, wobei speziesspezifische Unterschiede möglich sind (POTTER 2011; RUSKOAHO 2003) (siehe Literaturübersicht).

Da in der vorliegenden Studie aus den oben bereits genannten Gründen keine standardisierte Belastungsuntersuchung durchgeführt werden konnte, sind weitere Studien unter standardisierten Bedingungen notwendig, um den Zusammenhang zwischen CpANP und Belastung bei herzkranken Pferden genauer zu untersuchen.

VII. ZUSAMMENFASSUNG

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die ANG-II-, Aldosteron-, ET-1- und ANP-Plasmawerte in Ruhe und nach Belastung im Hinblick auf ihre Eignung als Biomarker zur frühen Diagnostik, zur Einschätzung des Schweregrades von Herzerkrankungen und als prognostische Indikatoren bei Pferden mit Herzerkrankungen zu untersuchen. Dazu wurden 54 Pferde aus dem Patientengut der Pferdeklinik der FU Berlin untersucht, wobei 15 Pferde in Gruppe 1 (herzgesund), 22 Pferde in Gruppe 2 (herzkrank mit normalen Herzdimensionen) und 17 Pferde in Gruppe 3 (herzkrank mit veränderten Herzdimensionen) eingeteilt wurden.

Die Plasmawerte der Parameter ANG-II, ALD, ET-1 und ANP wurden von einem veterinärmedizinischen diagnostischen Labor mit Hilfe von kommerziellen ELISAs bestimmt.

Limitierende Faktoren dieser Studie waren neben der geringen Gruppengröße die Einbeziehung von Pferden in das Patientengut, die neben Herzerkrankungen an weiteren Erkrankungen wie Lungenerkrankungen und orthopädischen Erkrankungen litten, welche die Plasmakonzentrationen der Blutparameter beeinflusst haben könnten.

Limitierend für die Beurteilung der Auswirkung von körperlicher Belastung auf die Blutparameter bei herzkranken Pferden gegenüber herzgesunden, war die wenig standardisierte und wenig intensive Belastung der Pferde.

Insgesamt unterschieden sich die ANG-II-, ALD-, und ET-1-Plasmawerte der herzkranken Pferde (Gruppen 2 und 3) weder in Ruhe, noch nach Belastung signifikant von den Werten der herzgesunden Pferde (Gruppe 1). Folglich kann die Bestimmung der Parameter ANG-II, ALD und ET-1 offenbar keine frühdiagnostischen Informationen bezüglich einer Herzerkrankung bei Pferden geben. Auch die nach Belastung gewonnenen Werte scheinen, gegenüber herkömmlichen diagnostischen Methoden, keine vorteilhaften Informationen liefern zu können.

Im Gegensatz dazu waren die ANP-Plasmawerte der herzkranken Pferde (Gruppen 2 und 3) sowohl in Ruhe als auch nach Belastung signifikant geringer als die Werte der herzgesunden Pferde (Gruppe 1) (**CpANP_R**: Gruppe 1: $76,3 \pm 53,8$ pg/ml, Gruppe 2: $21,0 \pm 52,3$ pg/ml, Gruppe 3: $14,9 \pm 50,7$ pg/ml; **CpANP_B**: Gruppe 1: $67,1 \pm 43,0$ pg/ml Gruppe 2: $4,5 \pm 10,4$ pg/ml, Gruppe 3: $8,6 \pm 25,7$ pg/ml).

Ob dieses Ergebnis eindeutig auf die Herzerkrankung der Pferde zurückzuführen ist, lässt sich in der vorliegenden Untersuchung abschließend nicht klären. Weitere Untersuchungen, insbesondere histologisch/pathologische Untersuchungen müssen klären, inwieweit es durch hochgradige Herzerkrankungen bei Pferden zu einer Schädigung der ANP sezernierenden Myozyten in den Herzvorhöfen, und damit zu einer Abnahme des Plasma-ANP-Spiegels kommen kann. Weitere Untersuchungen müssen auch klären, inwieweit die Aufbewahrungszeit der Blutproben zu einem Abbau von equinem ANP führen kann.

Obwohl die ET-1 Plasmawerte der herzkranken Pferde (Gruppen 2 und 3) nicht signifikant höher waren als die der herzgesunden Pferde (Gruppe 1), konnte in Gruppe 3 eine signifikante Korrelation der ET-1 Plasmawerte mit dem Durchmesser des linken Atriums sowohl in Ruhe als auch nach Belastung festgestellt werden, was für einen Zusammenhang zwischen dem Schweregrad der Erkrankung und der CpET spräche.

Des Weiteren konnte ein signifikanter Einfluss des Gewichts, des Alters und des Trainingszustandes der Pferde auf die CpET-1 festgestellt werden.

Um abschließend zu klären, inwieweit sich die CpET-1 zur Beurteilung des Schweregrades und als prognostisches Instrument bei herzkranken Pferden eignet, sind weitere Untersuchungen mit einer größeren Anzahl von Pferden unter Berücksichtigung der oben genannten Einflussfaktoren notwendig.

Die Parameter ANG-II, ALD und ANP scheinen im Bezug auf die Graduierung von Herzerkrankungen und die Prognosestellung bei Pferden gegenüber herkömmlichen Methoden wie dem Ultraschall keine zusätzlichen Informationen liefern zu können.

Allerdings sind zur abschließenden Beurteilung der Eignung von ANG-II, ALD und ET-1 als diagnostische Hilfsmittel, sowie als prognostische Indikatoren für Herzerkrankungen und zur Graduierung von Herzerkrankungen bei Pferden aber weitere Untersuchungen unter Ausschluss derjenigen Faktoren notwendig, die sich in der vorliegenden Studie als limitierend erwiesen haben.

VIII. SUMMARY

Cardiac biomarkers in horses with heart diseases before and after exercise

Aim of this study was to analyze if the plasma levels of angiotensin-II, aldosterone, endothelin-1 and ANP can be used for early diagnosing and staging heart diseases and for providing prognostic information in horses with cardiac diseases before and after exercise.

Therefore, 54 equine patients from the equine hospital of Freie Universität Berlin were examined.

15 horses had no evidence of cardiac disease (group one), 22 horses had evidence of cardiac disease with normal heart dimensions (group two) and 17 horses had evidence of cardiac disease with altered heart dimensions (group three).

The plasma levels of angiotensin-II, aldosterone, endothelin-1 and ANP were detected by using commercial ELISA kits. The analyses were performed by a veterinary diagnostic laboratory.

Limitations observed in this study were the small number of horses and the number of horses in which additional diseases like orthopedic disorders or respiratory disease were diagnosed, which might have influenced the plasma levels of the blood parameters.

Evaluation of exercise influence on blood parameters in horses with cardiac disease compared to horses without cardiac disease was limited by the lack of a standardized exercise protocol and by low exercise intensity.

All in all, the angiotensin-II, aldosterone and endothelin-1 plasma pre and post exercise levels did not differ significantly among the three groups.

As a consequence, detection of plasma levels of angiotensin-II, aldosterone and endothelin-1 doesn't seem to be useful for early diagnosing of cardiac diseases in horses. Also post exercise plasma levels of angiotensin-II, aldosterone and endothelin-1 don't seem to give any beneficial information compared to conventional diagnostic methods.

As opposed to this, the mean plasma ANP concentration pre and post exercise was lower in groups two and three compared to group one (**CpANP_R**: *group one*: $76,3 \pm 53,8$ pg/ml, *group two*: $21,0 \pm 52,3$ pg/ml, *group three*: $14,9 \pm 50,7$ pg/ml; **CpANP_E**: *group one*: $67,1 \pm 43,0$

pg/ml *group two*: $4,5 \pm 10,4$ pg/ml, *group three*: $8,6 \pm 25,7$ pg/ml).

Whether the low ANP results in horses with heart disease are a consequence of cardiac disease can't be concluded from this study. Further investigation is needed. Especially histopathological investigations have to clear if severe heart disease in horses can lead to degradation of ANP secreting cardiac myocytes and thus lead to low ANP plasma levels.

Further investigation is also needed to determine to what extent the storage time of blood samples leads to depletion of equine ANP in the blood samples.

Although the plasma levels of endothelin-1 in horses with cardiac disease (groups two and three) were not significantly higher than the plasma levels of endothelin-1 in horses without cardiac disease (group one), a significant correlation could be observed between the plasma levels of endothelin-1 in group three and the left atrial diameter at rest as well as post exercise. This suggests a relation between the severity of disease and the ET-1 plasma levels.

As for endothelin-1 a significant effect of weight, age and fitness level could be observed. Further investigation with more horses is needed to assess the beneficial effects of endothelin-1 in grading the severity of heart diseases. Thereby the above-mentioned effects on ET-1 should be noted.

Compared to conventional diagnostic methods like ultrasound, detection of plasma levels of angiotensin-II, aldosterone and ANP doesn't seem to provide any further prognostic information or further information for staging cardiac diseases in horses.

However, further investigation is needed to conclusively assess the beneficial effects of angiotensin-II, aldosterone and endothelin-1 in diagnosing and grading the severity of cardiac diseases in horses.

Also, further investigation is needed to conclusively assess the beneficial effects of angiotensin-II, aldosterone and endothelin-1 as a prognostic indicator in horses with cardiac diseases.

Thereby the limitations observed in this study should be excluded.

IX. LITERATURVERZEICHNIS

ABDALLA, S., H. LOTHER, and U. QUITTERER

2000 AT1-receptor heterodimers show enhanced G-protein activation and altered receptor sequestration. *Nature* 407(6800):94-8.

ACKERMAN, B. H., R. P. WYETH, D. L. VESELY, W. L. NGO, J. K. BISSETT, C. J. WINTERS, and A. L. SALLMAN

1992 Pharmacokinetic characterization of the postdistribution phase of prohormone atrial natriuretic peptides amino acids 1-98, 31-67, and atrial natriuretic factor during and after rapid right ventricular pacing in dogs. *J Clin Pharmacol* 32(5):415-21.

ACKERMANN, M., T. RITTHALER, G. RIEGGER, A. KURTZ, and B. K. KRAMER

1995 Endothelin inhibits cAMP-induced renin release from isolated renal juxtaglomerular cells. *J Cardiovasc Pharmacol* 26 Suppl 3:S135-7.

AGUILERA, G., A. KISS, X. LUO, and B. S. AKBASAK

1995 The renin angiotensin system and the stress response. *Ann N Y Acad Sci* 771:173-86.

AKISHITA, M., M. HORIUCHI, H. YAMADA, L. ZHANG, G. SHIRAKAMI, K. TAMURA, Y. OUCHI, and V. J. DZAU

2000 Inflammation influences vascular remodeling through AT2 receptor expression and signaling. *Physiol Genomics* 2(1):13-20.

ALLEN, A. M., H. YAMADA, and F. A. MENDELSON

1990 In vitro autoradiographic localization of binding to angiotensin receptors in the rat heart. *Int J Cardiol* 28(1):25-33.

ALLEVARD, A. M., G. GAUQUELIN, and C. GHARIB

1991 Endothelin and atrial natriuretic peptide after exercise performed until exhaustion in the rat. *Life Sci* 49(24):1803-8.

AN, S. J., R. BOYD, M. ZHU, A. CHAPMAN, D. R. PIMENTEL, and H. D. WANG
2007 NADPH oxidase mediates angiotensin II-induced endothelin-1 expression in vascular adventitial fibroblasts. *Cardiovasc Res* 75(4):702-9.

ANAND-SRIVASTAVA, M. B., P. D. SEHL, and D. G. LOWE
1996 Cytoplasmic domain of natriuretic peptide receptor-C inhibits adenylyl cyclase. Involvement of a pertussis toxin-sensitive G protein. *J Biol Chem* 271(32):19324-9.

ANDERSON, J. V., A. D. STRUTHERS, N. N. PAYNE, J. D. SLATER, and S. R. BLOOM
1986 Atrial natriuretic peptide inhibits the aldosterone response to angiotensin II in man. *Clin Sci (Lond)* 70(5):507-12.

ANDERSON, N. S., 3RD, and D. D. FANESTIL
1976 Corticoid receptors in rat brain: evidence for an aldosterone receptor. *Endocrinology* 98(3):676-84.

ANDREIS, P. G., C. TORTORELLA, L. K. MALENDOWICZ, and G. G. NUSSDORFER
2001 Endothelins stimulate aldosterone secretion from dispersed rat adrenal zona glomerulosa cells, acting through ETB receptors coupled with the phospholipase C-dependent signaling pathway. *Peptides* 22(1):117-22.

APTEL, H. B., E. I. JOHNSON, M. B. VALLOTTON, M. F. ROSSIER, and A. M. CAPPONI
1996 Demonstration of an angiotensin II-induced negative feedback effect on aldosterone synthesis in isolated rat adrenal zona glomerulosa cells. *Mol Cell Endocrinol* 119(1):105-11.

ARAI, H., S. HORI, I. ARAMORI, H. OHKUBO, and S. NAKANISHI
1990 Cloning and expression of a cDNA encoding an endothelin receptor. *Nature* 348(6303):730-2.

ARDEN, K. C., C. S. VIARS, S. WEISS, S. ARGENTIN, and M. NEMER
1995 Localization of the human B-type natriuretic peptide precursor (NPPB) gene to chromosome 1p36. *Genomics* 26(2):385-9.

ARMANINI, D., T. STRASSER, and P. C. WEBER

1985 Characterization of aldosterone binding sites in circulating human mononuclear leukocytes. *Am J Physiol* 248(3 Pt 1):E388-90.

ATARASHI, K., P. J. MULROW, R. FRANCO-SAENZ, R. SNAJDAR, and J. RAPP

1984 Inhibition of aldosterone production by an atrial extract. *Science* 224(4652):992-4.

ATKINS, C., J. BONAGURA, S. ETTINGER, P. FOX, S. GORDON, J. HAGGSTROM, R. HAMLIN, B. KEENE, V. LUIS-FUENTES, and R. STEPIEN

2009 Guidelines for the diagnosis and treatment of canine chronic valvular heart disease. *J Vet Intern Med* 23(6):1142-50.

ATLAS, S. A.

2007 The renin-angiotensin aldosterone system: pathophysiological role and pharmacologic inhibition. *J Manag Care Pharm* 13(8 Suppl B):9-20.

AZNAR, S., and J. C. LACAL

2001 Rho signals to cell growth and apoptosis. *Cancer Lett* 165(1):1-10.

BADER, M.

2010 Tissue renin-angiotensin-aldosterone systems: Targets for pharmacological therapy. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 50:439-65.

BAIARDI, G., M. MACOVA, I. ARMANDO, H. ANDO, D. TYURMIN, and J. M. SAAVEDRA

2005 Estrogen upregulates renal angiotensin II AT1 and AT2 receptors in the rat. *Regul Pept* 124(1-3):7-17.

BARKI-HARRINGTON, L., L. M. LUTTRELL, and H. A. ROCKMAN

2003 Dual inhibition of beta-adrenergic and angiotensin II receptors by a single antagonist: a functional role for receptor-receptor interaction in vivo. *Circulation* 108(13):1611-8.

BARLETTA, G., L. STEFANI, R. DEL BENE, C. FRONZAROLI, S. VECCHIARINO, C. LAZZERI, F. FANTINI, and G. LA VILLA

1998 Effects of exercise on natriuretic peptides and cardiac function in man. *Int J Cardiol* 65(3):217-25.

BARNES, J. M., L. J. STEWARD, P. C. BARBER, and N. M. BARNES

1993 Identification and characterisation of angiotensin II receptor subtypes in human brain. *Eur J Pharmacol* 230(3):251-8.

BECARI, C., E. B. OLIVEIRA, and M. C. SALGADO

2011 Alternative pathways for angiotensin II generation in the cardiovascular system. *Braz J Med Biol Res* 44(9):914-9.

BEIERWALTES, W. H., and O. A. CARRETERO

1992 Nonprostanoid endothelium-derived factors inhibit renin release. *Hypertension* 19(2 Suppl):II68-73.

BENAMOU, A. E., T. ART, D. J. MARLIN, C. A. ROBERTS, and P. LEKEUX

1998 Variations in systemic and pulmonary endothelin-1 in horses with recurrent airway obstruction (heaves). *Pulm Pharmacol Ther* 11(2-3):231-5.

BENDALL, J. K., A. C. CAVE, C. HEYMES, N. GALL, and A. M. SHAH

2002 Pivotal role of a gp91(phox)-containing NADPH oxidase in angiotensin II-induced cardiac hypertrophy in mice. *Circulation* 105(3):293-6.

BENTER, I. F., C. M. FERRARIO, M. MORRIS, and D. I. DIZ

1995 Antihypertensive actions of angiotensin-(1-7) in spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol* 269(1 Pt 2):H313-9.

BERG, J.M., J.L. TYMOCZKO, and L. STRYER

2003 *Biochemie*. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag.

BERNAY, F., J. M. BLAND, J. HÄGGSTRÖM, L. BADUEL, B. COMBES, A. LOPEZ, and V. KALTSATOS

2010 Efficacy of Spironolactone on Survival in Dogs with Naturally Occurring Mitral Regurgitation Caused by Myxomatous Mitral Valve Disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 24(2):331-341.

BEYGUI, FARZIN, JEAN-PHILIPPE COLLET, JEAN-JACQUES BENOLIEL, NICOLAS VIGNOLLES, RAPHAELLE DUMAINE, OLIVIER BARTHÉLÉMY, and GILLES MONTALESCOT

2006 High Plasma Aldosterone Levels on Admission Are Associated With Death in Patients Presenting With Acute ST-Elevation Myocardial Infarction. *Circulation* 114(24):2604-2610.

BILLAH, M. M.

1993 Phospholipase D and cell signaling. *Curr Opin Immunol* 5(1):114-23.

BIONDO, A. W., Z. L. LIU, C. E. WIEDMEYER, H. S. DE MORAIS, D. D. SISSON, and P. E. SOLTER

2002 Genomic sequence and cardiac expression of atrial natriuretic peptide in cats. *Am J Vet Res* 63(2):236-40.

BISHOP, S. P., C. R. COLE, and D. L. SMETZER

1966 Functional and morphologic pathology of equine aortic insufficiency. *Pathol Vet* 3(2):137-58.

BLACK, P. N., M. A. GHATEI, K. TAKAHASHI, D. BRETHERTON-WATT, T. KRAUSZ, C. T. DOLLERY, and S. R. BLOOM

1989 Formation of endothelin by cultured airway epithelial cells. *FEBS Lett* 255(1):129-32.

BLACKBURN, R. E., W. K. SAMSON, R. J. FULTON, E. M. STRICKER, and J. G. VERBALIS

1995 Central oxytocin and ANP receptors mediate osmotic inhibition of salt appetite in rats. *Am J Physiol* 269(2 Pt 2):R245-51.

BLOCH, K. D., J. A. SCOTT, J. B. ZISFEIN, J. T. FALLON, M. N. MARGOLIES, C. E. SEIDMAN, G. R. MATSUEDA, C. J. HOMCY, R. M. GRAHAM, and J. G. SEIDMAN
1985 Biosynthesis and secretion of proatrial natriuretic factor by cultured rat cardiocytes. *Science* 230(4730):1168-71.

BLUME, A., C. UNDEUTSCH, Y. ZHAO, E. KASCHINA, J. CULMAN, and T. UNGER
2005 ANG III induces expression of inducible transcription factors of AP-1 and Krox families in rat brain. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 289(3):R845-50.

BONVALET, J. P., N. ALFAIDY, N. FARMAN, and M. LOMBES
1995 Aldosterone: intracellular receptors in human heart. *Eur Heart J* 16 Suppl N:92-7.

BOON, JUNE A.
2011 *Veterinary Echocardiography*: Wiley-Blackwell.

BOOTH, R. E., J. P. JOHNSON, and J. D. STOCKAND
2002 Aldosterone. *Adv Physiol Educ* 26(1-4):8-20.

BOOZ, G. W., and K. M. BAKER
1995 Molecular signalling mechanisms controlling growth and function of cardiac fibroblasts. *Cardiovasc Res* 30(4):537-43.

BOULANGER, C., and T. F. LUSCHER
1990 Release of endothelin from the porcine aorta. Inhibition by endothelium-derived nitric oxide. *J Clin Invest* 85(2):587-90.

BOYD, J. E., W. P. PALMORE, and P. J. MULROW
1971 Role of potassium in the control of aldosterone secretion in the rat. *Endocrinology* 88(3):556-65.

BRAITH, R. W., M. A. WELSCH, M. S. FEIGENBAUM, H. A. KLUESS, and C. J. PEPINE
1999 Neuroendocrine activation in heart failure is modified by endurance exercise training. *J Am Coll Cardiol* 34(4):1170-5.

BRILLA, C. G.

2000 Aldosterone and myocardial fibrosis in heart failure. *Herz* 25(3):299-306.

BRILLA, C. G., B. MAISCH, G. ZHOU, and K. T. WEBER

1995 Hormonal regulation of cardiac fibroblast function. *Eur Heart J* 16 Suppl C:45-50.

BROSNIHAN, K. B., P. LI, and C. M. FERRARIO

1996 Angiotensin-(1-7) dilates canine coronary arteries through kinins and nitric oxide. *Hypertension* 27(3 Pt 2):523-8.

BUCKLEY, M. G., G. A. SAGNELLA, N. D. MARKANDU, D. R. SINGER, and G. A. MACGREGOR

1990 Concentrations of N-terminal ProANP in human plasma: evidence for ProANP (1-98) as the circulating form. *Clin Chim Acta* 191(1-2):1-14.

BURNETT, J. C., JR., J. P. GRANGER, and T. J. OPGENORTH

1984 Effects of synthetic atrial natriuretic factor on renal function and renin release. *Am J Physiol* 247(5 Pt 2):F863-6.

CALLAERTS-VÉGH, ZSUZSANNA, MARKUS WENK, UTE GOEBBELS, GERALD DZIEKAN, JONATHAN MYERS, PAUL DUBACH, and WALTER E. HAEFELI

1998 Influence of Intensive Physical Training on Urinary Nitrate Elimination and Plasma Endothelin-1 Levels in Patients With Congestive Heart Failure. *Journal of Cardiopulmonary Rehabilitation and Prevention* 18(6):450-457.

CALLERA, G. E., R. M. TOUYZ, R. C. TOSTES, A. YOGI, Y. HE, S. MALKINSON, and E. L. SCHIFFRIN

2005 Aldosterone activates vascular p38MAP kinase and NADPH oxidase via c-Src. *Hypertension* 45(4):773-9.

CAMPBELL, D. J., and J. F. HABENER

1986 Angiotensinogen gene is expressed and differentially regulated in multiple tissues of the rat. *J Clin Invest* 78(1):31-9.

CAMSARL, A., H. PEKDEMIR, D. CICEK, G. POLAT, M. N. AKKUS, O. DOVEN, V. G. CIN, T. KATLRCLBASL, and T. PARMAKSLZ

2003 Endothelin-1 and nitric oxide concentrations and their response to exercise in patients with slow coronary flow. *Circ J* 67(12):1022-8.

CAO, Z., D. J. KELLY, A. COX, D. CASLEY, J. M. FORBES, P. MARTINELLO, R. DEAN, R. E. GILBERT, and M. E. COOPER

2000 Angiotensin type 2 receptor is expressed in the adult rat kidney and promotes cellular proliferation and apoptosis. *Kidney Int* 58(6):2437-51.

CAPRIO, M., B. G. NEWFELL, A. LA SALA, W. BAUR, A. FABBRI, G. ROSANO, M. E. MENDELSON, and I. Z. JAFFE

2008 Functional mineralocorticoid receptors in human vascular endothelial cells regulate intercellular adhesion molecule-1 expression and promote leukocyte adhesion. *Circ Res* 102(11):1359-67.

CAREY, R. M., Z. Q. WANG, and H. M. SIRAGY

2000 Role of the angiotensin type 2 receptor in the regulation of blood pressure and renal function. *Hypertension* 35(1 Pt 2):155-63.

CAVERO, P. G., W. L. MILLER, D. M. HEUBLEIN, K. B. MARGULIES, and J. C. BURNETT, JR.

1990 Endothelin in experimental congestive heart failure in the anesthetized dog. *Am J Physiol* 259(2 Pt 2):F312-7.

CHA, S. A., B. M. PARK, S. GAO, and S. H. KIM

2013 Stimulation of ANP by angiotensin-(1-9) via the angiotensin type 2 receptor. *Life Sci* 93(24):934-40.

CHAKI, S., and T. INAGAMI

1992 Identification and characterization of a new binding site for angiotensin II in mouse neuroblastoma neuro-2A cells. *Biochem Biophys Res Commun* 182(1):388-94.

CHANG, M. S., D. G. LOWE, M. LEWIS, R. HELLMISS, E. CHEN, and D. V. GOEDDEL
1989 Differential activation by atrial and brain natriuretic peptides of two different receptor guanylate cyclases. *Nature* 341(6237):68-72.

CHARTIER, L., E. SCHIFFRIN, G. THIBAUT, and R. GARCIA
1984 Atrial natriuretic factor inhibits the stimulation of aldosterone secretion by angiotensin II, ACTH and potassium in vitro and angiotensin II-induced steroidogenesis in vivo. *Endocrinology* 115(5):2026-8.

CHEN, M., K. TODD-TURLA, W. H. WANG, X. CAO, A. SMART, F. C. BROSIUS, P. D. KILLEN, J. A. KEISER, J. P. BRIGGS, and J. SCHNERMANN
1993 Endothelin-1 mRNA in glomerular and epithelial cells of kidney. *Am J Physiol* 265(4 Pt 2):F542-50.

CHINKERS, M., D. L. GARBERS, M. S. CHANG, D. G. LOWE, H. M. CHIN, D. V. GOEDDEL, and S. SCHULZ
1989 A membrane form of guanylate cyclase is an atrial natriuretic peptide receptor. *Nature* 338(6210):78-83.

CHRIST, M., C. MEYER, K. SIPPEL, and M. WEHLING
1995 Rapid aldosterone signaling in vascular smooth muscle cells: involvement of phospholipase C, diacylglycerol and protein kinase C alpha. *Biochem Biophys Res Commun* 213(1):123-9.

CINGOLANI, H. E., M. C. VILLA-ABRILLE, M. CORNELLI, A. NOLLY, I. L. ENNIS, C. GARCIARENA, A. M. SUBURO, V. TORBIDONI, M. V. CORREA, M. C. CAMILIONDE HURTADO, and E. A. AIELLO
2006 The positive inotropic effect of angiotensin II: role of endothelin-1 and reactive oxygen species. *Hypertension* 47(4):727-34.

CLARKE, J. G., N. BENJAMIN, S. W. LARKIN, D. J. WEBB, G. J. DAVIES, and A. MASERI

1989 Endothelin is a potent long-lasting vasoconstrictor in men. *Am J Physiol* 257(6 Pt 2):H2033-5.

CLARKE, L. L., V. K. GANJAM, B. FICHTENBAUM, D. HATFIELD, and H. E. GARNER
1988 Effect of feeding on renin-angiotensin-aldosterone system of the horse. *Am J Physiol* 254(3 Pt 2):R524-30.

CLERK, A., and P. H. SUGDEN

2000 Small guanine nucleotide-binding proteins and myocardial hypertrophy. *Circ Res* 86(10):1019-23.

COHEN, D., G. Y. KOH, L. N. NIKONOVA, J. G. PORTER, and T. MAACK

1996 Molecular determinants of the clearance function of type C receptors of natriuretic peptides. *J Biol Chem* 271(16):9863-9.

CORNELL, C. C., M. D. KITTLESON, P. DELLA TORRE, J. HAGGSTROM, C. W. LOMBARD, H. D. PEDERSEN, A. VOLLMAR, and A. WEY

2004 Allometric scaling of M-mode cardiac measurements in normal adult dogs. *J Vet Intern Med* 18(3):311-21.

COSTA, L. R., S. C. EADES, C. S. VENUGOPAL, and R. M. MOORE

2009 Plasma and pulmonary fluid endothelin in horses with seasonal recurrent airway obstruction. *J Vet Intern Med* 23(6):1239-46.

COSTA, M. A., R. ELESGARAY, A. M. BALASZCZUK, and C. ARRANZ

2006 Role of NPR-C natriuretic receptor in nitric oxide system activation induced by atrial natriuretic peptide. *Regul Pept* 135(1-2):63-8.

CUI, T., H. NAKAGAMI, M. IWAI, Y. TAKEDA, T. SHIUCHI, L. DAVIET, C. NAHMIAS, and M. HORIUCHI

2001 Pivotal role of tyrosine phosphatase SHP-1 in AT2 receptor-mediated apoptosis in rat fetal vascular smooth muscle cell. *Cardiovasc Res* 49(4):863-71.

DAGGUBATI, SREEDEVI, JAMES R PARKS, ROSE M OVERTON, GUILLERMO CINTRON, DOUGLAS D SCHOCKEN, and DAVID L VESELY

1997 Adrenomedullin, endothelin, neuropeptide Y, atrial, brain, and C-natriuretic prohormone peptides compared as early heart failure indicators¹. *Cardiovasc Res* 36(2):246-255.

DAGNINO, L., J. DROUIN, and M. NEMER

1991 Differential expression of natriuretic peptide genes in cardiac and extracardiac tissues. *Mol Endocrinol* 5(9):1292-300.

DAVENPORT, A. P., D. J. NUNEZ, J. A. HALL, A. J. KAUMANN, and M. J. BROWN

1989 Autoradiographical localization of binding sites for porcine [125I]endothelin-1 in humans, pigs, and rats: functional relevance in humans. *J Cardiovasc Pharmacol* 13 Suppl 5:S166-70.

DE BOLD, A. J., H. B. BORENSTEIN, A. T. VERESS, and H. SONNENBERG

1981 A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. *Life Sci* 28(1):89-94.

DE GASPARO, M., K. J. CATT, T. INAGAMI, J. W. WRIGHT, and T. UNGER

2000 International union of pharmacology. XXIII. The angiotensin II receptors. *Pharmacol Rev* 52(3):415-72.

DE GASPARO, M., A. HUSAIN, W. ALEXANDER, K. J. CATT, A. T. CHIU, M. DREW, T. GOODFRIEND, J. W. HARDING, T. INAGAMI, and P. B. TIMMERMANS

1995 Proposed update of angiotensin receptor nomenclature. *Hypertension* 25(5):924-7.

DE GIUSTI, V. C., M. V. CORREA, M. C. VILLA-ABRILLE, C. BELTRANO, A. M. YEVES, G. E. DE CINGOLANI, H. E. CINGOLANI, and E. A. AIELLO

2008 The positive inotropic effect of endothelin-1 is mediated by mitochondrial reactive oxygen species. *Life Sci* 83(7-8):264-71.

DE MELLO COSTA, M. F., G. A. ANDERSON, H. M. DAVIES, and R. F. SLOCOMBE

2012 Effects of acute exercise on angiotensin I-converting enzyme (ACE) activity in horses. *Equine Vet J* 44(4):487-9.

DEL RY, S., M. CABIATI, F. VOZZI, B. BATTOLLA, C. CASELLI, F. FORINI, C. SEGNANI, T. PRESCIMONE, D. GIANNESI, and L. MATTII

2011 Expression of C-type natriuretic peptide and its receptor NPR-B in cardiomyocytes. *Peptides* 32(8):1713-8.

DELL'ITALIA, L. J., Q. C. MENG, E. BALCELLS, I. M. STRAETER-KNOWLEN, G. H. HANKES, R. DILLON, R. E. CARTEE, R. ORR, S. P. BISHOP, S. OPARIL, and ET AL.

1995 Increased ACE and chymase-like activity in cardiac tissue of dogs with chronic mitral regurgitation. *Am J Physiol* 269(6 Pt 2):H2065-73.

DELLA BRUNA, R., S. RIES, C. HIMMELSTOSS, and A. KURTZ

1995 Expression of cardiac angiotensin II AT1 receptor genes in rat hearts is regulated by steroids but not by angiotensin II. *J Hypertens* 13(7):763-9.

DENAULT, J. B., A. CLAING, P. D'ORLEANS-JUSTE, T. SAWAMURA, T. KIDO, T. MASAKI, and R. LEDUC

1995 Processing of proendothelin-1 by human furin convertase. *FEBS Lett* 362(3):276-80.

DETAINT, D., D. MESSIKA-ZEITOUN, H. H. CHEN, A. ROSSI, J. F. AVIERINOS, C. SCOTT, J. C. BURNETT, JR., and M. ENRIQUEZ-SARANO

2006 Association of B-type natriuretic peptide activation to left ventricular end-systolic remodeling in organic and functional mitral regurgitation. *Am J Cardiol* 97(7):1029-34.

DIETZ, J. R.

1984 Release of natriuretic factor from rat heart-lung preparation by atrial distension. *Am J Physiol* 247(6 Pt 2):R1093-6.

DIETZ, J. R.

2005 Mechanisms of atrial natriuretic peptide secretion from the atrium. *Cardiovasc Res* 68(1):8-17.

DOI, T., T. SAKODA, T. AKAGAMI, T. NAKA, Y. MORI, T. TSUJINO, T. MASUYAMA, and M. OHYANAGI

2008 Aldosterone induces interleukin-18 through endothelin-1, angiotensin II, Rho/Rho-kinase, and PPARs in cardiomyocytes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 295(3):H1279-H1287.

DONATO, A. J., L. B. GANO, I. ESKURZA, A. E. SILVER, P. E. GATES, K. JABLONSKI, and D. R. SEALS

2009 Vascular endothelial dysfunction with aging: endothelin-1 and endothelial nitric oxide synthase. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 297(1):H425-32.

DUPUIS, J., C. A. GORESKY, and D. J. STEWART

1994 Pulmonary removal and production of endothelin in the anesthetized dog. *J Appl Physiol* 76(2):694-700.

DUPUIS, J., D. J. STEWART, P. CERNACEK, and G. GOSSELIN

1996 Human pulmonary circulation is an important site for both clearance and production of endothelin-1. *Circulation* 94(7):1578-84.

DZAU, V J, W S COLUCCI, N K HOLLENBERG, and G H WILLIAMS

1981 Relation of the renin-angiotensin-aldosterone system to clinical state in congestive heart failure. *Circulation* 63(3):645-51.

ECONOMOS, K., P. C. MACDONALD, and M. L. CASEY

1992 Endothelin-1 gene expression and protein biosynthesis in human endometrium: potential modulator of endometrial blood flow. *J Clin Endocrinol Metab* 74(1):14-9.

EHRENREICH, H., R. W. ANDERSON, C. H. FOX, P. RIECKMANN, G. S. HOFFMAN, W. D. TRAVIS, J. E. COLIGAN, J. H. KEHRL, and A. S. FAUCI

1990 Endothelins, peptides with potent vasoactive properties, are produced by human macrophages. *J Exp Med* 172(6):1741-8.

EITEL, INGO, MAREK NOWAK, CLEMENS STEHL, VOLKER ADAMS, GEORG FUERNAU, LYSANN HILDEBRAND, STEFFEN DESCH, GERHARD SCHULER, and HOLGER THIELE

2010 Endothelin-1 release in acute myocardial infarction as a predictor of long-term prognosis and no-reflow assessed by contrast-enhanced magnetic resonance imaging. *Am Heart J* 159(5):882-890.

ELSE, R. W., and J. R. HOLMES

1971 Pathological changes in atrial fibrillation in the horse. *Equine Vet J* 3(1):56-64.

EMORI, T., Y. HIRATA, K. OHTA, K. KANNO, S. EGUCHI, T. IMAI, M. SHICHIRI, and F. MARUMO

1991 Cellular mechanism of endothelin-1 release by angiotensin and vasopressin. *Hypertension* 18(2):165-70.

EMOTO, N., and M. YANAGISAWA

1995 Endothelin-converting enzyme-2 is a membrane-bound, phosphoramidon-sensitive metalloprotease with acidic pH optimum. *J Biol Chem* 270(25):15262-8.

ENGELMANN, M. D., L. NIEMANN, I. L. KANSTRUP, K. SKAGEN, and J. GODTFREDSSEN

2005 Natriuretic peptide response to dynamic exercise in patients with atrial fibrillation. *Int J Cardiol* 105(1):31-9.

EVANS, D. L., JOANNE E. RAINGER, D. R. HODGSON, M. D. EATON, and R. J. ROSE
1995 The effects of intensity and duration of training on blood lactate concentrations during and after exercise. *Equine Vet J* 27(S18):422-425.

EVANS, D. L., and R. J. ROSE
1988 Cardiovascular and respiratory responses in Thoroughbred horses during treadmill exercise. *J Exp Biol* 134:397-408.

FARUQI, T. R., D. GOMEZ, X. R. BUSTELO, D. BAR-SAGI, and N. C. REICH
2001 Rac1 mediates STAT3 activation by autocrine IL-6. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98(16):9014-9.

FERRARI, R., I. S. ANAND, C. CECONI, F. DE GIULI, P. A. POOLE-WILSON, and P. HARRIS
1996 Neuroendocrine response to standing and mild exercise in patients with untreated severe congestive heart failure and chronic constrictive pericarditis. *Heart* 76(1):50-5.

FIEBELER, A., F. SCHMIDT, D. N. MULLER, J. K. PARK, R. DECHEND, M. BIERINGER, E. SHAGDARSUREN, V. BREU, H. HALLER, and F. C. LUFT
2001 Mineralocorticoid receptor affects AP-1 and nuclear factor-kappaB activation in angiotensin II-induced cardiac injury. *Hypertension* 37(2 Pt 2):787-93.

FORSSMANN, W. G., R. RICHTER, and M. MEYER
1998 The endocrine heart and natriuretic peptides: histochemistry, cell biology, and functional aspects of the renal urodilatin system. *Histochem Cell Biol* 110(4):335-57.

FRANZ, M., W. WOLOSZCZUK, and W. H. HORL
2001 Plasma concentration and urinary excretion of N-terminal proatrial natriuretic peptides in patients with kidney diseases. *Kidney Int* 59(5):1928-34.

FREEMAN, E. J., M. L. RUEHR, and R. V. DORMAN
1998 ANG II-induced translocation of cytosolic PLA2 to the nucleus in vascular smooth muscle cells. *Am J Physiol* 274(1 Pt 1):C282-8.

FUJII, Y., K. ORITO, M. MUTO, and Y. WAKAO

2007 Modulation of the tissue reninangiotensin-aldosterone system in dogs with chronic mild regurgitation through the mitral valve. *Am J Vet Res* 68(10):1045-50.

FUKUDA, YUKA, YUKIO HIRATA, HIROKI YOSHIMI, TAKATSUGU KOJIMA, YOHNOSUKE KOBAYASHI, MASASHI YANAGISAWA, and TOMOH MASAKI

1988 Endothelin is a potent secretagogue for atrial natriuretic peptide in cultured rat atrial myocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 155(1):167-172.

FUKUMOTO, S., K. HANAZONO, T. MIYASHO, Y. ENDO, T. KADOSAWA, H. IWANO, and T. UCHIDE

2014 Serum big endothelin-1 as a clinical marker for cardiopulmonary and neoplastic diseases in dogs. *Life Sci*.

FUKURODA, T., T. FUJIKAWA, S. OZAKI, K. ISHIKAWA, M. YANO, and M. NISHIKIBE

1994 Clearance of Circulating Endothelin-1 by ETB Receptors in Rats. *Biochem Biophys Res Commun* 199(3):1461-1465.

FULLER, F., J. G. PORTER, A. E. ARFSTEN, J. MILLER, J. W. SCHILLING, R. M. SCARBOROUGH, J. A. LEWICKI, and D. B. SCHENK

1988 Atrial natriuretic peptide clearance receptor. Complete sequence and functional expression of cDNA clones. *J Biol Chem* 263(19):9395-401.

FUNDER, J. W.

2005 The nongenomic actions of aldosterone. *Endocr Rev* 26(3):313-21.

FURST, R., M. F. BUBIK, P. BIHARI, B. A. MAYER, A. G. KHANDOGA, F. HOFFMANN, M. REHBERG, F. KROMBACH, S. ZAHLER, and A. M. VOLLMAR

2008 Atrial natriuretic peptide protects against histamine-induced endothelial barrier dysfunction in vivo. *Mol Pharmacol* 74(1):1-8.

GALATIUS-JENSEN, SØREN, HENRIK WROBLEWSKI, CLAUS EMMELUTH, PETER BIE, STIG HAUNSØ, and JENS KASTRUP

1996 Plasma endothelin in congestive heart failure: A predictor of cardiac death? *J Card Fail* 2(2):71-76.

GAO, S., Y. B. OH, A. SHAH, W. H. PARK, and S. H. KIM

2011 Suppression of ANP secretion by somatostatin through somatostatin receptor type 2. *Peptides* 32(6):1179-86.

GARDNER, D. G., C. F. DESCHEPPER, W. F. GANONG, S. HANE, J. FIDDES, J. D. BAXTER, and J. LEWICKI

1986 Extra-atrial expression of the gene for atrial natriuretic factor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 83(18):6697-701.

GARDNER, D. G., G. P. VLASUK, J. D. BAXTER, J. C. FIDDES, and J. A. LEWICKI

1987 Identification of atrial natriuretic factor gene transcripts in the central nervous system of the rat. *Proc Natl Acad Sci U S A* 84(8):2175-9.

GARDNER, J. P., G. TOKUDOME, H. TOMONARI, E. MAHER, D. HOLLANDER, and A. AVIV

1992 Endothelin-induced calcium responses in human vascular smooth muscle cells. *Am J Physiol* 262(1 Pt 1):C148-55.

GEHLEN, H.

2010 *Pferdekardiologie*: Schülersche Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG, Hannover

GEHLEN, H., A. HAUBOLD, and P. STADLER

2007a [Reference values for echocardiographic parameters of trained and untrained Icelandic horses]. *Dtsch Tierarztl Wochenschr* 114(10):374-7.

GEHLEN, H., S. MARNETTE, K. ROHN, L. KREIENBROCK, and P. STADLER
2005 [Precision-controlled echocardiographic left ventricular function parameters by repeated measurement on three consecutive days in trained and untrained warmblood horses].
Dtsch Tierarztl Wochenschr 112(2):48-54.

GEHLEN, H., T. SUNDERMANN, K. ROHN, and P. STADLER
2007b Plasma atrial natriuretic peptide concentration in warmblood horses with heart valve regurgitations. *J Vet Cardiol* 9(2):99-101.

GEHLEN, H., T. SUNDERMANN, K. ROHN, and P. STADLER
2008 Aldosterone plasma concentration in horses with heart valve insufficiencies. *Res Vet Sci* 85(2):340-4.

GEHLEN, H.; STADLER P.; DEEGEN, E.
1998 Grading of equine mitral valve insufficiency by colour flow doppler echocardiography. *Pferdeheilkunde* 14(4 (Juli/August)):303-314.

GEKLE, M., R. FREUDINGER, S. MILDENBERGER, K. SCHENK, I. MARSCHITZ, and H. SCHRAMEK
2001 Rapid activation of Na⁺/H⁺-exchange in MDCK cells by aldosterone involves MAP-kinase ERK1/2. *Pflugers Arch* 441(6):781-6.

GERBER, I. L., R. A. STEWART, M. E. LEGGET, T. M. WEST, R. L. FRENCH, T. M. SUTTON, T. G. YANDLE, J. K. FRENCH, A. M. RICHARDS, and H. D. WHITE
2003 Increased plasma natriuretic peptide levels reflect symptom onset in aortic stenosis. *Circulation* 107(14):1884-90.

GIAID, A., J. M. POLAK, V. GAITONDE, Q. A. HAMID, G. MOSCOSO, S. LEGON, D. UWANOGHO, M. RONCALLI, O. SHINMI, T. SAWAMURA, and ET AL.
1991 Distribution of endothelin-like immunoreactivity and mRNA in the developing and adult human lung. *Am J Respir Cell Mol Biol* 4(1):50-8.

GIANNESSI, D., S. DEL RY, and R. L. VITALE

2001 The role of endothelins and their receptors in heart failure. *Pharmacol Res* 43(2):111-26.

GILES, L. V., D. E. WARBURTON, B. T. ESCH, M. N. FEDORUK, J. L. RUPERT, and J. E. TAUNTON

2011 The effects of exercise in hypoxic and normoxic conditions on endothelin-1 and arterial compliance. *J Sports Sci*.

GIROUD, C. J., J. STACHENKO, and E. H. VENNING

1956 Secretion of aldosterone by the zona glomerulosa of rat adrenal glands incubated in vitro. *Proc Soc Exp Biol Med* 92(1):154-8.

GLENN, D. J., D. RAHMUTULA, M. NISHIMOTO, F. LIANG, and D. G. GARDNER

2009 Atrial natriuretic peptide suppresses endothelin gene expression and proliferation in cardiac fibroblasts through a GATA4-dependent mechanism. *Cardiovasc Res* 84(2):209-17.

GOETTE, A., M. ARNDT, C. ROCKEN, A. SPIESS, T. STAACK, J. C. GELLER, C. HUTH, S. ANSORGE, H. U. KLEIN, and U. LENDECKEL

2000 Regulation of angiotensin II receptor subtypes during atrial fibrillation in humans. *Circulation* 101(23):2678-81.

GOETZE, J. P.

2010 Biosynthesis of cardiac natriuretic peptides. *Results Probl Cell Differ* 50:97-120.

GONZALEZ, M., L. LOBOS, F. CASTILLO, L. GALLEGUILLOS, N. C. LOPEZ, and L. MICHEA

2005 High-salt diet inhibits expression of angiotensin type 2 receptor in resistance arteries. *Hypertension* 45(5):853-9.

GOWER, W. R., JR., S. PREMARATNE, R. W. MCCUEN, A. ARIMURA, Q. MCAFEE,
and M. L. SCHUBERT

2003 Gastric atrial natriuretic peptide regulates endocrine secretion in antrum and fundus of human and rat stomach. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 284(4):G638-45.

GRAY, M. O., C. S. LONG, J. E. KALINYAK, H. T. LI, and J. S. KARLINER

1998 Angiotensin II stimulates cardiac myocyte hypertrophy via paracrine release of TGF-beta 1 and endothelin-1 from fibroblasts. *Cardiovasc Res* 40(2):352-63.

GRECO, D. S., B. BILLER, and C. H. VAN LIEW

2003 Measurement of plasma atrial natriuretic peptide as an indicator of prognosis in dogs with cardiac disease. *Can Vet J* 44(4):293-7.

GREISER, M., W. J. LEDERER, and U. SCHOTTEN

2011 Alterations of atrial Ca(2+) handling as cause and consequence of atrial fibrillation. *Cardiovasc Res* 89(4):722-33.

GRIENDLING, K. K., B. LASSEGUE, and R. W. ALEXANDER

1996 Angiotensin receptors and their therapeutic implications. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 36:281-306.

GRIENDLING, K. K., S. E. RITTENHOUSE, T. A. BROCK, L. S. EKSTEIN, M. A. GIMBRONE, JR., and R. W. ALEXANDER

1986 Sustained diacylglycerol formation from inositol phospholipids in angiotensin II-stimulated vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem* 261(13):5901-6.

GROENNING, B. A., J. C. NILSSON, L. SONDERGAARD, A. KJAER, H. B. LARSSON,
and P. R. HILDEBRANDT

2001 Evaluation of impaired left ventricular ejection fraction and increased dimensions by multiple neurohumoral plasma concentrations. *Eur J Heart Fail* 3(6):699-708.

GROSS, V., W. H. SCHUNCK, H. HONECK, A. F. MILIA, E. KARGEL, T. WALTHER, M. BADER, T. INAGAMI, W. SCHNEIDER, and F. C. LUFT

2000 Inhibition of pressure natriuresis in mice lacking the AT2 receptor. *Kidney Int* 57(1):191-202.

GUDER, G., J. BAUERSACHS, S. FRANTZ, D. WEISMANN, B. ALLOLIO, G. ERTL, C. E. ANGERMANN, and S. STORK

2007 Complementary and incremental mortality risk prediction by cortisol and aldosterone in chronic heart failure. *Circulation* 115(13):1754-61.

GUTHRIE, G. P., JR.; CECIL; DARDEN; KOTCHEN

1982 Dynamics of Renin and Aldosterone in the Thoroughbred horse. *General and Comparative Endocrinology* 48:296-299.

GUTKOWSKA, J., M. CANTIN, J. GENEST, and P. SIROIS

1987 Release of immunoreactive atrial natriuretic factor from the isolated perfused rat lung. *FEBS Lett* 214(1):17-20.

GUTKOWSKA, J., and M. NEMER

1989 Structure, expression, and function of atrial natriuretic factor in extraatrial tissues. *Endocr Rev* 10(4):519-36.

HAASS, MARKUS, RAINER DIETZ, THOMAS A. FISCHER, RUDOLF E. LANG, and WOLFGANG KÜBLER

1988 Role of right and left atrial dimensions for release of atrial natriuretic peptide in left-sided valvular heart disease and idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 62(10, Part 1):764-770.

HAGGSTROM, J., K. HANSSON, C. KVART, B. E. KARLBERG, O. VUOLTEENAHO, and K. OLSSON

1997 Effects of naturally acquired decompensated mitral valve regurgitation on the renin-angiotensin-aldosterone system and atrial natriuretic peptide concentration in dogs. *Am J Vet Res* 58(1):77-82.

HARNETT, K. M., and P. BIANCANI

2003 Calcium-dependent and calcium-independent contractions in smooth muscles. *Am J Med* 115 Suppl 3A:24S-30S.

HARRIS, P. J., D. THOMAS, and T. O. MORGAN

1987 Atrial natriuretic peptide inhibits angiotensin-stimulated proximal tubular sodium and water reabsorption. *Nature* 326(6114):697-8.

HEIDRUN GEHLEN, P. STADLER UND E. DEEGEN

1998 Vorschlag zur Standardisierung der Untersuchung von herzkranken Warmblutpferden mit einem kardiologischen Beurteilungssystem. *Pferdeheilkunde* 14 (2 (März/April)): 107-114.

HENSLEY, K., K. A. ROBINSON, S. P. GABBITA, S. SALSMAN, and R. A. FLOYD

2000 Reactive oxygen species, cell signaling, and cell injury. *Free Radic Biol Med* 28(10):1456-62.

HERMAN, J. P., C. M. DOLGAS, R. MARCINEK, and M. C. LANGUB, JR.

1996a Expression and glucocorticoid regulation of natriuretic peptide clearance receptor (NPR-C) mRNA in rat brain and choroid plexus. *J Chem Neuroanat* 11(4):257-65.

HERMAN, J. P., C. M. DOLGAS, D. RUCKER, and M. C. LANGUB, JR.

1996b Localization of natriuretic peptide-activated guanylate cyclase mRNAs in the rat brain. *J Comp Neurol* 369(2):165-87.

HERMAN, T. S., G. M. FIMOIGNARI, and I. S. EDELMAN

1968 Studies on renal aldosterone-binding proteins. *J Biol Chem* 243(14):3849-56.

HICKEY, K. A., G. RUBANYI, R. J. PAUL, and R. F. HIGHSMITH

1985 Characterization of a coronary vasoconstrictor produced by cultured endothelial cells. *Am J Physiol* 248(5 Pt 1):C550-6.

HINSON, J. P., S. KAPAS, R. TEJA, and G. P. VINSON

1991 Effect of the endothelins on aldosterone secretion by rat zona glomerulosa cells in vitro. *J Steroid Biochem Mol Biol* 40(1-3):437-9.

HIRANYACHATTADA, S., and P. J. HARRIS

1996 Modulation by locally produced luminal angiotensin II of proximal tubular sodium reabsorption via an AT1 receptor. *Br J Pharmacol* 119(4):617-8.

HIRATA, Y., T. EMORI, S. EGUCHI, K. KANNO, T. IMAI, K. OHTA, and F. MARUMO

1993 Endothelin receptor subtype B mediates synthesis of nitric oxide by cultured bovine endothelial cells. *J Clin Invest* 91(4):1367-73.

HIRATA, Y., M. TOMITA, S. TAKADA, and H. YOSHIMI

1985 Vascular receptor binding activities and cyclic GMP responses by synthetic human and rat atrial natriuretic peptides (ANP) and receptor down-regulation by ANP. *Biochem Biophys Res Commun* 128(2):538-46.

HOFBAUER, K. G., H. ZSCHIEDRICH, and F. GROSS

1976 Regulation of renin release and intrarenal formation of angiotensin. Studies in the isolated perfused rat kidney. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 3(1):73-93.

HOLLISTER, A. S., R. J. RODEHEFFER, F. J. WHITE, J. R. POTTS, T. IMADA, and T. INAGAMI

1989 Clearance of atrial natriuretic factor by lung, liver, and kidney in human subjects and the dog. *J Clin Invest* 83(2):623-8.

HORI, Y., S. YAMANO, K. KANAI, F. HOSHI, N. ITOH, and S. HIGUCHI

2011 Clinical implications of measurement of plasma atrial natriuretic peptide concentration in dogs with spontaneous heart disease. *J Am Vet Med Assoc* 239(8):1077-83.

HORIUCHI, M., M. AKISHITA, and V. J. DZAU

1998 Molecular and cellular mechanism of angiotensin II-mediated apoptosis. *Endocr Res* 24(3-4):307-14.

HORIUCHI, M., W. HAYASHIDA, M. AKISHITA, K. TAMURA, L. DAVIET, J. Y. LEHTONEN, and V. J. DZAU

1999 Stimulation of different subtypes of angiotensin II receptors, AT1 and AT2 receptors, regulates STAT activation by negative crosstalk. *Circ Res* 84(8):876-82.

HU, R. M., E. R. LEVIN, A. PEDRAM, and H. J. FRANK

1992 Atrial natriuretic peptide inhibits the production and secretion of endothelin from cultured endothelial cells. Mediation through the C receptor. *J Biol Chem* 267(24):17384-9.

HU, R. M., E. R. LEVIN, A. PEDRAM, and H. J. FRANK

1993 Insulin stimulates production and secretion of endothelin from bovine endothelial cells. *Diabetes* 42(2):351-8.

HUANG, X. C., E. M. RICHARDS, and C. SUMNERS

1996 Mitogen-activated protein kinases in rat brain neuronal cultures are activated by angiotensin II type 1 receptors and inhibited by angiotensin II type 2 receptors. *J Biol Chem* 271(26):15635-41.

HULKS, G., and N. C. THOMSON

1994 High dose inhaled atrial natriuretic peptide is a bronchodilator in asthmatic subjects. *Eur Respir J* 7(9):1593-7.

HUNYADY, L., and K. J. CATT

2006 Pleiotropic AT1 receptor signaling pathways mediating physiological and pathogenic actions of angiotensin II. *Mol Endocrinol* 20(5):953-70.

ICHIKI, T., M. USUI, M. KATO, Y. FUNAKOSHI, K. ITO, K. EGASHIRA, and A. TAKESHITA

1998 Downregulation of angiotensin II type 1 receptor gene transcription by nitric oxide. *Hypertension* 31(1 Pt 2):342-8.

IKEDA, K., N. EMOTO, S. B. RAHARJO, Y. NURHANTARI, K. SAIKI, M. YOKOYAMA, and M. MATSUO

1999 Molecular identification and characterization of novel membrane-bound metalloprotease, the soluble secreted form of which hydrolyzes a variety of vasoactive peptides. *J Biol Chem* 274(45):32469-77.

INOUE, A., M. YANAGISAWA, S. KIMURA, Y. KASUYA, T. MIYAUCHI, K. GOTO, and T. MASAKI

1989 The human endothelin family: three structurally and pharmacologically distinct isopeptides predicted by three separate genes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 86(8):2863-7.

ITOH, H., S. YAMAMURA, J. A. WARE, S. ZHUANG, S. MII, B. LIU, and K. C. KENT

2001 Differential effects of protein kinase C on human vascular smooth muscle cell proliferation and migration. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 281(1):H359-70.

JANSSON, A., and K. DAHLBORN

1999 Effects of feeding frequency and voluntary salt intake on fluid and electrolyte regulation in athletic horses. *J Appl Physiol* 86(5):1610-6.

JAROLIM, PETR

2006 Serum biomarkers for heart failure. *Cardiovascular Pathology* 15(3):144-149.

JENSEN, B. L., C. SCHMID, and A. KURTZ

1996 Prostaglandins stimulate renin secretion and renin mRNA in mouse renal juxtaglomerular cells. *Am J Physiol* 271(3 Pt 2):F659-69.

JOHANSSON, ANNA M., SARAH Y. GARDNER, CLARKE E. ATKINS, D. HEATH LAFEVERS, and BABETTA A. BREUHAUS

2007 Cardiovascular Effects of Acute Pulmonary Obstruction in Horses with Recurrent Airway Obstruction. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 21(2):302-307.

JOUGASAKI, M., H. YASUE, K. OKUMURA, M. MUKOYAMA, Y. SAITO, K. NAKAO,
and K. TAKAHASHI

1989 Atrial natriuretic peptide in the ventricles of patients with dilated cardiomyopathy and human foetuses. *Histochem J* 21(12):715-20.

KAHALEH, M. B., and P. S. FAN

1997 Effect of cytokines on the production of endothelin by endothelial cells. *Clin Exp Rheumatol* 15(2):163-7.

KAMBAYASHI, Y., S. BARDHAN, and T. INAGAMI

1993 Peptide growth factors markedly decrease the ligand binding of angiotensin II type 2 receptor in rat cultured vascular smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun* 194(1):478-82.

KANGAWA, K., and H. MATSUO

1984 Purification and complete amino acid sequence of alpha-human atrial natriuretic polypeptide (alpha-hANP). *Biochem Biophys Res Commun* 118(1):131-9.

KAPAS, S., L. A. CAMERON, J. R. PUDDEFOOT, and J. P. HINSON

1996 Studies on endothelin receptors in the zonae fasciculata/reticularis of the rat adrenal cortex: contrast with the zona glomerulosa. *FEBS Lett* 397(2-3):186-90.

KASCHINA, E., and T. UNGER

2003 Angiotensin AT1/AT2 receptors: regulation, signalling and function. *Blood Press* 12(2):70-88.

KATO, M., T. KINUGAWA, H. OMODANI, S. OSAKI, G. U. AHMMED, K. OGINO, I. HISATOME, H. MIYAKODA, and M. D. THAMES

1996 Responses of plasma norepinephrine and renin-angiotensin-aldosterone system to dynamic exercise in patients with congestive heart failure. *J Card Fail* 2(2):103-10.

KATWA, L. C., A. RATAJSKA, J. P. CLEUTJENS, Y. SUN, G. ZHOU, S. J. LEE, and K. T. WEBER

1995 Angiotensin converting enzyme and kininase-II-like activities in cultured valvular interstitial cells of the rat heart. *Cardiovasc Res* 29(1):57-64.

KIEMER, A. K., M. D. LEHNER, T. HARTUNG, and A. M. VOLLMAR

2002 Inhibition of cyclooxygenase-2 by natriuretic peptides. *Endocrinology* 143(3):846-52.

KIJIMA, K., H. MATSUBARA, S. MURASAWA, K. MARUYAMA, Y. MORI, and M. INADA

1995 Gene transcription of angiotensin II type 2 receptor is repressed by growth factors and glucocorticoids in PC12 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 216(1):359-66.

KIJIMA, K., H. MATSUBARA, S. MURASAWA, K. MARUYAMA, Y. MORI, N. OHKUBO, I. KOMURO, Y. YAZAKI, T. IWASAKA, and M. INADA

1996 Mechanical stretch induces enhanced expression of angiotensin II receptor subtypes in neonatal rat cardiac myocytes. *Circ Res* 79(4):887-97.

KISCH, B.

1956 Electron microscopy of the atrium of the heart. I. Guinea pig. *Exp Med Surg* 14(2-3):99-112.

KJAER, A., J. APPEL, P. HILDEBRANDT, and C. L. PETERSEN

2004 Basal and exercise-induced neuroendocrine activation in patients with heart failure and in normal subjects. *Eur J Heart Fail* 6(1):29-39.

KLOOG, Y., I. AMBAR, M. SOKOLOVSKY, E. KOCHVA, Z. WOLLBERG, and A. BDOLAH

1988 Sarafotoxin, a novel vasoconstrictor peptide: phosphoinositide hydrolysis in rat heart and brain. *Science* 242(4876):268-70.

KOCHEGURA, T., A. OVCHINNIKOV, P. MAKAREVICH, L. GIGUNOVA, Y. LAKHOVA, Y.E. PARFYONOVA, and F. AGEEV

2013 Circulating level of endothelin-1 in patients with chronic systolic heart failure correlates with the degree of diastolic dysfunction and type 2 diabetes co-morbidity. *Eur Heart J* 34 (suppl 1).

KOHOUT, T. A., and T. B. ROGERS

1995 Angiotensin II activates the Na⁺/HCO₃⁻ symport through a phosphoinositide-independent mechanism in cardiac cells. *J Biol Chem* 270(35):20432-8.

KOKKONEN, U. M., S. HYYPPA, and A. R. POSO

1999 Plasma atrial natriuretic peptide during and after repeated exercise under heat exposure. *Equine Vet J Suppl* 30:184-9.

KOKKONEN, U. M., A. R. POSO, S. HYYPPA, P. HUTTUNEN, and J. LEPPALUOTO

2002 Exercise-induced changes in atrial peptides in relation to neuroendocrine responses and fluid balance in the horse. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 49(3):144-50.

KOLLER, K. J., and D. V. GOEDDEL

1992 Molecular biology of the natriuretic peptides and their receptors. *Circulation* 86(4):1081-8.

KOMATSUMOTO, S., and M. NARA

1995 [Changes in the level of endothelin-1 with aging]. *Nihon Ronen Igakkai Zasshi* 32(10):664-9.

KOSUNEN, K. J., and A. J. PAKARINEN

1976 Plasma renin, angiotensin II, and plasma and urinary aldosterone in running exercise. *J Appl Physiol* 41(1):26-9.

KOUREMBANAS, S., P. A. MARSDEN, L. P. MCQUILLAN, and D. V. FALLER

1991 Hypoxia induces endothelin gene expression and secretion in cultured human endothelium. *J Clin Invest* 88(3):1054-7.

KRAMER, B. K., T. W. SMITH, and R. A. KELLY

1991 Endothelin and increased contractility in adult rat ventricular myocytes. Role of intracellular alkalosis induced by activation of the protein kinase C-dependent Na(+)-H+ exchanger. *Circ Res* 68(1):269-79.

KRUG, A. W., C. SCHUSTER, B. GASSNER, R. FREUDINGER, S. MILDENBERGER, J. TROPMAIR, and M. GEKLE

2002 Human epidermal growth factor receptor-1 expression renders Chinese hamster ovary cells sensitive to alternative aldosterone signaling. *J Biol Chem* 277(48):45892-7.

KUNISADA, K., S. NEGORO, E. TONE, M. FUNAMOTO, T. OSUGI, S. YAMADA, M. OKABE, T. KISHIMOTO, and K. YAMAUCHI-TAKIHARA

2000 Signal transducer and activator of transcription 3 in the heart transduces not only a hypertrophic signal but a protective signal against doxorubicin-induced cardiomyopathy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97(1):315-9.

KURIHARA, H., M. YOSHIZUMI, T. SUGIYAMA, F. TAKAKU, M. YANAGISAWA, T. MASAKI, M. HAMAOKI, H. KATO, and Y. YAZAKI

1989 Transforming growth factor-beta stimulates the expression of endothelin mRNA by vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 159(3):1435-40.

KURISU, S., R. OZONO, T. OSHIMA, M. KAMBE, T. ISHIDA, H. SUGINO, H. MATSUURA, K. CHAYAMA, Y. TERANISHI, O. IBA, K. AMANO, and H. MATSUBARA

2003 Cardiac angiotensin II type 2 receptor activates the kinin/NO system and inhibits fibrosis. *Hypertension* 41(1):99-107.

KURTZ, A., R. DELLA BRUNA, J. PFEILSCHIFTER, R. TAUGNER, and C. BAUER

1986 Atrial natriuretic peptide inhibits renin release from juxtaglomerular cells by a cGMP-mediated process. *Proc Natl Acad Sci U S A* 83(13):4769-73.

LATINI, ROBERTO, SERGE MASSON, INDER ANAND, MONICA SALIO, ALLEN HESTER, DIANNE JUDD, SIMONA BARLERA, ALDO P MAGGIONI, GIANNI TOGNONI, and JAY N COHN

2004 The comparative prognostic value of plasma neurohormones at baseline in patients with heart failure enrolled in Val-HeFT. *Eur Heart J* 25(4):292-299.

LEE, S. J., S. Z. KIM, X. CUI, S. H. KIM, K. S. LEE, Y. J. CHUNG, and K. W. CHO

2000 C-type natriuretic peptide inhibits ANP secretion and atrial dynamics in perfused atria: NPR-B-cGMP signaling. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 278(1):H208-21.

LEE, Y. S., J. A. KIM, K. L. KIM, H. S. JANG, J. M. KIM, J. Y. LEE, I. S. SHIN, J. S. LEE, W. SUH, J. H. CHOI, E. S. JEON, J. BYUN, and D. K. KIM

2004 Aldosterone upregulates connective tissue growth factor gene expression via p38 MAPK pathway and mineralocorticoid receptor in ventricular myocytes. *J Korean Med Sci* 19(6):805-11.

LEITE-MOREIRA, A. F., and C. BRAS-SILVA

2004 Inotropic effects of ETB receptor stimulation and their modulation by endocardial endothelium, NO, and prostaglandins. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 287(3):H1194-9.

LEITE-MOREIRA, ADELINO F.;BRAS-SILVA, CARMEN

2003 Inotropic effects of ETB receptor stimulation and their modulation by endocardial endothelium, NO, and prostaglandins. *American Journal of Physiology - Heart & Circulatory Physiology* 287(3):H1194-9.

LEMARIE, C. A., P. PARADIS, and E. L. SCHIFFRIN

2008 New insights on signaling cascades induced by cross-talk between angiotensin II and aldosterone. *J Mol Med (Berl)* 86(6):673-8.

LEMARIE, C. A., and E. L. SCHIFFRIN

2010 The angiotensin II type 2 receptor in cardiovascular disease. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* 11(1):19-31.

LENTZ, K. E., L. T. SKEGGS, JR., K. R. WOODS, J. R. KAHN, and N. P. SHUMWAY
1956 The amino acid composition of hypertensin II and its biochemical relationship to hypertensin I. *J Exp Med* 104(2):183-91.

LENZ, T., M. NADANSKY, J. GOSSMANN, G. OREMEK, and H. GEIGER
1998 Exhaustive exercise-induced tissue hypoxia does not change endothelin and big endothelin plasma levels in normal volunteers. *Am J Hypertens* 11(8 Pt 1):1028-31.

LEOPOLD, J. A., A. DAM, B. A. MARON, A. W. SCRIBNER, R. LIAO, D. E. HANDY, R. C. STANTON, B. PITT, and J. LOSCALZO
2007 Aldosterone impairs vascular reactivity by decreasing glucose-6-phosphate dehydrogenase activity. *Nat Med* 13(2):189-97.

LESKINEN, H., O. VUOLTEENAHO, J. LEPPALUOTO, and H. RUSKOAHO
1995 Role of nitric oxide on cardiac hormone secretion: effect of NG-nitro-L-arginine methyl ester on atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide release. *Endocrinology* 136(3):1241-9.

LETIZIA, C., F. BARILLA, S. CERCI, C. D'AMBROSIO, S. COASSIN, A. DE CIOCCHIS, M. A. MASTROIANNI, P. P. CAMPA, and D. SCAVO
1995 Dynamic exercise induces elevation of plasma levels of endothelin-1 in patients with coronary artery disease. *Angiology* 46(9):819-26.

LI, D., J. F. WEN, J. Y. JIN, H. JIN, H. S. ANN, S. Z. KIM, S. H. KIM, H. S. LEE, and K. W. CHO
2003 Histamine inhibits atrial myocytic ANP release via H2 receptor-cAMP-protein kinase signaling. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 285(2):R380-93.

LI, J., J. CULMAN, H. HORTNAGL, Y. ZHAO, N. GEROVA, M. TIMM, A. BLUME, M. ZIMMERMANN, K. SEIDEL, U. DIRNAGL, and T. UNGER
2005 Angiotensin AT2 receptor protects against cerebral ischemia-induced neuronal injury. *FASEB J* 19(6):617-9.

LI, P., D. WANG, J. LUCAS, S. OPARIL, D. XING, X. CAO, L. NOVAK, M. B. RENFROW, and Y. F. CHEN

2008 Atrial natriuretic peptide inhibits transforming growth factor beta-induced Smad signaling and myofibroblast transformation in mouse cardiac fibroblasts. *Circ Res* 102(2):185-92.

LI, Q., M. FEENSTRA, M. PFAFFENDORF, L. EIJSMAN, and P. A. VAN ZWIETEN

1997 Comparative vasoconstrictor effects of angiotensin II, III, and IV in human isolated saphenous vein. *J Cardiovasc Pharmacol* 29(4):451-6.

LIN, L. L., A. Y. LIN, and J. L. KNOPF

1992 Cytosolic phospholipase A2 is coupled to hormonally regulated release of arachidonic acid. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89(13):6147-51.

LIN, X., J. HANZE, F. HEESE, R. SODMANN, and R. E. LANG

1995 Gene expression of natriuretic peptide receptors in myocardial cells. *Circ Res* 77(4):750-8.

LIU, C., Y. CHEN, Y. KANG, Z. NI, H. XIU, J. GUAN, and K. LIU

2011 Glucocorticoids improve renal responsiveness to atrial natriuretic peptide by up-regulating natriuretic peptide receptor-A expression in the renal inner medullary collecting duct in decompensated heart failure. *J Pharmacol Exp Ther* 339(1):203-9.

LIU, Z. L., C. E. WIEDMEYER, D. D. SISSON, and P. F. SOLTER

2002 Cloning and characterization of feline brain natriuretic peptide. *Gene* 292(1-2):183-90.

LOPES, E. S., M. SUMITANI, L. JULIANO, W. T. BERALDO, and J. L. PESQUERO

1997 Distribution of tonin- and kallikrein-like activities in rat brain. *Brain Res* 769(1):152-7.

LTEIF, AMALE, PRASHANT VAISHNAVA, ALAIN D. BARON, and KIEREN J. MATHER

2007 Endothelin Limits Insulin Action in Obese/Insulin-Resistant Humans. *Diabetes* 56(3):728-734.

LUSCHER, T. F., and M. BARTON

2000 Endothelins and endothelin receptor antagonists: therapeutic considerations for a novel class of cardiovascular drugs. *Circulation* 102(19):2434-40.

MAACK, T., M. SUZUKI, F. A. ALMEIDA, D. NUSSENZVEIG, R. M. SCARBOROUGH, G. A. MCENROE, and J. A. LEWICKI

1987 Physiological role of silent receptors of atrial natriuretic factor. *Science* 238(4827):675-8.

MACARTHUR, H., T. D. WARNER, E. G. WOOD, R. CORDER, and J. R. VANE

1994 Endothelin-1 release from endothelial cells in culture is elevated both acutely and chronically by short periods of mechanical stretch. *Biochem Biophys Res Commun* 200(1):395-400.

MACFARLAND, R. T., B. D. ZELUS, and J. A. BEAVO

1991 High concentrations of a cGMP-stimulated phosphodiesterase mediate ANP-induced decreases in cAMP and steroidogenesis in adrenal glomerulosa cells. *J Biol Chem* 266(1):136-42.

MAEDA, S., T. MIYAUCHI, K. GOTO, and M. MATSUDA

1994 Alteration of plasma endothelin-1 by exercise at intensities lower and higher than ventilatory threshold. *J Appl Physiol* 77(3):1399-402.

MAEDA, S., T. MIYAUCHI, M. IEMITSU, J. SUGAWARA, Y. NAGATA, and K. GOTO

2004 Resistance exercise training reduces plasma endothelin-1 concentration in healthy young humans. *J Cardiovasc Pharmacol* 44 Suppl 1:S443-6.

MAEDA, S., J. SUGAWARA, M. YOSHIZAWA, T. OTSUKI, N. SHIMOJO, S. JESMIN, R. AJISAKA, T. MIYAUCHI, and H. TANAKA

2009 Involvement of endothelin-1 in habitual exercise-induced increase in arterial compliance. *Acta Physiol (Oxf)* 196(2):223-9.

MALEK, A., and S. IZUMO

1992 Physiological fluid shear stress causes downregulation of endothelin-1 mRNA in bovine aortic endothelium. *Am J Physiol* 263(2 Pt 1):C389-96.

MALHOTRA, R., J. SADOSHIMA, F. C. BROSIUS, 3RD, and S. IZUMO

1999 Mechanical stretch and angiotensin II differentially upregulate the renin-angiotensin system in cardiac myocytes In vitro. *Circ Res* 85(2):137-46.

MANABE, I., T. SHINDO, and R. NAGAI

2002 Gene expression in fibroblasts and fibrosis: involvement in cardiac hypertrophy. *Circ Res* 91(12):1103-13.

MANNING, P. T., D. SCHWARTZ, N. C. KATSUBE, S. W. HOLMBERG, and P. NEEDLEMAN

1985 Vasopressin-stimulated release of atriopeptin: endocrine antagonists in fluid homeostasis. *Science* 229(4711):395-7.

MARR, CELIA M.; BOWEN, M.

2010 *Cardiology of the horse*: Saunders/Elsevier.

MARRERO, M. B., B. SCHIEFFER, W. G. PAXTON, L. HEERDT, B. C. BERK, P. DELAFONTAINE, and K. E. BERNSTEIN

1995 Direct stimulation of Jak/STAT pathway by the angiotensin II AT1 receptor. *Nature* 375(6528):247-50.

MARSDEN, P. A., and B. M. BRENNER

1992 Transcriptional regulation of the endothelin-1 gene by TNF-alpha. *Am J Physiol* 262(4 Pt 1):C854-61.

MASAKI, T., S. KIMURA, M. YANAGISAWA, and K. GOTO

1991 Molecular and cellular mechanism of endothelin regulation. Implications for vascular function. *Circulation* 84(4):1457-68.

MASCARENO, E., M. DHAR, and M. A. SIDDIQUI

1998 Signal transduction and activator of transcription (STAT) protein-dependent activation of angiotensinogen promoter: a cellular signal for hypertrophy in cardiac muscle. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95(10):5590-4.

MASCARENO, E., and M. A. SIDDIQUI

2000 The role of Jak/STAT signaling in heart tissue renin-angiotensin system. *Mol Cell Biochem* 212(1-2):171-5.

MASRI, M., J. F. FREESTONE, K. J. WOLFSHEIMER, and K. SHOEMAKER

1990 Alterations in plasma volume, plasma constituents, renin activity and aldosterone induced by maximal exercise in the horse. *Equine Vet J Suppl* (9):72-7.

MATSAKAS, A., and V. MOUGIOS

2004 Opposite effect of acute aerobic exercise on plasma endothelin levels in trained and untrained men. *Med Sci Monit* 10(10):CR568-71.

MATSUOKA, H., P. J. MULROW, R. FRANCO-SAENZ, and C. H. LI

1981 Stimulation of aldosterone production by beta-melanotropin. *Nature* 291(5811):155-6.

MATSUSHITA, K., Y. NISHIDA, H. HOSOMI, and S. TANAKA

1991 Effects of atrial natriuretic peptide on water and NaCl absorption across the intestine. *Am J Physiol* 260(1 Pt 2):R6-12.

MCGRATH, M. F., and A. J. DE BOLD

2005 Determinants of natriuretic peptide gene expression. *Peptides* 26(6):933-43.

MCKEEVER, K. H.

1998 Effect of exercise on fluid balance and renal function in horses. *Vet Clin North Am Equine Pract* 14(1):23-44.

MCKEEVER, K. H., L. A. ANTAS, and C. F. KEARNS

2002a Endothelin response during and after exercise in horses. *Vet J* 164(1):38-46.

MCKEEVER, K. H., and K. W. HINCHCLIFF

1995 Neuroendocrine control of blood volume, blood pressure and cardiovascular function in horses. *Equine Vet J* 27(S18):77-81.

MCKEEVER, K. H., K. W. HINCHCLIFF, L. M. SCHMALL, S. M. REED, D. R. LAMB, and W. W. MUIR, 3RD

1992 Plasma renin activity and aldosterone and vasopressin concentrations during incremental treadmill exercise in horses. *Am J Vet Res* 53(8):1290-3.

MCKEEVER, K. H., and K. MALINOWSKI

1999 Endocrine response to exercise in young and old horses. *Equine Vet J Suppl* 30:561-6.

MCKEEVER, K. H., R. SCALI, S. GEISER, and C. F. KEARNS

2002b Plasma aldosterone concentration and renal sodium excretion are altered during the first days of training. *Equine Vet J Suppl* (34):524-31.

MCKEEVER, K.H.; GORDON, M.E.; HINCHCLIFF K.W.

2008 Endocrine alterations in the equine athlete. *In* *Equine Exercise Physiology: The Science of Exercise in the Athletic Horse*. A.J.K. Kenneth William Hinchcliff, Raymond J. Geor, ed. Pp. 209.

MCMURRAY, J. J., S. G. RAY, I. ABDULLAH, H. J. DARGIE, and J. J. MORTON

1992 Plasma endothelin in chronic heart failure. *Circulation* 85(4):1374-9.

MEHTA, P. K., and K. K. GRIENGLING

2007 Angiotensin II cell signaling: physiological and pathological effects in the cardiovascular system. *Am J Physiol Cell Physiol* 292(1):C82-97.

MENTLEIN, R., and T. ROOS

1996 Proteases involved in the metabolism of angiotensin II, bradykinin, calcitonin gene-related peptide (CGRP), and neuropeptide Y by vascular smooth muscle cells. *Peptides* 17(4):709-20.

MIAO, L., M. WANG, W. X. YIN, Q. YUAN, Y. X. CHEN, B. FLEISCHMANN, J. HESCHELER, and G. JI

2010 Atrial natriuretic peptide regulates Ca channel in early developmental cardiomyocytes. *PLoS One* 5(1):e8847.

MICHELAKIS, A. M., and R. HORTON

1970 The relationship between plasma renin and aldosterone in normal man. *Circ Res* 27(1 Suppl 1):185-194.

MIFUNE, H., S. SUZUKI, Y. NODA, S. MOHRI, and K. MOCHIZUKI

1991 Fine structure of atrial natriuretic peptide(ANP)-granules in the atrial cardiocytes in the pig, cattle and horse. *J Vet Med Sci* 53(4):561-8.

MIHAILIDOU, A. S.

2005 Nongenomic cardiovascular actions of aldosterone: a receptor for all seasons? *Endocrinology* 146(3):971-2.

MIHAILIDOU, A. S., and J. W. FUNDER

2005 Nongenomic effects of mineralocorticoid receptor activation in the cardiovascular system. *Steroids* 70(5-7):347-51.

MILLER, W. L., M. M. REDFIELD, and J. C. BURNETT, JR.

1989 Integrated cardiac, renal, and endocrine actions of endothelin. *J Clin Invest* 83(1):317-20.

MIN, L. J., M. MOGI, J. IWANAMI, J. M. LI, A. SAKATA, T. FUJITA, K. TSUKUDA, M. IWAI, and M. HORIUCHI

2007 Cross-talk between aldosterone and angiotensin II in vascular smooth muscle cell senescence. *Cardiovasc Res* 76(3):506-16.

MOE, O., A. TEJEDOR, W. B. CAMPBELL, R. J. ALPERN, and W. L. HENRICH

1991 Effects of endothelin on in vitro renin secretion. *Am J Physiol* 260(4 Pt 1):E521-5.

MONTIEL, M., S. BARKER, G. P. VINSON, and E. JIMENEZ

1993 Angiotensin II receptor isoforms in the rat adrenal gland: studies with the selective subtype antagonists DuP 753 and CGP42112A. *J Mol Endocrinol* 11(1):69-75.

MOREL, G., J. G. CHABOT, T. GARCIA-CABALLERO, F. GOSSARD, F. DIHL, M. BELLES-ISLES, and S. HEISLER

1988 Synthesis, internalization, and localization of atrial natriuretic peptide in rat adrenal medulla. *Endocrinology* 123(1):149-58.

MORI, M., Y. YAMANASHI, K. KOBAYASHI, and A. SAKAMOTO

2010 Atrial natriuretic peptide alleviates cardiovascular and metabolic disorders in a rat endotoxemia model: a possible role for its anti-inflammatory properties. *J Nippon Med Sch* 77(6):296-305.

MORISHITA, R., G. H. GIBBONS, R. E. PRATT, N. TOMITA, Y. KANEDA, T. OGIHARA, and V. J. DZAU

1994 Autocrine and paracrine effects of atrial natriuretic peptide gene transfer on vascular smooth muscle and endothelial cellular growth. *J Clin Invest* 94(2):824-9.

MORISHITA, R., J. HIGAKI, and T. OGIHARA

1989 Endothelin stimulates aldosterone biosynthesis by dispersed rabbit adreno-capsular cells. *Biochem Biophys Res Commun* 160(2):628-32.

MULLER, D., C. SCHULZE, H. BAUMEISTER, F. BUCK, and D. RICHTER

1992 Rat insulin-degrading enzyme: cleavage pattern of the natriuretic peptide hormones ANP, BNP, and CNP revealed by HPLC and mass spectrometry. *Biochemistry* 31(45):11138-43.

MULLER, J., and R. HUBER

1969 Effects of sodium deficiency, potassium deficiency and uremia upon the steroidogenic response of rat adrenal tissue to serotonin, potassium ions and adrenocorticotropin. *Endocrinology* 85(1):43-9.

MULROW, P. J., and W. F. GANONG

1961 The effect of hemorrhage upon aldosterone secretion in normal and hypophysectomized dogs. *J Clin Invest* 40:579-85.

MUNOZ, A., C. RIBER, P. TRIGO, C. CASTEJON-RIBER, and F. M. CASTEJON

2010 Dehydration, electrolyte imbalances and renin-angiotensin-aldosterone-vasopressin axis in successful and unsuccessful endurance horses. *Equine Vet J* 42 Suppl 38:83-90.

MURTHY, K. S., and G. M. MAKHLOUF

1999 Identification of the G protein-activating domain of the natriuretic peptide clearance receptor (NPR-C). *J Biol Chem* 274(25):17587-92.

NAGAI, Y., K. MIYATA, G. P. SUN, M. RAHMAN, S. KIMURA, A. MIYATAKE, H. KIYOMOTO, M. KOHNO, Y. ABE, M. YOSHIZUMI, and A. NISHIYAMA

2005 Aldosterone stimulates collagen gene expression and synthesis via activation of ERK1/2 in rat renal fibroblasts. *Hypertension* 46(4):1039-45.

NAGY, P., L. SOLTI, M. KULCSAR, J. REICZIGEL, G. HUSZENICZA, K. ABAVARY, and A. WOLFLING

1998 Progesterone determination in equine plasma using different immunoassays. *Acta Vet Hung* 46(4):501-13.

NAHMIAS, C., and A. D. STROSBURG

1995 The angiotensin AT₂ receptor: searching for signal-transduction pathways and physiological function. *Trends Pharmacol Sci* 16(7):223-5.

NAKAMICHI, K., M. IHARA, M. KOBAYASHI, T. SAEKI, K. ISHIKAWA, and M. YANO

1992 Different distribution of endothelin receptor subtypes in pulmonary tissues revealed by the novel selective ligands BQ-123 and [Ala^{1,3,11,15}]ET-1. *Biochem Biophys Res Commun* 182(1):144-50.

NASJETTI, A., and G. M. MASSON

1971 Hepatic origin of renin substrate. *Can J Physiol Pharmacol* 49(10):931-2.

NAWATA, H., M. OHASHI, M. HAJI, R. TAKAYANAGI, K. HIGUCHI, N. FUJIO, T. HASHIGUCHI, A. OGO, R. NAKAO, K. OHNAKA, and ET AL.

1991 Atrial and brain natriuretic peptide in adrenal steroidogenesis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 40(1-3):367-79.

NEGORO, S., K. KUNISADA, E. TONE, M. FUNAMOTO, H. OH, T. KISHIMOTO, and K. YAMAUCHI-TAKIHARA

2000 Activation of JAK/STAT pathway transduces cytoprotective signal in rat acute myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 47(4):797-805.

NG, K. K., and J. R. VANE

1967 Conversion of angiotensin I to angiotensin II. *Nature* 216(5117):762-6.

NGUYEN DINH CAT, A., A. M. BRIONES, G. E. CALLERA, A. YOGI, Y. HE, A. C. MONTEZANO, and R. M. TOUYZ

2011 Adipocyte-derived factors regulate vascular smooth muscle cells through mineralocorticoid and glucocorticoid receptors. *Hypertension* 58(3):479-88.

NGUYEN DINH CAT, A., V. GRIOL-CHARHBILI, L. LOUFRANI, C. LABAT, L. BENJAMIN, N. FARMAN, P. LACOLLEY, D. HENRION, and F. JAISSE

2010 The endothelial mineralocorticoid receptor regulates vasoconstrictor tone and blood pressure. *FASEB J* 24(7):2454-63.

NICKENIG, G., J. ROLING, K. STREHLOW, P. SCHNABEL, and M. BOHM

1998 Insulin induces upregulation of vascular AT1 receptor gene expression by posttranscriptional mechanisms. *Circulation* 98(22):2453-60.

NICKENIG, G., K. STREHLOW, S. WASSMANN, A. T. BAUMER, K. ALBORY, H. SAUER, and M. BOHM

2000 Differential effects of estrogen and progesterone on AT(1) receptor gene expression in vascular smooth muscle cells. *Circulation* 102(15):1828-33.

NISHIKIMI, T., A. MORIMOTO, K. ISHIKAWA, Y. SAITO, K. KANGAWA, H. MATSUO, K. KITAMURA, S. TAKISHITA, and H. MATSUOKA

1997 Different secretion patterns of adrenomedullin, brain natriuretic peptide, and atrial natriuretic peptide during exercise in hypertensive and normotensive subjects. *Clin Exp Hypertens* 19(4):503-18.

NISHIZUKA, Y.

1986 Studies and perspectives of protein kinase C. *Science* 233(4761):305-12.

NOOTENS, MARK, ELIZABETH KAUFMANN, THOMAS RECTOR, CYNTHIA TOHER, DIANNE JUDD, GARY S. FRANCIS, and STUART RICH

1995 Neurohormonal activation in patients with right ventricular failure from pulmonary hypertension: Relation to hemodynamic variables and endothelin levels. *J Am Coll Cardiol* 26(7):1581-1585.

NOUBANI, A., R. FAROOKHI, and J. GUTKOWSKA

2000 B-type natriuretic peptide receptor expression and activity are hormonally regulated in rat ovarian cells. *Endocrinology* 141(2):551-9.

NOUET, S., and C. NAHMIAS

2000 Signal transduction from the angiotensin II AT₂ receptor. *Trends Endocrinol Metab* 11(1):1-6.

NUSSDORFER, G. G., G. P. ROSSI, L. K. MALENDOWICZ, and G. MAZZOCCHI

1999 Autocrine-paracrine endothelin system in the physiology and pathology of steroid-secreting tissues. *Pharmacol Rev* 51(3):403-38.

O'SULLIVAN, M. LYNNE, MICHAEL R. O'GRADY, and SANDRA L. MINORS

2007 Plasma Big Endothelin-1, Atrial Natriuretic Peptide, Aldosterone, and Norepinephrine Concentrations in Normal Doberman Pinschers and Doberman Pinschers with Dilated Cardiomyopathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 21(1):92-99.

OEFNER, C., A. D'ARCY, M. HENNIG, F. K. WINKLER, and G. E. DALE

2000 Structure of human neutral endopeptidase (Neprilysin) complexed with phosphoramidon. *J Mol Biol* 296(2):341-9.

OH, Y. B., S. GAO, A. SHAH, J. H. KIM, W. H. PARK, and S. H. KIM

2011 Endogenous angiotensin II suppresses stretch-induced ANP secretion via AT₁ receptor pathway. *Peptides* 32(2):374-81.

OHTSU, H., H. SUZUKI, H. NAKASHIMA, S. DHOBAL, G. D. FRANK, E. D. MOTLEY, and S. EGUCHI

2006 Angiotensin II signal transduction through small GTP-binding proteins: mechanism and significance in vascular smooth muscle cells. *Hypertension* 48(4):534-40.

OISHI, Y., R. OZONO, Y. YANO, Y. TERANISHI, M. AKISHITA, M. HORIUCHI, T. OSHIMA, and M. KAMBE

2003 Cardioprotective role of AT₂ receptor in postinfarction left ventricular remodeling. *Hypertension* 41(3 Pt 2):814-8.

OKAZAWA, M., T. SHIRAKI, H. NINOMIYA, S. KOBAYASHI, and T. MASAKI
1998 Endothelin-induced apoptosis of A375 human melanoma cells. *J Biol Chem* 273(20):12584-92.

OLIVER, P. M., J. E. FOX, R. KIM, H. A. ROCKMAN, H. S. KIM, R. L. REDDICK, K. N. PANDEY, S. L. MILGRAM, O. SMITHIES, and N. MAEDA
1997 Hypertension, cardiac hypertrophy, and sudden death in mice lacking natriuretic peptide receptor A. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94(26):14730-5.

OTSUKI, T., S. MAEDA, M. IEMITSU, Y. SAITO, Y. TANIMURA, R. AJISAKA, and T. MIYAUCHI
2007 Vascular endothelium-derived factors and arterial stiffness in strength- and endurance-trained men. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 292(2):H786-91.

OUVRARD-PASCAUD, A., Y. SAINTE-MARIE, J. P. BENITAH, R. PERRIER, C. SOUKASEUM, A. NGUYEN DINH CAT, A. ROYER, K. LE QUANG, F. CHARPENTIER, S. DEMOLOMBE, F. MECHTA-GRIGORIOU, A. T. BEGGAH, P. MAISON-BLANCHE, M. E. OBLIN, C. DELCAYRE, G. I. FISHMAN, N. FARMAN, B. ESCOUBET, and F. JAISSER
2005 Conditional mineralocorticoid receptor expression in the heart leads to life-threatening arrhythmias. *Circulation* 111(23):3025-33.

OYAMA, M. A., and P. F. SOLTER
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(1):42-7.

OZAKA, T., Y. DOI, K. KAYASHIMA, and S. FUJIMOTO
1997 Weibel-Palade bodies as a storage site of calcitonin gene-related peptide and endothelin-1 in blood vessels of the rat carotid body. *Anat Rec* 247(3):388-94.

OZONO, R., Z. Q. WANG, A. F. MOORE, T. INAGAMI, H. M. SIRAGY, and R. M. CAREY

1997 Expression of the subtype 2 angiotensin (AT₂) receptor protein in rat kidney. *Hypertension* 30(5):1238-46.

PALMER, BARRY R., ANNA P. PILBROW, CHRISTOPHER M. FRAMPTON, TIM G. YANDLE, LORRAINE SKELTON, M. GARY NICHOLLS, and A. MARK RICHARDS

2008 Plasma aldosterone levels during hospitalization are predictive of survival post-myocardial infarction. *Eur Heart J* 29(20):2489-2496.

PARK, B. M., Y. B. OH, S. GAO, S. A. CHA, K. P. KANG, and S. H. KIM

2013 Angiotensin III stimulates high stretch-induced ANP secretion via angiotensin type 2 receptor. *Peptides* 42:131-7.

PASSINO, C., S. SEVERINO, R. POLETTI, M. F. PIEPOLI, C. MAMMINI, A. CLERICO, A. GABUTTI, G. NASSI, and M. EMDIN

2006 Aerobic training decreases B-type natriuretic peptide expression and adrenergic activation in patients with heart failure. *J Am Coll Cardiol* 47(9):1835-9.

PATTESON, M. W., CHRISTINE GIBBS, P. R. WOTTON, and P. J. CRIPPS

1995 Echocardiographic measurements of cardiac dimensions and indices of cardiac function in normal adult Thoroughbred horses. *Equine Vet J* 27(S19):18-27.

PATTESON, M. W.; BLISSIT, K.

1996 Evaluation of cardiac murmurs in horses. *Equine Practice* September: 373.

PEARSON, LACHLAN J., TIMOTHY G. YANDLE, M. GARY NICHOLLS, and JOHN J. EVANS

2008 Regulation of endothelin-1 release from human endothelial cells by sex steroids and angiotensin-II. *Peptides* 29(6):1057-1061.

PEDERSEN, H. D.

1996 Effects of mild mitral valve insufficiency, sodium intake, and place of blood sampling on the renin-angiotensin system in dogs. *Acta Vet Scand* 37(1):109-18.

PEDERSEN, H. D., J. KOCH, K. POULSEN, A. L. JENSEN, and A. FLAGSTAD

1995 Activation of the renin-angiotensin system in dogs with asymptomatic and mildly symptomatic mitral valvular insufficiency. *J Vet Intern Med* 9(5):328-31.

PERRAULT, H., M. CANTIN, G. THIBAULT, G. R. BRISSON, G. BRISSON, and M. BELAND

1989 Plasma atrial natriuretic peptide during brief upright and supine exercise in humans. *J Appl Physiol* 66(5):2159-67.

PERRY, G. J., C. C. WEI, G. H. HANKES, S. R. DILLON, P. RYNDERS, R. MUKHERJEE, F. G. SPINALE, and L. J. DELL'ITALIA

2002 Angiotensin II receptor blockade does not improve left ventricular function and remodeling in subacute mitral regurgitation in the dog. *J Am Coll Cardiol* 39(8):1374-9.

PETIDIS, K., S. DOUMA, M. DOUMAS, I. BASAGIANNIS, K. VOGIATZIS, and C. ZAMBOULIS

2008 The interaction of vasoactive substances during exercise modulates platelet aggregation in hypertension and coronary artery disease. *BMC Cardiovasc Disord* 8:11.

PIACENTINI, L., M. GRAY, N. Y. HONBO, J. CHENTOUFI, M. BERGMAN, and J. S. KARLINER

2000 Endothelin-1 stimulates cardiac fibroblast proliferation through activation of protein kinase C. *J Mol Cell Cardiol* 32(4):565-76.

PITT, B., F. ZANNAD, W. J. REMME, R. CODY, A. CASTAIGNE, A. PEREZ, J. PALENSKY, and J. WITTES

1999 The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure. Randomized Aldactone Evaluation Study Investigators. *N Engl J Med* 341(10):709-17.

PONTIROLI, AE, P PIZZOCRI, D KOPRIVEC, P VEDANI, M MARCHI, C ARCELLONI, R PARONI, K ESPOSITO, and D GIUGLIANO

2004 Body weight and glucose metabolism have a different effect on circulating levels of ICAM-1, E-selectin, and endothelin-1 in humans. *European Journal of Endocrinology* 150(2):195-200.

PORTER, J. G., A. ARFSTEN, F. FULLER, J. A. MILLER, L. C. GREGORY, and J. A. LEWICKI

1990 Isolation and functional expression of the human atrial natriuretic peptide clearance receptor cDNA. *Biochem Biophys Res Commun* 171(2):796-803.

POTTER, L. R.

2011 Natriuretic peptide metabolism, clearance and degradation. *FEBS J* 278(11):1808-17.

POTTER, L. R., S. ABBEY-HOSCH, and D. M. DICKEY

2006 Natriuretic peptides, their receptors, and cyclic guanosine monophosphate-dependent signaling functions. *Endocr Rev* 27(1):47-72.

POUSSET, F., R. ISNARD, P. LECHAT, H. KALOTKA, A. CARAYON, G. MAISTRE, S. ESCOLANO, D. THOMAS, and M. KOMAJDA

1997 Prognostic value of plasma endothelin-1 in patients with chronic heart failure. *Eur Heart J* 18(2):254-8.

PROSEK, R., D. D. SISSON, M. A. OYAMA, A. W. BIONDO, and P. F. SOLTER

2004 Plasma endothelin-1 immunoreactivity in normal dogs and dogs with acquired heart disease. *J Vet Intern Med* 18(6):840-4.

PROŠEK, ROBERT, D. DAVID SISSON, MARK A. OYAMA, ALEXANDER W. BIONDO, and PHILIP F. SOLTER

2004 Measurements of Plasma Endothelin Immunoreactivity in Healthy Cats and Cats with Cardiomyopathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 18(6):826-830.

PROŠEK, ROBERT, D. DAVID SISSON, MARK A. OYAMA, and PHILIP 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. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 21(2):238-242.

RABINOWE, S. L., T. TAYLOR, R. G. DLUHY, and G. H. WILLIAMS
1985 beta-Endorphin stimulates plasma renin and aldosterone release in normal human subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 60(3):485-9.

RADZISZEWSKI, WALDEMAR, ANDRZEJ SURDACKI, PAULI VUORINEN, HEIKKI VAPAATALO, MARISANNA SAARI, ARTO UUSITALO, HEIKKI RUSKOAHO, JACEK S. DUBIEL, and RYSZARD J. GRYGLEWSKI
1993 Plasma ANP and cyclic GMP after physical exercise in patients with mitral valve disease and in healthy subjects. *Int J Cardiol* 40(3):203-209.

RAMAHA, A., and P. A. PATSTON
2002 Release and degradation of angiotensin I and angiotensin II from angiotensinogen by neutrophil serine proteinases. *Arch Biochem Biophys* 397(1):77-83.

RAO, G. N., and B. C. BERK
1992 Active oxygen species stimulate vascular smooth muscle cell growth and proto-oncogene expression. *Circ Res* 70(3):593-9.

REEF, V. B., F. T. BAIN, and P. A. SPENCER
1998 Severe mitral regurgitation in horses: clinical, echocardiographic and pathological findings. *Equine Vet J* 30(1):18-27.

REEF, V. B., and P. SPENCER
1987 Echocardiographic evaluation of equine aortic insufficiency. *Am J Vet Res* 48(6):904-9.

REIL, J. C., M. HOHL, S. SELEJAN, P. LIPP, F. DRAUTZ, A. KAZAKOW, B. M. MUNZ, P. MULLER, P. STEENDIJK, G. H. REIL, M. A. ALLESSIE, M. BOHM, and H. R. NEUBERGER

2011 Aldosterone promotes atrial fibrillation. *Eur Heart J*.

REMES, J., I. TIKKANEN, F. FYHRQUIST, and K. PYORALA

1991 Neuroendocrine activity in untreated heart failure. *Br Heart J* 65(5):249-55.

RICE, G. I., D. A. THOMAS, P. J. GRANT, A. J. TURNER, and N. M. HOOPER

2004 Evaluation of angiotensin-converting enzyme (ACE), its homologue ACE2 and neprilysin in angiotensin peptide metabolism. *Biochem J* 383(Pt 1):45-51.

RICHTER, R., H. MAGERT, H. MIFUNE, P. SCHULZ-KNAPPE, and W. FORSSMANN

1998 Equine cardiodilatin/ atrial natriuretic peptide. Primary structure and immunohistochemical localization in auricular cardiocytes. *Acta Anat (Basel)* 162(4):185-93.

ROCZNIAK, A., and K. D. BURNS

1996 Nitric oxide stimulates guanylate cyclase and regulates sodium transport in rabbit proximal tubule. *Am J Physiol* 270(1 Pt 2):F106-15.

ROIG, E., F. PEREZ-VILLA, M. MORALES, W. JIMENEZ, J. ORUS, M. HERAS, and G. SANZ

2000 Clinical implications of increased plasma angiotensin II despite ACE inhibitor therapy in patients with congestive heart failure. *Eur Heart J* 21(1):53-7.

ROLINSKI, B., I. SADRI, J. BOGNER, and F. D. GOEBEL

1994 Determination of endothelin-1 immunoreactivity in plasma, cerebrospinal fluid and urine. *Res Exp Med (Berl)* 194(1):9-24.

ROMPE, F., M. ARTUC, A. HALLBERG, M. ALTERMAN, K. STRODER, C. THONE-REINEKE, A. REICHENBACH, J. SCHACHERL, B. DAHLOF, M. BADER, N. ALENINA, M. SCHWANINGER, T. ZUBERBIER, H. FUNKE-KAISER, C. SCHMIDT, W. H. SCHUNCK, T. UNGER, and U. M. STECKELINGS

2010 Direct angiotensin II type 2 receptor stimulation acts anti-inflammatory through epoxyeicosatrienoic acid and inhibition of nuclear factor kappaB. *Hypertension* 55(4):924-31.

RUIZ-OPAZO, N., K. HIRAYAMA, K. AKIMOTO, and V. L. HERRERA

1998 Molecular characterization of a dual endothelin-1/Angiotensin II receptor. *Mol Med* 4(2):96-108.

RUSH, J. E., L. M. FREEMAN, D. J. BROWN, B. P. BREWER, J. N. ROSS, P. J. MARKWELL

2000 Clinical, echocardiographic, and neurohormonal effects of a sodium-restricted diet in dogs with heart failure. *J Vet Intern Med* 14(5):513-20.

RUSKOAHO, H.

2003 Cardiac hormones as diagnostic tools in heart failure. *Endocr Rev* 24(3):341-56.

RUSSELL, F. D., and P. MOLENAAR

2000 The human heart endothelin system: ET-1 synthesis, storage, release and effect. *Trends Pharmacol Sci* 21(9):353-9.

SABBATINI, M. E.

2009 Natriuretic peptides as regulatory mediators of secretory activity in the digestive system. *Regul Pept* 154(1-3):5-15.

SAH, V. P., S. MINAMISAWA, S. P. TAM, T. H. WU, G. W. DORN, 2ND, J. ROSS, JR., K. R. CHIEN, and J. H. BROWN

1999 Cardiac-specific overexpression of RhoA results in sinus and atrioventricular nodal dysfunction and contractile failure. *J Clin Invest* 103(12):1627-34.

SAIDA, K., Y. MITSUI, and N. ISHIDA

1989 A novel peptide, vasoactive intestinal contractor, of a new (endothelin) peptide family. Molecular cloning, expression, and biological activity. *J Biol Chem* 264(25):14613-6.

SAKAI, R. R., B. S. MCEWEN, S. J. FLUHARTY, and L. Y. MA

2000 The amygdala: site of genomic and nongenomic arousal of aldosterone-induced sodium intake. *Kidney Int* 57(4):1337-45.

SAKAMOTO, H., S. SASAKI, Y. HIRATA, T. IMAI, K. ANDO, T. IDA, T. SAKURAI, M. YANAGISAWA, T. MASAKI, and F. MARUMO

1990 Production of endothelin-1 by rat cultured mesangial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 169(2):462-8.

SAKURAI, T., M. YANAGISAWA, A. INOUE, U. S. RYAN, S. KIMURA, Y. MITSUI, K. GOTO, and T. MASAKI

1991 cDNA cloning, sequence analysis and tissue distribution of rat preproendothelin-1 mRNA. *Biochem Biophys Res Commun* 175(1):44-7.

SAKURAI, T., M. YANAGISAWA, Y. TAKUWA, H. MIYAZAKI, S. KIMURA, K. GOTO, and T. MASAKI

1990 Cloning of a cDNA encoding a non-isopeptide-selective subtype of the endothelin receptor. *Nature* 348(6303):732-5.

SANDMANN, S., M. YU, E. KASCHINA, A. BLUME, E. BOUZINOVA, C. AALKJAER, and T. UNGER

2001 Differential effects of angiotensin AT1 and AT2 receptors on the expression, translation and function of the Na⁺-H⁺ exchanger and Na⁺-HCO₃⁻ symporter in the rat heart after myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 37(8):2154-65.

SANTOS, R. A., A. C. SIMOES E SILVA, C. MARIC, D. M. SILVA, R. P. MACHADO, I. DE BUHR, S. HERINGER-WALTHER, S. V. PINHEIRO, M. T. LOPES, M. BADER, E. P. MENDES, V. S. LEMOS, M. J. CAMPAGNOLE-SANTOS, H. P. SCHULTHEISS, R. SPETH, and T. WALTHER

2003 Angiotensin-(1-7) is an endogenous ligand for the G protein-coupled receptor Mas. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100(14):8258-63.

SARZANI, R., P. DESSI-FULGHERI, V. M. PACI, E. ESPINOSA, and A. RAPPELLI

1996 Expression of natriuretic peptide receptors in human adipose and other tissues. *J Endocrinol Invest* 19(9):581-5.

SASANO, H., K. FUKUSHIMA, I. SASAKI, S. MATSUNO, H. NAGURA, and Z. S. KROZOWSKI

1992 Immunolocalization of mineralocorticoid receptor in human kidney, pancreas, salivary, mammary and sweat glands: a light and electron microscopic immunohistochemical study. *J Endocrinol* 132(2):305-10.

SCHMIDT, B. M., A. MONTEALEGRE, C. P. JANSON, N. MARTIN, C. STEINKEMMESIES, A. SCHERHAG, M. FEURING, M. CHRIST, and M. WEHLING

1999 Short term cardiovascular effects of aldosterone in healthy male volunteers. *J Clin Endocrinol Metab* 84(10):3528-33.

SCHNERMANN, J., and J. P. BRIGGS

1987 Renal effects of atrial natriuretic peptides. *Klin Wochenschr* 65 Suppl 8:92-6.

SCHUETZ, P., D. STOLZ, B. MUELLER, N. G. MORGENTHALER, J. STRUCK, C. MUELLER, R. BINGISSER, M. TAMM, and M. CHRIST-CRAIN

2008 Endothelin-1 precursor peptides correlate with severity of disease and outcome in patients with community acquired pneumonia. *BMC Infect Dis* 8:22.

SCHULMAN, G., A. MILLER-DIENER, G. LITWACK, and C. P. BASTL

1986 Characterization of the rat colonic aldosterone receptor and its activation process. *J Biol Chem* 261(26):12102-8.

SCHULZ, S., S. SINGH, R. A. BELLET, G. SINGH, D. J. TUBB, H. CHIN, and D. L. GARBERS

1989 The primary structure of a plasma membrane guanylate cyclase demonstrates diversity within this new receptor family. *Cell* 58(6):1155-62.

SCHULZ-KNAPPE, P., K. FORSSMANN, F. HERBST, D. HOCK, R. PIPKORN, and W. G. FORSSMANN

1988 Isolation and structural analysis of "urodilatin", a new peptide of the cardiodilatin-(ANP)-family, extracted from human urine. *Klin Wochenschr* 66(17):752-9.

SCHWEITZ, H., P. VIGNE, D. MOINIER, C. FRELIN, and M. LAZDUNSKI

1992 A new member of the natriuretic peptide family is present in the venom of the green mamba (*Dendroaspis angusticeps*). *J Biol Chem* 267(20):13928-32.

SEASHOLTZ, T. M., and J. H. BROWN

2004 Rho signaling in vascular diseases. *Mol Interv* 4(6):348-57.

SELVAIS, P. L., A. ROBERT, S. AHN, F. VAN LINDEN, J. M. KETELSLEGERS, H. POULEUR, and M. F. ROUSSEAU

2000 Direct comparison between endothelin-1, N-terminal proatrial natriuretic factor, and brain natriuretic peptide as prognostic markers of survival in congestive heart failure. *J Card Fail* 6(3):201-7.

SEN, C. K., and L. PACKER

1996 Antioxidant and redox regulation of gene transcription. *FASEB J* 10(7):709-20.

SEO, B., B. S. OEMAR, R. SIEBENMANN, L. VON SEGESSER, and T. F. LUSCHER

1994 Both ETA and ETB receptors mediate contraction to endothelin-1 in human blood vessels. *Circulation* 89(3):1203-8.

SHAH, A., S. GAO, Y. B. OH, W. H. PARK, and S. H. KIM

2011 Oxidative stress augments the secretion of atrial natriuretic peptide in isolated rat atria. *Peptides* 32(6):1172-8.

SHAH, A., R. GUL, K. YUAN, S. GAO, Y. B. OH, U. H. KIM, and S. H. KIM

2010 Angiotensin-(1-7) stimulates high atrial pacing-induced ANP secretion via Mas/PI3-kinase/Akt axis and Na⁺/H⁺ exchanger. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 298(5):H1365-74.

SHANMUGAM, S., P. CORVOL, and J. M. GASC

1996 Angiotensin II type 2 receptor mRNA expression in the developing cardiopulmonary system of the rat. *Hypertension* 28(1):91-7.

SHENKER, Y., M. D. GROSS, and R. J. GREKIN

1985 Central serotonergic stimulation of aldosterone secretion. *J Clin Invest* 76(4):1485-90.

SHIMAMOTO, K., M. KUSUMOTO, R. SAKAI, H. WATANABE, S. IHARA, N. KOIKE, and M. KAWANA

2007 Usefulness of the brain natriuretic peptide to atrial natriuretic peptide ratio in determining the severity of mitral regurgitation. *Can J Cardiol* 23(4):295-300.

SIMPSON, S. A., J. F. TAIT, A. WETTSTEIN, R. NEHER, J. V. EUW, O. SCHINDLER, and T. REICHSTEIN

1954a Die Konstitution des Aldosterons. Über Bestandteile der Nebennierenrinde und verwandte Stoffe. 92. Mitteilung. *Helvetica Chimica Acta* 37(4):1200-1223.

SIMPSON, S. A., J. F. TAIT, A. WETTSTEIN, R. NEHER, J. VON EUW, and T. REICHSTEIN

1953 [Isolation from the adrenals of a new crystalline hormone with especially high effectiveness on mineral metabolism]. *Experientia* 9(9):333-5.

SIMPSON, S. A., J. F. TAIT, A. WETTSTEIN, R. NEHER, J. VON EUW, O. SCHINDLER, and T. REICHSTEIN

1954b [Constitution of aldosterone, a new mineralocorticoid]. *Experientia* 10(3):132-3.

SINGH, G., R. E. KUC, J. J. MAGUIRE, M. FIDOCK, and A. P. DAVENPORT

2006 Novel snake venom ligand dendroaspis natriuretic peptide is selective for natriuretic peptide receptor-A in human heart: downregulation of natriuretic peptide receptor-A in heart failure. *Circ Res* 99(2):183-90.

SIRVIO, M. L., K. METSARINNE, O. SAIJONMAA, and F. FYHRQUIST

1990 Tissue distribution and half-life of ¹²⁵I-endothelin in the rat: importance of pulmonary clearance. *Biochem Biophys Res Commun* 167(3):1191-5.

SKEGGS, L. T., JR., J. R. KAHN, K. LENTZ, and N. P. SHUMWAY

1957 The preparation, purification, and amino acid sequence of a polypeptide renin substrate. *J Exp Med* 106(3):439-53.

SKEGGS, L. T., JR., J. R. KAHN, and N. P. SHUMWAY

1956a The preparation and function of the hypertensin-converting enzyme. *J Exp Med* 103(3):295-9.

SKEGGS, L. T., JR., J. R. KAHN, and N. P. SHUMWAY

1956b The purification of hypertensin II. *J Exp Med* 103(3):301-7.

SKEGGS, L. T., JR., K. E. LENTZ, J. R. KAHN, N. P. SHUMWAY, and K. R. WOODS

1956c The amino acid sequence of hypertensin. II. *J Exp Med* 104(2):193-7.

SKVORAK, J. P., and J. R. DIETZ

1997 Endothelin and nitric oxide interact to regulate stretch-induced ANP secretion. *Am J Physiol* 273(1 Pt 2):R301-6.

SLATER, J. D., and M. E. HERRTAGE

1995a Echocardiographic measurements of cardiac dimensions in normal ponies and horses. *Equine Vet J* 27(S19):28-32.

SNABAITIS, A. K., D. J. HEARSE, and M. AVKIRAN

2002 Regulation of sarcolemmal Na(+)/H(+) exchange by hydrogen peroxide in adult rat ventricular myocytes. *Cardiovasc Res* 53(2):470-80.

SONG, K., A. M. ALLEN, G. PAXINOS, and F. A. MENDELSON

1992 Mapping of angiotensin II receptor subtype heterogeneity in rat brain. *J Comp Neurol* 316(4):467-84.

SONNENBERG, J. L., Y. SAKANE, A. Y. JENG, J. A. KOEHN, J. A. ANSELL, L. P. WENNOGLE, and R. D. GHAI

1988 Identification of protease 3.4.24.11 as the major atrial natriuretic factor degrading enzyme in the rat kidney. *Peptides* 9(1):173-80.

SPAT, A., and L. HUNYADY

2004 Control of aldosterone secretion: a model for convergence in cellular signaling pathways. *Physiol Rev* 84(2):489-539.

STADLER, P.

1988 Real-time two-dimensional echocardiography in warmblooded horses. *Pferdeheilkunde* 4(4 (Juli)):161-174.

STADLER, P. and F. ROBINE

1996 B-mode echocardiographic measurement of heart dimensions in warm blood horses without heart disease. *Pferdeheilkunde* 12(1):35-43.

STADLER, P.; HÖCH, M.; FRÜHAUF, B., DEEGEN, E.

1995 Echocardiography in horses with and without heart murmurs in aortic regurgitation. *Pferdeheilkunde* 11(6):373-383.

STOCKAND, J. D.

2002 New ideas about aldosterone signaling in epithelia. *Am J Physiol Renal Physiol* 282(4):F559-76.

STOLL, M., U. M. STECKELINGS, M. PAUL, S. P. BOTTARI, R. METZGER, and T. UNGER

1995 The angiotensin AT₂-receptor mediates inhibition of cell proliferation in coronary endothelial cells. *J Clin Invest* 95(2):651-7.

SUDHIR, K., P. FRIBERG, I. T. MEREDITH, R. L. WOODS, M. D. ESLER, and G. L. JENNINGS

1989 Cardiac secretion and renal clearance of atrial natriuretic peptide in normal man: effect of salt restriction. *Clin Sci (Lond)* 77(6):605-10.

SUDOH, T., K. KANGAWA, N. MINAMINO, and H. MATSUO

1988 A new natriuretic peptide in porcine brain. *Nature* 332(6159):78-81.

SUGA, S., K. NAKAO, K. HOSODA, M. MUKOYAMA, Y. OGAWA, G. SHIRAKAMI, H. ARAI, Y. SAITO, Y. KAMBAYASHI, K. INOUE, and ET AL.

1992 Receptor selectivity of natriuretic peptide family, atrial natriuretic peptide, brain natriuretic peptide, and C-type natriuretic peptide. *Endocrinology* 130(1):229-39.

SUGDEN, P. H.

2003 An overview of endothelin signaling in the cardiac myocyte. *J Mol Cell Cardiol* 35(8):871-86.

SUN, Y., F. J. RAMIRES, and K. T. WEBER

1997 Fibrosis of atria and great vessels in response to angiotensin II or aldosterone infusion. *Cardiovasc Res* 35(1):138-47.

SUSSMAN, M. A., S. WELCH, A. WALKER, R. KLEVITSKY, T. E. HEWETT, R. L. PRICE, E. SCHAEFER, and K. YAGER

2000 Altered focal adhesion regulation correlates with cardiomyopathy in mice expressing constitutively active rac1. *J Clin Invest* 105(7):875-86.

SUTTON, T. M., R. A. STEWART, I. L. GERBER, T. M. WEST, A. M. RICHARDS, T. G. YANDLE, and A. J. KERR

2003 Plasma natriuretic peptide levels increase with symptoms and severity of mitral regurgitation. *J Am Coll Cardiol* 41(12):2280-7.

SUZUKI, E., Y. HIRATA, O. KOHMOTO, T. SUGIMOTO, H. HAYAKAWA, H. MATSUOKA, T. SUGIMOTO, M. KOJIMA, K. KANGAWA, N. MINAMINO, and ET AL.

1992 Cellular mechanisms for synthesis and secretion of atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide in cultured rat atrial cells. *Circ Res* 71(5):1039-48.

SUZUKI, H., E. D. MOTLEY, G. D. FRANK, H. UTSUNOMIYA, and S. EGUCHI

2005 Recent progress in signal transduction research of the angiotensin II type-1 receptor: protein kinases, vascular dysfunction and structural requirement. *Curr Med Chem Cardiovasc Hematol Agents* 3(4):305-22.

SWANSON, G. N., J. M. HANESWORTH, M. F. SARDINIA, J. K. COLEMAN, J. W. WRIGHT, K. L. HALL, A. V. MILLER-WING, J. W. STOBBS, V. I. COOK, E. C. HARDING, and ET AL.

1992 Discovery of a distinct binding site for angiotensin II (3-8), a putative angiotensin IV receptor. *Regul Pept* 40(3):409-19.

SWEDBERG, K, P ENEROTH, J KJEKSHUS, and L WILHELMSEN

1990 Hormones regulating cardiovascular function in patients with severe congestive heart failure and their relation to mortality. CONSENSUS Trial Study Group. *Circulation* 82(5):1730-6.

TABET, J. Y., P. MEURIN, A. B. DRISS, H. WEBER, N. RENAUD, A. GROSDEMOUGE, F. BEAUVAIS, and A. COHEN-SOLAL

2009 Benefits of exercise training in chronic heart failure. *Arch Cardiovasc Dis* 102(10):721-30.

TAIT, S. A., J. F. TAIT, and J. P. COGHLAN

2004 The discovery, isolation and identification of aldosterone: reflections on emerging regulation and function. *Mol Cell Endocrinol* 217(1-2):1-21.

TAKASUKA, T., T. SAKURAI, K. GOTO, Y. FURUICHI, and T. WATANABE

1994 Human endothelin receptor ETB. Amino acid sequence requirements for super stable complex formation with its ligand. *J Biol Chem* 269(10):7509-13.

TAKEI, Y., A. TAKAHASHI, T. X. WATANABE, K. NAKAJIMA, and S. SAKAKIBARA

1991 A novel natriuretic peptide isolated from eel cardiac ventricles. *FEBS Lett* 282(2):317-20.

TALLANT, E. A., D. I. DIZ, and C. M. FERRARIO

1999 State-of-the-Art lecture. Antiproliferative actions of angiotensin-(1-7) in vascular smooth muscle. *Hypertension* 34(4 Pt 2):950-7.

TANAKA, T., T. KANDA, T. TAKAHASHI, S. SAEGUSA, J. MORIYA, and M. KURABAYASHI

2004 Interleukin-6-induced reciprocal expression of SERCA and natriuretic peptides mRNA in cultured rat ventricular myocytes. *J Int Med Res* 32(1):57-61.

TESSIER-VETZEL, D., R. TISSIER, V. CHETBOUL, C. CARLOS, A. NICOLLE, D. BENBARON, J. DANDRIEUX, F. THOULON, A. CARAYON, and J. L. POUCHELON

2006 Diagnostic and prognostic value of endothelin-1 plasma concentrations in dogs with heart and respiratory disorders. *Vet Rec* 158(23):783-8.

TETENS, J., R. M. MOORE, G. L. HOSGOOD, S. C. EADES, M. L. KEOWEN, and D. W. HOROHOV

2004 Effects of infusion of adenosine triphosphate-magnesium chloride on cardiopulmonary and clinicopathologic variables, cytokine activity, and endothelin concentration in horses administered a low dose of endotoxin. *Am J Vet Res* 65(2):225-37.

THIBAULT, G., K. K. MURTHY, J. GUTKOWSKA, N. G. SEIDAH, C. LAZURE, M. CHRETIEN, and M. CANTIN

1988 NH₂-terminal fragment of rat pro-atrial natriuretic factor in the circulation: identification, radioimmunoassay and half-life. *Peptides* 9(1):47-53.

THIEL, HOLGER

2009 *Anästhesiologische Pharmakotherapie: Von den Grundlagen der Pharmakologie. Volume 3: Thieme.*

THIJSSSEN, D. H., G. A. RONGEN, A. VAN DIJK, P. SMITS, and M. T. HOPMAN

2007 Enhanced endothelin-1-mediated leg vascular tone in healthy older subjects. *J Appl Physiol* (1985) 103(3):852-7.

THOMAS, W., V. MCENEANEY, and B. J. HARVEY

2007 Aldosterone-stimulated PKC signalling cascades: from receptor to effector. *Biochem Soc Trans* 35(Pt 5):1049-51.

THROSBY, M., D. LEE, W. Q. HUANG, Z. Y. YANG, D. L. COPOLOV, and A. T. LIM

1991 Evidence for atrial natriuretic peptide-(5-28) production by macrophages of the rat spleen: an immunochemical and nonradioactive in situ hybridization approach. *Endocrinology* 129(2):991-1000.

TIDHOLM, A., J. HAGGSTROM, and K. HANSSON

2001 Effects of dilated cardiomyopathy on the renin-angiotensin-aldosterone system, atrial natriuretic peptide activity, and thyroid hormone concentrations in dogs. *Am J Vet Res* 62(6):961-7.

TIPNIS, S. R., N. M. HOOPER, R. HYDE, E. KARRAN, G. CHRISTIE, and A. J. TURNER

2000 A human homolog of angiotensin-converting enzyme. Cloning and functional expression as a captopril-insensitive carboxypeptidase. *J Biol Chem* 275(43):33238-43.

TONNAER, J. A., G. M. ENGELS, V. M. WIEGANT, J. P. BURBACH, W. DE JONG, and D. DE WIED

1983 Proteolytic conversion of angiotensins in rat brain tissue. *Eur J Biochem* 131(2):415-21.

TRACHSEL, D. S., B. GRENACHER, M. A. WEISHAUPT, and C. C. SCHWARZWALD

2011 Plasma atrial natriuretic peptide concentrations in horses with heart disease: A pilot study. *Vet J*.

TSUTSUMI, Y., H. MATSUBARA, H. MASAKI, H. KURIHARA, S. MURASAWA, S. TAKAI, M. MIYAZAKI, Y. NOZAWA, R. OZONO, K. NAKAGAWA, T. MIWA, N. KAWADA, Y. MORI, Y. SHIBASAKI, Y. TANAKA, S. FUJIYAMA, Y. KOYAMA, A. FUJIYAMA, H. TAKAHASHI, and T. IWASAKA

1999 Angiotensin II type 2 receptor overexpression activates the vascular kinin system and causes vasodilation. *J Clin Invest* 104(7):925-35.

URATA, H., A. KINOSHITA, K. S. MISONO, F. M. BUMPUS, and A. HUSAIN

1990 Identification of a highly specific chymase as the major angiotensin II-forming enzyme in the human heart. *J Biol Chem* 265(36):22348-57.

USHIO-FUKAI, M., R. W. ALEXANDER, M. AKERS, P. R. LYONS, B. LASSEGUE, and K. K. GRIENDLING

1999 Angiotensin II receptor coupling to phospholipase D is mediated by the betagamma subunits of heterotrimeric G proteins in vascular smooth muscle cells. *Mol Pharmacol* 55(1):142-9.

VAHANIAN, A., H. BAUMGARTNER, J. BAX, E. BUTCHART, R. DION, G. FILIPPATOS, F. FLACHSKAMPF, R. HALL, B. IUNG, J. KASPRZAK, P. NATAF, P. TORNOS, L. TORRACCA, and A. WENINK

2007 Guidelines on the management of valvular heart disease: The Task Force on the Management of Valvular Heart Disease of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 28(2):230-68.

VALLOTTON, M. B.

1987 The Renin-Angiotensin System. TIPS 8.

VAN BENEDEN, RONALD, OLIVIER GURNÉ, PHILIPPE L. SELVAIS, SYLVIE A. AHN, ANNIE R. ROBERT, JEAN-MARIE KETELSLEGGERS, HUBERT G. POULEUR, and MICHEL F. ROUSSEAU

2004 Superiority of big endothelin-1 and endothelin-1 over natriuretic peptides in predicting survival in severe congestive heart failure: a 7-year follow-up study. *J Card Fail* 10(6):490-495.

VAN DER VEKENS, N., A. DECLOEDT, D. DE CLERCQ, and G. VAN LOON

2013 Atrial natriuretic peptides detect cardiac dilatation. *In* 2013 European Veterinary Conference : Voorjaarsdagen. Pp. p.258-258. Amsterdam.

VAN KATS, J. P., L. M. DE LANNOY, A. H. JAN DANSER, J. R. VAN MEEGEN, P. D. VERDOUW, and M. A. SCHALEKAMP

1997 Angiotensin II type 1 (AT1) receptor-mediated accumulation of angiotensin II in tissues and its intracellular half-life in vivo. *Hypertension* 30(1 Pt 1):42-9.

VAN KIMMENADE, R. R., and J. L. JANUZZI, JR.

2009 The evolution of the natriuretic peptides - Current applications in human and animal medicine. *J Vet Cardiol* 11 Suppl 1:S9-21.

VANDER, A. J.

1965 Effect of catecholamines and the renal nerves on renin secretion in anesthetized dogs. *Am J Physiol* 209(3):659-62.

VANDER, A. J., and G. W. GEELHOED

1965 Inhibition of renin secretion by angiotensin. II. *Proc Soc Exp Biol Med* 120(2):399-403.

VEYRAT, R., H. R. BRUNNER, E. L. MANNING, and A. F. MULLER

1967a [Inhibition of plasmatic renin activity by potassium]. *J Urol Nephrol (Paris)* 73(4):271-5.

VEYRAT, R., A. GRANDCHAMP, E. L. MANNING, B. MILLER, and A. F. MULLER

1967b [Inhibition of renin by potassium in the man]. *Helv Med Acta Suppl* 47:119.

VICK, M. M., A. A. ADAMS, B. A. MURPHY, D. R. SESSIONS, D. W. HOROHOV, R. F. COOK, B. J. SHELTON, and B. P. FITZGERALD

2007 Relationships among inflammatory cytokines, obesity, and insulin sensitivity in the horse. *Journal of Animal Science* 85(5):1144-1155.

VOLLMAR, A. M.

1990 Atrial natriuretic peptide in peripheral organs other than the heart. *Klin Wochenschr* 68(14):699-708.

VOLLMAR, A. M., R. E. LANG, J. HANZE, and R. SCHULZ

1990 The rat thymus--a site of atrial natriuretic peptide synthesis. *Peptides* 11(1):33-7.

VOLLMAR, A. M., and R. SCHULZ

1990a Atrial natriuretic peptide in lymphoid organs of various species. *Comp Biochem Physiol A Comp Physiol* 96(4):459-63.

VOLLMAR, A. M., and R. SCHULZ

1990b Atrial natriuretic peptide is synthesized in the human thymus. *Endocrinology* 126(5):2277-80.

VUKELIC, S., and K. K. GRIENGLING

2014 Angiotensin II, from vasoconstrictor to growth factor: a paradigm shift. *Circ Res* 114(5):754-7.

- WALSH, M. P., G. J. KARGACIN, J. KENDRICK-JONES, and T. M. LINCOLN
1995 Intracellular mechanisms involved in the regulation of vascular smooth muscle tone. *Can J Physiol Pharmacol* 73(5):565-73.
- WANG, W, J M MCCLAIN, and I H ZUCKER
1992 Aldosterone reduces baroreceptor discharge in the dog. *Hypertension* 19(3):270-7.
- WATTS, S. W.
2010 Endothelin receptors: what's new and what do we need to know? *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 298(2):R254-60.
- WEI, C M, A LERMAN, R J RODEHEFFER, C G MCGREGOR, R R BRANDT, S WRIGHT, D M HEUBLEIN, P C KAO, W D EDWARDS, and J C BURNETT
1994 Endothelin in human congestive heart failure. *Circulation* 89(4):1580-6.
- WEITZBERG, E., G. AHLBORG, and J. M. LUNDBERG
1991 Long-lasting vasoconstriction and efficient regional extraction of endothelin-1 in human splanchnic and renal tissues. *Biochem Biophys Res Commun* 180(3):1298-303.
- WHELCHER, A., J. EVANS, and J. POSADA
1997 Inhibition of ERK activation attenuates endothelin-stimulated airway smooth muscle cell proliferation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 16(5):589-96.
- WIJBENGA, J. A., A. H. BALK, F. BOOMSMA, A. J. MAN IN 'T VELD, and C. HALL
1999 Cardiac peptides differ in their response to exercise. Implications for patients with heart failure in clinical practice. *Eur Heart J* 20(19):1424-8.
- WILCOX, J. N., A. AUGUSTINE, D. V. GOEDDEL, and D. G. LOWE
1991 Differential regional expression of three natriuretic peptide receptor genes within primate tissues. *Mol Cell Biol* 11(7):3454-62.

WINYARD, P. G., and D. R. BLAKE

1997 Antioxidants, redox-regulated transcription factors, and inflammation. *Adv Pharmacol* 38:403-21.

WISLØFF, ULRIK, ASBJØRN STØYLEN, JAN P. LOENNECHEN, MORTEN BRUVOLD, ØIVIND ROGNMO, PER MAGNUS HARAM, ARNT ERIK TJØNNA, JAN HELGERUD, STIG A. SLØRDAHL, SANG JUN LEE, VIBEKE VIDEM, ANJA BYE, GODFREY L. SMITH, SONIA M. NAJJAR, ØYVIND ELLINGSEN, and TERJE SKJÆRPE

2007 Superior Cardiovascular Effect of Aerobic Interval Training Versus Moderate Continuous Training in Heart Failure Patients: A Randomized Study. *Circulation* 115(24):3086-3094.

WISNIEWSKI, K., M. BORAWSKA, and H. CAR

1993 The effect of angiotensin II and its fragments on post-alcohol impairment of learning and memory. *Pol J Pharmacol* 45(1):23-9.

WONG, S., F. E. BRENNAN, M. J. YOUNG, P. J. FULLER, and T. J. COLE

2007 A direct effect of aldosterone on endothelin-1 gene expression in vivo. *Endocrinology* 148(4):1511-7.

WOZAKOWSKA-KAPLON, B., and G. OPOLSKI

2009 Effects of exercise testing on natriuretic peptide secretion in patients with atrial fibrillation. *Kardiol Pol* 67(3):254-61.

WU, J. P., C. F. DESCHEPPER, and D. G. GARDNER

1988 Perinatal expression of the atrial natriuretic factor gene in rat cardiac tissue. *Am J Physiol* 255(3 Pt 1):E388-96.

WU, Z., C. MARIC, D. M. ROESCH, W. ZHENG, J. G. VERBALIS, and K. SANDBERG

2003 Estrogen regulates adrenal angiotensin AT1 receptors by modulating AT1 receptor translation. *Endocrinology* 144(7):3251-61.

WYETH, R. P., B. H. ACKERMAN, and D. L. VESELY

1990 The N-terminus, C-terminus, and vessel dilator of the ANF prohormone are present in the urine and increase with ventricular fibrillation. *Biochem Biophys Res Commun* 173(3):1030-7.

WYPIJ, D. M., J. S. NICHOLS, P. J. NOVAK, D. L. STACY, J. BERMAN, and J. S. WISEMAN

1992 Role of mast cell chymase in the extracellular processing of big-endothelin-1 to endothelin-1 in the perfused rat lung. *Biochem Pharmacol* 43(4):845-53.

WYSE, B., and C. SERNIA

1997 Growth hormone regulates AT-1a angiotensin receptors in astrocytes. *Endocrinology* 138(10):4176-80.

XING, J., and A. A. BIRUKOVA

2010 ANP attenuates inflammatory signaling and Rho pathway of lung endothelial permeability induced by LPS and TNFalpha. *Microvasc Res* 79(1):56-62.

XU, D., N. EMOTO, A. GIAID, C. SLAUGHTER, S. KAW, D. DEWIT, and M. YANAGISAWA

1994 ECE-1: a membrane-bound metalloprotease that catalyzes the proteolytic activation of big endothelin-1. *Cell* 78(3):473-85.

YAMADA, T., M. HORIUCHI, and V. J. DZAU

1996 Angiotensin II type 2 receptor mediates programmed cell death. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93(1):156-60.

YAMAKAWA, T., S. TANAKA, K. NUMAGUCHI, Y. YAMAKAWA, E. D. MOTLEY, S. ICHIHARA, and T. INAGAMI

2000 Involvement of Rho-kinase in angiotensin II-induced hypertrophy of rat vascular smooth muscle cells. *Hypertension* 35(1 Pt 2):313-8.

YAMAMOTO, K., T. HASEGAWA, M. MIYAZAKI, and J. UEDA

1969 Control of renin secretion in the anesthetized dog. 2. Relationship between renin secretion, plasma sodium concentration and GFR in the perfused kidney. *Jpn Circ J* 33(6):593-600.

YAN, W., F. WU, J. MORSER, and Q. WU

2000 Corin, a transmembrane cardiac serine protease, acts as a pro-atrial natriuretic peptide-converting enzyme. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97(15):8525-9.

YANAGISAWA, M., H. KURIHARA, S. KIMURA, Y. TOMOBE, M. KOBAYASHI, Y. MITSUI, Y. YAZAKI, K. GOTO, and T. MASAKI

1988 A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 332(6163):411-5.

YANAGISAWA, M., and T. MASAKI

1989 Molecular biology and biochemistry of the endothelins. *Trends Pharmacol Sci* 10(9):374-8.

YANCY, C. W., M. JESSUP, B. BOZKURT, J. BUTLER, D. E. CASEY, JR., M. H. DRAZNER, G. C. FONAROW, S. A. GERACI, T. HORWICH, J. L. JANUZZI, M. R. JOHNSON, E. K. KASPER, W. C. LEVY, F. A. MASOUDI, P. E. MCBRIDE, J. J. MCMURRAY, J. E. MITCHELL, P. N. PETERSON, B. RIEGEL, F. SAM, L. W. STEVENSON, W. H. TANG, E. J. TSAI, and B. L. WILKOFF

2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on practice guidelines. *Circulation* 128(16):e240-327.

YANDLE, T. G., A. M. RICHARDS, M. G. NICHOLLS, R. CUNEO, E. A. ESPINER, and J. H. LIVESEY

1986 Metabolic clearance rate and plasma half life of alpha-human atrial natriuretic peptide in man. *Life Sci* 38(20):1827-33.

YANG, L. L., R. GROS, M. G. KABIR, A. SADI, A. I. GOTLIEB, M. HUSAIN, and D. J. STEWART

2004 Conditional cardiac overexpression of endothelin-1 induces inflammation and dilated cardiomyopathy in mice. *Circulation* 109(2):255-61.

YIN, G., C. YAN, and B. C. BERK

2003 Angiotensin II signaling pathways mediated by tyrosine kinases. *Int J Biochem Cell Biol* 35(6):780-3.

YORIKANE, R., and H. KOIKE

1990 The arrhythmogenic action of endothelin in rats. *Jpn J Pharmacol* 53(2):259-63.

YORIKANE, R., H. SHIGA, S. MIYAKE, and H. KOIKE

1990 Evidence for direct arrhythmogenic action of endothelin. *Biochem Biophys Res Commun* 173(1):457-62.

YOSHIMOTO, T., M. NARUSE, K. NARUSE, K. SHIONOYA, M. TANAKA, A. TANABE, H. HAGIWARA, S. HIROSE, T. MURAKI, and H. DEMURA

1996 Angiotensin II-dependent down-regulation of vascular natriuretic peptide type C receptor gene expression in hypertensive rats. *Endocrinology* 137(3):1102-7.

YOSHIKUNI, M., H. KURIHARA, T. SUGIYAMA, F. TAKAKU, M. YANAGISAWA, T. MASAKI, and Y. YAZAKI

1989 Hemodynamic shear stress stimulates endothelin production by cultured endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 161(2):859-64.

YOUNG, L. E., K. ROGERS, and J. L. WOOD

2005 Left ventricular size and systolic function in Thoroughbred racehorses and their relationships to race performance. *J Appl Physiol* 99(4):1278-85.

YUYUN, MATTHEW FOMONYUY, SANDEEP K JUTLA, PAULENE A QUINN, and LEONG L NG

2012 Aldosterone predicts major adverse cardiovascular events in patients with acute myocardial infarction. *Heart Asia* 4(1):102-107.

ZENG, C., Y. LUO, L. D. ASICO, U. HOPFER, G. M. EISNER, R. A. FELDER, and P. A. JOSE

2003 Perturbation of D1 dopamine and AT1 receptor interaction in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 42(4):787-92.

ZENG, C., Z. WANG, L. D. ASICO, U. HOPFER, G. M. EISNER, R. A. FELDER, and P. A. JOSE

2005 Aberrant ETB receptor regulation of AT receptors in immortalized renal proximal tubule cells of spontaneously hypertensive rats. *Kidney Int* 68(2):623-31.

ZENG, Z. P., M. NARUSE, B. J. GUAN, K. NARUSE, M. L. SUN, M. F. ZANG, H. DEMURA, and Y. F. SHI

1992 Endothelin stimulates aldosterone secretion in vitro from normal adrenocortical tissue, but not adenoma tissue, in primary aldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab* 74(4):874-8.

ZHUO, J., C. MARIC, P. J. HARRIS, D. ALCORN, and F. A. MENDELSON

1997 Localization and functional properties of angiotensin II AT1 receptors in the kidney: focus on renomedullary interstitial cells. *Hypertens Res* 20(4):233-50.

ZINI, S., M. C. FOURNIE-ZALUSKI, E. CHAUVEL, B. P. ROQUES, P. CORVOL, and C. LLORENS-CORTES

1996 Identification of metabolic pathways of brain angiotensin II and III using specific aminopeptidase inhibitors: predominant role of angiotensin III in the control of vasopressin release. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93(21):11968-73.

ZOLTY, R., C. BAUER, P. ALLEN, M. GARRITY, and T. J. VITTORIO

2008 Atrial natriuretic peptide stability. *Clin Biochem* 41(14-15):1255-8.

ZUCCA, E., F. FERRUCCI, C. CROCI, V. DI FABIO, M. ZANINELLI, and E. FERRO

2008 Echocardiographic measurements of cardiac dimensions in normal Standardbred racehorses. *J Vet Cardiol* 10(1):45-51.

X. ABBILDUNGSVERZEICHNIS

<i>Abbildung 1: Synthese der Angiotensine, Aminosäurekodierung nach dem Dreibuchstabensystem (siehe Abkürzungsverzeichnis)</i>	17
<i>Abbildung 2: Angiotensinrezeptoren</i>	19
<i>Abbildung 3: Humanes Endothelin-1, Aminosäurekodierung nach dem Einbuchstabensystem</i>	32
<i>Abbildung 4: RKDLA (rechte kaudale lange Achse im 4. Interkostalraum)</i>	50
<i>Abbildung 5: RKDLA-AO (rechte kaudale lange Achse im 4. Interkostalraum mit Aorta)</i>	50
<i>Abbildung 6: RKDKA (rechte kaudale kurze Achse im 4. Interkostalraum)</i>	51
<i>Abbildung 7: RKRLA (rechte kraniale lange Achse im 3. Interkostalraum)</i>	51
<i>Abbildung 8: RKRKA (rechte kraniale kurze Achse im 3. Interkostalraum)</i>	52
<i>Abbildung 9: LKDLA (linke kaudale lange Achse im 4. Interkostalraum)</i>	52
<i>Abbildung 10: LKDLA-AO (linke kaudale lange Achse 4. Interkostalraum mit Aorta)</i>	53
<i>Abbildung 11: CW-Doppler, hgr. MVI (Patient Nr. 5)</i>	55
<i>Abbildung 12: M-Mode kurze Achse</i>	57
<i>Abbildung 13: M-Mode lange Achse, deutlich dilatierter linker Ventrikel</i>	57
<i>Abbildung 14: Hochfrequentes Flattern des septalen Mitralklappensegels bei hgr. Aortenklappeninsuffizienz</i>	58
<i>Abbildung 15: Aortenklappenprolaps (Pfeil)</i>	74
<i>Abbildung 16: Boxplot: Signifikant geringere mittlere Aldosteron-Plasmakonzentration in Ruhe gegenüber den nach Belastung gemessenen Aldosteron Werten in Gruppe 1</i>	85
<i>Abbildung 17: Streudiagramm: Signifikant positive Korrelation zwischen dem Gewicht der Pferde in Gruppe 1 und der Endothelin-Plasmakonzentration in Ruhe</i>	88
<i>Abbildung 18: Streudiagramm: Signifikant positive Korrelation zwischen dem Gewicht der Pferde in Gruppe 1 und der Endothelin-Plasmakonzentration nach Belastung</i>	89
<i>Abbildung 19: Streudiagramm: Signifikant positive Korrelation zwischen dem Alter der Pferde in Gruppe 1 und der Endothelin-1-Plasmakonzentration nach Belastung</i>	90
<i>Abbildung 20: Streudiagramm: Signifikant positiver Zusammenhang zwischen dem Durchmesser der Pulmonalarterie in Gruppe 2 und der Endothelin-1-Plasmakonzentration in Ruhe</i>	91
<i>Abbildung 21: Streudiagramm: Signifikante Korrelation zwischen der Größe des linken Atriums der Pferde in Gruppe 3 und der Endothelin-1-Plasmakonzentration in Ruhe</i>	92
<i>Abbildung 22: Streudiagramm: Signifikant positive Korrelation zwischen der Größe des linken Atriums der Pferde in Gruppe 3 und der Endothelin-1-Plasmakonzentration nach Belastung</i>	93
<i>Abbildung 23: Boxplot: Signifikanter Unterschied in der Endothelin-1 Plasmakonzentration zwischen trainierten und untrainierten Pferden in Ruhe in Gruppe 3</i>	94
<i>Abbildung 24: Boxplot: Signifikant höhere ANP Plasmakonzentration der Gruppe 1 in Ruhe gegenüber den Gruppen 2 und 3</i>	96
<i>Abbildung 25: Boxplot: Signifikant höhere ANP Plasmakonzentration in Gruppe 1 nach Belastung gegenüber den Gruppen 2 und 3</i>	97

Abbildung 26: Streudiagramm: Signifikant positive Korrelation zwischen der ANP Plasmakonzentration in Gruppe 1 in Ruhe bzw. nach Belastung und den echokardiographisch gemessenen Dimensionen des linken Ventrikels 98

Abbildung 27: Untersuchungsprotokoll des Patienten Nr. 8 188

XI. TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Schweregrad des Herzgeräuschs und Anzahl der zugeordneten Pferde	71
Tabelle 2: Anzahl der Pferde mit entsprechenden Befunden	72
Tabelle 3: Verteilung der Graduierung der Klappeninsuffizienzen	72
Tabelle 4: Lokalisation der Dimensionsveränderung und Anzahl der Pferde	73
Tabelle 5: Mittelwerte und Standardabweichungen, sowie Referenzwerte der Dimensionsmessungen im B-Mode aus der rechten parasternalen kaudalen langen Achse in den einzelnen Gruppen	75
Tabelle 6: Mittelwerte und Standardabweichungen der Dimensionsmessungen im B-Mode sowie Referenzwerte aus der rechten parasternalen kaudalen langen Achse mit Aorta in den einzelnen Gruppen	76
Tabelle 7: Mittelwerte und Standardabweichungen der Dimensionsmessungen im B-Mode sowie Referenzwerte aus der rechten parasternalen kaudalen kurzen Achse in den einzelnen Gruppen	76
Tabelle 8: Mittelwerte und Standardabweichungen der Dimensionsmessungen im B-Mode aus der rechten parasternalen langen kranialen Achse in den einzelnen Gruppen	77
Tabelle 9: Mittelwerte und Standardabweichungen der Dimensionsmessungen im B-Mode sowie Referenzwerte aus der linken parasternalen langen kaudalen Achse in den einzelnen Gruppen	77
Tabelle 10: Mittelwerte und Standardabweichungen der Dimensionsmessungen im B-Mode sowie Referenzwerte aus der linken parasternalen langen Achse mit Aorta in den einzelnen Gruppen	78
Tabelle 11: Ergebnisse der M-Mode Messungen ausgedrückt als Mittelwerte und Standardabweichungen, sowie Referenzwerte aus der rechten kaudalen langen Achse in den einzelnen Gruppen	79
Tabelle 12: Ergebnisse der M-Mode Messungen ausgedrückt als Mittelwerte und Standardabweichungen, sowie Referenzwerte aus der rechten kaudalen kurzen Achse in den einzelnen Gruppen	80
Tabelle 13: Mittelwerte und Standardabweichungen der Stammdaten der Pferde in den einzelnen Gruppen	81
Tabelle 14: mittlere Belastungszeit (min) der Pferde in den 3 Gangarten und Herzfrequenz nach Belastung	82
Tabelle 15: Mittelwert mit Standardabweichung und Median der Angiotensin-II-Plasmakonzentration in Ruhe und nach Belastung in den einzelnen Gruppen	83
Tabelle 16: Mittelwert mit Standardabweichung und Median der Aldosteron-Plasmakonzentration in Ruhe und nach Belastung in den einzelnen Gruppen	84
Tabelle 17: Mittelwert mit Standardabweichung und Median der Endothelin-1-Plasmakonzentration in Ruhe und nach Belastung in den einzelnen Gruppen	87
Tabelle 18: Mittelwert mit Standardabweichung und Median der ANP-Plasmakonzentration in Ruhe und nach Belastung in den einzelnen Gruppen	95
Tabelle 19: Stammdaten aller Pferde mit kardiologischen Befunden	189

XII. ANHANG

1. Untersuchungsprotokoll

Datum der Untersuchung: 6.10.2011

laufende Nummer in der Studie: 08

Patient:

Name Pferd: "Sam"

Name Besitzer:

Geschlecht: Stute Hengst Wallach

Alter: 7 Jahre

Gewicht: 450 kg

Stockmaß: 153 cm

Rasse: Traber Vollblut Warmblut Sonstiges: _____

Letzte Impfung: Januar 2011

Letzte Entwurmung: Juli 2011

Verwendungszweck:

Remonte

Sportpferd: Dressur Springen Western Fahren Distanz Galopper Traber

Schulpferd

Freizeitpferd

Nicht reiterlich genutzt: Zucht Weidepferd

Trainingszustand nach Besitzerangaben: trainiert untrainiert

Vorbericht/Vorstellungsgrund: Leistungsinsuffizienz

Vorbehandelt mit: -

Allgemeinuntersuchung:

Haltung: Ohne besonderen Befund sonstiges:

Verhalten: ruhig/aufmerksam aufgeregt/unruhig apathisch somnolent

Pflegezustand: sehr gut gut mäßig schlecht

Ernährungszustand: adipös gut x mäßig schlecht

Körpertemperatur: 37,6 °C

Mandibulare Lymphknoten.: Ohne besonderen Befund x schmerzhaft/vergrößert

Atemfrequenz: 16/min

Herzfrequenz: 72/min

Allgemeinbefinden: ungestört x gestört → ggr. mgr. hgr.

Herzkreislaufuntersuchung:

Schleimhäute: Ohne besonderen Befund Farbe porzellanfarben KFZ: < 2 sec 2 sec x > 2 sec

Hautturgor: erhalten x vermindert

Episkleralgefäße: fein gezeichnet injiziert x

Arterienpuls: Frequenz: 52/min

Pulsqualität: schwach mäßig kräftig deutlich kräftig x gleichmäßig ungleichmäßig x regelmäßig unregelmäßig

Venenabfluss: ohne besonderen Befund x gestört/Venen gestaut

Ödeme: nein ja x wo: Gliedmaßen Unterbauch x Brust sonstige _____

Herzspitzenstoß: - + x ++ +++

Herzauskultation:

Frequenz: 72/min

Intensität: - + x ++ +++

Rhythmus: regelmäßig Arrhythmie x → partiell total x

Abgesetztheit: gut schlecht x

Nebengeräusche: nein ja x → früh/mittel/spätsystolisch holosystolisch x
früh/mittel/spätdiastolisch holodiastolisch x

Grad links: 3 Grad rechts: 2

Abschließender Herzbefund nach vollständiger Untersuchung: mgr. AVI, hgr. MVI, mgr. TVI, VF, VSD mit hgr. Dilatation des RA und RV und ggr. Dilatation des LA.

Untersuchung der Atemwege:

Atemtyp: kostoabdominal x verstärkt abdominal

Nasenausfluss: nein x ja ggr. mgr. hgr.

Charakter: serös mukös seromukös purulent

Husten: spontan nicht auslösbar 1x auslösbar mehrfach auslösbar

Ruhedyspnoe: ja nein

Lungenauskultation: beidseits ohne besonderen Befund verschärft vesikulär/bronchial

links rechts

Trachealauskultation: ohne besonderen Befund Rasseln oder ähnliches

Weiterführende Lungenuntersuchungen:

Blutgase/Endoskopie/TBS/BAL: -

Belastungsuntersuchung:

Schritt: 5 min, Trab: 10 min, Galopp: 5 min, HF nach Belastung: 120/min

Abbildung 27: Untersuchungsprotokoll des Patienten Nr. 8

TBS= Tracheobronchialsekret, BAL= Bronchoalveoläre Lavage, KFZ= kapilläre Füllungszeit, ggr.= geringgradig, mgr.= mittelgradig, hgr.= hochgradig

2. Stammdaten aller Pferde mit kardiologischen Befunden

Pferd (Nr.)	Alter (Jahre)	Rasse	Geschlecht	Ge- wicht(k g)	Größe (cm)	Nutzung	Gruppe	Befund
46	17	WB	Wallach	562	160	Weide	1	gesund
47	19	Araber	Stute	431	144	Freizeit	1	gesund
48	8	Traber	Stute	441	156	Weide	1	gesund
49	14	WB	Wallach	586	170	Dressur	1	gesund
51	20	Traber	Wallach	550	161	Freizeit	1	gesund
50	13	Traber	Wallach	395	150	Freizeit	1	gesund
52	12	WB	Stute	612	173	Springen	1	gesund
53	11	Traber	Wallach	630	165	Weide	1	gesund
54	4	WB	Stute	500	175	Weide	1	gesund

41	24	WB	Hengst	590	163	Freizeit	1	gesund
42	8	Reitpony	Stute	351	141	keine Angabe	1	gesund
55	10	WB	Stute	540	172	Springen	1	gesund
10	25	WB	Stute	610	165	Freizeit	1	gesund
32	25	WB	Stute	510	169	keine Angabe	1	gesund
25	4	Reitpony	Stute	400	148	Remonte	1	gesund
1	16	WB	Wallach	690	188	Freizeit	3	MVI AVI
4	23	Vollblut	Hengst	465	156	Weide	3	AVI
5	5	Traber	Wallach	525	161	Rennen	3	TVI MVI
7	21	WB	Wallach	605	169	keine Angabe	3	AVI MVI VF
8	7	WB	Wallach	450	153	Weide	3	AVI MVI TVI
11	30	WB	Stute	526	159	Freizeit	3	AVI

12	14	WB	Hengst	580	166	Freizeit	3	AVI VF
15	13	Traber	Wallach	412	155	Rennen	3	AVI
20	10	WB	Stute	613	176	Freizeit	3	MVI PVI
21	19	WB	Stute	515	165	Weide	3	AVI
23	16	WB	Wallach	580	171	Weide	3	MVI
29	24	WB	Wallach	531	168	Freizeit	3	MVI AVI
31	25	WB	Wallach	500	160	Freizeit	3	MVI TVI VF
34	5	Traber	Wallach	445	161	Dressur	3	PVI TVI
36	24	WB	Wallach	550	161	Weide	3	AVI PVI
43	27	WB	Stute	445	160	Weide	3	AVI PVI TVI
45	20	WB	Wallach	550	168	Freizeit	3	AVI
2	10	WB	Wallach	583	165	Freizeit	2	MVI

3	12	WB	Stute	525	173	Freizeit	2	AVI
6	20	WB	Wallach	583	168	Freizeit	2	MVI PVI
9	16	WB	Stute	600	170	Freizeit	2	PVI
13	23	Quarter Horse	Wallach	483	149	Freizeit	2	AVI
14	15	WB	Wallach	545	169	Dressur	2	TVI VF
16	6	Reitpony	Stute	425	163	Freizeit	-	ES
17	19	WB	Stute	550	157	Weide	2	MVI AVI
18	26	WB	Wallach	515	156	Freizeit	2	MVI AVI
19	21	WB	Stute	464	151	Freizeit	2	MVI AVI
22	4	WB	Stute	420	170	keine Angabe	-	ES
24	27	Traber	Wallach	420	158	Weide	2	MVI
26	10	WB	Wallach	570	170	Springen	2	TVI

27	8	Araber	Wallach	450	158	Remonte	2	AVI
28	22	WB	Wallach	580	170	Weide	2	MVI AVI
30	4	WB	Wallach	480	158	keine Angabe	2	MVI
33	9	Traber	Wallach	590	167	Springen	2	MVI TVI
35	28	Traber	Wallach	410	159	Weide	2	AVI
37	14	Vollblut	Wallach	408	158	Weide	2	AVI
38	10	Traber	Stute	535	162	Weide	2	AVI
39	18	Criollo	Wallach	480	156	Freizeit	2	AVI
40	22	WB	Stute	620	170	Freizeit	2	AVI

Tabelle 19: Stammdaten aller Pferde mit kardiologischen Befunden

WB= Warmblut, AVI= Aortenklappeninsuffizienz, MVI= Mitralklappeninsuffizienz
 TVI=Trikuspidalklappeninsuffizienz, PVI= Pulmonalklappeninsuffizienz, VSD=
 Ventrikelseptumdefekt, ES= Extrasystolen, VF= Vorhofflimmern, ABC= aus der Auswertung
 ausgeschlossen

XIII. DANKSAGUNG

Ganz herzlich bedanken möchte ich mich bei Frau Prof. Heidrun Gehlen für die Bereitstellung des Themas und vor allem für die Geduld und die Zeit, mit der sie mir und meinen Mitdoktorandinnen die Technik des Herzultraschalls beim Pferd näher brachte. Immer wieder hatten wir die Gelegenheit zu üben und konnten dabei jeder Zeit wertvolle Tipps und Hilfestellung erhalten. Vielen Dank auch für die zahlreichen Gespräche, Diskussionen und fachlichen Anregungen rund um das Thema und die gut organisierte Betreuung während des praktischen Teils dieser Arbeit.

Ein großes Dankeschön möchte ich an die Firma LABOKLIN in Bad Kissingen für die Analyse der Blutproben aussprechen. Besonderer Dank gilt Frau Dr. Wöckener, Frau Dr. Klein und Frau Kolb.

Danke auch an Dr. Robert Schmitz, der stets offen bezüglich aller Fragen rund um die Pferdekardiologie war und mir viele wertvolle Tipps geben konnte.

Vielen Dank auch an Herrn Markus Groß von der statistische Beratungseinheit der FU Berlin für die Hilfe bei der statistischen Auswertung.

Mein ganz herzlicher Dank gilt auch meinen Mitdoktorandinnen, allen voran Maike Rapp und Annabell Haser , sowie Dorothea Faust, Caroline Wirth und allen anderen Helfern, die hier nicht erwähnt sind, für ihre unerlässliche Hilfe bei der Durchführung des praktischen Teils dieser Arbeit.

Ganz besonderer Dank gilt meinem Mann und meinen Eltern. Danke für alle Unterstützung und Geduld!

XIV. SELBSTSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Karlsruhe, den 4.11.2015

Ina Hofheinz