

Aus der Klinik für kleine Haustiere
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Causes of death in Irish Wolfhounds with atrial fibrillation and/or dilated cardiomyopathy

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

vorgelegt von

CLAUDIA VOLLMAR

Tierärztin aus Waldbröl

Berlin 2020

Journal-Nr.: 4198



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.

Die rechtliche Verantwortung für den gesamten Inhalt dieses Buches liegt ausschließlich bei dem Autoren dieses Werkes.

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung der Autoren oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2020

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Authors or the Publisher.

1st Edition 2020

© 2020 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen
Printed in Germany



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

STAUFENBERGRING 15, 35396 GIESSEN, GERMANY
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890
email: redaktion@doktorverlag.de

www.doktorverlag.de

Aus der Klinik für kleine Haustiere
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

**Causes of death in Irish Wolfhounds with
atrial fibrillation and/or dilated cardiomyopathy**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Grades eines

Doktors der Veterinärmedizin

an der

Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Claudia Vollmar

Tierärztin aus Waldbröl

Berlin 2020

Journal-Nr.: 4198

Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereichs Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

Dekan: Uni.-Prof. Dr. Jürgen Zentek
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Barbara Kohn
Zweiter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Salah Amasheh
Dritter Gutachter: PD Dr. Ann Kristin Barton

Deskriptoren: dogs, cardiomyopathy, atrial fibrillation, heart diseases, survival

Schlüsselwörter: atrial fibrillation, Irish wolfhound, dog, sudden cardiac death, congestive heart failure, cardiac death, survival, atrial fibrillation, Vorhofflimmern, plötzlicher Herztod, kongestives Herzversagen

Tag der Promotion: 16.07.2020

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungen:.....	III
1. Einleitung.....	1
2. Literatur.....	2
2.1. Vorhofflimmern.....	2
2.1.1. Pathophysiologie des Vorhofflimmerns.....	2
2.1.2. Entstehung des Vorhofflimmerns.....	2
2.1.3. Aufrechterhaltung des Vorhofflimmerns.....	3
2.1.4. Ionenkanäle als Determinanten.....	4
2.1.5. Elektrisches atriales Remodeling.....	5
2.1.6. Strukturelles Remodeling.....	6
2.1.7. Neurales/ autonomes Remodeling.....	6
2.1.8. Entstehung und klinische Formen von Vorhofflimmern.....	6
2.2. Vorhofflimmern beim Menschen.....	7
2.2.1. Ätiologische Faktoren, die Vorhofflimmern begünstigen.....	7
2.2.2. Genetische Faktoren.....	7
2.2.3. Epidemiologie von Vorhofflimmern.....	8
2.2.4. Klinik unter Vorhofflimmern.....	8
2.2.5. Behandlung von Vorhofflimmern.....	8
2.3. Vorhofflimmern beim Hund.....	10
2.3.1. Epidemiologie und Überlebenszeiten.....	10
2.3.2. Therapie zur Herzfrequenzkontrolle.....	11
2.3.3. Histologische Befunde in Vorhofgewebe.....	11
2.3.4. Studien zum Vorhofflimmern beim Irischen Wolfshund.....	13
2.4. Dilatative Kardiomyopathie (DCM).....	14
2.4.1. Definition der DCM.....	14
2.5. DCM beim Menschen.....	14
2.5.1. Epidemiologie.....	14
2.5.2. Diagnostik zur Früherkennung.....	15
2.5.3. Genetische Aspekte zur DCM beim Menschen.....	15
2.6. DCM beim Hund.....	17
2.6.1. Klinische Studien zur DCM beim Hund.....	17
2.6.2. Diagnostik zur Früherkennung beim Hund.....	19
2.6.3. Klinische Studien zur DCM bei Irischen Wolfshunden.....	19
2.6.4. Genetische Studien zur DCM beim Hund.....	21

2.7. Gegenstand der Studien.....	24
2.8. Material und Methoden.....	24
3. Publikation 1.....	25
3.1. Abstract.....	27
3.2. Introduction.....	29
3.3. Material and Methods.....	29
3.4. Results.....	33
3.5. Discussion.....	36
3.6. Conflict of interest.....	42
3.7. Footnotes.....	42
3.8. References.....	43
3.9. Tables.....	46
3.10. Figures.....	51
4. Publikation 2.....	53
4.1. Abstract.....	55
4.2. Introduction.....	56
4.3. Methods.....	56
4.4. Results.....	59
4.5. Discussion.....	62
4.6. Conflict of interest.....	65
4.7. Acknowledgements.....	65
4.8. References.....	66
4.9. Tables.....	70
4.10. Figures.....	79
5. Diskussion.....	83
5.1. Ergebnisse.....	83
5.2. Limitationen.....	88
5.3. Schlussfolgerung.....	88
6. Zusammenfassung.....	89
7. Summary.....	91
8. Literaturverzeichnis.....	93
9. Zusätzliche Publikationsleistungen.....	IV
10. Danksagung.....	V
11. Finanzierungsquellen.....	VI
11. Selbständigkeitserklärung.....	VI

Abkürzungen:

AF	Vorhofflimmern
ARVC	Arrhythmogene rechtsventrikuläre Kardiomyopathie
CHF	Kongestives Herzversagen
CD	Cardiac Death, kardialer Tod, Herztod
DCM	Dilatative Kardiomyopathie
DP	Dobermann Pinscher
HR	Herzfrequenz
IQR	Interquartile Range
IW	Irischer Wolfshund
SCD	Sudden Cardiac Death, plötzlicher Herztod
SR	Sinusrhythmus
VES	Ventrikuläre Extrasystole
VF	Kammerflimmern
VT	ventrikuläre Tachyarrhythmie

1. Einleitung

Irische Wolfshunde (IW) sind häufig von einer dilatativen Kardiomyopathie (DCM) und Vorhofflimmern (AF) betroffen (Brownlie 1991; Vollmar 1996; Brownlie und Cobb 1999; Vollmar 2000; Simpson et al. 2016). Zudem ist AF die häufigste therapierelevante Arrhythmie beim Hund (Moise 2005; Noszcyk-Nowak et al 2017). Eine retrospektive statistische Auswertung von 3542 Hunden mit AF zeigte, dass Hunde großer Rassen (unter anderem IW) häufig bereits in einem jungen Alter an AF erkranken.

Die DCM ist sowohl beim Menschen als auch bei Hunden großer Rassen eine schwerwiegende Herzerkrankung mit hoher Morbidität und Mortalität (Tidholm und Jönsson 1996, Tidholm und Jönsson 1997, Dukes-McEwan et al. 2003, Burkett und Hershberger 2005, Martin et al. 2010, Ganesh et al. 2013). Für den IW belegen diverse Studien einen Zusammenhang von AF und DCM, beide Erkrankungen werden häufig gemeinsam diagnostiziert oder entwickeln sich nacheinander (Brownlie 1991; Vollmar 1996, Brownlie und Cobb 1999; Vollmar 2000; Simpson et al. 2016). Jedoch zeigen manche IW alleiniges, subklinisches AF, in der Regel mit leichter Vorhofvergrößerung und annähernd normaler Herzfrequenz, aber ohne Anzeichen einer DCM und ohne andere feststellbare Herzveränderungen (Vollmar 1996; Vollmar 2000; Simpson et al. 2016). Zur Genetik wurde kürzlich für AF beim IW basierend auf Stammbaumanalysen, ein dominanter Erbgang vermutet (Fousse et al. 2019). Für die DCM beim IW hingegen ergaben eine umfangreiche Segregationsanalyse und später eine Genom-weite Assoziationsstudie, dass wahrscheinlich eine oligo-genetische Vererbung vorliegt (Distl et al. 2007; Philipp et al. 2012). Insbesondere Kombinationen von zwei oder drei „single nucleotide polymorphisms (SNPs)“ konnten die meisten DCM-Fälle beim IW erklären (Simpson et al. 2016).

Mehrere Zuchtverbände aus westeuropäischen Ländern raten für Zuchthunde der Rasse IW kardiologische Untersuchungen mittels Echokardiographie und eventuell EKG an. Auch viele private Hundehalter lassen ihre Hunde vorbeugend untersuchen. Dadurch wird die Erkrankung bei vielen IW mittlerweile schon im präklinischen Stadium diagnostiziert und eine frühzeitige medikamentöse Behandlung ermöglicht. In einer klinischen Studie wurden bei IW zwischen 3 Medikamenten signifikante Unterschiede in der Verlängerung der präklinischen Phase der DCM bis zur Entwicklung eines kongestiven Herzversagens oder eines plötzlichen Herztodes gezeigt (Vollmar und Fox 2016).

Hingegen gibt es wenige Daten zum Langzeitverlauf von an DCM oder AF erkrankten IW. Nicht genau bekannt ist, wie viele der Hunde mit zunächst alleinigem AF später eine DCM entwickeln und welchen Einfluss AF und DCM auf die Lebenserwartung der Hunde haben. Dieses soll im Folgenden untersucht werden.

2. Literatur

2.1. Vorhofflimmern

2.1.1. Pathophysiologie des Vorhofflimmerns

Vorhofflimmern (AF) ist eine Herzrhythmusstörung, bei der die Kontrolle des Herzrhythmus nicht mehr dem Sinusknoten unterliegt. Durch gleichzeitiges Vorhandensein multipler, ungeordnet kreisender Depolarisationen in den Vorhöfen „flimmern“ diese und kontrahieren sich nicht mehr rhythmisch (Moe et al. 1964; Nattel 2002; Goette und Oeff 2005). Die Depolarisationen der Vorhöfe wirken kontinuierlich auf den AV-Knoten ein, der in sehr unregelmäßigen Abständen Erregungen auf die Hauptkammern weiterleitet, so dass ein völlig unregelmäßiger Kammerrhythmus entsteht (Kittleson 2005a). Wie viele Vorhofimpulse auf die Kammern übergeleitet werden, hängt hauptsächlich von der Refraktärperiode des AV-Knotens ab und wird vom autonomen Nervensystem beeinflusst. Bei hohem Vagotonus und niedrigem Sympathikotonus werden weniger Erregungen übergeleitet als bei hohem Sympathiko- und niedrigem Vagotonus (Kittleson 2005b). Bei sehr rasch aufeinanderfolgenden Kammerkontraktionen ist die Zeit für eine ausreichende Ventrikelfüllung zu kurz, um eine spürbare Pulswelle zu erzeugen (Pulsdefizit). AF kann durch verschiedene Mechanismen ausgelöst werden, die alle eine extrem rasche und unregelmäßige elektrische Aktivität der Vorhöfe erzeugen (Nattel et al. 2000). Einmal entstanden, erzeugt AF Änderungen der elektrischen Eigenschaften (electrical remodeling) der Vorhöfe, die Änderungen in der Genexpression in Ionenkanälen und heterogene Verkürzungen der atrialen Refraktärperiode umfassen. Als Folge entstehen multiple kleine Reentry-Kreise, die das AF aufrechterhalten (Nattel 2002; Goette und Oeff 2005).

2.1.2. Entstehung des Vorhofflimmerns

Mechanismen, sogenannte Trigger, die AF auslösen, sind einzelne oder wiederholte Vorhofextrasystolen, die auftreten, wenn in einzelnen Zellen Nachdepolarisationen entstehen und sich auf die Vorhöfe ausbreiten (Iwasaki et al. 2011). Es gibt zwei Arten von Nachdepolarisation, frühe (early afterdepolarization, EAD) und späte Nachdepolarisation (delayed afterdepolarization, DAD). EAD entsteht durch eine abnorme sekundäre Zellmembrandepolarisation während der Repolarisationsphase (Iwasaki et al. 2011). Hauptauslöser ist eine verlängerte Aktionspotentialdauer bei langsamer vorangehender Aktivierungsrate. Die verzögerte Nachdepolarisation ergibt sich aus dem Ruhepotential nach vollständiger Repolarisierung eines Aktionspotentials und kann für die Aktivierung einen Schwellenwert erreichen. DADs werden durch abnorme diastolische Ca^{2+} Freisetzung aus dem sarkoplasmatischen Retikulum, der Ca^{2+} Speicherorganelle der Zelle, ausgelöst und

durch zelluläre Kalziumüberladung und schnelle vorangehende Aktivierungsraten begünstigt (Hove-Madsen et al. 2004; Neef et al. 2010; Wakili 2011). Kongestives Herzversagen (CHF), als eine der häufigsten Ursachen für AF, erzeugt eine Ca^{2+} Überladung in Vorhofmyokardzellen und induziert DADs (Yeh 2008; Wakili et al. 2011). Ryanodin Rezeptoren (RyRs, RyR2) sind spezialisierte Ca^{2+} Kanäle im sarkoplasmatischen Retikulum, die Ca^{2+} als Reaktion auf einen transmembranen Ca^{2+} Einwärtsstrom freisetzen. Während der Diastole sind sie normalerweise geschlossen, können sich aber öffnen, wenn sie defekt sind oder wenn das sarkoplasmatische Retikulum Ca^{2+} überladen ist. Mutationen des Ryanodin Rezeptors führen typischerweise zu katecholaminergen polymorphen ventrikulären Tachykardien und fördern außerdem AF, das durch DAD ausgelöst wird (Yeh et al. 2008; Iwasaki et al. 2011).

2.1.3. Aufrechterhaltung des Vorhofflimmerns

Zu den Mechanismen, die AF aufrechterhalten, gehören anhaltende triggernde Nachpolarisationen und entweder fokale oder ausgedehnte kreisende Erregungen im Myokard, die durch den sogenannten Reentry-Mechanismus entstehen (Iwasaki et al. 2011; Waks und Josephson 2014). Die Auslösung eines Reentry-Mechanismus erfordert zunächst eine Vorhofextrasystole als Trigger und eine inhomogene Erregbarkeit des umgebenden Myokards, die entweder funktionell oder anatomisch (z.B. Fibrose) bedingt sein kann (Wakili et al. 2011). Damit ein Reentry stattfinden kann, muss in dem betroffenen Myokard eine kurze Refraktärperiode, eine langsame Erregungsleitungsgeschwindigkeit oder ein fokaler Leitungs-block vorliegen (Amit et al. 2010). Die Zeit für die Reizleitung in einem Myokardbereich muss länger dauern als die Refraktärzeit in benachbarten Myokardbereichen. Auf diese Weise trifft die Depolarisationswelle immer auf erregbares Gewebe und die Erregung kann kreisen (Amit et al. 2010). Reentry kann AF durch rasch aufeinanderfolgende ektopische Erregungen aus einem Fokus erzeugen oder durch einen einzigen fokal kreisenden Reentry-Bereich. Alternativ kann AF durch multiple funktionale Reentry-Erregungskreise aufrechterhalten werden, die in Zeit und Lokalisation variieren (Iwasaki et al. 2011; Waks und Josephson 2014). Dabei wird AF durch eine andauernde Leitung mehrerer unabhängiger Wellen stabilisiert, die sich scheinbar chaotisch durch die Vorhofmuskulatur fortpflanzen. Diese Wellen können miteinander interferieren und so die Zahl der Wellenfronten erhöhen oder reduzieren. Solange die Zahl der Fronten nicht unter ein kritisches Maß sinkt, bleibt das AF bestehen (Iwasaki et al. 2011; Waks und Josephson 2014).

2.1.4. Ionenkanäle als Determinanten

Die elektrophysiologischen Eigenschaften des Myokards werden durch Ionenkanäle bestimmt. Das Ruhemembranpotential einer Herzmuskelzelle liegt bei etwa minus 80mV (intrazellulär zu extrazellulär), durch Überwiegen negativer Ladung im Innern der Zelle (Iwasaki et al. 2011). Entlang dieser Ladung diffundieren K^+ und Na^+ Ionen entsprechend ihrer Gradienten, K^+ von intrazellulär nach extrazellulär, Na^+ von extrazellulär nach intrazellulär. Na/K-Pumpen wirken dieser Diffusion entgegen, indem sie drei Natriumionen nach außen gegen zwei Kaliumionen nach innen austauschen. Hieraus resultiert eine intrazelluläre negative Ladung gegenüber dem Extrazellulärraum. Bei einem Aktionspotential kommt zuerst durch schlagartige Steigerung der Permeabilität für den Na^+ - Einwärtsstrom bei einem bestimmten Schwellen-potential während der Depolarisation ein steiler Anstieg des Aktionspotentials zustande (Phase 0). Das Innere der Zelle wird zunehmend positiv, es wird ein Spitzenpotential von +30mV erreicht. In der Phase 1 nimmt der Na^+ - Strom wieder ab, in der Plateauphase 2 folgt ein langsamer Ca^{2+} -Einstrom und danach die Repolarisation (Phase 3), mit Abnahme der Ca^{2+} -Leitfähigkeit und Wiederansteigen der K^+ -Leitfähigkeit. Dabei strömt K^+ aus der innen positiv geladenen Myokardzelle nach außen. Nach einiger Zeit ist durch diesen Auswärtsstrom von positiver Ladung in den extrazellulären Raum wieder die Ausgangslage der Ladungen hergestellt: innen negativ und außen positiv. Anschließend erfolgt erneut die Umverteilung der Ionen (Kalium nach innen und Natrium nach außen) Durch Abnahme der K^+ -Leitfähigkeit kommt es zur langsamen Depolarisation (Phase 4) bis das kritische Schwellenpotential überschritten wird und die schnelle Depolarisation der Phase 0 wieder folgt (Mevissen und Kovaceciv 2010).

Ein AP kann nur entstehen, wenn die Leitfähigkeiten für Na^+ und Ca^{2+} durch die Zelle geändert werden können. Im Verlauf eines Aktionspotentials am Herzen können die als Trigger funktionierenden Na^+ -Kanäle erst wieder aktiviert werden, wenn während der Repolarisationsphase -50mV unterschritten werden. Oberhalb dieser Schwelle ist die Herzmuskelzelle gegenüber eintreffenden elektrischen Strömen refraktär (absolute Refraktärzeit). In einer anschließenden Phase können nur relativ starke Ströme ein Aktionspotential erzwingen (relative Refraktärzeit) (Mevissen und Kovacevic 2010). Normale Vorhofmyokardzellen bleiben im Ruhepotential, bis durch den Sinusknoten ein Aktionspotential ausgelöst wird.

Automatische Aktivität entsteht, wenn ein Anstieg des zeitabhängigen depolarisierenden Ionen-Einwärtsflusses von Na^+ oder Ca^{2+} erfolgt, der das Zellinnere stärker positiv werden lässt und die Aktionspotentialdauer verlängert oder wenn der repolarisierende Auswärtsfluss von K^+ sinkt (der für eine negative Ladung des Zellinneren sorgt) und eine zunehmende zeitabhängige Zelldepolarisation erfolgt. Bei Erreichen des Schwellenpotentials wird ein

Aktionspotential ausgelöst und es entsteht automatische Aktivität (Kittleson 2005b). Supraventrikuläre Extrasystolen und Tachyarrhythmien können einerseits durch gesteigerte normale Aktivität entstehen, wenn vor allem bei niedriger Sinusfrequenz untergeordnete Zentren schneller depolarisieren als der Sinusknoten (Hoffman und Rosen 1981). Andererseits kann eine abnorme automatische Aktivität entstehen, wenn Schäden der Zellmembran in veränderten Myokardzellen zu einer Erniedrigung des Ruhemembranpotentials führen (Hoffman und Rosen 1981). Beschädigte Myokardzellen können ein Membranruhepotential von nur -40 bis -60mV aufweisen statt der normalen -70 bis -90mV. Bei stabilem erniedrigtem Membranpotential werden Reentry-Mechanismen begünstigt, ansonsten entsteht abnorme automatische Aktivität mit spontanen Depolarisationen, die zu Extrasystolen führen (Kittleson 2005b).

AF durch Reentry wird begünstigt, wenn gesteigerter K^+ oder verminderter Ca^{2+} -Inonenfluss die Aktionspotentialdauer verkürzt. Verminderter Na^+ Inonenfluss oder eine Dysfunktion der Gap Junction Connexin Kanäle fördern AF, indem sie die Erregungsleitungsgeschwindigkeit reduzieren (Iwasaki et al. 2011).

2.1.5. Elektrisches atriales Remodeling

AF führt zu einer progressiven Verkürzung der atrialen Refraktärzeit sowie zum Verlust der Frequenzadaptation der Refraktärzeit (Goette und Oeff 2005). Die Expression von Ionenkanälen oder deren Funktion wird verändert, wodurch wiederum AF begünstigt wird. Da mit jedem Aktionspotential Ca^{2+} in die Vorhofzellen eintritt, führen schnelle Vorhoffrequenzen zu einer Kalziumüberladung der Vorhofzellen (Yeh et al. 2008, Wakili et al. 2011). Autoprotektive Mechanismen werden initiiert, die den Ca^{2+} Einwärtsstrom reduzieren und den „Einwärts-Gleichrichter-(Inward-Rectifier) K^+ Strom“ verstärken, als Folge wird durch Verkürzung der Aktionspotentialdauer die Ca^{2+} Überladung der Vorhofmyokardzellen reduziert. Die Verkürzung der Aktionspotentialdauer begünstigt aber atrial kreisende Reentry Erregungen, steigert die Vulnerabilität für AF und dessen Aufrechterhaltung (Iwasaki et al. 2011). Außerdem kommt es durch Alterationen im Ca^{2+} Handling verstärkt zur diastolischen Ca^{2+} Freisetzung über RyR2 aus dem sarkoplasmatischen Retikulum ins Zytoplasma. Die RyR2-Funktion wird durch Kanalphosphorylierung moduliert, eine Hyperphosphorylierung macht RyR2 undicht und arrhythmogen, so dass fokale ektopische Aktivität in Form von Vorhofextrasystolen entsteht. (Vest et al. 2005; Liang et al. 2008; Yeh et al. 2008, Iwasaki et al. 2011, Wakili et al. 2011)

2.1.6. Strukturelles Remodeling

Beim Menschen ist das strukturelle Remodeling durch eine Fibrose gekennzeichnet, die in den Vorhöfen für AF prädisponiert (Tan und Zimetbaum 2011). Durch interstitielle Fibrose werden Muskelbündel separiert, während eine reparative Fibrose tote Kardiomyozyten ersetzt. Beide Fibroseformen unterbrechen die elektrophysiologische Kontinuität und führen zu einer verlangsamten, inhomogenen Erregungsleitung (Goette und Oeff 2005). Wenn neben Kardiomyozyten eine erhöhte Anzahl Fibroblasten vorliegt, entsteht eine Heterogenität der Erregungsleitung, die ektopische Aktivität sowie die Entstehung von Micro- und Macro- Reentrys begünstigt (Mariscalco et al. 2006; Aldhoon et al. 2010; Pellmann et al. 2010; Tan und Zimetbaum 2011).

2.1.7. Neurales/ autonomes Remodeling

Sowohl das sympathische als auch das parasympathische Nervensystem spielen eine Rolle bei der Entstehung und Aufrechterhaltung von AF, insbesondere Imbalancen zwischen beiden Systemen (Gould et al. 2006; Tan et al. 2008). Vagale Aktivität verstärkt den Acetylcholin- abhängigen K^+ Fluss. Dabei wird die Aktionspotentialdauer in den Vorhöfen nicht einheitlich verkürzt, so dass eine Voraussetzung für Reentrant-Rotor-Erregungen entsteht, die AF erzeugen und aufrechterhalten. Eine sympathische Aktivierung hingegen steigert den Ca^{2+} -Einwärtsfluss und die spontane Ca^{2+} -Freisetzung aus dem sarkoplasmatischen Retikulum und begünstigt daher durch DAD-ausgelöste ektopische Aktivität (Arora 2012). Studien an Hunden mit durch tachykardes Vorhofpacing induziertem AF zeigten eine heterogene Zunahme der sympathischen Innervation der Vorhöfe, durch simultane sympathovagale Aktivität wurde dabei paroxysmales AF und paroxysmale Vorhoftachykardie ausgelöst (Tan et al. 2008). In humanmedizinischen Studien wurde bei Patienten mit persistierendem AF eine gesteigerte atriale sympathische Innervation nachgewiesen (Gould et al. 2006). Ein wichtiger Unterschied zeigt sich beim Remodeling des autonomen Nervensystems zwischen Atrien und Ventrikeln im Herzversagen: In den Ventrikeln scheint der Vagus vor Arrhythmien zu schützen, während dem parasympathische Nervensystem im Bereich der Vorhöfe eine wichtige Rolle bei der Entstehung und Aufrechterhaltung des AF zukommt (Arora 2012).

2.1.8. Entstehung und klinische Formen von Vorhofflimmern

Jede Quelle von Vorhoftachykardie führt zu atrialem Remodeling, das multiple Reentry Kreise begünstigt. AF durch Reentry kann dabei durch einen oder multiple Reentry Kreise entstehen. Unter klinischem Aspekt kann AF als paroxysmal intermittierend, anhaltend (durch Medikamente oder elektrische Kardioversion terminierbar) oder permanent (nicht terminierbar) unterschieden werden (Goette und Oeff 2005; Wakili et al. 2011).

2.2. Vorhofflimmern beim Menschen

2.2.1. Ätiologische Faktoren, die Vorhofflimmern begünstigen

Eine Vielzahl ätiologischer Faktoren trägt zum Entstehen von AF bei. Bei den meisten Patienten resultiert AF aus Wechselwirkungen verschiedener Faktoren.

Herzerkrankungen: Mehr als 70% der Patienten mit AF haben strukturelle Herzerkrankungen (CHF, Kardiomyopathien, Herzklappenerkrankungen, koronare Herzkrankheit, Myokarditis, Perikarditis oder Vorhoftumoren) oder internistische Grunderkrankungen wie Hypertonie, Hyperthyreose, Diabetes mellitus, Schlafapnoe oder Adipositas (Ehrlich et al. 2005; Goette und Oeff 2005; Rajalakshmi et al. 2016). Zusätzliche wichtige Risikofaktoren sind das Altern und starker Alkoholkonsum. Der autonome Tonus ist ein weiterer anerkannter Faktor (Fatkin et al. 2007).

Kongestives Herzversagen: AF kommt bei Patienten mit CHF häufig vor, mit einer Prävalenz von etwa 10% bei Patienten in den New York Heart Association (NYHA) Heart Failure Klassen II–III und etwa 50% in NYHA Klasse IV (Ehrlich et al. 2005). AF führt zu CHF und umgekehrt (Rajalakshmi et al. 2016). CHF steigert die Ca^{2+} Überladung des sarkoplasmatischen Retikulums und senkt die Expression von Calsequestrin, das als wichtigster Puffer des sarkoplasmatischen Retikulums Ca^{2+} bindet. Folglich wird die spontane Freisetzung von Ca^{2+} gefördert (Yeh et al. 2008).

Abnorme Ca^{2+} -Flüsse: Aus Vorhof-Gewebeuntersuchungen von Patienten mit AF ohne CHF konnte Einblick in die Pathophysiologie der Vorhöfe bei AF und bei Herzerkrankungen gewonnen werden: Vorhöfe mit AF zeigen abnormes Ca^{2+} -Handling, das zu spontaner Calcium-Freisetzung führt (Hove-Madsen et al. 2004; Gaborit et al. 2005; Vest et al. 2005; Liang 2008 et al; Neef et al. 2010). Dabei ist bei AF oder Herzerkrankung ohne CHF das sarkoplasmatische Retikulum nicht Ca^{2+} überladen, daher wird als Ursache für die spontane Ca^{2+} -Freisetzung eine veränderten RyR2 Funktion im Vorhofgewebe vermutet (Hove-Madsen 2004 et al, Neef et al. 2010).

2.2.2. Genetische Faktoren

AF ist genetisch heterogen. Bei den genetischen Ursachen sind generell zwei Gruppen zu unterscheiden: einerseits seltene genetische Varianten mit starken Effekten und einem klaren Phänotyp (Single Gen Mutationen), andererseits gängige genetische Varianten mit schwächeren Effekten (Single Nukleotid Polymorphismen) (Fatkin et al. 2007). Zur ersten Gruppe gehören beispielsweise Mutationen, die zu langem QT-Syndrom und über EADs zu AF führen. Zahlreiche weitere Mutationen führen durch gesteigerte ektopische Aktivität oder

Reentry zu AF indem sie Veränderungen und Störungen an den Kalium- oder Natriumkanälen, an Gap Junction Proteinen oder Signalproteinen bewirken (Magnani et al. 2011; Sinner et al. 2014). Die Mehrheit dieser familiären Formen von AF mit Beginn im Erwachsenenalter wird anscheinend autosomal dominant vererbt (Fatkin et al. 2007). Für die zweite Gruppe wurden über Genom-weite-Assoziationsstudien zu AF in groß angelegten Studien neue genetische Loci identifiziert, die Single-Nukleotid-Polymorphismen als Marker zur Unterscheidung erkrankter und nicht erkrankter Individuen ermittelten (Magnani et al. 2011, Sinner et al. 2014).

2.2.3. Epidemiologie von Vorhofflimmern

In einer 2010 veröffentlichten Studie wurde anhand von 184 Publikationen aus den Jahren 1980 bis 2010 die weltweite Inzidenz und Prävalenz von AF und die mit AF-assoziierte Erkrankungsbelastung analysiert (Chugh et al. 2014). Im Jahre 2010 wurde die Anzahl an Patienten mit AF auf weltweit 33,5 Millionen geschätzt, davon 20,9 Millionen Männer und 12,6 Millionen Frauen mit etwa 5 Millionen neuen Erkrankungsfällen jährlich.

2.2.4. Klinik unter Vorhofflimmern

AF ist die häufigste Herzrhythmusstörung des Menschen, assoziiert mit einem erhöhten Risiko für Schlaganfall, Herzversagen, Demenz und kardialen Tod (Estes 2011). Etwa 15 bis 30% der Patienten mit AF sind asymptomatisch. Die häufigsten klinischen Symptome sind Herzklopfen, Brustschmerz und schlechtere Belastbarkeit (Rienstra et al. 2012).

Schlaganfall ist die Haupttodesursache bei Patienten mit AF, so dass Patienten mit AF üblicherweise prophylaktisch Antikoagulanzen erhalten. In einer großen randomisierten Studie erhielten 18113 Patienten mit AF entweder Dabigatran oder Warfarin als Antikoagulans (Marijon et al. 2013). Unter diesen Voraussetzungen starben 37,4% aller Patienten an kardialen Todesursachen (plötzlicher Herztod oder CHF). Die stärksten prädiktiven Faktoren für eine kardiale Todesursache waren Vorliegen einer Herzinsuffizienz oder ein früherer Myokardinfarkt.

2.2.5. Behandlung von Vorhofflimmern

Bei AF kann eine unkontrolliert hohe Ventrikelfrequenz zu linksventrikulärer Dysfunktion und Verschlechterung einer Herzinsuffizienz beitragen. Zur Behandlung von AF kommen zwei verschiedene Behandlungsstrategien in Frage: Eine Reduzierung der Ventrikelfrequenz (Herzfrequenzkontrolle) unter anhaltendem AF oder die Terminierung der Arrhythmie durch elektrische oder medikamentöse Kardioversion. Randomisierte Untersuchungen zeigten keinen signifikanten Unterschied in der Prognose zwischen beiden Therapieansätzen bei

Patienten mit Rückfall zu persistierendem AF nach vorangegangener Kardioversion (van Gelder et al. 2002; Carlsson et al. 2003). Eine neuere, landesweite Studie aus Taiwan untersuchte unter Nutzung der nationalen Health Insurance Research Database, ob eine Therapie mit Herzfrequenzkontrolle gegenüber einer Therapie ohne Herzfrequenzkontrolle die Prognose der Patienten verbesserte (Chao et al. 2015). Im Vergleich von 43879 Patienten, die einen β -Blocker (Acebutolol, Alprenolol, Atenolol, Betaxolol, Bisoprolol, Carteolol, Carvedilol, Labetalol, Metoprolol, Nadolol, Pindolol, Propranolol, Timolol) erhielten und 18466 Patienten unter Therapie mit einem Nondihydropyridin Calcium Kanal Antagonisten (Verapamil oder Diltiazem) gegenüber 38898 Patienten unter Digoxin, wurde das Mortalitätsrisiko am deutlichsten durch β -Blocker gesenkt. An zweiter Stelle folgten die Calciumantagonisten, während die Digoxinbehandlung mit einer erhöhten Mortalität assoziiert war. Gegenüber einer Kontrollgruppe ohne Rate-Control-Medikation (N=168678) mit einer jährlichen Mortalitätsrate von 6,99% lag die jährliche Mortalitätsrate bei Patienten unter Betablocker-Therapie (4,15%) und unter Therapie mit einem Calcium-Antagonisten (6,49%) niedriger, unter Behandlung mit Digoxin (7,7%) hingegen höher (Chao et al. 2015). In diese Studie aus Asien wurden weder Angaben zur Herzfrequenz in allen Gruppen gemacht noch zur Dosierung der verwendeten Medikamente. Generell wurden in der Mehrzahl der Studien weder die Kriterien der Therapien zur Herzfrequenzkontrolle bei AF noch die Selektion der Medikamente standardisiert oder waren Evidenz basiert (van Gelder et al. 2010). In der RACE II Studie erfolgte dann bei permanentem AF der klinische Vergleich einer konsequenten medikamentösen Senkung der Herzfrequenz (auf eine Ruhfrequenz <80/min, und eine Frequenz unter 110/min bei moderater Belastung) mit einer eher gemäßigten Vorgehensweise (Ruhfrequenz unter 110/min) (van Gelder et al. 2010; Mulder et al. 2013). Untersucht wurde der primäre Endpunkt kardiovaskulärer Todesursachen oder Hospitalisierung aufgrund von Herzinsuffizienz, Schlaganfall, systemischer Embolie, Blutungen oder lebensbedrohlichen Herzrhythmus-störungen. Dabei erwies sich sowohl bei Betrachtung aller 614 Patienten mit permanentem AF als auch bei einer Post-Hoc Analyse der Daten von 287 dieser Patienten mit Herzinsuffizienz die gemäßigte Herzfrequenzreduktion als ebenso wirksam wie die sehr konsequente Senkung der Herzfrequenz. Es verbesserten sich die kardiovaskuläre Morbidität und Mortalität sowie die klinischen Symptome und die Lebensqualität (van Gelder et al. 2010, Mulder et al. 2013). In der Rate Control in Atrial Fibrillation (RATF) Studie wurde in einem prospektiven, randomisierten, Untersucher-verblindeten Crossover Studien Design bei 60 AF Patienten 4 Medikamente über jeweils 3 Wochen appliziert verglichen (Metoprolol versus Diltiazem versus Verapamil versus Carvedilol) (Ulimoen et al. 2013). Diltiazem war das effektivste Medikament zur Senkung der Ventrikelfrequenz. Durch die Arrhythmie verursachte klinische Symptome wurden durch beide Calcium-Kanal-Blocker reduziert und die klinische

Belastbarkeit verbessert, nicht aber durch die β -Blocker. Ferner führten Carvedilol und Metoprolol auch zu einem Anstieg der N-terminalen Pro-Brain natriuretischen Peptide (Ulimoen et al. 2014). Die Anwendung von Digoxin beim AF ist insgesamt rückläufig, da eine effektive Herzfrequenzkontrolle nur in Ruhe, nicht aber unter Belastung erfolgt (van Gelder et al. 2015). Bezüglich nachteiliger Effekte von Digoxin bei Patienten mit AF wurde im Schrifttum unterschiedlich und teilweise widersprüchlich berichtet (Whitbeck et al. 2013; Gheorghiade et al. 2013). Die Daten aus der RACE II Studie ergaben keinen Hinweis auf eine ungünstigere Prognose bei Patienten mit permanentem AF unter Digoxin Therapie (Mulder et al. 2014). Unterschiede zwischen den Studien könnten nach Ansicht einiger Autoren an verschiedenen Formen von AF, Dosisunterschieden von Digoxin, Comorbiditäten und dem Einfluss gleichzeitig verabreichter anderer Arzneimittel gelegen haben (van Gelder et al. 2015). Dieselben Autoren empfehlen, Digoxin bei Patienten nur individuell und vorsichtig einzusetzen. Außerdem sollte bei Patienten mit AF eine Herzfrequenzkontrolle bei Patienten mit geringen klinischen Symptomen zunächst gemäßigt erfolgen und die Herzfrequenz erst stärker gesenkt werden, wenn klinische Symptome anhalten oder sich die Linksherzfunktion verschlechtert. Bis Daten aus randomisierten Studien vorliegen, sollte die Wahl der verwendeten Medikamente zur Herzfrequenzkontrolle individuell unter Berücksichtigung des Alters, Lebensstils, von Zusatzerkrankungen und der Herzfrequenz erfolgen (van Gelder et al. 2015).

2.3. Vorhofflimmern beim Hund

2.3.1. Epidemiologie und Überlebenszeiten

In einer umfangreichen, retrospektiven amerikanischen Studie zur Epidemiologie des AF beim Hund wurden die Daten von 2.352.633 Hunden der Veterinary Medical Database aus den Jahren 1969 bis 2007 analysiert (Westling et al. 2008). Insgesamt gingen 3542 Fälle von AF in diese Studie ein. Hunde der Riesenrassen einschließlich der IW hatten ein erhöhtes Risiko AF zu entwickeln. Die Vorkommenshäufigkeit bei großen Hunden variierte rasseabhängig, kleine Rassen hatten ein geringes AF- Risiko. Rüden waren häufiger als Hündinnen betroffen. Die Gesamtprävalenz von AF lag bei 0,15% aller Hunde und war beim IW mit 5,84% am höchsten. Kleine Hunde erkrankten erst in einem höheren Lebensalter an AF, Hunde der Riesenrassen häufig bereits im jüngeren Erwachsenenalter. Die mediane Überlebenszeit betrug bei Hunden der Riesenrassen 20 Monate, bei Vertretern großer Rassen 21 Monate und bei kleinen Rassen 15 Monate. Die Autoren stellten fest, dass AF beim Hund als eine häufige Rhythmusstörung vorkommt, gelegentlich als isolierte Erkrankung, in der Regel aber sekundär zur DCM bei großen und Riesenrassen bzw. sekundär zur degenerativen Mitralklappen-erkrankung bei kleinen Hunden. Da die Entstehung und die Aufrechterhaltung von AF von der Masse der Vorhöfe beeinflusst wird,

folgerten die Autoren, dass die Prädisposition für AF mit zunehmender Größe der Hunde steigt (Westling et al. 2008).

In einer weiteren retrospektiven Studie von Hunden verschiedener Rassen mit AF unter Therapie wurden Daten von Patienten mit oder ohne strukturelle oder funktionelle Herzerkrankung und Daten von Patienten mit CHF verglichen (Menaut et al. 2005). Medikamente, die bei Hunden mit alleinigem AF verwendet wurden, waren Digoxin, Diltiazem und Sotalol. Hunde mit AF und Herzerkrankung ohne CHF erhielten Digoxin, Diltiazem, Atenolol, ACE-Hemmer, Furosemid und Carnitin. Medikamente, die bei Hunden mit CHF angewendet wurden, waren Digoxin, Diltiazem, Atenolol, ACE-Hemmer, Furosemid, Carnitin, Taurin und Dobutamin. Die Analyse der Herzfrequenz (HF) von 109 Hunden ergab eine niedrigere HF bei Hunden mit alleinigem AF ohne andere Herzveränderung ($120 \pm 8/\text{min}$) verglichen mit Hunden mit Herzerkrankung ($155 \pm 7.6/\text{min}$) und verglichen mit der CHF- Gruppe ($203 \pm 6.2/\text{min}$). Die Survivalanalyse von 75 Hunden zeigte die längste mediane Überlebenszeit bei Hunden mit alleinigem AF (40 (25-61) Monate) gegenüber 21 Hunden mit DCM ohne CHF (median 32 (0,5-45) Monate) und im Vergleich zu 37 Hunden mit CHF (5 (0-66) Monate).

2.3.2. Therapie zur Herzfrequenzkontrolle

Eine Studie mit 18 Hunden mit fortgeschrittener Herzerkrankung und Vorhofflimmern untersuchte die Wirkung von Digoxin und Diltiazem zur Senkung der Herzfrequenz jeweils als alleinige Therapie und in Kombination. Unter einer 24 Stunden Holter-EKG Überwachung ergab sich für die Digoxin-Diltiazem Kombinationstherapie eine bessere Senkung der Ventrikelfrequenz auf unter 140/min über 85% des Zeitraums, als wenn jedes der beiden Medikamente als Monotherapie verabreicht wurde (Gelzer et al. 2009). In einer weiteren retrospektiven 24-Stunden Holter-EKG Analyse wurde bei 46 Hunden mit struktureller Herzerkrankung und Vorhofflimmern die Auswirkung der Herzfrequenz auf die Überlebensdauer untersucht (Pedro et al. 2017). Unter Medikation zur Senkung der Ventrikelfrequenz war die Überlebenszeit der Hunde mit einer mittleren Ventrikelfrequenz unter 125/min signifikant länger (1037 Tage) als für Hunde mit Ventrikelfrequenzen über 125/min (105 Tage). Jede Erhöhung der Ventrikelfrequenz um 10 Schläge/min verursachte eine Zunahme der Gesamtmortalität um 35%.

2.3.3. Histologische Befunde im Vorhofgewebe

Zu histopathologischen Befunden in den Vorhöfen bei Hunden mit induziertem AF beschreiben experimentelle Studien eine Fibrose des linken Vorhofmyokards (Tang et al. 2007).

Unter Ventrikel-Tachypacing wurde bereits 24 Stunden nach Beginn atrialer Zelltod durch Apoptose und Nekrose und Infiltration der Vorhöfe mit Leukozyten nachgewiesen, während erst 2 Wochen nach Entwicklung von CHF eine atriale Fibrose festzustellen war (Brundel et al. 2005). Eine progressive Vorhofdilataion mit interstitieller Fibrose und Entzündung wurde auch anhand eines caninen Modells zur chronischen Vorhofdilataion nach Avulsion der Mitralklappe beschrieben (Verheule et al. 2003).

Hingegen gibt es kaum publizierte Studien zur Vorhofpathologie bei natürlich erkrankten Hunden mit AF. Eine Studie beschreibt die pathologisch-anatomischen und histopathologischen Befunde der Herzen von 26 verstorbenen IW, die zuvor alle mehrfach kardiologisch untersucht worden waren (Vollmar und Aupperle 2016). Befunde von 7 Hunden mit alleinigem AF wurden mit Befunden von Hunden mit präklinischer DCM und AF (n=9) oder Sinusrhythmus (n=2) unter Therapie und mit 4 Hunden mit CHF und AF unter Therapie verglichen. Außerdem standen 4 Herzen von nicht herzkranken, älteren IW zum Vergleich zur Verfügung. Bei IW mit chronischem AF mit oder ohne DCM wurden insbesondere im rechten Herzohr ausgeprägte Veränderungen in Form von multifokaler oder diffuser Fibrose und diffuser Infiltration mit Adipozyten nachgewiesen, während bei den Kontrollhunden keine oder nur minimale interstitielle Fibrose oder Adipozyten im linken oder rechten Herzohr vorhanden waren. Auch im Ventrikelmyokard wurden bei IW mit alleinigem AF ähnliche Veränderungen (Fibrose und Adipozyten) wie bei IW mit DCM festgestellt. Diese histopathologischen Untersuchungen unterstützen die Vermutung dieser und anderer Autoren, dass bei IW alleiniges AF in den meisten Fällen nicht eine separate myokardiale Grunderkrankung ist, sondern eine Form der DCM darstellt (Vollmar und Aupperle 2016; Simpson et al. 2016).

Strukturelles Remodeling der Vorhöfe, das beim Menschen durch eine Fibrose gekennzeichnet ist, prädisponiert für AF, da eine Heterogenität der Erregungsleitung und der Repolarisation entsteht, wenn neben Kardiomyozyten eine erhöhte Anzahl Fibroblasten vorliegt (Mariscalco et al. 2006; Aldhoon et al. 2010; Pellmann et al. 2010; Tan und Zimetbaum 2011). In einer Studie zum AF anhand eines Schafmodells wurde beschrieben, dass auch bei Fettzellansammlungen im Myokard signifikante Veränderungen der elektrophysiologischen Gewebeeigenschaften entstehen (Pouliopoulos et al. 2013). Ein abnormes Remodeling der sogenannten „Gap Junctions“ zwischen Kardiomyozyten erhöhte die Anzahl intramyokardialer Adipozyten, wodurch die lokale Erregungsleitung signifikant verlangsamt und die Erregungs-wellenlänge verkürzt wurde. Bei kürzerer Wellenlänge der Vorhoferregungen durch verlangsamte Erregungsleitung oder durch verkürzte Repolarisationsdauer reichten kleine blockierte Areale aus, um Reentry zu begünstigen. In den Untersuchungen von Vollmar und Aupperle (2016) wurden im Vorhofmyokard von IW mit AF sowohl Fibrosen als auch Ansammlungen von Adipozyten nachgewiesen, die nach

Ansicht der Autoren zu Änderungen der elektrophysiologischen Gewebeeigenschaften des Vorhofmyokards mit Inhomogenität der Erregungsleitung und Begünstigung von Arrhythmien wie AF geführt haben können.

2.3.4. Studien zum Vorhofflimmern beim Irischen Wolfshund

IW haben eine hohe Prävalenz von Herzerkrankungen, insbesondere DCM und AF (Brownlie 1991; Vollmar 1996). Eine EKG-Studie von 1000 IW aus Großbritannien zeigte, dass IW mit AF häufig ein CHF entwickeln (Brownlie 1991). Bei einer retrospektiven Fallanalyse von 39 IW mit CHF ergaben Auswertungen früherer EKG- und Herzultraschall-Untersuchungen AF bei 46% dieser Hunde zum Zeitpunkt der ersten Untersuchung, hingegen hatten mit Beginn des CHF alle Hunde AF (Brownlie und Cobb 1999). Das mittlere Alter zum Zeitpunkt der AF Diagnose lag bei 45 Monaten (Rüden) bzw. 59 Monaten (Hündinnen). Die mittlere Zeit von der AF Diagnose bis zum CHF betrug 27 Monate für Rüden und 24 Monate für Hündinnen. Wiederholte echokardiographische Untersuchungen von 8 Hunden zeigten eine zunehmende Dilatation von linkem Vorhof und Ventrikel. In einer klinischen Studie von 500 kardiologisch untersuchten Irischen Wolfshunden in Deutschland wurden bei 41,8% der Hunde auffällige Befunde festgestellt, davon hatten 106 Hunde (21,2%) eine DCM mit AF, während bei 8 Hunden (1,6%) AF als einzige Anomalie vorlag (Vollmar 2000). In einer neueren genetischen Untersuchung aus Großbritannien wurde auch die Beziehung von AF und DCM beim IW statistisch ausgewertet (Simpson et al. 2016). Von 36 IW mit DCM lag bei 29 Hunden (80,5%) zusätzlich AF vor, bei 17 dieser Hunde (58,6%) wurden DCM und AF gleichzeitig diagnostiziert, während bei 12 Hunden zunächst alleiniges AF festgestellt wurde und alle 12 Hunde innerhalb von drei Jahren eine DCM entwickelten, 4 andere IW mit AF hatten innerhalb von zwei Jahren und 7 innerhalb eines Jahres noch keine DCM gezeigt. Eine aktuelle nordamerikanische EKG-Studie (327 Hunde mit AF und 136 Hunden >8 Jahre ohne AF), allerdings ohne echokardiographische Untersuchung der Hunde, zeigte für AF beim IW einen deutlichen genetischen Effekt mit einer Heritabilität von 0,69 (0,50-0,86). Basierend auf Stammbaumanalysen vermuteten die Autoren einen autosomal-dominanten Erbgang (Fousse et al. 2019).

2.4. Dilatative Kardiomyopathie (DCM)

2.4.1. Definition der DCM

Kardiomyopathien sind eine heterogene Gruppe von Erkrankungen der Herzmuskulatur, die durch mechanische (systolische oder diastolische) oder elektrische myokardiale Dysfunktion gekennzeichnet sind und meistens zu unangemessener Hypertrophie oder Dilatation der Ventrikel führen (Maron et al. 2006). Die DCM ist ein gemeinsamer Phänotyp, der aus einer Vielzahl genetischer und nicht genetischer Ursachen resultieren kann (Ganesh et al. 2013). Der klinische Phänotyp einer DCM kann sekundär entstehen durch Virusinfektionen, Autoimmunerkrankungen, Toxine (Alkohol), Arzneimittel (Doxorubicin), Ernährungsmängel, metabolische und endokrine Erkrankungen sowie durch persistierende Tachykardien (Pinto et al. 2016). Viele der unterschiedlichen Ätiologien sind genetisch bedingt. Die Erkrankung kann auf das Herz begrenzt sein oder als Teil einer Systemerkrankung vorkommen und führt häufig zu progressiver Herzinsuffizienz und zum kardialen Tod. Nach Ausschluss bekannter Ursachen wird eine DCM als idiopathisch bezeichnet.

Gemäß der aktuellen Definition der European Society of Cardiology ist eine DCM durch die systolische Dysfunktion und Erweiterung des linken oder beider Ventrikel gekennzeichnet, ohne dass abnorme Volumen- oder Druckbelastungen des Herzens (Hypertension, Herzklappenerkrankungen) oder koronare Herzerkrankungen in einem Ausmaß vorliegen, eine globale systolische Dysfunktion hervorzurufen (Pinto et al. 2016). Häufig wird eine DCM von Herzrhythmusstörungen oder Erregungsleitungsstörungen begleitet. Der klinische Verlauf einer DCM kann in drei Phasen unterteilt werden. Stadium 1 bezeichnet Träger einer DCM verursachenden Mutation, bei denen echokardiographisch oder im EKG noch keine Herzveränderungen nachweisbar sind. Im Stadium 2 liegt echokardiographisch eine dilatative Ventrikelvergrößerung und/oder verringerte Kontraktilität vor oder das EKG zeigt Herzrhythmusstörungen, ohne dass klinische Symptome festzustellen sind. Stadium 1 und 2 sind präklinische oder okkulte Stadien, während im Stadium 3 klinische Symptome vorliegen, die mit einer Ventrikeldilatation und reduzierten Kontraktilität einhergehen. (Pinto et al. 2016).

2.5. DCM beim Menschen

2.5.1. Epidemiologie

Beim Menschen stellt eine DCM die häufigste Indikation für eine Herztransplantation dar. DCM führt häufig zu plötzlichem Herztod oder Tod in Folge von kongestivem Herzversagen. Die tatsächliche Prävalenz der DCM ist nicht vollständig bekannt und variiert mit geografischen und ethnischen Unterschieden (Jacoby und McKenna 2012; Morales und Hershberger 2013; Rapezzi et al. 2013). In früheren Angaben wurde die Prävalenz der DCM

auf 1:2500 geschätzt (Burkett und Hershberger 2005). Neuere Untersuchungen gehen davon aus, dass bei einem bekannten Verhältnis von idiopathischer DCM zu HCM von etwa 2:1, die Prävalenz einer linksventrikulären Dysfunktion als Zeichen einer DCM etwa 1:250 beträgt (Hershberger et al. 2013; McNally und Mestroni 2017).

2.5.2. Diagnostik zur Früherkennung

Beim Menschen ist die DCM in 20 bis 50% der Fälle familiär bedingt (Michels et al. 2003). Bei familiärer DCM sind echokardiographische und elektrokardiographische Screening Untersuchungen Verwandter ersten Grades indiziert, da Diagnose und Behandlung vor Einsetzen klinischer Symptome möglich sind (Burkett und Hershberger 2005; Mahon et al. 2005; Moretti et al. 2012). Durch familiäre Screeninguntersuchungen mittels Echokardiographie können asymptotische Familienmitglieder in frühen Krankheitsstadien erkannt werden (Khositseth und Michels 2004, Michels et al. 2003, Moretti et al. 2012). Da Familienmitglieder, die die Veranlagung zur DCM geerbt haben, gewöhnlich erst mit der Zeit zunächst geringgradige und unterschiedliche kardiale Veränderungen (Ventrikelvergrößerung, Hypokontraktilität, Herzrhythmusstörungen) entwickeln, hat die European Society of Cardiology Richtlinien sowie Haupt- und Nebenkriterien veröffentlicht, die eine Früherkennung erleichtern sollen (Pinto et al. 2016). Bei familiärer DCM sollten Angehörige 1.Grades von Kindheit an alle 2-3 Jahre bei normalen Befunden, bzw. jährlich bei Feststellung eines Nebenkriteriums untersucht werden. Das kardiale Screening sollte mittels Echokardiographie und EKG-Untersuchungen erfolgen, zusätzlich mittels Holter-EKG bei bestimmten Phänotypen des Probanden. Wenn eine ursächliche Mutation nachgewiesen wurde, sollten Angehörige auch genetisch getestet werden (Pinto et al. 2016).

2.5.3. Genetische Aspekte zur DCM beim Menschen

Aus genetischer Sicht zeigt die familiäre DCM eine signifikante Heterogenität der Genloci und Allele, eine inkomplette Penetranz und variable Expression, wodurch eine genetische Diagnose erschwert wird (Mestroni et al. 1999; Burkett und Hershberger 2005). Einige erbliche Formen der DCM werden monogen vererbt, häufig mit autosomal-dominantem Erbgang, aber auch X-Chromosom gebundene, autosomal-rezessive oder matrilineare Vererbung kommen vor (Pinto et al. 2016). Inzwischen wurden bei DCM Patienten Mutationen an mehr als 50 verschiedenen Genen gefunden, die multiple biologische Pfade betreffen und komplexe phänotypische Veränderungen bewirken (McNally et al. 2013; Posafalvi et al. 2013; Pinto et al. 2016; Dal Ferro et al. 2019). Etwa 40 bis 50% der genetischen Ursachen der familiären DCM konnten bisher geklärt werden, wovon 18 bis 25% der Mutationen Gene betreffen, die für das große Sarkomerprotein Titin kodieren (Ganesh et al. 2013). Ein weiteres Gen, das für das Protein Lamin A/C (LMNA) kodiert, gehört zu den

gut erforschten, eine DCM verursachenden Genen. Der Krankheitsverlauf bei Patienten mit LMNA-Kardiomyopathie ist häufig durch schwerwiegende ventrikuläre Arrhythmien und SCD noch vor Entwicklung einer systolischen linksventrikulären Dysfunktion gekennzeichnet. Die Mortalitätsrate liegt bei etwa 12% innerhalb von 4 Jahren und 30% innerhalb von 12 Jahren nach Diagnosestellung. Das mediane Alter bei Krankheitsbeginn liegt bei 30-40 Jahren mit einer fast vollständigen Penetranz im Alter von 70 Jahren (Van Rijsingen et al. 2013).

Bei weiteren Mutationen an Genen, die Strukturproteine des Zytoskeletts oder die Z-Scheiben betreffen (Desmin, Dystrophin, Filamin C, Vinculin, Lim Domain Binding 3) wurden als kardiale Manifestation außer der DCM, eine hypertrophe Kardiomyopathie (HCM), eine restriktive Kardiomyopathie (RCM), Erkrankungen des kardialen Erregungsleitungssystems, Arrhythmien und SCD beschrieben (Dal Ferro et al. 2019). Gentische Mutationen wurden ebenfalls an verschiedenen desmosomalen Genen bei Patienten mit DCM nachgewiesen, während andere Patienten mit entsprechenden Mutationen einen ARVC Phänotyp entwickelten (Elliott et al. 2011).

Verschiedene Genmutationen, die eine DCM verursachen betreffen Proteine der dicken und dünnen Filamente des Sarkomers. Diese Proteine (Myosin-heavy chain alpha and beta (MYH6 and MYH7), myosin-binding protein C3 (MYBPC3), Troponine (TNNT2, TNNI3, TNNC1), Tropomyosin 1 (TPM1), cardiales Actinin 1 (ACTN1) und Myopalladin (MYPN)) besitzen katalytische Eigenschaften und sind an der Kontraktion der Sarkomere beteiligt. Auch für Mutationen dieser Gene gilt, dass die Phänotypen stark variieren und einander überlappen können. Dies gilt nicht nur für verschiedene Mutationen innerhalb eines Gens, vielmehr kann eine einzelne Variante innerhalb einer Familie zu verschiedenen Phänotypen (DCM versus HCM versus RCM) führen (Hershberger et al. 2013).

Gene (SCN5A, Ryanodine Receptor 2 (RYR2), die für Proteine der Ionenkanäle kodieren, sind häufig mit Channelopathien assoziiert. Sie können aber auch in einem DCM Phänotyp resultieren, als mögliche Ursachen werden dabei eine veränderte Membranstabilität diskutiert oder Veränderungen im Kalzium-Handling mit resultierender Funktionsbeeinträchtigung der Sarkomere (Dal Ferro et al. 2019).

Andere DCM verursachende Mutationen betreffen Gene, die für Proteine der RNA Bindung, das Sarkoplasmatische Retikulum, Transkriptionsfaktoren, Gamma-Sekretase oder auch für Mitochondrien kodieren (McNally et al. 2013; Posafalvi et al. 2013; Pinto et al. 2016). Auf dem Gebiet der Molekulargenetik wird derzeit intensiv geforscht, so dass nicht nur ständig weitere Mutationen nachgewiesen werden, sondern auch neue Erkenntnisse zur Prognose gewonnen werden und eine individuelle, maßgeschneiderte Therapie je nach der

ursächlichen Mutation angestrebt wird (Merlo et al. 2011, Dal Ferro et al. 2016, Tobita et al. 2018).

Bei familiärer DCM kann durch genetische Testung betroffener Individuen eine bessere Aussage zur Prognose getroffen werden und insbesondere zum Arrhythmie-Risiko für bestimmte Subtypen der DCM. Durch genetische Testung Familienangehöriger wird die frühe Identifizierung von Trägern der Mutation mit Gelegenheit zu therapeutischer Intervention ermöglicht (McNally und Mestroni 2017). Jedoch lassen umfassende populationsgenetische Studien zudem komplexe genetische Erbgänge bei der Entstehung anderer DCM-Formen vermuten (Lee et al. 2006). Bei oligogenetischen Erbgängen sind eine kleine Anzahl an Mutationen in mehr als einem Gen an der Entstehung der DCM beteiligt (Haas et al. 2015). Oligogenetische Erbgänge erschweren die genetische Testung betroffener Familien und stellen eine mögliche Erklärung für die in manchen Familien dramatischen Variationen des klinischen Bildes der DCM dar (Hershberger et al. 2013; Pinto et al. 2016).

2.6. DCM beim Hund

2.6.1. Klinische Studien zur DCM beim Hund

Beim Hund ist die idiopathische DCM eine häufige erworbene Herzerkrankung mit hoher Morbidität und Mortalität, die bei einigen größeren Hunderassen und bei Riesenrassen gehäuft vorkommt (Calvert et al. 1997; Tidholm und Jönsson 1997a; Petric et al. 2002; Dukes-McEwan et al. 2003; Egenvall et al. 2006, Orleifson et al. 2017). In den meisten Fällen entwickelt sich der DCM-Phänotyp im mittleren bis höheren Erwachsenenalter der Hunde, innerhalb einer Rasse nimmt die Prävalenz mit zunehmendem Lebensalter zu (Wess et al. 2010). Bei juvenilen portugiesischen Wasserhunden und Dobermann Pinschern (DP) wurde jedoch auch eine familiäre DCM beschrieben, die bereits wenige Wochen alte Welpen betraf (Dambach et al. 1999, Sleeper et al. 2002; Vollmar et al. 2003). Der Verlauf der DCM ist beim Hund chronisch, schleichend progressiv und führt entweder zum plötzlichen Herztod, oft als Folge schwerwiegender ventrikulärer Arrhythmien, oder es entwickelt sich ein CHF. Ein Hund mit DCM verbringt gewöhnlich die längste Zeit der Erkrankung (oft Jahre) in der präklinischen Phase in Stadium 1 und 2 (Dukes Mc-Ewan et al. 2003; Mausberg et al. 2011).

Obwohl generell Individuen größerer Rassen gelegentlich eine DCM entwickeln, sind einige Hunderassen besonders häufig betroffen (Tidholm et al. 1997b). Zu diesen gehören Bernhardiner, Boxer, Deutsche Doggen, Dobermann, Englische Cocker Spaniel, Irische Wolfshunde, Neufundländer (Egenvall et al. 2006). Bei verschiedenen Hunderassen gibt es

charakterische Unterschiede in den klinischen Symptomen, der Art von begleitenden Arrhythmien, dem Erkrankungsalter, den histopathologischen Befunden und der Überlebenszeit (Calvert et al. 1997a; Calvert et al. 1997; Tidholm und Jönsson 1996; Tidholm et al. 1997b; Oyama und Chittur 1999; Petric et al. 2002; Basso et al. 2004; Tidholm und Jönsson 2005; Borgarelli et al. 2006; Tidholm 2006; Lobo et al. 2010; Martin et al. 2009; Martin et al. 2010; Aupperle et al. 2014; Janus et al. 2015). Grundsätzlich wurden histologisch bei DCM zwei verschiedene Typen charakterisiert, zum einen der vorwiegend beim Boxer und Dobermann beschriebene Typ mit Kardiomyozytenuntergang und Ersatz durch Fettzellen (fatty replacement) beziehungsweise Fasern und Fettzellen (fibrofatty replacement), zum anderen der sogenannte „attenuated wavy fiber“ Typ bei großen und mittelgroßen Hunderassen (Tidholm und Jönsson 1996; Calvert et al. 1997a; Tidholm et al. 1998; Everett et al. 1999). Eine Studie beschreibt bei 23 Boxern mit arrhythmogener rechtsventrikulärer Kardiomyopathie vorberichtlich rechtsventrikuläre Extrasystolen (83%), Synkopen (52%), SCD (39%) und Herzversagen (13%) mit Aneurysma-artiger Erweiterung des rechten Ventrikels (43%) und histologisch im rechten Ventrikelmyokard ausgeprägtem Myokardzelluntergang und Ersatz durch Fettzellen (65%) oder Faser-Fettzellersatz (35%) (Basso et al. 2004). Außerdem wurden bei einem Teil der Hunde auch fokale ähnliche Veränderungen im Myokard des linken Ventrikels und in beiden Vorhöfen gefunden (Basso et al. 2004; Vila et al. 2017). Vila et al. (2017) wiesen dann bei 13 Boxern mit ARVC auch in den Vorhöfen Veränderungen der Proteine der Disci intercalares und Gap Junctions nach und sahen dies als Hinweis darauf, dass bei Boxern mit ARVC die Vorhöfe in den Krankheitsprozess mit einbezogen sind.

Auch in der Langzeitprognose ist die canine DCM von einer großen Variationsbreite geprägt mit Rasse- sowie individuellen Unterschieden. Während manche Hunde unter Therapie Monate bis Jahre überleben, sterben andere bereits Tage nach Diagnosestellung (Petric et al. 2002; Martin et al. 2010). Besonders kurze Überlebenszeiten von wenigen Wochen wurden für symptomatische Dobermann Pinscher und Deutsche Doggen beschrieben (Calvert et al. 1997; Petric et al. 2002; Martin et al. 2010). Andere Studien, die an DCM erkrankte Hunde verschiedener Rassen einschlossen, ergaben mediane Überlebenszeiten von 19 bis 22 Wochen (Borgarelli et al. 2006; Martin et al. 2010). Als negative prognostische Faktoren hatten in einer Studie ein höheres Alter zu Beginn der klinischen Symptome, gefolgt von Dyspnoe und Ascites den größten Einfluss, in einer anderen Studie auch ein end-systolischer Volumenindex (ESVI) über 140 ml/m², eine Ejektionsfraktion (EF) unter 25% sowie ein restriktives transmitrales Flussprofil (Tidholm und Jönsson 1997a, Borgarelli et al. 2006).

Bei häufig von DCM betroffenen Hunderassen werden ähnlich wie beim Menschen Herz-Screeninguntersuchungen mittels EKG, Echokardiographie und evtl. Langzeit-EKG empfohlen (Dukes-McEwan et al. 2003; Stephenson et al. 2012; Summerfield et al. 2012; Wess et al. 2017). Durch eine frühe Erkennung der DCM können betroffene Hunde aus der Zucht genommen werden, um die Krankheit nicht weiter zu vererben. Außerdem kann durch einen Therapiebeginn mit geeigneten Medikamenten im präklinischen Stadium die symptomfreie Zeit und wahrscheinlich auch die Lebenserwartung verlängert werden (Fuentes et al. 2002; Calvert und Brown 2004; O'Grady et al. 2008; O'Grady et al. 2009; Summerfield et al. 2012; Vollmar und Fox 2016).

2.6.2. Diagnostik zur Früherkennung beim Hund

Bereits im Jahr 2003 wurden von einer Arbeitsgruppe der European Society of Veterinary Cardiology Richtlinien für die Diagnostik der caninen DCM publiziert (Dukes-McEwan et al. 2003). Da einer frühen Erkennung der DCM besondere Bedeutung zukommt und zum Teil zwischen verschiedenen Hunderassen erhebliche Unterschiede der physiologisch normalen Herzgröße und Kontraktilität bestehen, wurden für verschiedene Rassen inzwischen Referenzwerte für die Echokardiographie erstellt (Vollmar 1999a; Della Torre et al. 2000; Kayar et al. 2006; Bavegems et al. 2007; Cunningham et al. 2008; Höllmer et al. 2008; Lobo et al. 2008; Wess et al. 2010; Stephenson et al. 2012; Jacobson et al. 2013). Im Jahr 2017 publizierte die European Society of Veterinary Cardiology inzwischen Screening Guidelines für die DCM beim Dobermann (Wess et al. 2017). Ferner könnte bei DP zur Frühdiagnostik einer DCM Bestimmungen des kardialen Troponin I hilfreich sein: Wess et al. (2010) bestimmten kardiales Troponin I einerseits bei DP mit präklinischer DCM-Diagnose in der Echo-kardiographie mit oder ohne ventrikuläre Extrasystolen, andererseits bei Hunden mit ventrikulären Extrasystolen und normalen Echobefunden und verglichen die Werte mit denen einer Kontrollgruppe. Sie fanden in allen präklinischen Krankheitsstadien erhöhte Troponin I Werte und konnten bei einem Cut-off-Wert von $>0,22$ ng/ml mit einer Sensitivität von 79,5% und einer Spezifität von 84,4% frühe Stadien der DCM detektieren.

2.6.3. Klinische Studien zur DCM bei Irischen Wolfshunden

In einer Studie von Vollmar (1999a) wurden zunächst aus den echokardiographischen Untersuchungen von 262 IWs ohne Herzerkrankung Referenzwerte für die Echokardiographie erstellt. Da bis ins höhere Lebensalter altersbedingte Umbauvorgänge des Herzens eine sichere Diagnose der DCM erschweren können, untersuchten Brungs et al. (2019) in einer neueren Studie den echokardiographisch nachweisbaren, alters- und geschlechtsabhängigen Remodeling Prozess am Herzen bei adulten IW anhand von Verlaufsuntersuchungen bis ins höhere Lebensalter. Insgesamt wurden Daten von 56 Rüden

und 90 Hündinnen ausgewertet. Von jedem Hund lagen jeweils 4 echokardiographische Untersuchungen im Alter zwischen 1,0-2,5 Jahren, 3,0-4,0 Jahren, 4,5-6,0 Jahren und 7,0-10,5 Jahren vor. Der linksventrikuläre Remodelingprozess war bei Rüden im Wesentlichen durch eine Zunahme des linksventrikulären Innendurchmessers in Systole und Diastole mit nachlassender systolischer Myokardfunktion gekennzeichnet, während kaum Änderungen der Wandstärken zu verzeichnen waren. Beide Vorhöfe nahmen kontinuierlich an Größe zu. Im Geschlechtervergleich war bei Hündinnen der Remodelingprozess deutlich schwächer ausgeprägt, in einem Maße, dass die Veränderungen der Ventrikeldurchmesser keine statistische Signifikanz erreichten.

Brownlie und Cobb (1999) untersuchten bei 39 IWs mit kongestivem Herzversagen als Folge einer DCM frühere EKG- und Ultraschalluntersuchungen dieser Hunde auf prognostische Frühzeichen. AF hatten 46% der IWs bereits bei der Erstuntersuchung gezeigt, während echokardiographisch bei 8 Hunden eine progressive Dilatation von linkem Vorhof und Ventrikel ermittelt wurde. In einer weiteren Studie von Vollmar (1999b) wurden die echokardiographischen Charakteristika von 33 IWs mit präklinischer DCM und von 33 IWs mit DCM und CHF verglichen und den echokardiographischen Messwerten gesunder IWs gegenübergestellt. Mit Entwicklung und Fortschreiten der DCM nahm die Kontraktilität ab, die systolischen und auch diastolischen Innendurchmesser des linken Ventrikels sowie der Innendurchmesser des linken Vorhofs vergrößerten sich zunehmend. CHF war vor allem durch Pleuraergüsse gekennzeichnet mit Rechtsherzdilatation. Mehr als 80 % der Hunde hatte AF bei Diagnosestellung. In einer weiteren Studie dieser Autorin wurde bei 500 untersuchten IWs retrospektiv die Prävalenz der Kardiomyopathie untersucht (Vollmar 2000). Eine DCM wurde bei 121 Hunden (24,2%) diagnostiziert und war bei 106 Hunden von AF begleitet. Anzeichen von CHF lagen bei 72 Hunden vor, höhergradiges CHF war durch hochgradige Pleuraergüsse gekennzeichnet. Die mediane Überlebenszeit betrug bei 39 Hunden, die an der Herzerkrankung starben, 5,1 Monate, während 59 Hunde mit DCM nach einer medianen Überlebenszeit von 15,7 Monaten noch lebten. In einer späteren Auswertung von 1018 kardiologisch untersuchten IW wurde bei 260 Hunden eine DCM diagnostiziert, betroffen waren 34,0% aller Rüden und 19,7% aller Hündinnen. Das mittlere Alter bei Diagnosestellung betrug 4,4 (0,6-10,8) Jahre (Distl et al. 2007).

Mehrere Zuchtverbände in westeuropäischen Ländern schreiben für Zuchthunde der Rasse IW kardiologische Untersuchungen mittels Echokardiographie und eventuell EKG vor. Auch private Hundehalter sind inzwischen über ein häufiges Vorkommen von Herzerkrankungen bei dieser Rasse informiert und lassen ihre Hunde vorbeugend untersuchen. Dadurch wird die Erkrankung bei vielen IW jetzt schon im präklinischen Stadium diagnostiziert und eine frühzeitige medikamentöse Behandlung ermöglicht. In einer prospektiven, randomisierten,

verblindeten klinischen Studie erfolgte der Vergleich einer Monotherapie mit Pimobendan, Benazepril oder Methyldigoxin bei IWS mit präklinischer DCM oder AF hinsichtlich der Zeit bis zum CHF oder SCD (Vollmar und Fox 2016). Den primären Endpunkt CHF oder SCD erreichten 11 von 22 Hunden (50.0%), die Benazepril, und 9 von 21 Hunden (42.9%), die Methyldigoxin erhalten hatten, aber nur 5 von 23 Hunden (21.7%) unter Pimobendan-Monotherapie. Die mediane Zeit bis zum primären Endpunkt war für Pimobendan signifikant länger (1991 Tage; 65,4 Monate) als für Benazepril (997 Tage, 32,8 Monate; $p=0,008$) oder Methyldigoxin (1263 Tage, 41,5 Monate, $p=0,031$).

Die pathologisch-anatomischen und die histopathologischen Veränderungen bei IW mit AF und/oder DCM in verschiedenen Krankheitsstadien wurden in einer Studie von Vollmar und Aupperle (2016) untersucht und mit Befunden an Herzen von IWS ohne Herzerkrankung verglichen. Alle Hunde waren zuvor, oft mehrfach, kardiologisch untersucht worden. Bei 10 von 15 Herzen mit DCM wurden im Kammermyokard multifokal Fibrosen und Adipozyteninfiltration gefunden, während bei 5 Herzen keine histopathologischen Veränderungen festzustellen waren.

2.6.4. Genetische Studien zur DCM beim Hund

Auf der Basis von Stammbaumanalysen berichten mehrere Studien über eine familiäre Basis der caninen DCM (Meurs et al. 2001; Dukes-McEwan et al. 2002; Meurs et al. 2007; Stephenson et al. 2012). Während nach Posafalvi et al. (2013) beim Menschen bislang Mutationen in über 50 Genen im Zusammenhang mit einer DCM-Erkrankung nachgewiesen wurden, wovon etwa 50% der vererbten Fälle auf Mutationen in bestimmten Genen zurückzuführen waren, haben für den Hund Untersuchungen dieser Kandidatengene aus der Humangenetik nicht zum Erfolg geführt (Meurs et al. 2001; Stabej et al. 2004; Wiersma et al. 2007; Stabej et al. 2005a; Stabej et al. 2005b; Meurs et al. 2008; Wiersma et al. 2008; Lynne O`Sullivan et al. 2011).

Hingegen konnten Genom-weite-Assoziationstudien (GWAS) in einigen Fällen eine Assoziation mit caniner DCM aufzeigen. GWAS ist eine Methode, das Genom vieler Individuen auf Varianten zu untersuchen, die mit einem bestimmten Merkmal assoziiert sind (Manolio 2010). Mit Hilfe von GWAS wurde von Werner et al. (2008) beim Portugiesischen Wasserhund eine Assoziation mit einem Locus auf Chromosom 8 ermittelt, aber keine ursächliche Mutation gefunden. Mittels GWAS wurde beim DP von Mausberg et al. (2011) ein Locus auf Chromosom 5 in Assoziation mit DCM bestimmt. In einer amerikanischen Population von DP mit DCM wiesen Meurs et al. (2012) eine Mutation des Gens auf Chromosom 14 nach, das für das mitochondriale Protein Pyruvatdehydrogenase 4 (PDK4) kodiert. Sosa et al. (2016) fanden bei 10 DP mit DCM und der PDK4 Mutation in vitro in

Fibroblasten einen niedrigeren basalen Sauerstoffverbrauch der Mitochondrien als in Fibroblasten von gesunden DP und folgerten eine mitochondriale Dysfunktion in Zusammenhang mit der PDK4 Mutation. Eine Studie an DP, die aus Europa stammten, fand bei ihren Hunden keine Assoziation zwischen DCM und der PDK4 Mutation (Owczarek-Lipska et al. 2013). Erst kürzlich wurde als eine weitere Mutation bei DP mit familiärer DCM eine Missense Mutation im Titin Gen (Meurs et al. 2019) nachgewiesen. Eine Meta-Analyse gesammelter Daten bei DP für ein prädiktives Modell zur DCM ergab dann Hinweise, dass wahrscheinlich auch bei dieser Rasse multiple Loci die Entwicklung der DCM beeinflussen (Simpson et al. 2015).

Bei Boxern mit der sogenannten arrhythmogenen rechtsventrikulären Kardiomyopathie (ARVC) wurde eine Reduktion des kardialen Ryanodin Rezeptor Protein (RyR2) und seiner Messenger RNA nachgewiesen, jedoch keine genetische Assoziation mit dem RyR2 Gen gefunden (Meurs et al. 2006). Oyama et al. (2008) fanden im Vergleich zu gesunden Boxern und zu DP mit DCM im Myokard von Boxern mit ARVC eine signifikante Down-Regulation der Calstabin-2 Messenger RNA als einen potentiellen Mechanismus bei der Entstehung ventrikulärer Arrhythmien, aber auch diese Autoren fanden keine kausative Mutation. Mittels Immunfluoreszenz- Markierung von Proteinen zeigten Oxford et al. (2007), dass bei Boxern mit ARVC die molekulare Integrität der Disci intercalares beschädigt war. In einer weiteren Studie wurde ein Verlust der Zell zu Zell Verbindung durch Gap Junctions, Adherens Junctions und Desmosomen gezeigt (Oxford et al. 2011), woraus eine Beeinträchtigung der elektischen und der mechanischen Kommunikation zwischen Kardiomyozyten resultiert. Zusätzlich wurden Veränderungen der Sarkomerstruktur gefunden. Mittels GWAS wiesen Meurs et al. (2010) eine Assoziation bei Boxern mit ARVC mit einer 8-Basen-Paar Deletionsmutation auf Chromosom 17 nach, die zu einer reduzierten Messenger RNA Bildung für das Protein Striatin führt, welches durch Immunfluoreszenz in den Disci intercalares der Kardiomyozyten nachgewiesen wurde. In dieser Studie aus den USA wurde die Striatin Mutation bei 57 von 61 Boxern mit ARVC sowie bei 38 nicht betroffenen Boxern festgestellt. Für die Mutation homozygote Boxer hatten signifikant mehr Arrhythmien als heterozygote Hunde mit der Striatin Mutation (Meurs et al. 2010). Später wurde auch bei Boxern mit DCM eine Deletionsmutation in diesem Gen nachgewiesen (Meurs et al. 2013). Die Autoren kamen zu dem Schluss, dass bei Boxern die ARVC und die DCM Varianten derselben Erkrankung darstellen könnten und dass insbesondere ein homozygoter Genotyp zur DCM führen könnte. Doch nicht alle nachgewiesenen DCM Fälle wiesen die Mutation auf.

Auch bei einer Boxer-Population in Großbritannien wurde die Striatin Mutation häufig nachgewiesen, jedoch ohne signifikanten Unterschied im Vorkommen bei Boxern mit ARVC

und nicht erkrankten Boxern (Dukes-McEwan et al. 2010; Cattanach et al. 2015). Da für die Striatin Mutation homozygote Boxer die Tendenz zeigten, bereits in einem jüngeren Alter schwer zu erkranken, kamen die Autoren zu dem Schluss, dass die Striatin Mutation in enger Nachbarschaft zu der eigentlichen, die ARVC verursachenden Mutation lokalisiert sein könnte und einen zusätzlichen modulierenden Effekt bei der Ausprägung der Erkrankung haben könnte (Cattanach 2015 et al.).

In einer anderen Studie wiesen Yost et al. (2019) bei Hunden mit DCM und SCD eine Mutation (R9H) im Phospholamban Gen nach, durch die ein Austausch der Aminosäure Arginin in Histidin verursacht wurde.

2.6.5. Genetische Studien zur DCM beim Irischen Wolfshund

Zur Vererbung der DCM beim IW wurde eine umfangreiche Segregationsanalyse durchgeführt (Distl et al. 2007). Die Analyse beinhaltete Resultate der kardiologischen Untersuchungen von 1018 IWs, die zwischen 1987 und 2003 von A. Vollmar untersucht worden waren. Von den 1018 IW hatten 260 Hunden (25,5%) eine DCM, Rüden waren häufiger (33,5% aller Rüden) betroffen als Hündinnen (19,4% aller Hündinnen). Das mittlere Alter zum Zeitpunkt der DCM Diagnose betrug $4,40 \pm 2,03$ Jahre mit einer Spanne von 7,6 Monaten bis zu 10,8 Jahren. Für die Segregationsanalyse wurden Daten von 878 Hunden aus 531 Würfen und 147 verschiedenen Zwingern aus mehreren europäischen Ländern verwendet und Stammbaumanalysen von mehr als 15 Generationen einbezogen. Der mittlere Inzucht-koeffizient betrug 4,26%, der maximale Inzuchtkoeffizient 23,4%. Die Segregation betroffener Hunde in der Abstammung wurde am besten durch ein gemischt monogen-polygenes Modell mit geschlechtsspezifischem Alleleffekt erklärt. Die Wirkung des Hauptgens unterschied sich signifikant zwischen Rüden und Hündinnen (Distl et al. 2007). Nachdem mittels DNA- Analysen aus EDTA-Blut von IW mehrere Kandidatengene für DCM ohne Erfolg getestet worden waren (Philipp und Vollmar 2007a; Philipp et al. 2007b, Philipp et al. 2008), erfolgte schließlich eine GWAS, mit dem Ziel, Genloci für die DCM beim IW zu finden. Es wurden sechs Genloci für eine mögliche Assoziation mit DCM identifiziert (Philipp et al. 2012). Ein Single Nucleotid Polymorphismus (SNP) auf CFA 37 und 5 SNPs auf CFA 1, 10, 15, 17 und 21. Die Ergebnisse sprechen dafür, dass die DCM beim IW eine oligogenetische Vererbung aufweist, was bedeutet, dass sich der DCM Phänotyp durch Zusammenwirken mehrerer Genloci entwickelt. Die ermittelten Genloci lagen nicht in Bereichen, die aus der Humangenetik in Zusammenhang mit einer DCM bekannt sind und waren in unterschiedlichem Umfang an der Entstehung der DCM beteiligt. Aber auch in dieser Population konnten nicht alle DCM-Fälle durch die festgestellten Genloci erklärt werden. Als mögliche Ursachen kommt nach Ansicht der Autoren in Frage, dass seltene Allele oder Allele mit nur kleinem Effekt nicht ermittelt wurden oder es lag ein unvollständiges

Linkage Disequilibrium mit der kausativen Mutation vor. Durch Inzucht und den genetischen Bottleneck bei der erneuten Züchtung der Rasse weisen IW die längsten Linkage Disequilibrium Gruppierungen in der Hundepopulation auf (Karlsson et al. 2007). Eine Studie zum genetischen Hintergrund der DCM beim IW aus Großbritannien (Simpson et al. 2016) bestätigte die Ergebnisse von Philipp et al. (2012), dass die DCM beim IW durch Zusammenwirken mehrerer genetischer Faktoren entsteht. Simpson et al. (2016) verglichen Allelfrequenzen aller SNPs aus der Studie von Philipp et al. (2012) mit ihren Untersuchungen und fanden eine multigenetische Vererbung für die SNPs auf Chromosom 1 und 10, eine dominante Vererbung für die SNPs auf Chromosom 15 und 21 und eine rezessive Vererbung für den SNP auf Chromosom 37. Insbesondere zeigten drei Loci in Kombination (SNPs auf Chromosom 1, 21 und 37) eine signifikante Assoziation mit DCM.

2.7. Gegenstand der Studien

Ziele der Studien aus dieser Dissertation waren, den Krankheitsverlauf bei IW mit alleinigem AF sowie bei an DCM erkrankten IW zu verfolgen und zu ermitteln, woran die erkrankten Hunde letztendlich starben. Besonderes Augenmerk wurde auf die Häufigkeit kardialer Todesfälle (CD) gelegt, die zum einen in Form eines plötzlichen Herztodes (SCD) oder zum anderen als Euthanasie aufgrund eines progressiven kongestiven Herzversagens (CHF) eintraten.

2.8. Material und Methoden

Ausgangsmaterial für den ersten Teil der Studie zum alleinigen AF waren 1552 reinrassige Irische Wolfshunde aus Privatbesitz, die zwischen Januar 1995 und Oktober 2014 kardiologisch untersucht wurden. Retrospektiv wurden aus diesem Datenmaterial 52 Hunde identifiziert, bei denen alleiniges AF vorlag und die longitudinal durch kardiologische Kontrolluntersuchungen bis zum Tod bzw. bis zum Studienende verfolgt werden konnten. Ihre Überlebenszeiten wurden einer Kontrollgruppe aus 52 alters- und geschlechtsentsprechenden IW mit Sinusrhythmus gegenübergestellt, die initial keinen Hinweis auf eine Herzerkrankung hatten.

Ausgangsmaterial für den zweiten Teil der Studie zur DCM waren 1591 IW, die bis zum August 2016 untersucht wurden. Insgesamt wurde eine DCM, AF, oder beides bei 28,8% dieser 1591 IW diagnostiziert. Retrospektiv wurden 151 Hunde mit DCM ermittelt, von denen Kontrolluntersuchungen bis zum Tod oder Studienende vorlagen.

3. Publikation 1

Vollmar C, Vollmar A, Keene BW, Fox PR, Reese S, Kohn B.

Irish Wolfhounds with Subclinical Atrial Fibrillation: Progression of Disease and Causes of Death.

Journal of Veterinary Cardiology, 24, August 2019:48-57.

Submitted: August 8th, 2018

Accepted after revisions May 9th, 2019

Published electronically: May 16th, 2019

<https://doi.org/10.1016/j.jvc.2019.05.004>

Irish Wolfhounds with Subclinical Atrial Fibrillation: Progression of Disease and Causes of Death.

C. Vollmar, DVM^{a,b}, A. Vollmar, Dr. med. vet.^{b*}, B. Keene, DVM, MSc^c, P. R. Fox, DVM^d, S. Reese, PD, Dr. med. vet.^e, Barbara Kohn, Prof. Dr. med. vet.^a,

^aClinic for Small Animals, Freie Universität Berlin, Oerztenweg 19b, 14163 Berlin, Germany

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

^cCollege of Veterinary Medicine, North Carolina State University, 1052 William Moore Drive, Raleigh, NC 27607, U.S.A

^dThe Animal Medical Center, New York, NY 10065, U.S.A.

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

Short title:

Survival and Causes of Death in Irish Wolfhounds with Subclinical Atrial Fibrillation

Presented as part of an abstract at the ACVIM Forum in Indianapolis, IN, 2015 and the 25th ECVIM-CA Congress in Lisbon, Portugal, 2015.

3.1. Abstract

Objectives: To evaluate the frequency of dilated cardiomyopathy (DCM) and cardiac death (CD) in Irish wolfhounds (IW) with subclinical atrial fibrillation (AF), and to compare cardiac and all-cause mortality to those of a contemporaneous control group of apparently healthy IW with sinus rhythm.

Animals: Fifty-two IW with AF, but without echocardiographic evidence of DCM or other cardiac disease, and an age- and gender- matched control cohort of 52 apparently healthy IW.

Methods: Data from 1552 IW were retrospectively evaluated. Fifty-two dogs with subclinical AF were compared to 52 IW controls. Time from initial diagnosis to development of DCM was recorded, and survival data were analyzed using cumulative incidence functions.

Results: 26/52 AF dogs developed DCM. At study end, in the AF and control group each, 49/52 AF dogs had died, 3 remained alive. Death in the AF cohort was attributed to CD in 22/49 dogs (12 CHF, 10 sudden cardiac deaths, SCD), while 27 dogs died from non-CD. In the control group significantly fewer dogs developed DCM (11/52 dogs, $p=0.004$), even fewer died from CD (5/49; 3 CHF, 2 SCD; $p=0.001$). The odd-ratios (95% CI) for dogs with AF versus controls to develop DCM was 3.7 (1.6, 8.8) and to die from CD was 7.2 (2.4, 21.2). Median all-cause survival for AF IWs (CD, 36.3 months; non-CD, 33.2 months) did not differ significantly from the control group (CD, 28.6 months, $p=0.377$; non-CD, 45.3 months, $p=0.631$).

Conclusion: IW with subclinical AF commonly develop DCM and die from cardiac death.

Key Words: Sudden death; congestive heart failure; cardiac death; survival, lone atrial fibrillation

Abbreviations

AF	atrial fibrillation
CD	cardiac death
CHF	congestive heart failure
DCM	dilated cardiomyopathy
HR	heart rate
IW	Irish wolfhound dogs
MR	mitral regurgitation
SCD	sudden cardiac death

3.2. Introduction

Atrial fibrillation (AF) is the most common arrhythmia that requires treatment in veterinary medicine [1]. A retrospective, statistical review of 3,542 dogs with AF showed that giant breeds often develop AF early in life [2]. Irish Wolfhound dogs (IW) have a high prevalence of heart disease, particularly dilated cardiomyopathy (DCM) and AF, and several studies have reported an association between AF and DCM in IW [3-6]. In one study, out of 29 IW with DCM, 17 dogs were diagnosed with both DCM and AF, whereas the remaining 12 had been diagnosed with AF two to three years prior to the DCM diagnosis [6]. On the other hand, AF has been described in the absence of obvious cardiovascular disease in large and giant breeds such as the IW [7]. Likely related to the greater mass of the atria, markedly increased odds ratios to develop AF have been identified in giant breeds [2]. However, there is little data available from serial, longitudinal evaluations over the lifespan of the dogs, recording causes of death in dogs with AF who appeared at least initially to be clinically unaffected by DCM.

The purpose of this study was to evaluate the frequency of development of DCM and of cardiac death (CD) - either sudden CD (SCD), or death due to progressive congestive heart failure (CHF) in IW with no obvious clinical signs from the presence of AF. Further aims included comparison of cardiac and all-cause mortality between IW with AF with that of a contemporaneous, age- and gender-matched case control group of apparently healthy IW in sinus rhythm.

3.3. Material and Methods

Study population

Medical records of 1552 IW (708 males, 844 females) that had cardiovascular examinations performed in Belgium, Germany and the Netherlands between January 1996 and October 2014 were retrospectively reviewed. This study identified and included asymptomatic dogs

diagnosed with AF and left atrial enlargement, but with normal left ventricular size and function. Dogs were only selected that had longitudinal follow up examinations performed at three to 12-month intervals until death occurred, or until study termination. Dogs that died within the first six months of study inclusion but prior to reexamination were also included. Dogs were excluded from the study if they had other cardiovascular abnormalities or lost to follow up any time. A control cohort consisted of 52 apparently healthy IW of same gender and similar age, that were not first-degree relatives, and had a cardiovascular examination performed within the same year as the matched AF case.

Clinical examination

Enrolled cases were first diagnosed between February 12, 1996 and April 4, 2014, and the study period extended to October 12, 2014. At each examination, dogs received a focused cardiovascular physical examination, a six-lead electrocardiogram (ECG)^f recorded in right lateral recumbency for a minimum of three minutes, and a two-dimensional and M-mode echocardiographic examination performed by one cardiologist (AV) to acquire standard images^{g-k}. In addition, two-dimensional systolic measurements of both atria were obtained and measured at the level of their maximal diameter, parallel to each AV valve from right parasternal four-chamber views, along with diastolic measurements of the right ventricular diameter below the tricuspid valve [9]. The value for each echocardiographic variable was determined by averaging measurements made from four to six cardiac cycles in dogs with sinus rhythm, and from ten cardiac cycles in dogs with AF. In dogs with a heart murmur, spectral-Doppler and color-flow Doppler echocardiography were used to estimate pulmonary and aortic flow velocities and subjectively evaluate the severity of atrioventricular valve regurgitation.

Criteria for the diagnosis of DCM were based on breed specific reference values for two-dimensional and M-mode echocardiographic measurements reported in IW (left ventricular end-systolic dimension >41mm, left ventricular end-diastolic internal dimension >60mm, left

ventricular shortening fraction <25%, left atrial end-systolic diameter >56mm, right ventricular dimension >35mm) [8-10]. When mitral or tricuspid regurgitation developed in dogs with DCM, the severity was graded semiquantitatively by comparing the color Doppler regurgitation flow to the area of the atrium (mild <20%, moderate 20%-50%, and severe >50% regurgitation [11,12]. Average heart rate (HR) during the echocardiographic examination was recorded from simultaneous ECG recordings. In dogs whose history and examination findings suggested CHF, a right lateral radiograph was evaluated for presence of pleural effusion and/or mixed interstitial-alveolar lung pattern consistent with cardiogenic pulmonary edema.

Treatment

Therapy when given was not standardized and changed over the course of the study years. Treatment was optimized and recorded on a case by case basis in collaboration with the owner and referring veterinarian by the attending cardiologist (AV). In dogs with AF and a sustained HR >180bpm during echocardiography, ECG, and or repeated auscultation, HR control was managed using methyldigoxin with verapamil up to 2002 (N= 3), and thereafter, using methyldigoxin and diltiazem (N=2) [13]. Target HR was less than 140 beats per minute recorded at rest in the examination room, or less than 100 beats per minute recorded at home. Other drugs used during the study were methyldigoxin alone (n = 12), angiotensin converting enzyme inhibitors alone (n = 8) or in combination with methyldigoxin (n = 11), and pimobendan (after 2002; n = 9). After detection of CHF, dogs received additional medications as judged to be necessary, including furosemide and spironolactone (since 2001). According to owner decision, seven dogs with AF initially received no therapy and developed DCM later. In four of these dogs, therapy was started after development of DCM. The other three dogs never received medical therapy and were euthanized when they became symptomatic based upon owner request. In the five control dogs that developed DCM with AF, similar treatment choices were offered.

Deaths were classified as CD or non-CD. Cardiac death was subclassified as SCD or euthanasia due to progressive, refractory CHF. Death was defined as SCD when witnessed by the owner as a sudden collapse and death without evidence of dyspnea; or when death occurred during sleep and dogs had been observed to have been healthy within eight hours before death, in absence of history or known indication of other disease or condition likely to cause acute death.

Cause of death was obtained from medical records and descriptions recorded by the owners. Post-mortem examinations were performed at Utrecht University in five, and Ghent University in two of the dogs.

Statistical analysis

Statistical analyses were performed using commercially-available software and freeware.¹ⁿ Normality testing for continuous data consisted of visual inspection of probability plots and the Shapiro-Wilk test. Continuous variables that were normally distributed are reported as mean \pm standard deviation, and variables without normal distribution of data as median and interquartile range (IQR). Categorical variables are summarized by frequencies and percentages. Each death was attributed to one cause exclusively. The frequencies of development of DCM, and the frequencies of CD of the dogs with AF versus controls were compared by Fisher's exact test. As many IW with AF died from non-cardiac causes, for survival analysis we used the cumulative incidence function (CIF) recommended by Austin et al. and Oyama et al. and which in our setting allowed for estimation of the incidence of the occurrence of the event CD while taking non-CD as competing risks into account [14,15]. Survival curves by CIF for CD versus non-CD were calculated for IW with AF and for controls. The median survival times of the four groups were compared by using the generalized linear model for comparisons within the AF-group and by using the generalized estimating equations for comparing the matched pairs. Four comparisons were carried out, 1. IW with AF and CD versus non-CD; 2. IW with AF and CD versus control IW with CD; 3. IW with AF and non-CD versus control IW with non-CD; 4. control IW with CD versus control IW

with non-CD. For the more common causes of non-CD as variables, univariate analysis was applied to test for an influence on survival times, and survival times were compared by an unpaired, two-tailed T-test. Correlation between two variables was specified by Spearman's rho correlation coefficient. Age at diagnosis, HR at diagnosis and HR after therapy of the different groups were compared by one-way ANOVA with post hoc Bonferroni correction. Data measured at the initial echocardiographic examination were analyzed for significant differences between the matched pairs of IW with AF and the corresponding control IW by using the Wilcoxon test. A value of $p < 0.05$ was considered statistically significant.

3.4. Results

Of 1552 IWs (708 males, 844 females) examined between January 1996 and October 2014, 52 AF dogs (24 males; 28 females) and 52 controls (24 males; 28 females) were included in the study. At the time of AF diagnosis males were significantly younger (mean, 3.8 ± 1.7 years) than females (mean, 5.0 ± 2.2 years, $p = 0.023$). Mean bodyweight of males (71.1 ± 6.9 kg) was 8.5 kg (12 %) higher than that of females (62.6 ± 5.8 kg, $p < 0.001$). The age difference between each AF dog and its control dog was mean: 0.24 ± 4 months. The maximal age difference in one pair was 9.6 months.

Echo measurements at initial diagnosis

Echocardiographic measurements of left ventricular internal dimensions and left ventricular shortening fraction were within reference ranges for all IW with AF and for control dogs, while all IW with AF but no control dog had increased left atrial end-systolic diameters (Figure 1). Compared to control dogs, IW with AF had significantly greater left ventricular end-systolic dimension, left atrial end-systolic diameter, and end-diastolic right ventricular diameter. In addition, shortening fraction was significantly lower in IW with AF versus control dogs (Table 1). There was no statistically significant difference between IW with AF and controls in left ventricular free wall and interventricular septal measurements.

Development of dilated cardiomyopathy

IW with AF developed DCM (26/52, 50%) more frequently than controls (11/52 dogs, 21.1%; $p=0.004$; Table 2). The odds-ratio (95% CI) for dogs with AF versus controls to develop DCM was 3.7 (1.6, 8.8). Median time to development of DCM was not significantly different for IW with AF (30.8 months; IQR 16.3 - 44.2 months) compared to control dogs (17.7 months; IQR 10.8 - 31.2 months; $p=0.192$). In IW with AF, 45.8% of males (11/24) and 53.6% of females (15/28) developed DCM. Of the 26 dogs that developed DCM, 19 later developed clinical signs of CHF. In 17/26 AF IW with DCM, mild to moderate secondary mitral regurgitation (MR) developed over time. Out of the 11/52 control dogs that developed DCM, nine dogs also had AF at time of DCM-diagnosis, one male developed AF later, and another male remained in sinus rhythm until non-CD occurred. Over time, four of these nine dogs with DCM and AF developed MR, and three developed CHF later.

Survival, cardiac versus non-cardiac death

At study termination, 49/52 AF dogs had died, 22 (44.9 %) due to a cardiac and 27 (55.1%) due to a non-cardiac cause. Three remained alive (tables 2-4). In the control group, significantly less dogs died from CD (5/49; 3 CHF, 2 SCD; $p=0.001$) (Tables 2, 3, and 5). Cumulative incidence curves by cause of death and probability of overall death indicated an increased relative risk of CD for AF versus control dogs (Figure 2). For IW with AF there was an approximate cumulative incidence of CD of 15% by 3.5 years from diagnosis that increased to approximately 18% by six years from diagnosis. For control dogs, the cumulative incidence of CD was less than 5% during the complete observation period (Figure 2). The odds ratio (95% CI) for IWs with AF to die from CD compared with control dogs was 7.2 (2.4, 21.2; $p<0.001$). The absolute risk to die from non-CD increased for IW with AF from approximately 14% by 3.5 years from diagnosis, to 25% by 6 years from diagnosis, and for the control dogs during the same time frame from 25 % to approximately 40% (Figure 2).

In IW with AF the median survival time to non-CD was significantly shorter ($p=0.004$) than in control IW, whereas the median survival time to CD was not significantly different ($p=0.458$,

generalized estimating equations). Within the AF group, survival times to either CD or non-CD were not statistically different ($p=0.207$). Likewise, within the control group, survival times to CD versus non-CD were not statistically different ($p=0.246$, generalized linear model).

Out of the ten IW with AF that died from SCD, SCD occurred during subclinical AF in three, and after development of DCM in seven dogs. Two of these also had developed CHF. In nine of these dogs, death was witnessed by the owners as sudden collapse and death; whereas death was unwitnessed in one dog, occurring during sleep with the dog having been observed to be asymptomatic three hours before dying, with no history of other conditions likely to cause sudden death. Dogs with AF that died from SCD were slightly younger (mean, 6.6 ± 2.4 years) than dogs with AF that died from CHF (mean, 7.3 ± 2.4 years, $p=0.469$), or from non-cardiac causes (mean, 7.5 ± 1.6 years), but differences were not statistically significant. In the control group, one dog which had later developed DCM with AF subsequently suffered a SCD during a walk. Another control dog died unexpectedly during mating with a bitch, a death that was classified as sudden unexplained death because he had an unremarkable cardiac examination carried out three days before.

For all dogs (AF group and control group), age at study entry was negatively correlated with survival time (Spearman rho= 0.522, $p<0.001$), while bodyweight was not significantly correlated with survival time (Spearman rho= 0.123, $p=0.226$). In addition, survival of both genders was not statistically significantly different for all dogs (males, 1039.0 days; IQR 586.3 – 1682.5 days; females, 1107.5 days; IQR 604.5 – 1653.8 days, $p=0.096$).

Considering dogs with AF and controls together, tests by univariate analysis for a potential influence of individual non-cardiac causes of death on survival times revealed a statistically significantly shorter survival time in seven dogs that died from pneumonia (28.7 months; IQR 11.4 – 36.2 months), compared to all non-cardiac causes of death (38.4 months; IQR 22.5-55.2 months; $p=0.034$). Compared to all non-cardiac causes of death, survival was not significantly different for 20 dogs with osteosarcoma (48.6 months; IQR 20.8 – 55.9 months;

p=0.792), for 10 dogs with soft tissue tumor disease (31.6 months; IQR 11.4 – 56.8 months; p=0.323), and for 10 dogs with paraparesis (40.6 months; IQR 19.2 – 65.5 months; p=0.665).

Heart rate

Heart rate at time of initial diagnosis recorded during echocardiography was significantly higher in dogs with AF (144 ± 35 bpm) compared to control dogs with sinus rhythm (118.5 ± 16 bpm; p<0.001). Eight dogs (AF group) had tachycardia 180-233bpm. However, the initial HR did not correlate with survival (Spearman rho=0.097, p=0.342). Under various medical treatments, HR of dogs with AF decreased to 129 ± 24 bpm and was significantly different from pre-treatment HR (p=0.024), but not significantly different from controls (p=0.23) at their inclusion.

3.5. Discussion

In this study of IWs, we evaluated the time to event, defined as time from first detection of AF in dogs that did not meet echocardiographic criteria for DCM, to the time that DCM was detected, and its relationship to cardiac and all-cause mortality. These findings were compared to a contemporaneous, apparently healthy control group that had sinus rhythm and no echocardiographic evidence of DCM at first presentation, but might have developed DCM, CHF, or CD later in life.

As the establishment and maintenance of AF is related to the mass of the atria, large dogs have a greater predisposition to develop AF [2]. Although AF has been reported most commonly associated with DCM in large and giant breed dogs, AF has been observed in otherwise healthy dogs in the absence of obvious cardiovascular disease [2,7]. In people AF sometimes develops in younger individuals without any evident of cardiac or other disease. However, growing insights into the pathophysiology of AF suggest subclinical alterations in cardiac function or structure or genetically determined subtle alterations do occur at cellular levels in some young patients with lone AF [16]. Several studies have reported an association between AF and DCM in IW, and AF has been suggested as a precursor of DCM

[3-6]. In this study, at time of diagnosis, there were statistically significant differences in some echocardiographic measurements (left ventricular end-systolic dimension, shortening fraction, and end-diastolic right ventricular diameter) between IW with AF and controls. However, all echocardiographic measurements were within reference ranges [8-10], except the left atrial end-systolic diameter that was increased in all IW with AF but not in control dogs. The range of reference values is influenced by interindividual variations of cardiac measurements and might be too wide to identify influences of AF on cardiac size and function and development of DCM in an individual dog.

Tachycardia induced cardiomyopathy is an established phenomenon, and HR control in dogs with AF may affect survival [17,18]. In the present study, eight IW with AF had tachycardia ranging from 180 – 233 bpm. Autonomic nerve activity plays an important role in the initiation and maintenance of AF, especially imbalances between the sympathetic and parasympathetic system. Simultaneous sympathovagal activity and atrial sympathetic hyperinnervation with chronic AF are important mechanisms in AF [19]. In a recently published study, in IW with DCM whose HR was controlled, only IW with CHF due to DCM and AF had significantly elevated HR recorded during echocardiography [20]. In this study rate-managed AF dogs did not have a significantly different HR recorded during echocardiography compared with the control dogs. These findings suggest that tachycardia induced cardiomyopathy is not likely in this population. As suggested by Simpson et al. AF may represent a precursor to a clinical phenotype of DCM in IW [6]. This is supported by a study on cardiac pathology in IW, similar histological changes were detected in IW with AF (fibrosis and adipocytes) in atrial and in ventricular myocardium as in IW with DCM [21]. In an earlier study, out of 1018 IW, the total prevalence of DCM was higher in males (33.5%) than in females (19.4%) [22]. However, in this study of IW with AF, gender played no role in development of DCM, CHF or CD, but IW with AF developed DCM more commonly (50%) than control dogs (21.1%). However, 50% of IW with AF did not develop DCM. As the breed is commonly affected with other fatal diseases resulting in early death or euthanasia, some dogs may not have lived long enough to develop DCM [10,20,23-25]. Median time to

development of DCM from time of examination was shorter in the untreated control dogs (530 days) than in the AF dogs of this study (923 days), but the difference was not statistically significant. Although treatments were not standardized in this study and changed significantly over time, in general, early initiation of treatment in IW with preclinical AF may have contributed to the delayed onset of DCM and prolonged survival, as has been shown in an earlier study in IW with preclinical DCM or AF [26]. In that prospective, blinded, clinical trial, median time to a composite endpoint of CHF or SCD was significantly prolonged in IW treated with pimobendan monotherapy compared to dogs on monotherapy with benazepril or methyl digoxin [26]. Delayed onset of CHF or SCD has also been recorded in pimobendan treated Doberman pinscher dogs with preclinical DCM compared to placebo in a randomized, multicenter trial [27]. However, the present retrospective study was not designed to assess the effect of any administered therapies. Inasmuch as treatment was not standardized, the influence of drug therapy can only be speculative at best.

In this study approximately 45% of the mortality in IW with AF was cardiac related, compared to 10.2% in the control group, and the odds ratio to die from CD was 6.9 for IW with AF compared to the control dogs. These data suggest that IW with AF have a relatively high likelihood to die from SCD or CHF.

Cumulative incidence curves by cause of death and probability of overall death indicated for IW an increased absolute risk of CD, from 3.5 to 6 years from diagnosis, and an even higher risk to die from non-CD (Figure 2). In the control dogs, the absolute risk to die from non-CD increased from 25% to 40% during the same timeframe from 3.5 to 6 years. While IW with AF were more likely to develop DCM and CD was more likely in the AF group, the presence of AF did not confer worse survival. Irish wolfhounds are commonly affected by other diseases that adversely affect life expectancy, with non-CD mortality increasing during aging [24,25]. This corresponds with findings in the present study, that age was negatively correlated with survival time. Leading non-cardiac causes of death in the dogs of this study as in the studies by Brungs et al. and by Vollmar et al. were bone cancer, non-orthopedic

neoplasia, paraparesis, pneumonia, and gastric torsion [10,20]. Interestingly one of the AF dogs developed thromboembolism in a hind-leg resulting in euthanasia. Thromboembolism is a common complication of AF in humans and has been reported in association with AF in three dogs [28].

In this study approximately 45 % of the mortality in IWs with AF was cardiac related, compared to 10.2% in the control group. Median survival in the dogs with AF of this study was 35.8 months for CD and 32.8 months for non-cardiac death, compared to a study for 17 dogs of different breeds with AF without structural and functional disease (40 months), and the median survival of giant breed dogs with AF with and without heart disease, reported in the analysis of the Veterinary Medical Data Base (20 months) [2,7].

In another study of dogs with AF and advanced heart disease, digoxin-diltiazem combination therapy, provided a better ventricular rate control (<140 bpm for 85% of the Holter recording period) than either drug alone [13]. In addition, a retrospective evaluation of the effect of HR on survival in dogs with structural heart disease and AF based on 24-hour Holter recordings, showed a significantly longer survival time of dogs with mean HR<125 bpm than for dogs with mean HR \geq 125 bpm [18]. For every 10 bpm increase in mean HR, the risk of all-cause mortality increased by 35%. In IW with subclinical AF, HR is usually only mildly elevated. A 24-hour Holter ECG study comparing HR of 13 IW with lone AF in the home environment with data obtained from 13 healthy IW of similar age and gender showed, that peak hourly HRs did not differ significantly in IW with AF (164.6 bpm) compared to normal IW (159 bpm), but, the average hourly HR was significantly higher in AF dogs (98.6 bpm) vs normal dogs (72.5 bpm)^p. After treatment with digoxin, the average hourly HR of the IW with AF was not significantly different from normal dogs in that study. Heart rate data from the present study showed similar trends, the mean HR of the dogs with AF during echocardiography and ECG recordings at time of first diagnosis was about 26 bpm higher (143.8 ± 34.6 bpm) than that of the control group (117.5 ± 15.6 bpm) and decreased to about 130 bpm with therapy.

However, HR of both studies are not directly comparable, as the Holter study reported 24h

average HR, while in this study, for HR assessment mean HR during echocardiography was used.

In this study, mild to moderate MR was observed in 21 dogs with chronic AF and DCM, developing over time secondary to dilation of the mitral annulus. Although in a previous study, pathologic evaluation of hearts of 26 IW revealed mild degenerative mitral valve changes in most older IW, more pronounced degenerative changes were seen in dogs with secondary MR due to chronic AF or DCM [21].

This study has several limitations. Dogs were included in the study from the time of detection of AF and follow-up for detection of DCM or CHF was attempted semi-annually but depended on recognition of signs by the dog owners. Thus, the time recorded for the duration of AF prior to the detection of DCM or CHF was potentially influenced by the timing of the follow up examination. While medications used to treat AF or DCM might have influenced time of development of DCM or CHF, the study was retrospective and not designed or powered to address this question. Another limitation is that tests for the presence of potentially concurrent diseases (e.g. hypothyroidism, myocarditis, hypertension, other underlying systemic diseases or nutritional or metabolic problems) were not consistently performed in this population.

We used color flow Doppler imaging to assess MR severity, but the color flow may be affected by many technical and haemodynamic factors, such as increased left atrial pressure and size, and eccentric versus centrally directed jets. For the estimation of MR severity, the European Association of Echocardiography recommends measuring the vena contracta width or visualization of the proximal isovelocity area (PISA) [29]. In addition, newer ultrasound techniques including tissue Doppler imaging, strain and strain rate imaging, and speckle tracking echocardiography, provide additional information to assess regional and global myocardial performance [30].

Furthermore, the cause of death was obtained from descriptions of the owners or clinical notes of veterinary practices, with only few dogs undergoing post-mortem examinations. While in general a clear reason of death was given by the owner or practice, misclassifications might have occurred. Finally, the HR of dogs with AF was not measured by 24-hour monitoring, which would permit the best assessment [13,18].

The major conclusion from the longitudinal follow-up examinations in IWs with subclinical AF is that a large percentage of dogs will progress to develop DCM and CHF or die from SCD. Therefore, IWs with AF should be closely monitored for development of DCM and related cardiac complications.

3.6. Conflict of interest

There are no conflicts of interest for any author

3.7. Footnotes

^f Cardiovit AT-10; Schiller AG, Switzerland

^g SIM 7000 CFM Challenge, Esaote Biomedica, Italy

^h Logiq 400, GE Healthcare, Great Britain

ⁱ My Lab 30 Vet, Esaote Biomedica, Italy

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

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

^l SPSS 23.0, IBM Company, Chicago, Illinois 60606, USA

^mR Studio 0.99.99.902, The R Foundation for Statistical computing, Institute for Statistics and Mathematics, Wirtschaftsuniversität Wien, 1020 Vienna, Austria

ⁿ R 3.3.0, The R Foundation for Statistical computing, Institute for Statistics and Mathematics, Wirtschaftsuniversität Wien, 1020 Vienna, Austria

^oRector M, Bright J, Dentino M. Heart rate in Irish wolfhounds with lone atrial fibrillation & assessment of digoxin as sole method of rate control. ACVIM Forum abstracts Montréal, Circulation 2009; 23:750.

3.8. References

- [1] Moise NS. Special focus: the "Fibrillating heart". *J Vet Cardiol* 2005;7:71-2.
- [2] Westling J, Westling W, Pyle RL. Epidemiology of atrial fibrillation in the dog. *Intern J Appl Res Vet Med* 2008;6:151-4.
- [3] Brownlie SE. An electrocardiographic survey of cardiac rhythm in Irish wolfhounds. *Vet Rec* 1991;129:470-1.
- [4] Vollmar AC. The prevalence of cardiomyopathy in the Irish wolfhound: A clinical study of 500 dogs. *J Am Anim Hosp Assoc* 2000;36:125-32.
- [5] Brownlie SE, Cobb MA. Observations on the development of congestive heart failure in Irish Wolfhounds with dilated cardiomyopathy. *Journal of Small Animal Practice* 1999;40:371-7.
- [6] Simpson S, Dunning MD, Brownlie S, Patel J, Godden M, Cobb M, Mongan NP, Rutland CS. Multiple Genetic Associations with Irish Wolfhound Dilated Cardiomyopathy. *BioMed Research International* 2016, ArticleID 6374082, <http://dx.doi.org/10.1155/2016/6374082>.
- [7] Menaut P, Bélanger MC, Beauchamp G, Ponzio NM, Moise NS. Atrial fibrillation in dogs with and without structural or functional cardiac disease: A retrospective study of 109 cases. *J Vet Cardiol* 2005;7:75-83.
- [8] Vollmar A. Echocardiographic measurements in the Irish wolfhound, reference values for the breed. *J Am Anim Hosp Assoc* 1999;35:271-7.
- [9] Irish wolfhounds. *J Am Anim Hosp Assoc* 1999;35:279-83. Vollmar A. Use of echocardiography in the diagnosis of dilated cardiomyopathy in
- [10] Brungs A, Vollmar A, Reese S, Poulsen Nautrup C. Echocardiographic indices of age and gender-dependent cardiac remodeling over the adult lifespan in Irish Wolfhounds. *J Vet Cardiology* 2018; 20:307-18.
- [11] Reimann MJ, Møller JE, Häggström J, Markussen B, Holen AE, Falk T, Olsen LH. R–R interval variations influence the degree of mitral regurgitation in dogs with myxomatous mitral valve disease. *Vet J* 2014;199:348–54.
- [12] Reiman MF, Møller JE, Häggström J, Martinussen T, Zatrzeni SSC, Svanholm L, Nielsen LBM, Pedersen HD, Olsen LH. Mitral regurgitation severity and left ventricular systolic dimension predict survival in young Cavalier King Charles Spaniels. *J Vet Int Med* 2017; 31:1008–16.
- [13] Gelzer ARM, Kraus MS, Rishniw M, Moise NS, Pariaut R, Jesty SA, Hemsley SA. Combination therapy with digoxin and diltiazem controls ventricular rate in chronic atrial fibrillation in dogs better than digoxin or diltiazem monotherapy: a randomized crossover study in 18 dogs. *J Vet Int Med* 2009;23:499-508.

- [14] Austin PC, Lee DS, Fine JP. Introduction to the analysis of survival data in the presence of competing risks. *Circulation* 2016;133:601-9.
- [15] Oyama MA, Shaw PA, Ellenberg SS. Considerations for analysis of time-to-event outcomes subject to competing risks in veterinary clinical studies. *J Vet Cardiol* 2018;20:143-53.
- [16] Potpara TS, Lip GYH. Lone atrial fibrillation – an overview. *Int J Clin Pract* 2014;68:418-33.
- [17] Ellis ER, Josephson ME. What about tachycardia induced cardiomyopathy? *Arrhythm Electrophysiol Rev* 2013;2:82-90.
- [18] Pedro B, Dukes-McEwan J, Oyama MA, Kraus MS, Gelzer AR. Retrospective evaluation of the effect of heart rate on survival in dogs with atrial fibrillation. *J Vet Intern Med.* 2018 Jan;32:86-92.
- [19] Chen PS, Chen LS, Fishbein MC, Shien-Fong Lin SF, Nattel S. Role of the Autonomic Nervous System in Atrial Fibrillation. *Circ Res* 2014;114:1500–15.
- [20] Vollmar C, Vollmar A, Keene BW, Fox PR, Reese S, Kohn B. Dilated Cardiomyopathy in 151 Irish Wolfhounds: Characteristic Clinical Findings, Life Expectancy and Causes of Death. *The Veterinary Journal* 2019;245:15-21.
- [21] Vollmar A, Aupperle H. Cardiac pathology in Irish wolfhounds with heart disease. *J Vet Cardiol* 2016;18:57-70.
- [22] Distl O, Vollmar AC, Broschk C, Hamann H, Fox PR. Complex segregation analysis of dilated cardiomyopathy (DCM) in Irish wolfhounds. *Heredity* 2007;99:460-5.
- [23] Clercx C, Reichler I, Peeters D, McEntee K, German A, Dubois J, Schynts E, Schaaf-Lafontaine N, Willems T, Jorissen M, Day MJ. Rhinitis/bronchopneumonia syndrome in Irish Wolfhounds. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2003;17:843-9.
- [24] Egenvall A, Bonnett BN, Olson P, Hedhammar Å. Mortality in over 350,000 insured Swedish dogs from 1995-2000: II. Breed-specific age and survival patterns and relative risk for causes of death. *Acta Veterinaria Scandinavica* 2005;46:121-36.
- [25] Urfer SR, Gaillard C, Steiger A. Lifespan and disease predispositions in the Irish Wolfhound: A review. *Veterinary Quarterly* 2007;29:102-11.
- [26] Vollmar AC, Fox PR. Long-term Outcome of Irish Wolfhound dogs with preclinical cardiomyopathy, atrial fibrillation, or both treated with pimobendan, benazepril hydrochloride or methyl digoxin monotherapy. *J Vet Int Med* 2016;30:553-9.
- [27] Summerfield NJ, Boswood A, O'Grady MR, Gordon SG, Dukes-McEwan J, Oyama MA, Smith S, Patteson M, French AT, Culshaw GJ, Braz-Ruivo L, Estrada A, O'Sullivan ML, Loureiro J, Willis R, Watson P. Efficacy of pimobendan in the prevention of congestive heart failure or sudden death in Doberman pinschers with

preclinical dilated cardiomyopathy (the PROTECT Study). *J Vet Intern Med* 2012;26:1337-49.

[28] Usechak PJ, Bright JM, Day TK. Thrombotic complications associated with atrial fibrillation in three dogs. *J Vet Cardiol* 2012;14:453-8.

[29] Lancellotti P, Moura L, Pierard LA, Agricola E, Popescu BA, Tribouilloy C, Hagendorff A, Monin JL, Badano L, Zamorano JL. European Association of Echocardiography recommendations for the assessment of valvular regurgitation. Part 2: mitral and tricuspid regurgitation (native valve disease). *European Journal of Echocardiography* 2010; 11:307–32.

[30] Chetboul V, Tissier R. Echocardiographic assessment of canine degenerative mitral valve disease. *J Vet Cardiol* 2012;14:127-48.

3.9. Tables

Table 1: Comparison of echo measurement at diagnosis of 52 Irish wolfhounds with atrial fibrillation with those of the 52 control dogs

	IW with AF	control dogs	P-value
	Median (IQR)	Median (IQR)	
LVIDs (mm)	38.1 (36.1 – 39.3)	35.8 (31.9 – 37.2)	<0.001
LVIDd (mm)	52.4 (50.3 – 53.8)	51.6 (48.1 – 54.0)	0.293
FS (%)	27.4 (25.1 – 29.6)	30.7 (29.5 – 34.0)	<0.001
LA-2d (mm)	60.2 (57.2 – 63.0)	50.4 (48.0 – 53.5)	<0.001
RVIDd (mm)	33 (29.8 – 37.4)	30.5 (28.0 – 32.8)	0.007

LVIDs, end-systolic left ventricular internal diameter; LVIDd, end-diastolic left ventricular internal diameter; FS, fractional shortening; LA-2d, two-dimensional left atrial diameter; RVIDd, end-diastolic right ventricular internal diameter

Table 2: Development of DCM and survival in 52 Irish Wolfhounds with atrial fibrillation versus 52 control dogs with sinus rhythm

	IW with AF	control dogs
Development of DCM	N= 26 (50 %)	N= 11 (21.1 %)
No DCM	N= 26 (50 %)	N= 41 (78.8 %)
Median (IQR) time to CD (days)	N= 22; 1088 (547-1718)	N= 5; 858 (595-858)
Median (IQR) time to non-CD (days)	N= 27; 997 (534-1507)	N= 44; 1360 (821-1769)
Alive at study end (days on study)	N= 3; 602 (446-1039)	N=3; 461 (461-1039)

AF, atrial fibrillation; CD, cardiac death, DCM, dilated cardiomyopathy; IQR, interquartile range; IW, Irish wolfhounds

Table 3: Causes of death in 49 Irish Wolfhounds with atrial fibrillation and in 49 control dogs with sinus rhythm

	Death from CHF	SCD	non-CD	alive
AF (n=52)	12 (23.1%)	10 (19.2%)	27 (51.9%)	3 (5.8%)
Controls (n=52)	3 (5.8%)	2 (3.8%)	44 (84.6%)	3 (5.8%)

AF, atrial fibrillation; CD, cardiac death; CHF, congestive heart failure; SCD, sudden cardiac death

Table 4: Causes of death in 49 Irish Wolfhounds with atrial fibrillation

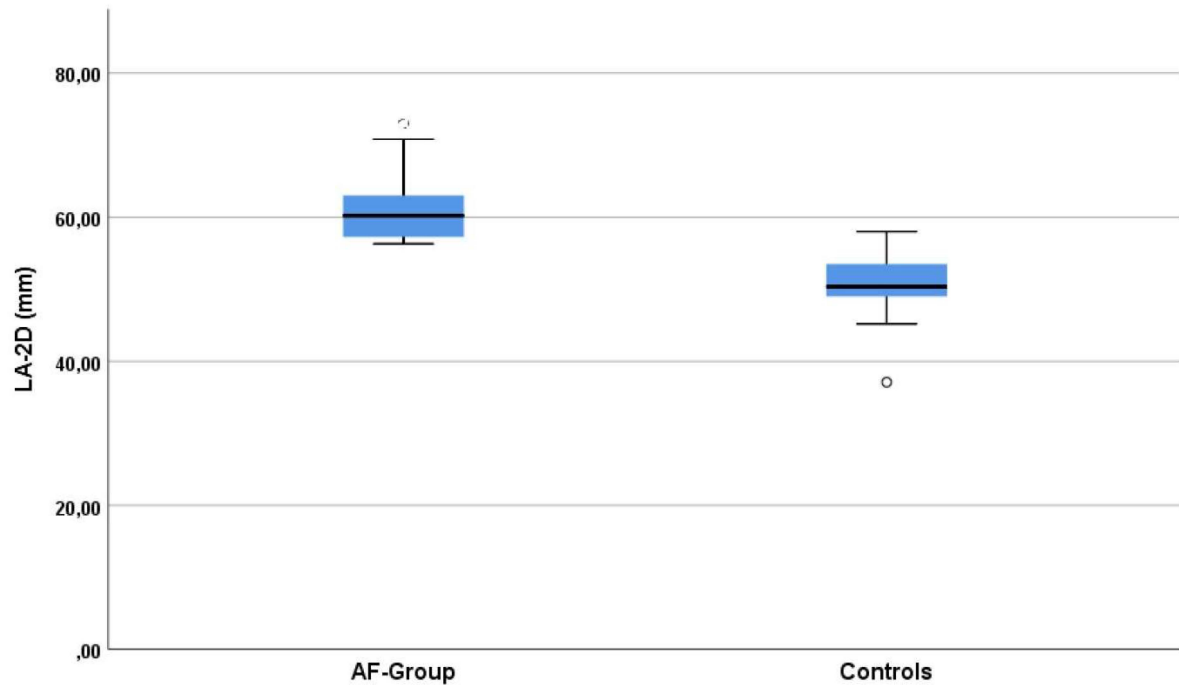
Cause of death	n	%
Cardiac	22	44.9
Sudden cardiac death	10	20.4
Days from diagnosis (median; IQR)	956 (582-1294.8)	
Median (IQR) age at death (years)	6.1 (4.7-7.7)	
Congestive heart failure	12	24.5
Days from diagnosis (median; IQR)	1274 (656-1983)	
Median (IQR) age at death (years)	7.5 (5.5-9.0)	
Non-cardiac death	27	55.1
Median (IQR) age at death (years)	7.3 (6.9-8.0)	
Bone cancer	5	10.2
Gastric torsion	5	10.2
Paraparesis	4	8.2
Pneumonia	3	6.1
Non-orthopedic neoplasia	5	10.2
Pyometra	1	2.0
Thromboembolism hind leg	1	2.0
Liver failure and uncontrolled diabetes	1	2.0
Gastric and splenic torsion	1	2.0
Inability to eat or drink	1	2.0

Table 5: Causes of death in 49 apparently healthy Irish Wolfhounds (control group)

Causes of death in 49 control dogs	n	%
Median (IQR) age at death (years)	7.0 (6.0-8.5)	
Sudden cardiac death	2	4.1
Congestive heart failure	3	6.1
Bone cancer	15	30.6
Non-orthopedic neoplasia	5	10.2
Paraparesis	6	12.2
Back problems	1	8.5
Renal failure	1	6.4
Pneumonia	4	8.2
Old age	2	4.1
Gastric torsion	2	4.1
Pyometra	3	6.1
Anaphylactic shock	1	2.0
Intoxication	1	2.0
Immune disease	1	2.0
Unexplained sudden death	1	2.0
Unknown	1	2.0

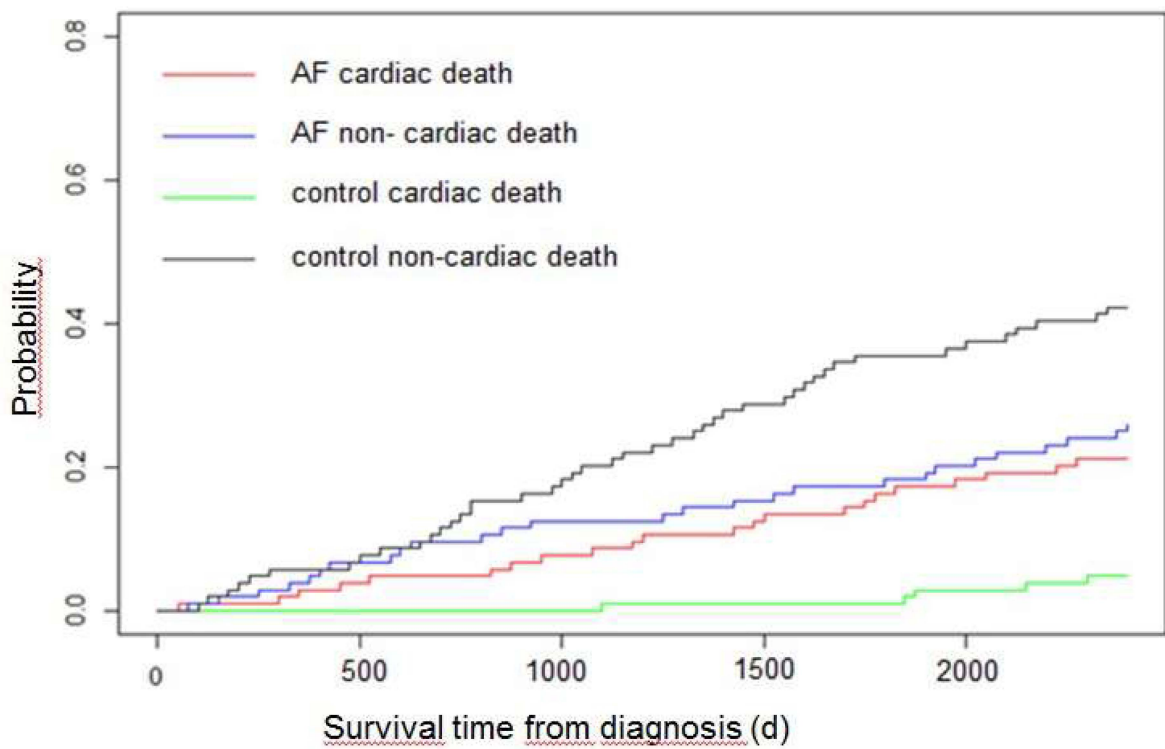
3.10. Figures

Figure 1:



Box and whisker plot depicting two-dimensional left atrial end-systolic diameter (LA-2D) of Irish wolfhound dogs with atrial fibrillation (AF) and control dogs.

Figure 2:



Cumulative incidence functions comparing survival from diagnosis by cause of death (cardiac versus non-cardiac) in 52 Irish Wolfhounds with atrial fibrillation (AF) and in 52 apparently healthy Irish Wolfhounds (control dogs) with sinus rhythm.

4. Publikation 2

Vollmar C, Vollmar A, Keene BW, Fox PR, Reese S, Kohn B.

Dilated cardiomyopathy in 151 Irish Wolfhounds: Characteristic clinical findings, life expectancy and causes of death.

The Veterinary Journal, Volume 245, March 2019: 15-21.

Submitted: July 5th 2018

Accepted after revisions December 14th 2018

Published electronically: January 2nd 2019

<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2018.12.018>

Dilated Cardiomyopathy in 151 Irish Wolfhounds: Characteristic Clinical Findings, Life Expectancy and Causes of Death

C. Vollmar ^{a,b,f}, A. Vollmar ^{b,*}, B.W. Keene ^c, P. R. Fox ^d, S. Reese ^e, B. Kohn ^a,

^a *Clinic for Small Animals, Freie Universität Berlin, Oerztenweg 19b, 14163 Berlin Germany*

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

^c *College of Veterinary Medicine, North Carolina State University, 1052 William Moore Drive, Raleigh, NC 27607 USA*

^d *The Animal Medical Center, New York, NY 10065 USA*

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

* Corresponding author. Tel.: 0049 228 4224403

E-mail address: AndreaVollmar@t-online.de

^f *present address: Klinikum Veterinaermedizin, Klinik für Kleintiere (Innere Medizin), Justus-Liebig-University Giessen, Frankfurter Str. 126, 35392 Giessen Germany*

4.1. Abstract

Dilated Cardiomyopathy (DCM) is an important cause of morbidity in Irish Wolfhound dogs (IW), a breed also predisposed to neoplastic and orthopaedic diseases that shorten life expectancy. The objective of this study was to investigate survival and causes of death in IW with DCM and to characterize the clinical findings of DCM over time. Data from cardiovascular examinations performed in 1591 IW, including echocardiography and electrocardiography, were retrospectively evaluated. One-hundred-and-fifty-one IW with DCM (95males, 56 females) on medical therapy with long term longitudinal follow-up were included in this study. Based on their clinical status at initial diagnosis, IW were classified into 1 of 3 groups: preclinical DCM with sinus rhythm (PC-DCM-SR, n= 35), preclinical DCM with atrial fibrillation (PC-DCM-AF, n=87), and congestive heart failure with DCM and AF (CHF-DCM-AF, n=29). Survival data were analyzed using cumulative incidence functions, Kaplan-Meier and Cox regression.

CHF was predominantly characterized by chylous pleural and mild pericardial effusions. Causes of death were cardiac (CD) in 73/151 and non-cardiac (non-CD) in 62/151; 16 dogs remained alive at study end. The majority of deaths in both preclinical DCM groups were non-CD (PC-DCM-AF = 46% non-CD, 42.5% CD; PC-DCM-SR, 54.3% non-CD, 28.5% CD). In the CHF-DCM-AF group most dogs (89.6%) experienced a CD. Median survival of the CHF-DCM-AF group (7.3 months) was significantly shorter than in the PC-DCM-AF group (21.9 months) or PC-DCM-SR group (29.1 months, P=0.001).

CHF-DCM-AF in IW was associated with reduced life expectancy and CD, while most IW with preclinical DCM died from non-cardiac causes.

Key Words: Cardiac death, sudden cardiac death, congestive heart failure, atrial fibrillation, dogs

4.2. Introduction

Dilated cardiomyopathy (DCM) is a well-recognized cause of cardiac morbidity and death in humans and large to giant breeds of dogs (Tidholm and Jönsson, 1996; Tidholm and Jönsson 1997; Dukes-McEwan et al. , 2003; Burkett and Hershberger, 2005; Martin et al. , 2010; Moretti et al. , 2010; Ganesh et al. , 2013). Irish wolfhound dogs (IW) have a high prevalence of familial DCM. Genome wide association studies disclose an oligo-genetic mode of inheritance, and three single nucleotide polymorphisms (SNPs) in combination appear to explain most, but not all DCM cases in IW from continental Europe and the United Kingdom (Distl et al. , 2007; Philipp et al. , 2012; Simpson et al. , 2016). Atrial fibrillation (AF) is a common comorbidity in IW (Brownlie and Cobb, 1999; Vollmar, 2000).

Other diseases commonly reported in IW may adversely affect life expectancy, including osteogenic sarcoma, gastric dilation volvulus, intrahepatic portosystemic shunts, rhinitis-bronchopneumonia syndrome, and epilepsy (Clercx et al. , 2003; Urfer et al. , 2007; Egenvall et al. , 2005; Fleming et al. , 2011, Brungs et al. , 2018).

Echocardiographic and electrocardiographic (ECG) screening have been advocated in breeds with familial DCM to permit detection of preclinical DCM and remove affected dogs from breeding programs. In addition, early detection provides the opportunity to initiate medical therapy, which may prolong symptom-free survival (O'Grady et al., 2009; Summerfield et al, 2012; Stephenson et al., 2012; Vollmar and Fox, 2016; Wess et al., 2017). Despite the high prevalence of DCM reported in IW, little is known about its natural history and outcome.

The purpose of this study was to investigate overall survival and causes of death in IW with preclinical DCM and either sinus rhythm (SR) or AF, and in IW with DCM and congestive heart failure (CHF). In addition, this study recorded and characterized the clinical findings of DCM in these dogs over time.

4.3. Methods

Study population

The dogs were examined at veterinary clinics in Bonn and Wissen, Germany, and during heart screening examinations in Belgium and the Netherlands, and all were owned by clients. Each client provided informed consent for diagnostic testing and medical management.

Medical records were reviewed for all IW (N = 1591; 741 males, 850 females) that had heart examinations performed between January 1995 and August 2016. For the present study, all DCM cases were included that had follow-up until death or study termination. Follow-up was performed at three to twelvemonth intervals, and in addition dogs were reexamined whenever clinical signs developed that suggested CHF. Dogs with AF without evidence of DCM at initial examination (normal ventricular size and function) were excluded from the study, as were dogs with primary valvular heart disease or congenital cardiac defects. The geographic origin of the 151 dogs included was Germany (n=65), The Netherlands (n=43), Belgium (n=38), and one dog each from Bosnia, Denmark, England, Ireland, and Russia.

Cardiovascular examination

A focused cardiovascular physical examination was performed at each time point, including a 3 minute, six-lead ECG recorded in right lateral recumbency and a two-dimensional and M-Mode echocardiographic examination performed by one cardiologist (AV). Standard images were acquired from dogs minimally restrained in a standing position, without the use of sedation. Values for each parameter were determined by averaging measurements made from four to six cardiac cycles in dogs with SR, and from ten cardiac cycles in dogs with AF. Average heart rate (HR) during the echocardiographic examination was recorded from simultaneous ECG recordings. From right parasternal long axis 4 chamber images, two-dimensional maximal diameter measurements of both atria (during ventricular systole) were made parallel to each atrioventricular valve, as well as diastolic measurement of the right ventricular diameter below the tricuspid valve (Vollmar, 1999a). Valvular structure and competency were evaluated subjectively by color flow Doppler. Diagnosis of DCM was based on a scoring system used by all veterinary heart panelists in Germany and some neighbouring countries that considers published breed specific reference values for echocardiography (left ventricular systolic dimension >41mm, left ventricular diastolic internal dimension >60mm, shortening fraction <25%, left atrial systolic diameter >56mm, right ventricular dimension >35mm), and the presence of atrial fibrillation or other arrhythmias from ECG recordings, in addition (Vollmar, 1999a; Vollmar, 1999b; Dukes-McEwan et al. , 2003). Dogs with preclinical DCM had no clinical symptoms from history or physical examination findings and no echocardiographic evidence of pleural or pericardial effusion. When mitral or tricuspid regurgitation developed in dogs with DCM, the severity was graded semi-quantitatively by comparing the color-Doppler regurgitation flow area

relative to the area of the atrium, designating mild <20%, moderate 20%-50%, and severe >50% regurgitation (Reimann et al. , 2014; Reimann et al. , 2017). In dogs whose history and examination findings suggested CHF, a right lateral radiograph was evaluated for presence of CHF. Based on the initial cardiac evaluation, IW were classified into 3 groups (dogs with preclinical DCM in sinus rhythm [PC-DCM-SR]; dogs with preclinical DCM in AF [PC-DCM-AF], and dogs with CHF, DCM, and AF [CHF-DCM-AF]).

Treatment

Treatment was optimized and recorded on a case by case basis in collaboration with the owner and referring veterinarian by the attending cardiologist (AV), without any attempt to standardize group treatments (Table 1). Dogs with moderate or severe pleural effusion received thoracocentesis. In dogs with AF and tachycardia, HR control was sought using methyldigoxin with verapamil (until 2002), thereafter, with methyldigoxin and diltiazem. Optimal HR control was defined as resting HR less than 140 beats per minute in the examination room or less than 100 bpm at home. Sotalol was administered when ventricular arrhythmias were subjectively judged to pose an electrical or hemodynamic risk.

Classification of death

Deaths were classified as cardiac (CD) or non-cardiac (non-CD). The cause of death was judged by the attending veterinarian and by personal communication with owners. Post-mortem examinations were performed at Utrecht University or Ghent University in 19 dogs. Cardiac deaths were sub-classified as either sudden cardiac death (SCD) or resulting from CHF. Death was defined as SCD when death was sudden and instantaneous as the result of an unexpected collapse without evidence of dyspnea; or when death occurred during sleep and dogs had been seen healthy within eight hours before death, in absence of history or known indication of other disease or condition likely to cause acute death.

Statistical methods

Normality testing for continuous data consisted of visual inspection of probability plots and the Shapiro-Wilk test. Baseline descriptive statistics were reported as mean and standard deviation for normally distributed variables, as median and interquartile range (IQR) for non-normally distributed variables. A P value of < 0.05 was considered statistically significant. Each death was attributed to one cause exclusively. Differences in the frequencies of death between groups were identified by Chi-Square test. Comparisons of median age at

diagnosis, at death, and survival were performed by Mann-Whitney-U-Test. Bonferroni-correction for multiple comparisons was used. Non-cardiac causes of death are competing risks whose occurrence precludes the occurrence of the primary event of interest (CD in a population with heart disease). Because many IW with DCM die from non-CD, we used the cumulative incidence function (CIF) recommended by Austin et al. (2016), and Oyama et al. (2018) in addition to Kaplan Meier survival analysis to evaluate survival times. The probability of death over time was calculated by CIF for the three DCM groups from the time of diagnosis (day 0, when all dogs were alive), to the event (SCD, death from CHF, and non-CD). The cause-specific hazard model was used to estimate hazard ratios (HR) for SCD, death from CHF, and non-CD. Cox regression method was used to investigate other influences on survival. The differences in mean heart rate of the DCM dogs before and after treatment were analyzed by Levene's-test, with Dunnett's T3 for pairwise comparisons. The statistical analyses were performed using SPSS (IBM), and R and RStudio (Institute for Statistics and Mathematics, Wirtschaftsuniversität Vienna, Austria) statistical software.

4.4. Results

One-hundred fifty-one IW (95 male and 56 female) with DCM met inclusion criteria.

Group characteristics

The initial diagnosis was CHF-DCM-AF in 29 dogs (18m; 11f), PC-DCM-AF in 87 dogs (55m; 32 f), and PC-DCM-SR in 35 dogs (22 m; 13 f). Mean body weight did not differ significantly ($P=0.216$) between these groups (66.5 ± 10.5 kg (CHF-DCM-AF), 70.2 ± 10.1 kg (PC-DCM-AF), and 67.4 ± 13.2 kg (PC-DCM-SR)). Age at diagnosis also did not differ significantly between groups (Tables 2 and 3).

Heart rate and ECG abnormalities (table 4)

Initial heart rate of dogs with PC-DCM-AF or CHF-DCM-AF was significantly higher (147.7 ± 37.2 bpm and 181.3 ± 37.4 bpm, respectively) than that of DCM-SR dogs (119.2 ± 26.0 ; both $P<0.001$), but decreased significantly with medical treatment (at first reexamination: PC-DCM-AF, 130.1 ± 31.8 bpm; CHF-DCM-AF, 145.7 ± 18.6 bpm, respectively) compared to baseline ($P<0.001$).

Clinical characteristics

CHF-DCM-AF group (n=29)

Pleural effusion was present in all dogs (mild in 17, moderate in seven, severe in five dogs). In 12 dogs, 2.8 to 7 liters of chylous fluid was removed by thoracocentesis. Of these, three dogs required repeated thoracocentesis at 10 to 15-week intervals. Other signs of CHF were mild pericardial effusion in 20 dogs, and ascites in 2 dogs. No dog had isolated pulmonary edema as a manifestation of CHF.

PC-DCM-AF group (n=87)

Twenty-eight PC-DCM-AF dogs developed CHF after their initial assessment and inclusion into the study (after median 838 days; IQR, 419-1072 days). CHF was characterized by pleural effusion (N= 21) and/or mild pericardial effusion (N= 22). Of these, 11 dogs also had radiographic findings consistent with mild pulmonary oedema associated with development of mitral regurgitation over time. Out of the 28 dogs that developed CHF, death was associated with CHF in 18, while two dogs died from SCD and eight from non-CD. During preclinical DCM 17 IW died from SCD and 32 from non-CD.

PC-DCM-SR group (n=35)

Eight of 35 dogs (22.9%) with PC-DCM-SR developed AF over the period of the study (after median 332 days; IQR, 249-416 days), and 9/35 (25.7%) developed CHF, predominantly characterized by pleural effusion (N=4), pericardial effusion (N=3), or both (N= 2), (after median, 663 (IQR, 294-1136) days). Six out of 35 dogs in this group died from SCD, four were euthanized due to CHF, and 19 died from non-CD (Table 5).

Survival analysis

The cause of death was judged cardiac in 73/151 (48.3%), and non-cardiac in 62/151 dogs (41%). Sixteen dogs (10.6%) were alive at the end of the study. (Tables 5 and 6).

The median survival of the CHF-DCM-AF group was 7.3 months, with a high probability of CD (Table 7, Figures 1 and 2). Hazard ratios for SCD and death from CHF were 4.17 and 25.85 compared to non-CD 0.24 (Table 8). Longest survival in the CHF-DCM-AF group was 4.3 years in a dog that ultimately died from SCD.

Median survival in the PC-DCM-AF group was 21.9 months, with cardiac deaths distributed almost equally between SCD (24.7%) and CHF (23.4%). The probability of non-

CD increased over time in long-term survivors to approximately 50% (Figures 1 and 3), although the cause-specific hazard ratios for SCD (1.69) and euthanasia due to CHF (3.18) were higher than for non-CD (1.20) (Table 8).

The comparison of cause-specific hazard ratios for SCD and death from CHF between CHF-DCM-AF and PC-DCM-AF groups was significantly different ($P = 0.027$ and $P < 0.001$).

Median survival in the PC-DCM-SR group was 29.1 months with a relatively low probability of SCD or death from CHF (20.7 and 13.8% of deaths) (Figures 1 and 4). The maximum recorded survival post diagnosis was to 7.2 years. The long survival time in this group resulted in a high probability of death from non-cardiac cause (65.5% of all deaths within group).

Comparison of Kaplan-Meier survival curves disclosed a significantly shorter survival time for the CHF-DCM-AF group than for the PC-DCM-AF group ($P = 0.004$; hazard ratio 2.07) or the PC-DCM-SR group ($P < 0.001$; hazard ratio 3.1) (Figure 1, Table 9). Survival times of both preclinical groups did not differ statistically from each other ($P = 0.092$). CHF-DCM-AF dogs died at a significantly younger age (median, 6.14 years) compared to PC-DCM-SR dogs (median, 7.2 years; $P = 0.011$) (Tables 2 and 3). Survival was significantly shorter in all three groups with increasing age at diagnosis ($P < 0.001$). Sex, presence of VPCs during cardiac examinations, and country of origin did not influence survival significantly (Table 9).

4.5. Discussion

The main purpose of our study was to evaluate long-term outcome in IW with DCM receiving contemporary therapies. The clinical presence of CHF at time of diagnosis represented a strong predictor of future CD, with a median survival of 7.3 months. In contrast, IW diagnosed with preclinical DCM survived much longer (median 21.9 months PC-DCM-AF group and 29.1 months PC-DCM-SR). Although treatments were not standardized in this study and changed significantly over time, in general, early initiation of treatment in IW with preclinical DCM may have contributed to the delayed onset of CHF and prolonged survival in the preclinical groups, as has been shown in IW and in other breeds (O'Grady et al. , 2009; Summerfield et al. , 2012; Vollmar et al. , 2016).

To improve cardiac health in the future, early genetic testing for identified SNPs associated with DCM may be used to select breeding dogs or identify IW with increased risk to develop DCM (Philipp et al., 2012; Simpson et al., 2016).

In IW with DCM, clinical signs of CHF appear to manifest predominantly as chylous pleural effusion in the absence of clinically detectible ascites, which in the authors' experience is an unusual finding in other dogs in heart failure (Vollmar, 1999b; Tidholm, 2006; Martin et al. , 2010). Pulmonary oedema was observed in some DCM dogs with chronic AF who had developed moderate to severe volume overload associated with mitral regurgitation over time. A histopathologic study of IW hearts reported myxomatous mitral valve degeneration in older IW and in particular, more severe degenerative changes were noted in IW with chronic AF and DCM (Vollmar and Aupperle, 2016). But the presence of pulmonary edema may have been underestimated in this study, since edema can be difficult to appreciate in the presence of pleural effusion.

Several studies have evaluated outcomes in dogs of different breeds affected with DCM and CHF (Tidholm and Jönsson, 1997; Tidholm 2006). In addition, many have reported associations between clinical characteristics, arrhythmias, therapies, and time course from diagnosis of DCM to development of CHF or SCD (Calvert et al. 1997; Brownlie and Cobb, 1999 Borgarelli et al. , 2006; O'Grady et al. , 2008; O'Grady et al. , 2009; Martin et al. 2010; Summerfield et al. , 2012; Vollmar and Fox, 2016). A retrospective evaluation of 367 clinical DCM cases in the United Kingdom revealed an overall significant breed effect on survival (Martin et al. , 2010). Short median survival times were reported for Great Danes (5 weeks), and Doberman pinschers (10 weeks), much longer survival in golden and Labrador retrievers

(30 to 35 weeks) and in cocker spaniels (82 weeks). The present study demonstrated a similar median survival time of 21.9 months in IW with PC-DCM-AF as reported by others for DCM in different breeds (22.4 months), and in AF cases with structural heart disease (24 months) (Menaut et al. 2005; Borgarelli et al. , 2006).

The median survival of the initially asymptomatic DCM groups was seriously impacted by the high number (48.4%) of non-CD (Tables 5 and 6, Figures 3 and 4). Leading non-cardiac causes of death in the dogs of this study as in the study by Brungs et al., (2018) were bone cancer, pneumonia, non-orthopedic neoplasia, and paraparesis. Other investigators reported in addition in IW intrahepatic portosystemic shunts, gastric dilation volvulus, and rhinitis/bronchopneumonia syndrome (Clercx et al., 2003; Urfer et al., 2007;). All IW of our studies were adult dogs while in other reports all age groups were included (Egenvall et al., 2005; Urfer et al., 2007; Fleming et al., 2011). The relative importance of causes of death may also vary between populations of different countries.

Tachycardia induced cardiomyopathy is an established phenomenon, and heart rate control in dogs with AF may affect survival (Ellis et al., 2016; Pedro et al., 2017). In the present study, heart rate reduction was achieved in the PC-DCM-AF and CHF-DCM-AF groups, however, the mean heart rate in the CHF-DCM-AF group (145.7 ± 18.6 bpm) remained higher than currently recommended (Pedro et al., 2017).

Our study has some limitations. During more than 20 years duration of the study, treatment standards for cardiac and many other life-limiting diseases changed. The effect of therapy on survival cannot be determined from this study. Dogs were included from the time of detection of DCM, which is likely to have been influenced by owner or veterinarian awareness of breed predisposition. In addition, while follow-up examinations were attempted at least semi-annually, these depended on owner compliance. The study was also limited in that in most dogs only a lateral radiograph was available to estimate the amount of pleural effusion or pulmonary edema. Details of pulmonary or other intrathoracic abnormalities could have been missed.

The cause of death was obtained from the descriptions of the event provided by the owner, or the clinical notes of veterinary practices, with only few dogs undergoing post-mortem examinations. While a clear reason for death was generally obtained from medical record and owner and veterinarian interviews, misclassifications may have occurred. Furthermore, SCD cannot often be confirmed. Finally, the heart rate of dogs with AF was not

measured by 24 hour monitoring, which would permit the best assessment (Gelzer et al., 2009; Wess et al., 2010; Pedro et al., 2017).

In conclusion, longitudinal follow-up examinations in IW with DCM suggest that a large percentage of dogs will progress to develop CHF or die from SCD, and that development of CHF represents a strong predictor of CD. But, IW with preclinical DCM on medical therapy appear to have a reasonable life expectancy of several years, such that many dogs eventually die a non-CD (Vollmar et al. 2016).

4.6. Conflict of interest

There are no conflicts of interest for any author.

4.7. Acknowledgements

Preliminary results were presented as part of an abstract at the 33rd ACVIM Forum, Indianapolis, USA, 3-6 June 2015, and at the 25th ECVIM-CA Congress, Lisbon, Portugal, 10-12 September 2015.

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors

4.8. References

- Austin, P.C., Lee, D.S., Fine, J.P., 2016. Introduction to the analysis of survival data in the presence of competing risks. *Circulation* 133, 601–609.
- Borgarelli, M., Santilli, R.A., Chiavegato, D., D'Agnolo, G., Zanatta, R., Mannelli, A., Tarducci, A., 2006. Prognostic indicators for dogs with dilated cardiomyopathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 20 (1), 104-110.
- Brownlie, S.E., Cobb, M.A., 1999. Observations on the development of congestive heart failure in Irish wolfhounds with dilated cardiomyopathy. *Journal of Small Animal Practice* 40, 371–377.
- Brungs, A., Vollmar, A., Reese, S., Poulsen Nautrup, C., 2018. Echocardiographic indices of age and gender-dependent cardiac remodeling over the adult lifespan in Irish wolfhounds. *Journal of Veterinary Cardiology*, DOI: 10.1016/j.jvc.2018.07.001
- Burkett, E.L., Hershberger, R.E., 2005. Clinical and genetic issues in familial dilated cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology* 45, 969-981.
- Calvert, C.A., Pickus, C.W., Jacobs, G.J., Brown, J., 1997. Signalment, survival, and prognostic factors in Doberman pinschers with end-stage cardiomyopathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 11, 323-326.
- Clercx, C., Reichler, I., Peeters, D., McEntee, K., German, A., Dubois, J., Schynts, E., Schaaf-Lafontaine, N., Willems, T., Jorissen, M., Day, M.J., 2003. Rhinitis/bronchopneumonia syndrome in Irish Wolfhounds. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 17, 843-849.
- Distl, O., Vollmar, A.C., Broschk, C., Hamann, H., Fox, P.R., 2007. Complex segregation analysis of dilated cardiomyopathy (DCM) in Irish Wolfhounds. *Heredity online*, Jul4, doi:10.1038/sj.hdy.6801024.
- Dukes-McEwan, J., Borgarelli, M., Tidholm, A., Vollmar, A.C., Häggström, J., 2003. Proposed guidelines for the diagnosis of canine dilated cardiomyopathy. The ESVC Taskforce for canine dilated cardiomyopathy. *Journal of Veterinary Cardiology* 5, 7-19.
- Ellis, E.R., Josephson, M.E., 2013. What about tachycardia induced cardiomyopathy? *Arrhythm Electrophysiol Rev* 2(2), 82-90.
- Egenvall, A., Bonnett, B.N., Olson, P., Hedhammar, Å., 2005. Mortality in over 350,000 insured Swedish dogs from 1995-2000: II. Breed-specific age and survival patterns and relative risk for causes of death. *Acta Veterinaria Scandinavica* 46, 121-136.
- Fleming, J.M., Creevy, K.E., Promislow, D.E.L., 2011. Mortality in North American dogs from 1984 to 2004: An investigation into age-, size-, and breed-related causes of death. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 25, 187-198.

- Ganesh, S.K., Arnett, D.K., Assimes, T.L., Basson, C.T., Chakravarti, A., Ellinor, P.T., Engler M.B., Goldmuntz, E., Herrington, D.M., Hershberger, R.E., et al. , 2013. Genetics and genomics for the prevention and treatment of cardiovascular disease: Update. A scientific statement from the American heart association. *Circulation* 128, 2813-2851.
- Gelzer, A.R., Kraus, M.S., Rishniw, M., Moise, N.S., Pariaut, R., Jesty, S.A., Hemsley, S.A., 2009. Combination therapy with digoxin and diltiazem controls ventricular rate in chronic atrial fibrillation in dogs better than digoxin or diltiazem monotherapy: a randomized crossover study in 18 dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 23(3), 499-508.
- Moretti, M., Merlo, M., Barbati, G., Di Lenarda, A., Brun, F., Pinamonti, B., Gregori, D., Mestroni, L., Sinagra, G., 2010. Prognostic impact of familial screening in dilated cardiomyopathy. *European Journal of Heart Failure* 12, 922-927.
- Martin, M.W.S., Stafford, M.J., Johnson, G., Strehlau, G., King, J.N., 2010. Canine dilated cardiomyopathy: a retrospective study of prognostic findings in 367 clinical cases. *Journal of Small Animal Practice* 51, 428-436.
- Menaut, P., Bélanger, M.C., Beauchamp, G., Ponzio, N.M., Moise, N.S., 2005. Atrial fibrillation in dogs with and without structural or functional cardiac disease: A retrospective study of 109 cases. *Journal of Veterinary Cardiology* 7, 75-83.
- O'Grady, M.R., O'Sullivan, M.L., Minors, S.L., Horne, R., 2009. Efficacy of benazepril hydrochloride to delay the progression of occult dilated cardiomyopathy in Doberman Pinschers. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 23, 977-983.
- O'Grady, M.R., Minors, S.L., O'Sullivan, M.L., Horne, R., 2008. Effect of pimobendan on case fatality rate in Doberman Pinschers with congestive heart failure caused by dilated cardiomyopathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 22(4), 897-904.
- Oyama, M.A., Shaw, P.A., Ellenberg, S.S., 2018. Considerations for analysis of time-to-event outcomes subject to competing risks in veterinary clinical studies. *Journal of Veterinary Cardiology* 20, 143-153.
- Pedro, B., Dukes-McEwan, J., Oyama, M.A., Kraus, M., Gelzer, A.R., 2017. Retrospective evaluation of the effect of heart rate on survival in dogs with AF. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 32(1), 86–92.
- Philipp, U., Vollmar, A., Thomas, A., Häggström, J., Distl, O., 2012. Multiple quantitative trait loci (QTL) are causing dilated cardiomyopathy in Irish wolfhounds. *PLoS One* 7(6):e36691.
- Reimann, M.J., Møller, J.E., Häggström, J., Markussen, B., Holen, A.E., Falk, T., Olsen, L.H., 2014. R–R interval variations influence the degree of mitral regurgitation in dogs with myxomatous mitral valve disease. *The Veterinary Journal* 199, 348–354.

- Reimann, M.J., Møller, J.E., Häggström, J., Martinussen, T., Zatrzeni, S.S.C., Svanholm, L., Nielsen L.B.M., Pedersen, H.D., Olsen, L.H. 2017. Mitral regurgitation severity and left ventricular systolic dimension predict survival in young Cavalier King Charles Spaniels. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. DOI: 10.1111/jvim.14759.
- Simpson, S., Dunning, M.D., Brownlie, S., Patel, J., Godden, M., Cobb, M., Mongan, N.P., Rutland, C.S., 2016. Multiple Genetic Associations with Irish Wolfhound Dilated Cardiomyopathy. *BioMed Research International*, ArticleID 6374082.
- Summerfield, N.J., Boswood, A., O'Grady, M.R., Gordon, S.G., Dukes McEwan, J., Ojama, M.A., Smith, S., Patteson, M., French, A.T., Culshaw, G.J., et al. , 2012. Efficacy of pimobendan in the prevention of congestive heart failure or sudden death in Doberman pinschers with preclinical dilated cardiomyopathy (the PROTECT Study). *Journal of Veterinary Internal Medicine* 26, 1337-1349.
- Stephenson, H.M., Fonfara, S., López-Alvarez, J., Cripps, P., Dukes-McEwan, J., 2012. Screening for dilated cardiomyopathy in great Danes in the United Kingdom. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 26, 1140-1147.
- Tidholm, A., Svensson, H., Sylvén, C., 1997. Survival and prognostic factors in 189 dogs with dilated cardiomyopathy. *Journal of the American Animal Hospital Association* 33, 364-368.
- Tidholm, A., Jönsson, L., 1996. Dilated cardiomyopathy in the Newfoundland: a study of 37 cases (1993-1994). *Journal of the American Animal Hospital Association* 32, 465-470.
- Tidholm, A., Jönsson, L., 1997. A retrospective study of canine dilated cardiomyopathy (189 cases). *Journal of the American Animal Hospital Association* 33, 544-550.
- Tidholm A., 2006. Survival in dogs with dilated cardiomyopathy and congestive heart failure treated with digoxin, furosemide and propranolol: A retrospective study of 62 dogs. *J Vet Cardiol* 2006; 8(1):41-47.
- Urfer, S.R., Gaillard, C., Steiger, A., 2007. Lifespan and disease predispositions in the Irish Wolfhound: A review, *Veterinary Quarterly* 29:3, 102-111.
- Vollmar, A.C., 2000. The prevalence of cardiomyopathy in the Irish wolfhound: A clinical study of 500 dogs. *Journal of the American Animal Hospital Association* 36, 125-132.
- Vollmar, A.C., Fox, P.R. 2016. Long-term Outcome of Irish Wolfhound dogs with preclinical cardiomyopathy, atrial fibrillation, or both treated with pimobendan, benazepril hydrochloride or methyl digoxin monotherapy. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 30(2), 553-559.
- Vollmar, A.C., 1999a. Echocardiographic measurements in the Irish wolfhound, reference values for the breed. *Journal of the American Animal Hospital Association* 35, 271-277.
- Vollmar, A.C., 1999b. Use of echocardiography in the diagnosis of dilated cardiomyopathy in Irish wolfhounds. *Journal of the American Animal Hospital Association* 35, 279-283.

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

Wess, G., Domenech, O., Dukes-McEwan, J., Häggström, J., Gordon, S., 2017. European Society of Veterinary Cardiology screening guidelines for dilated cardiomyopathy in Doberman pinschers. *Journal of Veterinary Cardiology* 19, 405-415.

4.9. Tables

Table 1:

Initial medical treatment in Irish wolfhounds with dilated cardiomyopathy (n = 151).

	CHF-DCM-AF ^a	PC-DCM-AF ^b	PC-DCM-SR ^c
	n= 29	n=87	n=35
Treated n=	29	86	31
ACEI ^d + metildigoxine	11	27	12
ACEI + pimobendan	10	11	3
ACEI + pimobendan + metildigoxine	8	3	
ACEI		18	5
Metildigoxine		11	2
Pimobendan		19	11
+ furosemide	29		
+ spironolactone	15		
+ diltiazem	10	8	
+ verapamil	3		
+ sotalol	2	5	3

^aCHF-DCM-AF, group with congestive heart failure, dilated cardiomyopathy and atrial fibrillation;

^bPC-DCM-AF, group with preclinical dilated cardiomyopathy and atrial fibrillation; ^cPC-DCM-SR, group with preclinical DCM and sinus rhythm; ^dACEI, angiotensin converting enzyme inhibitor

Table 2:

Median and interquartile range for age at diagnosis, age at death, and survival time of three cohorts of Irish Wolfhound dogs with dilated cardiomyopathy (n = 151).

Group		Age at diagnosis (y ^a)	Age at death (y)	Survival (d ^b)	
CHF-DCM-AF ^c (n=29)	valid	29	29	29	
	Percentiles	25	3.06	4.99	83
		50	5.47	6.14	220
		75	7.05	7.82	496
PC-DCM-AF ^d (n=87)	valid	87	77	77	
	Percentiles	25	3.21	5.89	297
		50	4.6	6.97	656
		75	5.68	8.35	1355
PC-DCM-SR ^e (n=35)	valid	35	29	29	
	Percentiles	25	3.87	6.44	361
		50	5.74	7.22	884.5
		75	6.49	9.76	1362.5

^a y, years; ^b d, days; ^c CHF-DCM-AF, group with congestive heart failure, dilated cardiomyopathy and atrial fibrillation; ^d PC-DCM-AF, group with preclinical dilated cardiomyopathy and atrial fibrillation; ^e PC-DCM-SR, group with preclinical DCM and sinus rhythm

Table 3:

Pair-wise comparisons between three cohorts of Irish Wolfhound dogs with dilated cardiomyopathy for age at diagnosis, age at death, and time from diagnosis to cardiac death (n = 151).

	Age at diagnosis (y ^a)	Age at death (y)	Survival (d ^b)
CHF-DCM-AF ^c vs PC-DCM-AF ^d	P = 0.138	P = 0.096	P < 0.001
CHF-DCM-AF vs PC-DCM-SR ^e	P = 0.984	P = 0.011	P < 0.001
PC-DCM-AF vs PC-DCM-SR	P = 0.063	P = 0.109	P = 0.057

^a y, years; ^b d, days; ^c CHF-DCM-AF, group with congestive heart failure, dilated cardiomyopathy and atrial fibrillation; ^d PC-DCM-AF, group with preclinical dilated cardiomyopathy and atrial fibrillation; ^e PC-DCM-SR, group with preclinical DCM and sinus rhythm

Table 4:

Other ECG abnormalities than AF, detected at least during one examination in Irish wolfhounds with dilated cardiomyopathy (n = 37/151).

		CHF-DCM-AF ^a	PC-DCM-AF ^b	PC-DCM-SR ^c
VPCs ^d as singles 1-10/min	n=	5	4	2
VPCs as singles 10-30/min	n=	1*	1	2
VPCs as singles >30/min	n=		1	1
VPCs with bigeminy	n=			1
VPCs, multifocal	n=	1		1*
Runs of VPCs	n=	1	3* ¹	
SVPCs ^e	n=			1
Notched or splintered QRS complexes, n=		2	5	2
RBBB ^f	n=	1	1	
LBBB ^g	n=	1		

^a CHF-DCM-AF, group with congestive heart failure, dilated cardiomyopathy and atrial fibrillation;

^b PC-DCM-AF, group with preclinical dilated cardiomyopathy and atrial fibrillation; ^c PC-DCM-SR,

group with preclinical DCM and sinus rhythm; ^d VPCs, ventricular premature depolarizations; ^e

SVPCs, supraventricular premature depolarizations; ^f RBBB, right bundle branch block; ^g LBBB, left

bundle branch block; * indicates three dogs that died from sudden cardiac death.

Table 5:

Survival status for three cohorts of Irish Wolfhound Dogs with dilated cardiomyopathy (n = 151)

		SCD ^d	CHF ^e	Non-cardiac Death	Alive
CHF-DCM-AF ^a (n=29)	n=	7	19	3	0
	% within group	24.1	65.5	10.3	0
PC-DCM-AF ^b (n=87)	n=	19	18	40	10
	% within group	21.8	20.7	46.0	11.5
PC-DCM-SR ^c (n=35)	n=	6	4	19	6
	% within group	17.1	11.4	54.3	17.4
Total (n=151)	n=	32	41	62	16
	% of all	21.2	27.2	41.1	10.6

^a CHF-DCM-AF, group with congestive heart failure, dilated cardiomyopathy and atrial fibrillation;

^b PC-DCM-AF, group with preclinical dilated cardiomyopathy and atrial fibrillation; ^c PC-DCM-SR, group with preclinical DCM and sinus rhythm; ^d SCD, sudden cardiac death; ^e CHF, congestive heart failure

Table 6:

Causes of non-cardiac death in Irish wolfhounds with dilated cardiomyopathy (n = 62/151).

		CHF-DCM-AF ^a	PC-DCM-AF ^b	PC-DCM-SR ^c
Bone cancer (euth ^d)	n=	2	7	6
Pneumonia	n=		7	3
Non orthopedic neoplasia (euth)	n=		7	1
Paraparesis (Euth)	n=		4	3
Old age, dementia, weakness (euth)	n=		3	1
Gastric torsion	n=		2	2
Renal failure (euth)	n=	1	2	
Bleeding gastric ulcer/tumor	n=		2	
Orthopedic problems (euth)	n=		2	1
CNS disease, epilepsy (euth)	n=			1
Fibrocartilagenous embolism (euth)	n=			1
Anaphylactic shock	n=		1	
Death after surgery	n=		1	
Aggression (euth)	n=		1	
Death after parturition	n=		1	

^a CHF-DCM-AF, group with congestive heart failure, dilated cardiomyopathy and atrial fibrillation;^b PC-DCM-AF, group with preclinical dilated cardiomyopathy and atrial fibrillation; ^c PC-DCM-SR, group with preclinical DCM and sinus rhythm; ^deuth, euthanasia

Table 7:

Data on survival times from diagnosis of three cohorts of Irish Wolfhound dogs with dilated cardiomyopathy that suffered cardiac death and non-cardiac death (n = 151).

Group	Percentiles	Survival time (days)		
		25%	50%	75%
CHF-DCM-AF ^a	(n=29)	83	220	496
SCD ^d	(n=7)	72.5	232	451.5
CHF ^e	(n=19)	68.5	183	468
Non-CD ^f	(n=3)	174.5	220	620.5
PC-DCM-AF ^b	(n=87)	303	656	1290
SCD	(n=19)	179	502	920
CHF	(n=18)	366.5	782	1441
Non-CD	(n=40)	406	708.5	1335
Alive	(n=10)	447	602	1039
PC-DCM-SR ^c	(n=35)	376	873	1320
SCD	(n=6)	451	892.5	883
CHF	(n=4)	327	863	1438
Non-CD	(n=19)	385	896	1366
Alive	(n=6)	461	543	1039

^a CHF-DCM-AF, group with congestive heart failure, dilated cardiomyopathy and atrial fibrillation;

^b PC-DCM-AF, group with preclinical dilated cardiomyopathy and atrial fibrillation; ^c PC-DCM-SR, group with preclinical DCM and sinus rhythm; ^d SCD, sudden cardiac death; ^e Non-CD, non-cardiac death

Table 8:

Cox-proportional cause-specific hazard ratios (HR), 95% confidence intervals (95% CI), and comparison by log-rank test for causes of death comparing Irish wolfhound dogs with dilated cardiomyopathy and atrial fibrillation with and without congestive heart failure .

<u>Initial diagnosis</u>	<u>SCD^d</u>	<u>Death due to CHF^e</u>	<u>Non-cardiac death</u>
CHF-DCM-AF ^a	4.17 (1.35-12.86)	25.85 (7.48-89.36)	0.24 (0.031-1.78)
PC-DCM-AF ^b	1.69 (0.67-4.27)	3.18 (0.93-10.84)	1.20 (0.69-2.09)
Log rank test	P = 0.027	P < 0.001	P = 0.183

^a CHF-DCM-AF, group with congestive heart failure, dilated cardiomyopathy and atrial fibrillation;

^b PC-DCM-AF, group with preclinical dilated cardiomyopathy and atrial fibrillation; ^cSCD, sudden cardiac death; ^d CHF, congestive heart failure

Table 9:

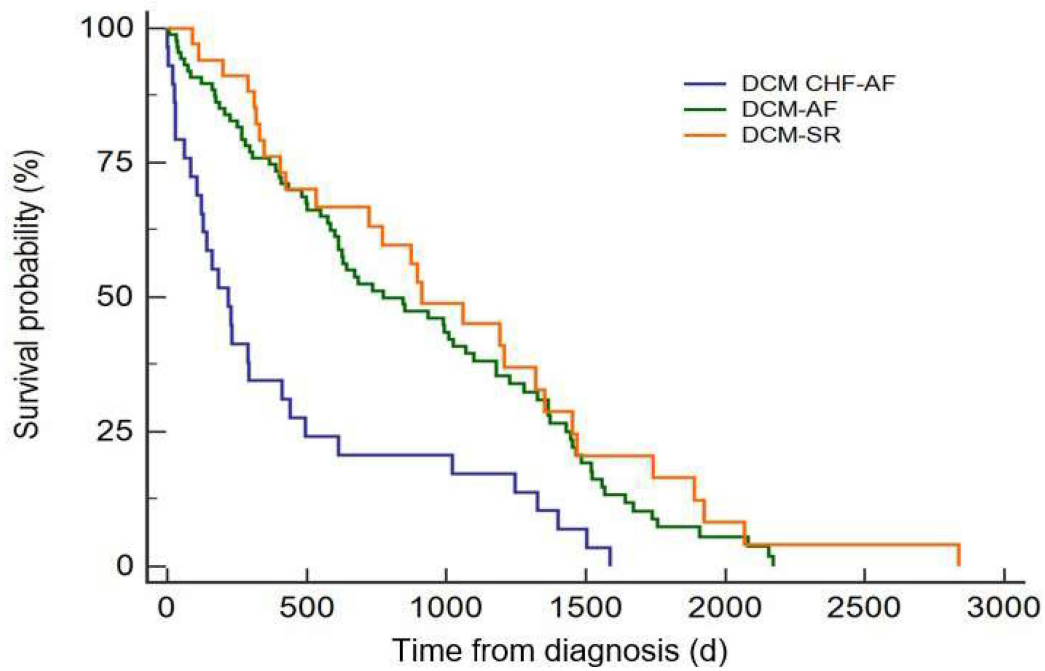
Hazard ratios (HR) and confidence intervals (CI) calculated with the Cox proportional-hazards regression method to investigate influences on survival

Covariate	Reference	Predictor	HR	CI (95%)	P-value
Age at diagnosis		1 year older	1.26	1.15-1.38	<0.001
Initial diagnosis	PC-DCM-SR ^a	CHF-DCM-AF ^b	3.10	1.68-5.74	<0.001
	PC-DCM-AF ^c	CHF-DCM-AF	2.07	1.26-3.39	0.004
	PC-DCM-SR	PC-DCM-AF	1.50	0.94-2.40	0.092
Sex	female	male	1.26	0.87-1.93	0.218
VPCs ^d	no	yes	1.13	0.66-1.94	0.648
Country of origin	Germany	The Netherlands	1.51	0.99-2.31	0.058
	Germany	Belgium	1.81	0.75-1.85	0.486
	Germany	other countries	2.06	0.77-5.53	0.153
Cause of death	non-cardiac	cardiac	1.18	0.79-1.77	0.441
	non-cardiac	CHF ^e	1.05	0.66-1.68	0.834
	non-cardiac	SCD ^f	1.36	0.85-2.19	0.203
	CHF	SCD	1.30	0.79-2.13	0.309

^a PC-DCM-SR, group with preclinical DCM and sinus rhythm; ^b CHF-DCM-AF, group with congestive heart failure, dilated cardiomyopathy and atrial fibrillation; ^c PC-DCM-AF, group with preclinical dilated cardiomyopathy and atrial fibrillation; ^d VPCs, ventricular premature contractions; ^e CHF, congestive heart failure; ^f SCD, sudden cardiac death;

4.10. Figures

Figure 1:



Kaplan-Meier survival curves for all-cause survival from diagnosis. Initial diagnosis: congestive heart failure with dilated cardiomyopathy and atrial fibrillation (DCM-CHF-AF, N=29, blue line); preclinical dilated cardiomyopathy with atrial fibrillation (DCM-AF, N=87, green line); preclinical dilated cardiomyopathy with sinus rhythms (DCM-SR, N=35, yellow line).

Figure 2:

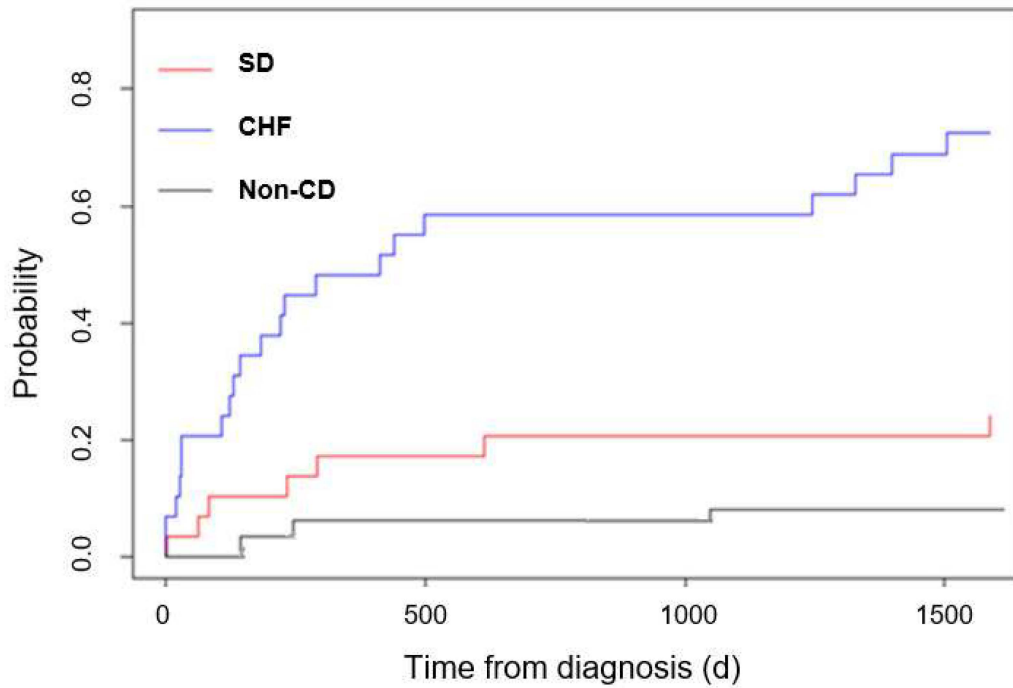


Figure 2: Cumulative incidence functions comparing survival from diagnosis for sudden cardiac death (SD, red line, N=7) versus congestive heart failure related death (CHF, blue line, N=19) versus non-cardiac cause of death (black line, N=3) in 29 IW dogs initially diagnosed with congestive heart failure, dilated cardiomyopathy and atrial fibrillation (CHF-DCM-AF group).

Figure 3:

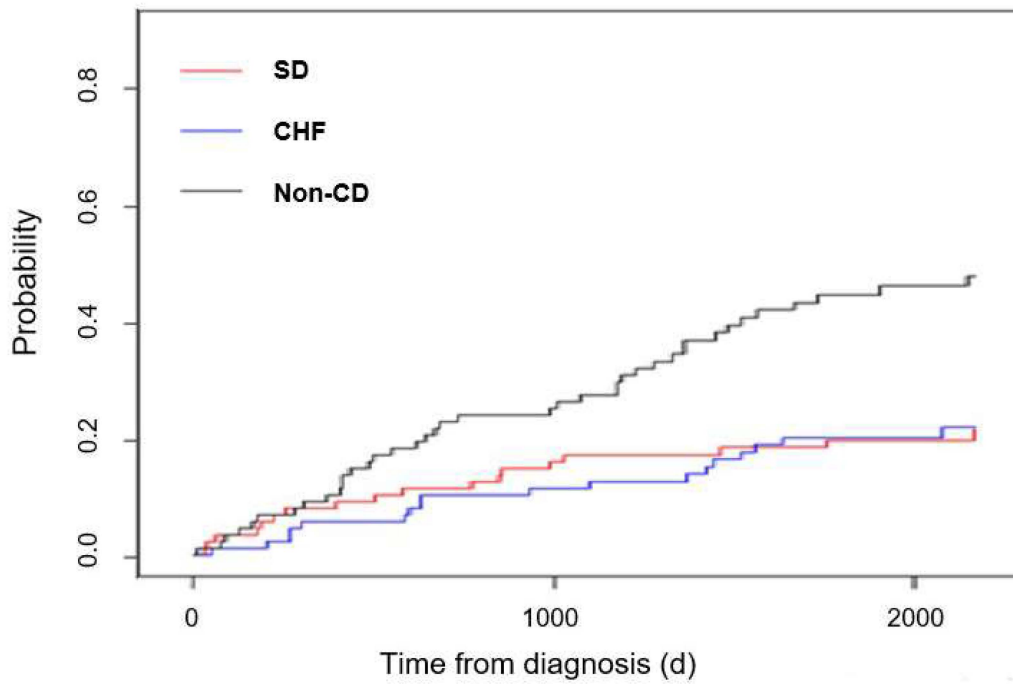


Figure 3: Cumulative incidence functions comparing survival from diagnosis for sudden cardiac death (SD, red line, N=19) versus congestive heart failure related death (CHF, blue line, N=18) versus non-cardiac cause of death (black line, N=40) in 87 IW dogs initially diagnosed with preclinical dilated cardiomyopathy and atrial fibrillation (PC-DCM-AF group).

Figure 4:

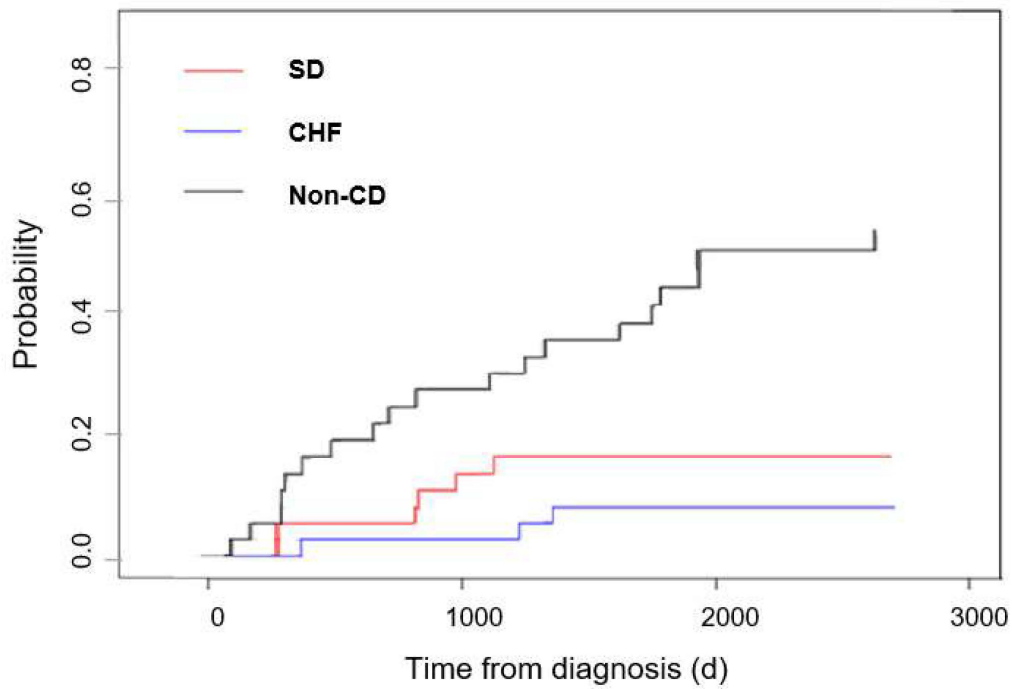


Figure 4: Cumulative incidence functions comparing survival from diagnosis for sudden cardiac death (SD, red line, N=6) versus congestive heart failure related death (CHF, blue line, N=4) versus non-cardiac cause of death (black line, N=19) in 35 IW dogs initially diagnosed with preclinical dilated cardiomyopathy and sinus rhythm (PC-DCM-SR group).

5. Diskussion

5.1. Ergebnisse

IW erkranken häufig an einer familiären DCM (Brownlie 1991; Vollmar 1996; Brownlie und Cobb 1999; Vollmar 2000; Simpson et al. 2016). Die neuesten Untersuchungen sprechen für eine oligogenetische Vererbung (Philipp et al. 2012; Simpson et al. 2016). Eine Prävalenz von 34,0% bei Rüden und 19,7% bei Hündinnen wurde beschrieben (Distl et al. 2007). Beim IW ist für die DCM eine lange subklinische Phase charakteristisch, häufig wird schon früh in dieser Phase AF entwickelt. Einige Hunde zeigen zunächst alleiniges, subklinisches AF, in der Regel mit leichter Vorhofvergrößerung und annähernd normaler Herzfrequenz, aber ohne Anzeichen einer DCM und ohne andere feststellbare Herzveränderungen. AF wurde bei IW als wichtiger Risikofaktor für die Entwicklung einer DCM beschrieben. (Brownlie 1991; Vollmar 1996; Vollmar 2000; Westling et al. 2008; Simpson et al. 2016). Verschiedene Studien zeigten, dass IW mit CHF zuvor häufig bereits AF aufwiesen (Brownlie und Cobb 1999) und dass bei IW mit DCM bei der großen Mehrheit der Hunde gleichzeitig oder bereits zuvor AF vorhanden war (Vollmar 1999b; Vollmar 2000; Simpson et al. 2016). Jedoch existieren im Schrifttum bisher kaum Angaben dazu, wie viele IW mit alleiniger AF-Diagnose später eine DCM entwickeln, wie hoch bei IW mit AF und/oder DCM die kardiale Mortalität liegt und welchen Einfluss die Herzerkrankung auf die Gesamtlebenserwartung ausübt.

In der ersten Studie dieser Arbeit wurde bei 52 IWs mit initial alleinigem Vorhofflimmern und bei 151 IW mit DCM ab dem Diagnosezeitpunkt der Krankheitsverlauf durch longitudinale Kontrolluntersuchungen verfolgt und die Überlebenszeit eines jeden Hundes mit der wahrscheinlichen Todesursache erfasst. Zum Zeitpunkt des Studienendes waren 49/52 IW mit alleinigem AF und 135/151 IW mit DCM verstorben. Von den 52 IW mit initial alleinigem AF entwickelten 50% der Hunde eine DCM, aus der klinisch herzgesunden, alters- und geschlechts- entsprechenden Kontrollgruppe von 52 IW mit Sinusrhythmus entwickelten hingegen nur 21 % eine DCM. Noch ausgeprägter war der Unterschied der beiden Gruppen im Vergleich der Todesursache: aus der AF-Gruppe starben 44,9% an einer kardialen Ursache, aus der Kontrollgruppe lediglich 10,2%.

In der zweiten Studie bei IW mit DCM, wurden zum Diagnosezeitpunkt drei Gruppen unterschieden: IW mit präklinischer DCM und Sinusrhythmus (PC-DCM-SR, n=35), IW mit präklinischer DCM und AF (PC-DCM-AF, n= 87) und IW mit kongestivem Herzversagen, DCM und AF (CHF-DCM-AF, n=29). Aus beiden Gruppen mit präklinischer DCM starb die Mehrzahl der Hunde an nicht kardialen Todesursachen (PC-DCM-AF 46%; PC-DCM-SR, 54.3%), während die meisten Hunde (89,6%) der CHF-DCM-AF Gruppe an der Herzerkrankung starb. Die Überlebenszeit war in der CHF-DCM-AF Gruppe signifikant

kürzer ($p=0,001$; 7,3 Monate) als in den beiden präklinischen DCM Gruppen (PC-DCM SR: 29,1 Monate; PC-DCM-AF: 21,9 Monate).

Sekundäre Mitralklappeninsuffizienz

Viele IW mit einer DCM, aber auch IW mit chronischem AF, entwickeln während des langen Krankheitsverlaufes sekundäre Mitralklappen- oder auch Trikuspidalklappeninsuffizienzen. In der pathohistologischen Studie von Vollmar und Aupperle (2016) wurden zwar auch bei einigen älteren IW ohne AF oder DCM geringgradige degenerative Veränderungen der AV-Klappen festgestellt, jedoch waren degenerative Veränderungen der AV-Klappen sowohl bei IW mit DCM als auch bei IW mit alleinigem chronischem AF deutlich stärker ausgeprägt. Nach Silbiger (2019) ist für die Entstehung einer sekundären, funktionellen Mitralklappeninsuffizienz bei alleinigem AF nicht nur eine zunehmende Vorhofvergrößerung mit Erweiterung des Klappenrings verantwortlich, sondern es kommen strukturelle und funktionelle Veränderungen des Ventrikels hinzu. Als Folge der Vorhofvergrößerung verlagert sich die Ebene des Mitralklappenringes nach superior und der Abstand zu den Papillarmuskeln nimmt zu, wodurch die Mitralklappensegel in den Ventrikel hineingezogen werden und die normale Konkavität der Klappensegel verloren geht. Zudem kann die normalerweise konstante Distanz zwischen Klappenring und Papillarmuskeln nicht aufrechterhalten werden, wenn bei Vorhofflimmern durch nachlassende Kontraktilität des linken Ventrikels in Längsrichtung (reduzierte globale longitudinale Strain) die Bewegung des Klappenrings herzsitzenwärts nicht mehr zeitlich an die Kontraktion der Papillarmuskeln gekoppelt ist. Hinzu kommt, dass die Kontraktion des Mitralklappenrings durch Kontraktion der Vorhofmuskulatur in der späten Diastole beim AF entfällt. Außerdem werden durch komplexe Signalkaskaden mit sogenannter endothelial-mesenchymaler Transformation bei chronischem AF Umbauvorgänge mit Verdickung der Mitralklappensegel ausgelöst (Silbiger 2019). Von den IW dieser Studie mit zunächst alleinigem AF entwickelten 26 von 52 Hunden nach median 30,8 Monaten eine dilatative Kardiomyopathie, wovon 17 Hunde auch gering- bis mittelgradige Mitralklappeninsuffizienzen aufwiesen. Inwieweit bei einigen Individuen mit mittelgradiger Mitralklappeninsuffizienz die Volumenüberladung des linken Ventrikels als Folge der Mitralklappeninsuffizienz zur Entwicklung einer Kardiomyopathie beigetragen hat, ist anhand der vorliegenden Daten nicht zu klären.

Kongestives Herzversagen

Bei den meisten Hunderassen mit CHF als Folge einer DCM ist der vorherrschende klinische Befund ein Lungenödem (Tidholm 2006; Martin et al. 2010). Hingegen beschrieb Vollmar bereits in früheren Studien, dass bei IW mit DCM ein CHF vorwiegend durch chylöse Pleuraergüsse gekennzeichnet war (Vollmar 1999b; Vollmar 2000). Auch bei den IW dieser

Studien lagen bei CHF chylöse Pleuraergüsse vor, weitere häufige Befunde waren geringgradige Perikardergüsse, selten Aszites, welches allesamt Zeichen einer Rechtsherzbeteiligung darstellen. Bei IW mit CHF-Symptomatik lag in der Regel schon viele Monate bis Jahre zuvor AF vor (Brownlie und Cobb 1999; Simpson et al. 2016). In der vorliegenden Studie betrug bei IW mit alleinigem AF die Zeit bis zur Entwicklung einer DCM median 30,8 Monate, die Mehrzahl der Hunde (19 von 26) entwickelte später auch ein CHF. Ebenso wiesen in der DCM-Studie alle IW bei denen ein CHF vorlag auch AF auf. In einer neuen Studie zeigten Ward et al. (2019), dass Hunde mit AF eine hohe Wahrscheinlichkeit zur Entwicklung eines rechtsseitigen CHF haben. Bei Hunden mit CHF als Folge einer DCM oder Mitralklappeninsuffizienz hatten von den Hunden mit AF 74% Zeichen eines rechtsseitigen CHF, von den Hunden ohne AF hingegen nur 13,5%. Die Autoren kamen zu dem Schluss, dass bei moderater Tachykardie wie unter AF üblich (Mittelwert in jener Studie: 218/min) der Druckanstieg im rechten Vorhof von besonderer klinischer Relevanz mit resultierendem rechtsseitigen CHF sein könnte. Im Gegensatz dazu stünden supraventrikuläre oder experimentelle Tachykardien mit Herzfrequenzen von 250-340/min, die typischer Weise zu einem linksseitigen CHF mit fulminantem Lungenödem führen (Ward et al. 2019).

Plötzlicher Herztod (SCD)

Bei DP mit einer DCM und bei Boxern mit ARVC gehören ventrikuläre Extrasystolen und Tachykardien zum charakteristischen Krankheitsbild dieser Kardiomyopathien und es ist bekannt, dass betroffene Hunde häufig an SCD durch ventrikuläre Tachyarrhythmie-Kammerflimmern (VT-VF) sterben. Bei DP sterben bereits 25-35% der Hunde im präklinischen Stadium der DCM durch SCD, und von den Hunden, die ein CHF entwickeln, etwa 50% (Calvert et al. 2000; O'Grady et al. 2008; O'Grady et al. 2009; Summerfield et al. 2012). Von Boxern mit ARVC wurde berichtet, dass zwischen 30 und 40% an SCD versterben (Basso et al. 2004). Auch von den IW dieser Studie starb ein signifikanter Anteil der Hunde durch SCD, insgesamt etwa 20% aus allen Krankheitsgruppen gemäß Erstdiagnose. Von den 52 IW mit alleinigem AF bei Erstdiagnose starben 20% an SCD, 3 während alleinigem AF, 7 nach Entwicklung einer DCM. Von den 151 IW mit DCM starben durch SCD aus der Gruppe mit CHF 24% (CHF-DCM-AF); aus der präklinischen DCM Gruppe mit AF (PC-DCM-AF) 22%, davon 17 Hunde während der präklinischen DCM-Phase, zwei Hunde nach späterer Entwicklung eines CHF. Bei IW mit DCM und Sinusrhythmus (PC-DCM-SR) war mit 17% die Vorkommenshäufigkeit eines SCD als Todesursache etwas geringer.

Beim Menschen stellt der plötzliche Herztod durch Herzstillstand weltweit die häufigste Todesursache dar und innerhalb der Patientengruppe mit Herzerkrankungen sterben mehr

als 50% durch SCD (Estes 2011). Viele Todesfälle durch SCD betreffen Individuen ohne zuvor bekannte Herzerkrankung. Am häufigsten sind jedoch asymptomatische Individuen mit myokardialer Ischämie oder Myokardnarben betroffen, deren Ejektionsfraktion noch relativ gut erhalten ist (Goldberger et al. 2014). Kammertachykardien, die zu Kammerflimmern führen, stellen die häufigste Ursache eines SCD dar, andere Ursachen sind pulslose elektrische Aktivität (PEA, elektromechanische Dissoziation), Asystole, extreme Bradykardien und Aortenruptur (Myerburg et al. 2013). Seitdem bei Risikopatienten zunehmend Kardio-verter/Defibrillatoren implantiert werden, hat in den letzten drei Jahrzehnten die Anzahl Todesfälle durch VT/VF proportional abgenommen, verbunden mit einem proportionalen Anstieg der Todesfälle durch PEA und Asystolie (Goldberger et al. 2014). Daten einer größeren Studienpopulation von mehr als 40000 Patienten mit implantierten Kardio-verter/Defibrillatoren ergaben als initiale Arrhythmie VT/VF in der Größenordnung von 20-25%, während bei 28% PEA als initiale Arrhythmie aufgezeichnet wurde (Goldberger et al. 2014). Die Überlebensrate ist für PEA wesentlich niedriger als für VT/VF, da es keine bekannte präventive Maßnahme gegen PEA gibt.

Nach bestem Wissen wurde bisher die fatale Arrhythmie beim IW während eines SCD nicht dokumentiert. Von den 151 IW dieser Studie mit einer DCM als initialer Diagnose wurden bei 37 dieser Hunde während mindestens einer Untersuchung andere EKG-Veränderungen als AF festgestellt, wovon 24 Hunde ventrikuläre Extrasystolen (VES) aufwiesen. Hunde mit wiederholt mehr als 10 VES pro Minute (n=6), mit VES als Bigeminus (n=1), multifokalen VES (n=2) oder paroxysmaler VT (n=4) erhielten Sotalol als Antiarrhythmikum mit EKG-Kontrollen. Nur drei dieser Hunde mit zuvor festgestellten VES starben an einem SCD: ein Hund hatte zuvor paroxysmale VT, ein Hund polymorphe VES und ein Hund war aus der Gruppe mit 10-30 VES pro Minute. Insgesamt betrachtet scheinen VES beim IW nicht eine ähnlich ungünstige Bedeutung für die Prognose zuzukommen wie bei DP, bei denen bereits eine VES im 5-Minuten-EKG mit einer Spezifität von 96,7% und einem positiv prädiktiven Wert von fast 85,6% mit mehr als 100 VES im 24- Stunden Holter EKG und der Kardiomyopathie bei dieser Rasse korreliert (Wess 2010). Beim IW sind einzelne VES kein frühes Charakteristikum der DCM, schwerwiegendere Extrasystolie-Befunde wie zahlreiche VPDs (25-50/min) und multifokale VPDs zeigen IW vor allem in fortgeschrittenen Krankheitsstadien der Kardiomyopathie als Anzeichen fortgeschrittener Myokardschäden oder einer Myokardhypoxie.

Vorhofflimmern, dilatative Kardiomyopathie und häufige Todesursachen

Die Studien im Rahmen dieser Dissertation haben gezeigt, dass etwa 50% der IW mit anfangs alleinigem AF auch unter Therapie nach median 30,8 Monaten eine DCM entwickelten. An Folgen der Herzerkrankung starben 52,5% der Hunde mit Erstdiagnose

DCM und 44,9% der Hunde mit Erstdiagnose alleiniges AF. Während Hunde mit CHF zum Zeitpunkt der Erstdiagnose nach einer medianen Überlebenszeit von nur 7,3 Monaten mehrheitlich (89,7%) an der Herzerkrankung starben, wurde die Überlebenszeit der initial asymptomatischen Hunde mit einer präklinischen DCM (PC-DCM-AF, 21,9 Monate; PC-DCM-SR, 29,1 Monate) erheblich durch den hohen Anteil (53,6%) nicht-kardialer Todesfälle reduziert. Das gleiche gilt für IW mit alleinigem AF bei Erstdiagnose: 44,9% der Hunde starben nach median 36,3 Monaten an der Herzerkrankung und 55,1% nach median 33,2 Monaten an einer nicht kardialen Ursache. Während bei frühzeitiger Diagnose und medikamentöser Behandlung bei DCM und AF eine mehrjährige Überlebensdauer bei guter Lebensqualität erreicht werden kann, wird die Lebenserwartung von IW insgesamt betrachtet durch eine Reihe schwerwiegender genetischer Erbkrankheiten und Prädispositionen erheblich reduziert (Egenvall et al. 2005; Urfer et al. 2007; Fleming et al. 2011; Vollmar und Fox 2016; Brungs et al. 2019). Außer der DCM werden für die Rasse im Schrifttum unter anderem Dispositionen für Osteosarkome, Magendrehung, intrahepatische portosystemische Shunts, Rhinitis/ Bronchopneumonie Syndrom, Epilepsie, juvenile fibrokarilarginöse Embolie genannt (Clerx et al. 2003; Egenvall et al. 2005; Urfer et al. 2007; Fleming et al. 2011; Brungs et al. 2019). In den vorliegenden Untersuchungen waren die häufigsten nicht-kardialen Todesursachen bzw. Ursachen für eine Euthanasie neben Osteosarkomen andere Tumorerkrankungen, fortschreitende Nachhand-Lähmungen, Pneumonie, Magendrehungen, orthopädische Erkrankungen, Nierenversagen, Pyometra und Magen-Darmerkrankungen. Etwa jeder 5. Hund mit DCM in allen Krankheitsstadien oder mit alleinigem AF starb jedoch an einem plötzlichen Herztod, während etwa 30% der DCM Hunde am Ende aufgrund von CHF euthanasiert werden mussten.

Die Studie von Distl et al. (2007) zeigte, dass in der untersuchten Population von 1018 IWs die DCM mit 260 betroffenen Hunden (25,5%) die häufigste schwerwiegende Erkrankung beim IW und somit ein führendes Rasseproblem darstellt. Da die Erkrankung keinem einfachen Erbgang folgt, sondern verschiedene Gene in Kombination die phänotypische Ausprägung der Herzerkrankung bewirken, ist eine einfache genetische Testung der Hunde nicht absehbar. Umso größer ist die Bedeutung, die der klinischen kardiologischen Untersuchung mittels Echokardiographie und EKG zukommt. Ob ähnlich wie beim DP zusätzliche Bestimmungen von NT-proBNP oder kardialer Troponine für die Frühdiagnostik oder für Kontrollen des Behandlungserfolges hilfreich sein könnten, müsste in weiteren Studien untersucht werden (Wess et al. 2010; Wess et al. 2011).

5.2. Limitationen

Einige Limitationen der Studien aus dieser Dissertation verdienen Beachtung. Die Hunde wurden in die Studien zum Zeitpunkt der Erstdiagnose DCM oder AF aufgenommen. Der Zeitpunkt der Erstdiagnose sowie aller Kontrolluntersuchungen wurde daher auch durch die Hundebesitzer mit beeinflusst.

Die Medikamente, die zur Behandlung der DCM und des AF eingesetzt wurden, können in verschiedener Weise den Zeitraum bis zur Entwicklung der DCM oder des CHF beeinflusst haben. Die Studien waren jedoch retrospektiv und weder dafür vorgesehen noch geeignet, den Einfluss der einzelnen Medikamente auf den Krankheitsverlauf zu beurteilen.

Eine weitere Limitation besteht darin, dass nicht bei jedem Hund bei jeder Untersuchung das Vorliegen weiterer internistischer, systemischer, ernährungsbedingter oder metabolischer Erkrankungen untersucht und ausgeschlossen werden konnte, die den Krankheitsverlauf hätte beeinflussen können. Außerdem wurde die Herzfrequenz bei IW mit AF nicht durch 24-Std-Holter EKGs kontrolliert, noch routinemäßig mit dieser Methode IW mit DCM auf andere Herzrhythmusstörungen untersucht, welches die beste Kontrollmöglichkeit dargestellt hätte (Gelzer 2009, Pedro 2018, Stephenson 2012; Wess 2017).

Ferner beruhten Angaben zur Todesursache auf den Aussagen und Schilderungen der Besitzer oder Haustierärzten, während nur wenige Hunde postmortal obduziert wurden, dadurch können Falschklassifizierungen in Einzelfällen nicht ausgeschlossen werden.

5.3. Schlussfolgerung

Die longitudinalen Verlaufsuntersuchungen der IW aus der vorliegenden Dissertation belegen, dass IW mit initial alleinigem AF häufig eine DCM und CHF entwickeln oder an plötzlichem Herztod versterben. IW im präklinischen Stadium der DCM haben unter gut eingestellter Therapie hingegen häufig eine akzeptable Lebenserwartung von mehreren Jahren bei guter Lebensqualität, mit der Konsequenz, dass ein Teil der Hunde vorzeitig an einer der anderen schweren Erkrankungen stirbt, die gehäuft bei dieser Rasse vorkommen. Doch sterben immerhin doch 30 bis 40% der Hunde mit anfangs präklinischer DCM schließlich an der Herzerkrankung, während Vorhandensein von CHF bei IW mit DCM einen Hauptrisikofaktor für einen kardialen Tod darstellt mit deutlich kürzeren Überlebenszeiten von median 7,3 Monaten. Daher sollten IW mit AF und/oder DCM regelmäßig weiter durch kardiologische Kontrolluntersuchungen überwacht und die Therapie je nach Befund optimiert werden. Um die Vorkommenshäufigkeit dieser erworbenen Herzerkrankungen langfristig zu reduzieren, sollten Zuchthunde und die Nachkommen erkrankter Tiere bis zum Alter von >8 Jahren durch regelmäßige kardiologische Untersuchungen (EKG, Echokardiographie)

kontrolliert werden. Idealerweise sollten dazu die Zuchtordnungen der Vereine im Hinblick auf die kardiologische Untersuchung zur Zuchtzulassung international vereinheitlicht und konsequent umgesetzt werden. Für den Fall, dass in der Zukunft geeignete Biomarker oder Gentests entdeckt werden, die das Screening einfacher, beziehungsweise kosteneffektiver gestalten, sind die Programme entsprechend anzupassen.

6. Zusammenfassung

Causes of death in Irish Wolfhounds with atrial fibrillation and/or dilated cardiomyopathy

Vorhofflimmern

Ziel dieser Studie war, bei Irischen Wolfshunden (IW) mit subklinischem Vorhofflimmern (AF) die Häufigkeit einer späteren Entwicklung einer dilatativen Kardiomyopathie (DCM) aufzuzeigen, sowie die Lebenserwartung mit dem Anteil kardialer Todesursachen zu untersuchen. Daten von 1552 IW wurden retrospektiv ausgewertet und 52 Hunde mit subklinischem Vorhofflimmern ohne Anzeichen einer DCM oder anderer Herzerkrankungen identifiziert, von denen Nachfolgeuntersuchungs-ergebnisse bis ins hohe Lebensalter beziehungsweise bis zum Tod vorhanden waren. Deren kardiale- und Gesamtmortalität wurde mit einer zum Ausgangsdiagnosezeitpunkt klinisch herzgesunden, alters- und geschlechts-entsprechenden Kontrollgruppe von 52 IW im Sinusrhythmus verglichen, die in demselben Jahr untersucht worden waren. Die Zeitdauer vom Diagnosezeitpunkt AF bis zur Entwicklung einer DCM wurde ermittelt. Zur Evaluation der Überlebenszeit wurden „Cumulative Incidence“ Funktionen erstellt. Von 52 IW mit AF entwickelten 26 Hunde nach median 30,8 Monaten eine DCM. In der Kontrollgruppe entwickelten signifikant weniger Hunde eine DCM (11/52 Hunden; $p=0,004$). Zum Studienende waren aus beiden Gruppen 49/52 Hunden gestorben und jeweils 3 lebten noch. In der Gruppe der IW mit AF war bei 22/49 (44,9%) Hunden ein kardialer Grund die Todesursache (12 Euthanasie wegen CHF, 10 plötzlicher Herztod), während 27 Hunde an einer nicht kardialen Todesursache verstarben. Hingegen starben aus der Kontrollgruppe lediglich 5/49 IW an einer kardialen Ursache (10,2%; 3 CHF, 2 plötzlicher Herztod; $p=0,001$). Die relative Chance (odd-ratio mit 95% CI) für Hunde mit AF eine DCM zu entwickeln, war 3,7x höher im Vergleich zur Kontrollgruppe. Im Bezug auf den kardial bedingten Tod, betrug das Chancenverhältnis 7,2:1. Die mediane Gesamt-Überlebenszeit für IW mit AF (CD, 36,3 Monate, nicht kardialer Tod 33,2 Monate) unterschied sich nicht signifikant von der der Kontrollgruppe (kardial bedingter Tod 28,6 Monate, $p=0,377$, nicht kardialer Tod 45,3 Monate, $p=0,631$).

Schlussfolgerung: IW mit subklinischem AF entwickeln häufig eine DCM und sterben an einer kardialen Ursache. Jedoch zeigt die Rasse Prädispositionen zu mehreren

anderen schwerwiegenden Erkrankungen, so dass auch viele Hunde relativ jung an nicht kardialen Ursachen sterben.

Dilatative Kardiomyopathie

Die dilatative Kardiomyopathie (DCM) ist eine wichtige Ursache der Sterblichkeit beim Irischen Wolfshund (IW). Bei dieser Rasse gibt es zudem Prädispositionen für mehrere neoplastische, internistische und orthopädische Erkrankungen, die die Lebenserwartung verkürzen. Ziel dieser Studie war es, die Überlebenszeit und Todesursachen bei IW mit DCM zu untersuchen. Desweiteren sollten die klinischen Charakteristika der Erkrankung im Zeitverlauf untersucht werden.

Die Daten von 1591 IW, die kardiologisch einschließlich Echokardiographie und Elektrokardiographie untersucht worden waren, wurden retrospektiv ausgewertet. In die Studie inkludiert wurden 151 IW mit DCM (95 Rüden und 56 Hündinnen) unter kardialer Therapie, von denen Langzeitkontrolluntersuchungsdaten vorlagen. Zum Zeitpunkt der Diagnosestellung wurden drei Gruppen unterschieden: Präklinische DCM mit Sinusrhythmus (PC-DCM-SR, n= 35), präklinische DCM mit AF (PC-DCM-AF, n=87) und IW im kongestiven Herzversagen mit DCM und AF (CHF-DCM-AF, n=29). Die Überlebenszeiten wurden mittels Cumulative Incidence Funktion, Kaplan-Meier und Cox Regression analysiert.

Das Herzversagen (CHF) trat dominierend in Form von chylösen Thoraxergüssen und geringgradigen Perikardergüssen in Erscheinung. Ein kardial bedingter Tod (CD) war bei 73/151 Hunden die Todesursache, während 62/151 IW an einer nicht-kardialen Ursache starben (non-CD); 16 Hunde lebten noch bei Studienende. In den beiden präklinischen Gruppen starb der Großteil der Tiere aus einem nicht-kardial bedingten Grund (PC-DCM-AF = 46% non-CD, 42,5% CD; PC-DCM-SR = 54,3% non-CD, 28.5% CD). In der CHF-DCM-AF-Gruppe starb hingegen die Mehrzahl der Hunde (89,6%) an der Herzerkrankung. Die mediane Überlebenszeit der CHF-DCM-AF- Gruppe betrug 7,3 Monate und war damit signifikant kürzer als in der PC-DCM-AF- Gruppe (21,9 Monate) und der PC-DCM-SR-Gruppe (29,1 Monate, p=0,001).

Schlussfolgerung: CHF-DCM-AF ist bei IW mit einer verkürzten Lebenserwartung und kardial bedingtem Tod assoziiert, während die Mehrheit der Hunde im präklinischen Stadium der DCM aus nicht-kardialen Ursachen stirbt, da die Rasse auch von familiären Dispositionen zu anderen schwerwiegenden Erkrankungen häufig betroffen ist.

7. Summary

Causes of death in Irish Wolfhounds with atrial fibrillation and/or dilated cardiomyopathy

Atrial fibrillation

The objective of the study was to evaluate the frequency of dilated cardiomyopathy (DCM) and cardiac death (CD) in Irish Wolfhounds (IW) with subclinical atrial fibrillation (AF). Cardiac and all-cause mortality was compared to a contemporaneous control group of apparently healthy IW with sinus rhythm.

Included were 52 IW with AF, but without echocardiographic evidence of DCM or other cardiac disease, and an age- and gender- matched control cohort of 52 apparently healthy IW. Data from 1552 IW were retrospectively evaluated. Fifty-two dogs with subclinical AF were compared to 52 IW controls. Time from initial diagnosis to development of DCM was recorded, and survival data were analyzed using cumulative incidence functions. Twenty-six out of 52 AF dogs developed DCM. At the end of the study, in the AF and control group each, 49/52 AF dogs had died, 3 were still alive. Death in the AF cohort was attributed to CD in 22/49 dogs (12 CHF, 10 sudden cardiac deaths, SCD), while 27 dogs died from non-CD. In the control group significantly fewer dogs developed DCM (11/52 dogs, $p=0.004$), even fewer died from CD (5/49; 3 CHF, 2 SCD; $p=0.001$). The odd-ratios (95% CI) for dogs with AF versus controls to develop DCM was 3.7 (1.6, 8.8) and to die from CD was 7.2 (2.4, 21.2). Median all-cause survival for AF IWs (CD, 36.3 months; non-CD, 33.2 months) did not differ significantly from the control group (CD, 28.6 months, $p=0.377$; non-CD, 45.3 months, $p=0.631$).

In conclusion, IW with subclinical AF commonly develop DCM and die from cardiac death, however life expectancy of IW is significantly shortened by a number of other than cardiac disease predispositions causing death in relatively young dogs.

Dilated cardiomyopathy

Dilated cardiomyopathy (DCM) is an important cause of morbidity in Irish Wolfhounds (IW), a breed also predisposed to neoplastic, medical and orthopaedic diseases that shorten life expectancy. The objective of this study was to investigate survival and causes of death in IW with DCM and to characterize the clinical findings of DCM over time. Data from cardiovascular examinations performed in 1591 IW, including echocardiography and electrocardiography, were retrospectively evaluated. One-hundred-and-fifty-one IW with DCM (95males, 56 females) on medical therapy with long term longitudinal follow-up were included in this study. Based on their clinical status at initial diagnosis, IW were classified into 1 of 3 groups: preclinical DCM with sinus rhythm (PC-DCM-SR, $n= 35$), preclinical DCM with

atrial fibrillation (PC-DCM-AF, n=87), and congestive heart failure with DCM and AF (CHF-DCM-AF, n=29). Survival data were analyzed using cumulative incidence functions, Kaplan-Meier and Cox regression.

CHF was predominantly characterized by chylous pleural and mild pericardial effusions. Causes of death were cardiac (CD) in 73/151 and non-cardiac (non-CD) in 62/151; 16 dogs remained alive at study end. The majority of deaths in both preclinical DCM groups were non-CD (PC-DCM-AF = 46% non-CD, 42.5% CD; PC-DCM-SR, 54.3% non-CD, 28.5% CD). In the CHF-DCM-AF group most dogs (89.6%) experienced a CD. Median survival of the CHF-DCM-AF group (7.3 months) was significantly shorter than in the PC-DCM-AF group (21.9 months) or PC-DCM-SR group (29.1 months, $P=0.001$).

In conclusion CHF-DCM-AF in IW is associated with reduced life expectancy and CD, while most IW with preclinical DCM die from non-cardiac causes due to predispositions of the breed to other severe diseases causing death in relatively young dogs.

8. Literaturverzeichnis

1. Aldhoon B, Melenovský V, Peichl P, Kautzner J. New Insights into mechanisms of atrial fibrillation. *Physiol Res* 2010;59:1-12.
2. Amit G, Kikuchi K, Greener ID, Yang L, Novack V, Donahue JK. Selective potassium channel blockade prevents atrial fibrillation. *Circulation* 2010;121:2263-70.
3. Arora R. Recent insights into the role of the autonomic nervous system in the creation of substrate for atrial fibrillation – implications for therapies targeting the atrial autonomic nervous system. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2012;5(4):850-9.
4. Aupperle H, März I, Baldauf K, Roggon N, Kresken JG: Pathology of DCM in Great Danes. *J Vet Int Med* 2014;28:730.
5. Basso C, Fox PR, Meurs KM, Towbin JA, Spier AW, Calabrese F, Maron BJ, Thiene G. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy causing sudden cardiac death in Boxer dogs. A new animal model of human disease. *Circulation* 2004;109(9):1180-5.
6. Bavegems V, Duchateau L, Sys SU, De Rick A. Echocardiographic reference values in whippets. *Vet Radiol Ultrasound* 2007;48:230-8.
7. Borgarelli M¹, Santilli RA, Chiavegato D, D'Agnolo G, Zanatta R, Mannelli A, Tarducci A. Prognostic indicators for dogs with dilated cardiomyopathy. *J Vet Intern Med.* 2006; 20(1):104-10.
8. Brownlie SE: An electrocardiographic survey of cardiac rhythm in Irish wolfhounds. *Vet Rec* 1991;129:470-71.
9. Brownlie SE, Cobb MA: Observations on the development of congestive heart failure in Irish Wolfhounds with dilated cardiomyopathy. *Journal of Small Animal Practice* 1999;40:371-7.
10. Brungs, A., Vollmar, A., Reese, S., Poulsen Nautrup, C. Echocardiographic indices of age and gender-dependent cardiac remodeling over the adult lifespan in Irish wolfhounds. *J Vet Cardiol* 2019;20:307-18.
11. Brundel BJ, Melnyk P, Rivard L, Nattel S. The pathology of atrial fibrillation in dogs. *J Vet Cardiol* 2005;7:121-9.
12. Burkett EL, Hershberger RE. Clinical and genetic issues in familial dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2005;45:969-81.
13. Calvert CA, Hall G, Jacobs G, Pickus C. Clinical and pathologic findings in Doberman pinschers with occult cardiomyopathy that died or developed congestive heart failure: 54 cases (1984-1991). *J Am Vet Med Assoc* 1997a;210:505-11.
14. Calvert CA, Pickus CW, Jacobs GJ, Brown J. Signalment, survival, and prognostic factors in Doberman pinschers with end-stage cardiomyopathy. *J Vet Intern Med* 1997;11(6):323-26.

15. Calvert C, Jacobs G, Smith D, Rathburn S, Pickus C. Association between results of ambulatory electrocardiography and development of cardiomyopathy during long-term follow-up of Doberman pinschers. *J Am Vet Med Assoc* 2000;216:34-9.
16. Calvert AC, Brown J. Influence of antiarrhythmia therapy on survival times of 19 clinically healthy Doberman pinschers with dilated cardiomyopathy that experienced syncope, ventricular tachycardia, and sudden death (1985-1998). *J Am Anim Hosp Assoc* 2004;40:24-8.
17. Carlsson J, Miketic S, Windeler J, Cuneo A, Haun S, Micus S, Walter S, Tebbe U; STAF Investigators. Randomized trial of rate-control versus rhythm-control in persistent atrial fibrillation: the Strategies of Treatment of Atrial Fibrillation (STAF) study. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:1690-6.
18. Cattanach BM, Dukes-McEwan J, Wotton PR, Stephenson HM, Hamilton RM. A pedigree-based genetic appraisal of boxer ARVC and the role of the Striatin mutation. *Vet record* 2015;176:492.
19. Chao T-F, Liu C-J, Tuan T-C, Chen S-J, Wang K-L, Lin Y-J, Chang S-L, Lo L-W, Hu, Y-F, Chen T-J, Chiang C-E, Chen S-A. Rate-control treatment and mortality in atrial fibrillation. *Circulation* 2015;132:1604-12.
20. Chugh SS, Havmoeller R, Narayanan K, Singh D, Rienstra M, Benjamin EJ, Gillum RF, Kim YH, McAnulty JH Jr, Zheng ZJ, Forouzanfar MH, Naghavi M, Mensah GA, Ezzati M, Murray CJ. Worldwide epidemiology of atrial fibrillation: a Global Burden of Disease 2010 Study. *Circulation* 2014;129:837-47.
21. Clerx C, Reichler I, Peeters D, McEntee K, German A, Dubois J, Schynts E, Schaaf-Lafontaine N, Willems T, Jorissen M, Day MJ. Rhinitis/bronchopneumonia syndrome in Irish Wolfhounds. *J Vet Int Med* 2003;17:843-9.
22. Corrado D, Basso C, Pilichou K, Thiene G. Molecular biology and clinical management of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia. *Heart* 2011;97(7):530-9.
23. Cunningham SM, Rush JE, Freeman LM, Brown DJ, Smith CE. Echocardiographic ratio indices in overtly healthy Boxer dogs screened for heart disease. *J Vet Intern Med* 2008;22:924-30.
24. Dal Ferro M, Stolfo D, Altinier A, Gigli M, Perrieri M, Ramani F, Barbati G, Pivetta A, Brun F, Monserrat L, Giacca M, Mestroni L, Merlo M, Sinagra G. Association between mutation status and left ventricular reverse remodelling in dilated cardiomyopathy. *Heart* 2017;103(21):1704-10.
25. Dambach DM, Lannon A, Sleeper M, Buchanan J: Familial dilated cardiomyopathy of young Portuguese water dogs. *J Vet Int Med* 1999;13:65-71.
26. Della Torre PK, Kirby AC, Church GB, Malik R. Echocardiographic measurements in greyhounds, whippets and Italian greyhounds-dogs with a similar conformation but different size. *Aust Vet J* 2000;78:49-55.

27. Distl O , Vollmar AC , Broschk C, Hamann H, Fox PR. Complex segregation analysis of dilated cardiomyopathy (DCM) in Irish Wolfhounds. *Heredity* online pub 2007, Jul4, doi:10.1038/sj.hdy.6801024.
28. Dukes-McEwan J, Jackson IJ. The promises and problems of linkage analysis by using the current canine genome map. *Genome* 2002;13:667-72.
29. Dukes-McEwan J, Borgarelli M, Tidholm A, Vollmar AC, Häggström J. Proposed guidelines for the diagnosis of canine dilated cardiomyopathy. The ESVC Taskforce for canine dilated cardiomyopathy. *J Vet Cardiol* 2003;5:7-19.
30. Dukes-McEwan J, Stephenson H, Wotton PR, Cattanach BM. Cardiomyopathy in boxer dogs. *Vet Times* 2010;40:6-9.
31. Egenvall A, Bonnett BN, Olson P, Hedhammar Å: Mortality in over 350,000 insured Swedish dogs from 1995-2000: II. Breed-specific age and survival patterns and relative risk for causes of death. *Acta vet scand* 2005;46:121-36.
32. Egenvall A, Bonnett BN, Häggström J: Heart disease as a cause of death in insured Swedish dogs younger than 10 years of age. *J Vet Int Med* 2006;20:894–903.
33. Ehrlich JR, Nattel S, Hohnloser SH. Atrial fibrillation and congestive heart failure: specific considerations at the intersection of two common and important cardiac disease sets. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2002;13(4):399–405.
34. Elliott P, O'Mahony C, Syrris P, Evans A, Rivera Sorensen C, Sheppard MN, Carr-White G, Pantazis A, McKenna WJ. Prevalence of desmosomal protein gene mutations in patients with dilated cardiomyopathy. *Circ Cardiovasc Genet* 2010;3(4):314–22.
35. Estes M. Predicting and preventing sudden cardiac death. *Circulation* 2011;124:651-6.
36. Everett RM, McGann J, Wimberley C, Althoff J. Dilated cardiomyopathy of Doberman Pinschers: retrospective histomorphological evaluation of hearts from 32 cases. *Vet Pathol* 1999;36:221-7.
37. Fatkin D, Otway R, Vandenberg JI. Genes and atrial fibrillation. *Circulation* 2007;116:782-92.
38. Fleming JM, Creevy Ke, Promislow DEL. Mortality in North American dogs from 1984 to 2004: An investigation into age-, size-, and breed-related causes of death. *J vet Int Med* 2011;25:187-98.
39. Fousse SL, Tyrrell WD, Dentino ME, Abrams FL, Rosenthal SL, Stern JA. Pedigree analysis of atrial fibrillation in Irish Wolfhounds supports a high heritability with a dominant mode of inheritance. *Canine Genetics and Epidemiology* 2019;6:11. <https://doi.org/10.1186/s40575-019-0079-y>
40. Fuentes VL, Corcoran B, French A, Schober KE, Kleemann R, Justus C. A double-blind, randomized, placebo-controlled study of pimobendan in dogs with dilated cardiomyopathy. *J Vet Int Med* 2002;16:255-61.

41. Gaborit N, Steenman M, Lamirault G, Le Meur N, Le Bouter S, Lande G, Léger J, Charpentier F, Christ T, Dobrev D, Escande D, Nattel S, Demolombe S. Human atrial ion channel and transporter subunit gene-expression remodeling associated with valvular heart disease and atrial fibrillation. *Circulation* 2005;112:471-81.
42. Ganesh SK, Arnett DK, Craig T, Basson CT, Aravinda Chakravarti A, Ellinor PT, Engler MB, Goldmuntz E, Herrington DM, Hershberger RE, Hong Y, Johnson JA, Kittner SJ, McDermott DA, Meschia JF, Mestroni L, O'Donnell CJ, Bruce M, Psaty BM, Vasan RS, Ruel M, Shen W-K, Terzic A, Waldman SA. Genetics and genomics for the prevention and treatment of cardiovascular disease: update. A Scientific statement from the American heart association. *Circulation* 2013;128:2813-51.
43. Gelzer ARM, Kraus MS, Rishniw M, Moise NS, Pariaut R, Jesty SA, Hemsley SA. Combination therapy with digoxin and diltiazem controls ventricular rate in chronic atrial fibrillation in dogs better than digoxin or diltiazem monotherapy: a randomized crossover study in 18 dogs. *J Vet Int Med* 2009;23:499-508.
44. Gheorghiu M, Fonarow GC, van Veldhuisen DJ, Cleland JG, Butler J, Epstein AE, Patel K, Aban IB, Aronow WS, Anker SD, Ahmed A. Lack of evidence of increased mortality among patients with atrial fibrillation taking digoxin: findings from post hoc propensity-matched analysis of the AFFIRM trial. *Eur Heart J*. 2013;34:1489-97.
45. Goldberger JJ, Basu A, Boineau R. Risk stratification for sudden cardiac death. *Circulation* 2014;129:516-26.
46. Goette A, Oeff M. Pathophysiologie des Vorhofflimmerns. *Med Welt* 2005;56:366–69.
47. Gould PA, Yui M, McLean C, Finch S, Marshall T, Lambert GW, Kaye DM. Evidence for increased atrial sympathetic innervation in persistent human atrial fibrillation. *Pacing Clin Electrophysiol* 2006;29:821-9.
48. Haas J, Frese KS, Peil B, Kloos W, Keller A, Nietsch R, Feng Z, Muller S, Kayvanpour E, Vogel B, Sedaghat-Hamedani F, Lim WK, Zhao X, Fradkin D, Kohler D, Fischer S, Franke J, Marquart S, Barb I, Li DT, Amr A, Ehlermann P, Mereles D, Weis T, Hassel S, Kremer A, King V, Wirsz E, Isnard R, Komajda M, Serio A, Grasso M, Syrris P, Wicks E, Plagnol V, Lopes L, Gadgaard T, Eiskjaer H, Jorgensen M, Garcia-Giustiniani D, Ortiz-Genga M, Crespo-Leiro MG, Deprez RH, Christiaans I, van Rijsingen IA, Wilde AA, Waldenstrom A, Bolognesi M, Bellazzi R, Morner S, Bermejo JL, Monserrat L, Villard E, Mogensen J, Pinto YM, Charron P, Elliott P, Arbustini E, Katus HA, Meder B. Atlas of the clinical genetics of human dilated cardiomyopathy. *Eur Heart J* 2015;36:1123–1135a.
49. Hershberger RE, Hedges DJ, Morales A.: Dilated cardiomyopathy: the complexity of a diverse genetic architecture. *Nat Rev Cardiol* 2013;10:531-47.
50. Höllmer M, Willesen JL, A. T. Jensen AT, J. Koch J. Aortic stenosis in the Dogue de Bordeaux. *JSAP* 2008;49:432-7.
51. Hoffman BF, Rosen MR. Cellular mechanisms for cardiac arrhythmias. *Circ Res* 1981;49:1-13.

- 52.Hove-Madsen L, Llach A, Bayes-Genís A, Roura S, Rodriguez Font E, Arís A, Cinca J. Atrial fibrillation is associated with increased spontaneous calcium release from the sarcoplasmic reticulum in human atrial myocytes. *Circulation* 2004;110(11):1358–63.
- 53.Iwasaki Y, Nishida K, Kato T, Nattel S. Atrial fibrillation pathophysiology. *Circulation* 2011;124: 2264-74.
- 54.Jacobson JH, Boon JA, Bright JM. An echocardiographic study of healthy Border Collies with normal reference ranges for the breed. *J Vet Cardiol* 2013;15:123-30.
- 55.Jacoby D, McKenna WJ. Genetics of inherited cardiomyopathy. *Eur Heart J* 2012;33:296–304.
- 56.Janus I, Nowak M, Madej JA. Pathomorphological changes of the myocardium in canine dilated cardiomyopathy (DCM). *Bull Vet Inst Pulawy* 2015;59:135-42.
- 57.Karlsson EK, Baranowska I, Wade CM, Salmon Hillbertz NH, Zody MC, Anderson N, Biagi TM, Patterson N, Pielberg GR, Kulbokas EJ 3rd, Comstock KE, Keller ET, Mesirov JP, von Euler H, Kämpe O, Hedhammer A, Landler ES, Andersson G, Andersson L, Lindblad-Toh K. Efficient mapping of mendelian traits in dogs through genome-wide association. *Nat Genet* 2007;39:1321–8.
- 58.Kayar A, Gonul R, Or ME, Uysal A. M-mode echocardiographic parameters and indices in the normal German shepherd dog. *Vet Radiol & Ultrasound* 2006;47:482-6.
- 59.Khositseth A, Michels VV. Familial dilated cardiomyopathy: Recommended Screening and follow-up for relatives of probands with idiopathic DCM. *Cardiovasc Rev Rep.* 2004; 25(5).
- 60.Kittleson MD. Diagnosis and treatment of arrhythmias (dysrhythmias). In: Kittleson MD, Kienle RD: *Small animal cardiovascular medicine*. Mosby, St. Louis,2005a. <https://www.vin.com/doc/?id=5496442&pid=5928>
- 61.Kittleson MD. Electrocardiography: basic concepts, diagnosis of chamber enlargement, and intraventricular conduction disturbances. In: Kittleson MD, Kienle RD: *Small animal cardiovascular medicine*. Mosby, St. Louis, 2005b. <https://www.vin.com/doc/?id=5496648&pid=5928>
- 62.Lee DS, Pencina MJ, Benjamin EJ, Wang TJ, Levy D, O'Donnell CJ, Nam BH, Larson MG, D'Agostino, RB, Vasan RS. Association of parental heart failure with risk of heart failure in offspring. *N Engl J Med* 2006;355:138–47.
- 63.Liang X, Xie H, Zhu P-H, Hu J, Zhao Q, Wang C-S, Yang C. Ryanodine receptor-mediated Ca²⁺ events in atrial myocytes of patients with atrial fibrillation. *Cardiology* 2008;111(2):102–10.
- 64.Lobo L, Canada N, Bussadori C, Gomes JL, Carvalheira J. Transthoracic echocardiography in Estrela Mountain dogs: Reference values for the breed. *Vet Journal* 2008;177:250-9.

- 65.Lobo L, Carvalheira J, N. Canada N, C. Bussadori C, J. L. Gomes JL, Faustino AMR. Histologic characterization of dilated cardiomyopathy in Estrela mountain dogs. *Vet Path* 2010;47:637-642.
- 66.Lynne O'Sullivan M, O'Grady MR, Glen Pyle W, Dawson JF. Evaluation of 10 genes encoding cardiac proteins in Doberman pinschers with dilated cardiomyopathy. *Am J Vet Res* 2011;72:932–8.
- 67.Magnani JW, Rienstra M, Lin H, Sinner MF, Lubitz SA, McManus D, Dupuis J, Ellinor PT, Benjamin EJ. Atrial Fibrillation. Current knowledge and future directions and epidemiology and genomics. *Circulation* 2011;124:1982-93.
- 68.Mahon NG, Murphy RT, MacRae CA, Caforio AL, Elliott PM, and McKenna WJ. Echocardiographic evaluation in asymptomatic relatives of patients with dilated cardiomyopathy reveals preclinical disease. *Annals of Int Med* 2005;143:108–15.
- 69.Manolio TA. Genomewide association studies and assessment of the risk of disease. *The N Engl J Med* 2010;363(2):166–76.
- 70.Marijon E, Le Heuzey J-Y, Connolly S, Yang S, Pogue J, Brueckmann M, Eikelboom J, Themeles E, Ezekowitz M, Wallentin L. Causes of death and influencing factors in patients with atrial fibrillation. A competing-risk analysis from the randomized evaluation of long-term anticoagulant therapy study. *Circulation* 2013;128:2192-201.
- 71.Mariscalco G, Engström KG, Ferrarese S, Cozzi G, Bruno VD, Sessa F, Sala A. Relationship between atrial histopathology and atrial fibrillation after coronary bypass surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2006;131:1364-72.
- 72.Maron BJ, Towbin JA, Thiene G, Antzelevitch C, Corrado D, Arnett D, Moss AJ, Seidman CE, Young JB. Contemporary Definitions and Classification of the Cardiomyopathies. An American Heart Association Scientific Statement from the Council on Clinical Cardiology, Heart Failure and Transplantation Committee; Quality of Care and Outcomes Research and Functional Genomics and Translational Biology Interdisciplinary Working Groups; and Council on Epidemiology and Prevention. *Circulation* 2006;113:1807-16.
- 73.Martin MWS, Stafford Johnson MJ, Celona B. Canine dilated cardiomyopathy: a retrospective study of signalment, presentation and clinical findings in 369 cases. *J Small Anim Pract* 2009;50:23–9.
- 74.Martin MWS, Stafford MJ, Johnson G, Strehlau G, King JN. Canine dilated cardiomyopathy: a retrospective study of prognostic findings in 367 clinical cases. *J Small Anim Pract* 2010;51:428-36.
- 75.Mausberg TB, Wess G, Simak J, Keller L, Drögemüller M, Drögemüller C, Webster MT, Stephenson H, Dukes-McEwan J, Leeb T. A locus on chromosome 5 is associated with dilated cardiomyopathy in doberman pinschers. *PLoS One* 2011;6:5-10.doi: 10.1371/journal.pone.0020042.
- 76.McNally EM, Golbus JR, Puckelwartz MJ. Genetic mutations and mechanisms in dilated cardiomyopathy. *J Clin Invest* 2013;123:19–26.

77. McNally EM, Mestroni L. Dilated cardiomyopathy, genetic determinants and mechanisms. *Circulation Research* 2017;121:731-48.
78. Menaut P, Bélanger MC, Beauchamp G, Ponzio NM, Moise NS. Atrial fibrillation in dogs with and without structural or functional cardiac disease: A retrospective study of 109 cases. *J Vet Cardiol* 2005;7:75-83.
79. Merlo M, Pyxaras SA, Pinamonti B, Barbati G, Di Lenarda A, Sinagra G. Prevalence and prognostic significance of left ventricular reverse remodeling in dilated cardiomyopathy receiving tailored medical treatment. *J Am Coll Cardiol*. 2011;57(13):1468-76. doi: 10.1016/j.jacc.2010.11.030
80. Mestroni L; Rocco C, Gregori D, Sinagra G, Di Lenarda A, Miodini S, Vatta M, Pinamonti B, Muntoni F, Caforio AL, McKenna WJ, Falaschi A, Giacca M, Camerini. Familial dilated cardiomyopathy: evidence for genetic and phenotypic heterogeneity. *J Am Coll Cardiol* 1999;34:181-90.
81. Mevissen M, Kovacevic A. Pharmakologie des Herz-Kreislauf-Systems. In: Frey H-H, Löscher W (Hrsg). *Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin*. Enke, Stuttgart; 2010.pp.187-89.
82. Meurs KM, Magnon AL, Spier AW, Miller MW, Lehmkuhl LB, Towbin JA. Evaluation of the cardiac actin gene in Doberman Pinschers with dilated cardiomyopathy. *American Journal of Veterinary Research* 2001;62 (1):33–6.
83. Meurs KM, Miller MW, Wright NA. Clinical features and dilated cardiomyopathy in great Danes and results of a pedigree analysis: 17 cases (1990-2000). *J Am Vet Assoc* 2001; 218: 729-32.
84. Meurs KM, Lacombe VA, Dryburgh K, Fox PR, Reiser PR, Kittleson MD. Differential expression of the cardiac ryanodine receptor in normal and arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy canine hearts. *Human Genetics* 2006;120;111-8.
85. Meurs KM, Fox PR, Norgard M, Spier AW, Lamb A, Koplitz SL, Baumwart RD. A prospective genetic evaluation of familial dilated cardiomyopathy in the Doberman pinscher. *J Vet Int Med* 2007;21:1016–20.
86. Meurs KM, Hendrix KP, Norgard MM. Molecular evaluation of five cardiac genes in Doberman Pinschers with dilated cardiomyopathy. *Am J Vet Res* 2008;69 (8):1050-3.
87. Meurs KM, Mauceli E, Lehmers S, Acland GM, White SN, Lindblad-Toh K. Genome-wide association identifies a deletion in the 3' untranslated region of Striatin in a canine model of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Human genetics* 2010;128:315-24.
88. Meurs KM, S. Lahmers S, B.W. Keene BW, White SN, Oyama MA, Mauceli E, Lindblad-Toh K. A splice site mutation in a gene encoding for PDK4, a mitochondrial protein, is associated with the development of dilated cardiomyopathy in the Doberman pinscher. *Human Genetics* 2012;131(8):1319–25.
89. Meurs KM, Stern JA, Sisson DD, Kittleson MD, Cunningham SM, Ames MK, Atkins CE, DeFrancesco T, Hodge TE, Keene BW, Reina Doreste Y, Leuthy M, Motsinger-Reif AA,

- Tou SP. Association of dilated cardiomyopathy with the striatin mutation genotype in boxer dogs. *J Vet Int Med* 2013;27(6):1437–40.
- 90.Meurs KM, FriedenberG SG, Kolb J, Saripalli C, Tonino P, Woodruff K, Olby NJ, Keene BW, Adin DB, Yost OL, DeFrancesco TC, Lahmers S, Tou S, Shelton GD, GRanzier H. A Missense mutation in the titin gene in Doberman pinscher dogs with familial dilated cardiomyopathy and sudden cardiac death. *Hum Genet* 2019, doi:10.1007/s00439-019-01973-2.
- 91.Michels VV, Olson TM, Miller FA, Ballmann KV, Rosales AG, Driscoll DJ. Frequency of development of idiopathic dilated cardiomyopathy among relatives of patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol.* 2003;91:1389-92.
- 92.Moe GK, Rheinboldt WC, Abildskov JA. A computer model of atrial fibrillation. *Am Heart J* 1964;67:200-20.
- 93.Moise NS. Special focus: the “Fibrillating heart”. *J Vet Cardiol* 2005;7:71-2
- 94.Morales A, Hershberger RE. Genetic evaluation of dilated cardiomyopathy. *Curr Cardiol Rep* 2013;15:375.
- 95.Moretti M, Merlo M, Barbati G, Di Lenarda A, Brun F, Pinamonti B, Gregori D, Mestroni L, Sinagra G. Prognostic impact of familial screening in dilated cardiomyopathy. *Eur J Heart Fail.* 2012;12:922-7.
- 96.Mulder BA, van Veldhuisen DJ, Crijns HJ, Tijssen JG, Hillege HL, Alings M, Rienstra M, Groenveld HF, Van den Berg MP, Van Gelder IC, RACE II investigators. Lenient v. strict rate control in patients with atrial fibrillation and heart failure: a post-hoc analysis of the RACE II study. *Eur J Heart Fail* 2013;15:1311-8.
- 97.Mulder BA, Van Veldhuisen DJ, Crijns HJ, Tijssen JG, Hillege HL, Alings M, Rienstra M, Van den Berg MP, Van Gelder IC; RACE II Investigators. Digoxin in patients with permanent atrial fibrillation: data from the RACE II study. *Heart Rhythm.* 2014;11(9):1543-50.
- 98.Myerburg RJ, Halperin H, Egan DA, Boineau R, Chugh S, Gillis A, Goldhaber J, Lathrop D, Liu P, Niemann J, Ornato J, Sopko G, van Eyk J, Walcott G, Weisfeld M, Wright J, Zipes D. Pulseless electric activity. *Circulation* 2013;128:2532-41.
- 99.Nattel S, Li D, Yue L. Basic mechanisms of atrial fibrillation – very new insights into old ideas. *Ann Rev Physiol* 2000;62:51-77.
- 100.Nattel S. New ideas about atrial fibrillation 50 years on. *Nature* 2002;415:219-26.
- 101.Neef S, Dybkova N, Sossalla S, Ort KR, Fluschnik N, Neumann K, Seipelt R, Schöndube FA, Hasenfuss G, Maier LS. CaMKII-dependent diastolic SR Ca²⁺ leak and elevated diastolic Ca²⁺ levels in right atrial myocardium of patients with atrial fibrillation. *Circ Res* 2010;106(6):1134–44.
- 102.Noszczyk-Nowak A, Michalek M, Kaluza E, Cepiel A, Paslawska U. Prevalence of arrhythmias in dogs examined between 2008 and 2014. *J Vet Res* 2017;61(1):103-10.

- 103.O'Grady MR, Minors SL, O'Sullivan ML, Horne R. Effect of pimobendan on case fatality rate in Doberman pinschers with congestive heart failure caused by dilated cardiomyopathy. *J Vet Intern Med* 2008;22:897-904.
- 104.O'Grady MR, O'Sullivan ML, Minors SL, Horne R. Efficacy of benazepril hydrochloride to delay the progression of occult dilated cardiomyopathy in Doberman Pinschers. *J Vet Intern Med* 2009;23:977-83.
- 105.Orleifson L, Ljungvall I, Höglund K, Häggström J. Occurrence of cardiorespiratory diseases and impact on lifespan in Swedish Irish Wolfhounds: a retrospective questionnaire-based study. *Acta Vet Scand* 2017;95:53.
- 106.Owczarek-Lipska M, Mausberg T-B, Stephenson H, Dukes-McEwan J, Wess G, Leeb T. A 16-bp deletion in the canine PDK4 gene is not associated with dilated cardiomyopathy in a European cohort of Doberman Pinschers. *Animal Genetics* 2013; 44,2:239.
- 107.Oxford EM, Everitt M, Coombs W. Fox PR, Kraus M, Gelzer ARM, Saffitz J, Taffet SM, Moïse NS, Delmar M. Molecular composition of the intercalated disc in a spontaneous canine animal model of arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. *Heart Rhythm* 2007;4:196-205.
- 108.Oxford EM, Danko CG, Kornreich BG, Maass K, Hemsley SA, Raskolnikov D, Fox PR, Delmar M, Moïse NS. Ultrastructural changes in cardiac myocytes from boxer dogs with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *J Vet Cardiol* 2011;13:101-13.
- 109.Oyama MA, Chittur S. Genomic expression patterns of cardiac tissues from dogs with dilated cardiomyopathy. *Am J Vet Res* 1999;66:1140–55.
- 110.Oyama MA, Reiken S, Lehnart SE, Chittur SV, Meurs KM, Stern J, Marks AR. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy in boxer dogs is associated with calstabin 2 deficiency. *J Vet Cardiol* 2008;10:1-10.
- 111.Pappano AJ, Wier WG. Excitation: The cardiac action potential. In: Pappano AJ, Wier WG (Hrsg). *Cardiovascular physiology*. Elsevier, Mosby, Philadelphia, 2013. pp.11-30.
- 112.Pedro B, Dukes-McEwan J, Oyama MA, Kraus MS, Gelzer AR. Retrospective Evaluation of the Effect of Heart Rate on Survival in Dogs with Atrial Fibrillation. *J Vet Intern Med.* 2017 Jan;32(1):86-92.
- 113.Pellmann J, Lyon RC, Sheikh F. Extracellular matrix remodelling in atrial fibrosis: mechanisms and implications in atrial fibrillation. *J Mol Cell Cardiol* 2010;48:461-7.
- 114.Petric AD, Stabej P, Zemva A: Dilated cardiomyopathy in doberman pinschers: survival, causes of death and a pedigree review in a related line. *J Vet Cardiol* 2002;4:17–24.
- 115.Philipp U, Vollmar A, Distl. Evaluation of six candidate genes for dilated cardiomyopathy in Irish wolfhounds. *Animal Genetics* 2007a;39:84-92.
- 116.Philipp U, Broschk C, Vollmar A, Distl O. Evaluation of Taffazin as Candidate for Dilated Cardiomyopathy in Irish wolfhounds. *Journal of Heredity* 2007b;10:1093,1-5.

117. Philipp U, Vollmar A, Distl O, "Evaluation of the Titin-Cap Gene (TCAP) as candidate for dilated cardiomyopathy in Irish wolfhounds," *Animal Biotechnology* 2008;19:231–6.
118. Philipp U, Vollmar A, Häggström J, Thomas A, Distl O. Multiple loci are associated with dilated cardiomyopathy in Irish wolfhounds. *PLoS ONE* 2012;7(6), Article ID e36691.
119. Pinto YM, Elliott PM, Arbustini E, Adler Y, Anastasakis A, Böhm M, Duboc D, Gimeno J, de Groote P, Imazio M, Heymans S, Klingel K, Komajda M, Limongelli G, Linhart A, Mogensen J, Moon J, Pieper PG, Seferovic PM, Schueler S, Zamorano JL, Caforio AL, Charron P: Proposal for a revised definition of dilated cardiomyopathy, hypokinetic non-dilated cardiomyopathy, and its implications for clinical practice: a position statement of the ESC working group on myocardial and pericardial diseases. *Eur Heart Journal* 2016;37:1850–8.
120. Posafalvi A, Herkert JC, Sinke RJ, van den Berg MP, Mogensen J, Jongbloed J, van Tintelen JP. Clinical utility gene card for: dilated cardiomyopathy (CMD). *Europ J Human Genetics* 2013;21:1185.
121. Pouliopoulos J, Chik W, Kanthan A, Sivagangabalan G, Barry MA, Fahmy P, Midekin C, Lu J, Kizana E, Thomas SP, Thialgalingam A, Kovoov P. Intramyocardial adiposity after myocardial infarction. *Circulation* 2013;128:2296-308.
122. Rajalakshmi S, Wang N, Larson MG, Magnani JW, McManus DD, Lubitz SA, Ellinor PT, Cheng S, Vasani RS, Lee DS, Wang TJ, Levy D, Benjamin EJ, Ho JE. Atrial Fibrillation Begets Heart Failure and Vice Versa: Temporal Associations and Differences in Preserved vs. Reduced Ejection Fraction. *Circulation* 2016;133:484-92.
123. Rapezzi C, Arbustini E, Caforio AL, Charron P, Gimeno-Blanes J, Helio T, Linhart A, Mogensen J, Pinto Y, Ristic A, Seggewiss H, Sinagra G, Tavazzi L, Elliott PM. Diagnostic work-up in cardiomyopathies: bridging the gap between clinical phenotypes and final diagnosis. A position statement from the ESC Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Eur Heart J* 2013;34:1448–58.
124. Rienstra M, Lubitz SA, Mahida S, Magnani JW, Fontes JD, Sinner MF, Van Gelder IC, Ellinor PT, Benjamin EJ. Symptoms and functional status of patients with atrial fibrillation. *Circulation* 2012;125:2933-43.
125. Silbiger JJ. Mechanistic insights into atrial functional mitral regurgitation: Far more complicated than just left atrial remodeling. *Echocardiography* 2019;36:164-9.
126. Simpson S, Edwards J, Emes RD, Cobb MA, Mongan NP, Rutland CS. A predictive model for canine dilated cardiomyopathy—a meta-analysis of Doberman Pinscher data. *Peer J* 2015; 3, article e:842.
127. Simpson S, Dunning MD, Brownlie S, Patel J, Godden M, Cobb M, Mongan NP, Rutland CS. Multiple Genetic Associations with Irish Wolfhound Dilated Cardiomyopathy. *BioMed Research International* 2016, ArticleID 6374082, <http://dx.doi.org/10.1155/2016/6374082>.
128. Sinner MF, Tucker NR, Lunetta KL, Ozaki K, Smith JG, Trompet S, Bis JC, Lin H, Chung MK, Nielsen JB, Lubitz SA, Krijthe BP, Magnani JW, Ye J, Gollob MH, Tsunoda T, Müller-Nurasyid M, Lichtner P, Peters A, Dolmatova E, Kubo M, Smith JD, Psaty BM, Smith NL,

- Jukema JW, Chasman DI, Albert CM, Ebana Y, Furukawa T, Macfarlane PW, Harris TB, Darbar D, Dörr M, Holst AG, Svendsen JH, Hofman A, Uitterlinden AG, Gudnason V, Isobe M, Malik R, Dichgans M, Rosand J, Van Wagener DR; METASTROKE Consortium; AFGen Consortium, Benjamin EJ, Milan DJ, Melander O, Heckbert SR, Ford I, Liu Y, Barnard J, Olesen MS, Stricker BH, Tanaka T, Käåb S, Ellinor PT Integrating genetic, transcriptional, and functional analyses to identify 5 novel genes for atrial fibrillation. *Circulation* 2014;130:1225-35.
- 129.Sleeper MM, Henthorn PS, Vijayasarathy C, Dambach DM, Bowers T, Tijskens P, Armstrong CF, Lankford EB. Dilated cardiomyopathy in juvenile Portuguese water dogs. *J Vet Int Med* 2002;16:52–62.
- 130.Sosa I, Estrada AH, Winter BD, Erger KE, Conlon TJ. In vitro evaluation of mitochondrial dysfunction and treatment with adeno-associated vector in fibroblasts from Doberman pinschers with dilated cardiomyopathy and a pyruvate dehydrogenase kinase 4 mutation. *Am J Vet Res* 2016;77:156-161.
- 131.Stabej P, Imholz S, Versteeg SA, Zijlstra C, Stokhof AA, Domanjko-Petric A, Leegwater PA, van Oost BA. Characterization of the canine desmin (DES) gene and evaluation as a candidate gene for dilated cardiomyopathy in the Dobermann. *Gene* 2004;340:241–9.
- 132.Stabej P, Leegwater PA, Stokhof AA, Domanjko-Petric A, van Oost BA. Evaluation of the phospholamban gene in purebred large-breed dogs with dilated cardiomyopathy. *Am J Vet Res* 2005a;66:432-6.
- 133.Stabej P, Leegwater PAJ, Imholz S, Versteeg SA, Zijlstra C, Stokhof AA, Domanjko-Petriè A, van Oost BA. The canine sarcoglycan delta gene: BAC clone contig assembly, chromosome assignment and interrogation as a candidate gene for dilated cardiomyopathy in Dobermann dogs. *Cytogenetic and Genome Res* 2005b;111:140–6.
- 134.Stephenson HM, Fonfara S, López-Alvarez J, Cripps P, Dukes-McEwan J. Screening for dilated cardiomyopathy in great Danes in the United Kingdom. *J Vet Int Med* 2012;26:1140-7.
- 135.Summerfield NJ, Boswood A, O'Grady MR, Gordon SG, Dukes-McEwan J, Oyama MA, Smith S, Patterson M, French AT, Culshaw GJ, Braz-Ruivo L, Estrada A, O'Sullivan ML, Loureiro J, Willis R, Watson P. Efficacy of pimobendan in the prevention of congestive heart failure or sudden death in Doberman pinschers with preclinical dilated cardiomyopathy (the PROTECT Study). *J Vet Int Med* 2012;26:1337-49.
- 136.Tan AY, Zhou S, Ogawa M, Song J, Chu M, Li H, Fishbein MC, Lin SF, Chen LS, Chen PS. Neural mechanism of paroxysmal atrial fibrillation and paroxysmal atrial tachycardia in ambulatory canines. *Circulation* 2008;118:916-25.
- 137.Tan AY, Zimetbaum P. Atrial fibrillation and atrial fibrosis. *J Cardiovasc Pharmacol* 2011;57:625-9.
- 138.Tang M, Zhang S, Sun Q, Huang C. Alterations in electrophysiology and tissue structure of the left atrial posterior wall in canine model of atrial fibrillation caused by chronic atrial dilatation. *Circ J* 2007;71:1636-42.

139. Tidholm A, Jönsson L. Dilated Cardiomyopathy in the Newfoundland: A study of 37 cases (1983- 1994). *J Am Anim Hosp Assoc* 1996; 32: 465-70.
140. Tidholm A, Jönsson L: A retrospective study of canine dilated cardiomyopathy (189 cases). *Journal Am Anim. Hosp. Assoc* 1997a;33: 544–50.
141. Tidholm A, Svensson H, Sylvén C. Survival and prognostic factors in 189 dogs with dilated cardiomyopathy. *J Am Anim Hosp Assoc* 1997b;33:364-8.
142. Tidholm A, Häggström J, Jönsson L. Prevalence of attenuated wavy fibers in myocardium of dogs with dilated cardiomyopathy. *J Am Vet Med Assoc* 1998;212:1732-4.
143. Tidholm A, Jönsson L: Histologic characterization of canine dilated cardiomyopathy. *Vet Path* 2005;42:1–8.
144. Tidholm A. Survival in dogs with dilated cardiomyopathy and congestive heart failure treated with digoxin, furosemide and propranolol: A retrospective study of 62 dogs. *J Vet Cardiol* 2006;8(1):41-7.
145. Tobita T, Nomura S, Fujita T, Morita H, Asano Y, Onoue K, Ito M, Imai Y, Suzuki A, Ko T, Satoh M, Fujita K, Naito AT, Furutani Y, Toko H, Harada M, Amiya E, Hatano M, Takimoto E, Shiga T, Nakanishi T, Sakata Y, Ono M, Saito Y, Takashima S, Hagiwara N, Aburatani H, Komuro I. Genetic basis of cardiomyopathy and the genotypes involved in prognosis and left ventricular reverse remodeling. *Sci Rep.* 2018 ;8(1):1998. doi: 10.1038/s41598-018-20114-9.
146. Ulimoen SR, Enger S, Carlson J, Platonov PG, Pripp AH, Abdelnoor M, Arnesen H, Gjesdal K, Tveit A. Comparison of four single-drug regimens on ventricular rate and arrhythmia-related symptoms in patients with permanent atrial fibrillation. *Am J Cardiol* 2013;111:225-30.
147. Ulimoen SR, Enger S, Pripp AH, Abdelnoor M, Arnesen H, Gjesdal K, Tveit A. Calcium channel blockers improve exercise capacity and reduce N-terminal Pro-B-type natriuretic peptide levels compared with β -blockers in patients with permanent atrial fibrillation. *Eur Heart J* 2014;35:517-24.
148. Urfer SR, C. Gaillard C, Steiger A. Lifespan and disease predispositions in the Irish Wolfhound: A review, *Veterinary Quarterly* 2007; 29:3, 102-111, DOI: 10.1080/01652176.2007.9695233.
149. Van Gelder IC, Hagens VE, Bosker HA, Kingma JH, Kamp O, Kingma T, Said SA, Darmanata JI, Timmermanns AJ, Tijssen JG, Crijns HJ; Rate Control versus Electrical Cardioversion for Persistent Atrial Fibrillation Study Group. A comparison of rate control and rhythm control in patients with recurrent persistent atrial fibrillation. *N Engl J Med* 2002;347:1834-40.
150. Van Gelder IC, Groenveld HF, Crijns HJ, Tuininga YS, Tijssen JG, Alings AM, Hillege HL, Bergsma-Kadijk JA, Cornel JH, Kamp O, Tukkie R, Bosker HA, Van Veldhuisen DJ, Van den Berg MP; RACE II Investigators. Lenient versus strict rate control in patients with atrial fibrillation. *N Engl J Med* 2010;362:1363-73.

151. Van Gelder IC, Hobbelt AH, Mulder BA, Rienstra M. Rate control in atrial fibrillation, many questions still unanswered. *Circulation* 2015;132:1597-9.
152. Van Rijsingen IA, Nannenberg EA, Arbustini E, Elliott PM, Mogensen J, Hermans-van Ast JF, van der Kooif AJ, van Tintelen P, van den Berg M, Grasso M, Serio A, Jenkins S, Rowland C, Richard P, Wilde AAM, Perrot A, Pankuweit S, Zwinderman AH, Charron P, Christiaans I, Pinto YM. Gender-specific differences in major cardiac events and mortality in lamin A/C mutation carriers. *Eur J Heart Fail.* 2013;15(4):376–84.
153. Verheule S, Wilson E, Everett IV T, Shanbhag S, Golden C, Olgin I. Alterations in atrial electrophysiology and tissue structure in a canine model of chronic atrial dilatation due to mitral regurgitation. *Circulation* 2003;107:2615-22.
154. Vest JA, Wehrens XH, Reiken SR, Lehnart SE, Dobrev D, Chandra P, Danilo P, Ravens U, Rosen MR, Marks AR. Defective cardiac ryanodine receptor regulation during atrial fibrillation. *Circulation* 2005;111(16):2025–32.
155. Vila J, Pariaut R, Oxford EM, Fox PR, Teynolds CA, Saelinger C. Structural and molecular pathology of the atrium in boxer arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *J Vet Cardiol* 2017;19:57-67.
156. Vollmar A. Kardiologische Untersuchungen beim Irischen Wolfshund unter besonderer Berücksichtigung des Vorhofflimmerns und der Echokardiographie. *Kleintierpraxis* 1996;41:397-408.
157. Vollmar A. Echocardiographic measurements in the Irish wolfhound, reference values for the breed. *J Am Anim Hosp Assoc* 1999a;35:271-7.
158. Vollmar A. Use of echocardiography in the diagnosis of dilated cardiomyopathy in Irish wolfhounds. *J Am Anim Hosp Assoc* 1999b;35:279-83.
159. Vollmar AC: The prevalence of cardiomyopathy in the Irish wolfhound: A clinical study of 500 dogs. *J Am Anim Hosp Assoc* 2000;36:125-32.
160. Vollmar A, Fox PR, Meurs KM, Liu SK: Dilated Cardiomyopathy in Juvenile Doberman Pinschers. *J Vet Cardiol* 2003; 5:23-7.
161. Vollmar A, Aupperle H. Cardiac pathology in Irish wolfhounds with heart disease. *J Vet Cardiol* 2016;18:57-70.
162. Vollmar AC, Fox PR. Long-term Outcome of Irish Wolfhound Dogs with Preclinical Cardiomyopathy, Atrial Fibrillation, or Both Treated with Pimobendan, Benazepril Hydrochloride or Methyldigoxin Monotherapy. *J Vet Int Med* 2016;30(2):553-9.
163. Wakili R, Voigt N, Kaab S, Dobrev D, Nattel S. Recent advances in the molecular pathophysiology of atrial fibrillation. *J Clin Invest* 2011;121:2955-68.
164. Waks JW, Josephson ME. Mechanisms of atrial fibrillation- Reentry, rotors and reality. *Arrhythm Electrophysiol Rev* 2014;3:90-100.

165. Ward J, Ware W, Viall A. Association between atrial fibrillation and right-sided manifestations of congestive heart failure in dogs with degenerative mitral valve disease or dilated cardiomyopathy. *J Vet Cardiol* 2019;21:18-27.
166. Werner P, Raducha MG, Prociuk U, Sleeper MM, Van Winkle TJ, Henthorn PS. A novel locus for dilated cardiomyopathy maps to canine chromosome 8. *Genomics* 2008;91:517-21.
167. Wess G, Mäurer J, Simak J, Hartmann K. Use of Simpson's method of disc to detect early echocardiographic changes in Doberman Pinschers with dilated cardiomyopathy. *J Vet Int Med* 2010a;24:1069-76.
168. Wess G, Schulze A, Butz V, Simak J, Killich M, Keller LJ, Mäurer J, Hartmann K.: Prevalence of dilated cardiomyopathy in Doberman Pinschers in various age groups. *J Vet Int Med* 2010b;24(3):533-8.
169. Wess G, Schulze A, Geraghty N, Hartmann K. Ability of a 5-minute electrocardiography (ECG) for predicting arrhythmias in Doberman Pinschers with cardiomyopathy in comparison with a 24-hour ambulatory ECG. *J Vet Int Med* 2010c;24:367-71.
170. Wess G, Simak J, Mahling M, Hartmann K. Cardiac Troponin I in Doberman Pinschers with cardiomyopathy, *J Vet Int Med* 2010d;24:843-9.
171. Wess G, Butz V, Mahling M, Hartmann K. Evaluation of N-terminal pro-B-type natriuretic peptide as a diagnostic marker of various stages of dilated cardiomyopathy on Doberman Pinschers. *Am J Vet Res* 2011;72:642-9.
172. Wess G, Domenech O, Dukes-McEwan J, Haggstrom J, Gordon S. European Society of Veterinary Cardiology screening guidelines for dilated cardiomyopathy in Doberman pinschers. *J Vet Cardiol* 2017;19:405-415.
173. Westling J, Westling W, Pyle RL. Epidemiology of atrial fibrillation in the dog. *Intern J Appl Res Vet Med* 2008;6(3):151-4.
174. Whitbeck MG, Charnigo RJ, Khairy P, Ziada K, Bailey AL, Zegarra MM, Shah J, Morales G, Macaulay T, Sorrell VL, Campbell CL, Gurley J, Anaya P, Nasr H, Bai R, Di Biase L, Booth DC, Jondeau G, Natale A, Roy D, Smyth S, Moliterno DJ, Elayi CS. Increased mortality among patients taking digoxin--analysis from the AFFIRM study. *Eur Heart J* 2013;34:1481-8.
175. Wiersma AC, Leegwater PA, van Oost BA, Ollier WE, Dukes-McEwan J. Canine candidate genes for dilated cardiomyopathy: annotation of and polymorphic markers for 14 genes. *BMC Veterinary Research* 2007;3,article 28.
176. Wiersma AC, Stabej P, Leegwater PA, van Oost BA, Ollier WE, Dukes-McEwan J. Evaluation of 15 candidate genes for dilated cardiomyopathy in the Newfoundland dog. *Journal of Heredity* 2008;99(1):73-80.

177. Yeh YH, Wakili R, Qi XY, Chartier D, Boknik P, Kääh S, Ravens U, Coutu P, Dobrev D, Nattel S. Calcium-handling abnormalities underlying atrial arrhythmogenesis and contractile dysfunction in dogs with congestive heart failure. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 2008;1:93-102.
178. Yost O, FriedenberG SG, Jesty SA, Olby NJ, Meurs KM. The R9H phospholamban mutation is associated with highly penetrant dilated cardiomyopathy and sudden death in a spontaneous canine model. *Gene* 2019;697. doi:10.1016/j.gene.2019.02.022.

9. Zusätzliche Publikationsleistungen

1. Vollmar C, Keene B, Kohn B, Vollmar AC (2015): Irish Wolfhounds with Dilated Cardiomyopathie: Causes of Death. Proc. ACVIM Forum in Indianapolis, IN, 555.
2. Vollmar C, Keene B, Kohn B, Vollmar AC (2015): Long Term Outcome of Irish Wolfhounds with Lone Atrial Fibrillation. Proc. ACVIM Forum in Indianapolis, IN, 550.
3. Vollmar AC, Vollmar C (2015): Sudden death in Irish Wolfhounds with Heart Disease. Proc. 25th ECVIM Congress Lisbon, Portugal, 25.
4. Vollmar C, Kohn B, Vollmar AC (2015): Heart Rates in Irish Wolfhounds with Heart Disease. Proc. 25th ECVIM Congress Lisbon, Portugal, 26.
5. Vollmar C, Keene B, Kohn B, Vollmar AC (2015): Langzeitresultate von Irischen Wolfshunden mit alleinigem Vorhofflimmern. Proc. DVG Vet- Congress Berlin, 197.
6. Vollmar C, Keene B, Kohn B, Vollmar AC (2015): Irische Wolfshunde mit Dilatativer Kardiomyopathie: Todesursachen. Proc. DVG Vet- Congress Berlin, 199.
7. Vollmar C, Keene B, Kohn B, Vollmar AC (2016): Herzfrequenzen bei Irischen Wolfshunden mit Herzerkrankung. Proc. 24. Jahrestagung der DVG-FG InnLab, Berlin, 23.

10. Danksagung

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

Herrn Dr. Sven Reese danke ich für seine Unterstützung bei der statistischen Auswertung der Daten.

Frau Professor Dr. Barbara Kohn danke ich für die hervorragende Unterstützung bei allen Fragen bezüglich dieser Dissertation.

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

11. Finanzierungsquellen

Es besteht kein Interessenskonflikt durch finanzielle Unterstützung der Arbeiten.

12. Selbständigkeitserklärung

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.

Giessen, den 16.07.2020

Claudia Vollmar



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
STAUFENBERGRING 15
D-35396 GIESSEN

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890
redaktion@doktorverlag.de
www.doktorverlag.de

ISBN: 978-3-8359-6877-6



9 783835 968776