

Université
de Liège



ACADEMIE UNIVERSITAIRE WALLONIE-EUROPE

UNIVERSITE DE LIEGE

FACULTE DE MEDECINE VETERINAIRE

DEPARTEMENT CLINIQUE DES ANIMAUX DE COMPAGNIE ET DES EQUIDES

Etablissement de normes de références échocardiographiques en fonction de la race et de la taille corporelle et intérêt de leur application clinique et du dosage de la concentration plasmatique du peptide natriurétique atrial (ANP) pour déterminer la sévérité des insuffisances valvulaires et le stade d'insuffisance cardiaque congestive qui leur est associé dans l'espèce équine

Establishment of echocardiographic reference values as a function of breed and body size and the importance of their clinical application and of atrial natriuretic peptide (ANP) plasma concentration measurement for determination of the severity of valvular insufficiencies and associated congestive heart failure in equids

Ali AL HAIDAR

THESE PRESENTEE EN VUE DE L'OBTENTION DU GRADE DE

DOCTORAT EN SCIENCES VETERINAIRES

ORIENTATION MEDECINE VETERINAIRE

ANNEE ACADEMIQUE 2012-2013

Remerciement

Je tiens tout d'abord à remercier beaucoup la prof. Hélène AMORY pour son implication dans ce travail et pour m'avoir soutenu tout au long de mon travail. À elle je suis redevable pour le temps consacré pour mon travail et pour la confiance que m'a témoignée.

Au ministère de l'enseignement supérieur syrien pour avoir financé mes études.

À ma famille en Syrie qui s'intéresse à moi et m'apporte son soutien moral malgré la distance et qui gère mes intérêts sur place pendant mon absence.

Mes plus vifs remerciements s'adressent aussi : A toute l'équipe du pôle équin, ma grande famille à l'étranger, pour m'avoir accueilli et soutenu.

Je tiens à remercier en particulier le Dr. Audrey Fraipont, Dr. Aurélia Leroux, Dr. Alexandra Salciccia, Dr. Charlotte sandersen, Dr. Gaby Van Galen, Dr. Laura Borde, Dr, Stefan Deleuze, Dr. Jérôme Ponthier.

Les plus gentilles secrétaires Catherine Strauven et Sylvie Mathonet, Mercie d'être toujours prêtes à m'aider et me renseigner.

Au docteur Frédéric Farnir qui était toujours prêt pour m'aider et pour me donner des conseils dans l'analyse statistique de mes données.

Au prof. Jean-François Beckers de m'avoir accueilli au laboratoire d'endocrinologie et de la physiologie de la reproduction et facilité mon dosage de ANP.

Un grand merci à Benoit Rémy pour son aide efficace pendant le dosage.

À l'équipe du service CEMSP0 et en particulier le Prof. Tatiana Art, Dr. Emmanuelle van Erk, Céline Molitor, M. Jean-Clément Bustin, Dr. Irene Tosi et le secrétaire Raja Fares pour la gentillesse et l'aide efficace.

À Madame Sandrine Vandenput pour sa gentillesse et ses conseils.

À mes amis Mulla Nassim , Alaa-Elddin Ahmad et sa femme Diana. Merci pour votre amitié, votre soutien, et votre disponibilité et gentillesse.

Au président et aux membres de mon jury.

Aux propriétaires des chevaux d'avoir permis d'utiliser leurs chevaux dans mes études.

À toutes et tous les étudiants qui ont participé ou aidé d'une manière ou autre. Et toutes et tous ceux que j'aurais oublié de citer ici.

À mon amour *ZENA* tu étais toujours avec moi et pour moi, merci d'être courageuse et d'avoir formidablement avancé en Français. Je suis fier de toi, je reste pour toi toujours, je t'aime....

List d'abréviations

SA	Sino-atrial
AV	Auriculo-ventriculaire
ICC	Insuffisance cardiaque congestive
FC	Fréquence cardiaque
SV	Volume d'éjection systolique
V ₂₀₀	Vitesse à laquelle la FC de 200 battements/minutes est atteinte
V _{FCmax}	Vitesse à laquelle la FC maximale est atteinte
V ₁₄₀	Vitesse à laquelle la FC de 140 battements/minutes est atteinte
FC _{max}	Fréquence cardiaque maximale
CO	Débit cardiaque
TnC	Troponine C
TnI	Troponine I
TnT	Troponine T
BNP	Brain peptide natriuretique
NT-BNP	Précurseur de BNP
ANP	Peptide atrial natriuretique
NT-ANP	Précurseur de ANP
NO	Gaz d'oxyde nitrique
RAAS	Système Rénine-Angiotensine-Aldostérone
2D	Bidimensionnelle
M	Temps-mouvement
IM	Insuffisance mitrale
ITr	Insuffisance tricuspide
IA	Insuffisance aortique
IPu	Insuffisance pulmonaire
RVID	Diamètre interne du ventricule droite
LVID	Diamètre interne du ventricule gauche
LVFW	Epaisseur de la paroi libre du ventricule gauche
IVS	Epaisseur du septum interventriculaire
d	En fin diastole
s	En fin systole
LA	Diamètre interne de l'oreillette gauche
AO	Diamètre interne de l'aorte
Ao _{sinus}	Diamètre interne de l'aorte à hauteur du sinus de Valsalva
Ao _{valve}	Diamètre interne de l'aorte à hauteur du point d'attachement de la valvule aortique

Ao _{min}	Diamètre minimal juste en aval du Sinus de Valsalva
Pu	Diamètre interne de l'artère pulmonaire
LVIA	Surfaces interne du ventricule gauche
LVEA	Surfaces externe du ventricule gauche
PEP	Période de pré-éjection
ET	Temps d'éjection
Peak E	Pic de vitesse de la phase de remplissage ventriculaire rapide
Peak A	Pic de vitesse pendant la contraction atriale
TTP	Temps jusqu'au pic de vitesse
CV	Coefficient de variation
PISA	Surface de la zone d'isovitesse proximale convergente
EROA	Surface de l'orifice régurgitant
IECA	Inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine
SID	Une seule dose par jour
BID	Deux doses par jour
Sc	Par la voie sous-cutané
Im	Par la voie intramusculaire
Iv	Par la voie intraveineuse
PO	Par la voie orale
SD	Déviations standard (Ecart type)
SE	Erreur standard
VTI	Temps intégral de vitesse
IQR	Range entre quartile
BW	Poids corporel
BSA	Surface corporelle
HT	Taille au garrot
BL	Longueur du corps
TC	Circonférence thoracique
R ²	Coefficient de détermination
FS	Fraction de raccourcissement du ventricule gauche
ANP _{pl}	Concentration plasmatique en ANP

Tables des matières

SUMMARY	1
RÉSUMÉ	3
<u>Introduction générale</u>	6
<u>Chapitre 1: Anatomie, physiologie et pathophysiologie cardiaque</u>	7
1.1. Introduction	7
1.2. Anatomie cardiaque	7
1.3. Physiologie cardiaque	9
1.4. Biomarqueurs des pathologies cardiaques	17
1.5. Pathophysiologie de l'insuffisance cardiaque	20
1.6. Conclusion	22
<u>Chapitre 2: Echocardiographie</u>	23
2.1. Introduction	23
2.2. Principes de base	23
2.3. L'examen échocardiographique chez le cheval	29
2.4. Mesures échocardiographiques	34
2.5. Normes de référence	34
2.6. Conclusion	36
<u>Chapitre 3: L'insuffisance valvulaire</u>	37
3.1. Introduction	37
3.2. Epidémiologie de l'insuffisance valvulaire	37
3.3. Etiologie de l'insuffisance valvulaire	38
3.4. Pathophysiologie de l'insuffisance valvulaire	39
3.5. Signes cliniques des insuffisances valvulaires	39
3.6. Examen complémentaire des insuffisances valvulaires	44
3.7. Pronostic des insuffisances valvulaires	62
3.8. Traitement des insuffisances valvulaires	65
3.9. Conclusion	70
Objectifs de travail	71
Bibliographie	72
Présentation synoptique des études expérimentales	91
Présentation systématique des études expérimentales	105
Etude 1: Comparison of the repeatability of echocardiographic measurements from different modes and views in horses of various breeds and size	106
Etude 2: Relationship between echocardiographic measurements and body size in the equine species	128

Etude 3: Effect of physiological variables on echocardiographic measurements in the equine species	145
Etude 4: Reference values of two-dimensional and M-mode echocardiographic measurements as function of body size in various equine breeds and in ponies	162
Etude 5: Atrial natriuretic peptide as an indicator of the severity of valvular insufficiency and heart failure in horses	182
Discussion générale	198

SUMMARY

Compared to other species, cardiac diseases are rather uncommon in the horse. However, in high level sport horses, very small cardiac dysfunctions can result in significantly reduced performance. Furthermore, cardiac pathologies represent the third cause of exercise intolerance in the horse, and among them, valvular insufficiencies are of great concern. Nevertheless, due namely to the large size of these patients, diagnostic methods in equine cardiology are lacking and examination is more difficult resulting in a shortcoming in information indispensable for the diagnosis and prognosis. The aim of our work was to establish and improve diagnostic and prognostic techniques of valvular insufficiencies in the horse using Doppler echocardiography and the measurement of cardiac biomarkers.

Reference values of echocardiographic measurements were established in the equine species taking into account the effect of various physiological variables. Indeed, these reference values are indispensable for evaluating horses with cardiac diseases, especially valvular insufficiency.

First of all, in order to obtain more accurate and reliable echocardiographic measurements and cardiac functional indices, the repeatability of the measurements obtained from 2D, M-mode and pulsed Doppler in short and long axis echocardiographic views was tested and demonstrated in 10 horses of various breeds and sizes. The comparison of the obtained mean values and repeatability allowed establishing a standardised echocardiographic examination protocol in this species.

Then, the effect of various anthropometric parameters on 2D and M-mode echocardiographic measurements was tested and the relationship between those measurements and parameters was studied in 150 horses of various breeds, age and size. Results obtained in this study suggested that the reference values of morphologic echocardiographic measurements should be adapted to the body size and that power equation was the most appropriate model to fit echocardiographic measurements as function of thoracic circumference, body weight or body surface area.

Beside the body size, the effect of several other physiological variables such as breed, sex, age, growth, obesity, pregnancy and training on echocardiographic measurements was proved in human and/or domestic animals. Therefore, the effect of such variables on echocardiographic measurements was tested in 212 horses and ponies of various breeds, sex, ages and body sizes. Using a statistic model adjusting the data to the weight of the investigated animal, results obtained in this study suggested a significant effect of breed on most echocardiographic measurements. However, no significant effect was detected for age or sex. Based upon obtained results in the precedent studies and in 239 horses of various breed, echocardiographic measurements reference values corrected for the body size using thorax circumference or body weight were established in each studied breed.

These reference values should allow establishing an accurate diagnostic and prognostic in horses with cardiac diseases especially valvular insufficiency.

On the other hand, in order to support the diagnostic and prognostic of cardiac diseases with additional tools, the reliability of using the atrial natriuretic peptide (ANP) as an indicator of valvular insufficiency in the equine cardiology was tested. It had been demonstrated by several authors that plasma concentration of ANP in various species was correlated to the degree of increase in atrial pressure and volume associated to several cardiac diseases. In the equine species, two studies have evaluated the plasmatic ANP concentration in horses suffering from various cardiac pathologies, whom valvular insufficiencies especially. However, those studies were conducted on a small number of horses and results were contradictory between them.

Thence, we decided to measure plasma ANP concentration on 91 horses that were suffering or not from valvular insufficiencies of different severity level.

Plasma ANP concentration was significantly higher in horses suffering from mild and severe valvular insufficiencies than those presenting no or light valvular insufficiencies. Furthermore, plasma ANP concentrations were higher in horses suffering from mitral or tricuspid insufficiencies compared to horses with aortic insufficiency, and a strong correlation existed between plasma ANP concentrations and the left atrial internal diameter or the dilatation percentage of this left atrium, which suggests that this biomarker seems mostly interesting to detect atrial dilatation or dysfunction as reported in other species.

Plasma ANP concentration correlated to the severity of valvular insufficiencies and could be a good indicator of volume overload in equine cardiology.

Conclusions and Perspectives:

In conclusion, the results obtained in this thesis allowed establishing a protocol for an echocardiographic examination which permits obtaining repeatable echocardiographic measurements in the equine species. These measurements are significantly influenced by body size parameters especially thoracic circumference, body weight and body surface area, but also by breed. On the other hand, it had been found that power equation is the optimal model to fit echocardiographic measurement in this species, which allowed the establishment of accurate reference values of echocardiographic measurements.

In a second time, we found that plasma ANP concentration was significantly correlated to the severity of valvular insufficiency and that it could be a good indicator of volume overload and a helpful diagnostic and prognostic factor in equine cardiology.

RÉSUMÉ

En comparaison aux autres espèces, les affections cardiaques sont relativement rares dans l'espèce équine. Cependant, chez les chevaux de sport de haut niveau, de faibles dysfonctionnements de la fonction cardiaque peuvent résulter en une diminution significative des capacités sportives de l'animal. Les pathologies cardiovasculaires constituent ainsi la troisième cause d'intolérance à l'effort chez le cheval et parmi elles, les insuffisances valvulaires occupent une place importante. Cependant, attendu la grande taille du patient à examiner, les outils de diagnostic en cardiologie sont limités dans cette espèce et rendent le pronostic souvent difficile à établir. L'objectif de ce travail était dès lors d'améliorer et d'affiner les moyens permettant d'établir un diagnostic et un pronostic en cas d'insuffisance valvulaire chez le cheval, en se focalisant sur l'échocardiographie doppler et sur la mesure d'un biomarqueur cardiaque.

D'abord, des normes de référence de mesures échocardiographiques tenant compte de toute une série de variables physiologiques ont été établies pour l'espèce équine. De telles normes sont en effet indispensables dans le cadre de l'évaluation clinique d'un cheval présentant un problème cardiaque, et plus particulièrement une insuffisance valvulaire.

Cet objectif a été atteint en plusieurs étapes. Tout d'abord, pour permettre une évaluation fiable des dimensions et indices fonctionnelles cardiaques chez le cheval quel que soit son phénotype, il fallait dans un premier temps démontrer que les mesures réalisées par échocardiographie sont répétables dans cette espèce. Chez 10 équidés de races variées, la répétabilité intra-observateur et inter-jours de mesures échocardiographiques en mode bidimensionnel (2D) et temps-mouvement M, et de mesures de flux transvalvulaires en mode Doppler pulsé a été testée et démontrée. De plus, la comparaison des valeurs moyennes et de la répétabilité des mesures obtenues dans différentes vues et/ou différents modes a été testée et a permis d'établir un protocole d'examen échocardiographique standardisé optimisé pour cette espèce. Dans une seconde étape, attendu que quelle que soit l'espèce considérée, il existe de nombreuses controverses quant au meilleur paramètre anthropométrique et au meilleur modèle mathématique à utiliser pour ajuster les mesures échocardiographiques à la taille corporelle, cette relation a été étudiée chez 150 chevaux des races, âges et poids variables. Cette étude a permis de conclure que, chez les chevaux, les normes de référence des mesures échocardiographiques morphologiques devraient être établies en fonction de la taille corporelle, en utilisant des équations puissance comme modèle et le périmètre thoracique, le poids ou la surface corporelle comme paramètre anthropométrique d'estimation de la taille corporelle.

Outre la taille corporelle, l'effet de nombreux autres variables physiologiques telles que la race, le sexe, l'âge, la croissance, l'entraînement, l'obésité ou la gestation sur les mesures échocardiographiques a été démontré chez l'homme et/ou chez les animaux de compagnie. Dès lors, une étude a été réalisée sur 212 chevaux et poneys de race, sexe, poids et âge variable afin de déterminer l'effet de ces

variables sur les mesures échocardiographiques. Les résultats de cette étude ont démontré que, dans un modèle statistique ajustant les données pour le poids de l'animal investigué, l'âge et le sexe n'avaient que peu voire pas d'influence significative sur les mesures échocardiographiques morphologiques, alors que la race montrait un effet significatif pour une majorité de celles-ci.

Sur base des résultats obtenus dans nos études précédentes et chez 239 chevaux des races variées, des normes de référence échocardiographiques, ajustées pour la taille corporelle en utilisant soit le périmètre thoracique soit le poids corporel, ont été établies dans plusieurs races équine communément rencontrées dans nos contrées. Ces normes devraient permettre à l'avenir d'augmenter considérablement la puissance diagnostique et pronostique de l'échocardiographie en cardiologie équine.

D'autre part, la validité de la mesure du peptide natriurétique atrial (ANP) en tant qu'outil de diagnostic et de pronostic chez des chevaux présentant une insuffisance valvulaire a été testée.

Dans plusieurs espèces, il a en effet été démontré que le taux circulant d'ANP était corrélé à l'importance de l'augmentation de pression et de volume au niveau des oreillettes dans diverses pathologies cardiaques. Chez le cheval, deux études se sont intéressées à évaluer le taux d'ANP chez les chevaux souffrant de diverses pathologies cardiaques, dont principalement des insuffisances valvulaires. Cependant, ces études ont été réalisées sur un nombre limité de cas et les conclusions tirées étaient contradictoires. Dans l'étude suivante de cette thèse, le taux plasmatique d'ANP a dès lors été mesuré sur 91 chevaux sains ou présentant des degrés divers d'insuffisance valvulaire. Le stade d'insuffisance cardiaque a été déterminé sur chacun des cas de l'étude en se basant sur un système de classification du degré d'insuffisance cardiaque préconisé par le collège American de la cardiologie (American College of Cardiology/American Heart Association) pour le traitement des pathologies cardiaques et de l'insuffisance cardiaque chez les patients humains et récemment adapté pour le management des insuffisances valvulaires chez le chien par un panel de consensus du collège American de médecine Vétérinaire interne (American College of Veterinary Internal medicine ACVIM). Ce système a permis de classer les cas selon des critères objectifs facilement applicables chez le cheval puisqu'il est basé sur la présence ou non d'une insuffisance valvulaire significative, d'un remodelage cardiaque à l'échocardiographie, et de signes cliniques d'insuffisance cardiaque. L'objectivité du classement a encore été renforcée dans notre étude grâce à une définition précise du remodelage cardiaque sur chaque cheval étudié grâce à l'application des normes de références qui lui étaient propres (c'est-à-dire valeur attendue et intervalle de confiance en fonction de sa race et de son poids) et qui avaient été définies dans l'étape précédente de notre travail. La concentration plasmatique en ANP (ANP_{PI}) s'est avérée significativement plus élevée chez les chevaux souffrant d'insuffisance valvulaire modérée ou sévère que chez ceux ne présentant pas ou de faibles insuffisances valvulaires, et chez les chevaux à chaque stade par rapport à tous les stades inférieurs d'insuffisance cardiaque. De plus, les valeurs d' ANP_{PI} étaient significativement plus élevées chez les chevaux souffrant

d'insuffisance mitrale ou tricuspide par rapport à celles obtenues chez les chevaux avec insuffisance aortique, et il y avait une corrélation étroite entre l'ANP_{pl} et le diamètre interne de l'oreillette gauche ou le pourcentage de dilatation de cette dernière, ce qui suggère que ce biomarqueur semble surtout intéressant pour déceler des dilatations ou dysfonctionnements des oreillettes, comme cela a été démontré dans les autres espèces. En outre, les valeurs absolues d'ANP_{pl} obtenues dans notre étude étaient supérieures aux valeurs obtenues précédemment chez le cheval mais comparables aux mesures précédemment rapportées chez l'homme et chez les animaux de compagnie. Cela pourrait être dû au fait qu'un kit RIA différent de ceux utilisés dans les études précédentes chez le cheval a été utilisé, et pourrait être lié à une meilleure affinité des anticorps de ce kit pour l'ANP équin. Ce kit pourrait donc avoir une valeur diagnostique des problèmes cardiaques chez le cheval supérieure à celle obtenue dans les études précédentes.

Conclusions et Perspectives:

En conclusion, les résultats des études de cette thèse ont permis d'élaborer un protocole d'examen échocardiographique doppler qui permet des mesures répétables dans l'espèce équine. Il a été démontré que les mesures échocardiographiques morphologiques sont fortement influencées par la taille corporelle dans cette espèce et que les paramètres anthropométriques les plus appropriés pour évaluer celle-ci sont le périmètre thoracique, le poids ou la surface corporelle. De plus, l'ajustement des mesures échocardiographiques en fonction de la taille corporelle est optimisé en utilisant une régression puissance. Il a en outre été démontré que certains paramètres échocardiographiques semblent aussi influencés par la race dans l'espèce équine. Des normes de référence ajustées pour le poids ou le périmètre thoracique ont en conséquence été établies pour diverses races équines communément rencontrées. Ces normes devraient permettre à l'avenir d'augmenter considérablement la puissance diagnostique et pronostique de l'échocardiographie en cardiologie équine.

D'autre part, il a été démontré que le taux circulant d'ANP est plus élevé chez les chevaux souffrant d'insuffisance valvulaire modérée et sévère que chez des chevaux sains ou ne présentant qu'une ou des insuffisances valvulaires légères. L'ANP s'avère donc être un biomarqueur cardiaque qui pourrait être utile dans l'évaluation clinique des chevaux présentant des insuffisances valvulaires en combinaison avec l'échocardiographie Doppler, notamment pour déterminer à quel stade d'insuffisance cardiaque ils se trouvent et pour décider de l'opportunité ou non de mettre un traitement en place. A l'avenir, la valeur pronostique de ce biomarqueur et son utilité dans le cadre d'un suivi thérapeutique devraient être testées, et d'autres biomarqueurs cardiaques, qui ont largement été validés chez l'homme et chez les animaux de compagnie, mériteraient d'être testés dans l'espèce équine. La sensibilité et la spécificité des normes de référence échocardiographiques précises développées dans notre travail devraient en outre être testées dans le cadre du diagnostic et du pronostic de diverses pathologies en cardiologie équine, dont notamment les insuffisances valvulaires.

Introduction générale

I. Anatomie, Physiologie et Pathophysiologie cardiaque

1.1. Introduction

Le cœur est un muscle creux formé de deux pompes fonctionnant en harmonie et permettant l'éjection du sang dans les artères pour perfuser les tissus périphériques (Colin, 1993). La fonction de cet organe vital est de répondre aux besoins vitaux métaboliques et en oxygène de l'organisme. La fonction cardiaque est normalement garantie par la performance cardiaque parfaite qui réfère la capacité totale du cœur intact à se contracter et éjecter le sang (Bright et Marr, 2010). Ainsi cette fonction cardiaque résulte de la fonction auriculaire et la fonction ventriculaire qui est la plus importante et qui repose sur la performance systolique et diastolique ventriculaire (Bright et Marr, 2010). Dès lors, l'intégrité cardiovasculaire est essentielle pour la performance normale des organes et, en conséquence, pour garantir la vie et la performance normale de l'animal.

Les chevaux présentent fréquemment des anomalies cardiaques au repos tels que des souffles et des arythmies, mais ceux-ci peuvent être physiologiques et dès lors ne pas avoir d'impact sur les capacités athlétiques du cheval (Patteson et Cripps, 1993; Kriz *et al.*, 2000a). À l'inverse, certains dysfonctionnements cardiaques, qui peuvent limiter la performance maximale du cheval, peuvent n'être que discrets voire non détectables au repos (Durando, 2003), étant donné l'importante réserve fonctionnelle cardiaque de cette espèce. Les signes cliniques d'une pathologie cardiaque ne se manifestent alors généralement qu'à un stade avancé de la pathologie (Geor et McCutcheon, 1996; Bonagura *et al.*, 2010). Pour toutes ces raisons, une évaluation scrupuleuse de la fonction cardiaque occupe donc une place importante de l'examen clinique dans cette espèce (Geor et McCutcheon, 1996; Blissitt, 1999). Dès lors, afin de bien comprendre la fonction cardiaque et interpréter les dysfonctionnements cardiaques, ainsi pour optimiser l'utilisation des techniques diagnostiques telles que l'auscultation et l'échocardiographie, la bonne connaissance de l'anatomie et de la physiologie cardiaque est très appréciée (Bright et Marr, 2010).

Dans ce chapitre, nous teignons à réviser brièvement l'anatomie, la physiologie et la pathophysiologie cardiaque comme des éléments basiques dans le domaine de la cardiologie.

1.2. Anatomie cardiaque

Le cœur est composé de trois structures principales ; le myocarde, le péricarde, et l'endocarde (Patteson, 1996d).

1.2.1. Le myocarde

Le myocarde se contracte activement éjectant le sang dans les grandes artères, et se relaxe bien en début de diastole pour assurer le vidage des veines et le remplissage des ventricules (Patteson, 1996d).

Contrairement aux muscles squelettiques, le myocarde ne présente pas la contraction tétanique grâce à la période réfractaire qui exige une nouvelle stimulation pour chaque contraction.

En outre, des cellules myocardiques sont spécialisées pour la transmission du signal électrique cardiaque. L'électrocardiographie de ces dernières est différente de celle de la partie contractile du myocarde. Chaque myocyte se compose de plusieurs myofibrilles, ces myofibrilles sont alignées au long de l'axe de cellule myocardique. Les myofibrilles, quant à elles, sont composées de sarcomères joignes en séries. Les sarcomères contiennent des myofilament se composent de quatre protéines; deux qui sont contractiles : la myosine (épaisse), et l'autre est l'actine (plus mince). Ainsi deux protéines régulateurs; la troponine et la tropomyosine. Ces dernières qui se forment les ponts joignant filaments contractiles (Patteson, 1996d). Par ailleurs, la surface de la cellule myocardique est couverte par un réticulum sarcoplasmique qui invagine chaque sarcomère. Ce réticulum assure la source du calcium nécessaire pour la dépolarisation (Patteson, 1996d).

Les activités électriques cardiaque : certains myocytes cardiaques ont des propriétés inhérentes de générer une action potentielle stimulant les activités myocardiques. Ces impulsions sont spontanément générés au niveau du nœud sino-atrial (SA), du nœud auriculo-ventriculaire et des fibres spécialisés de la conduction dans le système His-Purkinji (Patteson, 1996d; Bright et Marr, 2010). À savoir que l'action spontanée générée par le nœud SA a la fréquence la plus élevée dans ce système. Or, il est considéré comme le site des impulsions et agit comme le pacemaker de système (Patteson, 1996d; Bright et Marr, 2010).

1.2.2. Les cavités cardiaques

Le cœur contient quatre chambres : deux oreillettes et deux ventricules (Patteson, 1996d; Bright et Marr, 2010). Les oreillettes sont situées dorsalement de ventricules, elles reçoivent le sang, l'oreillette gauche reçoit le sang des veines caves postérieure et antérieure, ainsi du sinus veineux. L'oreillette droite, quant à elle, reçoit le sang des veines pulmonaire. Les oreillettes évacuent le sang rassemblé dans les ventricules via les valves AV; la mitrale entre l'oreillette et le ventricule gauche, et la tricuspide entre l'oreillette et ventricule droit. Les ventricules sont des vraies stations de pompes; ventricule gauche, la chambre cylindrique qui est adaptée à l'éjection du sang à pression élevée, éjecte le sang dans l'aorte. En revanche, le RV, qui est adapté à l'éjection à pression moins élevée, éjecte le sang dans l'artère pulmonaire (Patteson, 1996d; Bright et Marr, 2010).

1.2.3. Les artères coronaires

Il y a deux artères coronaires essentielles, l'artère coronaire droite qui plus grande que l'artère coronaire gauche. Ces artères sortent de l'aorte et à partir du sinus de Valsalva. Cette position des artères coronaires dans le sinus garantit l'ouverture permanente de ces artères, ce qui interdit l'obstruction du flux sanguin par la valve aortique (Patteson, 1996d; Bright et Marr, 2010).

1.2.4. L'endocarde

L'endocarde invagine les cavités cardiaques, il lutte contre la formation des thrombus en gardant la surface interne des cavités cardiaques parfaitement lisses. Il a aussi des effets régulateurs biochimiques locaux importants. Outre, l'endocarde se transforme au niveau des orifices formant les valves auriculo-ventriculaires, et les valves semi-lunaires (Patteson, 1996d).

Les valves auriculo-ventriculaires, qui séparent les oreillettes des ventricules; la valve mitrale, entre l'oreillette gauche et le ventricule gauche, qui se compose de deux essentielles feuillets et plusieurs petites feuillets. La mitrale est soutenue par des cordages mineurs et majeures. Ces cordages sont aussi soutenus par deux muscles papillaires. La valve tricuspide quant à elle, qui sépare le ventricule droit et l'oreillette droite, elle se compose de trois feuillets soutenues par des cordages et trois ou plus des muscles papillaires (Patteson, 1996d; Bright et Marr, 2010; Armstrong et Ryan, 2010c).

Les valves semi-lunaires, quant à elles, qui se trouvent entre les ventricules et les grandes artères ; la valve aortique qui est entre le ventricule gauche et l'artère aortique, la valve pulmonaire qui est entre l'oreillette droite et l'artère pulmonaire. Ces derniers se composent de trois cuspides, un petit nodule se trouve au moyen du bord de chaque cuspide, et ces petite nodules sont normales au niveau des valves semi-lunaires (Patteson, 1996d; Bright et Marr, 2010; Armstrong et Ryan, 2010c).

1.2.5. Le péricarde

C'est le sac qui entoure le cœur, il le sépare des poumons, le protège des infections, facilite son mouvement grâce au fluide péricardique (Patteson, 1996d; Bright et Marr, 2010) et il limite l'expansion des ventricules lors de leur relaxation. En effet, le péricarde est essentiel pour l'activité efficace du cœur. Par contre, les anomalies du péricarde limitent le débit cardiaque, car elles empêchent le remplissage normal des ventricules et des oreillettes (Patteson, 1996d).

1.3. Physiologie cardiaque

La compréhension de la physiologie cardiaque est indispensable et essentielle Pour pouvoir bien évaluer le système cardiovasculaire, et pour pouvoir interpréter les signes et les symptômes obtenus de l'auscultation et des examens complémentaires.

1.3.1. Le cycle cardiaque

Le cycle cardiaque illustre les événements mécanique, électrique et acoustique se produisent au niveau du cœur et les grands vaisseaux (Bright et Marr, 2010). Le cycle cardiaque est normalement divisé en deux période ; la systole ventriculaire, et la diastole ventriculaire. Alors, il commence au début de la systole et se termine en fin systole (Patteson, 1996d; Bright et Marr, 2010). Afin de bien concevoir le mécanisme du cycle cardiaque, il est nécessaire de concevoir la relation entre les événements cardiaque mécaniques et électriques car les événements mécaniques sont stimulés par des

dépolarisations électriques, c'est pourquoi, les événements mécaniques se produisent peu plus tard des événements électriques (Bright et Marr, 2010).

1.3.1.1. La systole

La systole est la période où les ventricules se contractent éjectant le sang dans les grandes artères. Dès lors, la systole ventriculaire commence au début de la complexe QRS, pourtant, la vraie systole (la systole mécanique) commence avec la contraction ventriculaire et la fermeture des valves AV (Bright et Marr, 2010).

Cette période peut se diviser dans deux intervalles essentielles; la période de pré-éjection et la période d'éjection.

- 1- La période de pré-éjection: c'est tout l'intervalle entre le début de la complexe QRS jusque début de la période d'éjection. Cet intervalle lui-même peut se diviser dans deux phases; le délai électromécanique et la contraction iso-volumique (Bright et Marr, 2010):
 - Le délai électromécanique: c'est le temps pris pour que la stimulation aboutisse à activer la contraction ventriculaire (Patteson, 1996d).
 - La contraction iso-volumique: C'est exactement la phase qui suit directement le délai électromécanique. Pendant cette phase la pression intra-ventriculaire augmente rapidement, et la valve aortique s'ouvre dès que la pression dans le ventricule gauche dépasse la pression aortique. L'ouverture de la valve aortique annonce la fin de la phase de la contraction iso-volumique. En effet, le volume des ventricules n'est pas encore changé à ce stade, mais la pression dans chaque ventricule augmente suffisamment pour ouvrir les valves semi-lunaires. En revanche, les valves auriculo-ventriculaires, au cœur normale, doivent être bien fermées à ce moment (Patteson, 1996d; Bright et Marr, 2010).
- 2- La période d'éjection ventriculaire: C'est la période déroulant entre l'ouverture et la fermeture de la valve aortique. Pendant cette période la contraction ventriculaire continue éjectant le sang dans l'artère aortique, le flux aortique atteint sa vitesse maximale dans le premier tiers de cette période. D'un autre part, la pression intra-ventriculaire reste plus élevée que la pression aortique, et dès que cette relation était inversée la valve aortique soit fermée annonçant la fin de cette période ainsi la fin de la systole (Bright et Marr, 2010).

La durée de la systole électromécanique est la somme de la période de pré-éjection et la période d'éjection, cela dépend toujours des conditions de charge et la contractilité ventriculaires (Patteson, 1996d). Par ailleurs, pendant la systole, l'anneau valvulaire auriculo-ventriculaire dirige vers les ventricules baissant la pression dans les oreillettes, cela aide efficacement le remplissage des oreillettes (Patteson, 1996d).

1.3.1.2. La diastole

La diastole ventriculaire c'est la période du remplissage ventriculaire. La fermeture complète de la valve aortique est le début de cette période qui peut se diviser en quatre intervalles :

- 1- La relaxation iso-volumique: pendant cet intervalle les ventricules relaxent, et la pression intra-ventriculaire diminue en raison de la relaxation myocardique, mais sans changement du volume ventriculaire car toutes les valves sont fermées à ce moment là. A la fin de cet intervalle la pression intra-ventriculaire baisse tant moins de la pression intra-auriculaire (Patteson, 1996d; Bright et Marr, 2010).
- 2- Le remplissage diastolique précoce (remplissage passif): la relaxation des fibres myocardiques continue tant que l'ouverture de la valve mitrale est forcée en raison de la pression intra-ventriculaire soit négative par rapport la pression intra-auriculaire (Patteson, 1996d; Bright et Marr, 2010). Lors de l'ouverture de la valve mitrale, la majorité du remplissage ventriculaire se fait passivement pendant cette phase diastolique. Dans cette phase la vitesse de l'influx ventriculaire ainsi le volume sanguin transféré de l'oreillette vers le ventricule peuvent être déterminés en fonction de l'augmentation de la pression gradient produite par la tension baisse de myocarde ventriculaire (Bright et Marr, 2010). Comme le remplissage ventriculaire continue progressivement, la différence entre la pression intra-ventriculaire et la pression intra-auriculaire continue à diminuer jusqu'elle soit proche de zéro.
- 3- Le diastasis: pendant cette phase, des changements minimaux du volume et de la pression intra-ventriculaire se produisent. Dès lors, un petit volume sanguin continue à écouler vers les ventricules. En effet, cela fait une contribution au remplissage ventriculaire négligeable.
La durée de diastasis varie inversement par rapport à la fréquence cardiaque, c'est pourquoi, cette période est l'intervalle de diastole le plus long chez les chevaux au repos (Patteson, 1996d; Bright et Marr, 2010).
- 4- La contraction auriculaire (remplissage actif): un volume sanguin significatif contribue au remplissage pendant cette deuxième période du remplissage qui s'est produite grâce à la contraction des oreillettes (systole auriculaire) (Patteson, 1996d; Bright et Marr, 2010). Chez les chevaux au repos, la contraction auriculaire a un effet quasi négligeable sur le remplissage ventriculaire (Bright et Marr, 2010).
Lors que parler des événements et des phases de cycle cardiaque, on focalise sur le cœur gauche. En effet, les événements se produisant dans le cœur droit sont simultanés et homologues avec ceux-ci de cœur gauche, cependant, la pression systolique maximal de ventricule droit et l'artère pulmonaire est moins comparable que celle de cœur gauche (Bright et Marr, 2010).

1.3.2. La fonction (performance) cardiaque:

La performance cardiaque globale est un terme qui signifie la capacité du cœur de pomper le sang nécessaire pour répondre aux besoins métaboliques tissulaires (Bright et Marr, 2010). La performance cardiaque globale dépend à la fois de la fonction ventriculaire et de la fonction auriculaire, mais il faut

savoir que c'est la performance ventriculaire qui est largement la plus importante (Bright et Marr, 2010).

Lorsque l'on parle de la fonction ventriculaire, il faudrait distinguer entre sa fonction systolique et sa fonction diastolique.

1.3.2.1. La fonction ventriculaire systolique:

La fonction ventriculaire systolique est définie comme la capacité des ventricules à se contracter et à éjecter le sang. Plusieurs facteurs ont une influence majeure sur la fonction ventriculaire systolique, à savoir la pré-charge, la post-charge, la contractilité et la fréquence cardiaque (Bright et Marr, 2010).

La pré-charge: C'est l'étirement des myocytes ventriculaires en fin diastole, représenté par la pression ou le volume ventriculaire en fin diastole (Patteson, 1996d; Bright et Marr, 2010). Dans les conditions physiologiques de remplissage ventriculaire, selon le phénomène de Frank-Starling, au plus le volume ventriculaire en fin diastole est grand, au plus le volume d'éjection systolique est important (Roy, 1978).

Plusieurs facteurs peuvent influencer la pré-charge, comme par exemple le retour veineux ou la résistance vasculaire périphérique. Elle peut ainsi être modifiée lors d'effort, de gestation, de choc septique (Bright et Marr, 2010).

La post-charge: C'est la force contre laquelle le ventricule se contracte afin d'éjecter le sang (Patteson, 1996d), ou plus précisément c'est la force s'opposant au raccourcissement des myocytes ventriculaires (Bright et Marr, 2010). Plusieurs facteurs influencent la post-charge, comme par exemple la pression et la résistance artérielle (Nichols et Pepine, 1982), ainsi la tension de paroi du myocarde (Patteson, 1996d).

La relation entre la post-charge et la fonction systolique ventriculaire est inversée. Par exemple, en cas d'augmentation de la résistance vasculaire, le raccourcissement systolique du myocarde ventriculaire est entravé, et le volume d'éjection systolique est diminué (Bright et Marr, 2010).

La contractilité: elle représente la capacité intrinsèque du myocarde à se contracter. Elle se définit, par défaut, par ce qui rend compte des modifications de la force de contraction quand la fréquence cardiaque, la pré-charge, et la post-charge sont constantes.

Il est important de faire la distinction entre, d'une part, la fonction ventriculaire qui dépend du statut contractile propre du myocarde et, d'autre part, la fonction ventriculaire décrivant la performance du pompage ventriculaire influencée par la pré-charge et la post-charge (Patteson, 1996d; Bright et Marr, 2010).

La mesure de la contractilité est très difficile à réaliser chez des animaux sains. C'est pourquoi l'évaluation de la contractilité est souvent faite simultanément avec la fonction systolique et confondue avec cette dernière (Bright et Marr, 2010). La contractilité myocardique peut être modifiée par de nombreux facteurs externes au myocarde, comme par exemple certains produits métaboliques locaux tels que la disponibilité en calcium ou des substances circulantes telles que des hormones (les

catécholamines essentiellement), des agents pharmacologiques ou encore des toxines endogènes ou exogènes. La contractilité myocardique peut encore être affectée par des processus pathologiques tels que de l'acidose, une infraction ou encore une ischémie (Bright et Marr, 2010).

Le synchronisme inter-ventriculaire et intra-ventriculaire de la contraction du myocarde ne joue pas un rôle significatif dans les alternations physiologiques de la fonction ventriculaire (Bright et Marr, 2010). Par contre, dans plusieurs pathologies cardiaques, un asynchronisme est détectable et influence la fonction systolique, le remodelage ventriculaire, ainsi la mortalité (Bax *et al.*, 2005).

1.3.2.2. La fonction ventriculaire diastolique

Bien que l'importance de la fonction myocardique systolique soit souvent bien évaluée, l'importance de la fonction diastolique, qui représente les capacités de remplissage ventriculaire, a par contre souvent été négligée dans le passé (Bright et Marr, 2010). Pourtant, une altération de la fonction diastolique peut avoir des répercussions significatives sur la fonction cardiaque globale, comme cela a été démontré dans des études de plus en plus nombreuses.

Le remplissage ventriculaire est principalement influencé par le retour veineux, la fonction atriale, la fonction valvulaire auriculo-ventriculaire, l'élasticité du péricarde, et l'élasticité et la relaxation myocardique (Bright et Marr, 2010).

Une perturbation de la performance diastolique ventriculaire résulte le plus souvent d'une diminution de l'élasticité ventriculaire (raideur du myocarde) ou de troubles de la relaxation du myocarde ventriculaire.

En cas de diminution de l'élasticité ventriculaire, il y a une augmentation significative de la pente pression-volume ventriculaire en fin diastole, ce qui implique la nécessité d'augmenter la pression pour accomplir le remplissage ventriculaire en fin diastole. L'élasticité ventriculaire peut diminuer de façon chronique dans plusieurs cas de figure tels qu'une hypertrophie pathologique de la paroi, de la fibrose myocardique ventriculaire, une tamponnade ou constriction péricardique, des maladies infiltratives, ou encore une dilatation ventriculaire (Schlant et Sonnenblick, 1994).

La relaxation myocardique ventriculaire dépend d'un ensemble de processus énergétiques permettant aux myocytes de récupérer leur longueur et tension normales en fin de diastole. Les perturbations de la relaxation myocardique résultent en une chute précoce du remplissage ventriculaire.

Dans un cœur intact, plusieurs facteurs physiologiques influençant la relaxation myocardique tels que: les conditions de charge ventriculaire, la synchronisation de la contraction et la relaxation ventriculaire, les processus contrôlant les échanges et l'activation de passage intracellulaire des ions de calcium (Lorrell, 1991). Par contre, des changements aigus de la relaxation myocardique peuvent résulter à cause de plusieurs conditions pathologique comme; la dysfonction diastolique associant à la sténose aortique ou pulmonaire ou bien à l'hypertension pulmonaire ou systémique, l'hypoxie, l'ischémie cardiaque, troubles de la post-charge, la tachycardie et plusieurs agents pharmacologiques

et surtout les catécholamines. De plus, la relaxation myocardique peut se varier indépendamment même contrairement aux affects inotropiques (Bright et Marr, 2010).

Chez l'athlète humain comme chez l'athlète équin, il a été démontré que l'effort intense prolongé affecte la fonction diastolique, et ce d'autant plus dans des conditions de stress thermique important (MARR *et al.*, 1999).

1.3.2.3. La fonction auriculaire

La fonction auriculaire systolique influence significativement la performance cardiaque globale car elle influence le volume d'éjection systolique ventriculaire. En effet, chez un cheval sain au repos, le rôle de remplissage ventriculaire par les oreillettes a un effet négligeable sur l'efficacité fonctionnelle de la pompe cardiaque, elle joue par contre un rôle important pour atteindre la performance maximale lorsque la sollicitation de la pompe cardiaque est augmentée, comme par exemple au cours de l'effort (Deem et Fregin, 1982; Marr *et al.*, 1995).

En cas d'arythmie telle qu'une fibrillation auriculaire, de la tachycardie ventriculaire ou un bloc auriculo-ventriculaire avancé, l'absence de contraction auriculaire efficace résulte en deux conséquences hémodynamiques majeures : une augmentation de la pression auriculaire, et une diminution de la pression et du volume ventriculaire en fin diastole. Ces troubles se manifestent cliniquement par de l'intolérance à l'effort, de la faiblesse, voire des syncopes (McGuirk et Muir, 1985).

Tout comme pour la fonction ventriculaire, plusieurs facteurs peuvent influencer la fonction auriculaire, comme par exemple la pré-charge auriculaire, les forces opposant à la vidange auriculaire, l'effet des inotropes positifs ou encore l'élasticité des oreillettes (Thomas et Weyman, 1991; Hoit *et al.*, 1994a; Hoit *et al.*, 1994b; Nishikawa *et al.*, 1994). D'autre part, une amélioration de la fonction auriculaire est un mécanisme compensatoire important qui a été démontré en cas d'insuffisance cardiaque congestive (ICC) (Dernellis *et al.*, 2000).

1.3.3. Adaptation cardiaque à l'effort

À l'effort, la fonction cardiaque est très largement sollicitée pour répondre à la consommation en oxygène qui augmente considérablement. Chez le cheval, la fréquence cardiaque s'élève considérablement résultant en une augmentation du volume d'éjection systolique et une augmentation importante du débit cardiaque (Young et Evans, 2010).

1.3.3.1. La fréquence cardiaque à l'effort

La fréquence cardiaque (FC) augmente rapidement en début d'effort pour atteindre un pic appelé « overshoot » par les anglo-saxons, puis, endéans les 2-3 premières minutes de l'effort, elle diminue rapidement à un niveau stable et proportionnel au niveau d'effort demandé (Persson, 1967). Cette

tachycardie est associée à une augmentation de l'activité sympathique avec libération de catécholamines (Hamlin *et al.*, 1972).

En dessous de la FC maximale, une relation linéaire a été décrite entre la FC et le niveau d'effort chez des chevaux soumis à des épreuves de nage, de trot ou de galop (Persson, 1967; Lindholm et Saltin, B, 1974; Thomas *et al.*, 1980; Thomas et Fregin, 1981; Seeherman et Morris, 1991). Classiquement, cette relation est établie en soumettant le cheval à un test d'effort standardisé sur tapis roulant (ou à la limite sur piste avec enregistrement de la vitesse avec un système GPS) en augmentant la vitesse par paliers d'une durée de chacun 1 à 2 minutes. A partir de la mesure de la FC à chaque palier de vitesse, il est possible de calculer plusieurs variables, dont les plus utilisées sont la vitesse à une FC de 200 battements/minutes (V_{200}) et la vitesse à laquelle la FC maximale est atteinte (V_{FCmax}), qui correspond à la vitesse à partir de laquelle la linéarité entre la FC et la vitesse est perdue, puisqu'à des vitesses supérieures, la FC ne s'élève plus (Rose et Hodgson, 1994). Ces variables sont utiles pour comparer des chevaux à tester avec des chevaux sains, ou bien pour mesurer les changements de la FC en réponse à l'effort suite à une période d'entraînement ou de désentraînement (Rose et Hodgson, 1994). Bien que certaines études ont utilisé la variable V_{140} (vitesse à laquelle la FC est de 140 battements/minute), la variable V_{200} est néanmoins considérée comme supérieure car elle représente une intensité d'effort produisant une concentration de lactates de 4 mmol/L, qui est considérée comme le seuil anaérobie (Person, 1983). Cependant, V_{200} ne prend pas en compte la réserve cardiaque se situant entre la FC 200 battements/minutes et la FC maximale, et qui peut être assez importante chez certains chevaux (Young et Evans, 2010). D'autre part, la FC_{max} est affectée par d'éventuelles dysrythmies ventriculaires ou une fibrillation auriculaire (Young, 2003).

Plusieurs facteurs pathologiques peuvent influencer la relation entre la FC et l'intensité de l'effort. Parmi ceux-ci, on peut par exemple citer la déshydratation (Naylor *et al.*, 1993) ou la pousse (Littlejohn *et al.*, 1977; Littlejohn *et al.*, 1983; King *et al.*, 1994). Ces deux facteurs résultent en une FC plus élevée pour un niveau d'effort donné chez les chevaux affectés que chez les chevaux sains.

La récupération de la FC après exercice se produit normalement en 2 phases : une première phase de chute rapide, endéans la première minute après l'effort, puis une seconde phase de réduction beaucoup plus graduelle jusqu'à la FC de repos (Persson, 1967; Banister et Purvis, 1968; Marsland, 1968; Hall *et al.*, 1976).

Il a été démontré dans une étude comparant des mesures échocardiographiques avant et après effort chez des chevaux que la récupération de la FC était prolongée dans un environnement chaud et humide (30°C et humidité relative 80%) par rapport à un environnement moins chaud et moins humide (MARR *et al.*, 1999). Cela suggère l'effet de la déshydratation réduisant la pré-charge ou bien une redistribution du flux sanguin dans un environnement chaud et humide.

1.3.3.2. Volume d'éjection systolique à l'effort

Le volume d'éjection systolique (SV) chez les chevaux au repos se situe entre 800 et 900 ml (2-2.5 ml/kg) (Thomas *et al.*, 1983). Pendant la transition entre le repos et l'effort sous-maximal, le SV augmente d'environ 20-50% (Waugh *et al.*, 1980; Thomas et Fregin, 1981; Thornton *et al.*, 1983; Weber *et al.*, 1987). Au même moment, l'intensité de l'effort augmente de 40% $V_{O_{2max}}$ jusque 100% $V_{O_{2max}}$ (Evans et Rose, 1988).

1.3.3.3. Débit cardiaque à l'effort

A l'effort, grâce à l'augmentation, comme mentionné ci-dessus, à la fois de la FC et du SV, le débit cardiaque (CO) d'un cheval augmente considérablement pour répondre à la forte augmentation de la consommation d'oxygène. Ainsi, à l'effort, le CO peut atteindre des valeurs considérables, de l'ordre de 300 L/minute soit 0.6 L/Kg/minute (contre 40 L/minute soit 0.08 L/Kg/minute au repos), chez un cheval réalisant un effort maximal (Young et Evans, 2010).

Cette augmentation du CO à l'effort peut être entravée par la déshydratation chez des chevaux réalisant des efforts intenses de longue durée dans des environnements chauds (Naylor *et al.*, 1993).

1.3.4. Les réponses cardiaques à l'entraînement

Les adaptations cardiovasculaires à l'entraînement ont largement été documentées chez l'athlète humain (Crawford, 1992). Chez l'athlète d'endurance, il a été démontré que l'entraînement induit une augmentation du CO maximal associée à une augmentation du SV systolique maximal, ainsi qu'une augmentation du diamètre interne du ventricule gauche. D'une autre part, la FC au repos et pendant l'effort sous-maximal est diminuée chez ces athlètes en raison d'une augmentation du tonus parasympathique d'une part, et d'une augmentation du SV d'autre part (Crawford, 1992).

Dans une étude, après 10 semaines de l'entraînement constituée d'un test à l'effort sur tapis roulant au trot à une vitesse de 12 km/h, une pente de 11.5%, et la FC de 150 bpm, une augmentation du SV de 10% a été rapportée (Thornton *et al.*, 1983). Cependant, les résultats des études à ce sujet sont contradictoires. Il est probable que les différences observées sont attribuables à des différences quant aux méthodes et aux designs expérimentaux utilisés dans les études, en particulier en ce qui concerne le type d'entraînement et le test d'effort utilisé pour évaluer le niveau d'entraînement (Young et Evans, 2010).

Les changements échocardiographiques induits par l'entraînement chez les chevaux, surtout les chevaux d'endurance, sont comparables à ceux chez des athlètes humains entraînés en endurance (Amory *et al.*, 2006). À cet égard, La masse cardiaque chez des chevaux entraînés est significativement plus élevée que chez des chevaux au repos (Kubo *et al.*, 1974). Également, les dimensions cardiaques ainsi les épaisseurs des parois cardiaques sont significativement plus élevées chez les chevaux athlétiques que chez les chevaux au repos (Young, 1999; Buhl *et al.*, 2005b).

L'entraînement n'influence pas les FC au repos et maximale chez les chevaux (Evans et Rose, 1988; Foreman *et al.*, 1990; Seeherman et Morris, 1991). De même, la cinétique de récupération de la FC après l'effort est indépendante du niveau d'entraînement (Seeherman et Morris, 1991). Par contre, la V_{200} augmente avec l'entraînement (Art *et al.*, 2000).

1.4. Biomarqueurs des pathologies cardiaques

L'identification de biomarqueurs circulants qui pourraient apporter de nouvelles perspectives pour le diagnostic, le pronostic ou le suivi de pathologies cardio-vasculaires constitue un thème de recherche majeur en médecine humaine (Marr, 2010c). L'explosion récente de la recherche dans ce domaine a été stimulée pour une grande part par le développement de la protéomique et de la génomique, et par l'amélioration de la compréhension des mécanismes patho-physiologiques impliqués dans les maladies cardio-vasculaires (essentiellement sur l'insuffisance cardiaque et les syndromes coronaires aigus). Cependant, malgré qu'un nombre impressionnant de biomarqueurs aient été testés, seulement un petit nombre d'entre eux sont utilisés en routine en médecine humaine (Amory *et al.*, 2008).

Les biomarqueurs cardiaques sont peu utilisés en routine en médecine vétérinaire, bien que leur utilisation ait augmenté ces dernières années chez les animaux de compagnie. La raison en est le manque de connaissance de ces biomarqueurs, le manque de spécificité des techniques utilisées pour les mesurer, et l'incidence plus faible des maladies cardiaques en médecine vétérinaire en comparaison à la médecine humaine (Amory *et al.*, 2008; Marr, 2010c).

1.4.1. Les catécholamines

En médecine humaine, la mesure des taux plasmatiques de catécholamines est utilisée pour estimer la stimulation sympathique et évaluer le pronostic en cas d'ICC (Cohn *et al.*, 1984; Esler *et al.*, 1997).

Les taux plasmatiques de noradrénaline (norépinephrine) et d'adrénaline (épinephrine) ont été mesurés chez des chevaux sains et chez des chevaux présentant une insuffisance aortique (IA) associés ou non à des signes cliniques. Dans cette étude, les taux de noradrénaline n'étaient pas significativement différents dans les deux groupes, au contraire des taux d'adrénaline qui étaient significativement plus élevés chez les chevaux présentant de l'IA par rapport aux chevaux sains (Horn, 2002a). Cependant, l'utilisation des catécholamines comme indicateurs cliniques de pathologie cardiaque chez les chevaux est limitée en raison des variations circadiennes de ces hormones, de leur très faible stabilité dans les prélèvements, et de leur manque de sensibilité et de spécificité pour déterminer la gravité de la pathologie et son évolution (Horn, 2002a).

1.4.2. Système de Rénine-Angiotensine-Aldostérone

Le système Rénine-Angiotensine-Aldostérone (RAAS) a pour fonction de maintenir la pression artérielle en cas de la diminution de CO en activant une série de mécanismes qui résultent en une

rétenion de sodium et d'eau. De plus, l'angiotensine II est un vasoconstricteur périphérique qui contribue à augmenter la résistance vasculaire, et il renforce la libération de noradrénaline. L'aldostérone quant à elle contribue à la rétenion du sodium et joue de ce fait un rôle essentiel dans la formation des œdèmes en cas d'ICC. En fin, l'angiotensine et l'aldostérone jouent un rôle essentiel dans d'autres processus pathologiques tels que par exemple le remodelage et la fibrose qui participent au développement de la dysfonction diastolique ventriculaire (Colucci et Braunwald, 2005).

Il a été démontré que l'activité de la rénine et la concentration en aldostérone sont augmentées et corrélées avec la cardiomyopathie dilatée chez le chien (Koch *et al.*, 1995).

Par ailleurs, une activation accrue du système RAAS a été démontrée chez des chiens présentant une insuffisance mitrale (IM) dans les stades précoces (Pedersen *et al.*, 1995). De plus, une diminution de la concentration plasmiqne en angiotensine II et en aldostérone lors de la décompensation cardiaque a été démontrée dans une autre étude dans cette espèce (Häggström *et al.*, 1997). Chez des chevaux présentant des insuffisances valvulaires, il a été démontré une relation positive entre l'augmentation de la concentration plasmiqne en aldostérone et la sévérité de l'insuffisance valvulaire avec des différences significatives entre les chevaux sains et ceux présentant de la dilatation du ventricule gauche et l'oreillette gauche (Gehlen *et al.*, 2008).

1.4.3. Les enzymes cardiaques et la Troponine

Les iso-enzymes cardiaques de la créatine kinase, du lactate déshydrogénase et de l'aspartate transaminase ont été les premiers biomarqueurs cardiaques à avoir été utilisés pour détecter des lésions myocardiques. Cependant, ces biomarqueurs présentent un manque de spécificité et une faible sensibilité et ont supplantés par l'émergence de nouveaux marqueurs, si bien qu'ils ne sont quasi plus voire plus utilisés en médecine humaine comme en médecine vétérinaire (Reef *et al.*, 1998).

Parmi les marqueurs émergents, la troponine est actuellement considérée comme le "gold standard" en matière de détection de lésions myocardiques. Il s'agit d'un complexe de trois protéines qui a la capacité de se lier au calcium et qui participe ainsi à la régulation de la contraction des muscles cardiaques et squelettiques.

La troponine se présente sous la forme de 3 sous-unités qui ont des fonctions spécifiques :

- La troponine C (TnC) se lie aux ions de calcium, ce qui produit un changement de sa conformation, ce qui inhibe la troponine I (TnI).
- La troponine T (TnT) se lie à la tropomyosine, formant un complexe troponine-tropomyosine qui bloque cette dernière.
- La TnI se lie se lie à l'actine en fin myofilaments pour conserver le complexe troponine-tropomyosine en place (Marr, 2010c).

Les isoformes cardiaques de ces trois sous-unités (cTnC, cTnT et cTnI, respectivement) peuvent être mesurées dans le sérum. Il y a une forte homologie structurelle de la troponine entre espèces, surtout en ce qui concerne la cTnI, ce qui fait que les immuno-essais disponibles sur le marché pour la

médecine humaine peuvent être utilement utilisés en médecine vétérinaire (O'Brien *et al.*, 1997; O'Brien *et al.*, 1998).

En cas de dommages myocardiques, les troponines cardiaques sont libérées dans la circulation, et ce largage dépend de la gravité et de la nature du problème (Peacock *et al.*, 2008). Certaines pathologies non cardiaques (exemple : embolisme pulmonaire, hypothyroïdisme, insuffisance rénale, etc.) peuvent cependant aussi être associées à des élévations des troponines circulantes (Rosenbaum et Januzzi, 2008).

Dans l'espèce équine, la concentration de cTnI est normalement basse au repos (Phillips *et al.*, 2003). Une augmentation modérée de sa concentration a été observée chez certains chevaux après un effort de longue durée en course endurance (Holbrook *et al.*, 2006), après un test à l'effort sur tapis roulant (Durando *et al.*, 2006) ou après une course d'endurance (Nostell et Häggström, 2008). D'autre part, des augmentations significatives de la concentration de cTnI ont été rapportées chez des chevaux présentant une pathologie myocardique ou une arythmie ventriculaire sévère (Schwarzwald *et al.*, 2003; Johnson *et al.*, 2007; Diana *et al.*, 2007) et chez des poulains en septicémie (Slack *et al.*, 2005).

1.4.4. Les peptides natriurétiques

Les peptides natriurétiques (principalement le *Brain Natriuretic Peptide* ou BNP et le *Atrial Natriuretic Peptide* ou ANP) sont libérés par le myocarde en réponse à une élongation des fibres ou en réponse à une activation neurohormonale. Ils ont des propriétés vasodilatatrices et stimulent l'excrétion du sodium, s'opposant ainsi aux effets néfastes du RAAS et de la vasopressine (Marr, 2010c). En médecine humaine, ils constituent des tests fiables de diagnostic et de pronostic en cas d'ICC.

Chez l'homme, il a été démontré que le BNP (ou mieux encore son précurseur le NT-BNP qui est plus stable) est plus sensible que l'ANP (ou son précurseur NT-ANP) comme indicateur d'une pathologie myocardique. Il constitue un bon marqueur quantitatif de l'ICC (Maurellet et Liu, 2008), ainsi que d'une dysfonction diastolique du ventricule gauche (Nielsen *et al.*, 2003).

En médecine équine, seul l'ANP est mesurable car les tests disponibles sur le marché pour mesurer le BNP ne sont pas validés dans cette espèce (Mifune *et al.*, 1995). Il a été démontré que la concentration de l'ANP augmente après l'effort chez des chevaux sains (Kokkonen *et al.*, 1995; Nyman *et al.*, 1998; Kokkonen *et al.*, 1999; Kokkonen *et al.*, 2002), et que cette augmentation est plus importante chez des pur-sangs entraînés plus âgés par rapport à des plus jeunes (McKeever et Malinowski, 1999). En outre, une étude a été réalisée dans un groupe de chevaux sains et dans des groupes de chevaux présentant une IM avec ou sans dilatation auriculaire et ventriculaire. Dans cette étude, aucune différence significative n'a été mise en évidence entre groupes, et aucune corrélation n'a été démontrée entre le taux circulant d'ANP et la taille des oreillettes ou des ventricules (Gehlen *et al.*, 2007b). Par contre, la concentration plasmatique d'ANP augmente significativement avec l'insuffisance valvulaire et la dilatation de l'oreillette gauche (Trachsel *et al.*, 2012).

Il serait intéressant de vérifier les résultats de ces études sur un plus grand nombre de cas et dans d'autres pathologies cardiaques (Marr, 2010c).

1.5. Pathophysiologie de l'insuffisance cardiaque

L'insuffisance cardiaque est généralement définie comme une incapacité du cœur à pomper une quantité suffisante de sang pour répondre aux besoins métaboliques de l'organisme malgré un retour veineux suffisant. Ce syndrome se manifeste cliniquement soit au repos soit à l'effort, par une intolérance à l'effort, de la congestion et des œdèmes, et/ou une perfusion périphérique réduite (Bright, 2010).

1.5.1. Mécanismes de l'insuffisance cardiaque

Une ICC peut-être causée par une diminution du statut inotrope, une insuffisance de remplissage ventriculaire, et/ou une surcharge volumique.

Chez le cheval, les ICC sont le plus souvent provoqués par une surcharge volumique résultant d'une insuffisance valvulaire ou d'un shunt intra-cardiaque gauche-droit (Bright, 2010).

Quelque soit l'étiologie ou le mécanisme sous-jacent, l'ICC résulte en deux anomalies hémodynamiques: (1) une augmentation de la pression de remplissage qui est responsable des signes de congestion et des œdèmes et (2) une chute du CO qui résulte en une perfusion périphérique insuffisante (Bright, 2010).

La surcharge volumique des ventricules induit un étirement de leurs sarcomères, ce qui, en vertu de la loi de Starling, résulte en une augmentation de leur force de contraction pour éjecter le volume sanguin additionnel. Ce mécanisme permet au cœur d'augmenter le volume d'éjection systolique. Cependant, il est limité en durée et en efficacité (il ne peut résulter qu'en une augmentation maximale de 30 à 40% du SV). Une série de mécanismes adaptatifs additionnels sont activés par la chute du CO. L'organisme, et spécialement les reins, réagissent à la diminution du flux sanguin par une activation de nombreux mécanismes neuro-hormonaux complexes. On peut les deviser en deux grands groupes:

- ceux, défavorables (les "bad guys"), qui induisent une vasoconstriction, une rétention d'eau et de sodium, et la croissance myocardique. Ils incluent principalement les catécholamines (adrénaline et noradrénaline), le RAAS, la vasopressine, et l'endotéline-1.
- ceux, favorables (les "good guys"), qui résultent en une vasodilatation, une diminution de la rétention d'eau et de sodium, et une inhibition de la croissance myocardique. Ils incluent principalement les peptides natriurétiques (ANP, BNP), le gaz d'oxyde nitrique (NO) et les prostaglandines.

L'un des effets globaux majeurs de l'activation de ces mécanismes est, via la rétention d'eau et de sodium, une augmentation du volume sanguin et du retour veineux au cœur. L'étirement des sarcomères, conséquence de l'association du volume de régurgitation et de l'augmentation du volume sanguin, induit directement et indirectement une hypertrophie excentrique (Kittleson et Kienle, 1998).

Dans ce processus, l'hypertrophie des myocytes est causée par la réplication des sarcomères en série (de bout à bout), ce qui résulte en des myocytes plus longs et en une chambre cardiaque dilatée.

1.5.2. Hypertrophie ventriculaire

L'hypertrophie est la réponse cardiaque contre la surcharge hémodynamique significative résultant d'une anomalie cardiaque assez sévère. Il faudrait distinguer deux types d'hypertrophie:

- L'hypertrophie concentrique se manifestant par une augmentation de l'épaisseur de la paroi sans dilatation ventriculaire. Ce type d'hypertrophie résulte souvent d'une augmentation chronique de la pression intra-ventriculaire et est rarement rencontrée chez les chevaux (Bright, 2010).

- L'hypertrophie excentrique qui est caractérisée par une augmentation du volume du ventricule avec une épaisseur de parois relativement normale. L'augmentation du volume ventriculaire obtenue par ce mécanisme peut, dans les cas d'hypertrophie excentrique chronique, représenter une augmentation jusqu'à 200% du volume d'éjection systolique, ce qui est donc beaucoup plus élevé que l'augmentation de volume d'éjection systolique atteinte par le mécanisme de Starling. Cependant, comme pour ce dernier, ce mécanisme a aussi des limites: quand la pathologie devient plus sévère, le cœur atteint un niveau de dilatation tel qu'il ne peut plus se dilater au-delà. La tension de paroi ventriculaire augmente alors en parallèle à l'augmentation du volume ventriculaire, comme décrit par la loi de Laplace, avec pour corollaire une augmentation de la consommation en oxygène par le myocarde (Kittleson et Kienle, 1998). L'effet bénéfique initial de l'hypertrophie myocardique aboutit finalement à des effets délétères sur la fonction cardiaque systolique et diastolique (Patteson, 1996b; Kittleson et Kienle, 1998). De plus, dans les cas d'hypertrophie excentrique avancés, de la fibrose myocardique commence à s'installer. Une défaillance myocardique peut apparaître et accélérer le processus d'insuffisance cardiaque.

1.5.3. Signes cliniques d'insuffisance cardiaque congestive

Quand la pression en fin de diastole dépasse le seuil de 20 mmHg, les sarcomères sont étirés à leur maximum, et le ventricule ne dispose plus de réserve en pré-charge. Ce phénomène contribue à entraîner une chute du débit cardiaque, mais, étant donné que les mécanismes de rétention d'eau et de sels sont toujours stimulés à ce stade, le volume sanguin continue à augmenter. Attendu que les capacités de dilatation du cœur ont atteint leur maximum, l'augmentation du volume sanguin en diastole se traduit par une augmentation de la pression ventriculaire diastolique. Par conséquent, une augmentation de la pression hydrostatique s'installe en amont du cœur gauche, à savoir dans les capillaires pulmonaires puis dans le réseau veineux systémique, ce qui cause une hypertension artérielle pulmonaire et une augmentation de la transsudation des fluides vers les tissus (Bonagura et Herring, 1985; Reef, 1995b; Patteson, 1996b).

En cas d'ICC aigüe, comme par exemple en cas de rupture de cordages majeurs de la mitrale, une élévation brutale de la pression se produit dans l'oreillette gauche qui, attendu le caractère aigu du

phénomène, ne peut adapter sa compliance à la surcharge volumique et réagit dès lors comme une cavité relativement rigide. Dès lors, les pressions élevées provoquées par la régurgitation aigüe se transmettent vers le réseau pulmonaire. Par conséquent, une congestion et un œdème pulmonaire aigus s'installent et peuvent entraîner la mort subite de l'animal atteint (Bonagura, 1990; Marr *et al.*, 1990; Marr et Reef, 1995; Patteson, 1996b; Miller *et al.*, 2011).

Par contre, dans le cas du développement progressif et chronique d'une ICC (le cas le plus souvent rencontré dans l'espèce équine), contrairement à l'IM aigüe, la compliance de l'oreillette gauche s'adapte à l'augmentation progressive de la surcharge volumique de l'oreillette gauche, et celle-ci se dilate lentement (souvent sur plusieurs années) avec l'évolution de la pathologie, ce qui la prédispose, dans les stades avancés, à la fibrillation auriculaire (Miller *et al.*, 2011).

1.6. Conclusion

L'intégrité cardiaque est essentielle pour la réalisation de performances athlétiques parfaites du cheval. Étant donné que toute pathologie cardiaque peut potentiellement influencer significativement la fonction cardiaque, la compréhension de l'anatomie et la physiologie cardiaque est essentielle pour maîtriser les techniques diagnostiques, ainsi que pour interpréter les signes collectés lors de l'examen clinique et la mise en place des examens complémentaires.

II. Échocardiographie

2.1. Introduction

Depuis une trentaine d'année, l'échocardiographie est une technique qui est sans cesse en évolution et qui a révolutionné la cardiologie en général, et la cardiologie équine, qui ne disposait jusqu'alors que de peu d'outils de diagnostic, en particulier (Marr et Patteson, 2010b). Il s'agit d'une technique totalement non invasive et non douloureuse, tout en étant applicable, précise et reproductible, et ce même sur des patients de grande taille comme les chevaux (Pipers et Hamlin, 1977; Marr, 1994; Reef, 1995b; 1995c; Blissitt et Bonagura, 1995a; Martin *et al.*, 2000). Elle permet d'évaluer la morphologie et la fonction cardiaque, et dès lors elle joue un rôle central dans l'évaluation et le suivi de patients souffrant d'un problème cardiaque quel qu'il soit (Reef, 1991c; Buhl *et al.*, 2004). Elle revêt donc un intérêt diagnostique indéniable, mais constitue aussi un moyen aisé de réaliser un suivi longitudinal et apporte des éléments concrets de pronostic (Reef, 1991c; Buhl *et al.*, 2004).

2.2. Principes de base

2.2.1. Echocardiographie

Le son est un phénomène de raréfaction et de condensation des particules d'un milieu, qui sont transmises à une fréquence dépendante de la nature et des caractéristiques de ce milieu (Anderson, 2007b; Boon, 2011a). Si la fréquence d'une onde de son dépasse 20.000 Hz, celle-ci est alors appelée onde d'ultrason. Cette onde obéit aux lois d'optique d'absorption, de réfraction et de réflexion. La sonde échocardiographique est munie d'un cristal piézo-électrique, qui, quand il est soumis à un courant électrique de haute fréquence, se déforme de façon répétée et produit une onde d'ultrason de fréquence définie (Armstrong et Ryan, 2010c). Cette onde est envoyée à travers les tissus et un certain pourcentage de celle-ci est réfléchi chaque fois que le rayon rencontre un tissu de structure différente (ayant donc une impédance acoustique différente) (Anderson, 2007b; Boon, 2011a). Le cristal piézo-électrique de la sonde échocardiographique est aussi capable de générer un courant électrique quand il est mécaniquement déformé par l'onde de son réfléchi. Donc, le transducteur agit à la fois comme un émetteur (1 % de son activité) et comme un récepteur (99 % de son activité) d'ultrasons. Les ondes réfléchies sont alors récoltées et analysées par l'échocardiographe (Anderson, 2007b; Armstrong et Ryan, 2010c). L'analyse des ultrasons de retour peut se faire selon différents modes, le plus intéressant en pratique étant le mode B qui est une représentation selon laquelle les pics d'échos sont convertis en point de lumière dont l'intensité est proportionnelle à l'intensité du signal. Grâce à une informatisation des données récoltées, l'échographe reconstitue une image des structures balayées en deux dimensions (Anderson, 2007b). Cette variante du mode B est appelée le mode bidimensionnel (mode 2D) (Fig. 1A). Un autre mode utilisé en échocardiographie est le mode temps-mouvement (mode M), dans lequel l'image en mode B est mise en mouvement en fonction du temps, les points en mouvement

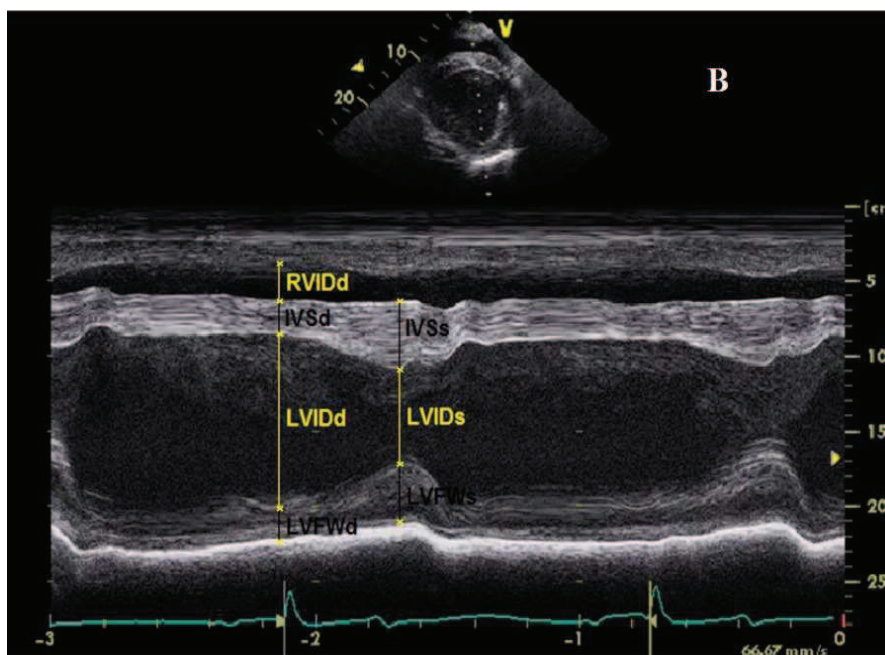
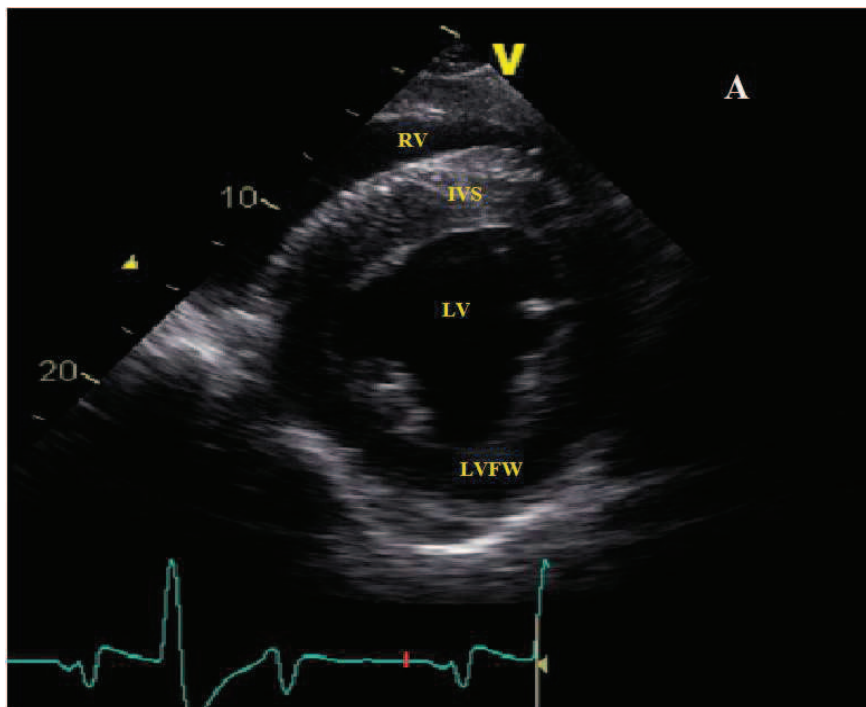


Figure 1: Vue parasternale droite petit axe du ventricule gauche à hauteur des cordages tendineux chez le cheval sain: en mode 2D (A), et en mode M (B).

VG: ventricule gauche, VD: ventricule droit, RVIDd: diamètre interne du ventricule droit en fin diastole, LVIDd et LVIDs: diamètre interne du ventricule gauche en fin diastole et en fin systole respectivement, IVSd et IVSs: l'épaisseur du septum interventriculaire en fin diastole et en fin systole respectivement, LVFWd et LVFWs: l'épaisseur de la paroi libre du ventricule gauche en fin diastole et en fin systole respectivement.

traçant le dessin de leur mouvement en fonction du temps (Fig. 1B). L'utilisation des modes 2D et M associés permet un examen cardiologique détaillé. Le mode M est le mode de choix pour mesurer, en systole et en diastole, la taille des cavités cardiaques (diamètre interne des oreillettes et des ventricules), l'épaisseur des parois (septum interventriculaire, paroi libre du ventricule gauche), et le diamètre de l'aorte et de l'artère pulmonaire (Boon, 2011d). Le mode M est aussi utilisé pour analyser le mouvement des différentes structures au cours du cycle cardiaque. Le mode 2D peut également servir à mesurer les différentes structures décrites ci-dessus, mais il est surtout avantageux pour identifier des masses, des épaissements des valves ou du péricarde, une effusion péricardique, des désordres régionaux du mouvement des parois, ou encore des anomalies congénitales (Boon, 2011d). Un examen échocardiographique permet ainsi de détecter de manière fiable et totalement non invasive des anomalies valvulaires, péricardiques ou de mouvement de parois, des hypertrophies pariétales ou des dilatations ventriculaires ou auriculaires, ou encore des malformations cardiaques congénitales (Young et Wood, 2000a; Boon, 2011d). D'autre part, l'échocardiographie permet d'évaluer la contractilité myocardique sur base d'une série d'indices fonctionnels calculés à partir des mesures d'épaisseur de parois ou de diamètre interne des ventricules en systole et en diastole (Boon, 2011d).

2.2.2. Doppler

En médecine humaine et vétérinaire, des progrès remarquables ont été réalisés dans l'utilisation des ultrasons à des fins de diagnostic grâce à la mise au point de l'appareil Doppler. Cet appareil permet d'estimer de façon non invasive la **vitesse** et la **direction** de l'écoulement du sang dans différents compartiments du coeur ou dans les vaisseaux, ainsi que de mettre en évidence l'apparition de **turbulences** anormalement liées à cet écoulement (Armstrong et Ryan, 2010c; Marr et Patteson, 2010a; Boon, 2011d).

Cet appareil est basé sur le principe connu en physique sous le nom d'effet Doppler, c'est-à-dire qu'il mesure la différence entre la fréquence des ultrasons émis (F_e) et la fréquence des ultrasons rétrodiffusés (FD) par des hématies en mouvement. La relation entre la vitesse du sang et la fréquence Doppler qui en résulte est (Marr et Patteson, 2010a):

$$FD = [2 v \cdot F_e \cdot \cos \varnothing] / c$$

Où: v = vitesse des hématies

c = vitesse du son dans le sang

\varnothing = angle entre l'axe du faisceau ultrasonore et celui du vaisseau

De cette équation, on peut conclure qu'au plus la sonde doppler est dirigée parallèlement au flux sanguin évalué, au plus le signal doppler sera grand, et au contraire au plus la sonde doppler est dirigée perpendiculairement au flux sanguin évalué, au plus le signal doppler sera proche de zéro (Armstrong et Ryan, 2010c; Marr et Patteson, 2010a).

Au départ, on utilisait un appareil à émission continue avec 2 capsules transductrices différentes pour respectivement l'émission et la réception des ultrasons. C'est ce que l'on appelle le doppler **continu** (Fig. 3B). Son avantage est de permettre d'enregistrer des vitesses sanguines élevées, mais son désavantage est de ne pas permettre de sélectionner la profondeur à laquelle on désire enregistrer un flux sanguin, ce qui rend son utilisation pratique difficile. La technique Doppler a ensuite été améliorée et des appareils à émission pulsée ont été introduits: un cristal piézo-électrique unique, à la fois émetteur et récepteur, émet de courtes impulsions. Pendant l'intervalle de temps séparant ces émissions successives, le transducteur reçoit les ultrasons réfléchis par les cellules sanguines. C'est ce que l'on appelle le doppler **pulsé**. L'avantage principal de ce type d'appareil est que l'on peut choisir la localisation de l'enregistrement doppler sur base de l'image bidimensionnelle produite par une échocardiographie classique réalisée simultanément. Cet avantage rend plus aisé l'interprétation des enregistrements doppler, mais limite les capacités techniques de ceux-ci: par exemple, les vitesses enregistrables seront plus étroites qu'avec l'appareil doppler continu (Armstrong et Ryan, 2010c; Marr et Patteson, 2010a).

Les doppler continu (Fig. 3B) et pulsé (Fig. 2B) fournissent une représentation du flux sanguin sous forme d'un flux spectral pulsatile selon un axe abscisse (vitesse)- ordonnée (temps) en noir et blanc, séparée de l'image échocardiographique. L'analyse comprend en outre une analyse spectrale, c'est-à-dire que l'intensité du signal Doppler dépend du nombre d'hématies se déplaçant à chaque vitesse du spectre et pour chaque moment analysé. Si le flux sanguin est normal, il est laminaire, et le spectre, qui ne comprend qu'une gamme étroite de vitesses pour chaque instant, se présente sous forme d'une enveloppe spectrale très dense (blanche) et un contenu pauvre (noir) (Fig. 2B). Par contre, si le flux sanguin est anormal, il devient turbulent, toutes les gammes de vitesses sont représentées à chaque instant, et le spectre se présente sous forme d'un contenu riche (grisé) (Fig. 3B) (Armstrong et Ryan, 2010c; Boon, 2011d).

Le dernier progrès en date dans le développement du doppler est la mise au point de l'appareil doppler **couleur**: celui-ci a la capacité de transformer le signal doppler conventionnel en un flux de couleur variable selon le sens de l'écoulement du sang, l'intensité de cette couleur étant proportionnelle à la vitesse et la turbulence du sang à l'écoulement, et de surimposer ce flux de couleur sur une image échocardiographique classique (Fig. 3A). Par convention, les flux positifs qui s'approchent de la sonde sont codés en rouge, les flux qui s'en éloignent sont codés en bleu. Cet appareil permet donc des interprétations qualitatives beaucoup plus aisées des images obtenues. Par contre, les mesures quantitatives (ex: vitesse du sang) réalisables par cette technique sont beaucoup plus limitées que celles réalisables au moyen d'un doppler continu ou pulsé (Armstrong et Ryan, 2010c; Marr et Patteson, 2010a).

En pratique, le doppler permet de mettre en évidence et de quantifier des flux de régurgitation ou des sténoses au niveau de chaque valvule cardiaque, ainsi que de mettre en évidence et de quantifier des shunts. Elle complète donc très utilement l'échocardiographie en mode 2D et M.

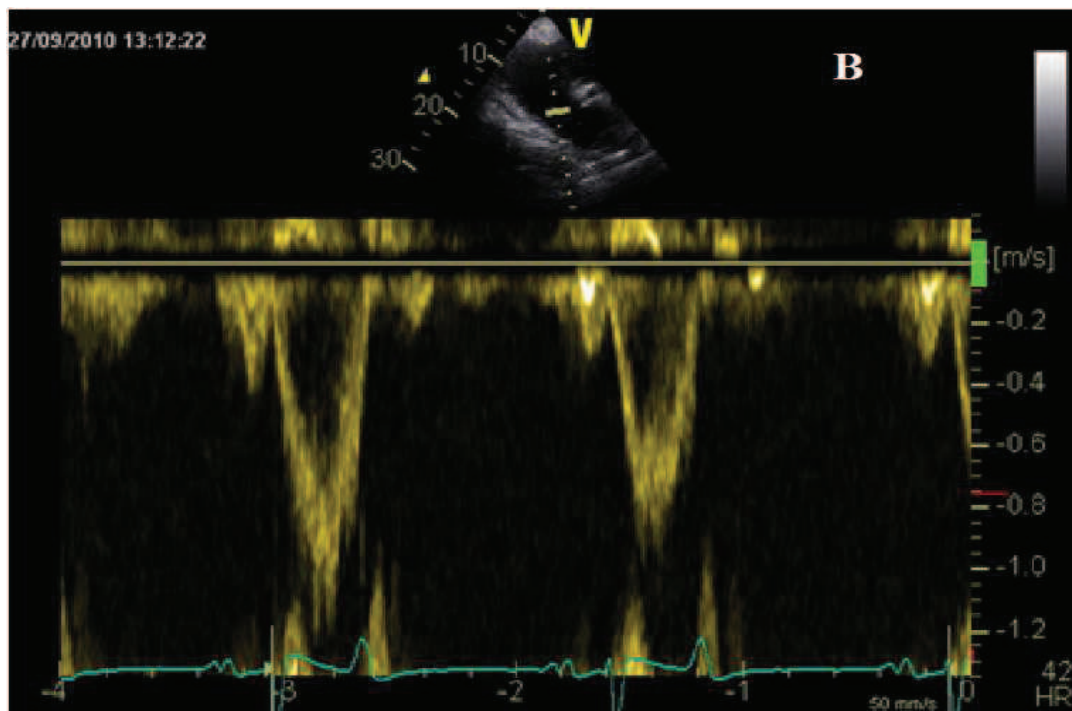
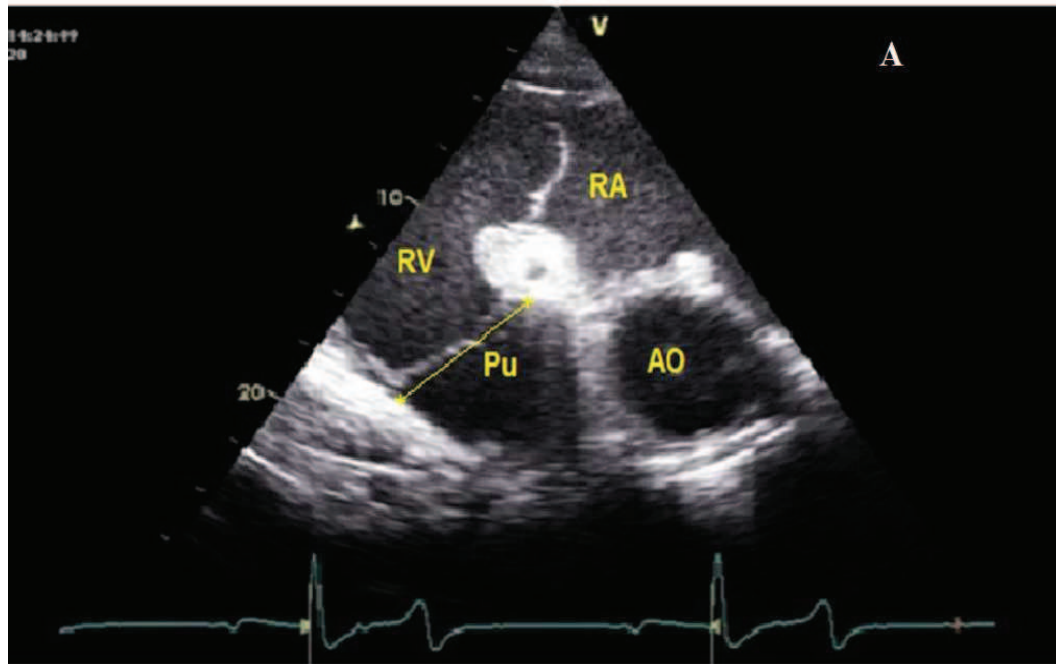


Figure 2: Vue parasternale droite en base cardiaque à hauteur du tractus d'éjection du ventricule droit chez le cheval sain: en mode 2D (A) et flux pulmonaire en mode Doppler pulsé noir et blanc obtenu dans cette vue (B).

AO: l'aorte, RA: oreillette droit, RV: ventricule droit, Pu: diamètre interne de l'artère pulmonaire.

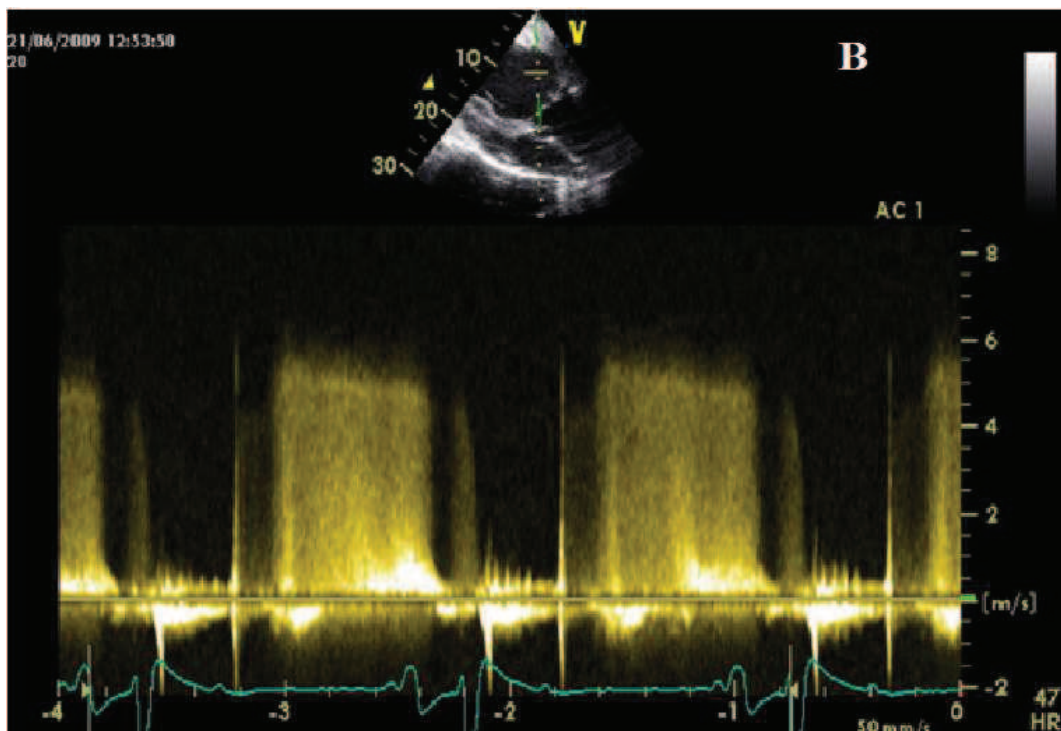
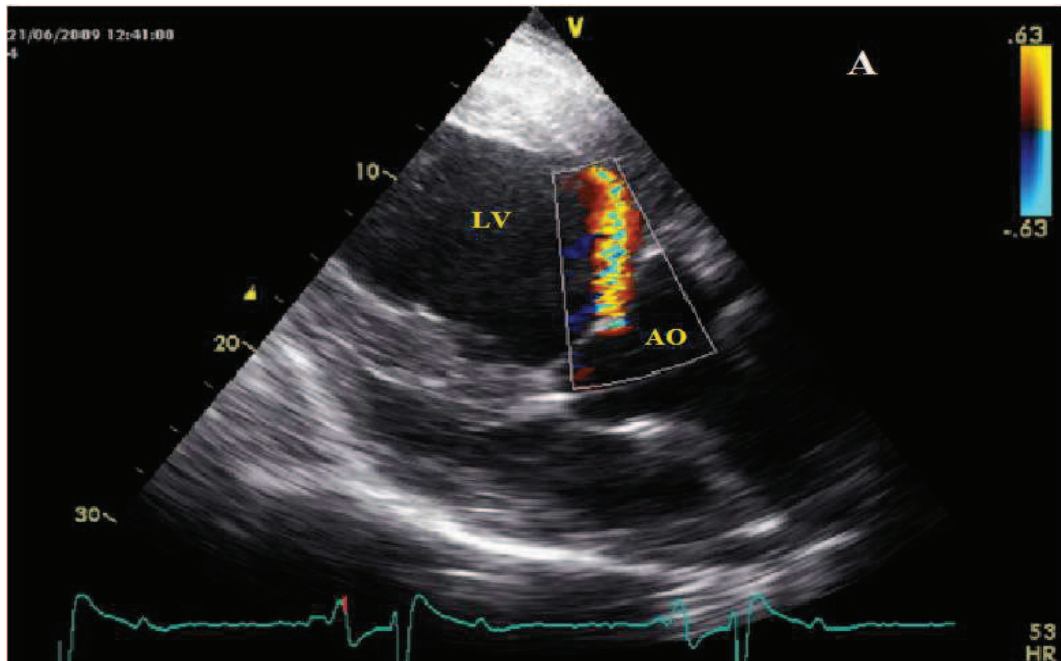


Figure 3: Flux de régurgitation d'une insuffisance aortique modérée en mode Doppler couleur (A) et Doppler continu (B) dans une vue parasternale gauche 2D long axe 4 cavités inclinée chez le cheval.
AO: l'aorte, LV: ventricule gauche.

2.3. L'examen échocardiographique chez le cheval

L'examen échocardiographique inclut l'enregistrement d'une série de vues standardisées successives selon différents plans et dans les différents modes échographiques et Doppler. L'interprétation des images est à la fois qualitative et quantitative, et dépend en grande partie de l'expertise de la personne qui réalise l'examen. Les mesures réalisées serviront à augmenter la puissance diagnostique de cet examen, mais les conclusions tirées dépendront également de l'évaluation qualitative globale et régionale des différentes structures et de leurs mouvements au cours des cycles cardiaques. Dans l'espèce équine, des guides anatomiques pour l'échocardiographie en mode M à partir de vues en 2D ont été décrits pour les vues parasternales droite et gauche (Bonagura *et al.*, 1985; Carlsten, 1987).

2.3.1. Préparation de l'animal

Si le cheval a un embonpoint faible ou normal, et présente un poil court et un thorax étroit, l'examen échographique pourra se faire en rinçant simplement abondamment la peau au moyen d'eau ou d'alcool. Dans le cas contraire ou si les images obtenues ne sont pas de qualité suffisante, il sera nécessaire de raser le cheval, ce qui permet de faire gagner nettement en qualité les images produites (Boon, 2011b).

2.3.2. Vues parasternales droites

L'examen échocardiographique commence en plaçant la sonde échocardiographique dans le 4^{ème} ou 5^{ème} espace intercostal droit, perpendiculairement à la paroi thoracique, juste au-dessus de la pointe du coude (Boon, 2011b). La position de la sonde est alors ajustée de façon à obtenir la vue 2D long axe 4 cavités de référence (Fig. 4). Dans cette vue, le septum interventriculaire doit être orienté le plus horizontalement possible. Elle permet d'évaluer de façon globale et comparative la taille des 4 chambres cardiaques, et de se faire une première idée générale de la fonction cardiaque. À partir de cette vue, la sonde est tournée dans le sens des aiguilles d'une montre et amenée dans une direction légèrement cranio-dorsale, de façon à obtenir une vue 2D long axe 5 cavités centrée sur le tractus d'éjection du ventricule gauche (Fig. 5). Dans cette vue, la racine de l'aorte doit être positionnée perpendiculairement à la sonde. Le mode M est alors sélectionné et permet un examen à la fois de la racine de l'aorte (incluant la valve aortique) et de l'oreillette gauche (Long *et al.*, 1992; Patteson *et al.*, 1995; Kriz et Rose, 2002).

En repartant de la 2D vue long axe 4 cavités de référence, la sonde est ensuite tournée à 90 degrés dans le sens des aiguilles d'une montre, ce qui permet de générer une vue selon le petit axe du coeur. Dans cette vue, la sonde est alors pivotée dorsalement ou ventralement jusqu'à ce qu'une vue 2D petit axe du ventricule gauche à hauteur des cordages tendineux soit obtenue, dans laquelle le septum interventriculaire, le ventricule gauche et la paroi libre du ventricule gauche sont traversés à angle droit et dans laquelle le ventricule gauche apparaît sous forme circulaire symétrique (Fig. 1A). À cette hauteur, ni les muscles papillaires ni les valves mitrales ne doivent être visibles dans le ventricule

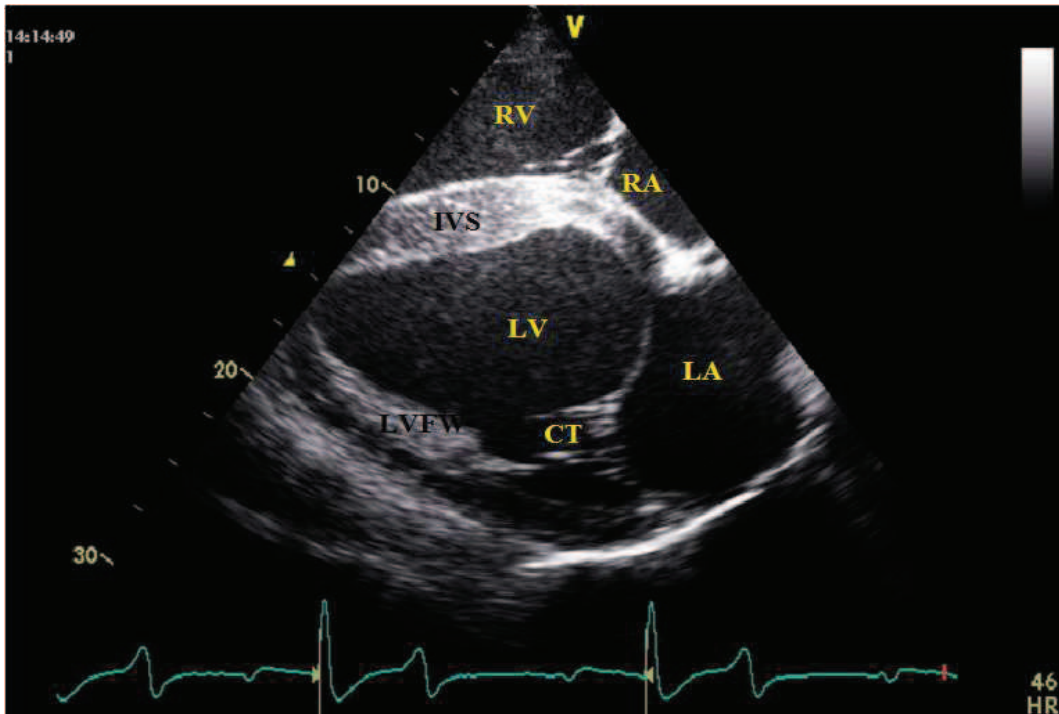


Figure 4: parasternale droite long axe 4 cavités en mode 2D chez le cheval sain
 LA: l'oreillette gauche, LV: ventricule gauche, RA: oreillette droite, RV: ventricule droit, CT: des cordages, IVS: septum interventriculaire, LVFW: paroi libre du ventricule gauche.

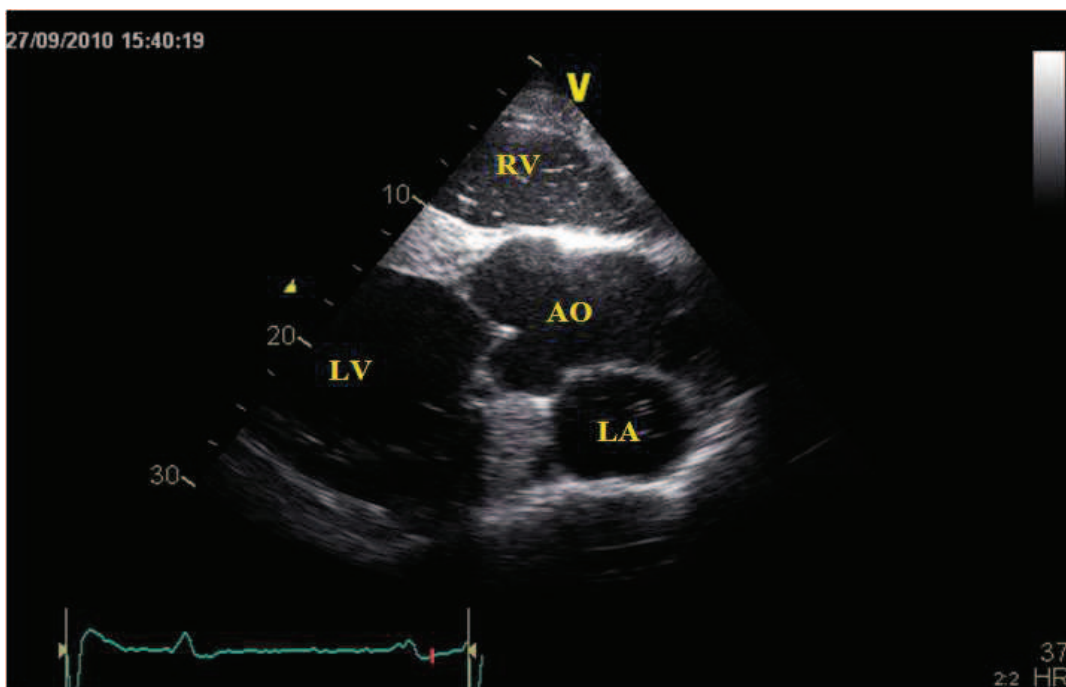


Figure 5: Vue parasternale droite 2D long axe 5 cavités (tractus d'éjection du ventricule gauche) chez le cheval sain.

AO: l'aorte, LA: l'oreillette gauche, LV: ventricule gauche, RV: ventricule droit.

gauche, alors que les cordages tendineux doivent l'être. Dans cette vue, le mode M est sélectionné et le curseur est dirigé de sorte à traverser le ventricule gauche à angle droit et à diviser ce dernier en deux moitiés symétriques (Fig. 1B). C'est la vue petit axe en mode M du ventricule gauche de référence. En revenant en mode 2D, il est ensuite possible de balayer le cœur toute la hauteur, depuis l'apex du ventricule gauche jusqu'à la base du cœur, ce qui permettra d'évaluer la contraction du ventricule sur toute sa hauteur, ainsi que le mouvement des valves mitrales et aortiques (Long *et al.*, 1992; Patteson *et al.*, 1995; Kriz et Rose, 2002).

À partir de la vue standard du ventricule gauche en mode 2D à hauteur des cordages tendineux, la sonde est ensuite légèrement pivotée dorsalement en direction de la base cardiaque, pointée légèrement dorsalement, et pivotée légèrement dans le sens des aiguilles d'une montre ou dans le sens opposé aux aiguilles d'une montre jusqu'à ce qu'une vue 2D de la base cardiaque à hauteur du tractus d'éjection du ventricule droit soit obtenue. Il est souvent nécessaire d'avancer la sonde d'un espace intercostal et de pousser le membre antérieur droit du cheval légèrement en avant pour obtenir cette vue. Dans cette dernière, l'artère pulmonaire est souvent facilement visible dans une vue longitudinale à son long axe (Fig. 2A), ce qui permet un bon examen du flux pulmonaire en mode Doppler. En mode Doppler pulsé, la fenêtre d'exploration doit être positionnée directement en aval des valvules pulmonaires, à l'entrée de l'artère pulmonaire (Fig. 2B) (Blissitt et Bonagura, 1995a; Kriz et Rose, 2002).

En repartant de la vue long axe 2D 4 cavités, la sonde est ensuite basculée le plus possible du bas vers le haut, de telle sorte à produire une vue la plus alignée possible avec le tractus de remplissage du ventricule droit. Dans cette vue, le mode doppler est sélectionné et permet d'examiner le flux tricuspide. En mode Doppler pulsé, la fenêtre d'exploration du doppler est positionnée de telle sorte qu'elle se trouve à hauteur de l'extrémité libre des feuillets de la valve tricuspide en systole et entre ces feuillets en diastole (Blissitt et Bonagura, 1995a).

2.3.3. Vues parasternales gauches

Le cheval est ensuite examiné au niveau du thorax gauche. La sonde est placée au niveau du 4^{ème} ou 5^{ème} espace intercostal, perpendiculairement la paroi thoracique, juste au-dessus de la pointe du coude (Long *et al.*, 1992). Comme pour les vues parasternales droites, la position de la sonde est ajustée de telle sorte à obtenir une vue 2D long axe 4 cavités. A partir de cette vue, la sonde est amenée dans une position légèrement plus ventrale puis elle est basculée le plus possible du bas vers le haut et légèrement pivotée caudalement de sorte à s'aligner le plus possible avec le tractus de remplissage du ventricule gauche, ce qui produit une vue 2D long axe 4 cavités inclinée (Fig. 6A). Dans cette vue, le mode Doppler est sélectionné et la fenêtre d'exploration est placée comme pour le flux tricuspide, à savoir à hauteur de l'extrémité libre des feuillets de la valve mitrale en systole et entre ces feuillets en diastole (Fig 6B) (Blissitt et Bonagura, 1995a). Ensuite, la sonde est légèrement tournée dans le sens inverse des aiguilles d'une montre et légèrement pivotée vers l'avant, de sorte à visualiser la racine de l'aorte et d'amener celle-ci dans une position la plus verticale possible (Fig. 7A). Dans cette vue, le

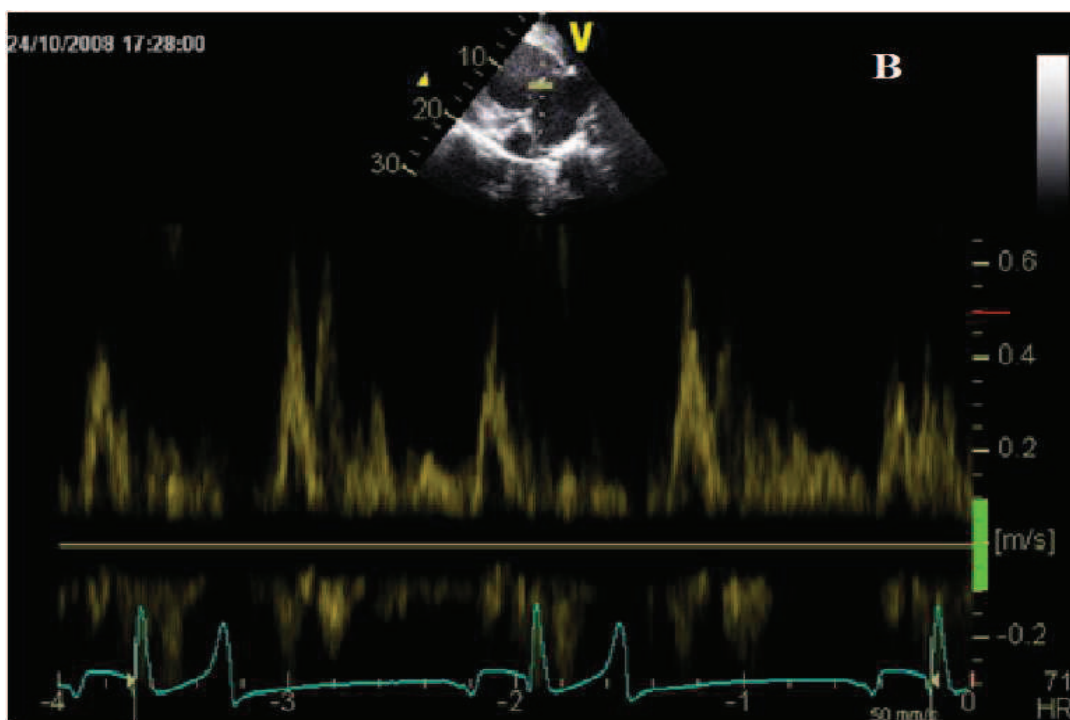
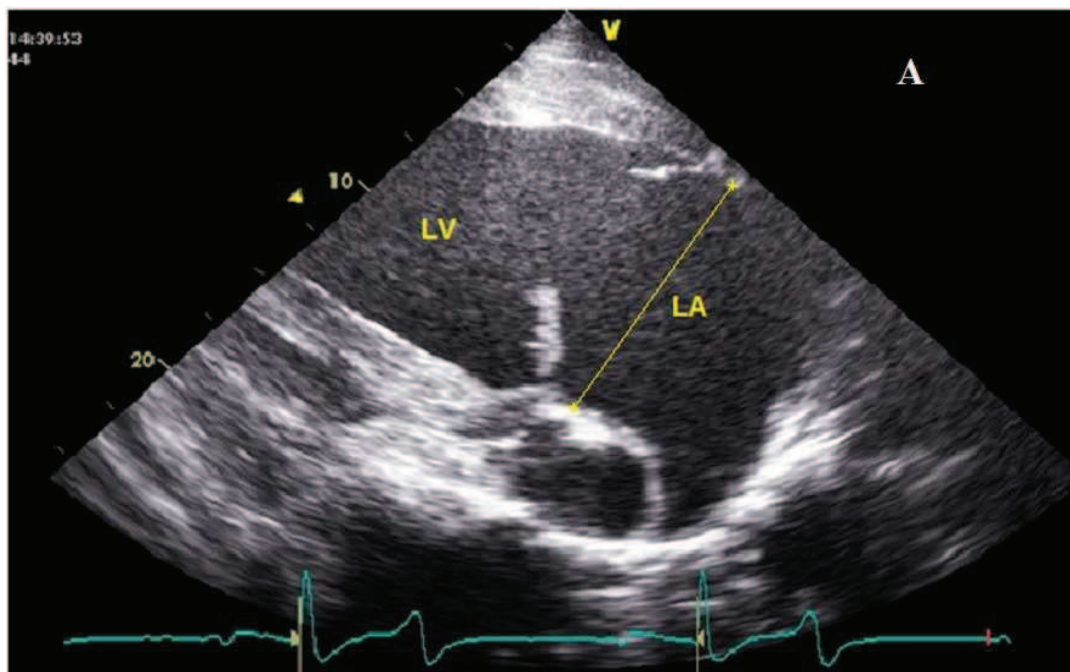


Figure 6: Vue parasternale gauche 2D long axe 4 cavités inclinée (A) et flux mitral en mode Doppler pulsé noir et blanc obtenu dans cette vue (B) chez le cheval sain.
 LA: diamètre interne de l'oriellette gauche, LV: ventricule gauche.

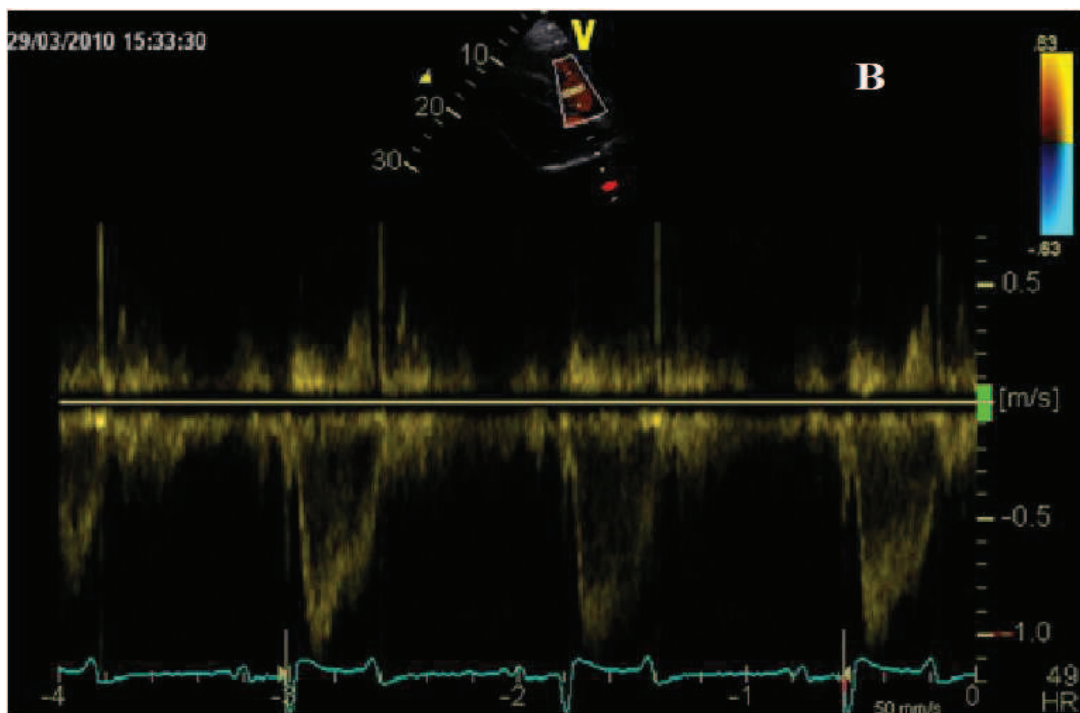
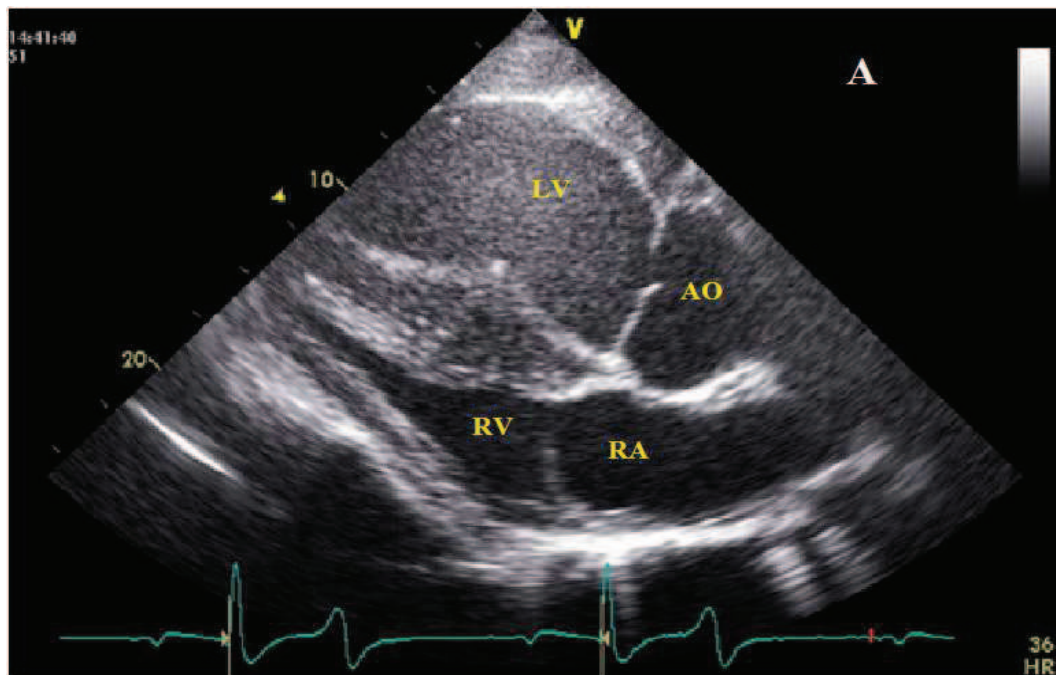


Figure 7: AO: l'aorte, RA: oreillette droite, RV: ventricule droit, LV: ventricule gauche.

mode Doppler est sélectionné et la fenêtre d'exploration est placée comme pour le flux pulmonaire, à savoir directement en aval des valvules aortiques (Fig. 7B) (Blissitt et Bonagura, 1995a; Kriz et Rose, 2002).

2.4. Mesures échocardiographiques

Toute une série de mesures peuvent être réalisées à partir des images échocardiographiques. Les plus importantes concernent la mesure de l'épaisseur des parois et du diamètre des cavités. Elles se réalisent comme suit (Long *et al.*, 1992; Patteson *et al.*, 1995; Kriz et Rose, 2002):

- Diamètre interne du ventricule droit (RVID): mesuré en fin de diastole (d) dans la vue parasternale droite petit axe en mode M du ventricule gauche (Fig. 1B).
- Epaisseur du septum interventriculaire et de la paroi libre du ventricule gauche, et diamètre interne du ventricule gauche (IVS; LVFW; LVID) en fin de systole (s) et en fin diastole (d): mesurés dans la vue parasternale droite petit axe en mode M du ventricule gauche (Fig. 1B).
- Diamètre interne de l'oreillette gauche (LA): mesuré en fin diastole dans la vue parasternale gauche 2D long axe 4 cavités inclinée (Fig. 6A), ou dans la vue parasternale droite long axe 5 cavités (vue du tractus d'éjection du ventricule gauche) en mode M.
- Diamètre aortique (Ao): mesuré en fin diastole dans la vue parasternale droite long axe 5 cavités (vue du tractus d'éjection du ventricule gauche) en mode 2D (Fig. 5) ou en mode M.
- Diamètre de l'artère pulmonaire (Pu): mesuré en fin de diastole dans la vue parasternale droite en base cardiaque à hauteur du tractus d'éjection du ventricule droit en mode 2D (Fig. 2A).

A partir de ces mesures, un certain nombre de paramètres fonctionnels peuvent être calculés, comme par exemple le ratio entre le diamètre interne de l'oreillette gauche et de l'aorte (LA/Ao) (Al Haidar A. et al 2012), ou entre le diamètre interne de l'artère pulmonaire et de l'aorte (Pu/Ao). D'autre part, la fraction de raccourcissement du ventricule gauche (FR) est calculée selon la formule suivante (Kriz et Rose, 2002; Boon, 2011d):

$$FR = [(LVIDd-LVIDs)/LVIDd] \cdot 10^2.$$

2.5. Normes de référence

Plusieurs auteurs ont rapporté des normes de références échocardiographiques chez le cheval sain (Tableau 1) (Lescure et Tamzali, 1984; Paull *et al.*, 1987; Long *et al.*, 1992; Stadler *et al.*, 1993; Patteson *et al.*, 1995; Zucca *et al.*, 2008). Cependant, la plupart de ces normes de référence concernent des chevaux de race trotteur ou pur-sang, voir des populations de chevaux mixtes comprenant des chevaux de taille très variable. Or, comme dans plusieurs espèces, il a été suggéré par plusieurs auteurs que, à l'instar de ce qui a été démontré chez l'homme et chez les animaux de compagnie, les mesures échocardiographiques morphologiques pourraient être dépendantes de plusieurs variables physiologiques, dont principalement la taille de l'animal examiné. Il y a un manque de données tenant compte de ces effets dans la littérature scientifique. Certains auteurs ont publié des équations de

Tableau1: Valeurs de références échocardiographiques en mode temps-mouvement rapportées dans la littérature pour l'espèce équine.

Parameter	Lescure & Tamzali, 1984	Paull et al., 1987	Long et al., 1992	Stadler et al., 1993	Stadler et al., 1993	Patteson et al., 1995	Zucca et al., 2008
n	44	53	27	15	15	29	30
Race	DS et PS	Variable	PS et PS croisés	DS	DS	PS	Trotteurs
Utilisation	Variable	Endurance	Course	Dressage	Obstacle	Course	Course
Poids (kg)	316-639	329-523	432-648	602±38	587±40	420-617	340-498
RVIDd (cm)			3.8±0.9	3.9±0.8	4.1±0.5		
IVSd (cm)	3.1±0.6 (1.9-4.5)	2.8±0.1	3.0±0.4	3.5±0.4	3.0±0.3	2.8±0.3 (2.3-3.4)	3.1±0.4
IVSs (cm)	4.8±0.7 (3.5-6.1)	4.5±0.1	4.6±0.6	4.3±0.7	4.0±0.5	4.1±0.5 (3.2-5.2)	4.5±0.4
LVIDd (cm)	11.1±1.3 (7.6-13.8)	10.1±0.2	11.9±0.9	11.6±0.7	12.1±0.1	12.0±0.8 (9.7-13.1)	11.6±0.1
LVIDs (cm)	6.1±0.9 (4.2-8.0)	6.0±0.2	7.3±0.7	8.2±0.6	8.6±0.8	7.5±0.6 (5.8-8.8)	7.4±0.1
LVPFWd (cm)	2.9±0.5 (2.1-4.3)	2.4±0.1		3.0±0.3	2.6±0.6	2.3±0.4 (1.7-3.4)	2.6±0.4
LVPFWs (cm)	4.4±0.6 (3.1-5.2)	3.6±0.1	4.0±0.6	3.6±0.5	3.2±0.5	3.9±0.4 (3.0-4.6)	3.6±0.5
Ao (cm)	7.3±0.8 (5.6-9.2)	6.4±0.1	8.5±0.5	7.8±0.6	7.4±0.9	8.0±0.5 (7.0-8.7)	7.8±0.5
LA (cm)		4.3±0.1		5.6±0.5	6.0±0.4	6.2±0.8 (4.6-7.4)	
FR (%)	44±6 (33-57)	42±1	39±5	29±5		37±4 (29-45)	36±4

DS = demi-sangs ; PS = Pur-sangs ; d = mesure en diastole; s = mesure en systole; RVID = diamètre interne du ventricule droit; IVS = épaisseur du septum interventriculaire; LVID = diamètre interne du ventricule gauche; LVPFW = épaisseur de la paroi libre du ventricule gauche; Ao et Pu = diamètre respectivement de l'aorte et de l'artère pulmonaire au niveau des sinus de Valsalva; LA = diamètre interne de l'oreillette gauche; FR = fraction de raccourcissement du ventricule gauche.

régression de mesures échocardiographiques réalisées chez des chevaux de différentes races (Slater et Herrtage, 1995; Rovira *et al.*, 2009; Al-Haidar *et al.*, 2012), mais attendu l'effet de la race qui a été suspecté pour plusieurs de ces paramètres, il serait intéressant de disposer de telles équations au sein de chaque race afin d'augmenter la puissance de diagnostic de l'échocardiographie chez le cheval.

2.6. Conclusions

La compréhension des principes physiques régissant la technique de l'échocardiographie et du doppler est essentielle pour une utilisation adéquate de ces techniques. Une fois ces principes maîtrisés, l'échocardiographie doppler permet une évaluation précise, à la fois qualitative et quantitative, de la morphologie et de la fonction cardiaque dans l'espèce équine. Pourtant, malgré le rôle central joué par l'échocardiographie en cardiologie équine, cette technique n'a pas encore fait l'objet d'avancées scientifiques aussi importantes qu'en cardiologie humaine ou des animaux de compagnie. Ainsi par exemple, des normes de références échocardiographiques tenant compte de diverses variables physiologiques telles que la taille, la race, ou le sexe de l'animal examiné n'ont été que peu voire pas publiées dans l'espèce équine. Dès lors, l'établissement de telles normes de références échocardiographiques serait très intéressant pour augmenter la puissance diagnostique de cette technique dans l'espèce équine.

III. Les insuffisances valvulaires chez le cheval

3.1. Introduction

Chez l'homme, l'incidence des pathologies cardiaques est non seulement élevée mais continue d'augmenter constamment. Dès lors, les avancées considérables que connaît la cardiologie en matière de moyens de diagnostic et de traitement sont essentielles (Ghali *et al.*, 1990; Brand *et al.*, 1992; Singh *et al.*, 1999). Parmi les pathologies cardiaques qui ont fait l'objet de nombreuses études récentes et qui occupent une place importante, on peut citer les insuffisances valvulaires (Conway *et al.*, 1998; Ahmad *et al.*, 2004; O'Gara *et al.*, 2008; Stout et Verrier, 2009; Miller *et al.*, 2011), l'endocardite (Nishimura *et al.*, 2008; Murdoch *et al.*, 2009; Habib, 2010) et l'ICC (Braunwald, 2008; Wang et Nagueh, 2009; McMurray, 2010).

Comparé aux autres espèces, les affections cardiaques sont relativement rares dans l'espèce équine (Geor et McCutcheon, 1996; Bonagura *et al.*, 2010). Cependant, chez les chevaux de sport de haut niveau, de faibles dysfonctionnements de la fonction cardiaque peuvent résulter en une diminution significative des capacités sportives de l'animal (Geor et McCutcheon, 1996; Bonagura *et al.*, 2010). Les pathologies cardiovasculaires constituent en effet la troisième cause d'intolérance à l'effort chez le cheval, après les pathologies du système locomoteur et du système respiratoire (Reef *et al.*, 1989; Morris et Seeherman, 1991). Cependant, le cheval atteint peut être normal au repos alors qu'il est porteur de dysfonctions cardiovasculaires sub-cliniques qui restreignent ses performances athlétiques maximales (Holmes *et al.*, 1986; Ohmura *et al.*, 2003).

La cardiologie occupe donc une place importante dans la médecine équine (Geor et McCutcheon, 1996; Reef *et al.*, 1998; Blissitt, 1999; Durando, 2003; Young *et al.*, 2008; Imhasly *et al.*, 2010).

Parmi les pathologies cardiaques affectant l'espèce équine, les insuffisances valvulaires dont l'IM occupe une place importante (Bonagura et Herring, 1985; Patteson et Cripps, 1993; Patteson, 1996d; Kriz *et al.*, 2000a; Imhasly *et al.*, 2010). Elle constitue l'insuffisance valvulaire la plus fréquemment associée à de l'intolérance à l'effort (Geor et McCutcheon, 1996; Kriz *et al.*, 2000b), et qui est la plus à risque d'évoluer en ICC (Reef, 1988; 1991a; Marr *et al.*, 1990; Patteson, 1996d; Kriz *et al.*, 2000b; Marr, 2010a). L'IA, quant à elle, est une insuffisance valvulaire fréquemment rencontrée chez les chevaux âgés (Bishop *et al.*, 1966; Else et Holmes, 1972).

Le but de ce chapitre est de présenter une revue de la littérature sur les insuffisances valvulaires chez le cheval, avec un focus particulier sur l'IM et l'IA, et sur les moyens de diagnostic de ces pathologies.

3.2. Épidémiologie des insuffisances valvulaires

Plusieurs études ont rapporté la prévalence des insuffisances valvulaires dans l'espèce équine. Ainsi, il a été rapporté que parmi 562 jeunes chevaux Pur Sang anglais utilisés en course, 22% présentaient à l'auscultation cardiaque un souffle suggestif d'une insuffisance tricuspide (ITr), 9% un souffle

suggestif d'une IM, et 1% un souffle suggestif d'une insuffisance aortique (Young *et al.*, 2008). En outre, dans une étude menée sur 1153 chevaux des races variées, un souffle cardiaque a été détecté chez 243 (soit 21.1%) d'entre eux, avec 10.1% qui présentaient un souffle considéré comme physiologique, et 5.5%, 2.9% et 1.1 % un souffle suggestif d'une IA, une IM et une ITr, respectivement (Stevens *et al.*, 2009). De plus, dans une étude rétrospective, les données collectées sur 555 chevaux ont démontré qu'une IM a été détectée soit isolément chez 132 (soit 24%) de ces chevaux, soit accompagnée avec un ou plusieurs insuffisances valvulaires chez 102 (soit 18%) de ceux-ci. Une IA isolée a quant à elle été détectée chez 38 (soit 7%) des chevaux de cette étude, et une IA associée à une ou plusieurs insuffisances valvulaires chez 45 chevaux (soit 8.1% des animaux étudiés). Enfin, cette étude a mis en évidence une ITr isolée chez 25 chevaux (soit 5%) et une ITr accompagnée d'une ou de plusieurs insuffisances valvulaires chez 77 chevaux (soit 14%) du groupe étudié (Gehlen *et al.*, 2007a).

Ces résultats divergents pourraient être dus aux caractéristiques démographiques des populations respectives étudiées dans les différentes études. Ainsi par exemple, il a été suggéré par plusieurs auteurs que l'incidence de l'IM et de l'IA semble augmenter avec l'âge (Young *et al.*, 2008; Stevens *et al.*, 2009). A l'inverse, l'ITr semble plus fréquente chez les jeunes chevaux athlétiques, surtout ceux utilisés en course et soumis à des entraînements intensifs (Patteson et Cripps, 1993; Kriz *et al.*, 2000a; Young *et al.*, 2008). A notre connaissance, un effet du sexe ou de la race n'a par contre jamais été démontré statistiquement sur l'incidence de ces pathologies, ce qui n'en exclut pas l'hypothèse.

3.3. Étiologie des insuffisances valvulaires

Des insuffisances valvulaires physiologiques sont fréquemment rencontrées chez les chevaux. Cependant, les mécanismes de ces insuffisances ne sont pas connus. Des changements de géométrie ventriculaire (à savoir l'hypertrophie eccentric) ont été évoqués pour expliquer le mécanisme de l'ITr induite par l'entraînement (Else et Holmes, 1972; Young et Wood, 2000b; Buhl *et al.*, 2005a). Les hautes pressions pulmonaires générées à l'effort chez le cheval ont également été incriminées dans ce processus (Young et Wood, 2000b; Buhl *et al.*, 2005a).

La valve aortique est la valve présentant le plus fréquemment des remaniements divers, et ce surtout chez les chevaux adultes, et plus encore sur les chevaux d'âge avancé (Else et Holmes, 1972). Le plus souvent, ces remaniements consistent en une pathologie dégénérative se manifestant sous la forme d'apparition de nodules, et moins souvent comme une fibrose généralisée aboutissant à l'épaississement des feuillets de la valve aortique, avec une prédominance pour une atteinte du feuillet coronaire (Else et Holmes, 1972; Reef et Spencer, 1987). Ces remaniements peuvent (mais pas systématiquement) être associés au développement d'une IA dont ils constituent la cause la plus fréquente. D'autre part, un prolapsus aortique peut être détecté à l'échocardiographie sous forme d'un mouvement anormal des feuillets aortiques pendant la diastole. Chez le chien, cette anomalie est

considérée comme un signe précurseur du développement d'une la pathologie de cette valve (Olsen *et al.*, 1999). Par contre, une telle relation n'a pas été décrite chez les chevaux, chez qui le prolapsus aortique ne semble pas souvent associé avec une IA (Marr et Reef, 1995). Dans de rares cas, une endocardite infectieuse peut être la cause de l'IA dans l'espèce équine (Buergelt *et al.*, 1985; Reef et Spencer, 1987; Maxson et Reef, 1997). Une ou des anomalies congénitales peuvent aussi parfois être associées à l'IA, l'exemple le plus classique étant un défaut de septum inter-ventriculaire membraneux localisé à la base du septum, juste en dessous de la valve aortique (Reef et Spencer, 1987; Reef, 1995a).

La valve mitrale est la deuxième valve la plus fréquemment atteinte par des remaniements anatomiques après la valve aortique. Peu d'étiologies ont été identifiées avec certitude pour expliquer ces remaniements. Dans la plupart des cas, une dégénérescence myxomateuse est identifiée, bien que l'étiologie exacte des modifications observées n'est en général pas établie (Else et Holmes, 1972; Miller et Holmes, 1985; Patteson, 1996d). Dans certains rares cas, la cause de l'IM est malgré tout bien identifiée, comme par exemple en cas d'endocardite bactérienne, de rupture de cordages associée aux lésions dégénératives de la valve mitrale, ou de dysplasie valvulaire congénitale (Brown *et al.*, 1983; Bonagura et Herring, 1985; Reef, 1987; Marr *et al.*, 1990).

Par contre, les remaniements valvulaires de **la valve tricuspide** sont relativement rares (Else et Holmes, 1972) dans l'espèce équine. Cependant, à l'instar des pathologies touchant la valve mitrale, une pathologie dégénérative, une rupture des cordages ou une dysplasie congénitale sont des anomalies qui peuvent également atteindre cette valve. Une endocardite peut également affecter la valve tricuspide, par exemple secondairement à une thrombophlébite jugulaire septique (Marr, 2010a). Chez les chevaux d'âge moyen à avancé, l'ITr survient le plus souvent secondairement à une insuffisance cardiaque gauche associée à de l'hypertension pulmonaire (Boon, 2011c).

Hormis les malformations congénitales, les pathologies de **la valve pulmonaire** sont très rares (Else et Holmes, 1972; Nilfors *et al.*, 1991; Reimer *et al.*, 1991). Comme pour l'ITr, la plupart des cas d'insuffisance pulmonaire (IPu) sont secondaires à une insuffisance cardiaque gauche avec hypertension pulmonaire.

3.4. Pathophysiologie de l'insuffisance valvulaire

Les mécanismes résultant de l'insuffisance valvulaire en général sont associés essentiellement à deux mécanismes: la surcharge volumique et l'augmentation de la pression de remplissage ventriculaire, comme mentionné dans le paragraphe 1.5.

3.5. Signes cliniques des insuffisances valvulaires

Quelle que soit la pathologie suspectée, plusieurs éléments de l'anamnèse peuvent être utiles pour établir le diagnostic ou le pronostic d'une insuffisance valvulaire. Ainsi par exemple, il est utile de

prendre en considération l'âge et la race du cheval, son statut d'entraînement, le niveau des performances réalisées ou attendues et le degré de tolérance à cet effort, ainsi que l'historique de la pathologie cardiaque et de la réponse aux traitements éventuellement déjà reçus (Patteson, 1996a; Young et Wood, 2000b; Young *et al.*, 2008; Stevens *et al.*, 2009).

3.5.1. Signes cliniques d'insuffisance mitrale (IM)

L'IM est associée à un souffle holo- à pan-systolique, en plateau, dont le point d'intensité maximale est situé en apex cardiaque à gauche, irradiant dorsalement et cranialement vers la base du cœur, de caractère doux à rugueux, et d'un grade le plus souvent situé entre III et VI/VI (Bonagura, 1990; Geor et McCutcheon, 1996; Patteson, 1996a; Kriz *et al.*, 2000b; Maurin *et al.*, 2003). Néanmoins, en cas de prolapsus de la valve mitrale, le souffle est plutôt méso à télé-systolique et de type crescendo (Bonagura, 1990; Kriz *et al.*, 2000b). Le grade du souffle associé à une IM donne souvent une idée approximative de l'importance de la régurgitation, bien que ce ne soit pas toujours vrai: ainsi, par exemple, lorsque l'insuffisance évolue en ICC, l'intensité avec laquelle le souffle est entendu peut diminuer (Geor et McCutcheon, 1996; Kriz *et al.*, 2000b). Sur ces cas, il faut être attentif aux autres critères de détermination du grade du souffle, comme par exemple sa zone d'irradiation.

L'IM peut être totalement asymptomatique si ce n'est la présence d'un souffle à l'auscultation cardiaque (Maurin *et al.*, 2003). Cependant, la mise en évidence d'un souffle suggestif d'une IM doit toujours être considérée comme significative sur un cheval asymptomatique, car cette pathologie peut évoluer progressivement et conduire à une diminution des performances athlétiques, voire même à une ICC (Patteson, 1996d). Dans un tel cas, l'objectif de l'examen sera d'établir un état des lieux des répercussions de l'IM sur la morphologie et la fonction cardiaque, et de conseiller un suivi cardiaque régulier pour surveiller l'évolution de la pathologie.

Quand l'IM se manifeste cliniquement, le début est le plus souvent insidieux, avec une augmentation de l'effort respiratoire après exercice et un prolongement de la période de récupération (Maurin *et al.*, 2003). Ce stade peut aisément être confondu avec un manque de condition physique. Cependant, le manque de condition physique peut être différencié de la présence d'une pathologie cardiaque significative par la durée de l'effort respiratoire après arrêt de l'exercice: dans le cas d'un manque de condition physique, elle ne durera que quelques minutes, alors qu'en cas de pathologie cardiaque significative, elle peut se prolonger jusqu'à 10 à 30 minutes (Patteson, 1996a). Bien entendu, il faut également considérer la potentialité de la présence d'une pathologie respiratoire dans le diagnostic différentiel d'un tel cas.

L'IM peut évoluer ensuite à une vitesse variable en ICC gauche et droite, avec présence d'œdèmes périphériques, d'un pouls jugulaire, d'une altération de la circulation périphérique, et, au stade terminal, d'une dyspnée et d'un œdème pulmonaire résultant de la décompensation cardiaque droite (Fregin, 1992; Geor et McCutcheon, 1996; Mitten, 1996; Hiriga et Kubo, 1999; Kriz *et al.*, 2000b). Ces signes sont en général mieux détectés que les signes d'hypertension du réseau pulmonaire. À ce

stade, il est important de prendre en considération les autres causes potentielles d'œdèmes périphériques dont le diagnostic différentiel est synthétisé dans le tableau 2.

De façon parfois déroutante, l'IM peut être accompagnée d'hyperthermie, qui pourrait être due à la pathologie cardiaque elle-même ou à une infection respiratoire secondaire. Des arythmies (le plus souvent de la fibrillation auriculaire) ou, plus rarement, de l'hémorragie pulmonaire induite par l'exercice peuvent également accompagner la pathologie aux stades avancés (Geor et McCutcheon, 1996; Kriz *et al.*, 2000b; Maurin *et al.*, 2003). Si l'IM s'installe de façon aiguë, comme, par exemple en cas de rupture de cordage tendineux, la détresse respiratoire prédomine avec présence de polypnée, de dyspnée, d'un œdème pulmonaire, de faiblesse et éventuellement de syncopes (Patteson, 1996d; Kriz *et al.*, 2000b).

Tableau 2: Diagnostic différentiel des œdèmes périphériques chez le cheval (d'après Fregin, 1992; Geor et McCutcheon, 1996; Mitten, 1996; Hiriga et Kubo, 1999; Kriz *et al.*, 2000b).

Insuffisance cardiaque congestive

Insuffisance mitrale (fréquent)

Insuffisance aortique (moins fréquent)

Insuffisance tricuspide (rarement isolée, souvent secondairement à autre insuffisance valvulaire)

Pathologie du myocarde : Myocardite, cardiomyopathie (rare)

Effusion péricardique, péricardite (rare)

Endocardite

Pathologie cardiaque congénitale

Fibrillation auriculaire chronique

Hypoprotéïnémie

Malnutrition, problèmes dentaires, dysphagie

Pathologies digestives associées à des pertes de protéines

Fièvre, néoplasme, stimulation antigénique chronique

Hémodilution (secondaire à une hémorragie ou iatrogène)

Insuffisance hépatique chronique

Insuffisance rénale chronique

Effusion thoracique ou abdominale

Inflammation ou trauma

Abcès

Traumatisme

Fracture

Lymphangite, cellulite, stéatite

Vasculite (artérite virale, anémie infectieuse, ehrlichiose, purpura hémorragique, etc)

Obstruction veineuse ou lymphatique locale

Tumeur

Abcès

Trauma

Cellulite

Œdème de fin de gestation (jument)

Immobilité (œdème de box)

Pleurésie ± péricardite

Masse intra-thoracique

Thrombophlébite, Coagulation intravasculaire disséminée

3.5.2. Signes cliniques d'insuffisance aortique (IA)

C'est l'insuffisance valvulaire la plus fréquemment rencontrée chez les chevaux âgés, et qui est rarement associée à des répercussions cliniques significatives (Blissitt et Bonagura, 1995b; Mitten, 1996; Patteson, 1996c).

L'IA se manifeste par un souffle caractéristique holo à pandiastolique, decrescendo, dont le point d'intensité maximale est situé au niveau du thorax gauche à hauteur de la valvule aortique et irradiant vers l'apex cardiaque (Mitten, 1996; Patteson, 1996c; Kriz *et al.*, 2000a). Son grade, souvent élevé (3 à 6/6), est rarement indicateur de la gravité de la pathologie. Le souffle est en général très rugueux, ronflant ou très musical car il est souvent associé à une vibration des cordages tendineux en diastole (Marr et Reef, 1995; Mitten, 1996; Patteson, 1996c; Kriz *et al.*, 2000a; Marr, 2010a).

Souvent, les chevaux présentant une IA ne présentent pas de signes cliniques, et notamment pas d'intolérance à l'effort. Ils semblent par contre prédisposés à développer des arythmies telles que des blocs auriculo-ventriculaires (Marr et Reef, 1995; Patteson, 1996c). Dans quelques cas, la pathologie peut évoluer en surcharge ventriculaire gauche et en ICC. Une telle évolution négative est en général accompagnée d'une augmentation de l'amplitude du pouls, qui constitue le meilleur signe clinique de pronostic pour cette pathologie (Marr et Reef, 1995; Mitten, 1996; Kriz *et al.*, 2000a). De plus, la mesure non-invasive de la pression artérielle est aussi utile, car les chevaux portant une IA sévère présentent une pression artérielle diastolique diminuée à moins de 50 mmHg (Marr, 2010a). L'IA sévère peut, au stade avancé, aboutir à l'ICC qui se manifeste comme mentionné sur les cas d'IM chronique. Ainsi, une étude a rapporté 13.2% de chevaux présentant des signes de l'ICC au repos parmi des cas d'IA sévère (Reef et Spencer, 1987).

3.5.3. Signes cliniques d'insuffisance tricuspide (ITr)

Comme mentionné ci-dessus, l'ITr est fréquemment rencontrée chez de jeunes chevaux athlétiques à l'entraînement (pur-sang galopeurs et trotteurs surtout) ne présentant pas de signes d'intolérance à l'effort (Reef, 1992; Patteson et Cripps, 1993; Marr et Reef, 1995; Mitten, 1996; Patteson, 1996c; Marr, 2010a). Par contre, elle est rarement rencontrée chez les autres chevaux, chez qui elle pourrait revêtir une signification pathologique plus probable (Blissitt et Bonagura, 1995b; Marr et Reef, 1995; Mitten, 1996; Patteson, 1996c; Kriz *et al.*, 2000a).

L'ITr se manifeste par un souffle holo à pansystolique en plateau, dont le point d'intensité maximale est situé à hauteur de la valvule tricuspide au niveau du thorax droit, irradiant vers le haut et vers l'avant, de caractère souvent doux (Blissitt et Bonagura, 1995b; Patteson, 1996c). Parfois, il peut également être audible au niveau du thorax gauche, loin en avant et vers le bas sous le membre (Patteson, 1996c). Attendue la localisation du point d'intensité maximale du souffle, il convient surtout de différencier celui-ci d'un défaut de septum ventriculaire, la point d'intensité maximale de ce dernier se situant généralement plus bas au niveau du thorax droit, juste au-dessus du sternum. Le souffle

associé à un défaut de septum présente souvent un grade plus élevé, est plus souvent associé à un thrill, et est de type plus rude que l'ITr (Patteson, 1996c).

Lorsque l'ITr est modérée à sévère, elle peut entraîner de l'intolérance à l'effort et est souvent associée à une distension et un pouls jugulaire, des œdèmes déclives et des épanchements péritonéaux et pleuraux (Patteson, 1996c). Dans les stades avancés, elle peut être associée à une fibrillation auriculaire (Patteson, 1996c).

3.5.4. Signes cliniques de l'insuffisance pulmonaire (IPu)

C'est une insuffisance valvulaire rarement rencontrée de façon isolée dans l'espèce équine. Lorsqu'elle se développe, elle fait le plus souvent suite à une ICC gauche (Else et Holmes, 1972; Nilsfors *et al.*, 1991; Reimer *et al.*, 1991; Blissitt et Bonagura, 1995b; Marr et Reef, 1995; Boon, 2011c). De plus, le souffle cardiaque associé à l'IPu est difficilement audible à l'auscultation en raison des basses pressions régnant au niveau de la circulation pulmonaire (Marr, 2010a).

3.6. Examens complémentaires des insuffisances valvulaires

Dans tous les cas où l'auscultation a mis en évidence un souffle suggestif d'une insuffisance valvulaire, il est impératif d'en vérifier la présence et d'en évaluer la sévérité sur base d'examens complémentaires. Parmi ceux-ci, *l'échocardiographie* occupe sans nul doute une place prépondérante. Un examen ECG ou une analyse sanguine s'avèrent parfois également utiles à mettre en place.

3.6.1. Échocardiographie

En cas d'insuffisance valvulaire, l'examen échocardiographique doit être fait en combinant l'usage des différents modes échocardiographiques et doppler qui apportent des informations complémentaires quant au diagnostic et au pronostic.

3.6.1.1. L'examen échocardiographique en cas d'insuffisance mitrale

3.6.1.1.1. Examen de l'insuffisance mitrale en échocardiographie 2D et M

3.6.1.1.1.1. Evaluation de l'apparence et du mouvement de la valve mitrale

Lésions dégénératives de la valve mitrale: Comme mentionné ci-dessus, le plus souvent, l'IM se développe secondairement à une pathologie dégénérative de type myxomateux qui cause des changements structurels au niveau des feuillets de la valve mitrale. Ces modifications peuvent être détectées en échocardiographie 2D et M (Patteson, 1996d; Maurin *et al.*, 2003). Dans les stades précoces, les lésions dégénératives sont lisses, mais avec le temps, elles s'élargissent et deviennent de plus en plus irrégulières et peuvent même adopter une forme nodulaire (Bonagura et Herring, 1985).

Pour détecter et correctement évaluer les lésions dégénératives en échocardiographie 2D, il est important de bien adapter le gain, la profondeur, la position et l'orientation de la sonde. Il est aussi conseillé d'examiner la valve mitrale dans plusieurs vues (long et petit axe et depuis l'hémithorax

gauche et droit) et à la fois en mode 2D et M (Patteson, 1996d). De plus, il est conseillé de comparer les feuillets de la valve mitrale avec des structures situées à la même profondeur, comme par exemple l'endocarde. Normalement, les épaisseurs de ces deux structures doivent être comparables (Shah, 1994). A ce stade, l'examineur doit être attentif à ne pas confondre les attachements des cordages aux feuillets avec des lésions.

En mode M, les feuillets de la valve mitrale qui ont subi des remaniements nodulaires se manifestent comme des lignes épaisses et irrégulières. En outre, une vibration systolique des feuillets peut parfois être détectée (Bonagura et Herring, 1985). Néanmoins, si les lésions sont épaisses, elles peuvent masquer ces vibrations (Boon, 2011c).

Rupture des cordages: La plupart des cas de rupture des cordages sont associés à une pathologie dégénérative de la valve qui peut être visualisée à l'échocardiographie 2D ou M comme décrit ci-dessus (Reef, 1987; Marr *et al.*, 1990). Parfois, ils sont associés à des lésions végétatives, comme par exemple en cas d'endocardite bactérienne (Reef, 1987; Reef *et al.*, 1998). Dans de rares cas, la rupture des cordages peut cependant être spontanée et idiopathique, sans lésion détectable sur la valve ou les cordages (Brown *et al.*, 1983; Holmes et Miller, 1984). La rupture peut atteindre un ou plusieurs cordages de l'un ou des deux feuillets de la valve mitrale (Reef, 1987).

La rupture d'un ou de plusieurs cordages peut se manifester par un prolapsus du feuillet de la valve mitrale affecté, mais celui-ci n'est pas toujours aisé à détecter (Marr *et al.*, 1990). Un mouvement chaotique de ce dernier peut être observé en systole et en diastole (Bonagura et Herring, 1985; Reef, 1987). D'autre part, le feuillet et le cordage affectés peuvent être épaissis ou présenter des lésions végétatives. De plus, les cordages rompus sont parfois visualisés dans l'oreillette gauche pendant la systole (Reef, 1987).

Mouvements de la valve mitrale: En cas de prolapsus de la valve mitrale, qui est fréquent chez les chevaux, un ou les deux feuillets de la valve mitrale présentent un mouvement anormal de leur bord libre vers l'oreillette gauche pendant la systole (Marr et Reef, 1995). Cette anomalie se détecte le mieux dans la vue parasternale droite 2D long axe du tractus d'éjection du ventricule gauche (vue 5 cavités), dans laquelle on voit que le point de coaptation (d'affrontement) des valves se fait sous le plan de l'anneau (qui est déterminé par la ligne reliant les deux points d'attache des feuillets de la valve mitrale sur les parois); figure 8 (Boon, 2011c). Il peut aussi se voir dans la vue parasternale droite 2D long axe 4 cavités (Pederson *et al.*, 1996).

Dans les cas d'IM chroniques sévères, un mouvement exagéré "en fléau" ("flail valve") des feuillets de la valve mitrale est détecté (Patteson, 1996d).

3.6.1.1.1.2. Détection de signes de surcharge volumique

L'évaluation du degré de surcharge volumique est un indicateur d'ICC utile pour évaluer la sévérité de l'IM et peut facilement être évalué par échocardiographie.

Dans les cas où aucun signe de surcharge volumique n'est présent, la signification clinique à donner à l'IM au moment de l'examen est peu importante. Cependant, il faut rester prudent dans cette interprétation car cela ne permet pas de prédire comment l'IM va évoluer (Patteson, 1996d).

Dans les cas où une surcharge volumique s'installe mais est encore à un stade compensé, elle sera détectée par une augmentation du diamètre et du volume du ventricule gauche en diastole et du diamètre de l'oreillette gauche (Reef, 1987; Maurin *et al.*, 2003). Le diamètre interne du ventricule gauche en fin diastole, qui mesure entre 8 et 13 cm chez les chevaux adultes sains (Lescure et Tamzali, 1984; Bonagura et Herring, 1985; Reef, 1990b), peut, dans les cas d'IM sévère avec surcharge volumique, atteindre des valeurs de 16 à 20 cm (Reef, 1995b). Le diamètre interne de l'oreillette gauche, qui chez les chevaux adultes sains ne doit normalement pas excéder 13,5 cm (Reef, 1990b), peut quant à lui monter jusqu'à 16 à 23 cm chez les chevaux en IM sévère, avec une apparence globuleuse (Reef, 1995b). En outre, il a récemment été démontré que parmi 132 chevaux présentant une IM, 28% avaient une oreillette gauche dilatée (diamètre interne de l'oreillette gauche > 13.5 cm) (Gehlen *et al.*, 2007a).

Selon Patteson (1996c), un Pur Sang Anglais adulte avec IM et dont le diamètre interne du ventricule et de l'oreillette gauches dépassent respectivement 14,5 et 15 cm a peu de chances de réaliser des performances normales en compétition, et si ces diamètres s'élèvent à respectivement plus de 15,5 et 16 cm, il est déconseillé d'utiliser le cheval atteint sous la selle. Ces seuils de dimensions sont cependant à interpréter en tenant compte d'autres critères tels que la race et le poids de l'animal investigué, et ne sont probablement pas transposables à d'autres races.

Au fur et à mesure de sa dilatation, le ventricule gauche adopte une forme globuleuse avec un apex arrondi en conservant des épaisseurs de paroi normale. De plus, une augmentation de la fraction de raccourcissement et de la fraction d'éjection du ventricule gauche est observée et résulte en une impression d'hyperkinésie des parois ventriculaires (Bonagura et Herring, 1985; Patteson, 1996d; Kittleson et Kienle, 1998; Armstrong et Ryan, 2010b; Boon, 2011c).

Le diamètre du ventricule gauche et l'épaisseur des parois sont le mieux évalués dans une vue parasternale droite petit axe M du ventricule gauche à hauteur des cordages tendineux (Reef *et al.*, 1998; Kriz *et al.*, 2000a; Al Haidar *et al.*, 2010). Par contre, la forme globuleuse du ventricule gauche s'observe le mieux dans la vue parasternale droite 2D long axe 4 cavités, et le diamètre de l'oreillette gauche sera préférentiellement mesuré dans la vue parasternale gauche 2D long axe 4 cavités inclinée de telle sorte à maximaliser le diamètre auriculaire (Patteson, 1996d; Al Haidar *et al.*, 2010). Le rapport entre le diamètre de l'aorte au niveau de la racine aortique et l'appendice obtenus en échocardiographie M peut être utile pour évaluer la taille de l'oreillette gauche. Ce rapport s'est cependant avéré peu sensible pour détecter la dilatation de l'oreillette gauche en cas de l'IM légère et modérée. Par contre, le même rapport obtenu à partir des mesures obtenues en échocardiographie 2D semble plus utile (Reef *et al.*, 1998; Al-Haidar *et al.*, 2012).

Il faut prendre garde à ne pas sous-estimer l'importance d'une IM lorsque le jet de régurgitation est sévère au Doppler mais non accompagné d'une dilatation de l'oreillette ou du ventricule gauche. Ce genre de situation peut, en effet, être rencontré dans les cas aigus qui évoluent souvent rapidement négativement (Reef *et al.*, 1998; Marr, 2010a).

Dans les stades décompensés, quand une défaillance myocardique s'installe, la fraction de raccourcissement et d'éjection du ventricule gauche, et l'épaisseur des parois diminuent. À ce stade, une hypokinésie des parois ventriculaires est alors observée (Bonagura et Herring, 1985; Reef, 1987; 1991a; Patteson, 1996c; Kittleson et Kienle, 1998; Maurin *et al.*, 2003).

Dans les cas d'IM, il est utile de mesurer le diamètre de l'artère pulmonaire en échocardiographie 2D dans la vue parasternale droite au niveau de la base du cœur car lorsque ce dernier est augmenté, une hypertension artérielle pulmonaire déjà bien installée est fortement suspectée (Patteson, 1996c; Maurin *et al.*, 2003; Marr, 2010a). Attendu que des cas de mort subite dus à des ruptures de l'artère pulmonaire ont été rapportés, certains auteurs déconseillent l'utilisation de ces chevaux sous la selle (Patteson, 1996c).

En outre, un mouvement anormal de la valve aortique peut être détecté en échocardiographie M. En effet, la boîte aortique présente une forme triangulaire au lieu de la forme rectangulaire normale pendant la systole à cause l'hypertension systémique (Lewis *et al.*, 1979).

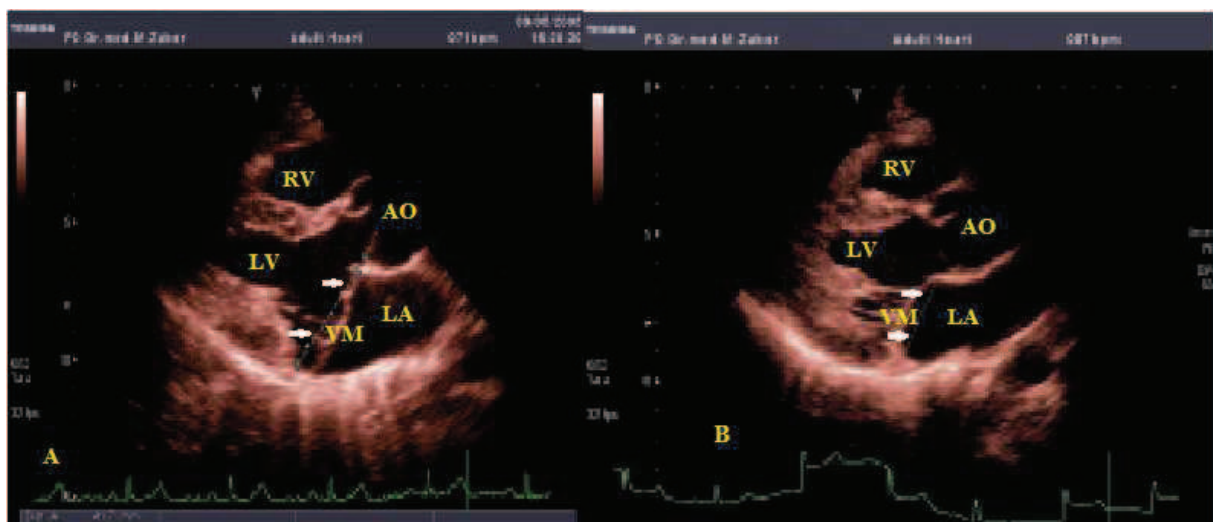


Figure 8: A: Prolapsus mitral chez le cheval, la vue parasternale droite 2D long axe 5 cavités, B: Normale : Les flèches blanches réfèrent la ligne diagonale de l'anneau mitral reliant les deux points d'attache des feuillets de la valve mitrale sur les parois. VM: Valve mitrale, LA: Oreillette gauche, LV: Ventricule gauche, AO: Valve aortique, RV: Ventricule droit.

3.6.1.1.2. Examen de l'insuffisance mitrale en échocardiographie Doppler couleur

3.6.1.1.2.1. Evaluation de la taille du jet de la régurgitation mitrale

La taille de la régurgitation mitrale dans l'oreillette gauche est le plus facilement mesurable en mode Doppler couleur (Armstrong et Ryan, 2010b). Cette mesure permet une évaluation de la sévérité de l'IM (Reef, 1988; 1990a; 1991a; 1991b; Marr *et al.*, 1990; Armstrong et Ryan, 2010b). En général, en médecine vétérinaire, une méthode semi-quantitative est utilisée et consiste en trois grades dont les critères varient un peu selon les auteurs. L'un des systèmes utilisés se base sur les critères suivants: l'IM dont la surface occupe moins de 20% de la surface de l'oreillette gauche est considérée comme légère, celle dont la surface occupe entre 20% et 50% de la surface de l'oreillette gauche est considérée comme modérée, et celle occupant plus de 50% la surface de l'oreillette gauche est considérée comme sévère (Boon, 2011c). Pour d'autres auteurs, l'IM est classée en légère, modérée ou sévère selon qu'elle occupe respectivement moins d'un tiers, entre un et deux tiers, ou plus de deux tiers de l'oreillette gauche (Reef, 1988; 1990b; Patteson, 1996c; Marr, 2010a). D'autre part, l'insuffisance valvulaire en général a été classifiée subjectivement selon certains auteurs en 9 scores prenant en considération plusieurs variables telles que: la durée de la régurgitation, la vena contracta, la surface de la zone d'isovélocité proximale convergente, la zone de vélocité maximale et le nombre d'images dans lesquelles la zone de la vélocité maximale est détectée (Young *et al.*, 2008).

Chez les chevaux adultes, l'IM est souvent le mieux détectable de l'hémithorax gauche (Reef, 1988; 1990b; 1991a). Cependant, attendu que l'angle d'acquisition du flux mitral chez les chevaux est assez important (souvent plus de 60°), la quantification de l'IM en Doppler chez le cheval est difficile, et il faut toujours considérer qu'il existe un risque de sous-estimation de la sévérité de l'IM dans cette espèce (Reef, 1990b; 1991a). Ce phénomène est encore aggravé quand l'IM s'étend le long de la paroi libre de l'oreillette gauche (Gatewood *et al.*, 1989).

3.6.1.1.2.2. Evaluation de la surface de la zone d'isovélocité proximale convergente (méthode PISA)

La méthode PISA est une autre technique qui permet de quantifier le volume régurgitant mitral. Elle a été développée chez l'homme et validée chez le chien (Rivera *et al.*, 1992; Chen *et al.*, 1993). Mais elle n'est pas encore validée chez le cheval.

Cette méthode se base sur le principe de la physique des fluides soutenant qu'à l'approche d'un orifice régurgitant, la vélocité du flux sanguin augmente en formant une série d'ondes d'isovélocité concentriques hémisphériques, dont la surface diminue et la vélocité augmente à l'approche de l'orifice. Le Doppler couleur permet d'identifier et imager ces hémisphères d'isovélocité au niveau du ventricule gauche grâce à l'interface d'un repli spectral de coloration bleue sur jaune se formant à la circonférence de l'hémisphère. La vélocité du flux à la surface de cet hémisphère correspond à la vélocité du repli spectral (limite de Nyquist) figures 9 et 10.

Pour appliquer la méthode PISA, l'hémisphère doit être elliptique et bien visible (Schwammenthal *et al.*, 1996; Mele *et al.*, 2001; Zoghbi *et al.*, 2003), le flux de régurgitation et la vena contracta (cfr ci-

dessous) doivent être également bien visibles, et le faisceau d'ultrasons doit être aligné et centré le mieux possible sur le jet de régurgitation de l'IM (Zoghbi *et al.*, 2003). L'obtention d'une telle image nécessite de disposer d'une vue apicale 4 cavités. Cette vue est réalisable chez l'homme et le chien, mais difficile voire impossible à obtenir chez le cheval, ce qui limite les potentialités de cette méthode dans ces espèces.

Méthode de calcul

La méthode repose sur la mesure du débit au niveau de l'hémisphère d'isovitesse visualisé au Doppler couleur. Par application du principe de continuité, on considère que le débit au niveau de chaque hémisphère d'isovitesse est égal au débit sanguin au niveau de l'orifice régurgitant. En pratique, on obtient le débit au niveau d'un hémisphère d'isovitesse à partir de la détermination de la surface S de l'hémisphère et de la vitesse des globules rouges à ce niveau ($Q = S \times V$).

On calcule la surface de l'hémisphère par la formule classique:

$$S = 2 \pi r^2$$

Où S = surface de l'hémisphère (cm²), r = rayon de l'hémisphère (cm) et est mesuré sur l'image Doppler couleur; il correspond à la distance séparant l'orifice régurgitant et le premier aliasing sur l'image Doppler couleur.

On connaît par ailleurs la vitesse au niveau de cet hémisphère, qui correspond à la limite de Nyquist fournie par l'appareil et visible sur l'écran. Il est indispensable de déplacer vers le bas la ligne de base de la limite de Nyquist pour optimiser la visualisation de la zone de convergence.

Le débit instantané au niveau de l'hémisphère considéré est égal au produit de la surface S par la vitesse des globules rouges sur cet hémisphère:

$$Q_{MR} = 2 \pi r^2 \times Va$$

Où Q_{MR} = débit instantané au niveau de l'hémisphère (ml/s), r = rayon de l'hémisphère (cm) et Va = vitesse des globules rouges au niveau de l'hémisphère (cm/s) (vitesse du repli spectral).

La surface de l'orifice régurgitant ($EROA_{MR}$) est ensuite calculée à partir du débit instantané régurgité. Selon la loi de conservation de masse, le débit au niveau de la zone de convergence est égal au débit au niveau de l'orifice régurgitant (produit de l' $EROA_{MR}$ par la vitesse du flux régurgité):

$$Q = EROA_{MR} \times MR_{V_{max}}$$

Où Q_{MR} = débit instantané au niveau de l'hémisphère et $MR_{V_{max}}$ = vitesse du flux régurgité.

La $EROA_{MR}$ (cm²) est donc égale au débit divisé par la vitesse de la régurgitation au temps correspondant captée en Doppler continu du flux de régurgitation mitrale:

$$EROA_{MR} = Q_{MR}/MR_{V_{max}}$$

Le volume régurgité par battement (RV) (cc) est ensuite calculé en multipliant $EROA_{MR}$ par l'intégrale de la vitesse en fonction du temps (MR_{TVI}) (cm) du flux de la régurgitation capté en Doppler continu:

$$RV = EROA_{MR} \times MR_{TVI}$$

A partir du calcul du RV de la $EROA_{MR}$, la sévérité de l'IM est évaluée comme suit: légère si $EROA_{MR} < 10 \text{ mm}^2$ et $RV < 30 \text{ ml/battement}$, modérée si $EROA_{MR}$ située entre 10 et 20 mm² et RV

situé entre 30 et 60 ml/battement, et sévère si $EROA_{MR} > 40 \text{ mm}^2$ et $RV > 60 \text{ ml/battement}$ (Bargiggia *et al.*, 1991; Vandervoort *et al.*, 1993; Zoghbi *et al.*, 2003; Anderson, 2007a; Gouni *et al.*, 2007).

Chez l'homme et chez le chien, la méthode PISA a montré une bonne corrélation avec des méthodes plus invasives de détermination du volume de régurgitation (par exemple par IRM), et elle est considérée comme facile à appliquer (Kittleson et Brown, 2003; Choi *et al.*, 2004; Grossmann *et al.*, 2004; Doiguchi et Takahashi, 2006). Elle comporte néanmoins un certain nombre de limites. Par exemple, elle nécessite un certain degré d'habileté technique et d'expertise et un patient coopératif, et elle a malheureusement tendance à devenir moins précise dans certaines situations (Simpson *et al.*, 1996; Francis *et al.*, 2000). Par exemple, dans le cas de petites zones d'isovélocité, le volume régurgitant a tendance à être sous-estimé, en raison d'une compression radiale de l'hémisphère, adoptant une forme plutôt aplatie, alors que de larges zones d'isovélocité souffriront d'une compression latérale et donc d'une surestimation du volume régurgitant. La sélection de la bonne zone d'isovélocité ainsi que de valeur de Nyquist du Doppler joueront donc un rôle crucial dans l'estimation du volume régurgitant. Afin de pallier à ces faiblesses, plusieurs variantes et modifications de la technique ont été suggérées et sont toujours en développement (Lwanochko *et al.*, 1999; Mele *et al.*, 2001).

La méthode PISA a récemment été rapportée chez les chevaux (Young *et al.*, 2008). Cependant, elle nécessite des études complémentaires pour la valider en cardiologie équine.

3.6.1.1.2.3. Dimension du jet proximal (vena contracta)

La vena contracta est définie comme le diamètre du jet régurgitant (en Doppler couleur) immédiatement à son origine (Fig. 9).

Ce paramètre a été largement documenté en médecine humaine en vue de déterminer la sévérité des IM (Hall *et al.*, 1997; Roberts et Graburn, 2003). Chez l'homme, cette méthode présente en effet une bonne corrélation avec les estimations angiographiques et échographiques du volume régurgitant : plus elle est large, plus l'IM est sévère (Zoghbi *et al.*, 2003; Gorgulu *et al.*, 2004; Lesniak-Sobelga *et al.*, 2004; Lightfoot *et al.*, 2006; Young *et al.*, 2008). Il n'existe cependant pas d'informations sur la faisabilité et la fiabilité de la technique dans l'espèce équine.

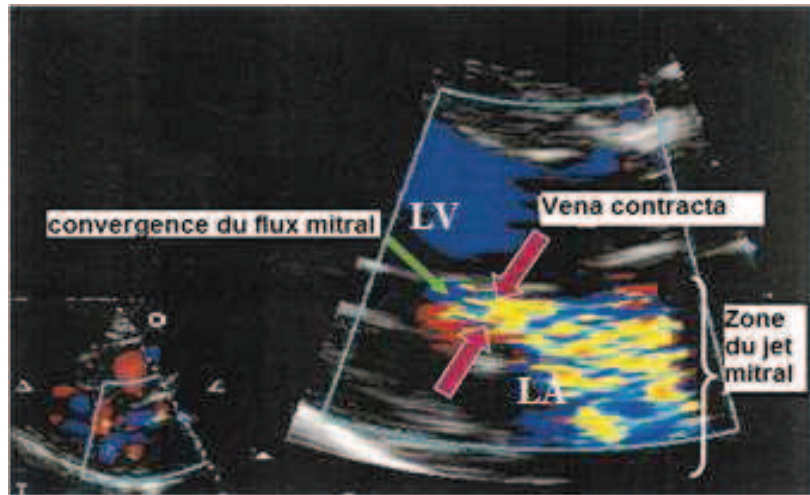
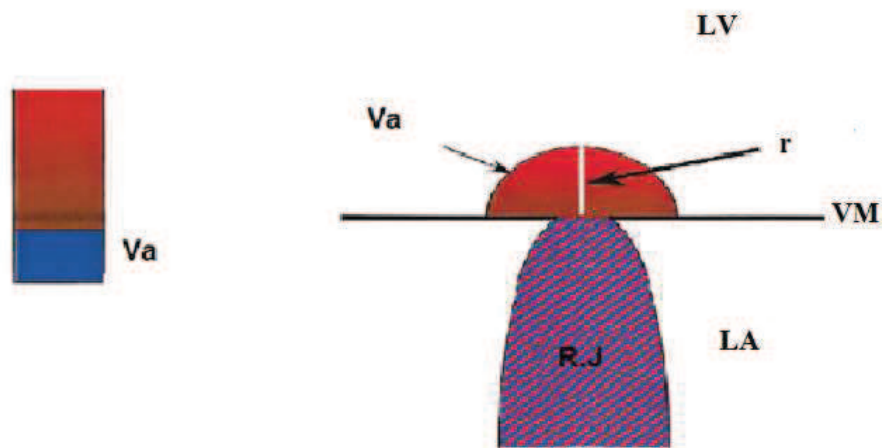


Figure 9: Exemple de mesure du jet proximal (vena contracta) sur un cas d'insuffisance mitrale évalué en Doppler couleur. LV: Ventricule gauche, LA: Oreillette gauche. (Zoghbi *et al.*, 2003).



débit instantané au niveau de l'hémisphère: $Q = 2 \pi r^2 \times Va$

Va: Vitesse des globules rouges au niveau de l'hémisphère (vitesse du repli spectral)

r: Rayon de l'hémisphère

R.J: Flux de l'insuffisance mitrale

LV: Ventricule gauche

VM: Valve mitrale

LA: Oreillette gauche

Figure 10: Evaluation de la surface de la zone d'isovélocité proximale convergente (méthode PISA)

3.6.1.1.3. Examen de l'insuffisance mitrale en échocardiographie Doppler spectrale

3.6.1.1.3.1. Evaluation de la surface occupée par le jet de l'insuffisance mitrale

De la même façon que le Doppler couleur permet d'évaluer la taille de l'IM, le Doppler pulsé noir et blanc peut également être utilisé pour faire la cartographie du ou des jets de régurgitation de l'IM en parcourant la profondeur de l'oreillette gauche avec le volume de prélèvement et en vérifiant jusqu'où la régurgitation peut être détectée, et, dès lors, d'en déterminer la taille (Boon, 2011c).

3.6.1.1.3.2. Evaluation de la fraction et du volume de l'insuffisance mitrale

Une autre technique permettant de quantifier le volume mitral régurgitant consiste à soustraire le volume du flux d'éjection aortique (SV_{AO}) (ml) du volume de l'influx mitral (SV_M) (ml), la différence correspondant au volume de régurgitation (RV_{MR}) (ml):

$$RV_{MR} = SV_M - SV_{AO} \text{ (Ascah } et al., 1989; \text{ Tribouilloy } et al., 1991b)$$

La fraction de régurgitation (FR_{MR}) représente le pourcentage du volume d'éjection systolique qui est régurgité vers l'oreillette gauche à chaque systole et elle est calculée selon la formule suivante:

$$FR_{MR} = ((SV_M - SV_{AO})/SV_M) \times 100$$

Chez le chien, une corrélation positive a été trouvée entre la FR_{MR} et la taille de l'oreillette gauche (Muzzi *et al.*, 2003).

Pour calculer ces paramètres, il est nécessaire de mesurer les flux mitraux et aortiques, ce qui se fait via l'intégrale de la vitesse en fonction du temps (aire sous la courbe) du flux à travers les valves correspondantes en Doppler pulsé (en diastole pour la valve mitrale et systole pour la valve aortique), multiplié par la surface de l'ouverture de chacune de ces valves selon les formules suivantes (Ascah *et al.*, 1989; Tribouilloy *et al.*, 1991b):

$$SV_{AO} = VTI_{AO} \times \pi (r_{AO})^2$$

$$SV_M = VTI_M \times \pi (r_M)^2$$

Où VTI_{AO} et VTI_M = intégrale de la vitesse en fonction du temps du flux aortique et du flux mitral (cm), respectivement, en Doppler pulsé; r_{AO} = diamètre de la racine aortique/2 (cm); r_M = diamètre de l'anneau mitral/2 (cm).

Enfin, la surface de l'orifice régurgitant effectif ($EROA_{RM}$) (cm^2) est calculée selon la formule suivante:

$$EROA_{RM} = FR_{MR} \times VTI_{MR}$$

Où FR_{MR} = fraction de régurgitation; VTI_{MR} = intégrale de la vitesse en fonction du temps de la régurgitation mitrale (cm) (Muzzi *et al.*, 2003; Zoghbi *et al.*, 2003).

Le désavantage principal de l'évaluation de la sévérité de l'IM basée sur les flux transmitraux est le potentiel d'erreur important introduit lors de la mesure du rayon des ouvertures des valves, rayon qui se retrouve élevé au carré lors du calcul de la surface (Kittleson et Brown, 2003). Une petite variabilité dans la mesure du rayon peut dès lors avoir un impact important sur le volume du flux calculé.

Enfin, selon des résultats obtenus chez l'homme, la sévérité de l'IM peut dans certains cas être sous-estimée, par exemple, lors d'une IM sévère associée avec une dilatation légère du ventricule gauche. Pourtant, cette méthode s'est avérée fiable dans de nombreux autres cas, notamment en cas d'IM excentrique (Zoghbi *et al.*, 2003).

Ces paramètres d'évaluation de la sévérité de l'IM n'ont pas été validés dans l'espèce équine.

3.6.1.1.3.3. Evaluation du flux de remplissage transmitral

Chez l'homme et les animaux de compagnie, il a été démontré qu'au plus l'IM devient sévère, au plus les vitesses de l'influx de remplissage du ventricule gauche deviennent élevées (Thomas *et al.*, 1998; Zoghbi *et al.*, 2003; Borgarelli *et al.*, 2008). Cela est, en bonne partie, dû au fait que le volume du flux traversant la valve mitrale incompétente est la combinaison du volume de remplissage normal du ventricule et du volume régurgité (Anderson, 2007a). La vitesse du pic A et pic E sont des indicateurs de la fonction diastolique de ventricule gauche dépendent les différences de la pression entre le ventricule et l'oreillette gauche (Boon, 2011c). Dans les cas d'IM légère, c'est surtout la vitesse maximale du pic A qui montre une augmentation, mais au plus la pathologie s'aggrave, au plus la vitesse maximale du flux de remplissage ventriculaire rapide (pic E) s'élève (Boon, 2011c). Ainsi, la vitesse maximale du pic E est considérée comme indicative d'une IM significative quand elle est supérieure à 1,2 m/sec (Thomas *et al.*, 1998; Patel *et al.*, 2000; Zoghbi *et al.*, 2003). D'autres paramètres ont été suggérés pour évaluer la fonction diastolique associée à différents grades d'IM chez l'homme ou dans des modèles expérimentaux chez le chien. Cependant, la validation de ces paramètres en tant que facteurs d'évaluation de la sévérité de l'IM dans des cas cliniques chroniques reste à établir (Boon, 2011c). Chez le cheval, aucune donnée n'est disponible à ce sujet dans la littérature.

3.6.1.1.3.4. Evaluation de la taille du jet de régurgitation

Le profil et l'intensité du flux régurgitant au Doppler spectral donnent des informations quant à la sévérité de l'IM (Zoghbi *et al.*, 2003; Anderson, 2007a). Par contre, la vitesse maximale du reflux n'est pas proportionnelle à la sévérité de l'IM (Boon, 2011c).

Plus le signal du spectre de vélocité du flux régurgitant obtenu en Doppler continu est dense et peu intense avec une enveloppe complète, et plus il est probable que le volume de la régurgitation est important. A l'inverse, un signal du flux de régurgitation peu dense et avec une enveloppe peu marquée est suggestif d'une IM peu significative (Boon, 2011c). Il ne s'agit cependant que d'une méthode semi-quantitative, et ce paramètre doit être analysé avec prudence, car une série de facteurs techniques, anatomiques, et physiologiques peuvent affecter le signal obtenu (Anderson, 2007a).

La forme du flux régurgitant peut donner des indications sur le gradient de pression régnant entre l'oreillette et le ventricule gauche pendant la systole. Ainsi, chez des patients avec une IM aigüe, une onde v a été observée dans la phase de décélération du flux régurgitant, en milieu ou fin de systole;

cette onde a été attribuée à une augmentation aigüe de la pression auriculaire gauche avec le reflux (Patel *et al.*, 2000; Zoghbi *et al.*, 2003). D'autre part, en cas d'IM légère, la pression auriculaire est peu modifiée, et dès lors le gradient de pression régnant entre l'oreillette et le ventricule gauche est assez élevé. Dans ce cas, le contour du flux de régurgitation est symétrique et plutôt arrondi. Par contre, si l'IM est plus sévère et associée à une élévation de la pression auriculaire gauche, le gradient de pression entre l'oreillette et le ventricule gauche en milieu et fin de systole est réduit. Cette réduction de la différence de pression entre les deux chambres se reflète sur le tracé du signal spectral Doppler du reflux par une forme en V (Patel *et al.*, 2000; Zoghbi *et al.*, 2003; Anderson, 2007a).

Ce phénomène a été très peu décrit en médecine vétérinaire, et est surtout marqué dans les cas d'IM aigüe.

3.6.1.1.3.5. Flux des veines pulmonaires

Chez l'homme et les animaux de compagnie, il a été établi que l'analyse du flux sanguin dans les veines pulmonaires peut fournir des informations quant à la sévérité de l'IM. En effet, la présence d'un flux systolique pulmonaire inversé dans les veines pulmonaires est suggestif d'une pression auriculaire gauche élevée, et indicative d'une IM modérée à sévère (Gatewood *et al.*, 1989; Patel *et al.*, 2000; Armstrong et Ryan, 2010b). Cependant, son absence ne doit pas être considérée comme permettant d'exclure une IM significative; en effet, dans certains cas, comme par exemple: quand le jet de régurgitation est très excentré par rapport aux veines pulmonaires, une IM importante peut ne pas être accompagnée de ce phénomène (Armstrong et Ryan, 2010b).

3.6.1.1.3.6. Evaluation de l'hypertension artérielle pulmonaire

L'hypertension artérielle pulmonaire est une conséquence fréquente de l'insuffisance cardiaque gauche (Kittleson et Kienle, 1998; Johnson *et al.*, 1999), et la présence d'une hypertension artérielle pulmonaire a été démontrée comme étant un facteur prédictif négatif de survie chez l'homme (Acar, 1995). Dès lors, il est utile d'évaluer la pression artérielle pulmonaire chez les sujets atteints d'IM.

La pression artérielle pulmonaire systolique, qui, en l'absence de sténose pulmonaire, est égale à la pression ventriculaire droite systolique, peut être estimée de façon non invasive par mesure de la vitesse maximale du flux de régurgitation tricuspide en Doppler continu, et l'application de l'équation de Bernouilli modifiée:

$$RVP_s = 4 V_{\max ITr}^2 + P_{OD}$$

Où RVP_s = pression ventriculaire droite en systole (mm Hg); $V_{\max ITr}$ = vitesse maximale du flux de régurgitation tricuspide (cm/s); P_{OD} = pression auriculaire droite estimée (mm Hg) (Johnson *et al.*, 1999; Armstrong et Ryan, 2010d). Chez l'homme et le chien, la pression auriculaire est estimée à une valeur de 5, 10 ou 15 mmHg sur base du diamètre de l'oreillette droite, de la disparition ou non de la vena contracta avec la respiration, et de la présence ou non de signes de surcharge volumique droite (Boon, 2011c). Cette méthode a été démontrée fiable pour estimer la pression artérielle pulmonaire

dans ces espèces (Kittleson et Kienle, 1998; Serres *et al.*, 2007), mais elle n'a pas été validée chez le cheval.

S'il est présent, le jet de régurgitation pulmonaire peut également être utilisé pour évaluer la présence d'une hypertension artérielle pulmonaire; le gradient de pression au pic précoce est indicatif de la pression artérielle pulmonaire moyenne et de la pression artérielle pulmonaire bloquée (Wedgée), alors que le gradient de pression en fin de diastole permet d'estimer la pression artérielle pulmonaire en fin de diastole (Kittleson et Kienle, 1998; Serres *et al.*, 2007). Enfin, il est intéressant de noter que le rapport entre le diamètre de l'oreillette gauche et le diamètre de l'aorte a été démontré comme étant significativement et positivement corrélé à l'hypertension artérielle pulmonaire chez des chiens en IM (Serres *et al.*, 2006).

3.6.1.1.4. Cas particulier de l'insuffisance mitrale aigüe

L'IM aigüe cause une augmentation brutale de la pression régnant à la fois dans l'oreillette et le ventricule gauches (Bonagura et Herring, 1985; Reef, 1987). A cause du caractère aigu de l'hypertension, ces cavités n'ont pas le temps de se dilater. D'autre part, le gradient de pression s'équilibre rapidement entre les 2 chambres, entraînant une détection plus difficile du flux régurgitant au Doppler couleur sur ces cas (Thomas *et al.*, 1990; Cape *et al.*, 1993).

Chez l'homme, il est conseillé d'évaluer la surface de la zone d'isovélocité proximale convergente (PISA), la dimension du jet proximal (vena contracta), le flux systolique des veines pulmonaires et la forme du flux de régurgitation dans ces situations (Cape *et al.*, 1993; Zoghbi *et al.*, 2003). Ces techniques ne sont cependant pas utilisables chez le cheval puisqu'elles n'ont pas été validées dans cette espèce.

3.6.1.2. L'examen échocardiographique de l'insuffisance aortique

3.6.1.2.1. Examen de l'insuffisance aortique en échocardiographie 2D et M

3.6.1.2.1.1. Évaluation de l'apparence et du mouvement de la valve aortique

Le prolapsus des valvules aortiques, avec ou sans présence de lésions dégénératives, est une cause importante d'IA chez le cheval. Il est détectable en échocardiographie 2D (Boon, 2011c).

Les lésions dégénératives des valvules aortiques constituent aussi des causes fréquentes d'IA (Maurer, 2006). Typiquement, les lésions dégénératives de la valve aortique sont lisses, petites et arrondies (Clark *et al.*, 1987; Elwood *et al.*, 1993). En travaillant avec des sondes ultrasoniques de basse fréquence, ce qui est souvent le cas chez le cheval attendu la taille de l'animal à investiguer et donc la profondeur d'examen nécessaire pour examiner le coeur, les lésions mesurant moins de 2 mm ne sont souvent pas visualisées (Popp, 1990; Ball et Weldon, 1992). En fait, même chez les animaux de compagnie chez qui des sondes ultrasoniques de fréquence élevée sont utilisées, ces lésions sont aussi parfois difficiles à détecter (Boon, 2011c). Les cas d'endocardite végétante sont par contre souvent associés à des lésions de plus de 2 mm de diamètre, et sont donc plus faciles à détecter. Ces lésions se

présentent alors comme une ou plusieurs masses hyperéchogènes irrégulières visibles dans le tractus d'éjection du ventricule gauche en systole (Lombard et Buergelt, 1983; Dedrick *et al.*, 1988; Elwood *et al.*, 1993).

L'échocardiographie M de la racine aortique normale montre les feuillets aortiques sous forme d'une ligne fine et lisse. Cette ligne indique le mouvement des valvules aortiques pendant la fermeture et l'ouverture de la valve aortique. Par contre, en cas de pathologie dégénérative, les feuillets aortiques se présentent, en systole comme en diastole, comme des lignes multiples représentant les lésions dégénératives (Bonagura et Pipers, 1983; Sisson et Thomas, 1984; Reef, 1991a).

Chez l'homme et les animaux de compagnie, la vibration des feuillets mitraux associée à l'IA est un signe détectable en échocardiographie 2D pendant la diastole. Cette vibration mitrale résulte des turbulences associées au flux aortique régurgitant. L'image obtenue en échocardiographie M montre un mouvement chaotique des feuillets mitraux pendant une partie ou la totalité de la durée de la diastole, et ce surtout lorsque la fréquence cardiaque est basse (Bonagura et Pipers, 1983; Lombard et Buergelt, 1983; Sisson et Thomas, 1984; Bonagura et Herring, 1985; Reef et Spencer, 1987; Armstrong et Ryan, 2010a). Les mêmes phénomènes ont été rapportés chez les chevaux (Bonagura et Pipers, 1983; Reef et Spencer, 1987).

En outre, dans la vue parasternale droite long axe 5 cavités montrant le tractus d'éjection du ventricule gauche, le feuillet septal de la valve mitrale peut, sous la pression du flux aortique régurgitant, montrer un mouvement d'inversion vers l'oreillette gauche. En vue transversale, le feuillet septal montre par contre une échancrure vers la paroi libre du ventricule gauche (Winsberg *et al.*, 1970; Pridie *et al.*, 1971; Trappe *et al.*, 1987; Ekery et Davidoff, 2000). D'autre part, une IA sévère peut restreindre le mouvement de la mitrale, et provoquer la fermeture précoce (avant le début du complexe QRS) de cette dernière. En cas d'IA aiguë et sévère, la pression diastolique du ventricule gauche augmente significativement et peut dépasser la pression de l'oreillette gauche en fin diastole (Pridie *et al.*, 1971). Cela est aussi détectable chez les animaux qui présentent une mise en place progressive d'une ICC (Botvinick *et al.*, 1975; Mann *et al.*, 1975; Bonagura et Pipers, 1983; Sisson et Thomas, 1984).

3.6.1.2.1.2. Évaluation de la taille et la fonction de ventricule gauche

L'IA a un impact plus négatif sur la fonction myocardique que l'IM. Cela est attribué à la surcharge volumique du ventricule gauche associée à l'IA modérée à sévère. Le stress de la paroi du ventricule gauche, et donc la post-charge, est également plus élevé en cas d'IA qu'en cas d'IM, car en l'absence de reflux vers l'oreillette gauche, l'augmentation de la pression dans le ventricule gauche liée à l'IA est importante (Maurer, 2006). La réponse compensatoire à cette surcharge volumique est une hypertrophie excentrique est une stimulation de la fonction systolique du myocarde (Bonagura et Pipers, 1983; Kittleson *et al.*, 1984; Reef et Spencer, 1987). Dès lors, une absence d'augmentation de la fraction de raccourcissement ou des dimensions systoliques normales du ventricule gauche sur un

cas d'IA suggèrent une insuffisance myocardique (Lombard et Buergelt, 1983; Kittleson *et al.*, 1984; Clark *et al.*, 1987).

Sur les cas, rares, d'IA aigue, les symptômes se développent rapidement car ces mécanismes compensatoires n'ont pas le temps de se mettre en place (Maurer, 2006). Sur ces cas, il n'y a dès lors pas de dilatation du ventricule gauche à l'échocardiographie. Par contre, en cas d'IA légère à modérée chronique, qui sont de loin les cas les plus fréquents chez le cheval, l'échocardiographie met en évidence une augmentation progressive à la fois de la dimension diastolique et de la fraction de raccourcissement du ventricule gauche. L'évaluation de ces paramètres est donc essentielle dans le suivi des cas d'IA (Boon, 2011c).

3.6.1.2.2. Examen de l'insuffisance aortique en échocardiographie Doppler couleur

Cette technique utilise trois méthodes pour évaluer l'IA: la taille du jet de l'IA, la vena contracta, et la convergence proximale du jet de l'IA.

3.6.1.2.2.1. Évaluation de la taille du jet de l'insuffisance aortique

Chez l'homme, la sévérité de l'IA est estimée essentiellement sur base de l'étendue du flux régurgitant aortique dans de tractus d'éjection et dans la cavité du ventricule gauche. Celle-ci est influencée par le volume et l'élasticité du ventricule gauche, la taille du défaut de coaptation valvulaire à l'origine de l'IA, et l'importance et la durée du gradient de pression entre l'aorte et le ventricule gauche.

De façon générale, l'IA est considérée comme légère si le flux régurgitant aortique se dissipe vite et reste localisé juste sous la valve mitrale pendant la diastole. Elle est par contre considérée comme modérée si le flux régurgitant s'étend jusqu'aux bords libres des feuillets mitraux pendant la diastole et sévère si le flux régurgitant s'étend au-delà (Losordo *et al.*, 1993; Krivokapich, 1994; Ekery et Davidoff, 2000).

Il a cependant été démontré qu'une classification de la sévérité de l'IA basée sur le calcul du rapport entre la largeur du flux régurgitant aortique mesurée à quasiment 1cm derrière la valve aortique d'un côté, et la largeur du tractus d'éjection du ventricule gauche d'un autre côté (Perry *et al.*, 1987; Ekery et Davidoff, 2000). Cette méthode est éventuellement plus fiable et plus représentative de la sévérité de l'IA (la corrélation était très étroite $r = 0,91$) (Perry *et al.*, 1987; Switzer *et al.*, 1987). Si ce rapport est inférieur à 24%, l'IA est considérée comme légère, si il se situe entre 25 et 46 % l'IA est considérée comme modérée, si il se situe entre 47 et 64% l'IA est considérée comme modérée à sévère, et si il est supérieur à $\geq 65\%$ l'IA est considérée comme sévère.

Chez les chevaux, l'évaluation de l'IA est réalisable à partir de la vue 2D parasternale gauche long axe 5 chambres apicale (Blissitt et Bonagura, 1995b) sur base de la taille et l'extension du flux régurgitant aortique dans le tractus d'éjection et dans la cavité du ventricule gauche.

3.6.1.2.2.2. Évaluation de la vena contracta

Chez l'homme et chez les petits animaux, la dimension du jet proximal (vena contracta) d'une IA est mesurable dans une vue 2D parasternale droite du tractus d'éjection du ventricule gauche. Dans cette vue, les composants de l'IA, à savoir la convergence proximale du reflux aortique, la vena contracta et l'extension du jet aortique doivent être visiblement détectables (Zoghbi *et al.*, 2003). Une vena contracta qui mesure moins de 3mm représente une IA légère. Si elle mesure plus de 5 mm, elle suggère une IA sévère, et si elle mesure plus de 7 mm, elle est spécifique d'une IA sévère (Enriquez-Sarano et Tajik, 2004).

La qualité de l'image obtenue influence la vena contracta qui n'est pas toujours symétrique.

Dans une étude chez 526 chevaux pur sang anglais, la vena contracta a été utilisée pour estimer la sévérité de différentes insuffisances valvulaires, dont l'IA, dans cette étude le jet de l'IA sévère occupait plus de 3/4 du tractus d'éjection du ventricule gauche avec une vena contracta et une PISA large (Young *et al.*, 2008).

3.6.1.2.2.3. Évaluation de la surface de la zone d'isovélocité proximale convergente (méthode PISA)

La méthode PISA, développée ci-dessus pour l'évaluation des IM, est également applicable à l'évaluation des IA. Pour ce faire, la limite de Nyquist doit être adaptée afin d'obtenir l'hémisphère de convergence du flux aortique. Le calcul de la surface de l'orifice régurgitant de l'IA par la méthode PISA est cependant soumis aux mêmes limites que pour l'IM, et ce particulièrement chez le cheval.

3.6.1.2.3. Examen de l'insuffisance aortique en Doppler spectral

3.6.1.2.3.1. L'évaluation de la pente et du temps de demi-vie du jet de l'insuffisance aortique

La pente et le temps de demi-vie du jet de l'IA sont des paramètres à mesurer en doppler continu. L'évaluation de ces deux variables, dépendent essentiellement du retour à l'équilibre entre la pression aortique et la pression ventriculaire gauche pendant la diastole, fournit des informations hémodynamiques supplémentaires sur la sévérité de l'IA. En effet, un orifice d'IA large permet un équilibre rapide des pressions, ce qui résulte en une pente raide et un temps de demi-vie court, car la pression aortique diminue rapidement dans ce cas, et la pression de LV augmente rapidement aussi. Par contre, si l'orifice de l'IA est petit, la récupération de l'équilibre des pressions est retardé, ce qui aboutit à un profil du flux de régurgitation en plateau avec un temps de demi-vie prolongé.

Chez l'homme, un temps de demi-vie de plus que 500 msec est associé à une IA légère. Par contre, un temps de demi-vie de moins de 300 msec est associé à une IA sévère (Zoghbi *et al.*, 2003; Maurer, 2006). D'autre part, une pente de flux régurgitant de moins de 2 m/sec² est associée à une IA légère, alors qu'une pente de plus de 3 m/sec² est associée à une IA sévère (Labovitz *et al.*, 1986 ; Grayburn *et al.*, 1987).

Plusieurs facteurs influencent ces deux variables comme, comme par exemple la taille de l'orifice de l'IA, l'élasticité du ventricule gauche et la pression diastolique régnant dans l'aorte (Griffin *et al.*, 1994; Thomas, 2002).

Cette méthode d'estimation de la sévérité de l'IA est utilisée en médecine équine, mais pourrait être validée de façon plus rigoureuse dans cette espèce.

3.6.1.2.3.2. Evaluation de la fraction du volume de l'insuffisance aortique (IA)

Le volume d'éjection systolique pulmonaire (SV_{PA}) doit normalement être égal au volume d'éjection systolique aortique (SV_{AO}). En cas d'IA, cela n'est plus d'application, et le volume de la régurgitation aortique (RV_{AR}) est calculable sur base de la formule suivante (Zoghbi *et al.*, 2003; Maurer, 2006):

$$RV_{AR} = SV_{AO} - SV_{PA} \text{ (ml)}$$

La méthode de calcul du SV_{AO} a été explicitée ci-dessus et se fait sur base de l'enregistrement du flux aortique en doppler pulsé. Le SV_{PA} se calcule de façon comparable, à partir de l'intégrale de la vitesse du flux pulmonaire en fonction du temps multiplié par la surface de l'artère pulmonaire à son origine (Zoghbi *et al.*, 2003; Maurer, 2006).

La fraction de régurgitation de l'IA (RF_{AR}) se calcule sur base de la formule suivante (Zoghbi *et al.*, 2003; Maurer, 2006):

$$RF_{AR} = (SV_{AO} - SV_{PA} / SV_{AO}) \times 100$$

La surface de l'orifice régurgitant effectif ($EROA_{AR}$) est calculée sur base de la formule suivante (Zoghbi *et al.*, 2003; Maurer, 2006):

$$EROA_{AR} = RV_{AR} \times VTI_{AR} \text{ (cm}^2\text{)}$$

Où VTI_{AR} = intégrale de la vitesse en fonction du temps de la régurgitation aortique

Chez l'homme, une $EROA_{AR}$ égal ou supérieur à 0.3 cm^2 , et un RV_{AR} égal ou supérieur 60 ml sont associés à une IA sévère.

Cette méthode de la quantification de l'insuffisance aortique n'est plus correcte en cas de la sténose aortique, ou de défaut de septum inter-ventriculaire ou inter-auriculaire (Ekery et Davidoff, 2000).

La validation de cette méthode en cardiologie équine pourrait fournir des informations intéressantes pour quantifier la sévérité des IA chez cette espèce.

3.6.1.2.3.3. L'évaluation du flux reversal diastolique

L'utilisation de l'échocardiographie transoesophagienne a permis chez les animaux de compagnie et chez l'homme de mesurer un autre paramètre d'évaluation de la sévérité de l'IA (Zoghbi *et al.*, 2003).

Il s'agit de la mise en évidence d'un flux inversé diastolique à l'analyse spectrale du flux dans l'aorte descendante. Un tel flux est normalement absent ou très faible à l'état physiologique ou sur les cas d'IA légers, mais devient significatif et durable quand l'IA est modérée à sévère (Touche *et al.*, 1985; Tribouilloy *et al.*, 1991a; Zoghbi *et al.*, 2003). Hors de l'anesthésie générale, l'utilisation de

l'échocardiographie transoesophagienne étant très limitée dans l'espèce équine, les potentialités d'application de ce paramètre dans cette espèce sont cependant faibles à nulles.

3.6.1.2.3.4. Evaluation de l'apparence du jet de l'insuffisance aortique

S'il est difficile d'obtenir une enveloppe complète et dense du flux de régurgitation, une IA légère peut être suspectée. Par contre, l'évaluation de la densité du signal n'est pas fiable pour estimer des IA modérées ou sévères (Zoghbi *et al.*, 2003).

3.6.1.3. Examen échocardiographique de l'insuffisance tricuspide

3.6.1.3.1. Examen de l'insuffisance tricuspide en échocardiographie 2D et M

La vue 2D parasternale droite long axe 4 chambre est la vue idéale pour évaluer la valve tricuspide. Dans cette vue, un prolapsus tricuspide peut être détecté. Il peut résulter de l'étirement des cordages, ou bien de la rupture d'un cordage mineur (Marr, 2010a; Boon, 2011c). Des lésions d'endocardite ou une pathologie dégénérative de la valve tricuspide peuvent aussi être impliquées dans le développement d'une ITr (Marr, 2010a).

L'ITr peut aboutir à des changements importants de la taille du ventricule et de l'oreillette droite. Normalement, le diamètre du ventricule droit représente un tiers de celui du ventricule gauche. Si ce rapport est modifié, il faut investiguer la présence d'une ITr ou d'une Ipu, d'une hypertension pulmonaire, ou d'une malformation congénitale. D'autre part, un mouvement paradoxal du septum inter-ventriculaire est un signe important de surcharge de pression au niveau du ventricule droit. La pression ventriculaire droite peut même s'élever au point de dépasser la pression ventriculaire gauche dans les cas sévères (Veyrat *et al.*, 1982; Marr, 2010a; Boon, 2011c). Dans des stades avancés de surcharge volumique du ventricule droit, l'apex cardiaque adopte une forme arrondie (Marr, 2010a).

Les cas sévères d'ITr doivent être différenciés des cas d'hypertension pulmonaire qui résultent également en une dilatation du ventricule et de l'oreillette droite à cause de la pression élevée de remplissage du ventricule droit (Boon, 2011c).

3.6.1.3.2. Examen de l'insuffisance tricuspide en échocardiographie Doppler couleur

L'évaluation de la sévérité de l'ITr en échocardiographie Doppler couleur est moins fiable que celle de l'IM (Zoghbi *et al.*, 2003). De plus, la méthode de PISA est difficile à appliquer et a été démontrée imprécise au niveau de l'anneau tricuspide. Par contre, la vena contracta est bien corrélée à la sévérité de l'ITr chez les animaux de compagnie et chez l'homme (Rivera *et al.*, 1996; Tribouilloy *et al.*, 2000). Par contre, cette méthode n'a pas été validée chez des chevaux avec ITr.

3.6.1.3.3. Examen de l'insuffisance tricuspide en échocardiographie spectrale

L'échocardiographie Doppler spectrale peut fournir des informations utiles pour la détermination de la vitesse de la régurgitation tricuspide, ainsi pour l'estimation de la pression ventriculaire droite et pulmonaire (Bond, 1991; Takemura *et al.*, 1996). Par contre, l'évaluation de la fraction de la

régurgitation tricuspide n'est pas valide à cause de la difficulté de mesurer l'anneau tricuspide (Boon, 2011c).

3.6.1.4. Examen échocardiographique de l'insuffisance pulmonaire (IPu)

Toutes les espèces présentent de l'IPu physiologique. Normalement, l'IPu pathologique primaire est rare (Else et Holmes, 1972; Nilsfors *et al.*, 1991; Reimer *et al.*, 1991). Par contre, elle peut se développer secondairement à des lésions infectieuses ou être associée à une sténose pulmonaire, une hypertension pulmonaire ou une surcharge du ventricule droit. Dans ce cas, une dilatation de l'anneau pulmonaire est détectable à l'échocardiographie. Néanmoins, la taille du jet de l'IPu n'est pas significativement associée à la sévérité de cette insuffisance (Boon, 2011c).

3.6.2. Électrocardiographie

Lorsque l'insuffisance valvulaire est associée à une dysrythmie, il est indispensable de réaliser un examen électrocardiographique (ECG) pour en déterminer la nature (Patteson, 1996d).

En raison de la dilatation auriculaire gauche induite par l'IM, l'arythmie la plus fréquemment rencontrée sur ces cas est la fibrillation auriculaire (Reef *et al.*, 1998; Maurin *et al.*, 2003; Vohra *et al.*, 2012). Cette arythmie peut avoir des conséquences cliniques importantes.

De plus, en cas d'IM chez un cheval destiné à réaliser des performances sportives, il est conseillé de faire un test à l'effort avec ECG pour vérifier qu'il n'y a pas d'arythmies induites par l'exercice qui peuvent être dangereuses pour le cheval et pour le cavalier (Patteson, 1996d).

D'autre part, l'IA est le plus souvent associée à des dysrythmies ventriculaires qui sont apparemment indépendantes de la sévérité de l'IA (Marr, 2010a). Cependant, il semble quand même que les dépolarisations prématurées supra-ventriculaires sont plus souvent détectées chez les chevaux avec IA sévère (Stevens *et al.*, 2009).

Par contre, l'ITr ne semble pas associée significativement à des dysrythmies (Reef, 1988).

3.6.3. Analyse de sang

En cas de suspicion d'endocardite, une analyse de sang peut être réalisée pour mettre en évidence un foyer inflammatoire (Jesty et Reef, 2006; Poter *et al.*, 2008).

En médecine humaine, le dosage des peptides natriurétiques a été démontrée intéressante pour évaluer la sévérité de l'ICC qui peut être associée à une insuffisance valvulaire et aider au suivi du traitement. Parmi ces peptides, en médecine équine, seule la mesure de la concentration plasmatique de l'ANP a été techniquement validée, et dans une étude, une tendance à des valeurs d'ANP plus élevées (bien que cette différence n'était pas significative) a été rapportée chez des chevaux avec IM asymptomatique en comparaison à des chevaux sains (Gehlen *et al.*, 2007b).

3.7. Pronostic des insuffisances valvulaires

Dans le domaine de la cardiologie équine, l'établissement d'un pronostic sur les cas d'insuffisance valvulaire revêt une importance particulière. En effet, outre l'attachement sentimental qui peut lier le propriétaire à son animal, les enjeux économiques des conséquences à court et long terme des insuffisances valvulaires sur les performances de l'animal sont parfois considérables. De plus, il faut mentionner la responsabilité du vétérinaire quant à l'évaluation des risques pour le cavalier d'utilisation sous la selle d'un cheval atteint d'une insuffisance valvulaire.

3.7.1. Pronostic de l'insuffisance mitrale

Dans l'espèce équine, le pronostic de l'IM est, dans la plupart des cas, difficile à établir et nécessite toujours une échocardiographie (Bonagura et Herring, 1985). Dans les cas asymptomatiques d'IM très légère sans aucun signe de surcharge volumique à l'échocardiographie ou, à l'autre extrême, dans les cas d'IM présentant des signes cliniques et échocardiographiques évidents d'ICC, le pronostic est relativement facile à établir. Par contre, dans les cas intermédiaires, qui sont fréquemment rencontrés sur le terrain, il faut se montrer extrêmement prudent quant à l'interprétation de l'IM (Littlewort, 1977; Patteson, 1996d). L'établissement d'un pronostic est particulièrement délicat dans certaines situations, comme, par exemple, dans le cas d'une visite d'achat. En effet, beaucoup de chevaux porteurs d'une IM légère ou modérée d'évolution lente sont capables de réaliser des performances normales pendant plusieurs années (Patteson, 1996d), mais à l'inverse, certains d'entre eux peuvent évoluer rapidement vers une IM sévère entraînant une limitation des performances voire de l'intolérance à l'effort et le développement d'une ICC. Les critères de base pour poser un pronostic sont donc l'importance de la régurgitation à l'échocardiographie Doppler, ses répercussions sur la fonction et la morphologie cardiaque, les signes cliniques associés, l'étiologie et la vitesse d'évolution (Reef, 1992; Geor et McCutcheon, 1996; Patteson, 1996d; Blissitt, 1999; Kriz *et al.*, 2000b; Maurin *et al.*, 2003). Le Tableau 3 assume les critères de pronostic favorables et défavorables qui ont été mentionnés dans la littérature pour le cheval en IM (Reef, 1992; Geor et McCutcheon, 1996; Patteson, 1996d; Blissitt, 1999; Kriz *et al.*, 2000b). Dans une étude portant sur 41 cas dont 26 ont été suivis sur une période s'étalant entre 6 mois et 6 ans après le diagnostic initial d'IM (39% légère, 17% modérée, 44% sévère), une issue fatale était significativement associée à la présence d'une fibrillation auriculaire, à l'importance de la régurgitation mitrale, à la présence d'une dilatation de l'oreillette gauche ou de l'artère pulmonaire, à un grade élevé de souffle, et à la présence de signes cliniques d'ICC (Maurin *et al.*, 2003).

En cas d'IM modérée, certains auteurs conseillent un premier contrôle échocardiographique 3 mois après le diagnostic, suivi d'un contrôle tous les 6 mois pour évaluer l'évolution de la pathologie et affiner le pronostic (Patteson, 1996d). Une telle assiduité dans le suivi est cependant rarement obtenue

sur le terrain, surtout si la pathologie évolue peu ou n'évolue pas aux premiers contrôles réalisés. D'autres auteurs préconisent plutôt un suivi annuel ou bisannuel (Littlewort, 1977).

En médecine humaine, une question fortement controversée dans la littérature est de déterminer à quel moment il est le plus approprié d'envisager une intervention chirurgicale chez les patients atteints d'IM (Adams *et al.*, 2010). C'est une des raisons pour laquelle différentes méthodes, combinant l'utilisation de plusieurs paramètres échocardiographiques, ont été développées pour déterminer avec le plus de précision possible la sévérité de l'IM (Thomas *et al.*, 1998; Thomas *et al.*, 1999).

De façon générale, il faut retenir qu'il est fortement conseillé de combiner l'utilisation de plusieurs paramètres dont la spécificité a été démontrée pour évaluer la sévérité de l'IM (Boon, 2011c). Bon nombre de ces paramètres n'ont cependant pas été validés chez le cheval.

Tableau 3: Critères de détermination du pronostic en cas d'insuffisance mitrale chez le cheval (Reef, 1992; Geor et McCutcheon, 1996; Patteson, 1996b; Blissitt, 1999; Kriz *et al.*, 2000b).

Indicateurs de pronostic favorable

- FC de repos normale
- Absence de signes d'insuffisance cardiaque congestive
- Souffle grade I ou II/VI localisé et/ou de courte durée
- Valvule mitrale: prolapsus sans modification structurelle et non associé ou faiblement à de la régurgitation ; Pas de modification structurelle de la valvule
- Doppler du reflux (! mapping difficile): reflux limité en surface et/ou de durée limitée (< 50 % de la systole)
 - Pas de signes de surcharge volumique du ventricule gauche: LVIDd normal ; pas d'aspect globuleux de l'apex du ventricule gauche; FS normal
 - Pas de dilatation de l'oreillette gauche
 - Pas de dilatation de l'artère pulmonaire
 - Pas d'aggravation ou amélioration aux échocardiographies de contrôle

Indicateurs de pronostic défavorable

- FC de repos élevée (> 45/min) ou tachycardie d'effort exagérée
- Dyspnée, fièvre, souffle de grade III à VI/VI et prolongé
- Signes cliniques d'insuffisance cardiaque congestive
- Valvule mitrale: épaissement diffus ou localisé, modéré à sévère, de la valvule ; lésion végétative (endocardite) ; feuillet(s) battant comme un fléau ("flail" valve) ; rupture d'un cordage tendineux majeur
- Doppler du reflux (! mapping difficile): reflux étendu en surface
 - Signes de surcharge volumique du ventricule gauche: LVIDd >145 cm ; aspect globuleux de l'apex du ventricule gauche; hyperkinésie du septum et FS ↑↑ ou ↓; IVS et LVFW ↓
 - Dilatation de l'oreillette gauche (> 155 cm) et rapport LA/Ao ↑ (signe absent dans les cas aigus)
- Dilatation de l'artère pulmonaire (signe absent dans les cas aigus), insuffisance pulmonaire ± tricuspide
 - Arythmies pathologiques associées (ex: fibrillation auriculaire; extrasystoles)
 - Régurgitation sévère sans signes de surcharge volumique (cas aigus)
 - Aggravation rapide aux échocardiographies de contrôle

FC = fréquence cardiaque; LVIDd = diamètre interne du ventricule gauche en diastole; FS = fraction de raccourcissement du ventricule gauche; IVS et LVFW = épaisseur du septum interventriculaire et de la paroi libre du ventricule gauche, respectivement.

3.7.2. Pronostic de l'insuffisance aortique

En général, le pronostic de l'IA est bon chez les chevaux d'âge moyen à avancé présentant une IA légère ou modérée dont l'évolution est lente, et qui n'est pas associée à des arythmies. Ces chevaux sont dans la grande majorité des cas utilisables de façon sécuritaire pendant plusieurs années avec de bons niveaux de performance. Par contre, si l'IA est détectée chez les chevaux jeunes, la signification clinique de cette insuffisance pourrait être plus élevée (Marr, 2010a). D'autre part, un mauvais pronostic sera à considérer en cas d'IA aiguë et sévère, ainsi qu'en cas d'IA associée à une pathologie dégénérative à un stade avancé, avec présence d'une dilatation du ventricule gauche résultant en une dilatation de l'anneau mitral et à une IM, ou bien en présence de foyers de dépolarisation ventriculaires ectopiques significatifs (Marr, 2010a).

Dans une étude menée au Royaume Uni chez des chevaux dont la majorité était des chevaux vieux et retraités, il a été démontré que plusieurs anomalies sont associées à une prédiction d'évolution de l'IA en ICC, à savoir: un souffle aortique de grade supérieur à 3/6, plusieurs souffles cardiaques concomitants, une pression artérielle systolique supérieure ou égale à 125 mmHg, une pression artérielle diastolique inférieure ou égale à 50 mmHg, une pression de pouls supérieure ou égale à 60 mmHg, une concentration plasmatique en noradrénaline supérieure ou égale à 130 pg/ml, une concentration en adrénaline supérieure ou égale à 40 pg/ml, et plusieurs indices de variabilité de la fréquence cardiaque ("heart rate variability") (Horn, 2002b). La présence d'arythmies ventriculaires pourrait également constituer un élément prédictif d'une évolution de l'IA. À cet égard, il a été suggéré que 30 à 50% des chevaux présentant des dépolarisations ventriculaire prématurées associées à une IA présentent un risque d'évolution de la pathologie endéans les deux ans (Horn, 2002b). Ces résultats devraient cependant être validés dans de plus large populations de chevaux (Marr, 2010a).

3.7.3. Pronostic de l'insuffisance tricuspide

Dans la majorité des cas, l'ITr n'influence pas la performance athlétique lorsqu'elle est détectée chez des jeunes chevaux à l'entraînement (Young *et al.*, 2008). Par ailleurs, le pronostic est bon sur les cas de prolapsus tricuspide, lorsque l'ITr est légère à modérée, ainsi que chez les chevaux présentant une ITr sans impact sur l'intégrité de la structure de la valve tricuspide. Néanmoins, sur les cas d'ITr, il est conseillé de toujours vérifier de façon attentive l'absence d'une autre pathologie cardiaque concomitante, telle que par exemple une IM, une IA ou une anomalie congénitale. Dans ces cas, le risque d'évolution négative est plus important (Marr, 2010a).

3.8. Traitement des insuffisances valvulaires

En dehors de l'endocardite, pour laquelle le traitement envisageable ne sera pas développé ici, il n'existe pas de traitement étiologique des insuffisances valvulaires en médecine équine.

Seul un traitement symptomatique de l'ICC peut être envisagé quand celle-ci s'installe, mais ce traitement doit être considéré comme purement palliatif et, s'il est souvent efficace à court terme, il ne

l'est que rarement à long terme (Patteson, 1996d; Marr, 2010b). Par exemple, il a été démontré dans une étude que 9 des 14 chevaux traités pour ICC sont morts ou ont été euthanasiés dans les 12 mois de la mise en place du traitement (Davis *et al.*, 2002). Le traitement ne servira donc qu'à améliorer temporairement les capacités d'effort et le confort de vie de l'animal quand celui-ci a une valeur affective ou des potentialités d'utilisation en reproduction (Bonagura et Herring, 1985; Patteson, 1996d). Tout traitement sera incompatible avec l'utilisation du cheval en compétition puisque l'administration de médicaments est prohibée dans ce cas.

Chez l'homme et chez le chien, le traitement préconisé en cas d'IM est basé sur de la médecine factuelle et a fait l'objet de consensus en fonction du grade de l'insuffisance (Atkins *et al.*, 2009; Borgarelli et Haggstrom, 2010; Adams *et al.*, 2010). Par contre, il n'existe que très peu de données scientifiques sur le traitement de l'ICC chez le cheval. Dès lors, l'efficacité et les posologies de ces médicaments sont souvent dérivées des données disponibles chez l'homme ou chez les animaux de compagnie. De plus, de nombreux médicaments récemment développés et utilisés chez l'homme ou chez les animaux de compagnie, ne peuvent l'être chez le cheval à cause de leur prix prohibitif.

De façon générale, le traitement de l'ICC consiste à modifier l'activation des mécanismes neuro-hormonaux mis en jeu en réponse à la pathologie et décrits ci-dessus (chapitre 1.5.1). Il existe des interactions très complexes entre toutes les substances libérées par ces mécanismes. Le groupe des "bad guys" stimule la libération des autres substances de ce groupe, alors que les substances du groupe des "good guys" inhibent la libération ou a des effets opposés aux substances du groupe des "bad guys". Un déséquilibre de l'activation des deux groupes en faveur des "bad guys" joue un rôle central dans le développement de l'ICC. L'objectif de la plupart des traitements de l'ICC est donc de contrecarrer ce déséquilibre, soit en favorisant le groupe des "good guys", soit, au contraire, en inhibant le groupe des "bad guys".

Diurétiques : Les diurétiques sont considérés comme essentiels pour le traitement symptomatique de l'ICC quand il y a une surcharge volumique qui se manifeste cliniquement par de la congestion pulmonaire et/ou de la congestion des jugulaires et des œdèmes périphériques (Patteson, 1996d). Attendu que les signes cliniques d'ICC chez le cheval sont souvent liés à la formation d'œdèmes et d'effusion, les médicaments qui permettent de réduire leur formation sont les plus efficaces pour améliorer la qualité de vie du patient.

Les diurétiques de l'anse et les diurétiques hyperkaliémiants sont utilisés en médecine humaine et chez les animaux de compagnie, mais parmi ces médicaments, seul le furosémide a été démontré avoir une bonne innocuité chez le cheval (Patteson, 1996d; Marr, 2010b). Ce diurétique de l'anse induit une diminution du volume sanguin, du volume des fluides extra-cellulaires, de la pression ventriculaire gauche en fin de diastole, de la pression artérielle pulmonaire bloquée qui est une estimation de la pression capillaire, et du volume de fluides pulmonaires. De plus, le furosémide induit une vénodilatation et une diminution de la résistance vasculaire au niveau rénal (Muir *et al.*, 1976; Patteson, 1996d).

Chez le cheval, le furosémide est donné au départ à la dose de 0.5 à 2 mg/kg par voie sous-cutané, intraveineuse ou intramusculaire (Sc, Iv ou Im respectivement) toutes les 6 à 8 heures (Marr, 2010b). La fréquence d'administration peut être augmentée si nécessaire. En maintenance, la dose sera de 0,5 à 1 mg/kg Sc, Iv ou Im une seule dose à deux par jour (SID à BID). Certains chevaux répondent bien à une poursuite de son administration par voie orale (PO), mais souvent avec une nette diminution de son efficacité (Marr, 2010b). Cela est probablement dû à sa faible biodisponibilité orale qui avoisine 10% (Lee et Chiou, 1983; Johansson *et al.*, 2004). L'administration du furosémide à long terme peut induire de l'hyponatrémie, de l'hypokaliémie, de l'hypomagnésémie et de l'alcalose métabolique (Freestone *et al.*, 1988). Il est dès lors conseillé de surveiller régulièrement (1X/semaine idéalement) l'équilibre électrolytique en cours de traitement (Marr, 2010b). La mise à disposition d'un foin de bonne qualité, idéalement de la luzerne, et un ajout éventuel de KCl à la ration (1 à 2,5 gr 2X/jour) pour compenser les pertes en électrolytes sont également conseillés.

Inotropes positifs: Un certain nombre d'agents inotropes positifs sont disponibles pour traiter l'ICC (Miller *et al.*, 2011). Cependant, pour le traitement de l'ICC chronique humaine, la plupart d'entre eux ont été abandonnés car ils ne semblaient pas influencer favorablement la longévité ou les signes cliniques (Stevenson, 2003). De plus, certains essais cliniques ont même montré une augmentation du taux de mortalité associée à leur usage (Patteson, 1996d).

Par exemple, il persiste certaines controverses concernant l'efficacité de la digoxine pour traiter des patients humains en ICC, alors que cette molécule est toujours recommandée chez les chiens et chez les chevaux. En effet, en cas d'insuffisance myocardique (qui peut se développer dans les cas d'ICC sévères), elle augmente la contractilité du myocarde et a aussi d'autres effets importants. Elle a des effets diurétiques (par suppression de l'activité de la rénine et de l'aldostérone et par la stimulation de la diurèse), elle stimule la fonction des barorécepteurs (diminution de la stimulation adrénergique), et a des effets chronotropes négatifs et antiarythmiques. Ces derniers effets ont été attribués à (1) une augmentation de l'activité parasympathique et à une diminution de l'activité sympathique au niveau du nœud sinusal, des oreillettes, et du nœud atrio-ventriculaire, et (2) un allongement de la période réfractaire du nœud atrio-ventriculaire (Muir et McGuirk, 1985; Lewis, 1990). Dès lors, la digoxine diminue le rythme sinusal (et donc la fréquence cardiaque diminue) et est capable d'inhiber les dépolarisations atriales prématurées et la tachycardie supra ventriculaire (Marr, 2010b).

Concernant l'espèce équine, des études de pharmacocinétique ont été menées sur des chevaux sains (Button *et al.*, 1980; Sweeney *et al.*, 1993). Elles ont permis de déterminer que la biodisponibilité orale de cette molécule est de l'ordre de 20%, qu'elle présente de très grandes variabilités individuelles, et qu'un premier pic plasmatique est observé 2 heures après son administration et est suivi par un pic retardé après 4 à 8 heures. Sur base de ces études, la digoxine est préconisée à la dose d'attaque de 0,0022 à 0,00375 mg/kg Iv BID. Le nombre total d'administrations à cette posologie ne doit cependant pas excéder deux. En pratique, cette posologie est rarement utilisée; on lui préfère en général directement la dose de maintenance de 0,011 mg/kg BID PO ou 0,0022 mg/kg Iv BID (Pedroli

et al., 1978; Sweeney *et al.*, 1993). En raison de la très large variabilité individuelle de l'absorption de la digoxine dans cette espèce (Pedroli *et al.*, 1978; Patteson, 1996d), il est conseillé de doser le taux plasmatique de digoxine au second pic (6 à 8 heures après administration) et au creux de l'administration (12 heures après administration) après quelques jours puis quelques semaines de mise en place du traitement. Ce dosage permettra alors de déterminer si la posologie est efficace mais reste sous le seuil toxique (Patteson, 1996d; Marr, 2010b). Les concentrations obtenues au pic et au seuil doivent idéalement se situer entre 0,5 et 2,0 ng/ml (idéalement entre 1 et 1,5 ng/ml) et rester inférieures au taux toxique de 2,5 ng/ml. Certains chevaux montrent cependant des signes d'intoxication à des taux sériques inférieurs à cette valeur. Lors de tout traitement à la digoxine, il faut dès lors être particulièrement attentif à des signes éventuels d'intoxication tels que de la diarrhée, de la distension abdominale, de la dépression, une perte de poids, de l'anorexie ou des arythmies cardiaque ventriculaires (Roby *et al.*, 1986; Patteson, 1996d). En outre, l'équilibre hydro-électrolytique et acido-basique doit être contrôlé et doit rester normal avant et pendant le traitement (Bonagura et Blissitt, 1995). De plus, des interactions entre la digoxine et certains autres médicaments tels que la quinidine, les antihistaminiques de type 2, l'oxytétracycline, ou la phénylbutazone existent. Par exemple, si la digoxine est administrée simultanément à de la quinidine, il est préconisé de réduire sa posologie de moitié (Patteson, 1996d). Étant donné son élimination rénale, il faut aussi réduire la posologie de la digoxine chez des chevaux présentant une insuffisance rénale (Patteson, 1996d).

Chez les animaux de compagnie, *le pimobendane* est un autre agent inotrope utilisé pour traiter l'ICC. Aucune donnée concernant cette molécule n'est disponible chez le cheval et son prix prohibitif en limite de toute façon l'utilisation dans cette espèce.

Inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine: Plusieurs inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (IECA) ont été documentés comme étant efficaces pour traiter des patients humains ou canins avec une ICC chronique légère, modérée ou sévère (Marr, 2010b). Cependant, leurs propriétés hémodynamiques et diurétiques sont modestes en comparaison respectivement aux vasodilatateurs directs et aux diurétiques, et ils ne sont donc pas indiqués dans le traitement de l'ICC aiguë (Atkins *et al.*, 2009). Chez les patients cardiaques, les IECA diminuent la concentration plasmatique en angiotensine II, et induisent une vasodilatation artérielle et veineuse. Ils sont, pour cette raison, classifiés comme vasodilatateurs mixtes. Cependant, ils induisent aussi une diminution de la concentration plasmatique en aldostérone, et donc une augmentation de l'excrétion de l'eau et du sodium, ce qui réduit la formation des œdèmes. Les IECA ont aussi des effets bénéfiques chez les patients en ICC par leurs propriétés d'inhibition du remodelage cardiaque.

Chez le cheval, les données de pharmacocinétique ou d'efficacité des IECA dans le cadre du traitement de l'ICC sont très limitées (Patteson, 1996d). L'énalapril et le quinalapril sont deux IECA qui ont un prix de revient relativement abordable et qui ont été étudiés chez le cheval. En ce qui concerne l'énalapril, plusieurs études conduites sur des chevaux sains à la posologie de 0,5 mg/kg PO SID ont montré que sa biodisponibilité orale est faible, qu'il n'a pas d'effet clinique ou

échocardiographique mesurable, et que son efficacité à réduire l'activité de l'enzyme de conversion de l'angiotensine est faible voire absente (Muir *et al.*, 2001; Gardner *et al.*, 2004; Sleeper *et al.*, 2008). L'énalapril est cependant malgré tout préconisé par certains auteurs sur des chevaux atteints d'IM significative à la posologie de 0,25 à 0,50 mg/kg SID à BID PO (Patteson, 1996d).

Dans une étude concernant le quinalapril, son administration à la posologie de 120 mg/cheval/jour n'a pas eu d'effet clinique ou échocardiographique sur 5 chevaux sains (Gehlen *et al.*, 2003). Cependant, dans cette même étude, chez 20 chevaux présentant une IM asymptomatique, l'administration de quinalapril à la même posologie a été associée à une augmentation du volume d'éjection systolique et du débit cardiaque mais sans modification du diamètre interne du ventricule gauche ou de la fraction de raccourcissement, et, selon l'appréciation des propriétaires, à une amélioration clinique mineure. De plus, 5 des 20 chevaux examinés ont, en outre, présenté une réduction de la sévérité de l'IM après traitement. Cette molécule à la posologie qui peut être traduite par 0,2 mg/kg SID PO attendu le poids des chevaux testés, pourrait donc s'avérer intéressante sur des chevaux atteints d'IM. Cependant, d'autres études testant son efficacité sur des chevaux atteints d'IM symptomatique et présentant des signes d'ICC seraient intéressante.

Les signes d'intoxication observés lors d'un traitement avec des IECA sont une baisse d'appétit, des coliques, ou de l'abattement (Patteson, 1996d).

Plusieurs inhibiteurs des récepteurs de l'angiotensine II sont recommandés pour le traitement de l'ICC chronique chez l'homme en tant que traitement alternatif ou combiné des IECA. Aucune donnée les concernant n'est disponible chez le cheval.

Agents vasodilatateurs: Les vasodilatateurs peuvent être classifiés en 3 groupes: les vasodilatateurs artériels (ex: hydralazine), les vénodilatateurs (ex: nitroglycérine), et les vasodilatateurs mixtes (ex: prazosine, nitroprusside).

Les *vasodilatateurs artériels* relaxent les muscles lisses des artérioles systémiques, ce qui diminue la résistance et l'impédance vasculaire périphérique, et donc la post-charge ventriculaire gauche. Cet effet est spécialement intéressant chez les patients avec une IM, une IA, un défaut de septum interventriculaire, ou une persistance du canal artériel. Dans cette catégorie de molécules, il a été démontré que l'hydralazine (0,5 à 1,5 mg/kg BID PO) diminue la résistance périphérique totale et augmente le débit cardiaque chez les chevaux sains (Bertone, 1988), mais aucune donnée n'est disponible pour son utilisation chez des chevaux en ICC (Patteson, 1996d). De plus, cette molécule n'est pas commercialisée en Europe et présente des risques d'induction d'une hypotension systémique sévère (Bonagura et Herring, 1985; Smith *et al.*, 1988).

Les *vénodilatateurs* relaxent les muscles lisses des veines systémiques, ce qui a pour effet de redistribuer une partie du volume sanguin vers le réservoir veineux systémique, et de diminuer le volume sanguin comme le font les diurétiques. Cependant, il n'existe pas de vénodilatateur spécifique documenté chez le cheval.

L'acépromazine a été suggérée à la dose de 0,04-0,1 mg/kg en temps que *vasodilatateur mixte* peu coûteux chez les chevaux atteints d'ICC, mais il n'existe pas de données disponibles pour supporter cette hypothèse (Marr, 2010b).

3.9. Conclusions

Les insuffisances valvulaires représentent les pathologies les plus fréquemment rencontrées dans le domaine de la cardiologie équine, et elles peuvent avoir des répercussions importantes sur les capacités sportives voire sur la vie de l'animal atteint. La mise en place de l'échocardiographie doppler est essentielle pour en confirmer le diagnostic, déterminer la gravité de la pathologie, et établir un pronostic vital et sportif. En médecine humaine et chez le chien, à la fois l'accessibilité à des vues cardiaques adéquates et les nombreuses études réalisées sur des larges séries de cas cliniques mettent à disposition du cardiologue de nombreux paramètres échocardiographiques et doppler sensibles et spécifiques pour évaluer la gravité des insuffisances valvulaires, notamment la détermination de normes échocardiographiques précises adaptées en fonction de diverses variables physiologiques dont la taille, le sexe, et chez les animaux de compagnie la race, du patient examiné. De telles normes n'ont pas été établies chez le cheval, et la majorité des paramètres d'évaluation de la gravité des insuffisances valvulaires n'a été que très peu voire pas décrite dans cette espèce.

Objectifs du travail

En comparaison aux autres espèces, les pathologies cardiaques ne sont pas très fréquentes dans l'espèce équine. Cependant, elles constituent une cause importante de diminution de performance et de la capacité sportive chez les chevaux athlétiques. Les pathologies cardiovasculaires constituent ainsi la troisième cause d'intolérance à l'effort chez le cheval, après les pathologies du système locomoteur, et du système respiratoire. C'est pourquoi la cardiologie occupe une position importante en médecine équine.

Parmi les pathologies cardiaques rencontrées chez les chevaux, les insuffisances valvulaires occupent une place importante et peuvent significativement influencer la fonction cardiaque. Leur diagnostic et l'évaluation de leur sévérité se fonde sur l'échocardiographie Doppler. En médecine humaine et chez les animaux de compagnie, cette technique a fait l'objet de nombreuses études de mise au point technique, d'établissement de normes de référence précises, et de validation diagnostique et pronostique sur de larges séries de cas clinique. En médecine équine, par contre, les études de validation de l'échocardiographie doppler sont beaucoup moins nombreuses, ce qui limite l'utilité de cette technique pour établir le diagnostic et le pronostic sur les cas d'insuffisance valvulaire.

D'autre part, les biomarqueurs cardiaques jouent un rôle croissant en matière de diagnostic et de pronostic en cardiologie humaine et des animaux de compagnie. Par contre, très peu d'entre eux ont été étudiés chez le cheval, alors qu'ils pourraient s'avérer être des outils de diagnostic et de pronostic intéressants dans cette espèce également.

Les buts de ce travail sont:

- 1) Tester et comparer la répétabilité inter-jours et intra-observateur de mesures obtenues dans différents modes et dans plusieurs vues échocardiographiques chez le cheval sain de phénotype variable afin de définir les vues dans lesquelles les mesures échocardiographiques sont les plus répétables dans l'espèce équine.
- 2) Étudier la relation entre les mesures échocardiographiques et divers paramètres d'évaluation de la taille corporelle chez les chevaux afin d'évaluer le paramètre de la taille corporelle et le modèle mathématique optimal pour prédire les mesures échocardiographiques dans cette espèce.
- 3) Étudier l'effet potentiel de variables physiologiques telles que la race, le sexe, l'âge, et le poids corporel sur les mesures échocardiographiques dans l'espèce équine.
- 4) Établir des normes de référence précises des mesures échocardiographiques dans l'espèce équine en prenant en considération les variables physiologiques ayant une influence significative sur ces mesures, et en utilisant le modèle mathématique optimal pour les prédire.
- 5) Établir la validité du taux plasmatique d'ANP en tant qu'outil de détermination de la sévérité des insuffisances valvulaires chez le cheval.

Bibliographie

- ACAR J. Insuffisance mitrale aiguë. *Annal. Cardiol. Angéiol.*, 1995,44, 561-566.
- ADAMS D.H., ROSENHEK R., FALK V. Degenerative mitral valve regurgitation: best practice revolution. *Eur. Heart J.*, 2010,31, 1958-1987.
- AHMAD R.M., GILLINOV M., MCCARTHY P.M., BLACKSTONE E.H., APPERSON-HANSEN C., QIN J.X., AGLER D., SHIOTA T., COSGROVE D.M. Annular geometry and motion in human ischemic mitral regurgitation: Novel assessment with three-dimensional echocardiography and computer reconstruction. *Ann Thorac Surg*, 2004,78, 2063-2068.
- AL-HAIDAR A., LEROUX A., BORDE L., DELEUZE S., CERRI S., FARNIR F., SANDERSEN C., AMORY H. Relationship Between Echocardiographic Measurements and Body Size in Horses. *J. Equine Vet. Science*, 2012en press.
- AL HAIDAR A., FARNIR F., DELEUZE S., SANDERSEN C., AMORY H. Comparison of the repeatability of echocardiographic measurements from different modes and views in horses of various breeds and sizes. *J. Equine Vet. Science*, 2010,30, 287-297.
- AMORY H., DELEUZE L., SANDERSEN C. Biomarkers of heart disease Proceedings of the Second Resident Meeting of the European College of Equine Internal medicine (ECEIM), Liège, Belgium, 2008, 23-38.
- AMORY H., PIRARD L., SANDERSEN C. What did we recently learned on and from equine Doppler echocardiography ? . Proceedings of the Resident Meeting of the European College of Equine Internal medicine (ECEIM), Utrecht, The Netherlands, 2006, 23-38.
- ANDERSON B. Doppler quantification of regurgitation lesions. In: Anderson B. (Ed), Echocardiography: the normal examination and echocardiographic measurements. MGA Graphics: Manly, Australia, 2007a, 229-255.
- ANDERSON B. Physics and instrumentation. In: Anderson B. (Ed), Echocardiography: the normal examination and echocardiographic measurements. MGA Graphics: Manly, Australia, 2007b, 9-37.
- ARMSTRONG W.F., RYAN T. Aortic valve disease. In: Armstrong W. F., Ryan T. (Eds), Feigenbaum's echocardiography. Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia, 2010a, 263-293.
- ARMSTRONG W.F., RYAN T. Mitral valve disease. In: Armstrong W. F., Ryan T. (Eds), Feigenbaum's echocardiography. Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia, 2010b, 295-335.
- ARMSTRONG W.F., RYAN T. Physics and instrumentation. In: Armstrong W. F., Ryan T. (Eds), Feigenbaum's echocardiography. Lippincott Williams & Wilkins: Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia, 2010c, 9-37.

- ARMSTRONG W.F., RYAN T. Tricuspid and pulmonary valves. In: Armstrong W. F., Ryan T. (Eds), Feigenbaum's echocardiography. Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia, 2010d, 337-359.
- ART T., AMORY H., PIERARD L. Notions de base de physiologie de l'effort. *Pract. Vét. Equine*, 2000,32, 247-254.
- ASCAH K.J., STEWART W.J., GILLAM L.D., TRIULZI M.O., NEWELL J.B., WEYMAN A.E. Calculation of transmitral flow by Doppler echocardiography: a comparison of methods in a canine model. *Am. Heart J.*, 1989,117, 402-411.
- ATKINS C., BONAGURA J., ETTINGER S., FOX P., GORDON S., HAGGSTROM J., HAMLIN R., KEENE B., LUIS-FUENTES V., STEPIEN R. Guidelines for the diagnosis and treatment of canine chronic valvular heart disease. ACVIM consensus statement. *J. Vet. Intern. Med.*, 2009,23, 1142-1150.
- BALL M.A., WELDON A.D. Vegetative endocarditis in an Appaloosa gelding. *Cornell. Vet.*, 1992,82, 301-309.
- BANISTER E.W., PURVIS A.D. Exercise electrocardiography in the horse by radiotelemetry. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1968,152, 1004-1008.
- BARGIGGIA G.S., TRONCONI L., SAHN D.J., RECUSANI F., RAISARO A., DE SERVI S., VALDES-CRUS L.M., MONTEMARTINI C. A new method for quantitation of mitral regurgitation based on color flow Doppler imaging of flow convergence proximal to regurgitant orifice. *Circulation*, 1991,84, 1481-1489.
- BAX J.J., ABRAHAM T., BAROLD S.S., BREITHARDT O.A., FUNG J.W., GARRIGUE S., GORCSAN J., HAYES D.L., KASS D.A., KNUUTI J., LECLERCQ C., LINDE C., MARK D.B., MONAGHAN M.J., NIHOYANNOPOULOS P., MARTIN J. SCHALIJ M.J., STELLBRINK C., YU C.-M. Cardiac resynchronization therapy part1 - issues before device implantation. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2005,49, 2153-2167.
- BERTONE J.J. Cardiovascular effects of hydralazine HCl administration in horses. *Am. J. Vet. Res.*, 1988,49, 618-621.
- BISHOP S.P., COLE C.R., SMETZER D.L. Functional and morphologic pathology of equine aortic insufficiency. *Path. Vet.*, 1966,3, 137-158.
- BLISSITT K.J. Diagnosis and treatment of atrial fibrillation. *Equine Vet. Educ.*, 1999,11, 11-19.
- BLISSITT K.J., BONAGURA J.D. Colour flow Doppler echocardiography in horses with cardiac murmurs. *Equine Vet. J.*, 1995a,27, 82-85.
- BLISSITT K.J., BONAGURA J.D. Pulsed wave Doppler echocardiography in normal horses. *Equine Vet. J. (Suppl.)*, 1995b,19, 38-46.
- BONAGURA J., BLISSITT K.J. Echocardiography. *Equine Vet. J. (Suppl.)*, 1995,19, 5-17.
- BONAGURA J.D. Clinical evaluation and management of heart disease. *Equine Vet. Educ.*, 1990,2, 31-37.

- BONAGURA J.D., HERRING D.S. Echocardiography: Acquired heart disease. *Vet. Clin. N. Am. Small Anim. Pract.*, 1985,15, 1209-1224.
- BONAGURA J.D., HERRING D.S., WELKER F. Echocardiography. *Vet. Clin. North. Am. Equine Pract.*, 1985,1, 311-333.
- BONAGURA J.D., PIPERS F.S. Echocardiographic features of aortic valve endocarditis in a dog, a cow, and a horse. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* , 1983,182, 595-599.
- BONAGURA J.D., REEF V.B., SCHWARZWALD C.C. Cardiovascular disease. In: Reed S. M., Bayly W. M., Sellon D. C. (Eds), *Equine internal medicine*. Saunders Elsevier: Saunders Elsevier: St. Louis, 2010, 372-487.
- BOND B.R. Problems in veterinary ultrasonographic analysis of acquired heart disease. *Probl. Vet. Med.*, 1991,3, 520-554.
- BOON J.A. The Physics of ultrasound. In: Boon J. A. (Ed), *Veterinary echocardiography*. Wiley-Blackwell: Ames, Iowa, 2011a, 3-35.
- BOON J.A. The Two-dimensional echocardiographic exam. In: Boon J. A. (Ed), *Veterinary echocardiography*. Wiley-Blackwell: Ames, Iowa, 2011b, 37-100.
- BOON J.A. Acquired valvular disease. In: Boon J. A. (Ed), *Veterinary echocardiography*. Wiley-Blackwell: Ames, Iowa, 2011c, 267-327.
- BOON J.A. Evaluation of size, function, and hemodynamics. In: Boon J. A. (Ed), *Veterinary echocardiography*. Wiley-Blackwell: Ames, Iowa, 2011d, 153-266.
- BORGARELLI M., HAGGSTROM J. Canine degenerative myxomatous mitral valve disease: Natural history, and therapy. *Vet. Clin. North. Am.*, 2010,40, 651-663.
- BORGARELLI M., SAVARINO P., CROSARA S., SANTILLI R.A., CHAVEGATO D., POGGI M., BELLINO C., LA ROSA G., ZANATTA R., HAGGSTROM J., TARDUCCI A. Survival characteristics and prognostic variables of dogs with mitral regurgitation attributable to myxomatous valve disease. *J. Vet. Intern. Med.*, 2008,22, 120-128.
- BOTVINICK E.H., SCHILLER N.B., WICKRAMASEKARAN R., KLAUSNER S.C., GERTZ E. Echocardiographic demonstration of early mitral valve closure in severe aortic insufficiency. Its clinical implications. *Circulation*, 1975,51, 836-847.
- BRAND A., DOLLBERG S., KEREN A. The prevalence of valvular regurgitation in children with structurally normal hearts: a color Doppler echocardiographic study. *Am. Heart J.*, 1992,123, 177-180.
- BRAUNWALD E. Biomarkers in Heart Failure. *N. Engl. J. Med.* , 2008,358, 2148-2159.
- BRIGHT J.M. Pathophysiology of heart failure. In: Marr C. M., Bowen M. (Eds), *Cardiology of the horse*. Saunders Elsevier: London, 2010, 55-57.
- BRIGHT J.M., MARR C.M. Introduction to cardiac anatomy and physiology. In: Marr C. M., Bowen M. (Eds), *Cardiology of the horse*. WB Saunders Company: London, 2010, 3-19.

- BROWN C.M., BELL T.G., PARADIS M.-R., BREEZE R.G. Rupture of mitral chordae tendineae in two horses. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 1983,182, 281-283.
- BUERGELT C.D., COOLEY A.J., HINES S.A., PIPERS F.S. Endocarditis in six horses. *Vet. Pathol.* , 1985,22, 333-337.
- BUHL R., ERSBOLL A.K., ERIKSEN L., KOCH J. Changes over time in echocardiographic measurements in young Standardbred racehorses undergoing training and racing and association with racing performance. *J Am Vet Med Assoc* 2005a,226, 1881-1887.
- BUHL R., ERSBØLL A.K., ERIKSEN L., KOCH J. Sources and magnitude of variation of echocardiographic measurements in normal standardbred horses *Vet Radiol & Ultrasound*, 2004,45, 505-512.
- BUHL R., ERSBØLL A.K., ERIKSEN L., KOCH J. Changes over time in echocardiographic measurements in young Standardbred racehorses undergoing training and racing and association with racing performance. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2005b,226, 1881-1887.
- BUTTON C., GROSS D.R., JOHNSON J.T., YAKATAN G.J. Digixin pharmacokinetics, bioavailability, efficacy, and dosage regimens in the horse. *Am. J. Vet. Res.*, 1980,41, 1388-1395.
- CAPE E.G., YOGANATHAN A.P., LEVINE R.A. Increased heart rate can cause underestimation of regurgitation jet size by Doppler color flow mapping. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1993,21, 1029-1037.
- CARLSTEN J.C. Two-dimensional, real-time echocardiography in horse. *Vet. Radiol.*, 1987,28.
- CHEN C., KOSCHYK D., BROCKHOFF C., HEIK S., HAMM C., BLEIFED W., KUPPER W. Noninvasive estimation of regurgitant flow rate and volume in patients with mitral regurgitation by doppler color mapping of accelerating flow field *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1993,21, 374-383.
- CHOI H., LEE K., LEE Y., CHANG D., EOM K., YOUN H., CHOI M., YOON J. Quantification of mitral regurgitation using proximal isovelocity surface area method in dogs. *J. Vet. Sci.*, 2004,5, 163-171.
- CLARK E.S., REEF V.B., SWEENEY C.R., LICHTENSTEIGER C. Aortic valve insufficiency in a one-year-old colt. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* , 1987,191, 841-844.
- COHN J.N., LEVINE T.B., OLIVARI M.T., GARBERG V., LURA D., FRANCIS G.S., SIMON A.B., RECTOR T. Plasma norepinephrine as a guide to prognosis in patients with chronic congestive heart failure. *N. Engl. J. Med.* , 1984,311, 819-823.
- COLIN B. Angiology In: Colin B. (Ed), *Anatomie du cheva*. Editions Derouaux Ordina: Liège, 1993, 388-497.
- COLUCCI W., BRAUNWALD E. Pathophysiology of heart failure. In: Zipes D. P., Libby P., Bonow R. O., Braunwald E. (Eds), *Heart Disease: A textbook of cardiovascular medicine*. Elsevier Saunders: Philadelphia, 2005, 509-538.

- CONWAY M.A., BOTTOMLEY P.A., OUWERKERK R., RADDA G.K., RAJAGOPALAN B.
Mitral regurgitation: Impaired systolic function, eccentric hypertrophy, and increased severity are linked to lower phosphocreatine/ATP ratios in humans. *Circulation*, 1998,97, 1716-1723.
- CRAWFORD M.H. Physiologic consequences of systematic training. *Cardiol. Clin.* , 1992,10, 209-218.
- DAVIS J.L., GARDNER S.Y., SCHWABENTON B., BREUHAUS B.A. Congestive heart failure in horses: 14 cases (1984-2001). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2002,220, 1512-1515.
- DEDRICK P., REEF V.B., SWEENEY R.W., MORRIS D.D. Treatment of bacterial endocarditis in a horse. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* , 1988,193, 339-342.
- DEEM D.A., FREGIN G.F. Atrial fibrillation in horses: a review of 106 clinical cases, with consideration of prevalence, clinical signs, and prognosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* , 1982,180, 261-265.
- DERNELLIS J., STEFANADIS C., TOUTOUZAS P. From science to bedside : the clinical role of atrial function. *Eur. Heart. J.*, 2000,2 (suppl.K), 48-57.
- DIANA A., GUGLIELMINI C., CANDINI D. Cardiac arrhythmias associated with opiasmosis in the horse: a case report. *Vet J.*, 2007,174, 193-195.
- DOIGUCHI O., TAKAHASHI T. Examination of quantitative analysis and measurement of regurgitation rate in mitral valve regurgitation by the "proximal isovelocity surface area" method. *J. Vet. Med. Sci.*, 2006,2, 109-112.
- DURANDO M.M. Clinical techniques for diagnosing cardiovascular abnormalities in performance horses. *Clinic. Tech. Equine Pract.*, 2003,2, 266-277.
- DURANDO M.M., REEF V.B., KLINE K., BIRKS E.K. Acute effects of short duration, maximal exercise on cardiac troponin I in healthy horses. *Equine Comp. Exerc. Physiol.*, 2006,4, 217-223.
- EKERY D., DAVIDOFF R. Aortic regurgitation: quantification methods by echocardiography. *Echocardiography*, 2000,17, 293-302.
- ELSE R.W., HOLMES J.R. Cardiac pathology in the horse. 1. Gross pathology. *Equine Vet. J.*, 1972,4, 1-8.
- ELWOOD C.M., COBB M.A., STEPIEN R.L. Clinical and echocardiographic findings in 10 dogs with vegetative bacterial endocarditis. *J. Small. Anim. Pract.*, 1993,34, 420-427.
- ENRIQUEZ-SARANO M., TAJIK A. Aortic regurgitation. *N. Engl. J. Med.*, 2004,351, 773-781.
- ESLER M., KAYE D., LAMBERT G., ESLER D., JENNINGS G. Adrenergic nervous system in heart failure. *Am. J. Cardiol.* , 1997,80, 7-14.
- EVANS D.L., ROSE R.J. Cardiovascular and respiratory responses to submaximal exercise training in the thoroughbred horse. *J. Exp. Biol.* , 1988,134, 397-408.

- FOREMAN J.H., BAYLY W.M., GRANT B.D., GOLLNICK P.D. Standardized exercise test and daily heart rate responses of thoroughbreds undergoing conventional race training and detraining. *Am. J. Vet. Res.* , 1990,51, 914-920.
- FRANCIS D.P., WILSON K., DAVIES L.C., FLOREA V.G., COATS A.J.S., GIBSON G.D. True shape and area of proximal isovelocity surface area (PISA) when flow convergence is hemispherical in valvular regurgitation. *Int. J. Cardiol.*, 2000,73, 237-242.
- FREESTONE J.F., CARLSON G.P., HARROLD D.R., CHURCH G. Influence of furosemide treatment on fluid and electrolyte balance in horses. *Am. J. Vet. Res.*, 1988,49, 1899-1902.
- FREGIN F.G. Medical evaluation of the cardiovascular system. *Vet. Clin. North. Am. Equine Pract.*, 1992,8, 329-346.
- GARDNER S.Y., ATKINS C.E., SAMS R.A., SCHWABENTON A.B., PAPICH M.G. Characterization of the pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of the angiotensin-converting enzyme inhibitor, enalapril, in horses. *J. Vet. Intern. Med.*, 2004,18, 231-237.
- GATEWOOD R.P., HELMCKE F.R., NANDA N.C. Textbook of color Doppler echocardiography. Nanda N. C. (Ed). Philadelphia, 1989, 359 P.
- GEHLEN H., GOLTZ A., ROHN K., STADLER P. A survey of the frequency and development of heart disease in riding-horses-part1: retrospective evaluation (1992-2003) and questionnaires. *Pferdeheilkunde* 2007a,23, 369-377.
- GEHLEN H., SUNDERMANN T., ROHN K., STADLER P. Plasma atrial natriuretic peptide concentration in warmblood horses with heart valve regurgitations. *J. Vet. Cardiol.*, 2007b,9, 99-101.
- GEHLEN H., SUNDERMANN T., ROHN K., STADLER P. Aldosterone plasma concentration in horses with heart valve insufficiencies. *Res. Vet. Sci.* , 2008,85, 340-344.
- GEHLEN H., VIEHT J.C., STADLER P. Effect of the ACE inhibitor quinapril on echocardiographic variables in horses with mitral valve insufficiency *J. vet. Med. Ser.*, 2003,50, 460-465.
- GEOR R., MCCUTCHEON L.J. Cardiovascular and respiratory function in the performance horse. In: Kobluk C. N., Ames T. R., Geor R. J. (Eds), *The horse: diseases and clinical management* Philadelphia: WB Saunders Company: Philadelphia, 1996, 1285-1294.
- GHALI J.K., COOPER R., FORD E. Trends in hospitalization rates for heart failure in the United States, 1973 -1986 Evidence for increasing population prevalence. *Arch. Intern. Med.*, 1990,150, 769-773.
- GORGULU S., EREN M., NORGAZ T., TEZEL T. Comparison of echocardiographic methods in assessing severity of mitral regurgitation in patients with mitral valve prolapse. *J. Heart Valve Dis.*, 2004,13, 38-45.
- GOUNI V., SERRES F.J., POUCHELON J.-L., TISSIER R., LEFEBVRE H.P., NICOLLE A.P., SAMPEDRANO C.C., CHETBOUL V. Quantification of mitral valve regurgitation in dogs

- with degenerative mitral valve disease by use of the proximal isovelocity surface area method. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 2007,231, 399-406.
- GRAYBURN P.A., HANDSHOE R., SMITH M.D., HARRISON M.R., DEMARIA A.N. Quantitative assessment of the hemodynamic consequences of aortic regurgitation by means of continuous wave Doppler recordings. *J. Am. Coll. Cardiol.* , 1987,10, 135-141.
- GRIFFIN B.P., FLACHSKAMPF F.A., REIMOLD S.C., LEE R.T., THOMAS J.D. Relationship of aortic regurgitant velocity slope and pressure half-time to severity of aortic regurgitation under changing haemodynamic conditions. *Eur Heart J.* , 1994,15, 681-685.
- GROSSMANN G., HOFFMEISTER A., IMHOF A., GIESLER M., HOMBACH V., SPIESS J. Reproducibility of the proximal flow convergence method in mitral and tricuspid regurgitation. *Am. Heart J.*, 2004,147, 721-728.
- HABIB G. Infective endocarditis: what's new? European Society of Cardiology (ESC) Guidelines 2009 on the prevention, diagnosis and treatment of infective endocarditis. *Presse Med.*, 2010,39, 704-709.
- HÄGGSTRÖM J., HANSSON K., KVART C., KARLBERG B.E., VUOLTEENAHO O., OLSSON K. Effects of naturally acquired decompensated mitral valve regurgitation on the renin-angiotensin-aldosterone system and atrial natriuretic peptide concentration in dogs. *Am. J. Vet. Res.* , 1997,58, 77-82.
- HALL M.C., FENELON A.R., D. M.R., D. S.J. Cardiac monitoring during exercise tests in the horse. 2. heart rate responses to exercises. *Aust. Vet. J.*, 1976,52, 1-5.
- HALL S.A., BRICKNER M.E., WILLETT D.L., IRAN W.N., AFRIDI I., GRABURN P.A. Assessment of mitral regurgitation severity by Doppler color flow mapping of the vena contracta *Circulation*, 1997,95, 636-642.
- HAMLIN R.L., KLEPINGER W.L., SMITH R., W. G.K. Autonomic control of heart rate in the horse *Am. J. Physiol.* , 1972,222, 976-978.
- HIRIGA A., KUBO K. Two cases of paroxysmal atrial fibrillation during exercise in horses. *Equine Vet. Educ.*, 1999,11, 6-10.
- HOIT B.D., SHAO Y., GABEL M. Influence of acutely altered loading conditions on left atrial appendage flow velocities *J. Am. Coll. Cardiol.* , 1994a,24, 1117-1123.
- HOIT B.D., SHAO Y., M. G., WALSH R.A. In vivo assessment of left atrial contractile performance in normal and pathological conditions using a time-varying elastance model *Circulation*, 1994b,89, 1829-1838.
- HOLBROOK T.C., BIRKS E.K., SLEEPER M.M., DURANDO M. Endurance exercise is associated with increased plasma cardiac troponin I in horses. *Equine Vet. J. (Suppl.)*, 2006,36, 27-31.
- HOLMES J.R., HENIGAN M., WILLIAMS R.B., WITHERINGTON D.H. Paroxysmal atrial fibrillation in racehorses. *Equine Vet. J.*, 1986,18, 37-42.

- HOLMES J.R., MILLER P.J. Three cases of ruptured mitral valve chordae in the horse. *Equine Vet. J.*, 1984,16, 125-135.
- HORN J. Sympathetic nervous control of cardiac function and its role in equine heart disease [PhD thesis]. University of London; 2002a. 184.
- HORN J.N.R. Sympathetic nervous control of cardiac function and its role in equine heart disease. Royal Veterinary College University; 2002b. 320.
- IMHASLY A., TSCHUDI P.R., LOMBARD C.W., GERBER V. Clinical and echocardiographic features of mild mitral valve regurgitation in 108 horses. *Vet. J.*, 2010,183, 166-171.
- JESTY S.A., REEF V.B. Septicemia and cardiovascular infections in horses. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, 2006,22, 481-486.
- JOHANSSON A.M., GARDNER S.Y., LEVINE J.F., PAPICH M.G., LAFEVERS D.H., GOLDMAN R.B., SHEETS M.K., ATKINS C.E. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of furosemide after oral administration to horses. *J. Vet. Intern. Med.*, 2004,18, 739-743.
- JOHNSON A., JESTY S.A., GELZER A.R.M., DIVERS T.J., KRAUS M.S. ECG of the month. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2007,231, 706-708.
- JOHNSON L., BOON J., ORTON E.C. Clinical characteristics of 53 dogs with Doppler-derived evidence of pulmonary hypertension: 1992-1996. *J. Vet. Intern. Med.*, 1999,13, 440-447.
- KING C.M., EVANS D.L., ROSE R.J. Cardiorespiratory and metabolic responses to exercise in horses with various abnormalities of the upper respiratory tract. *Equine Vet. J.* , 1994,26, 220-225.
- KITTLESON M.D., BROWN W.A. Regurgitation fraction measured by using the proximal isovelocity surface area method in dogs with chronic myxomatous mitral valve disease. *J. Vet. Intern. Med.*, 2003,17, 84-88.
- KITTLESON M.D., EYSTER G.E., KNOWLEN G.G., BARI OLIVIER B.N., ANDERSON L.K. Myocardial function in small dogs with chronic mitral regurgitation and severe congestive heart failure. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* , 1984,184, 455-459.
- KITTLESON M.D., KIENLE R.D. Normal clinical cardiovascular physiology. In: Kittleson M. D., Kienle R. D. (Ed), *Small animal cardiovascular medicine*. Mosby Cie: Mosby Cie: St Louis, 1998, 11-35.
- KOCH J., PEDERSEN H.D., JENSEN A.L., FLAGSTAD A., POULSEN K. Activation of the renin-angiotensin system in dogs with asymptomatic and symptomatic dilated cardiomyopathy. *Res. Vet. Sci.* , 1995,59, 172-175.
- KOKKONEN U.-M., HACKZELL M., RASANEN L.A. Plasma atrial natriuretic peptide in Standard bred and Finnhorse trotters during and after exercise. *Acta Physiol. Scand.*, 1995,154, 51-58.
- KOKKONEN U.-M., PÖSÖ A.R., HYYPPÄ S., HUTTUNEN P., LEPPÄLUOTO J. Exercise-Induced Changes in Atrial Peptides in Relation to Neuroendocrine Responses and Fluid Balance in the Horse. *J. Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin. Med.*, 2002,49, 144-150.

- KOKKONEN U.M., HYYPPÄ S., PÖSÖ A.R. Plasma atrial natriuretic peptide during and after repeated exercise under heat exposure. *Equine Vet. J. (Suppl.)* 1999,30, 184-189.
- KRIVOKAPICH J. Echocardiography in valvular heart disease. *Curr. Opin. Cardiol.*, 1994,9, 159-163.
- KRIZ N.G., HODGSON D.R., ROSE R.J. Prevalence and clinical importance of heart murmurs in racehorses. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2000a,216, 1441-1445.
- KRIZ N.G., ROSE R.J. Repeatability of standard transthoracic echocardiographic measurements in horses *Aust Vet J*, 2002,80, 362-370.
- KRIZ N.G., ROSE R.J., HODGSON D.R. Cardiovascular system. In: Rose R. J., Hodgson D. R. (Ed), *Manual of equine practice*. WB Saunders Co.: Philadelphia, 2000b, 237-257.
- KUBO K., SENTA T., OSAMU S. Relation between training and heart in the thoroughbred racehorse. *Exp. Rep. Equine Hlth. Lab.*, 1974,11, 87-93.
- LABOVITZ A.J., FERRARA R.P., KERN M.J., BRYG R.J., MROSEK D.G., WILLIAMS G.A. Quantitative evaluation of aortic insufficiency by continuous wave Doppler echocardiography. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1986 8, 1341-1347.
- LEE M.G., CHIOU W.L. Evaluation of potential causes for the incomplete bioavailability of furosemide: gastric first-pass metabolism. *J. Pharmacokinet Biopharm.*, 1983,11, 623-640.
- LESCURE F., TAMZALI Y. Valeurs de référence en échocardiographie M chez le sheval de sport. *Revue Med. Vet.*, 1984,135, 4054-4018.
- LESNIAK-SOBELGA A., OLSZOWSKA M., PIENAZEK P., PODOLEC P., TRACZ W. Vena contracta width as a simple method of assessing mitral valve regurgitation. comparison with Doppler quantitative methods. *J. Heart Valve Dis.*, 2004,13, 608-614.
- LEWIS B.S., HASIN Y., PASTERNAK R., GOTSMAN M.S. Echocardiographic aortic root motion in ventricular volume overload and the effect of mitral incompetence. *Eur. J. Cardiol.* 1979,10, 375-384.
- LEWIS R.D. Digitalis: a drug that refuses to die. *Am. J. Vet. Res.*, 1990,18, 55-62.
- LIGHTFOOT G., JOSE-CUNILLERAS E., ROGERS K., NEWTON J.R., YOUNG L.E. An echocardiographic and auscultation study of right heart responses to training in young national hunt thoroughbred horses. *Equine Vet. J. (Suppl.)*, 2006,36, 153-158.
- LINDHOLM A., SALTIN. B The physiological and biochemical response of standardbred horses to exercise of varying speed and duration. *Acta, Vet, Scand*, , 1974,15, 310-324.
- LITTLEJOHN A., BOWLES F., ASCHENBORN G. Cardio-respiratory adaptations to exercise in riding horses with chronic lung disease. In: Snow D. H., Person S. G. B., Rose R. J. (Eds), *Equine exercise physiology*. Granta editions: Cambridge, 1983, 33-45.
- LITTLEJOHN A., KRUGER J.M., BOWLES F. Exercise studies in horses: 2. The cardiac response to exercise in normal horses and in horses with chronic obstructive pulmonary disease. *Equine Vet. J.* , 1977,9, 75-83.

- LITTLEWORT M.C.G. Cardiological problems in equine medicine. *Equine Vet. J.*, 1977,9, 173-175.
- LOMBARD C.W., BUERGELT C.D. Vegetative bacterial endocarditis in dogs; echocardiography diagnosis and clinical signs. *J. Small. Anim. Pract.*, 1983,24, 325-339.
- LONG K.J., BONAGURA J.D., DARKE P.G. Standardised imaging technique for guided M-mode and Doppler echocardiography in the horse *Equine Vet J*, 1992,24, 226-235.
- LORRELL B.H. Significance of Diastolic Dysfunction of the Heart. *Annu. Rev. Med.*, 1991,42, 411-436.
- LOSORDO D., PASTORE J., COLETTI D. Limitations of color flow Doppler imaging in the quantification of valvular regurgitation: velocity of regurgitant jet rather than volume, determines size of color Doppler image. *Am. Heart J.*, 1993,126, 117-168.
- LWANOCHKO R.M., HISCOKE B., SELLENS R.W., SMALL C.F., SANFILIPPO A.J. In vitro analysis of colour Doppler flow with the use of proximal isovelocity surface area: improved flow estimates using a nonhemispherical model. *Can. J. Cardiol.*, 1999,15, 89-94.
- MANN T., MCLAURIN L., GROSSMAN W., CRAIGE E. Assessing the hemodynamic severity of acute aortic regurgitation due to infective endocarditis. *N. Engl. J. Med.*, 1975,293, 108-113.
- MARR C.M. Equine echocardiography--sound advice at the heart of the matter. *Br. Vet. J.*, 1994,150, 527-545.
- MARR C.M. Cardiac murmurs: valvular regurgitation and insufficiency. In: Marr C. M., Bowen M. (Eds), *Cardiology of the horse*. WB Saunders Company: Saunders Elsevier: London, 2010a, 207-216.
- MARR C.M. Heart failure. In: Marr C. M., Bowen M. (Eds), *Cardiology of the horse*. Saunders Elsevier: Saunders Elsevier: London, 2010b, 239-252.
- MARR C.M. Biochemical markers of cardiovascular disease. In: Marr C. M., Bowen M. (Eds), *Cardiology of the horse*. Saunders Elsevier: London, 2010c, 151-158.
- MARR C.M., BRIGHT J.M., MARLIN D.J., HARRIS P.A., ROBERTS C.A. Pre- and post exercise echocardiography in horses performing treadmill exercise in cool and hot/humid conditions. *Equine Vet. J. (Suppl.)*, 1999,30, 131-136.
- MARR C.M., PATTESON M. Echocardiographie. In: Marr C. M., Bowen M. (Eds), *Cardiology of the horse*. Saunders Elsevier: Saunders Elsevier: London, 2010a, 105-126.
- MARR C.M., PATTESON M. Echocardiography. In: Marr C. M., Bowen M. (Eds), *Cardiology of the horse*. Saunders Elsevier: London, 2010b, 105-126.
- MARR C.M., PIRIE H.M., NORTHRIDGE D.B. Confirmation by Doppler echocardiography of valvular regurgitation in a horse with a rupture chorda tendina of mitral valve *Vet. Rec.*, 1990,127, 376-379.
- MARR C.M., REEF V.B. Physiological valvular regurgitation in clinically normal young racehorses: Prevalence and two dimensional colour flow Doppler echocardiographic characteristics. *Equine Vet. J. (Suppl.)*, 1995,19, 56-62.

- MARR C.M., REEF V.B., REIMER J.M., SWEENEY R.W. An echocardiographic study of atrial fibrillation in horses: before and after conversion to sinus rhythm. *J. Vet. intern. Med.*, 1995,9, 336-340.
- MARSLAND W.P. Heart rate response to submaximal exercise in the Standardbred horse. *J. Appl. Physiol.*, 1968,24, 98-101.
- MARTIN B.B., REEF V.B., PARENTE E.J., SAGE A.D. Causes of poor performance of horses during training, racing, or showing: 348 cases (1992–1996). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2000,216, 554-558.
- MAURELLET J.D., LIU P.T. B-type natriuretic peptide in the management of heart failure. *Hong. Kong. Med. J.* , 2008,14, 216-219.
- MAURER G. Aortic regurgitation. *Heart*, 2006,92, 994-1000.
- MAURIN E., AMORY H., SANDERSEN C. Etude rétrospective de quarante et un d'insuffisance mitrale chez le cheval (1995-2001). *Prat. Vet. Equine*, 2003,35, 13-19.
- MAXSON A.D., REEF V.B. Bacterial endocarditis in horses: ten cases (1984-1995). *Equine Vet. J.* , 1997,29, 394-399.
- MCGUIRK S.M., MUIR W.W.agnosis and treatment of cardiac arrhythmias. *Vet. Clin. North. Am. Equine Pract.*, 1985,1, 353-370.
- MCKEEVER K.H., MALINOWSKI K. Endocrine response to exercise in young and old horses. *Equine Vet. J. (Suppl.)*, 1999,30, 561-566.
- MCMURRAY J.J.V. Systolic heart failure. *N. Engl. J. Med.* , 2010,362, 228-238.
- MELE D., SCHWAMMENTHAL E., TORP H., NESTA F., PEDINI I., VANDERVOOT P., ALBONI P., LEVINE R.A. A semiautomated objective technique for applying the proximal isovelocity surface area method to quantitate mitral regurgitation: Clinical studies with the digital flow map. *Am. Heart J.*, 2001,141, 653-660.
- MIFUNE H., RICHTER R., FORSSMANN W.G. Detection of immunoreactive atrial and brain natriuretic peptides in the equine atrium. *Anat Embryol. (Berl.)* , 1995,192, 117-121.
- MILLER C.A., O'GARA P.T., LILLY L.S. Valvular heart disease. In: Lilly L. S. (Ed), Pathophysiology of heart disease. Lippincott, Williams & Wilkins: Lippincott, Williams & Wilkins: Baltimore, 2011, 190-215.
- MILLER P.J., HOLMES J.R. Observations on seven cases of mitral insufficiency in the horse. *Equine Vet. J.* , 1985,17, 181-190.
- MITTEN L.A. Cardiovascular causes of exercise intolerance. *Vet. Clin. North. Am. Equine Pract.*, 1996,12, 473-494.
- MORRIS E.A., SEEHERMAN H.J. Clinical evaluation of poor performance in the racehorse: The results of 275 evaluation *Equine Vet. J.*, 1991,23, 169-174.
- MUIR W.W., MCGUIRK S.M. Pharmacology and pharmacokinetics of drugs used to treat cardiac diseases in horses. *Vet. Clin. North. Am. Equine Pract.*, 1985,1, 335-352.

- MUIR W.W., MILNE D.W., SKARDA R.T. Acute haemodynamic effects of furosemide administered intravenously in the horse. *Am. J. Vet. Res.*, 1976,37, 1177-1180.
- MUIR W.W., SAMS R.A., HUBBELL J.A., HINCHCLIFF K.W., GADAWSKI J. Effects of enalaprilat on cardiorespiratory, hemodynamic, and hematologic variables in exercising horses. *Am. J. Vet. Res.*, 2001,62, 1008-1013.
- MURDOCH D.R., COREY G.R., HOEN B., MIRÓ J.M., FOWLER V.G., BAYER J.A.S., KARCHMER A.W., OLAISON L., PAPPAS P.A., MOREILLON P., CHAMBERS S.T., CHU V.H., FALCÓ V., HOLLAND D.J., JONES P., KLEIN J.L., RAYMOND N.J., READ K.M., TRIPODI M.F., UTILI R., WANG A., WOODS C.W., CABELL C.H. Clinical presentation, etiology, and outcome of infective endocarditis in the 21st century: the International Collaboration on Endocarditis-Pro prospective Cohort Study. *Arch. Intern. Med.*, 2009,169, 463-473.
- MUZZI R.A.L., DE ARAUJO R.B., MUZZI L.A.L., PENA J.L.B., SILVA E.F. Regurgitant jet area by Doppler color flow mapping: quantitative assessment of mitral regurgitation severity in dogs. *J. Vet. Cardiol.*, 2003,5, 33-38.
- NAYLOR J.R., BAYLY W.M., GOLLNICK P.D., BRENGELMANN G.L., HODGSON D.R. Effects of dehydration on thermoregulatory responses of horses during low-intensity exercise. *J. Appl. Physiol.* , 1993,75, 994-1001.
- NICHOLS W.W., PEPINE C.J. Left ventricular afterload and aortic input impedance: implications of pulsatile blood flow. *Prog. Cardiovasc. Dis.* , 1982,24, 293-306.
- NIELSEN O.W., MCDONAGH T.A., ROBB S.D., DARGIE H.J. Retrospective analysis of the cost-effectiveness of using plasma brain natriuretic peptide in screening for left ventricular systolic dysfunction in the general population. *J. Am. Coll. Cardiol.* , 2003,41, 113-120.
- NILSFORS L., LOMBARD C.W., WECKNER D., KVART C. Diagnosis of pulmonary valve endocarditis in a horse. *Equine Vet. J.*, 1991,23, 479-482.
- NISHIKAWA Y., ROBERTS J.P., TAN P., KLOPFENSTEIN C.E., KLOPFENSTEIN H.S. Effect of dynamic exercise on left atrial function in conscious dogs. *J Physiol.* , 1994,481, 457-468.
- NISHIMURA R.A., CARABELLO B.A., FAXON D.P., FREED M.D., LYTLE B.W., O'GARA P.T., O'ROURKE R.A., SHAH P.M. ACC/AHA 2008 Guideline update on valvular heart disease: focused update on infective endocarditis: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines endorsed by the Society of Cardiovascular Anesthesiologists, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, and Society of Thoracic Surgeons. *J. Am. Coll. Cardiol.* , 2008,52, 676-685.
- NOSTELL K., HÄGGSTRÖM J. Resting concentrations of cardiac troponin I in fit horses and effect of racing. *J. Vet. Cardiol.* , 2008,10, 105-109.

- NYMAN S., KOKKONEN U.M., DAHLBORN K. Changes in plasma atrial natriuretic peptide concentration in exercising horses in relation to hydration status and exercise intensity. *Am. J. Vet. Res.* , 1998,59, 489-494.
- O'BRIEN P.J., DAMERON G.W., BECK M.L. Differential reactivity of cardiac and skeletal muscle from various species in two generations of cardiac troponin-T immunoassays. *Res. Vet. Science* 1998,65, 135-137.
- O'BRIEN P.J., LANDT Y., LADENSON J.H. Differential reactivity of cardiac and skeletal muscle from various species in a cardiac troponin I immunoassay. *Clin. Chem.* , 1997,43, 2333-2338.
- O'GARA P., SUGENG L., LANG R., SARANO M., HUNG J., RAMAN S., FISCHER G., CARABELLO B., ADAMS D., VANNAN M. The role of imaging in chronic degenerative mitral regurgitation. *JACC Cardiovasc. Imaging*. 2008 Mar;1(2):221-37, 2008,1, 221-237.
- OHMURA H., HIRAGA A., TAKAHASHI T., KAI M., JONES J.H. Risk factors for atrial fibrillation during racing in slow-finishing horses. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2003,223, 84-88.
- OLSEN L.H., FREDHOLM M., PEDERSEN H.D. Epidemiology and inheritance of mitral valve prolapse in Dachshunds. *J. Vet. Intern. Med.*, 1999,13, 448-456.
- PATEL A.R., MOCHIZUKI Y., YAO J., PANDIAN N.G. Mitral Regurgitation: Comprehensive Assessment by Echocardiography. *Echocardiogr.*, 2000,17, 275-283.
- PATTESON M.W. Clinical examination. In: Patteson M. W. (Ed), Equine cardiology. Blackwell Science Ltd: Oxford, 1996a, 41-67.
- PATTESON M.W. Cardiovascular pathology and pathophysiology. In: Patteson M. W. (Ed), Equine cardiology. Blackwell Science Ltd: Oxford, 1996b, 27-37.
- PATTESON M.W. Acquired cardiovascular disease. In: Patteson M. W. (Ed), Equine cardiology. Blackwell Science Ltd: Oxford, 1996c, 132-167.
- PATTESON M.W. Cardiac anatomy and physiology. In: Patteson M. W. (Ed), Equine Cardiology. Blackwell Science Ltd: Blackwell Science Ltd: Oxford, 1996d, 1-25.
- PATTESON M.W., CRIPPS P.J. A survey of cardiac auscultatory findings in horses. *Equine Vet. J.*, 1993,25, 409-415.
- PATTESON M.W., GIBBS C., WOTTON P.R., CRIPPS P.J. Echocardiographic measurements of cardiac dimensions and indices of cardiac function in normal adult Thoroughbred horses. *Equine Vet. J. (Suppl.)*, 1995,19, 18-27.
- PAULL K., WINGFIELD W., BERTONE J. Echocardiographic changes with endurance training. In: Gillespie J., Robinson N. E. (Eds) Equine Exercise Physiology. ICEEP Publications: Davis, Calif. , 1987.
- PEACOCK W.F., DE MARCO T., FONAROW G.C., DIERCKS D., WYNNE J., APPLE F.S., B. A.H. Cardiac Troponin and Outcome in Acute Heart Failure. *N. Engl. J. Med.* , 2008,358, 2117-2126.

- PEDERSEN H.D., KOCH J., POULSEN K., JENSEN A.L., FLAGSTAD A. Activation of the renin-angiotensin system in dogs with asymptomatic and mildly symptomatic mitral valvular insufficiency. *J. Vet. Intern. Med.*, 1995,9, 328-331.
- PEDERSON H.D., LORENTZEN K.A., KRISTENSEN B. Observer variation in the two-dimensional echocardiographic evaluation of mitral valve prolapse in dogs *Vet. Radiol. & Ultrasound*, 1996,37, 367-372.
- PEDROLI W.M., BELMONTE A.A., PUROHIT R.C., NACHREINER R.F. Pharmacokinetics of digoxin in the horse. *J. Equine Med. Surg.*, 1978,2, 384-388.
- PERRY G.J., HELMCKE F., NANDA N.C., BYARD C., SOTO B. Evaluation of aortic insufficiency by Doppler color flow mapping. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1987,9, 952-959.
- PERSON S.G.B. the Evaluation of exercise tolerance and fitness in the performance horse. In: Snow D. H., Person S. G. B., Rose R. J. (Eds), *Equine exercise physiology*. Granta editions: Cambridge 1983, 441-457.
- PERSSON S. On blood volume and working capacity in horses. Studies of methodology and physiological and pathological variations. *Acta Vet Scand. (Suppl.)*, 1967,19 1-189.
- PHILLIPS W., GIGUÈRE S., FRANKLIN R.P., HERNANDEZ J., D. A., PELOSO J.G. Cardiac troponin I in pastured and race-training Thoroughbred horses. *J. Vet. Intern. Med.*, 2003,17, 597-599.
- PIPERS F.S., HAMLIN R.L. Echocardiography in the horse. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1977,170, 815-819.
- POPP R. Echocardiography. *N. Engl. J. Med.*, 1990,323, 165-172.
- POTER S.R., SAEGERMAN C., VAN GALEN G., SANDERSEN C., DELGUSTE C., GUYOT H., AMORY H. Vegetative endocarditis in equids (1994--2006). *J. Vet. Intern. Med.*, 2008,22, 1411-1416.
- PRIDIE B.R., BENHAM R., OAKLEY C.M. Echocardiography of the mitral valve in aortic valve disease. *Br. Heart J.*, 1971,33, 296-304.
- REEF V.B. Mitral valvular insufficiency associated with rupture chordae tendineae in three foals. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 1987,191, 329-331.
- REEF V.B. Pulsed and continuous wave Doppler echocardiographic evaluation of mitral and tricuspid insufficiency in horses. Proceedings of the 6th American College of Veterinary Internal Medicine Forum, 1988, 385-387.
- REEF V.B. Echocardiographic examination in the horse: the basics *Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.*, 1990a,12, 1312-1320.
- REEF V.B. Color flow Doppler mapping of horses with valvular insufficiency In: May D. C., Proceedings of the 8th American College of Veterinary Internal Medicine Forum Washington, 1990b, 483-485.
- REEF V.B. The use of diagnostic ultrasound in the horse. *Ultrasound Quart.*, 1991a,9, 1-34.

- REEF V.B. Advances in echocardiography. *Vet. Clin. N. Am. Equine Pract.*, 1991b,7, 435-450.
- REEF V.B. Advances in echocardiography. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, 1991c,7, 435-450.
- REEF V.B. Cardiovascular problems associated with poor performance. In: Robinson N. E. (Ed), Current therapy in equine medicine WB Saunders Co.: WB Saunders Co.: Philadelphia, 1992, 381-383.
- REEF V.B. Evaluation of ventricular septal defects in horses using two-dimensional and Doppler echocardiography. *Equine Vet. J.*, 1995a,27, 86-95.
- REEF V.B. Heart murmurs in horses: Determining their significance with echocardiography. *Equine Vet. J. (Suppl.)*, 1995b,19, 71-80.
- REEF V.B. Evaluation of ventricular septal defects in horses using two-dimensional and Doppler echocardiography. *Equine Vet. J.* , 1995c,27, 86-95.
- REEF V.B., BAIN F.T., SPENCER P.A. Severe mitral regurgitation in horses: Clinical, echocardiographic and pathological findings. *Equine Vet. J.*, 1998,30, 18-27.
- REEF V.B., LALEZARI K., DE BOO J., VAN DER BELT A.J., SPENCER P.A., DIK K.J. Pulsed-wave Doppler evaluation of intracardiac blood flow in 30 clinically normal Standardbred horses. *Am. J. Vet. Res.*, 1989,50, 75-83.
- REEF V.B., SPENCER P. Echocardiographic evaluation of equine aortic insufficiency. *Am. J. Vet. Res.* , 1987,48, 904-909.
- REIMER J.M., REEF V.B., SOMMER M. Echocardiographic detection of pulmonic valve rupture in a horse with right-sided heart failure. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* , 1991,198, 880-882.
- RIVERA J.M., VANDERVOORT P., MELE D., WEYMAN A., THOMAS J.D. Value of proximal regurgitant jet size in tricuspid regurgitation. *Am. Heart J.* , 1996,131, 742-747.
- RIVERA J.M., VANDERVOORT P.M., THOREAU D.H., LEVINE R.A., WEYMAN A.E., THOMAS J.D. Quantification of mitral regurgitation with the proximal flow convergence method: A clinical study. *Am. Heart J.*, 1992,124, 1289-1296.
- ROBERTS B.J., GRABURN P.A. Color flow mapping of the vena contracta in mitral regurgitation: technical considerations. *J. Am. Soc. Echocardiogr.*, 2003,16, 1002-1006.
- ROBY K.A.W., REEF V.B., SHAW D.P., SWEENEY R.W. Rupture of an aortic sinus aneurysm in a 15 year-old brood mare. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1986,189, 305-308.
- ROSE R.J., HODGSON D.R. Clinical exercise testing In: Hodgson D. R., Rose R. J. (Eds), The athletic horse. WB SAUNDERS: Philadelphia, 1994, 245-257.
- ROSENBAUM L.S., JANUZZI J.L. Moving troponin testing into the 21st century: Will greater sensibility? . *Cardiol. Hematol. Disord. Drug Targets*, 2008,8, 118-126.
- ROVIRA S., MUÑOZ A., RODILLA V. Allometric scaling of echocardiographic measurements in healthy Spanish foals with different body weight *Res. Vet. Scien.*, 2009,86, 325-331.
- ROY C.S. On the Influences which Modify the Work of the Heart. *J. Physiol.* , 1978,1, 496-498.

- SCHLANT R.C., SONNENBLICK E.H. Normal physiology of the cardiovascular system. In: Schlant R. C., Alexander R. W. (Eds), *The heart: Arteries and veins*. McGraw: New York, 1994, 113-151.
- SCHWAMMENTHAL E., CHEN C., GIESLER M., SAGIE A., GUERRERO J.L., VAZQUEZ DE PRADA J.A., HOMBACH V., WEYMAN A.E., LEVINE R.A. New method for accurate calculation of regurgitant flow rate based on analysis of Doppler color flow maps of the proximal flow field. Validation in a canine model of mitral regurgitation with initial application in patients. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1996,27, 161-172.
- SCHWARZWALD C.C., HARDY J., BUCCELLATO M. High cardiac troponin I serum concentration in a horse with multiform ventricular tachycardia and myocardial necrosis. *J. Vet. Intern. Med.* , 2003,17, 364-368.
- SEEHERMAN H.J., MORRIS E.A. Comparison of yearling, two-year-old and adult Thoroughbreds using a standardised exercise test. *Equine Vet J.* , 1991,23, 175-184.
- SERRES F., CHETBOUL V., TISSIER R., SAMPEDRANO C.C., GOUNI V., NICOLLE A.P., POUCHELON J.L. Chordae tendineae rupture in dogs with degenerative mitral valve disease: prevalence, survival, and prognostic factors (114 cases, 2001-2006). *J. Intern. Vet. Med.*, 2007,21, 285-264.
- SERRES F.J., CHETBOUL V., TISSIER R., CARLOS SAMPEDRANO C., GOUNI V., NICOLLE A.P., POUCHELON J.L. Doppler echocardiography-derived evidence of pulmonary arterial hypertension in dogs with degenerative mitral valve disease: 86 cases (2001-2005). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2006,229, 1772-1778.
- SHAH P.M. Echocardiographic diagnosis of mitral valve prolapse. *J. Am. Aoc. Echocardiogr.*, 1994,7, 286-293.
- SIMPSON I.A., SHIOTA T., GHARIB M., SAHN D.J. Current status of flow convergence for clinical application: is it a learning tower pf "PISA" ? *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1996,27, 504-509.
- SINGH J.P., EVANS J.C., LEVY D., LARSON M.G., FREED L.A., FULLER D.L., LEHMAN B., J. B.E. Prevalence and clinical determinants of mitral, tricuspid, and aortic regurgitation (the Framingham Heart Study). *Am. J. Cardiol.*, 1999,83, 897-902.
- SISSON D., THOMAS W.P. Endocarditis of the aortic valve in the dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* , 1984,184, 570-577.
- SLACK J.A., MCGUIRK S.M., ERB H.N., LIEN L., COOMBS D., SEMRAD S.D., RISEBERG A., MARQUES F., DARIEN B., FALLON L., BURNS P., MURAKAMI M.A. Biochemical markers of cardiac injury in normal, surviving septic, or nonsurviving septic neonatal foals. *J. Vet. Intern. Med.*, 2005,19, 577-580.
- SLATER J.D., HERRTAGE M.E. Echocardiographic measurements of cardiac dimensions in normal ponies and horses. *Equine Vet J (Suppl)*, 1995,19, 28-32.

- SLEEPER M.M., MCDONNELL S.M., ELY J.J., REEF V.B. Chronic oral therapy with enalapril in normal ponies. *J. Vet. Cardiol.*, 2008,10, 111-115.
- SMITH T.W., BRAUNWALD E., KELLY R.A. The management of heart failure. In: Braunwald E. (Ed), Heart disease: a textbook of cardiovascular medicine. WB Saunders: Philadelphia, 1988, 485-543.
- STADLER P., REWEL A., DEEGEN E. M-mode echocardiography in dressage horses, class S jumping horses and untrained horses. *Zentralbl Veterinarmed A.*, 1993,40, 292-306.
- STEVENS K.B., MARR C.M., HORN J.N.R., PFEIFFER D.U., PERKINS J.D., BOWEN I.M., ALLAN E.J., CAMPBELL J., ELLIOTT J. Effect of left-sided valvular regurgitation on mortality and causes of death among a population of middle-aged and older horses. *Vet. Rec.*, 2009,164, 6-10.
- STEVENSON L.W. Clinical use of inotropic therapy for heart failure: looking backward or forward? : part II: chronic inotropic therapy. *Circulation*, 2003,108, 492-497.
- STOUT K.K., VERRIER E.D. Acute valvular regurgitation. *Circulation*, 2009,119, 3232-3241.
- SWEENEY R.W., REEF V.B., REIMER J.M. Pharmacokinetics of digoxin administered to horses with congestive heart failure. *Am. J. Vet. Res.*, 1993,54, 1108-1112.
- SWITZER D.F., YOGANATHAN A.P., NANDA N.C., WOO Y.R., RIDGWAY A.J. Calibration of color Doppler flow mapping during extreme hemodynamic conditions in vitro: a foundation for a reliable quantitative grading system for aortic incompetence. *Circulation.* , 1987,75, 837-846.
- TAKEMURA N., KOYAMA H., MOTOYOSHI S. Congestive heart failure due to bilateral atrioventricular valve insufficiency in two dogs. *J. Vet. Med. Sci.*, 1996,58, 381-384.
- THOMAS D.P., FREGIN G.F. Cardiorespiratory and metabolic responses to treadmill exercise in the horse. *J Appl Physiol.* , 1981,50, 864-868.
- THOMAS D.P., FREGIN G.F., GERBER N.H., AILES N.B. Cardiorespiratory adjustments to tethered-swimming in the horse. *Pflugers Arch.* , 1980,385, 65-70.
- THOMAS D.P., FREGIN G.F., GERBER N.H., AILES N.B. Effects of training on cardiorespiratory function in the horse. *Am. J. Physiol.*, 1983,245, 160-165.
- THOMAS J. Doppler echocardiographic assessment of valvular regurgitation. *Heart*, 2002,88, 651-657.
- THOMAS J.D., LIU C.M., FLACHSKAMPF F.A., O'SHEA J.P., DAVIDOFF R., WEYMAN A.E. Quantification of jet flow by momentum analysis. An in vitro color Doppler flow study. *Circulation*, 1990,81, 247-259
- THOMAS J.D., WEYMAN A.E. Echocardiographic Doppler evaluation of left ventricular diastolic function. Physics and physiology. *Circulation*, 1991,84, 977-990.
- THOMAS L., FOSTER E., HOFFMAN J., SCHILLER N.B. The mitral regurgitation Index: An echocardiographic guide to severity. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1999,33, 2016-2022.

- THOMAS L., FOSTER E., SCHILLER N.B. Peak mitral inflow velocity predicts mitral regurgitation severity. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1998,31, 174-179.
- THORNTON J., ESSÉN-GUSTAVSSON B., LINDHOLM A., MCMIKEN D., PERSON S. Effects of training and detraining on oxygen uptake, cardiac output, blood gas tensions, PH and lactate concentrations during and after exercise in the horse. In: Snow D. H., Person S. G. B., Rose R. J. (Eds), *Equine exercise physiology*. Granta Editions: Cambridge, 1983, 470-486.
- TOUCHE T., PRASQUIER R., NITENBERG A., DE ZUTTERE D., GOURGON R. echocardiographic measurement of the regurgitant fraction in the aortic arch Assessment and follow-up of patients with aortic regurgitation by an updated Doppler. *Circulation*, 1985,72, 819-824.
- TRACHSEL D.S., GRENACHER B., WEISHAUPT M.A., SCHWARZWALD C.C. Plasma atrial natriuretic peptide concentrations in horses with heart disease: a pilot study. *Vet. J.*, 2012,192, 166-170.
- TRAPPE H.-J., DANIEL W.G., FRANK G., LICHTLEN P.R. Comparisons between diastolic fluttering and reversedoming of anteriormitral leaflet in aortic regurgitation. *Am. Heart J.*, 1987,114, 1399-1406.
- TRIBOUILLOY C., AVINÉE P., SHEN W.F., REY J.L., SLAMA M., LESBRE J.P. End diastolic flow velocity just beneath the aortic isthmus assessed by pulsed Doppler echocardiography: a new predictor of the aortic regurgitant fraction. *Br. Heart J.* , 1991a,65, 37-40.
- TRIBOUILLOY C., SHEN W.F., SLAMA M.A., DUFOSSE H., CHOQUET D., MAREK A., LESBRE J.P. Non-invasive measurement of regurgitation fraction by pulsed Doppler echocardiography in isolated pure mitral regurgitation *Br. Heart J.*, 1991b,66, 290-294.
- TRIBOUILLOY C.M., ENRIQUEZ-SARANO M., BAILEY K.R., TAJIK A.J., SEWARD J.B. Quantification of tricuspid regurgitation by measuring the width of the vena contracta with Doppler color flow imaging: a clinical study. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2000,36, 472-478.
- VANDERVOORT P.M., RIVERA J.M., MELE D., PALACIOS I.F., DINSMORE R.E., WEYMAN A.E., LEVINE R.A., THOMAS J.D. Application of color Doppler flow mapping to calculate effective regurgitant orifice area. An in vitro study and initial clinical observations. *Circulation*, 1993,88, 1150-1156.
- VEYRAT C., KALMANSON D., FARJON M., MANIN J.P., ABITBOL G. Non-invasive diagnosis and assessment of tricuspid regurgitation and stenosis using one and two dimensional echo-pulsed Doppler. *Br Heart J.* , 1982,47, 596-605.
- VOHRA H.A., WHISTACE R.N., MAGAN A., SADEQUE S.A., LIVESEY S.A. Mitral valve repair for severe mitral regurgitation secondary to lone atrial fibrillation. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.*, 2012, Dans la presse.
- WANG J., NAGUEH S.F. Current perspectives on cardiac function in patients with diastolic heart failure. *Circulation*, 2009,119, 1146-1157.

- WAUGH S.L., FREGIN G.F., THOMAS D.P., GERBER N., GRANT B.D., CAMPBELL K.B.
Electromagnetic measurement of cardiac output during exercise in the horse. *Am. J. Vet. Res.*, 1980,41, 812-815.
- WEBER J.M., DOBSON G.P., PARKHOUSE W.S., WHEELDON D., HARMAN J.C., SNOW D.H., HOCHACHKA P.W. Cardiac output and oxygen consumption in exercising Thoroughbred horses. *Am. J. Physiol.* , 1987,253, 890-895.
- WINSBERG F., GABOR G.E., HERNBERG J.G., WEISS B. Fluttering of the Mitral Valve in Aortic Insufficiency. *Circulation*, 1970,41, 225-229.
- YOUNG L.E. Cardiac responses to training in 2-year-old thoroughbreds: an echocardiographic study. *Equine Vet. J. (Suppl.)* 1999,30, 195-198.
- YOUNG L.E. Diseases of the heart and vessels. In: Hinchcliff K. W., Kaneps A. J., Geor R. J. (Eds), *Equine sports and medicine and surgery: Basic and clinical Sciences of the equine athlete*. WB SAUNDERS: Edinburgh, 2003, 728-769.
- YOUNG L.E., EVANS D.L. Cardiac responses to exercise and training. In: Marr C. M., Bowen M. (Eds), *Cardiology of the horse*. Saunders Elsevier: Saunders Elsevier: London, 2010, 35-47.
- YOUNG L.E., ROGERS K., WOOD J.L.N. Heart murmurs and valvular regurgitation in Thoroughbred race horses: Epidemiology and associations with athletic performance. *J. Vet. Intern. Med.*, 2008,22, 418-426.
- YOUNG L.E., WOOD J.L.N. Prevalence of cardiac valvular regurgitation in National Hunt Thoroughbred in training: auscultation and echocardiographic findings. 39th British Equine Veterinary Association Congress Birmingham, 2000a, 203.
- YOUNG L.E., WOOD J.L.N. Effect of age and training on murmurs of atrioventricular valvular regurgitation in young Thoroughbreds. *Equine Vet. J.*, 2000b,32, 195-199.
- ZOGHBI W.A., ENIQUER-SARANO M., FOSTER E., GRAYBURN P.A., KRAFT C.D., LEVINE R.A., NIHOYANNOPOULOS P., OTTO C.M., QUINONES M.A., RAKOWSKI H., STEWART W.J., WAGGONER A., WEISSMAN N.J. Recommendations for evaluation of the severity of native valvular regurgitation with two-dimensional and Doppler echocardiography *J. Am. Soc. Echocardiogr.*, 2003,16, 777-802.
- ZUCCA E., FERRUCCIF F., CROCI C. Echocardiographic measurements of cardiac dimensions in normal Standardbred racehorses. *J Vet Cardiol*, 2008,10, 45-51.

Présentation synoptique des expérimentations

Étude 1:
Comparaison de la répétabilité de mesures échocardiographiques obtenues dans différents modes et vues chez des chevaux de races variées

Introduction

Quelle que soit l'espèce, pour permettre une évaluation fiable des dimensions et indices fonctionnels cardiaques, il faut d'abord démontrer que les mesures réalisées par échocardiographie sont répétables et précises dans l'espèce considérée. La précision est difficile à évaluer parce qu'il n'existe pas de Gold standard en matière de mesures cardiaques *in vivo*, et parce que les mesures réalisées post-mortem ne sont pas représentatives de la morphologie cardiaque *in vivo*. Dès lors, la fiabilité des mesures échocardiographiques ou échocardiographiques Doppler se basent le plus souvent sur leur répétabilité. Malgré une utilisation très répandue de l'échocardiographie et de l'échocardiographie Doppler chez le cheval, la répétabilité de cette technique n'a été que peu documentée dans cette espèce. De plus, la plupart des études qui ont été réalisées dans ce domaine ont été effectuées sur des chevaux pur sangs ou trotteurs. Or, il est beaucoup plus facile d'obtenir des images de qualité dans ces races comparativement à des races plus lourdes telles que par exemple des demi-sang. De plus, les études qui ont été réalisées chez le cheval ont essentiellement considéré des vues classiquement utilisées chez l'homme ou chez les animaux de compagnie. Peu d'études ont testé la répétabilité de mesures réalisées dans d'autres vues qui pourraient pourtant s'avérer utiles dans l'espèce équine. Enfin, les résultats de tests de répétabilité de mesures échocardiographiques et échocardiographiques doppler réalisées chez le cheval sont parfois contradictoires, notamment en ce qui concerne la répétabilité des mesures échocardiographiques Doppler.

L'objectif de cette étude était, chez des chevaux de races variées, de :

- (1) tester la répétabilité intra-observateur et inter-jours de mesures échocardiographiques en mode 2D, M, et de mesures échocardiographiques Doppler en mode pulsé.
- (2) comparer la répétabilité et les valeurs moyennes de mesures échocardiographiques obtenues dans différents vues et/ou différents modes.

Matériel et méthodes

Animaux

Dix équidés (poids corporel: 120 – 662 kg; âge: 1 - 26 ans) de race variable (un âne, 2 trotteurs, un poney et 6 demi-sangs) et exempts de pathologie cardiaque ont été inclus dans cette étude.

Chacun des animaux étudiés a été soumis à un examen échocardiographique standardisé 3 fois à un 1 jour d'intervalle. L'examen échocardiographique a toujours été réalisé par le même observateur (A.H.A.).

Vues échocardiographiques

Un protocole échocardiographique standardisé a été appliqué sur chaque animal non tranquilisé. Depuis l'hémithorax droit, une vue de référence long axe 4 cavités puis 5 cavités en mode 2D et en mode M, une vue long axe 5 cavités, une vue petit axe du ventricule gauche à hauteur des cordages tendineux puis à hauteur de la racine aortique en mode 2D et en mode M, et une vue petit axe en base cardiaque à hauteur du tractus d'éjection du ventricule droit en mode 2D ont été enregistrées. En mode Doppler pulsé, le flux tricuspide a été enregistré à partir de la vue long axe 4 cavités inclinée, et le flux pulmonaire a été enregistré à partir de la vue du tractus d'éjection du ventricule droit. L'animal a ensuite été examiné à partir de l'hémithorax gauche, où une vue long axe 4 cavités en mode 2D et en mode M, une vue petit axe du ventricule gauche à hauteur des cordages tendineux en mode 2D et en mode M, et une vue long axe 4 cavités inclinée montrant l'oreillette gauche dans son diamètre maximal en mode 2D ont été enregistrées. En mode Doppler pulsé, le flux mitral a été enregistré dans cette vue. Ensuite, le flux aortique a été enregistré en mode Doppler pulsé à partir d'une vue long axe 5 cavités apicale montrant le tractus d'éjection du ventricule gauche.

Mesures échocardiographiques

Le diamètre interne de ventricule droit a été mesuré en fin de diastole (RVIDd), et le diamètre interne du ventricule gauche (LVID), ainsi que l'épaisseur du septum inter-ventriculaire (IVS) et de la paroi libre du ventricule gauche (LVFW) ont été mesurés en fin de systole et en fin de diastole (s et d, respectivement) dans les vues échocardiographiques suivantes: vue parasternale droite long axe 4 cavités (1) en mode 2D et (2) en mode M, vue parasternale droite petit axe du ventricule gauche à hauteur des cordages tendineux (1) en mode 2D et (2) en mode M, vue parasternale gauche long axe 4 cavités (1) en mode 2D et (2) en mode M, et vue parasternale gauche petit axe du ventricule gauche à hauteur des cordages tendineux (1) en mode 2D et (2) en mode M.

Le diamètre interne de l'oreillette gauche (LA) a été mesuré en fin de diastole à partir de la vue parasternale droite long axe 4 cavités en mode 2D, de la vue parasternale gauche long axe 4 cavités inclinée montrant l'oreillette gauche dans son diamètre maximal en mode 2D, et de la vue parasternale droite 5 cavités en mode M.

Le diamètre interne de l'aorte a été mesuré à hauteur du sinus de Valsalva (Ao_{sinus}) en fin de diastole et en mode 2D et en mode M à partir de la vue parasternale droite long axe 5 cavités et de la vue parasternale droite petit axe du ventricule gauche à hauteur de la racine aortique. Il a aussi été mesuré, mais uniquement en mode 2D, dans la vue parasternale gauche long axe 5 cavités apicale montrant le tractus d'éjection du ventricule gauche. Dans la vue parasternale droite long axe 5 cavités 2D, le diamètre interne de l'aorte a de plus été mesuré à hauteur du point d'attachement de la valvule aortique (Ao_{valve}) et au niveau de l'aorte ascendante à son diamètre minimal juste en aval du Sinus de Valsalva (Ao_{min}).

Le diamètre interne de l'artère pulmonaire a été mesuré en fin de diastole et en mode 2D à hauteur de son diamètre le plus large à partir de la vue petit axe en base cardiaque à hauteur du tractus d'éjection du ventricule droit.

Les surfaces interne et externe du ventricule gauche (LVIA and LVEA, respectivement) ont été mesurées par planimétrie en fin de systole et en fin de diastole à partir de la vue parasternale droite et gauche petit axe du ventricule gauche à hauteur des cordages tendineux.

La période de pré-éjection (PEP) et le temps d'éjection (ET) du flux aortique ont été mesurés à partir de la vue parasternale droite 5 cavités en mode M.

A partir des enregistrements du flux tricuspide et du flux mitral, le pic de vitesse de la phase de remplissage ventriculaire rapide (Peak E) et celui de la phase de contraction atriale (Peak A) ont été mesurés. Le pic de vitesse, la surface sous la courbe de vitesse, le temps jusqu'au pic de vitesse (TTP), le PEP et l'ET ont été mesurés à partir des enregistrements du flux aortique et pulmonaire.

Statistiques

La répétabilité des mesures a été estimée sur base de la variance résiduelle du modèle linéaire incluant l'effet de l'animal, le jour de mesure, et l'interaction entre l'animal et le jour de mesure. Pour les paramètres qui ont été mesurés dans différentes vues et/ou modes, les répétabilités des mesures obtenues dans chaque vue ont été comparées 2 à 2 par utilisation d'un test de comparaison des variances (test de F). De plus, le coefficient de variation (CV) obtenu pour chaque paramètre en moyenne sur les 3 jours a été calculé et le degré de répétabilité a été estimé comme suit : CV < 5%: répétabilité très élevée; 5% < CV < 15%: répétabilité élevée ; 15% < CV < 25%: répétabilité modérée; CV > 25%: faible répétabilité.

Résultats et discussion

Les résultats ont montré que la répétabilité des mesures échocardiographiques et Doppler chez des chevaux de taille, de race et de conformation très variables sont comparables à ceux obtenus précédemment chez des pur sangs et des trotteurs. Les paramètres morphologiques ventriculaires gauches ont montré une bonne répétabilité dans la vue classique parasternale droite en petit axe à hauteur des cordages tendineux, mais les résultats en vue parasternale droite long axe 4 cavités en mode 2D suggèrent que cette vue pourrait constituer une bonne approche alternative pour les mesurer. Cette dernière vue a aussi permis d'obtenir les mesures les plus répétables de RVIDd. LA était maximal et le plus répétable dans la vue parasternale gauche long axe 4 cavités inclinée en mode 2D. De plus, les intervalles de temps systoliques étaient plus répétables lorsqu'ils étaient mesurés en mode Doppler plutôt qu'en mode M. La répétabilité des mesures de paramètres de flux en mode Doppler

était moins bonne que celle des mesures échocardiographiques mais restait acceptable (CV entre 5 and 15 %), excepté pour le temps intégral de vitesse (VTI) du flux aortique qui montrait une faible répétabilité (CV de 15.6 %). Ces résultats sont en concordance avec d'autres études dans le domaine et sont probablement essentiellement dus à des difficultés d'alignement de la sonde avec le flux examiné dans l'espèce équine.

La plupart des paramètres de mesure du ventricule gauche et droit montraient des valeurs significativement différentes selon la vue ou le mode dans lequel ils étaient mesurés, à l'exception de la mesure de la surface interne et externe du ventricule gauche qui n'était pas significativement différente si elle était mesurée à partir du thorax gauche ou droit. Il est donc important de réaliser les mesures en utilisant des vues standardisées bien définies.

En conclusion, la répétabilité des mesures échocardiographiques chez les chevaux peut être optimisée en appliquant le protocole suivant:

- 1- Vue parasternale droite petit axe à hauteur des cordages tendineux en mode M pour la mesure des paramètres ventriculaires gauches, avec la vue parasternale long axe 4 cavités en mode 2D qui peut être utilisée comme vue alternative.
- 2- Vue parasternale long axe 4 cavités en mode 2D pour la mesure du diamètre aortique.
- 3- Vue parasternale gauche long axe 4 cavités inclinée pour LA.
- 4- Vue petit axe en base cardiaque à hauteur du tractus d'éjection du ventricule droit pour Pu.

Étude 2:

Relation entre les mesures échocardiographiques et les paramètres d'évaluation de la taille corporelle chez les chevaux

Introduction

L'échocardiographie est considérée comme étant l'un des outils de diagnostic les plus fiables pour évaluer la fonction et la morphologie cardiaque. Chez les patients souffrant d'un problème cardiaque, beaucoup de décisions sont prises sur base de mesures quantitatives réalisées par échocardiographie.

Par conséquent, la fiabilité et la validité de ces mesures sont importantes pour faire la différence entre des valeurs normales et pathologiques. Il est dès lors très important de disposer de valeurs de référence spécifiques établies sur un large échantillon d'animaux sains représentatifs de la population.

Chez l'homme et chez plusieurs espèces animales, les valeurs de référence de toute une série de paramètres échocardiographiques ont été documentées, et les effets de différentes variables physiologiques, telles que par exemple la taille corporelle, la race, le sexe, l'âge, la croissance, l'entraînement, l'obésité ou la gestation sur ces paramètres ont été démontrés. Parmi ces paramètres, le plus important semble être la taille corporelle. En médecine humaine comme en médecine vétérinaire,

la variable anthropométrique qui devrait être utilisée pour ajuster les mesures échocardiographiques en fonction de la taille corporelle fait cependant encore l'objet de controverses: plusieurs auteurs utilisent le poids ou la surface corporelle, alors que d'autres auteurs préfèrent utiliser la taille, qui est un paramètre indépendant de l'obésité. Le type de modèle mathématique qui devrait idéalement être utilisé pour décrire la relation entre les mesures échocardiographiques et la taille corporelle est également discuté. Certains auteurs ont indexé les mesures échocardiographiques au poids corporel, alors que d'autres ont développé des modèles de régression linéaire, logarithmique, puissance, ou encore exponentielle. Les mêmes controverses existent quant à l'ajustement des dimensions cardiaques en fonction de la taille corporelle dans l'espèce canine.

Chez le cheval, la relation entre les mesures échocardiographiques et la taille corporelle a été peu étudiée. Certains auteurs ont conclu que la corrélation entre les mesures échocardiographiques morphologiques et le poids corporel n'était pas significative, ce qui pourrait être dû à la faible variété du phénotype des chevaux inclus dans ces études. En effet, d'autres études ont démontré la nécessité de corriger les mesures échocardiographiques pour la taille corporelle dans cette espèce. Cependant, seul le poids corporel a été testé comme variable anthropométrique dans cette espèce, et presque toutes les études se sont limitées à utiliser un modèle de régression linéaire. Pourtant, à l'instar de ce qui a été documenté dans d'autres espèces, il pourrait être intéressant d'investiguer si l'utilisation d'autres données anthropométriques ou l'utilisation d'autres modèles mathématiques pourraient mieux décrire la relation éventuelle entre les mesures échocardiographiques et la taille dans l'espèce équine.

L'objectif de cette étude était d'évaluer le meilleur paramètre anthropométrique d'évaluation de la taille corporelle et le modèle mathématique optimal à appliquer pour ajuster les mesures échocardiographiques avec la taille corporelle dans l'espèce équine.

Matériel et méthodes

Cette étude a été réalisée sur 150 chevaux de races variables (48 Demi sangs, 27 Poneys, 25 Pur-sang anglais, 16 Trotteurs, 17 Pur-sang arabes, 17 Traits ardennais), âgés entre une semaine et 17 ans (médiane = 4 ans, range entre quartile (IQR) = 1,7 – 10,1 ans), et exempts de pathologie cardiaque comme démontré sur base d'un examen clinique, d'un examen électrocardiographique et d'un examen échocardiographique 2D et Doppler couleur. Ils pesaient entre 38 et 890 kg (médiane = 238 kg et IQR = 245 - 492 kg). Les chevaux étudiés ont été divisés en deux sous-groupes en fonction de leur âge: les chevaux âgés de 2 ans ou moins, et les chevaux âgés de plus de 2 ans.

Les paramètres de la taille corporelle suivants ont été mesurés chez chacun des chevaux étudiés: le poids corporel (BW), la taille au garrot (HT), la longueur du corps (BL), et la circonférence thoracique (TC). La surface corporelle (BSA) a été calculée sur base de la formule suivante :

$$BSA = K \cdot BW^{2/3}$$

où K = constante (0.101) et BW = poids corporel

Le protocole échocardiographique standardisé suivant a été réalisé sur chaque cheval de l'étude : enregistrement (1) d'une vue parasternale droite petit axe du ventricule gauche à hauteur des cordages tendineux en mode M pour la mesure de RVIDd, LVIDd et s, IVSd et s, et LVFWd et s, (2) d'une vue parasternale droite long axe 5 cavités en mode 2D pour la mesure de Ao, (3) d'une vue parasternale droite petit axe en base cardiaque à hauteur du tractus d'éjection du ventricule droit en mode 2D pour la mesure de Pu, et (4) d'une vue parasternale gauche long axe 4 cavités inclinée en mode 2D pour la mesure de LA. A partir des mesures réalisées, les rapports LA/Ao et Pu/Ao ont été calculés, et la fraction de raccourcissement du ventricule gauche (FS) a été calculée sur base de la formule suivante :

$$FS = LVIDd - LVIDs / LVIDd.$$

La corrélation entre chaque mesure échocardiographique et chaque paramètre anthropométrique d'estimation de la taille corporelle a été estimée utilisant le test de Pearson. Puis cette relation a été évaluée par application d'une régression linéaire, logarithmique et puissance. Ces analyses ont été faites sur l'ensemble du groupe étudié puis au sein de chaque sous-groupe d'âge.

Résultats et discussion

A l'exception des ratios LA/Ao et Pu/Ao et de FS, tous les paramètres échocardiographiques en mode 2D et M montraient une corrélation étroite significative avec chacun des paramètres anthropométrique d'estimation de la taille corporelle, bien que cette relation était moins étroite pour RVIDd ($r = 0.61$ à 0.68) que pour les autres paramètres ($r = 0.78$ à 0.92). Ces résultats suggèrent que, comme démontré dans plusieurs autres espèces, il existe une corrélation étroite positive entre les mesures échocardiographiques et la taille corporelle dans l'espèce équine. De la même façon, l'absence de corrélation entre les ratios et FS avait déjà également été rapportée dans d'autres espèces.

Cette relation était aussi significative et étroite quand l'analyse était réalisée au sein de chaque sous-groupe d'âge dans notre étude, ce qui suggère que l'effet de la taille corporelle sur les mesures échocardiographiques chez le cheval est indépendant du phénomène de croissance.

Pour la plupart des mesures échocardiographiques, TC était la variable d'estimation de la taille corporelle qui générait les plus hautes valeurs de coefficients de détermination (R^2). Ce paramètre est intéressant car il pourrait facilement être utilisé par des praticiens de terrain. Ceci étant dit, les valeurs de R^2 obtenues en utilisant BW, BSA ou BL généraient des valeurs de R^2 légèrement plus faibles mais malgré tout très comparables à celles obtenues en utilisant TC. Seuls les R^2 obtenus en utilisant HT étaient nettement plus faibles, comme cela a également été démontré par plusieurs auteurs en médecine humaine.

Les R^2 obtenus par application d'une régression puissance étaient de façon générale plus élevés que ceux obtenus par application d'une régression linéaire ou logarithmique. Beaucoup d'études réalisées chez l'homme et chez le chien ont utilisé une régression linéaire pour décrire la relation entre les paramètres échocardiographiques et le poids corporel. Pourtant, de plus en plus d'auteurs suggèrent

que la relation entre la taille du cœur et la taille corporelle est mieux décrite par un modèle curvilinéaire ou allométrique. Les résultats de la présente étude démontrent que cette hypothèse pourrait également être d'application en médecine équine.

En conclusion, chez les chevaux, les normes de référence des mesures échocardiographiques bidimensionnelles en mode 2D et M devraient être établies en fonction de la taille corporelle, en utilisant des équations puissance comme modèle et le TC ou un paramètre tel que BW ou BSA comme paramètre anthropométrique d'estimation de la taille corporelle.

Étude 3:

Effet de variables physiologiques sur les mesures échocardiographiques et échocardiographiques Doppler dans l'espèce équine

Introduction

Comme mentionné en introduction de l'étude 2, il a été démontré chez l'homme et chez les animaux de compagnie que les mesures échocardiographiques peuvent être influencées par toute une série de variables physiologiques, telles que par exemple la taille corporelle, la race, le sexe, l'âge, la croissance, l'entraînement, l'obésité ou la gestation.

Chez le cheval, les effets de l'entraînement et de la croissance sur les paramètres échocardiographiques ont été rapportés. L'effet de la taille corporelle sur les paramètres échocardiographiques a été étudié dans cette espèce par plusieurs auteurs, mais les résultats étaient contradictoires. C'est la raison pour laquelle la seconde étude du présent travail a été réalisée et a clairement démontré un effet significatif. Le modèle mathématique le plus adéquat pour ajuster les paramètres échocardiographiques en fonction de diverses variables anthropométriques, à savoir une régression puissance, a également été établi dans cette précédente étude.

D'autre part, plusieurs auteurs ont suggéré un effet de la race sur les mesures échocardiographiques dans l'espèce équine, mais cet effet n'a jamais été statistiquement testé. De plus, l'effet du sexe et de l'âge sur les mesures échocardiographiques dans cette espèce n'ont pas non plus fait l'objet de tests statistiques.

Le but de cette étude était d'évaluer l'effet du sexe, de la race, et de l'âge sur les mesures échocardiographiques ajustées pour la taille corporelle dans l'espèce équine.

Matériel et méthodes

Cette étude a été réalisée sur 212 poneys et chevaux des races variables (32 poneys, 59 Demi-sangs, 28 Trotteurs, 36 Pur sang anglais, 31 Pur sang arabes, 26 Trait ardennais), âgés entre 1 jour et 37 ans (moyenne \pm Ecart type: 7,8 \pm 5,8 ans), et pesant entre 38 et 890 kg (moyenne \pm Ecart type 421 \pm 133

kg), et exempts de pathologie cardiaque comme démontré sur base d'un examen clinique, d'un examen électrocardiographique et d'un examen échocardiographique 2D et Doppler couleur. Les chevaux étudiés ont été divisés en deux sous-groupes en fonction de leur âge: les chevaux âgés de 2 ans ou moins, et les chevaux âgés de plus de 2 ans. Tous ces animaux ont été soumis au protocole échocardiographique décrit ci-dessous. Les 50 premiers des animaux étudiés (10 poneys, 20 Demi-sangs, 10 Trotteurs, 10 Pur-sangs anglais), âgés entre 2 mois et 35 ans (moyenne \pm Ecart type: 11.6 \pm 6.4 ans) et pesant entre 77 et 662 kg (moyenne \pm Ecart type: 436 \pm 135 kg) ont de plus été soumis à un examen en mode Doppler pulsé.

Le protocole échocardiographique standardisé décrit dans l'étude 2 a été réalisé sur chaque cheval de l'étude. De plus, chez les 50 premiers chevaux investigués, les flux tricuspide, pulmonaire, mitral et aortique en mode Doppler pulsé ont été enregistrés et les paramètres Doppler décrits dans l'étude 1 ont été mesurés.

Après transformation logarithmique préliminaire de tous les paramètres échocardiographiques, du poids et de l'âge, les données ont été analysées en utilisant un modèle linéaire univarié incluant les effets fixes du sexe et de la race, et les effets du poids corporel et de l'âge comme covariants, selon la formule suivante:

$$y_{ijl} = m + S_i + B_j + b_{BW} \cdot BW_{ijl} + b_{Age} \cdot Age_{ijl} + e_{ijl}$$

Dans laquelle y_{ijl} = mesure (exprimée en logarithme) faite sur l'animal l de sexe i, et de race j, S_i = effet additionnel du sexe i, B_j = effet additionnel de la race j, b_{BW} = coefficient de régression linéaire du paramètre en fonction du poids (exprimé en logarithme) de l'animal ij, et b_{Age} = coefficient de régression linéaire du paramètre en fonction de l'âge (exprimé en logarithme) de l'animal ij.

De plus, les interactions entre effets fixes (sexe et race) ont été incluses quand elles étaient significatives.

Après la transformation logarithmique des données collectées, les analyses statistiques ont été réalisées utilisant le modèle linéaire général prenant en considération l'effet du sexe, de la race, du poids corporel et de l'âge.

Les mêmes analyses ont été refaites chez les chevaux âgés \leq 2 ans, puis chez les chevaux âgés $>$ 2 ans.

Résultats et discussion

Aucune des mesures échocardiographiques obtenues en mode Doppler pulsé n'étaient significativement affectées par les variables physiologiques testées dans cette étude. Ce constat est en adéquation avec la plupart des études qui ont été réalisées chez l'homme et chez les animaux de compagnie.

Par contre, toutes les mesures échocardiographiques dimensionnelles obtenues en mode 2D et M étaient significativement affectées par le poids, aussi bien sur l'ensemble du groupe investigué qu'à l'intérieur de chacun des 2 sous-groupes d'âge (≤ 2 ans et > 2 ans). Ces résultats sont tant en adéquation avec ce qui a été démontré chez l'homme et chez les animaux de compagnie, que dans certaines études réalisées chez le cheval, en ce compris l'étude du présent travail. Ce constat souligne une fois de plus l'importance de disposer de normes de référence en fonction du poids corporel chez le cheval. Cette espèce comprend en effet des animaux de phénotypes extrêmement variés, associés à des gammes de poids très larges.

La majorité des mesures échocardiographiques (à savoir toutes sauf IVS, FS et les ratios Pu/Ao et LA/Ao) étaient significativement affectées par la race dans notre étude. Cependant, une partie de ces effets significatifs de la race étaient perdus lorsque l'analyse statistique était réalisée au sein de chaque sous-groupe. À cause de la très grande variabilité de phénotypes rencontrés dans les races de chien, l'effet de la race sur les mesures échocardiographiques a surtout été documenté dans cette espèce. Les différences entre races sont bien sûr partiellement dues aux différences de taille corporelle. Il est donc très important d'inclure le poids corporel dans les études évaluant l'effet de la race sur ces paramètres, ce qui a été fait dans la présente étude. L'effet race démontré est donc bien distinguable de l'effet de la taille corporelle. Par contre, un élément dont il n'a pas été tenu compte dans notre analyse statistique était l'effet de l'entraînement sur les paramètres échocardiographiques.

La raison en est que les chevaux investigués étaient soumis à des efforts physiques de nature extrêmement variable et qu'il était dès lors extrêmement difficile de classer leur statut d'entraînement sur base des données collectées auprès des propriétaires. Les différences notées entre races dans notre étude peuvent donc avoir été partiellement dues à des différences de statut d'entraînement.

Seuls les diamètres internes de l'aorte et de l'artère pulmonaire étaient significativement affectés par l'âge dans notre étude. De telles statistiques utilisées sur l'ensemble des groupes investigués ne permettaient cependant pas de faire la différence entre l'effet de la croissance et le vieillissement. C'est la raison pour laquelle une analyse supplémentaire a été réalisée au sein des deux sous-groupes d'âge différent. Cette dernière analyse n'a cependant pas permis de mettre en évidence un effet âge sur les mesures échocardiographiques chez le cheval, à l'exception des diamètres de l'artère pulmonaire et de l'aorte. Une investigation sur un plus grand nombre de chevaux d'âge avancé serait cependant utile pour étayer cette hypothèse. D'autre part, durant la période de croissance, il est difficile de différencier le processus intrinsèque de croissance de l'augmentation parallèle du poids corporel puisque ces deux phénomènes sont étroitement liés.

Sur l'ensemble du groupe investigué autant qu'au sein de chacun des deux sous-groupes, le sexe n'avait pas d'effet significatif sur les mesures échocardiographiques à l'exception du LVID dans le

groupe des chevaux âgés de plus de 2 ans. Ces résultats sont différents de ceux obtenus dans la plupart des études réalisées chez l'homme et chez le chien, espèces dans lesquelles il a été démontré que la plupart des mesures échocardiographiques sont différentes chez les mâles et chez les femelles.

En conclusion de cette étude, nos résultats suggèrent que pour augmenter la valeur diagnostique de l'échocardiographie quantitative dans l'espèce équine, il faudrait idéalement établir des normes de références en fonction du poids corporel et à l'intérieur de chaque race.

Étude 4:

Établissement de normes de référence des mesures échocardiographiques en fonction de la taille corporelle dans diverses races équines

Introduction

Comme démontré dans les 3 premières études de ce travail, l'utilité diagnostique de l'échocardiographie quantitative dans l'espèce équine dépend de l'utilisation d'un protocole échocardiographique standardisé et de la disponibilité en normes de références établies en fonction de la taille de l'animal ainsi que de sa race.

L'objectif de cette étude était d'établir des normes de références des mesures échocardiographiques sous forme d'équations de régression puissance en fonction de TC et du poids dans plusieurs races équines qui ne disposaient que de peu voire pas de normes de référence.

Matériel et méthodes

Cette étude a été réalisée sur 239 équidés, (130 juments, 55 hongres et 54 étalons), dont 65 Demi-sangs, 33 Trotteurs, 41 Pur-sang anglais, 32 Pur-sang arabes, 40 Poneys et 28 chevaux de Trait. Ces animaux âgés 1 jour – 30 ans et pesant 18 – 890 kg étaient exempts de pathologie cardiaque comme démontré sur base d'un examen clinique, d'un examen électrocardiographique et d'un examen échocardiographique 2D et Doppler couleur.

Le protocole échocardiographique standardisé décrit dans l'étude 2 a été réalisé sur chaque cheval de l'étude. Par ailleurs, le BW et la TC de chaque cheval étudié ont été mesurés.

Au sein de chaque race, la corrélation entre les mesures échocardiographiques et BW d'une part et TC d'autre part a été étudiée en utilisant le test de Pearson. Ensuite, la régression puissance (de type $Y = a.X^b$) entre les mesures échocardiographiques et BW d'une part et TC d'une autre part, a été calculée.

Pour établir des intervalles de confiance pour chacune des mesures échocardiographiques au seuil 95% de confiance, une transformation logarithmique à la fois des mesures échocardiographiques et de BW et TC a été faite pour que l'équation de la régression devienne:

$$\text{Log}(Y) = \text{Log}(a) + b \text{Log}(X)$$

Cette équation a permis de transformer la relation puissance entre les mesures échocardiographiques (Y) et les paramètres de la taille corporelle (X) en une relation linéaire. Sur base de la pente de cette régression linéaire, la constante b et l'antilogarithme (Log^{-1}) de l'intercept représentant la constante a ont été obtenues.

Les intervalles de confiance des mesures échocardiographiques ont été calculés comme suit :

$$Y_c \pm t_{S_{x,y}} \sqrt{[1 + 1/n + ((x - X)^2 / \sum(x_i - X)^2)]}$$

Résultats et discussion

Les corrélations entre les mesures échocardiographiques et BW d'une part et TC d'autre part étaient étroites et significatives (pour BW: $0.76 < R^2 < 0.89$ et pour TC: $0.77 < R^2 < 0.92$).

Pour chacune des races étudiées, les normes de référence des mesures échocardiographiques ont ainsi été établies sous forme d'équations puissance en fonction de BW et puis en fonction de TC. Des intervalles de confiance au seuil 95% de la confiance sont fournis pour chaque mesure échocardiographique. Ces normes pourront être utilisées à l'avenir et renforceront considérablement la valeur diagnostique de l'échocardiographie dans l'espèce équine.

Étude 5:

Établissement de la relation entre la concentration plasmatique en ANP et le degré d'insuffisance valvulaire chez le cheval.

Introduction

Les insuffisances valvulaires sont des pathologies cardiaques fréquemment rencontrées dans l'espèce équine et qui peuvent limiter les performances athlétiques des animaux atteints. Ces insuffisances valvulaires peuvent résulter en une dilatation des oreillettes. Cette dilatation est considérée comme étant l'un des stimuli majeurs de libération de l'ANP dans la circulation. Dans plusieurs espèces, le taux d'ANP a été démontré comme étant corrélé à l'importance de l'augmentation de pression et de volume au niveau des oreillettes ou à un dysfonctionnement du myocarde auriculaire dans diverses pathologies cardiaques. Chez le cheval, seules deux études se sont intéressées à évaluer le taux d'ANP chez les chevaux souffrant de diverses pathologies cardiaques. Ces études suggèrent que ce marqueur pourrait être intéressant en cardiologie équine, tout en concluant que des études complémentaires menées sur de plus grandes cohortes seraient nécessaires.

L'objectif de cette étude était d'étudier la valeur diagnostique du taux plasmatique d'ANP chez des chevaux présentant divers degrés d'insuffisance valvulaire associés ou non à différents stades d'insuffisance cardiaque.

Matériel et méthodes

Cette étude a été entamée sur 91 chevaux (38 juments, 13 étalons, 40 hongres), pesant entre 370 et 780 kg (moyenne \pm SD: 494.5 \pm 71.8 kg). Ils étaient âgés entre 3 et 30 ans (moyenne \pm SD: 11.0 \pm 6.0 ans). Ils appartenait à différentes races (49 Demi-sangs, 11 Pur-sang anglais, 13 Trotteurs, 13 Pur-sang arabes ou Anglo-Arabes, 4 Poneys, 1 Frison). Tous ces chevaux ont été présentés à la clinique vétérinaire universitaire de Liège pour une évaluation d'un souffle cardiaque ou pour intolérance à l'effort. Les chevaux souffrant d'un problème cardiaque autre qu'une insuffisance valvulaire n'ont pas été inclus dans l'étude.

Une prise de sang a été faite sur chaque cheval au repos au niveau de la veine jugulaire. Le sang (8-10 ml) a été collecté dans un tube monovette neutre contenant 200 μ l d'une solution Benzamidine/EDTA (ULB - Faculté de Médecine Laboratoire de Physiologie, CP604) qui a directement été placé sur glace à 4° après collecte. Le tube a été centrifugé endéans les 10 minutes après collecte à une vitesse de 2200 g à 4°C pendant 10 minutes. Le plasma a été immédiatement séparé après centrifugation et conservé dans des cryotubes (TTP Techno Plastic Products) à -80°C jusqu'à analyse. L'ANP a été extrait et dosé par utilisation d'un kit de radio immuno essai commercialisé (Atrial Natriuretic Fact 1-28 RIA Kit, Bachem Ltd, UK) et d'un compteur gamma (1261 multigamma, Perkin Elmer Life Science, Wallac Berthhold).

Tous les chevaux inclus dans cette étude ont en outre été soumis à un examen clinique, électrocardiographique et échocardiographique en mode 2D, M et Doppler pulsé pour évaluer la morphologie et la fonction cardiaque, et pour détecter la présence et évaluer la sévérité des insuffisances valvulaires qui ont été classées en 4 grades : pas d'insuffisance, insuffisance légère, insuffisance modérée ou insuffisance sévère.

Les valeurs de la concentration plasmique de l'ANP ont été analysées en utilisant un modèle linéaire univarié incluant l'effet fixe de chaque grade d'insuffisance.

Résultats et discussion

La concentration plasmatique en ANP (ANP_{pl}) était significativement plus élevée chez les chevaux avec chaque stade d'insuffisance cardiaque par rapport à ceux avec un stade d'insuffisance cardiaque inférieur. Cela suggère que ANP_{pl} semble être prédictive du stade d'insuffisance cardiaque chez le cheval, et ce même à des stades subcliniques de la maladie avec ou sans remodelage cardiaque.

De plus, quelle que soit la valve affectée, l'ANP_{pl} était significativement plus élevée chez les chevaux souffrant d'insuffisance modérée ou sévère que chez ceux ne présentant pas ou de faibles insuffisances valvulaires. En outre, des valeurs d'ANP_{pl} plus élevées ont été obtenues chez les chevaux souffrant d'IM ou d'ITr par rapport à celles obtenues chez les chevaux avec IAo, et une corrélation étroite a été

obtenue entre l'ANP_{PI} et les mesures échocardiographiques de LA et de dilatation de l'oreillette gauche.

Ces résultats suggèrent que ce biomarqueur semble surtout intéressant pour déceler des dilatations ou dysfonctionnements des oreillettes, comme cela a été démontré dans les autres espèces.

Il est intéressant de noter que dans notre étude, l'ANP_{PI} est apparue comme ayant une valeur diagnostique des problèmes cardiaques chez le cheval supérieure à celle obtenue dans les deux études précédentes (Gehlen *et al.*, 2007, Trachsel *et al.*, 2012). De nombreux éléments (notamment le type et le nombre de cas étudiés) pourraient expliquer ces différences, mais parmi ceux-ci, il faut mentionner que le kit RIA utilisé dans notre étude était différent des kits utilisés dans les études précédentes chez le cheval. Les valeurs absolues d'ANP_{PI} obtenues étaient supérieures aux valeurs obtenues précédemment chez le cheval mais comparables aux mesures précédemment rapportées chez l'homme et chez les animaux de compagnie, ce qui peut laisser supposer une meilleure affinité des anticorps de ce kit que des kits précédemment utilisés pour l'ANP équin.

Présentation systématique des études expérimentales

Etude 1

**COMPARISON OF THE REPEATABILITY OF ECHOCARDIOGRAPHIC MEASUREMENTS FROM
DIFFERENT MODES AND VIEWS IN HORSES OF VARIOUS BREEDS AND SIZES**

Al Haidar A.¹, Farnir F.², Deleuze S.¹, Sandersen C.¹, Amory H.¹

¹Equine Teaching Hospital, Clinical Department of Companion Animals and Equids,

²Biostatistics, Bioinformatics, Economics and Animal Selection, Department of Animal Production,
Faculty of veterinary Medicine, University of Liège, Bat. B41, sart Tilman, B 4000 Liège, Belgium.

Abstract

The objective of this study was to compare the repeatability of echocardiographic measurements obtained from different echocardiographic modes and views in healthy adult equids of various sizes, breeds and thorax shapes.

Ten, free of cardiac disease, equids (body weight: 120 to 662 kg; age: 1 to 26 years) from various breeds were used in this study. Each animal was submitted to a standardized echocardiographic and Doppler protocol 3 times at 1 day interval. This protocol included the measurements of left and right ventricular, aortic, pulmonary, and left atrial parameters obtained from different views using the bidimensional (2D) or the motion (M) modes, and the measurement of several parameters of blood flow obtained from the pulsed wave Doppler mode. Repeatability of each measurement was estimated on the basis of the residual variance using a linear model and the coefficient of variation of repeated measurements. A two by two comparison of the repeatability of measurements performed in different views was performed using the residual variances in a variance ratio F test.

Results showed that repeatability of echocardiographic or Doppler measurements in equids of various sizes, breeds and thorax shapes are comparable to previously reported results in thoroughbred and standardbred horses. Left ventricular morphologic parameters showed a good repeatability in the classic M-mode right parasternal short axis view at the level of the chordae tendinae, but the 2D-mode right parasternal long axis four-chamber view appeared to offer an interesting alternative to measure them. This latter view also allowed obtaining the most repeatable measurement of right ventricular internal diameter. The left atrial diameter was maximal and most repeatable in the 2D-mode left parasternal long axis four-chamber angled view, and the repeatability of the aortic diameter was best in the 2D-mode right parasternal long axis five-chamber view. Finally, aortic systolic time intervals were more repeatable when measured from the Doppler mode as compared to the M-mode.

In conclusion, repeatability of echocardiographic measurements in horses could be optimized following the following protocol:

- 5- M-mode right parasternal short axis view at the level of chordae tendinae to measure left ventricular morphologic parameters, and 2D-mode right parasternal long axis four-chamber as an alternative view.
- 6- 2D-mode right parasternal long axis five-chambers to measure the aortic diameter.
- 7- 2D-mode left parasternal long axis four-chambers angled view to measure the left atrial diameter.

Keywords: Echocardiography, Repeatability, 2D-mode, M-mode, Doppler measurements.

Introduction

Echocardiography and Doppler echocardiography are routinely used in cardiology as they allow a non-invasive assessment of cardiac morphological dimensions and functional indices.¹ Many reports demonstrated their usefulness as diagnostic and prognostic tools of most congenital and acquired cardiac diseases in the equine species.¹⁻⁶ Moreover, echocardiography has been used in several studies to assess the changes induced by training,⁷⁻⁹ or drug administration^{4, 10-13;} in this species.

Whatever the target species, to allow an accurate evaluation of cardiac dimensions and functional indices, measurements obtained by echocardiography have first to be demonstrated to be repeatable and accurate in this species.¹⁴⁻¹⁶ Accuracy is difficult to assess because there is no other gold standard for cardiac measurements *in vivo* that could be referred to, and post mortem measurements are not truly representative of *in vivo* morphologic measurements.¹⁷⁻¹⁹ Consequently, the reliability of echocardiographic or Doppler echocardiographic measurements is often based on evaluation of their repeatability.²⁰ However, there is no clear consensus on how to assess the reliability of echocardiographic variables.¹⁶

Despite the wide use of echocardiography and Doppler echocardiography in horses, repeatability of those techniques has poorly been documented in this species. Moreover, most of the studies that have been performed to test the intra- and inter-observer repeatability of equine echocardiographic measurements were performed in thoroughbreds and standardbreds.^{4, 6, 14-16, 21-25} It has been established that echocardiographic views are easier to obtain in these breeds than in more broad chested breeds in which the images are of poorer quality.²¹ Furthermore, those studies focused on echocardiographic views most commonly used in dogs or human patients. No other views, potentially more adequate for the equine, have been tested in these studies. In addition, the results of the previous repeatability studies performed in horses were sometimes conflicting, with some of the tested parameters, especially Doppler parameters, showing a high variability.⁶ and thus questioning the accuracy of those parameters.

Finally, several authors compared the mean value of echocardiographic parameters when measured from different views.^{4, 14, 26} The results of those studies were conflicting: some authors showed significant differences when the parameters were measured in those different views, whilst other studies showed no significant differences between the different views.

The purpose of this study was to test and compare the intra-observer repeatability and the mean values of echocardiographic and Doppler echocardiographic measurements obtained from different modes (M and 2D-mode) and views (long and short axis, right and left parasternal) in healthy adult equids of various size, breeds and thorax shape.

Material and methods

Animals

Ten equids (5 mares and 5 geldings), including one donkey, two standardbreds, one pony, and six half-bloods were used in this study. Ages ranged from 1.5 years to 25.6 years (Mean \pm S.D: 10.10 ± 7.64 years) and weights from 120 to 662 kg (Mean \pm S.D: 459.8 ± 128.84 Kg). All the studied animals were free of cardiac disease or any pathology with a potential repercussion on heart size or function. They were hospitalized in the equine teaching hospital of the University of Liège for a problem without repercussion on cardiac function (i.e. ophthalmic or dermatologic problem, lameness or recurrent colic). Normal clinical examination and normal preliminary electrocardiographic and qualitative echocardiographic and Doppler echocardiographic evaluation were prerequisite to be included in the study.

Each animal was submitted to the echocardiographic protocol 3 times at 1 day interval. Before imaging, the animals were shaved between the 3rd to the 5th intercostal space just caudal to the triceps muscle mass, from 3 to 5 cm below the olecranon to 5 to 10 cm above it. The shaved areas were then copiously rinsed with water and acoustic coupling was obtained using ultrasound gel.

Imaging technique

An ultrasound system (System five, GE Vingmed medical systems, General Electrics, Belgium) equipped with a 2.5 MHz phased-array sector scanner and bidimensional (2D), time motion (M), color mapping and spectral Doppler modes were used for this study. The ultrasound machine had an integrated ECG function where the ECG traces were displayed simultaneously with the images. A base-apex bipolar DII lead system was used, with electrodes applied over the left jugular furrow and the ventral portion of the left abdomen over the girth place.

During the investigation, the forelimb of the investigated hemi thorax was pulled as forward as tolerated by the horse. All images or loops of images were recorded on a disk driver (Echopac, General Electric, Belgium) for subsequent analysis.

Terminology and image orientation were those recommended by the echocardiographic committee of the specialty of cardiology (ACVIM).²⁷ Imaging planes were selected according to identification of intracardiac landmarks as previously reported in horses.^{4, 21, 24, 28} For Doppler-mode views, alignment with blood flow was initially assessed from a 2D ultrasound image in order to minimize beam angulation.⁶ Accurate alignment with blood flow was assumed when the audible signal was clear and the spectral envelope of the Doppler waveform was complete.²² The sample volume was set at 5 mm for all Doppler measurements.

Animals were first imaged from the right hemi thorax by placing the ultrasound beam in the 4th or the 5th intercostal space, perpendicularly to the thorax wall, just dorsal to the olecranon. The position of the beam was adjusted to obtain and record a 2D-mode right parasternal long axis (LAX) four-chamber reference view, with the interventricular septum orientated as horizontal as possible.

In this view, the M-mode was then selected and the cursor was placed perpendicular to the interventricular septum and the left ventricular free wall at level of the chordae tendinae in order to obtain and record an M-mode right parasternal LAX four-chamber reference view.

Starting from the 2D-mode LAX four-chamber reference view, the beam was rotated clockwise with slightly cranial and dorsal direction to obtain and record a 2D-mode right parasternal LAX five-chamber view showing the left ventricle and the left ventricular outflow tract, where the aorta was positioned perpendicular to the axial beam.

In this view, the M-mode was then selected to produce and record a M-mode right parasternal five-chamber view of root of the aorta by placing the cursor perpendicular to the wall of the aorta in the direction of the largest part of the left atrium.

Restarting from the 2D-mode right parasternal LAX four-chamber reference view, the beam was then rotated in a clockwise direction towards the olecranon in order to produce and record a 2D-mode short-axis (SAX) view of the left ventricle at the level of the chordae tendinae where the interventricular septum, the right and left ventricle and the left ventricular free wall were bisected at right angle and the left ventricle was circular. In this view, the chordae tendinae were clearly visible and papillary muscles and the mitral valve leaflets were not visible.

In this view, M-mode was then selected in order to obtain the M-mode SAX view of the left ventricle at level of the chordae tendinae by placing the cursor at the angle through the left ventricle, dividing the left ventricle in symmetric halves.

From the 2D-mode right parasternal SAX view of the left ventricle at level of chordae tendinae, the beam was pivoted dorsally and cranially in the direction of the heart base at the level of the aortic root that appeared circular at the centre of the image. This view was recorded, and therefore the M-mode

was selected to obtain and record the M-mode right parasternal SAx view at level of the root of aorta by dividing the aorta in symmetric halves by the cursor.

Restarting from the 2D-mode right SAx view at the chordal level, the beam was then pivoted dorsally in the direction of the heart base and rotated slightly clockwise or anticlockwise until a clear 2D right parasternal image of the heart base at the level of the pulmonary valve was obtained and recorded.

Then the Doppler pulsed-wave mode was selected, and the gate placed just distal to the pulmonary valve to record the pulmonary Doppler outflow velocity spectrum.

Restarting from the 2D-mode right parasternal LAx four-chamber reference view, the transducer was then directed as ventrally as possible to obtain the angled view of the right ventricle inflow tract. In this view, pulsed-wave Doppler mode was selected and the gate was placed so that it was at the valve tips in systole and between the valve leaflets in diastole. This allowed obtaining and recording of the tricuspid inflow velocity spectrum.

Then, the animals were examined from the left hemi thorax. The beam was placed in the 4th or 5th intercostal space perpendicular to the hemi thorax wall just dorsally of the olecranon and was adapted to produce and record a 2D-mode left parasternal LAx four-chamber view, where the interventricular septum was as horizontal as possible. In this view, the M-mode was then selected to obtain and record an M-mode left parasternal LAx four-chamber view of the left ventricle. To obtain this view, the cursor was placed perpendicularly to the interventricular septum and the left ventricular free wall at the level of the chordae tendinae, between the mitral valve leaflets tips and the left ventricular papillary muscles.

From the 2D-mode left parasternal LAx four-chamber view, the beam was then rotated in a clockwise direction in order to produce and record a 2D-mode SAx view of the left ventricle at level of the chordae tendinae where the interventricular septum, right ventricle, left ventricle and free wall of the left ventricle were bisected at right angle and the left ventricle was circular.

From this view, an M-mode left parasternal SAx view of the left ventricle was obtained and recorded by placing the cursor perpendicularly to the interventricular septum and the left ventricular free wall and dividing the left ventricle in symmetric halves.

Coming back to a 2D-mode left parasternal LAx four-chamber view, the beam was then moved ventrally and caudally to produce and record a 2D-mode left parasternal LAx angled view of the left ventricle where the largest diameter of the left atrium was obtained¹⁶. Then, the Doppler pulsed-wave mode was selected and the gate was placed at level of the mitral valve tips in systole and between the mitral valve leaflets in the diastole to record the mitral inflow velocity spectrum.

From the left parasternal LAX angled view; the beam was then rotated anticlockwise until the aortic root was visible, allowing recording a 2D-mode left parasternal apical five chamber view. Then, the Doppler pulsed-wave mode was selected and the gate was placed just distal to the aortic valve for recording the aortic outflow velocity spectrum.

Echocardiographic measurements

All measurements were the mean for 3 cardiac cycles. Measured cardiac cycles were not necessarily consecutive. Echocardiographic examinations and measurements were always performed by the same investigator (AAH).

All echocardiographic measurements were made at end-diastole and at end-systole. Diastolic measurements were made at the onset of the QRS complex or at largest left ventricular dimension. Systolic measurements were made at smallest left ventricular dimension (2D-mode) or peak downward point of septal motion (M-mode).⁶ All measurements were made using the leading edge to leading edge method.^{21, 29-30}

Since heart rate influence the repeatability of echocardiographic measurements¹⁹, all measurements were obtained when the heart rate was below 45 beats/minute.

2D-mode measurements

The right and left ventricular internal diameter (RVID and LVID, respectively), and the interventricular septum and left ventricular free wall thickness (IVS and LVFW, respectively) were measured in the 2D-mode at end-diastole and at end-systole from the right and left parasternal LAX four-chamber view at the level of an imaginary line perpendicular to interventricular septum and left ventricular free wall between the mitral valve and papillary muscles.

The RVID, LVID, IVS and LVFW were also measured in the 2D-mode at end-diastole and at end-systole from the right and left parasternal SAX view at level of an imaginary line that divided left ventricle into symmetric halves. The left atrium internal diameter (LA) was measured in the 2D-mode at end-diastole from the right parasternal LAX four-chamber reference view and from the left parasternal LAX angled view of the left ventricle.⁸

The aortic internal diameter (Ao) was measured in the 2D-mode at end-diastole from:

- The right parasternal LAX left ventricular outflow (five-chamber) view. In this view, a line connecting the annulus was made and measured (Ao_{valve}), and the sinus of Valsalva was measured at its largest dimension (Ao_{sinus}). The ascending aorta was measured during systole at its narrowest dimension distal to the sinus, at the sino-tubular junction (Ao_{min}).
- The right parasternal short axis view at level of the aortic root, using an imaginary line vertical perpendicular to the aortic walls and dividing the aortic root into symmetric halves.

- The left parasternal apical five-chamber view, at level of sinus of Valsalva

The pulmonary artery diameter (Pu) was measured in the 2D-mode at end-diastole and at its largest diameter from the right parasternal image of the heart base at the level of the right ventricular outflow tract.

The left ventricular internal and external area (LVIA and LVEA, respectively) were measured by planimetry in the 2D-mode at end-diastole and at end-systole from the right and left parasternal SAX view of the left ventricle at the chordal level.

M-mode measurements

The RVID, LVID, IVS and LVFW were measured in the M-mode at end-diastole and at end-systole from the right and left parasternal LAX four-chamber views and from the right and left parasternal SAX views at the chordal level.

Ao was measured at end-diastole in the M-mode from the right parasternal LAX five-chamber view and from the right parasternal SAX view at the level of the aortic root.

The LA was measured in the M-mode at end-diastole from the right parasternal LAX five-chamber view.

The pre-ejection period and the ejection time of the aortic flow (PEP and ET, respectively) were measured from the M-mode right parasternal LAX five-chamber view of the aortic valves from the onset of QRS-complex to the opening of the aortic valves, and from the opening to the closure of the aortic valves, respectively.

Doppler measurements

From the mitral and tricuspid velocity spectral recordings, the peak velocity of blood flow during the rapid ventricular filling (Peak E) and during the atrial contraction (Peak A) were measured by placing the cursor at the apex of the maximal upwards motion of blood flow.

From the aortic and pulmonary velocity spectral recordings, the peak velocity of blood flow (Vmax) was measured by placing the cursor at the apex of the maximal downwards motion of blood flow. The area under the velocity waveform (VTI) was measured by tracing the modal velocity (represented by the brightest line in the spectral Doppler waveform) envelope of the Doppler signal.

The ET was measured from the onset to the end of the spectral waveform.

The time to peak (TTP) was measured from the onset of the Doppler waveform to the start of the maximum velocity plateau. The PEP was measured from the onset of the QRS complex to the onset of the spectral waveform.

Statistical analysis

Repeatability of each measurement was estimated on the basis of the residual variance in a linear model including the effect of the animal, of the day of measurement, and of the interaction between animal and day of measurement when those factors were significant. For the parameters that were measured in different views, the repeatability of the measurement performed in each of the views was compared two by two using a variance ratio F test. Additionally, for each of the parameters measured in different views, the repeatability of the measurements obtained in M-mode were compared with those performed in 2D-mode using a variance ratio F test. Moreover, the coefficient of variation (CV) obtained for each parameter performed in each view was calculated. The degree of repeatability based on the obtained CV was defined as: $CV < 5\%$: very high repeatability; $5\% < CV < 15\%$: high repeatability; $15\% < CV < 25\%$: moderate repeatability; $CV > 25\%$: low repeatability¹⁶.

Results

The comparison of the repeatability of the 2D and M-mode echocardiographic parameters obtained in the different tested views is shown in Table 1. Based on the CV, most of the measurements showed a very high repeatability ($CV < 5\%$), and some of them a high repeatability (CV between 5 and 15 %). The RVID showed a significantly higher repeatability when measured from the right LAX 2D-mode view than in the other views and a significantly lower repeatability when measured from the left M-mode views than from the right views. Most of the left ventricular morphometric parameters showed a significantly higher repeatability when measured from the right LAX 2D-mode view than in the other views. The variability of LVIA and LVEA was not statistically different when measured from the right or from the left. The LA showed a statistically higher repeatability when measured from the left LAX 2D-mode view than from the other views. The repeatability of Ao measurement was in general very good as demonstrated by a low CV. However, it showed a statistically lower repeatability when measured from the right LAX 2D-mode view at the level of the sino-tubular junction or from the right LAX or SAX M-mode views than in most of the other views.

When pooling the results of the left ventricular morphometric parameters obtained from M or 2D-mode, the IVS and LVFW showed a significantly higher repeatability when measured from the TM mode than when measured from the 2D-mode.

The repeatability of the Doppler parameters is shown in Table 2. Based on the CV, all measurements showed a high repeatability (CV between 5 and 15 %), excepted for aortic VTI that showed a CV just above this limit (15.6 %).

The comparison of the repeatability of the aortic ET and PEP obtained from the Doppler aortic flow tracings and from the right parasternal LAX and SAX M-mode views are shown in Table 3. Whatever the view used, the CV of those measurements ranged from 6.0 to 8.2 %, thus showing a high repeatability. However, the PEP showed a significantly lower repeatability when measured from the

right LAx M-mode view rather than from the right SAx M-mode view or from the blood flow Doppler view.

The comparison of the mean values of morphological echocardiographic measurements obtained from different echocardiographic views and modes is shown in Table 1.

Most of right and left ventricular parameters showed significantly different values according to the mode and view from where they were measured, with the exception of the systolic and diastolic measurements of LVIA and LVEA that were not statistically different when measured from the right or from the left parasternal view.

The mean value of LA measurement was significantly higher when it was obtained from left hemithorax than from right hemithorax and from the 2D-mode rather than from the M-mode.

The mean values of Ao measurement showed significant differences according to the view and the level from which it was measured. It was significantly higher when measured from the M-mode as compared to corresponding 2D-mode views.

The comparison of the mean values of aortic PEP and ET measurements obtained from Doppler aortic flow trace and from the 2 right parasternal M-mode tested views is shown in Table 3. The mean value of those parameters was significantly longer when measured from the Doppler aortic flow trace than from the M-mode views.

Discussion

Repeatability of echocardiographic measurements depends on several technical, physiologic and examiner-dependent factors.^{4, 6, 15-16, 24-25} Technical factors include the quality and the accuracy of the equipment, the minimal resolution of measurements provided by the software, the distance of the measured structure from the transducer that can affect the image quality, and quality of the images recording system and of the calibration used to perform the measurements.^{16, 24-25} However, with recent equipment in digital format, this latter factor (calibration error) is avoided.¹⁶ Physiologic factors mainly include hemodynamic (mostly heart rate) variability that is dependent on the behaviour of the horse and its habituation to the echocardiographic examination. The thorax conformation and bodily condition are also important physiologic factors that influence the quality of the images.^{6, 15, 24-25} Examiner-dependent factors include the quality of the imaging planes and the adherence of the operator to the imaging standardization and measurements guidelines. This is highly dependent on the experience of the operator.^{6, 15, 21, 24-25, 31}

The present study was performed with a good quality machine, with a digital recording allowing obviation of calibration errors. However, the animals were not accustomed to echocardiographic examination and had various body size and thorax conformation, and the images and measurements were made by an examiner with a limited (one year) experience of echocardiography in the equine

species. Those conditions reflect every day conditions encountered in most clinical cases examined by echocardiography.

There is no consensus on the method that should be used to evaluate the reliability of echocardiographic measurements¹⁶. In the present study, the intra-observer day-to-day variability of the measurements has been tested and both the CV produced by repeated measurements and a comparison of the variance produced in different views using an F test were used. The CV of repeated measurements has been previously used by several authors in the equine species,^{6, 14-16, 21, 24-25, 31} whilst the comparison of the variance is an original approach of evaluating the repeatability.

Based on the CV, the repeatability of most of the morphological echocardiographic parameters performed in the present study in equids of various breeds and thorax shapes was high to very high, whatever the mode and view that was used to perform the measurements. The CV was closely comparable if not better than in the previous studies.^{6, 14-16, 21, 25, 31} This suggests that even in horses with a cardiac window of a lower quality than in standardbreds and thoroughbreds, it is possible to obtain repeatable echocardiographic measurements when a standardised cardiac imaging is used. However, even if generally speaking the CV of the echocardiographic measurements was low, it was not the same for all measured parameters, as previously reported by several authors.^{6, 14-15, 21, 25} Moreover, the variability of most of the measurements showed significant differences between the different views used to measure it. To our knowledge, this is the first study that statistically compared the repeatability of echocardiographic measurements performed from different views in the equine species.

For most of the left ventricular morphologic parameters, the quality of the images obtained from the left hemi thorax in this study were of poorer quality than those obtained from the right hemi thorax, as previously reported.²¹ The M-mode right parasternal SAX view at the level of the chordae tendinae, which is considered as the reference view to perform the measurements, produced a good repeatability as compared to the other tested views, but was not the view giving the best repeatability for most of those parameters. Interestingly, the 2D-mode right parasternal LAX view was the view giving the best or one of the best repeatability for several left ventricular parameters measurements. This view could thus be a good alternative for left ventricular measurements in horses.

On the other hand, the comparison of the mean value of the left ventricular parameters obtained in the different tested views evidenced significant differences. This is in contrast with previous studies performed in horses or donkeys that showed no significant differences when left ventricular measurements were performed from the M-mode rather than from the 2D-mode, or from the right rather than from the left hemi thorax^{4, 21, 26}, but in accordance with another study that evidenced LVID measurements differences when it was measured from the left or from the right side⁴. The significant differences between LVID measurements from different views obtained in the present study could be due to the higher number of measurements performed in the present study, which could have help in evidencing significant differences between views. Differences in LVID measurements between views

could be due to differences in the plane or axis used, or slightly different cursor's positioning between views.

Measurement of RVID is known to be less repeatable than left ventricular measurements in horses,^{14, 21} and this was also the case in the present study. This could be due to the non circular shape of the right ventricle, to the presence of trabecular structures in its wall, and to difficulties in obtaining a perpendicular position of the right ventricle in the recorded images.²¹ Indeed, because the echocardiographic studies usually focus on the left ventricle rather than on the right ventricle, most of the landmarks for standardisation of the echocardiographic views depend on specific positions of left ventricular structures such as the interventricular septum, the left ventricular free wall, the chordae tendinae or the papillary muscles.^{4, 21, 28}

The CV of RVID measurement during diastole has been reported to range from 4.6 to 23.8 %.^{14, 21} In the present study, the CV ranged from 2.9 to 5.22 % in the right parasternal views, and from 4.2 to 11.7 % in the left parasternal views, and its measurement was statistically more repeatable in the 2D-mode right parasternal LAX view than in the other views. It could thus be advocated to measure RVIDd in this latter view in the equine species.

Previous studies reported a CV of aortic measurements in standardbred and thoroughbred horses ranging from 1.7 to 6.0 %. However, the view used to measure this parameter was variable, some authors using a right parasternal SAX view and others using a right parasternal LAX view, and some using the 2D-mode whilst others used the M-mode.^{6, 14-15, 21, 24-25} In the present study, measurement of the aortic diameter was highly repeatable whatever the view used to measure it, but the views associated with the best repeatability were the views performed in the 2D-mode. This is in agreement with the study of Patteson et al (1995) that also suggested performing aortic measurements in the 2D-mode. M-mode measurements could be more variable because they are dependent on the level at which the cursor crosses the aorta, and because there are marked differences between the diameter of the aorta at its base, at the sinus of Valsalva and at the level of the sino-tubular junction.⁴ This is supported by the results of the present study where significant differences between the mean values of the aortic diameter at the base, the sinus of Valsalva and the level of the sino-tubular junction have been obtained. The timing of aortic measurement was also not standardized in the previous studies, end-systolic and end-diastolic measurement being both performed depending on the authors. In this study, the measurements were performed at end-diastole to obviate the lung interference that is known to occur during mid systole.⁴

The repeatability of the pulmonary artery measurements obtained in the present study was very good (CV 3.1 %). This is in contrast with previous studies that reported larger day-to-day variation in the measurement of this parameter (CV ranging from 5.9 to 15 %) that has been attributed to the difficulties in imaging the maximal pulmonary artery diameter.^{6, 15, 24} The use of a machine with higher quality and resolution in the present study as compared with previous studies could have helped to minimize this problem.

The repeatability of LA measurement has not been previously extensively studied in horses, but most of the authors recommend measuring this parameter from an M-mode right parasternal SAx view at the level of the heart base or from a 2D-mode left parasternal LAx four chambers view.^{4, 21} However, other authors recommend measuring that parameter from a 2D-mode right parasternal LAx four chambers view.^{16, 24} M-mode measurement of LA is known to give a less good spatial and landmarks resolution than does the 2D-mode, and is highly dependent on the cursor placement, which could produce the measurement of the left atrial appendage rather than of the left atrial body.^{4, 16} Moreover, in this view, the M-mode cursor is usually placed perpendicular to the aortic root, but this positioning is often not perpendicular to the left atrium, which also induces an error in the LA measurement. In the present study, the M-mode measurements of LA also produced a significantly higher variability of the measurement of LA than the 2D-mode views. Scharzwald et al (2007) hypothesized that the 2D-mode right parasternal window could be of better value in measuring LA than the left parasternal window because this latter view does not allow imaging the entire left atrium and provides anatomic landmarks of poorer quality for measurements, which could lead to a higher variability in its measurement and to an underestimation of the maximal LA. However, in the present study, the 2D-mode left parasternal LAx angled view yielded a significantly higher repeatability of LA measurement than the right parasternal LAx view, and was not associated with an underestimation of its measurement as demonstrated by the mean value of this parameter that was significantly higher in the 2D-mode left parasternal LAx view than in the corresponding right parasternal view. Those results could be due to the fact that the LA was not measured in a classic four chamber view, but rather in angled view of the left ventricle and atrium, and that this view was adjusted to obtain the largest diameter of the left atrium. In this view, the anatomic landmarks of the left atrium are easier to obtain than in the classical four chambers view. The 2D-mode left parasternal angled view could thus be the best view to measure the LA in the equine species.

The repeatability of pulsed-wave Doppler measurements has infrequently been studied in the equine species. In the few studies performed on this field, repeatability of those measurements was lower than the repeatability of morphologic echocardiographic parameters.^{6, 15-16, 24} In the present study, this was also the case. The obtained CV for Doppler measurements ranged from 6 to 15.6 %, which is in agreement with previously reported results.^{6, 15-16, 24} For some authors, such a variability is low enough to warrant Doppler measurements in clinical and experimental studies,^{15-16, 24} but according to other authors, only large relative differences could be detected by those measurements.⁶

The poor repeatability of Doppler measurements is mainly due to the difficulties encountered in horses to obtain a correct (parallel) alignment between the Doppler beam and the valvular blood flows, especially for the transmitral and transaortic blood flow.^{6, 16, 24} The high physiologic variability of stroke volume and heart rate in the conscious horse during the echocardiographic examination could also largely account for the high variability of Doppler measurements in this species.¹⁵ The technical, physiologic and examiner-dependent factors that have been mentioned concerning

echocardiographic measurements are also important contributing factors to repeatability of Doppler measurements.

The repeatability of Doppler measurements was not compared between different views in this study because nowadays, there is a rather clear consensus on the views that have to be used in the equine species to minimize the angulation effect. Only the repeatability of aortic PEP and ET measurements were compared in this study because they can be obtained from a M-mode or from a Doppler-mode view. Measurements of those parameters showed a better repeatability and a higher mean values in the Doppler mode than in the M-mode, which suggests a better reliability of the Doppler mode to measure those parameters.

In conclusion, results of repeatability of echocardiographic and Doppler echocardiographic measurements obtained in this study in equids of various sizes, breeds and thorax shapes were comparable to previously reported results in thoroughbred and standardbred horses and suggest that for some parameters, the repeatability can be optimized using a specific views, i.e. following the following:

- 1- M-mode right parasternal short axis view at the level of chordae tendinae to measure left ventricular morphologic parameters, and 2D-mode right parasternal long axis four-chamber as an alternative view.
- 2- 2D-mode right parasternal long axis five-chambers to measure the aortic diameter.
- 3- 2D-mode left parasternal long axis four-chambers angled view to measure the left atrial diameter.

Acknowledgment

This study has partly been supported by the “Fonds Spéciaux pour la recherche” from the University of Liege.

Table 1. Comparison of the mean \pm SE value, of the coefficient of variation (CV), and of the residual variance error (VE) of morphological echocardiographic parameters measured from different views three times at one day interval by a single observer in 10 equids free of cardiac disease and of various breeds.

Parameter	View	Symbol	Mean \pm SE	CV (%)	VE
RVIDd (cm)	Right,LAx,2D	1	4.80 \pm 0.06	2.9	0.019 ^{2,3,4,5,6,7,8}
	Right,LAx,M	2	4.70 \pm 0.06 ⁷	4.4	0.042 ^{6,8}
	Right,SAx,2D	3	4.64 \pm 0.06 ⁷	5.0	0.054 ⁸
	Right,SAx,M	4	4.38 \pm 0.06 ^{1,2,3,7}	5.2	0.057 ⁸
	Left,LAx,2D	5	3.23 \pm 0.06 ^{1,2,3,4,6,7}	6.2	0.041 ^{6,8}
	Left,LAx,M	6	3.43 \pm 0.06 ^{1,2,3,4,7}	8.4	0.083
	Left,SAx,2D	7	4.95 \pm 0.06	4.2	0.044 ^{6,8}
	Left,SAx,M	8	2.88 \pm 0.06 ^{1,2,3,4,5,6,7}	11.7	0.112
LVIDd (cm)	Right,LAx,2D	1	10.91 \pm 0.05	1.1	0.016
	Right,LAx,M	2	10.73 \pm 0.05	1.3	0.019
	Right,SAx,2D	3	10.07 \pm 0.05 ^{1,2,5,6,7,8}	1.4	0.019
	Right,SAx,M	4	10.19 \pm 0.05 ^{1,2,5,6,8}	1.2	0.016 ⁸
	Left,LAx,2D	5	10.39 \pm 0.05 ^{1,2,8}	1.1	0.013 ⁸
	Left,LAx,M	6	10.37 \pm 0.05 ^{1,2,8}	1.2	0.017
	Left,SAx,2D	7	10.26 \pm 0.05 ^{1,2,8}	1.3	0.019
	Left,SAx,M	8	10.70 \pm 0.05 ¹	1.5	0.025 ⁵
LVIDs (cm)	Right,LAx,2D	1	6.53 \pm 0.05 ²	1.8	0.013 ^{2,3,5,6,7}
	Right,LAx,M	2	6.78 \pm 0.05	2.7	0.033 ⁵
	Right,SAx,2D	3	6.35 \pm 0.05 ^{1,2}	3.3	0.045
	Right,SAx,M	4	6.25 \pm 0.05 ^{1,2}	2.4	0.023 ^{3,5,6,7}
	Left,LAx,2D	5	6.21 \pm 0.05 ^{1,2,3}	3.6	0.050
	Left,LAx,M	6	6.22 \pm 0.05 ^{1,2,3}	3.1	0.038
	Left,SAx,2D	7	6.01 \pm 0.05 ^{1,2,3,4,5,6,8}	3.3	0.039
	Left,SAx,M	8	6.26 \pm 0.05 ^{1,2}	2.8	0.031 ⁵
IVSd (cm)	Right,LAx,2D	1	2.45 \pm 0.02 ^{2,3,4,7}	2.6	0.004 ^{2,3,4,5,6,8}
	Right,LAx,M	2	2.67 \pm 0.02 ^{3,7}	4.2	0.013
	Right,SAx,2D	3	3.02 \pm 0.02	2.8	0.007 ²
	Right,SAx,M	4	2.67 \pm 0.02 ^{3,7}	3.6	0.009
	Left,LAx,2D	5	2.42 \pm 0.02 ^{2,3,4,7}	3.6	0.008 ²
	Left,LAx,M	6	2.36 \pm 0.02 ^{1,2,3,4,7}	4.3	0.010
	Left,SAx,2D	7	2.86 \pm 0.02 ³	2.5	0.005 ^{2,4,6,8}
	Left,SAx,M	8	2.25 \pm 0.02 ^{1,2,3,4,5,6,7}	4.4	0.010
IVSs (cm)	Right,LAx,2D	1	3.68 \pm 0.02 ^{2,3,4,6,7}	2.6	0.009 ^{2,4,5}
	Right,LAx,M	2	4.03 \pm 0.02 ^{3,7}	3.0	0.015
	Right,SAx,2D	3	4.11 \pm 0.02 ⁷	2.7	0.012

	Right,SAx,M	4	4.05 ± 0.02^7	3.2	0.017
	Left,LAx,2D	5	$3.63 \pm 0.02^{2,3,4,6,7,8}$	3.3	0.014
	Left,LAx,M	6	$3.78 \pm 0.02^{2,3,4,7}$	2.7	0.010 ⁴
	Left,SAx,2D	7	4.20 ± 0.02	2.3	0.009 ^{2,4,5}
	Left,SAx,M	8	$3.73 \pm 0.02^{2,3,4,7}$	2.9	0.011
LVFWd	Right,LAx,2D	1	$2.00 \pm 0.02^{2,3,7}$	4.1	0.007 ^{4,7,8}
(cm)	Right,LAx,M	2	$2.11 \pm 0.02^{3,7}$	4.5	0.009
	Right,SAx,2D	3	2.23 ± 0.02^7	3.1	0.005 ^{2,4,5,6,7,8}
	Right,SAx,M	4	$2.00 \pm 0.02^{2,3,7}$	5.9	0.014
	Left,LAx,2D	5	$1.93 \pm 0.02^{1,2,3,4,6,7,8}$	4.7	0.010
	Left,LAx,M	6	$2.05 \pm 0.02^{2,3,7}$	4.3	0.008 ^{4,7}
	Left,SAx,2D	7	2.36 ± 0.02	4.8	0.013
	Left,SAx,M	8	$2.00 \pm 0.02^{2,3,7}$	5.2	0.011
LVFWs	Right,LAx,2D	1	$3.27 \pm 0.04^{2,4,5,6,7,8}$	3.9	0.016 ^{2,5,8}
(cm)	Right,LAx,M	2	3.54 ± 0.04	4.9	0.030
	Right,SAx,2D	3	$3.25 \pm 0.04^{2,4,5,6,7,8}$	3.9	0.016 ^{2,5,8}
	Right,SAx,M	4	3.48 ± 0.04	4.2	0.022
	Left,LAx,2D	5	3.48 ± 0.04	5.2	0.032 ⁴
	Left,LAx,M	6	3.53 ± 0.04	4.3	0.023
	Left,SAx,2D	7	$3.42 \pm 0.04^{2,6}$	2.5	0.007 ^{1,2,3,4,5,6,8}
	Left,SAx,M	8	3.49 ± 0.04	4.5	0.025
LVIAd	Right,SAx,2D	1	71.11 ± 0.60	4.8	11.86
(cm²)	Left,SAx,2D	2	77.31 ± 0.60	4.5	12.27
LVIA s	Right,SAx,2D	1	28.53 ± 0.46	6.6	3.76
(cm²)	Left,SAx,2D	2	32.78 ± 0.47	6.1	4.05
LVEAd	Right,SAx,2D	1	178.38 ± 1.22	4.1	52.70
(cm²)	Left,SAx,2D	2	190.73 ± 1.22	3.6	46.42
LVEAs	Right,SAx,2D	1	170.02 ± 0.93	3.2	30.21
(cm²)	Left,SAx,2D	2	175.40 ± 0.93	3.6	40.98
LA	Right,LAx, 2D	1	$8.81 \pm 0.09^{2,3}$	1.5	0.019 ³
(cm)	Left,LAx,2D	2	10.32 ± 0.09^3	0.8	0.007 ^{1,3}
	Right,LAx,M	3	5.76 ± 0.09	8.2	0.222
Ao	Right,LAx,2D	1	$5.39 \pm 0.04^{2,4,5,6,7}$	1.3	0.005 ^{3,4,6}
(cm)	(Ao _{valve})				
	Right,LAx,2D	2	$7.57 \pm 0.04^{4,6}$	1.1	0.007 ^{3,4,6}
	(Ao _{sinus})				
	Right,LAx,2D	3	$5.43 \pm 0.04^{2,5,6,7}$	1.9	0.010 ⁴
	(Ao _{min})				
	Right,LAx,M	4	8.75 ± 0.04	1.6	0.020
	Right,SAx,2D	5	$7.60 \pm 0.04^{4,6}$	1.0	0.006 ^{3,4,6}

	Right,SAX,M	6	8.68 ± 0.04	1.2	0.010 ⁴
	Left,LAX,2D	7	6.56 ± 0.04 ^{2,4,5,6}	1.2	0.006 ^{3,4,6}
Pu	Right,SAX,2D		5.65 ± 0.13	3.1	0.020
(cm)					

s and d: measurement at end-systole and end-diastole, respectively ; RVID and LVID: right and left ventricular internal diameter, respectively ; IVS and LVFW : interventricular and left ventricular free wall thickness respectively ; LVIA and LVEA : internal and external area of the left ventricle, respectively ; LA : internal diameter of the left atrium ; Ao and Pu : aortic and pulmonary internal diameter, respectively ; Ao_{valve}, Ao_{sinus} and Ao_{min}: internal diameter of the aorta at the level of the valve annulus, of the Valsalva sinus and of the sino-tubular junction, respectively ; Right and Left : right and left parasternal view respectively ; LAX and SAX : long and short axis view, respectively; M: time-motion mode; 2D: bidimensional mode.

^{1, 2, 3, 4 5, 6, 7, 8} = VE significantly lower than VE obtained for the measurement of the parameter in the view symbolized by the corresponding number for this parameter, variance ratio F test, $p \leq 0,05$.

Table 2. Comparison of the coefficient of the mean \pm SE value, of the coefficient of variation (CV), and of the residual variance error (VE) of Doppler parameters measured three times at one day interval by a single observer in 10 equids free of cardiac disease and of various breeds.

	Parameter	Mean \pm SE	CV (%)	VE
Tricuspid	Peak A (m/sec)	0.403 \pm 0.005	9.9	0.002
	Peak E (m/sec)	0.535 \pm 0.007	10.1	0.002
Pulmonary	V _{max} (m/sec)	0.681 \pm 0.008	10.0	0.002
	VTI (cm)	28.598 \pm 0.692	13.4	11.01
	TTP (sec)	0.292 \pm 0.006	10.3	0.0002
	ET (sec)	0.511 \pm 0.005	9.9	0.0003
	PEP (sec)	0.095 \pm 0.001	14.9	0.00005
Mitral	Peak A (m/sec)	0.391 \pm 0.007	10.1	0.001
	Peak E (m/sec)	0.538 \pm 0.011	12.5	0.002
Aortic	V _{max} (m/sec)	0.683 \pm 0.015	13.4	0.002
	VTI (cm)	28.031 \pm 0.615	15.6	6.737
	TTP (sec)	0.265 \pm 0.006	14.2	0.002
	ET (sec)	0.524 \pm 0.005	6.0	0.001
	PEP (sec)	0.080 \pm 0.0006	6.2	0.00004

Peak A and peak E: peak velocity of the mitral or tricuspid blood flow during the atrial contraction and the rapid ventricular filling, respectively; V_{max}: peak velocity of the aortic or pulmonary blood flow; VTI: area under the velocity waveform of the aortic or pulmonary blood flow; TTP, ET and PEP: time to peak, ejection time and pre-ejection period of the aortic or pulmonary blood flow, respectively.

Table 3. Comparison of the coefficient of the mean \pm SE value, of the coefficient of variation (CV), and of the residual variance error (VE) of the aortic flow ejection time (ET) and pre-ejection period (PEP) measured from different Doppler and echocardiographic views three times at one day interval by a single observer in 10 equids free of cardiac disease and of various breeds.

Parameter	View	Symbol	Mean \pm SE	CV (%)	VE
ET (sec)	Doppler	1	0.524 \pm 0.005	6.0	0.0013
	Right, LAx,M	2	0.483 \pm 0.005 ¹	6.4	0.0013
	Right, SAx,M	3	0.469 \pm 0.005 ^{1,2}	6.2	0.0017
PEP (sec)	Doppler	1	0.080 \pm 0.0006 ²	6.2	0.00005 ²
	Right, LAx,M	2	0.076 \pm 0.0008	7.5	0.00007
	Right, SAx,M	3	0.078 \pm 0.0008	8.2	0.00004 ²

Right and Left: right and left parasternal view respectively; LAx and SAx : long and short axis view, respectively; M: time-motion mode.

² = VE significantly lower than VE obtained for the measurement of the parameter in the right, LAx, M-mode view or from the right, SAx, M-mode view, respectively, variance ratio F test, $p \leq 0,05$.

REFERENCES

1. June A, Boon MS. Physics of ultrasound. In: Manual of veterinary echocardiography, June A, Boon MS, (Ed.), Williams & Wilkins, 1998, pp. 1-34.
2. Pipers FS, Hamlin RL. Echocardiography in horses. *J Vet Med* 1977;190:815-819.
3. Marr CM. Equine echocardiography-sound advice at the heart of the matter. *Br Vet J* 1994;150:537-545.
4. Patteson MW, Gibbs C, Wotton PR, Cripps PJ. Echocardiographic measurements of cardiac dimensions and indices of cardiac function in normal adult thoroughbred horses. *Equine Vet J (Suppl.)* 1995a;19:18-27.
5. Reef VB. Evaluation of ventricular septal defects in horses using two-dimensional and Doppler echocardiography. *Equine Vet J (Suppl.)* 1995;19:86-96.
6. Buhl R, Ersboll AK, Eriksen L, Koch J. Sources and magnitude of variation of echocardiographic measurements in normal standardbred horses. *Vet Radiol Ultrasound* 2004;45:505-512.
7. Young LE. Cardiac responses to training in 2-year-old thoroughbreds: an echocardiographic study. *Equine Vet J (Suppl.)* 1999;30:195-198.
8. Kriz NG, Hodgson DR, Rose RJ. Changes in cardiac dimensions and indices of cardiac function during deconditioning in horses. *Am J Vet Res* 2000;61:1553-1560.
9. Buhl R, Ersboll AK, Eriksen L, Koch J. Changes over time in echocardiographic measurements in young standardbred racehorses undergoing training and racing and association with racing performance. *JAVMA* 2005;226:1881-1887.
10. Young LE, Blissitt KJ, Clutton RE, Molony V, Darke PGG. Feasibility of transoesophageal echocardiography for evaluation of left ventricular performance in anaesthetised horses. *Equine Vet J (Suppl.)* 1995;19:63-70.
11. Gehlen H, Kroker K, Deegen E, Stadler P. Influence of detomidine on echocardiographic function parameters and cardiac hemodynamics in horses with and without heart murmur. *Schweiz Arch Tierheilkd* 2004;146:119-126.
12. Buhl R, Ersboll AK, Larsen NH, Eriksen L, Koch J. The effects of detomidine or acepromazine on echocardiographic measurements and function in normal horses. *Vet. Anaesth. Analg.* 2007;34:1-8.
13. Menzies-Gow NJ. Effects of sedation with acepromazine on echocardiographic measurements in eight healthy thoroughbred horses. *Vet. Rec.* 2008;163:21-25.
14. Voros K, Holmes JR, Gibbs C. Measurement of cardiac dimensions with two-dimensional echocardiography in the living horse. *Equine Vet J* 1991;23:461-465.

15. Young LE, Scott GR. Measurement of cardiac function by transthoracic echocardiography: day to day variability and repeatability in normal thoroughbred horses. *Equine Vet J* 1998;30:117-122.
16. Schwarzwald CC, K.E. S, Bonagura JD. Methods and reliability of echocardiographic assessment of left atrial size and mechanical function in horses. *Am J Vet Res* 2007;68:735-747.
17. Staddon GE, Weaver BMQ, Webb AI. Distribution of cardiac output in anaesthised horses. *Res Vet Sci* 1979;27:28-45.
18. O'callaghan MW. Coparison of echocardiographic and autopsy measurements of cardiac dimensions in the horse. *Equine Vet J* 1985;17:361-368.
19. Lescure F, Tamzali Y. reference values in M-mode echocardiography in the athletic horses. *Revue Méd Vét* 1984;7:405-418.
20. Gehlen H, Marnette S, Rohn K, Kreienbrock L, Stadler P. Precision controlled echocardiographic left ventricular function parameters by repeated measurement on three consecutive days and untrained warmblood horses. *Dtsch Tierarztl Wochenschr.* 2005;112:48-54.
21. Long KJ, Bonagura JD, Darke GG. Standardised imaging technique for guided M-mode and Doppler echocardiography in the horse. *Equine Vet J* 1992;24:226-235.
22. Blissitt KJ, Bonagura JD. Pulsed wave Doppler echocardiography in normal horses. *Eqine Vet J (Suppl)* 1995a;19:38-46.
23. Blissitt KJ, Bonagura JD. Colour flow Doppler echocardiography in normal horses. *Equine Vet J (Suppl.)* 1995b;19:47-55.
24. Kriz NG, Rose RJ. Repeatability of standard transthoracic echocardiographic measurements in horses. *Aust Vet J* 2002;80:362-370.
25. Sampson SN, Tucker RL, Bayly WM. Relationship between VO₂max, heart score and echocardiographic measurements obtained at rest and immediatly following maximal exercise in thoroubred horses. *Eqine Vet J (Suppl)* 1999;30:190-194.
26. Amory H, Bertrand P, Delvaux V, Sandersen C. Doppler echocardiographic reference values in healthy donkeys. available at:<http://www.ivis.org> (2004) 17/06/2007
27. Thomas WP, Gaber CE, Jacobs GJ, Kaplan PM, Lombard CW, Moise SN, Moses BL. Recommendations for standards in transthoracic two-dimensional echocardiography in the dog and cat. *J Vet Int Med* 1993;7:247-252.
28. Reef VB. Echocardiographic examination in the horse: the basics. *Comp Cont Educ Pract* 1990;12:1312-1319.
29. Wyatt HL, Haendchen RV, Meerbaum S, Corday E. Assessment of quantitative methods for 2-dimensional echocardiography. *Am J Cardiol* 1983;52:396-401.

30. Feigenbaum H. In: Echocardiography, 4th edition. Lea & Febiger, Philadelphia, 1986. Cited by Reef VB (1991).
31. Sampson SN, Jacobson RL, Sande RD, Susumi CJ, Larntz KJ, Tucker RL, Bayly WM. Reproducibility and repeatability of M-mode echocardiographic measurements collected from 25 normal horses. JEVS 1999;19:51-57.

Présentation systématique des études expérimentales

Etude 2

**RELATIONSHIP BETWEEN ECHOCARDIOGRAPHIC MEASUREMENTS AND BODY
SIZE IN THE EQUINE SPECIES**

**AL-HAIDAR A.¹, LEROUX A.¹, BORDE L.¹, DELEUZE S.¹, CERRI S.¹, FARNIR F.,²
SANDERSEN C.¹, AMORY H.¹**

¹ Al Haidar Ali, DVM, DEA, PhD Student. Leroux Aurelia, DVM, DEA, PhD student. Borde Lora, DVM, DEA, ECEIM student. Deleuze Stefan, DVM, PhD, Dipl. ECAR. Cerri Semon, DVM, DEA, ECEIM student. Sandersen Charlotte, DVM, PhD, Dipl. ECEIM. Amory Helene, DVM, PhD, Dipl. ECEIM. ² Farnir Frédéric, Ph.D, Professor.

¹Equine Teaching Hospital, Clinical Department of Companion Animals and Equids, Faculty of Veterinary Medicine, University of Liège, Bat. B41, Sart Tilman, B 4000 Liège, Belgium.

²Farnir Frédéric: Biostatistics, Bioinformatics, Economics and Animal Selection, Department of Animal Production, Faculty of Veterinary Medicine, University of Liège, Bat. B41, Sart Tilman, B 4000 Liège, Belgium.

Running (short) title: Body size and echocardiographic measurements in horses

Corresponding author: Al-Haidar Ali Ph.D student, Equine Teaching Hospital, Clinical Department of Companion Animals and Equids, Faculty of Veterinary Medicine, University of Liège, Bat. B41, Sart Tilman, B 4000 Liège, Belgium.

Tel: +32 4 3664107 – Fax: +32 4 3664108

E-mail: A.Haidar@doct.ulg.ac.be

Abstract

The objectives of this work was to evaluate the optimal body size variable and mathematical model that fit echocardiographic measurements to body size in the equine species.

150 horses of various breeds, aged 1 week to 17 years old, body weight (BW) 38 to 890 kg, and free from cardiac disease were used in this study. Based on their age (i.e. younger or older than 2 years), studied animals were separated into 2 groups.

In each horse, the body weight (BW), the height at withers (HT), the thoracic circumference (TC), and the body length (BL) were measured, the body surface area (BSA) was calculated, and a standard two-dimensional and M-mode echocardiography was carried out allowing classic cardiac measurements to be taken. Correlations between each echocardiographic measurement and each of the anthropometric variables were assessed via a Pearson's product-moment analysis and using linear, logarithmic, and power regression analysis in all animals and within the 2 groups.

The dimensional, but not the functional, echocardiographic measurements showed a close correlation with all body size variables, especially during growth. The relationship between cardiac measurements and body size was best described using power regression models with TC as the anthropometric variable, but the relationship was also very accurately described using BW, BSA, or BL.

In the equine species, dimensional echocardiographic reference values should be established using power regression equations on TC. Such a correction for body size could increase the diagnostic value of echocardiography in equine cardiology.

Key words: Cardiology; diagnostic imaging; height; body weight; body surface area

1- Introduction

Echocardiography is considered to be one of the most valuable diagnostic tools in the evaluation of cardiac anatomy and function, and in cardiac patients, decisions are constantly made on the basis of quantitative echocardiographic measurements[1, 2]. Therefore, the reliability and validity of those measurements are of great importance for differentiating between normal and pathological values. The availability of well-defined species-specific reference values derived from healthy subjects within broad population-based samples is thus recognized to be very useful[2-4].

In humans and various animal species, echocardiographic reference values have been documented, and the effects of several physiological variables, such as body size[3-14], ethnicity or breed[1, 2, 6, 12, 15], sex[2-4, 11, 12, 14], aging[2, 3], growth[2, 5, 7, 13, 16-20], training[4, 21-23], obesity[24], and pregnancy[4], have been demonstrated. Among those variables, body size is recognized as the most significant one, especially in animal species where body size varies widely within the population, for example in dogs or horses.[9, 10, 25]

In human medicine, the anthropometric variable that should be used as the scaling factor for echocardiographic measurements is still controversial.[2, 3, 19] Most authors use body weight (BW) or body surface area (BSA), while others prefer to use height, a factor considered more obesity-independent than BW.[3] Similarly, the type of mathematical model that should be used to optimally describe the relationship between echocardiographic measurements and body size still needs to be identified. Some authors have indexed echocardiographic measurements to BW, while others have developed linear, logarithmic, power, or exponential regression models.[18, 19] The same discrepancies concerning body size scaling of cardiac dimensions have been encountered in dogs[2].

In horses, the effects of training[22, 23] and growth[16, 17, 25] on echocardiographic measurements have been documented and the influence of breed has been suggested by several authors.[13, 15, 25] In contrast, the conclusions drawn in the literature concerning the relationship between echocardiographic parameters and body size in this species are controversial. Several authors have concluded that the correlation between the dimensional echocardiographic measurements and the BW is not significant.[26-28] These results could be due to the low range of body size of the horses

included in those studies,[9] as other studies, involving horses with a wider range of BW, demonstrated a significant linear correlation between echocardiographic parameters and BW, indicating the need for a correction for body size in this species.[9, 13, 15, 16] However, all of the studies performed in this field used BW as the only measure of body size, and all except one[13] used a linear regression model. It could thus be interesting to investigate whether another body size variable or another mathematical model could more accurately describe the relationship between cardiac measurements and body size in horses.

The purpose of this study was to evaluate the body size variable and mathematical model that should be used to optimally describe the relationship between dimensional echocardiographic measurements and body size in the equine species.

2- **Material and methods**

2-1- Animals

One hundred and fifty horses (87 mares, 37 stallions, 26 geldings) from different breeds (48 warmbloods, 27 ponies, 25 thoroughbreds, 16 standardbreds, 17 Arabians, 17 draft horses), weighing between 38 and 890 kg (Median = 238 Kg and IQR = 245 – 492 Kg), and aged from 1 week to 17 years old (Median = 4 year, and IQR = 1.3 – 10.06 year) were used in this study. Based on their age, animals were separated into 2 groups. The foal group and the adult group including horses younger or older than 2 years respectively. The foal group included 50 animals (24 warmbloods, 9 ponies, 3 thoroughbreds, 1 standardbred, 6 Arabians, 7 draft horses) with body weights ranging from 38 to 518 kg. The adult group included 100 animals (24 warmbloods, 18 ponies, 22 thoroughbreds, 15 standardbreds, 11 Arabians, 10 draft horses) with body weights ranging from 80 to 890 kg.

To be included in the study, the horses had to be free from cardiac disease on the basis of clinical, electrocardiographic, and two-dimensional and color flow mapping Doppler echocardiographic examinations. The body condition score was evaluated for each horse,[29] and animals with a poor (score lower or equal to 2) or excessive body condition (score of 6) were not included in the study. BW of each horse was measured using an electronic walk-on scale (D410, Widra, Eupen, Belgium). The height at withers (HT) was measured using a height gauge as the perpendicular distance between the top of the withers and the ground when the animal was in a square position. Using a measuring tape, the body length (BL) was measured as the distance from the point of the shoulder to the point of the buttock (the rounded edge of the rump), and the thoracic circumference (TC) as the circumference of the thorax caudal to the elbow and 2.5 cm caudal to the highest point of the withers.[30] From BW measurements, the BSA was calculated using the following formula[9]: $BSA = 0.101 \cdot BW^{2/3}$.

Based on information obtained from the owners, the level of work of the horses was classified in 3 classes: no or light training (sedentary horses or horses lightly exercised less than 2 days/week), moderate training (not competing horses lightly or moderately exercised between 2 and 5 days/week),

or intense (horses used for competition and exercised more than 5 days/week). Hundred of the studied animals were classified in the light or no training class, 29 in the moderate training class, and 13 in the intense training class (those latter horses were used for show jumping, endurance race or racing). In 8 of the studied horses, collected data were not sufficient to allow determining the training class.

2-2- Echocardiography

Each horse underwent a standardized echocardiographic examination[2, 26] in a quiet stable. A portable ultrasound system equipped with color flow mapping and spectral Doppler mode and with a 1.5-3.6 MHz transducer (Vivid I, General Electric Healthcare Europe GMBH, Diegem, Belgium) was used. An electrocardiogram was recorded simultaneously with the echocardiographic images, and the recordings were only made when the heart rate was within the physiological range (24-45 beat/minute). All examinations were recorded digitally and analyzed offline.

The horses were first imaged from the right hemithorax to record a two-dimensional right parasternal long axis left ventricular outflow tract view and right ventricular outflow tract view, and a M-motion short axis view of the left ventricle at the level of the chordae tendinae.

The horses were then examined from the left hemithorax to record a two-dimensional left parasternal long axis angled view of the left ventricle at the level of the largest diameter of the left atrium.

2-3- Echocardiographic measurements

All echocardiographic measurements were the mean for 3 to 5 consecutive cardiac cycles. From the M-mode right parasternal short-axis view of the left ventricle, the interventricular septal and left ventricular free wall thicknesses (IVS and LVFW, respectively) and left ventricular internal diameter (LVID) were measured at end-diastole (d) and at end-systole (s), and the right ventricular internal diameter (RVID) was measured at end-diastole. The left ventricular fractional shortening (FS) was calculated using the classical formula.[2] The pulmonary and the aortic internal diameters (Pu and Ao respectively) were measured at the level of the Valsalva sinus from the two-dimensional right parasternal long axis right ventricular and left ventricular outflow tract view, respectively. The left atrium internal diameter (LA) was measured from the two-dimensional left parasternal long axis angled view of left ventricle. From those measurements, calculation of the LA/Ao and Pu/Ao ratios was carried out.[2]

2-4- Statistical analysis

Correlations between each echocardiographic parameter and each of the anthropometric variables (i.e. BW, TC, BL, HT, and BSA) were assessed using a Pearson's product-moment analysis including the effect of training.

The relationship between those parameters was further evaluated by linear, logarithmic, and power regression analysis. The forms of the equations were:

Linear regression: $Y = a + b.X$

Logarithmic regression: $Y = a + b \cdot \ln(X)$

Power regression: $Y = a \cdot X^b$

Where Y = echocardiographic parameter and X = anthropometric variable.

For all tests, a P value ≤ 0.05 was considered to be significant.

This analysis was first performed on all studied animals, and therefore within each of the 2 age groups.

3- **Results**

When performed on all of the studied animals or within each age group, the statistical analysis did not show a significant effect of the level of training on any of the echocardiographic parameters. Moreover, the LA/Ao and Pu/Ao ratios and FS were not significantly correlated to any of the body size variables (r value ranging from -0.17 to 0.12). Therefore, regression models were not applied to those latter parameters. On the contrary, all dimensional echocardiographic measurements showed a significant correlation with each of the tested body size variables. However, the r value obtained for RVIDd, whatever the tested body size variable, was lower (ranging from 0.42 to 0.50) than the value obtained for the other dimensional echocardiographic measurements (ranging from 0.66 to 0.92). The same conclusions were drawn when the analysis was performed within each age group, and r values were higher in the foal than in the adult group: the r value ranged from 0.61 to 0.68 for RVIDd and from 0.78 to 0.92 for the other echocardiographic measurements in the foal group, and from 0.39 to 0.42 for RVIDd and from 0.57 to 0.87 for the other echocardiographic measurements in the adult group.

Table 1 shows the coefficients of determination (R^2) obtained between the dimensional echocardiographic measurements and each of the body size variables, using linear, logarithmic, or power regression models on all the studied animals. For each of the studied measurements, the R^2 obtained using power regression analysis was higher than those obtained using linear or logarithmic regression analysis. For most of the studied echocardiographic measurements, TC was the body size variable giving the highest R^2 . The R^2 values obtained using BW, BSA or BL were slightly lower but closely comparable to those obtained using TC. The R^2 values obtained using HT were lower than those obtained using the other body size variables. The same conclusions were drawn when the statistical analysis was performed within each age group.

Table 2 shows the power regression equations between each dimensional echocardiographic measurement and BW, BSA, and TC, and compares those equations to those reported in a previous study in growing Spanish foals using power regression analysis on BW.[13] The exponent value obtained when BW was used as the anthropometric variable was close to 0.40, and close to 0.60 with BSA. When using TC, HT, or BL as an estimate of body size, the exponent value of the power regression equation was close to 1.

4- Discussion

The main limitations of this study are the limited number of animals investigated and the lack of inclusion of the effects of breed, sex or growth in the statistical model. However, the objective of the study was not to establish reference values of echocardiographic parameters in horses. Rather, it focused on evaluating the best anthropometric variable and the most appropriate regression analysis that should be used to correct the body size effect on echocardiographic measurements in the equine species. The conclusions of this study should be used in future studies to evaluate, after inclusion of the body size effect using the most appropriate body size variable and mathematical model, the effect of other physiologic variables, such as sex or breed on echocardiographic parameters. These further studies could define the accurate predictive range of normal values for echocardiographic measurements in equines. Several studies, in veterinary as well as in human cardiology, similarly aiming at evaluating the relationship between cardiac measurements and body size, have been previously carried out on subjects of mixed age (including or not growing subjects), sex or breed,[6, 8-10, 15, 20] and even on animals of different species,[9] without taking into account the effect of those physiological variables on the model. In those studies, inclusion of growing subjects and/or of animals of various breeds or species with a large range of body size allowed to more closely document the relationship between echocardiographic measurements and body size. In humans, it has been shown that the degree of variance of the echocardiographic measurements explained by the subject size is much greater in the child than in the adult, because of the bigger variance in body size during growth.[31] However, the allometric exponents (i.e. allometric scaling of a variable (Y) as function of another variable (X) using the power model: $Y = aX^b$) between cardiac dimensions and BW were shown to be similar in growing children and adults,[31] which suggests that both growing and adult subjects can be included in studies on the relationship between cardiac measurements and body size. In the present study, the inclusion of growing animals, as well as the wide variation in somatotype of the breeds examined, broadened the range of body sizes investigated, which allowed better documentation of the relationship between cardiac measurements and body size in the equine species. Moreover, the statistical model has been applied not only in the whole group of studied animals (i.e. simultaneously on growing and adult horses), but also within each of the 2 age groups. In our study, as previously reported in humans,[31] echocardiographic measurements showed a higher correlation with body size variables during the growth than in the adulthood. However, results obtained within the adult group suggest that the close and significant correlation between echocardiographic parameters and body size variables also exists after growth.

No significant effect of the training level on echocardiographic measurements could be shown in the present study. This is not in agreement with previous studies.[22, 32] However, in those studies, the training effect has been studied in longitudinal studies, in thoroughbreds and standardbreds horses, and after an intensive race training of 4.5 and 24 months duration, respectively. The absence of a

significant training effect in the present study could be due to the lack of accuracy of the exercise history obtained from the owners, the fact that the training effect was not studied using a longitudinal model, or to the low level of training of most of the investigated horses. Although no significant effect of the training could be shown in this study, it cannot be excluded that training had some effect on echocardiographic parameters in some horses included in the study.

Analysis of the data in this study suggests that, as previously demonstrated in several species, there is a positive and strong correlation between cardiac dimensional measurements and body size in the equine species. On the contrary, no correlation was found between LA/Ao, Pu/Ao, or FS and body size, which is in agreement with most of the previous studies in veterinary and human medicine.[1, 2, 4, 10, 11, 13-15, 17, 26]

Many human and veterinary echocardiographic studies used BSA as scaling variable because of its recognized value and common use in normalizing hemodynamic data.[7] Moreover, the use of BSA in humans is straightforward because most of the ultrasound machines automatically calculate the BSA from the patient's BW and HT. This is not true in veterinary medicine, which makes the use of BSA far less practical. Nevertheless, most human or canine studies have demonstrated that the regression equations based on BW or BSA provide almost identical corrections of echocardiographic measurements for body size.[2, 31] The same is demonstrated in the present study, suggesting the low interest of establishing echocardiographic reference values correlated to BSA rather than to the more user-friendly parameter BW.

Height has been used in several human studies to scale echocardiographic variables to body size because it is simple to measure, constant (unlike the disease-related change in BW), and it is considered an obesity-independent variable.[3] It has been shown that the risk of a cardiovascular-adverse event in humans was better detected when using HT rather than BSA to index the measurements to the body size.[3] In contrast, other studies have demonstrated that using HT as the scaling variable for body size was on the contrary less accurate than when using BW or BSA.[31] In horses, under field conditions, more and more commonly encountered by equine cardiologists due to the increasing availability of portable ultrasound machines, HT is easier and more accurate to measure than BW. Height could thus be an attractive alternative body size scaling variable in this species. However, the results of the present study tend to show that, as suggested by several authors in human medicine, HT is a scaling parameter with lower accuracy than BW in horses.

An interesting result of this study is the close correlation obtained when equine echocardiographic measurements were related to TC. The R^2 values obtained using this body size variable were higher than those obtained using BW. The R^2 values obtained using BL were closely comparable to those obtained using BW. This is not surprising because of the well-documented close relationship between TC or BL and BW in horses.[29, 30] The good regression results obtained with TC in this study, suggest it could be useful to establish echocardiographic reference values as a function of this variables in horses, which would be highly user-friendly for equine practice.

Most previous studies reporting the relationship between echocardiographic measurements and the body size in horses have relied on linear regression against BW.[9, 15, 16, 25] In humans and dogs, many authors have also assumed that a linear relationship existed between cardiac dimensions and BW or BSA.[1, 6, 11] However, such a conventional assumption of linearity of cardiac size and body size is increasingly demonstrated to be flawed in those species[8], and numerous studies have demonstrated that the relationship between cardiac and body size measurements is more accurately expressed using curvilinear[5, 8, 9, 18, 20] or allometric models.[3, 5, 7, 10, 12, 19, 20, 31] The results of the present study strongly suggest that the same could be true in horses.

The exponents of the allometric equations between echocardiographic dimensional measurements and BW were in most cases close to 0.33 in dogs,[5, 9-11, 20] and close to 0.25 in humans.[31] The exponent values obtained in the present study in horses were a little bit higher, with values close to 0.40 for most of the echocardiographic measurements. The exponents of the present study were also a little bit higher than corresponding exponents reported in Spanish foals during their first year of life.[13] In veterinary medicine, allometric regression with BSA was reported less frequently than allometric regression with BW, but in humans, the exponents of those equations were higher than exponents obtained with BW, with values ranging from 0.35 to 0.50.[7, 31] As for BW, in the present study, the allometric exponents with BSA in horses were a little bit higher than in humans, with values ranging from 0.55 to 0.66.

5- **Conclusion**

This study suggests that in the equine species, dimensional echocardiographic reference values should be established with a correction for body size, especially during growth. The most accurate and straightforward method of performing this body size correction is to establish the allometric regression equations between cardiac dimensional measurements and body size expressed as TC or BW.

Acknowledgments

This work was carried out at the Equine Teaching Hospital, Faculty of Veterinary Medicine, University of Liège, Belgium, and has partly been supported by the “Fonds Spéciaux pour la recherche” from the University of Liège. Also, the authors wish to thank the owners of the horses for allowing their animals to be included in the study.

Table 1. Coefficient of determination (R^2) of the linear, logarithmic, and power regression between echocardiographic measurements and various body size variables in 150 horses of different breeds, aged from 1 week to 17 years old, and weighing 38-890 kg.

	BW			HT			BL			TC			BSA		
	Linear	Log.	Power	Linear	Log.	Power	Linear	Log.	Power	Linear	Log.	Power	Linear	Log.	Power
RVIDd	0.23	0.23	0.24	0.24	0.23	0.23	0.25	0.25	0.25	0.22	0.21	0.22	0.24	0.23	0.24
IVSd	0.65	0.71	0.80	0.65	0.59	0.70	0.73	0.68	0.80	0.73	0.73	0.80	0.70	0.71	0.80
LVIDd	0.77	0.79	0.85	0.79	0.71	0.81	0.83	0.77	0.85	0.84	0.82	0.87	0.81	0.79	0.85
LVFWd	0.61	0.64	0.76	0.56	0.49	0.62	0.64	0.60	0.73	0.69	0.68	0.79	0.65	0.64	0.76
IVSs	0.67	0.72	0.78	0.66	0.58	0.66	0.75	0.69	0.77	0.76	0.76	0.81	0.72	0.72	0.78
LVIDs	0.59	0.61	0.68	0.66	0.59	0.71	0.64	0.60	0.69	0.64	0.63	0.68	0.62	0.61	0.68
LVFWs	0.67	0.70	0.79	0.63	0.57	0.65	0.73	0.67	0.77	0.76	0.75	0.83	0.71	0.70	0.79
Ao	0.79	0.80	0.87	0.80	0.69	0.79	0.84	0.77	0.86	0.85	0.84	0.88	0.83	0.80	0.87
Pu	0.76	0.74	0.85	0.71	0.63	0.76	0.79	0.72	0.84	0.81	0.79	0.87	0.79	0.74	0.85
LA	0.76	0.81	0.83	0.76	0.70	0.77	0.81	0.76	0.81	0.83	0.83	0.83	0.81	0.81	0.73

Values reported in bold were associated with a significant regression, $p < 0.05$.

BW: body weight; TC: thoracic circumference; HT: height at withers; BL: body length; BSA: body surface area; d and s: measurement at end-diastole and end-systole, respectively; RVID and LVID: right and left ventricular internal diameter, respectively; IVS and LVFW: interventricular septum and left ventricle free wall thickness, respectively; Ao, Pu and LA: aortic, pulmonary, and left atrial internal diameter, respectively; FS: fractional shortening of the left ventricle.
Log.: logarithmic.

Table 2. Allometric equations between echocardiographic measurements and body weight (BW), body surface area (BSA), and thoracic circumference (TC) in 150 horses of different breeds, aged from 1 week to 17 years old, and weighing 38-890 kg, and comparison with the allometric equations between echocardiographic measurements and BW reported in 68 growing Spanish foals aged from 22 to 394 days (Rovira et al. 2009)¹³.

	BW equations (present study)	BSA equations (present study)	TC equations (present study)	BW equations (from Rovira et al. 2009)¹³
IVSd	0.3 BW ^{0.36}	1.01 BSA ^{0.54}	0.01 TC ^{1.01}	0.09 BW ^{0.32}
LVIDd	0.99 BW ^{0.38}	3.71 BSA ^{0.57}	0.04 TC ^{1.09}	0.41 BW ^{0.32}
LVFWd	0.24 BW ^{0.36}	0.83 BSA ^{0.54}	0.01 TC ^{1.04}	0.18 BW ^{0.30}
IVSs	0.47 BW ^{0.36}	1.59 BSA ^{0.53}	0.02 TC ^{1.02}	0.26 BW ^{0.30}
LVIDs	0.64 BW ^{0.37}	2.29 BSA ^{0.55}	0.03 TC ^{1.05}	0.42 BW ^{0.21}
LVFWs	0.39 BW ^{0.37}	1.38 BSA ^{0.55}	0.02 TC ^{1.06}	0.15 BW ^{0.39}
AO	0.57 BW ^{0.42}	2.37 BSA ^{0.62}	0.02 TC ^{1.19}	0.29 BW ^{0.37}
Pu	0.47 BW ^{0.41}	1.93 BSA ^{0.61}	0.01 TC ^{1.17}	NR
LA	0.89 BW ^{0.4}	3.5 BSA ^{0.6}	0.03 TC ^{1.13}	NR

See Table 1 footnote for abbreviations; NR: not reported.

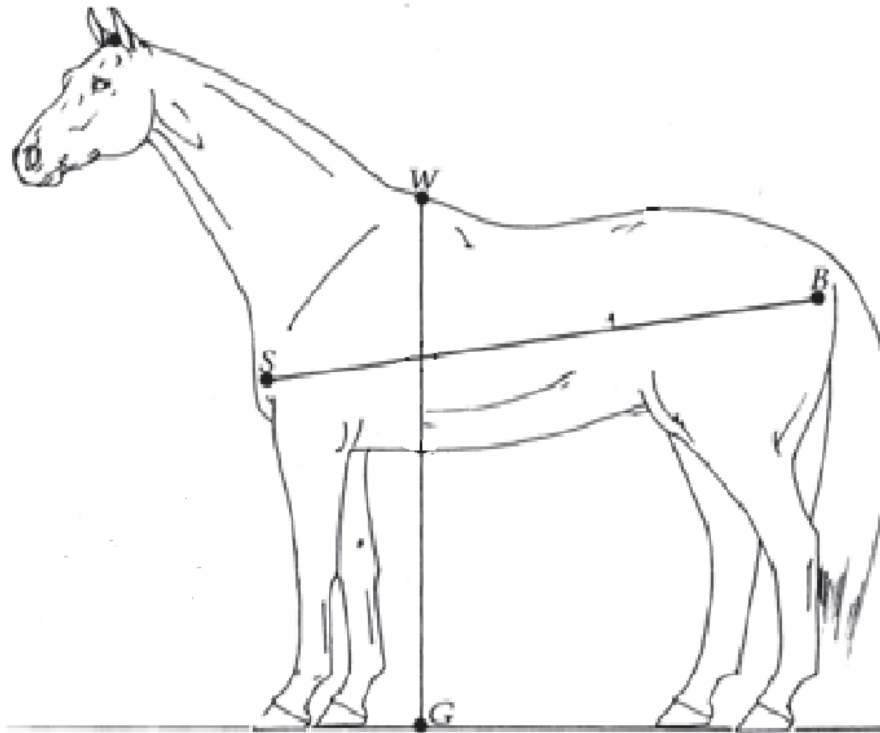


Figure 1: Graphic illustration of the technique used for measuring body dimensions in horses used in the present study (from Hill and Klimesh 2000). W: highest point of withers; G: ground; B: point of buttock; S: point of shoulder

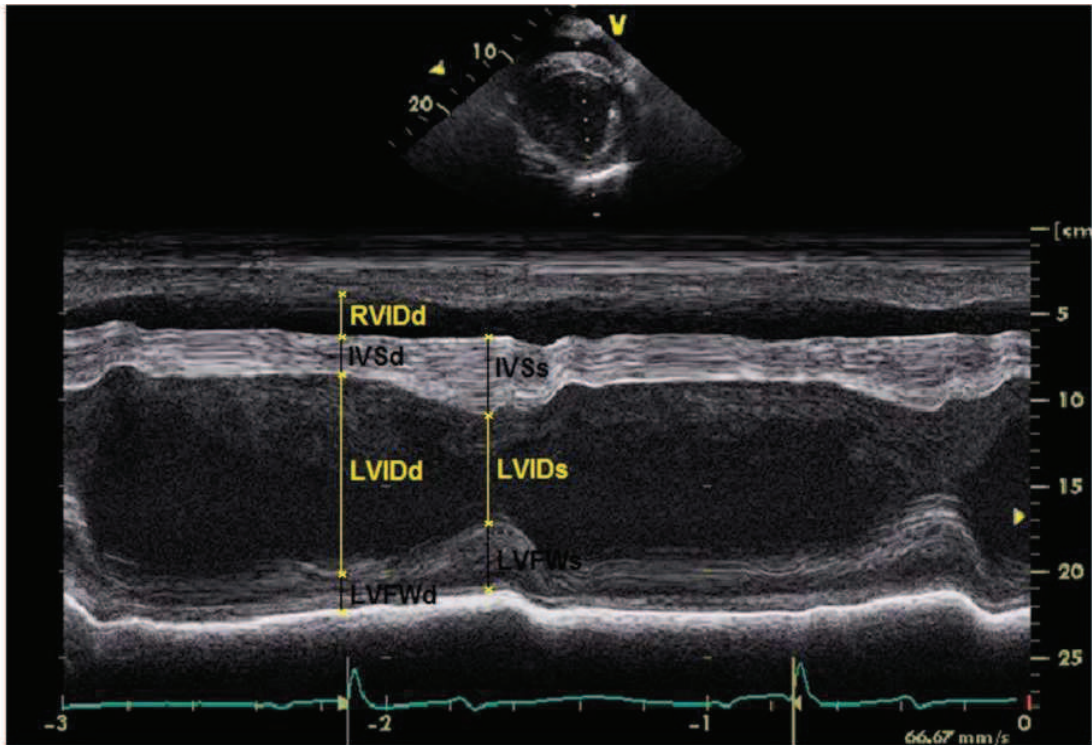


Figure 2: M-mode right parasternal short-axis view of left ventricular at level of chordate tendinae
 RVID: right ventricular internal diameter; IVS: interventricular septum; LVID: left ventricular internal diameter; LVFW: left ventricular free wall thickness. d: end diastole; s: end systole.

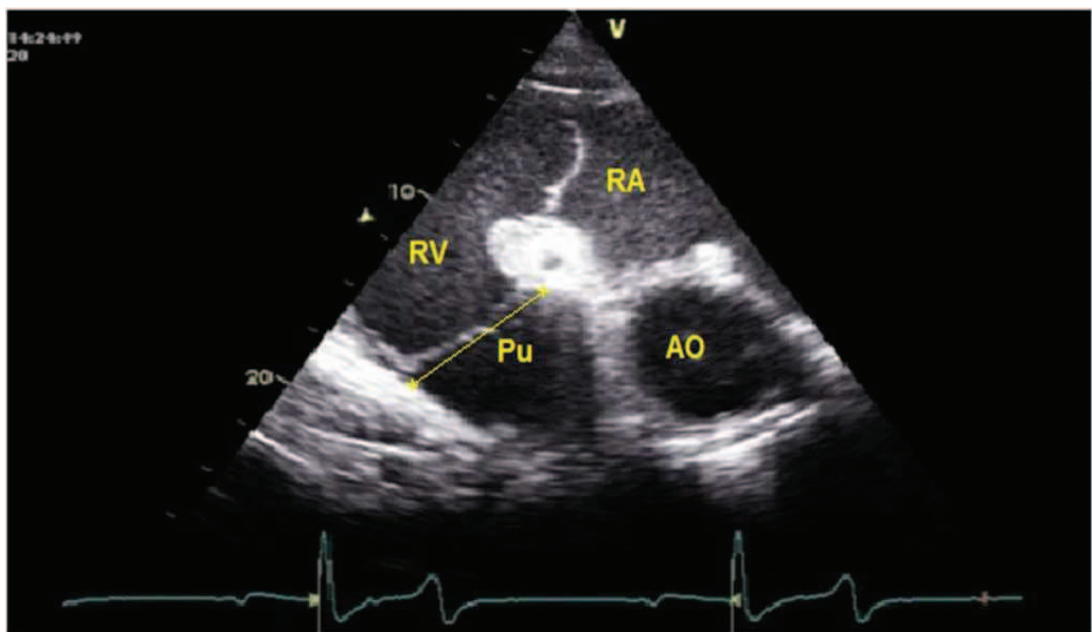


Figure 3: 2D-mode right parasternal view of heart base at level of the pulmonary valve
 Pu: pulmonary internal diameter; AO: aortic artery; RV: right ventricle; RA: right atrium

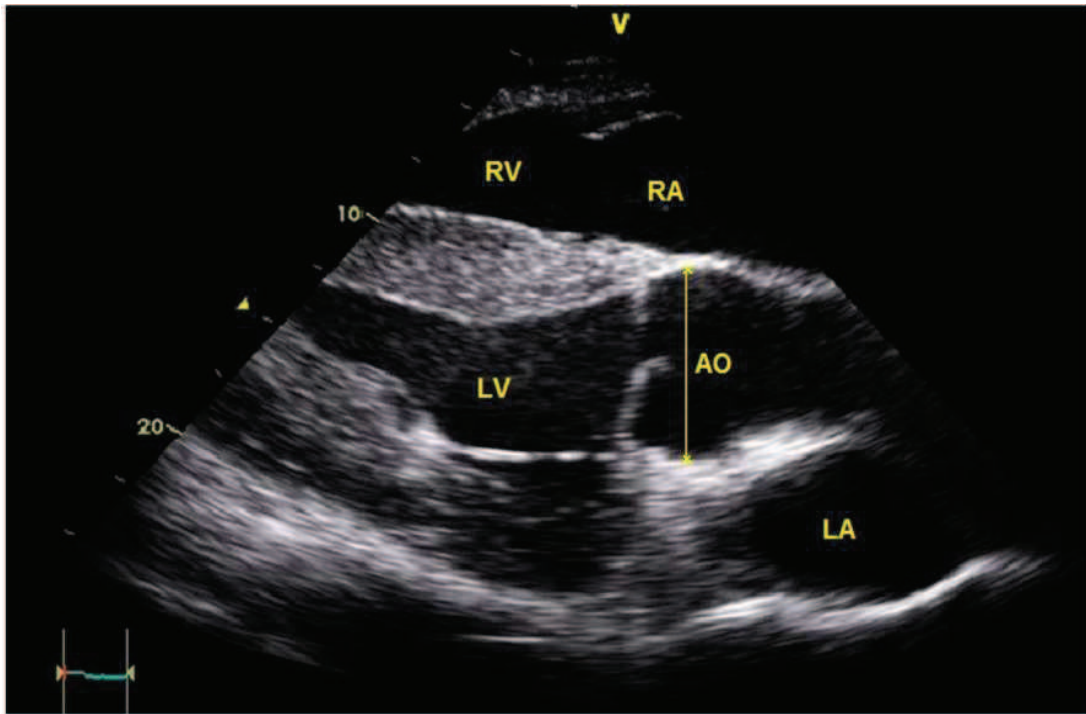


Figure 4: 2D-mode right parasternal long-axis five-chambre view of left ventricular outflow tract
AO: aortic internal diameter; RV: right ventricle; LV: left ventricle; RA: right atrium; LA: left atrium

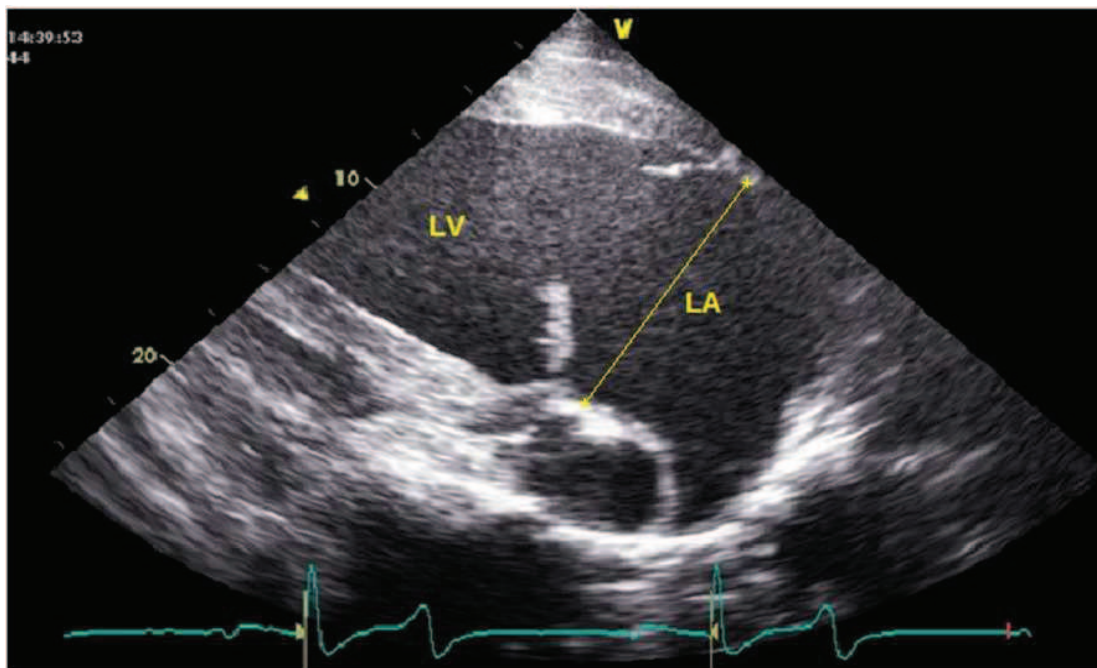
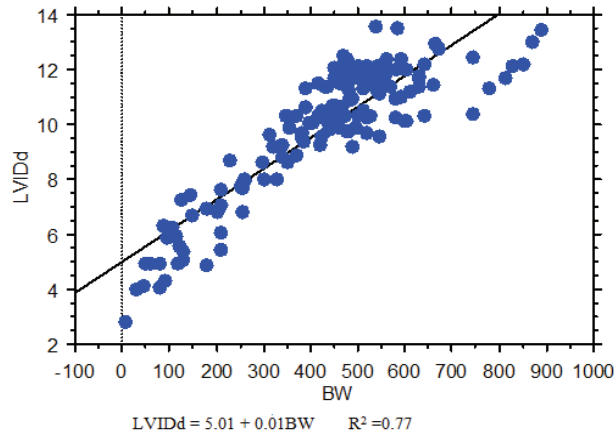
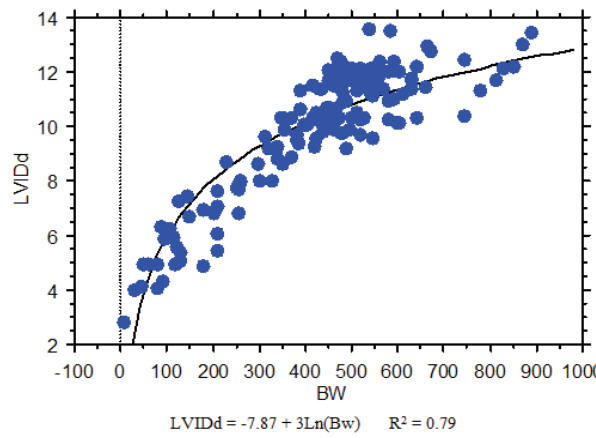


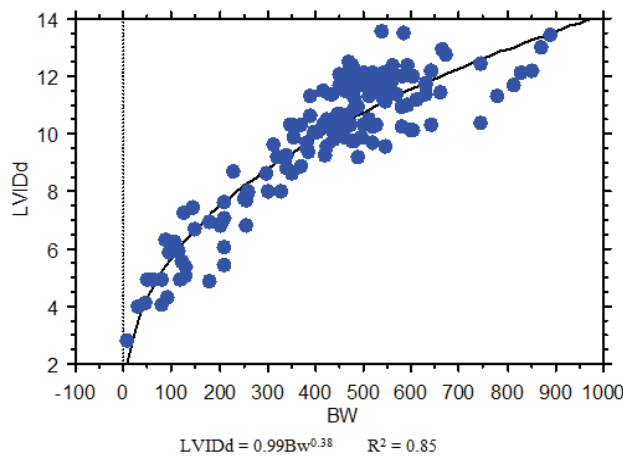
Figure 5: 2D-mode left parasternal long-axis four-chambre angled view of left ventricle
LA: left atrial internal diameter; LV: left ventricle.



Linear regression between left ventricular internal diameter (LVIDd) and body weight (BW)



Logarithmic regression between left ventricular internal diameter (LVIDd) and body weight (BW)



Power regression between left ventricular internal diameter (LVIDd) and body weight (BW)

Figure 6: Relation between left ventricular internal diameter (LVIDd) and body weight (BW) using linear, logarithmic or power regression.

Reference

- [1] Vörös K, Hetyey C, Reiczigel J, Czirik GN. M-mode and two-dimensional echocardiographic reference values for three hungarian dog breeds: Hungarian Vizsla, Mudi and Hungarian greyhound *Acta Vet Hungarica*. 2009;57:217-27.
- [2] Boon JA. *Manual of veterinary echocardiography*. 1st ed. philadelphia: Williams & wilkins; 2011.
- [3] Lauer MS, Larson MG, Levy D. Gender-specific reference M-mode values in adults: Population-derived values with considration of the impact of height. *J Am Coll Cardiol*. 1995;26:1039-46.
- [4] Anderson B. *Echocardiography: The normal examination and echocardiographic measurements*. 2nd ed. Australia: MAG Graphics; 2007.
- [5] Sisson D, Schaeffer D. Changes in linear dimensions of the heart, relative to body weight, as measured by M-mode echocardiography in growing dogs. *Am J Vet Res*. 1991;52:1591-6.
- [6] Morrison SA, Moise NS, Scarlett J, Mohammed H, Yeager AE. Effect of breed and body weight on echocardiographic values in four breeds of dogs of differing somatotype. *J Vet Intern Med*. 1992;6:220-4.
- [7] Kampmann C, Wiethoff C, Wenzel A, Stolz G, Betancor M, Wippermann C-F, et al. Normal values of M-mode echocardiographic measurements of more than 2000 healthy infants and children in central Europe. *Heart*. 2000;83:667-72.
- [8] Gonçalves AC, Orton EC, Boon JA, Salman MD. Linear, logarithmic, and polynomial models of M-mode echocardiographic measurements in dogs. *Am J Vet Res*. 2002;63:994-9.
- [9] Brown DJ, Rush JE, Macgregor J, Ross JJN, Brewer B, Rand WM. M-mode echocardiographic ratio indices in normal dogs, cats and horses: a novel quantitative method. *J Vet Intern Med*. 2003;17:653-62.
- [10] Cornell CC, Kittleson MD, Della Torre P, Häggström J, Lombard CW, Pedersen HD, et al. Allometric scaling of M-mode cardiac measurements in normal adults dogs. *J vet Intern Med*. 2004;18:311-21.
- [11] Kayar A, Gonul R, Or EM, Uysal A. M-mode echocardiographic parameters and indices in the normal german shephered dogs. *Vet Radiol & Ultrasound*. 2006;47 482-6.
- [12] Bavegems V, Duchateau L, Sys SU, Rick AD. Echocardiographic reference values in whippets. *Vet Radiol &Ultrasound*. 2007;48:230-8.
- [13] Rovira S, Munoz A, Rodilla V. Allometric scaling of echocardiographic measurements in healthy spanish foals with different body weight. *Res Vet Scien*. 2009;86:325-31.
- [14] Armstrong WF, Ryan T. *Feigenbaum's Echocardiography*. 7th ed. philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins 2010.
- [15] Slater JD, Herrtage ME. Echocardiographic measurements of cardiac dimensions in normal ponies and horses. *Equine Vet J (Suppl)*. 1995;19:28-32.
- [16] Lombard CW, Evans M, Martin L, Tehrani J. Blood pressure, electrocardiogram and echocardiogram measurements in growing pony foal. *Equine Vet J*. 1984;16:342-7.

- [17] Stewart JH, Rose RJ, Barko AM. Echocardiography in foals from birth to three months old. *Equine Vet J*. 1984;16:332-41.
- [18] Ichida F, Deneff B, Dumoulin M, Van der Hauwaert LG. Cardiac chamber growth pattern determined by two-dimensional echocardiography. *Heart Vessels*. 1988;4:24-33.
- [19] Gutsegell HP, Rembold CM. Growth of the human heart relative to body surface area *Am J Cardiol*. 1990;65:662-8.
- [20] Bayon A, Fernandez del Palacio MJ, Montes AM, Gutiérrez Panizo C. M-mode echocardiography study in growing Spanish mastiffs. *J Small Animal Practic*. 1994;35:473-9.
- [21] Lonsdale RA, Labuc RH, Robertson ID. Echocardiographic parameters in training compared with non-trained greyhounds. *Vet Radiol Ultrasound*. 1998;39:325-30.
- [22] Young LE. Cardiac responses to training in 2 years old thoroughbred: an echocardiographic study *Equine Vet J (Suppl)*. 1999;30:195-8.
- [23] Buhl R, Ersboll AK, Eriksen L, Koch J. Changes over time in echocardiographic measurements in young standardbred racehorses undergoing training and racing and association with racing performance. *J Am Vet Med Assoc*. 2005;226:1881-7.
- [24] Bazzano LA, Belame SN, Patel DA, Chen W, Srinivasan S, McIlwain E. Obesity and left Ventricular dilatation in young adulthood: The bogalusa heart study. *Clinical Cardiol*. 2011;34:153-9.
- [25] Collins NM, Palmer L, Marr CM. Two-dimensional and M-mode echocardiographic findings in healthy Thoroughbred foals. *Aust Vet J*. 2010;88:428-33.
- [26] Long KJ, Bonagura JD, Darke PGG. Standardised imaging technique for guided M-mode and Doppler echocardiography in the horse. *Equine Vet J*. 1992;24:226-35.
- [27] Bakos Z, Voros K, Jarvinen T. Two dimensional and M-mode echocardiographic measurements of cardiac dimensions in healthy standardbred trotters. *Acta Vet Hung*. 2002;50:273-82.
- [28] Zucca E, Ferrucci F, Croci C. Echocardiographic measurements of cardiac dimensions in normal standardbred racehorses. *J Vet Cardiol*. 2008;10:45-51.
- [29] Carroll CL, Huntington PJ. Body condition scoring and weight estimation of horses. *Equine Vet J*. 1988;20:41-5.
- [30] Staniar WB, Kronfeld DS, Hoffman RM, Wilson JA, Harris PA. Weight prediction from linear measures of growing thoroughbreds *Equine Vet J*. 2004;36:149-54.
- [31] Neilan TG, Pradhan AD, Etta King M, Weyman AE. Derivation of a size-independent variable for scaling of cardiac dimensions in a normal paediatric population. *Euro J Echocardio*. 2009;10:50-5.
- [32] Buhl R, Ersboll AK, Eriksen L, Koch J. Sources and magnitude of variation of echocardiographic measurements in normal standardbred horses. *Vet Radiol & Ultrasound*. 2004;45:505-12.

Présentation systématique des études expérimentales

Etude 3

**EFFECT OF PHYSIOLOGICAL VARIABLES ON ECHOCARDIOGRAPHIC
MEASUREMENTS IN THE EQUINE SPECIES**

**A. AL-HAIDAR¹, F. FARNIR², S. DELEUZE¹, C. SANDERSEN¹, A. LEROUX¹, L. BORDE¹, S.
CERRI¹, H. AMORY¹**

¹Equine Teaching Hospital, Clinical Department of Companion Animals and Equids.

²Biostatistics, Bioinformatics, Economics and Animal Selection, Department of Animal Production, Faculty of Veterinary Medicine, University of Liège, Belgium.

Corresponding author: Prof. H. Amory, Equine Teaching Hospital, Faculty of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Liège, Bat. B41, Sart Tilman, B 4000 Liège, Belgium.

Tel: +32 4 3664103 – Fax: + 32 4 3664108

E-mail: Helene.Amory@ulg.ac.be

This work has been performed at the Equine Teaching Hospital, Faculty of Veterinary Medicine, University of Liège, Bat. B41, Sart Tilman, B 4000 Liège, Belgium and has partly been supported by the “Fonds Spéciaux pour la recherche” from the University of Liège.

Abstract

Little is known about the effect of various physiological variables on echocardiographic reference values in the equine species.

This study was performed to evaluate the effect of sex, breed, age and body weight (BW) on echocardiographic measurements in the equine species.

Echocardiography was performed on 212 ponies or horses of various breeds, aged from 1 day to 37 years old (mean \pm SD: 7.8 \pm 5.8 years), BW 38-890 kg (mean \pm SD: 421 \pm 133 Kg), and free of cardiac disease. Fifty of those animals aged from 2 months to 35 years old (mean \pm SD: 11.6 \pm 6.4 years old); BW 77-662 kg (mean \pm SD: 436 \pm 135 kg) were also examined using the pulsed-wave Doppler mode.

Standard two-dimensional and M-mode echocardiography were performed on all animals. Standard pulsed-wave Doppler examination of each cardiac valve was performed on the 50 first examined animals. Data were analysed using a general linear model including the effect of sex, age, breed and BW after logarithmic transformation of the data. Therefore, the same analysis was performed separately on animals aged \leq 2 years-old and on older animals.

All dimensional echocardiographic measurements were significantly affected by BW and most of them were significantly affected by breed, but not by sex. Only the aortic and the pulmonary artery internal diameter were significantly affected by age. None of the Doppler measurements were

significantly affected by the tested variables. In conclusion, in the equine species, dimensional echocardiographic reference values should be established using regression equations as a function of BW, which could increase the diagnostic value of this leading technique in equine cardiology. Breed could also have an effect on those measurements.

Key words: Cardiology; diagnostic imaging; breed; body weight.

Introduction

Echocardiography has become one of the most important diagnostic tools in veterinary cardiology. However, in any species, for echocardiography to distinguish between normal subjects and subjects suffering from heart disease, it is essential to dispose of reliable reference values for this species (Boon, 2011).

In human medicine, echocardiographic reference values have been extensively documented, and the effect of several physiological variables such as body size (estimated on the basis of body weight (BW), body surface area (BSA) or height), ethnicity, sex, ageing, growth, training or pregnancy have been demonstrated (Vasan et al., 1997; Kampmann et al., 2000; Kizer et al., 2004; Ruan and Sherif, 2005; Anderson, 2007; Armstrong and Ryan, 2010). In dogs, several studies have also demonstrated the effect of BW or BSA (Morrison et al., 1992; Lonsdale et al., 1998; Brown et al., 2003; Kayar et al., 2006; Muzzi et al., 2006; Bavegems et al., 2007; Hall et al., 2008; Lobo et al., 2008; Voros et al., 2009; Boon, 2011), breed (Morrison et al., 1992; Kayar et al., 2006; Bavegems et al., 2007; Cunningham et al., 2008; Hall et al., 2008; Voros et al., 2009; Boon, 2011), sex (Lonsdale et al., 1998; Kayar et al., 2006; Muzzi et al., 2006; Bavegems et al., 2007; Hall et al., 2008; Boon, 2011), growth (Sisson and Schaeffer, 1991), age (Hall et al., 2008; Lobo et al., 2008; Voros et al., 2009) or training (Lonsdale et al., 1998) on echocardiographic measurements, and reference values taking those factors into account are available for numerous dog breeds.

In horses, the effect of training (Young, 1999; Buhl et al., 2005) and of growth (Lombard et al., 1984; Stewart et al., 1984) on echocardiographic parameters have been reported. The effect of body size is a little bit more controversial, but several studies performed in groups of horses with a sufficiently wide BW range have demonstrated that dimensional echocardiographic parameters are correlated to BW (Lombard et al., 1984; Slater and Herrtage, 1995; Bakos et al., 2002; Brown et al., 2003). In contrast, the effect of sex has been poorly documented in this species (Lescure and Tamzali, 1984; Leadon et al., 1991; Buhl et al., 2005; Zucca et al., 2008). Some authors have suggested an effect of breed on echocardiographic measurements in horses (Slater and Herrtage, 1995; Rovira and Munoz, 2009), but this effect has never been statistically tested.

The aim of this study was to evaluate the effect of sex, breed, age and BW on echocardiographic measurements in the equine species.

Material and methods

Animals

All the studied animals were hospitalized in the equine teaching hospital of the University of Liege for a problem without any repercussion on general clinical exam (i.e. painless ophthalmic problem, orthopedic problem without signs of pain at stall rest, dermatologic problem, recurrent colic, reproductive follow up, preoperative exam for minor or elective surgery). These horses were all systemically healthy and were free from cardiac disease on the basis of a clinical, electrocardiographic, and two-dimensional and color flow mapping Doppler echocardiographic examination. A study inclusion (including permission to shave the horse if necessary in order to allow obtaining good quality echocardiographic images) was obtained from the owner for all the animals included in this study. All the echocardiographic exams were performed by the same investigator (AHA).

A total of 212 ponies or horses, including 116 mares, 49 geldings and 47 stallions, were studied. They included 59 Warmbloods, 28 Standardbreds, 36 Thoroughbreds, 31 Arabians, 32 riding ponies and 26 draft horses. The ponies group included a wide variety of breeds, but most of them were cold-blooded breeds (i.e. Icelanders, Haflingers, Shetlands, and Fjords).

The animals were aged between 1 day and 37 years old (mean \pm SD: 7.8 ± 5.8 years) and their BW ranged from 38 to 890 kg (mean \pm SD: 421 ± 133 Kg) (Fig. 1). All studied animals were submitted to a standardized two-dimensional (2D) and M-mode echocardiographic examination. The 50 first investigated animals (20 Warmbloods, 10 Standardbreds, 10 Thoroughbreds and 10 saddle ponies; 22 mares, 20 geldings and 8 stallions; aged from 2 months to 35 years old with a mean \pm SD value of 11.6 ± 6.4 years; BW 77 to 662 kg with a mean \pm SD value of 436 ± 135 kg) were further subjected to a Doppler pulsed-wave examination.

Each animal was submitted to the echocardiographic protocol described hereunder.

Imaging Technique

A portable ultrasound system equipped with colour flow mapping and spectral Doppler modes and with a 1.5-3.6 MHz transducer (Vivid I, General Electric Healthcare Europe GMBH, Diegem, Belgium) was used. An electrocardiogram (ECG) was recorded simultaneously with the echocardiographic images, and the recordings were only made when the heart rate was within the physiological range. All examinations were recorded digitally and analysed offline.

Terminology and image orientation were those recommended by the Echocardiographic Committee of the Specialty of Cardiology, American College of Veterinary Internal Medicine (Thomas et al., 1993). Imaging planes were selected according to identification of intracardiac landmarks as previously reported in horses (Long et al., 1992; Patteson et al., 1995). For Doppler-mode views, alignment with blood flow was initially assessed from a 2D ultrasound image in order to minimize beam angulations.

Accurate alignment with blood flow was assumed when the audible signal was clear and the spectral envelope of the Doppler waveform was complete (Boon, 2011).

The animals were first imaged from the right hemithorax. A 2D-mode long-axis five-chamber view showing the left ventricle and the left ventricular outflow tract, a 2D and a M-mode short-axis view of the left ventricle at the level of the chordae tendinae and a 2D-mode view of the heart base at the level of the pulmonary valve were recorded. In horses belonging to the Doppler subgroup, the pulmonary and the tricuspid Doppler velocity spectra were recorded in the Doppler pulsed-wave mode, using the classical approach (Long et al., 1992; Boon, 2011).

Thereafter, the animals were examined from the left hemithorax. A 2D-mode long-axis angled view of the left ventricle, where the largest diameter of the left atrium was obtained, was recorded. In horses belonging to the Doppler subgroup, the mitral and the aortic velocity spectra were recorded in the Doppler pulsed-wave mode, using the classical approach (Long et al., 1992; Boon, 2011).

Echocardiographic Measurements

Each 2D view was recorded as loops of 3 cardiac cycles view, and 3 loops were recorded for each of those views. The M-mode short axis view of the left ventricle was recorded as a frame including 2 to 3 cardiac cycles. A total of 3 M-mode frames, obtained after repositioning the transducer in the 2D-mode and the M-mode cursor between each recording, was recorded. For each measured parameter, a total of at least 3 measurements, obtained from 3 separate loops or frames, were performed. When the successive measurements of the parameter were highly reproducible, the total number of measurements was 3. When there was some variability in the obtained measures, 2 additional measurements were performed. Therefore, all echocardiographic measurements were the mean for a minimum of 3 cardiac cycles. Cardiac cycle with 2nd degree atrioventricular block or any other arrhythmia and following cycle were always discarded.

2D and M-mode measurements

The right and left ventricular internal diameter (RVID and LVID, respectively) and the thickness of the interventricular and left ventricular free wall (IVS and LVFW, respectively) were measured at end-diastole (d) and at end-systole (s) from the M-mode right parasternal short-axis view of the left ventricle at the chordal level. The left atrium internal diameter (LA) was measured at end-diastole from the left parasternal 2D-mode long-axis four-chamber angled view of the left ventricle.

The aortic internal diameter (Ao) was measured at end-diastole from the 2D-mode right parasternal long-axis five-chamber view at level of the sinus of Valsalva. The pulmonary artery diameter (Pu) was measured at end-diastole at its largest perpendicular diameter from the 2D-mode right parasternal image of the heart base at the level of the right ventricular outflow tract. The ratios Pu/Ao and LA/Ao and the left ventricular fractional shortening (FS) were calculated using the standard formula (Boon, 2011).

Doppler measurements

From the mitral and tricuspid velocity spectral recordings, the peak velocity of the blood flow during the rapid ventricular filling (Peak E) and during the atrial contraction (Peak A) were measured.

From the aortic and pulmonary velocity spectral recordings, the peak velocity of blood flow (V_{max}), the area under the velocity waveform (VTI), the ejection time (ET), the time to peak (TTP) and the pre-ejection period (PEP) were measured (Boon, 2011).

Statistical Analysis

Preliminary logarithmic transformations of the echocardiographic variables and BW have been done to fit a linear relationship between these data (Snedecor and Cochran, 1967; Godfrey, 1985; Cornell et al., 2004). For each variable, normality tests were performed (using UNIVARIATE procedure of SAS software, Version 9.1) before and after logarithmic transformation. Most the variables were already normally distributed before logarithmic transformation, and all remained or became normally distributed after logarithmic transformation.

The echocardiographic data were analysed using a univariate linear model including the fixed effects of sex (mare, stallion or gelding), breed (6 breeds), and BW and age as covariates, according to the following formula:

$$y_{ijl} = m + S_i + B_j + b_{BW}.BW_{ijl} + b_{Age}.Age_{ijl} + e_{ijl}$$

Where y_{ijl} was any of the log-transformed measurements made on animal l of sex i , and breed j , S_i was the additive effect of sex i , B_j was the additive effect of breed j , b_{BW} was a (linear) regression coefficient of considered measurement on the log of BW of the individual ijl and b_{Age} was a (linear) regression coefficient of the considered measurement on the age of the individual ijl . The term e_{ijl} was a random residual, assumed to be normally and independently distributed for all measured variables. Furthermore, two-way interactions between fixed effects (i.e. between breed and sex) were included when significant. All analyses were performed using the GLM procedure of SAS. For all tests, a p value ≤ 0.05 was considered to be significant.

Results

Table 1 shows the p values obtained for the sex, breed, age and BW effects and of the interaction between breed and sex on the echocardiographic parameters on the whole studied group, and within the subgroups of horses or ponies aged ≤ 2 years-old and those > 2 years-old .

Variations in the dimensional parameters were mostly explained by the BW and the breed. The BW showed a significant effect on all echocardiographic measurements when studied on the whole group as well as within each of the two subgroups of age. The breed showed a significant effect on all echocardiographic measurements except for IVSs, IVSd, FS, and the Pu/Ao and LA/Ao ratios. However, some of those breed effects were lost when studied within the subgroups of age.

Table 2 shows the comparison between the least square means \pm SE values of echocardiographic measurements obtained in each of the studied breeds, except for drafts horses for which the least square means were not calculable.

On the whole group as well as within each age group, sex showed no significant effect on all echocardiographic dimensional measurements (except on left ventricular internal diameters in the group of animals > 2 years-old), on FS, or on LA/Ao and Pu/Ao ratios. Age only showed a significant effect on Ao and Pu.

Interaction between breed and sex was significant for RVIDd in the 2 subgroups, for LVIDs and FS in the subgroup of animals older than 2 years-old, and for Pu/Ao on the whole group. None of the tested variables showed a significant effect (p values ranging from 0.17 to 0.96) on Doppler echocardiographic measurements.

Discussion

The results of this study confirm the significant effect of BW and demonstrate a significant effect of the breed on several dimensional echocardiographic measurements, but not on functional or Doppler echocardiographic measurements, in the equine species. In contrast, age and sex had little or no effect on echocardiographic measurements in the group of horses studied. The main limitation of the study is the small number of animals examined, especially within some of the investigated breeds and for the Doppler measurements. Moreover, the potential effect of training, that has been shown to induce significant increases in left ventricular dimensions and mass in horses submitted to intensive race and endurance training (Young, 1999; Buhl et al., 2005), has not been investigated in the present study because of the highly variable kind of exercise performed by the investigated animals, which made quantification of the training level difficult. Therefore, the results obtained in the different breeds in the present study, especially in breeds more likely to undergo regular and/or intense training such as Arabians, Thoroughbreds and Standardbreds, could still have partly been influenced by the training rather than by the BW or the breed.

The statistical model used in this study on the whole group of investigated animals did not allow differentiation between the growth (in the youngest investigated animals) and the ageing (in the oldest investigated animals) processes. However, when the statistical model was applied separately on animals during their rapid growth phase (i.e. in animals aged up to 2 years-old) or thereafter (i.e. in animals older than 2 years-old), the effect of age remained not significant for most of the echocardiographic parameters. In all studied species, including humans (Kampmann et al., 2000), dogs (Sisson and Schaeffer, 1991) and horses (Lombard et al., 1984; Stewart et al., 1984), it has been shown that body growth is associated with an increase in cardiac size, which can be quantified by echocardiography. However, studies performed on dogs and humans showed that the variance in echocardiographic parameters during the growth period of life are mainly due to body size (Neilan et

al., 2009). The results of the present study suggest that the same is true in growing horses. An effect of ageing on echocardiographic parameters has been reported in older human patients (Armstrong and Ryan, 2010). Such age-induced cardiac changes could be interesting to study in older horses. Sex had no effect on echocardiographic parameters in the present study. This is different to most studies performed on humans (Vasan et al., 1997; Anderson, 2007; Armstrong and Ryan, 2010) and dogs (Lonsdale et al., 1998; Kayar et al., 2006; Muzzi et al., 2006; Bavegems et al., 2007; Lobo et al., 2008) in which an effect of gender on most echocardiographic parameters has been evidenced. Previous studies performed in horses showed a significantly higher LVID, left ventricular internal area, IVS, LVFW or left ventricular mass in males than in females (Leadon et al., 1991; Seder et al., 2003; Buhl et al., 2005). However, in those studies the BW was also higher in males than in females and was not included in the statistical analysis of the effect of sex on echocardiographic variables. In a more recent study performed in 30 healthy Standardbreds and using a general linear model procedure including the effect of age, sex and BW, the sex was demonstrated to have no effect on those echocardiographic parameters (Zucca et al., 2008). This is consistent with what we report in the present study.

In dogs (Sisson and Schaeffer, 1991; Morrison et al., 1992; Lonsdale et al., 1998; Brown et al., 2003; Kayar et al., 2006; Muzzi et al., 2006; Bavegems et al., 2007; Hall et al., 2008; Lobo et al., 2008; Voros et al., 2009) and humans (Vasan et al., 1997; Kampmann et al., 2000; Neilan et al., 2009), it has been demonstrated that dimensional echocardiographic measurements are strongly correlated with body size, and that this relationship is best documented using power regression models on BW or BSA. The same could be true in horses. However, in most studies that have attempted to correlate echocardiographic dimensions with BW in healthy horses, the correlation was weak (Zucca et al., 2008). This could be due to the small size of the studied populations and the small variation in BW of the animals included in those studies (Boon, 2011). Therefore, normal ranges for echocardiographic parameters have often been published in horses regardless of size (Long et al., 1992; Patteson et al., 1995; Zucca et al., 2008; Rovira and Munoz, 2009). In contrast, several studies have demonstrated a significant moderate to strong correlation between morphologic echocardiographic parameters and BW in equids (Slater and Herrtage, 1995; Brown et al., 2003; Amory et al., 2004; Lightowler et al., 2004; Buhl et al., 2005), and allometric regression equations on BW have been published in growing Spanish horses with convincing results (Rovira and Munoz, 2009). For this reason, allometric regression on BW was used in the present study, and the results obtained suggest the need for reference values taking the body size into account in this species.

Because of the very wide variability in phenotypes amongst dog breeds, the effect of breed on echocardiographic measurements has mainly been documented in this species (Morrison et al., 1992; Bavegems et al., 2007; Cunningham et al., 2008; Hall et al., 2008; Boon, 2011). This breed effect is likely to be partially due to the BW effect, but analyses of covariance including BW and breed indicated that for most echocardiographic measurements, there were significant differences among dog

breeds even after the differences in BW were taken into account (Morrison et al., 1992). Moreover, breed differences in heart weight to BW ratios have also been reported post-mortem in this species (Schummer et al., 1981). Therefore, echocardiographic reference values have been published for several dog breeds (Kayar et al., 2006; Bavegems et al., 2007; Cunningham et al., 2008; Lobo et al., 2008; Voros et al., 2009). In humans, the effect of ethnicity on echocardiographic measurements has been less studied, but one study has shown that left ventricular septal thickness and mass are greater and cavity dimension are smaller in healthy Afro-Americans than in Caucasian subjects (Kizer et al., 2004). In horses, breed differences in echocardiographic measurements have been suggested by several authors (Slater and Herrtage, 1995), but have never been statistically demonstrated. The results of the present study suggest that, even after adjustment for BW, age or sex, most of the left ventricular dimensional measurements were significantly lower in ponies, Warmbloods or draft horses than in Arabians, Thoroughbreds or Standardbreds. As already mentioned, those differences could be partly due to the training status of the animals. Moreover, reproductive isolation within breeds favouring qualities such as endurance may also have contributed to those cardiac differences (Morrison et al., 1992). In a study performed by Young et al. (2005) in 482 Thoroughbred racehorses, it has been shown that BW- and sex-adjusted LVIDd and left ventricular mass were significantly higher and FS was significantly lower in long-distance jumpers than in flat short racing Thoroughbreds. These differences could be due to either a specific endurance-oriented training, or to a genetic selection of horses with higher endurance capabilities as long-distance jumpers. In the present study, breeds selected for their endurance (Arabians) or running (Standardbreds and Thoroughbreds) capabilities appeared to have larger cardiac size, as was the case in dogs known for their athletic abilities, such as whippets or greyhounds (Bavegems et al., 2007). Another limitation of the present study is the large variety of breeds included in the group of ponies. Indeed, even if most of them were cold-blooded pony breeds, this might have interfered with the conclusions that could be drawn. In the future, it could be interesting to further investigate the effect of breed in ponies, and to establish reference values for each breed if a breed effect can be demonstrated within this group.

Whatever the investigated species, including horses (Stewart et al., 1984; Long et al., 1992; Patteson et al., 1995; Slater and Herrtage, 1995; Amory et al., 2004), it has been shown that most functional parameters derived from echocardiographic measurements are poorly or not correlated to BW, age or sex. The results of the present study are in good agreement with those conclusions (Morrison et al., 1992).

In the present study, there was no effect of sex, age or breed on Doppler measurements on horses. This is in agreement with studies performed in humans (Ruan and Sherif, 2005) and in dogs (Muzzi et al., 2006). Similarly, independent of the investigated species, Doppler measurements are generally considered as poorly or not correlated with body size, even if some authors have shown a significant relationship between blood flow measurements and BW in dogs (Muzzi et al., 2006). In the equine species, the relationship between pulsed-wave Doppler-derived parameters and body size has been

poorly studied. In a study performed on 30 adult Thoroughbreds, tricuspid peak E velocity negatively correlated with BW, and pulmonary V_{\max} and VTI were positively correlated with BW (Blissitt and Bonagura, 1995), the latter being the opposite to what was found in dogs (Muzzi et al., 2006). In a study performed on donkeys, pulmonary V_{\max} and VTI also positively correlated to BW. Moreover, tricuspid Peak A velocity and aortic V_{\max} positively correlated with BW, and aortic ET and TTP negatively correlated to BW (Amory et al., 2004). However, in the present study performed using in equids with a wide range of body sizes, no effect of BW was evidenced on equine Doppler measurements.

In conclusion, this study demonstrates that BW is a variable that should be taken into account for the establishment of accurate reference values of dimensional echocardiographic parameters in the equine species. Additional physiological variables, such as breed for instance, could also have an effect on echocardiographic reference values in this species. In contrast, gender appears to have no effect on echocardiographic parameters, and BW, breed and sex had no effect on Doppler measurements in this species.

Acknowledgments

The authors are grateful to the owners of the horses for allowing their animals to be included in the study.

Table 1: Effect of sex, breed, age, body weight and interaction between breed and sex on echocardiographic measurements obtained in a group of 212 healthy horses or ponies, and in the subgroups of animals aged ≤ 2 years-old (n=46) and those > 2 years-old (n=166) within this group, using a general linear model analysis and after logarithmic transformation of the data.

Parameters	Group	n	R ²	BW		Age		Breed		Sex		Breed*sex	
				p	a	b	p	p	p	p	p	p	
RVIDd	All	204	0.39	-0.20	0.28	0.752	0.009	0.603	0.128				
	≤ 2 years	42	0.0001	-0.17	0.28	-	0.055	0.230	0.045				
	> 2 years	162	0.0001	-0.64	0.44	-	0.070	0.544	0.038				
IVSd	All	212	0.83	-0.54	0.37	0.142	0.140	0.463	0.903				
	≤ 2 years	46	0.0001	-0.55	0.37	-	0.725	0.650	0.861				
	> 2 years	166	0.0001	-0.46	0.34	-	0.656	0.760	0.888				
LVIDd	All	212	0.89	0.02	0.38	0.929	0.001	0.179	0.074				
	≤ 2 years	46	0.0001	0.10	0.34	-	0.890	0.832	0.896				
	> 2 years	166	0.0001	-0.16	0.44	-	0.0001	0.0008	0.034				
LVFWd	All	212	0.80	-0.62	0.37	0.060	0.003	0.070	0.353				
	≤ 2 years	46	0.0001	-0.57	0.34	-	0.507	0.749	0.156				
	> 2 years	166	0.0001	-0.48	0.31	-	0.008	0.059	0.199				
IVSs	All	212	0.85	-0.33	0.37	0.101	0.286	0.448	0.935				
	≤ 2 years	46	0.0001	-0.30	0.34	-	0.978	0.754	0.886				
	> 2 years	166	0.0001	-0.26	0.33	-	0.426	0.371	0.897				
LVIDs	All	212	0.75	-0.15	0.36	0.356	0.002	0.875	0.105				
	≤ 2 years	46	0.0001	-0.06	0.31	-	0.802	0.771	0.976				
	> 2 years	166	0.0001	-0.37	0.44	-	0.0001	0.028	0.011				
LVFWs	All	211	0.83	-0.39	0.37	0.136	0.015	0.149	0.892				
	≤ 2 years	46	0.0001	-0.35	0.34	-	0.558	0.751	0.579				
	> 2 years	165	0.0001	-0.33	0.34	-	0.131	0.213	0.627				
AO	All	210	0.91	-0.26	0.42	0.003	0.001	0.804	0.433				
	≤ 2 years	46	0.0001	-0.22	0.41	-	0.657	0.511	0.318				

	> 2 years	164	0.80	0.0001	- 0.29	0.43	-	0.0004	0.243	0.594
Pu	All	208	0.87	0.0001	- 0.32	0.41	0.005	0.005	0.882	0.418
	≤ 2 years	45	0.85	0.0001	- 0.25	0.37	-	0.763	0.780	0.791
	> 2 years	163	0.76	0.0001	- 0.48	0.47	-	0.002	0.696	0.130
LA	All	203	0.90	0.0001	- 0.04	0.40	0.720	0.012	0.896	0.701
	≤ 2 years	44	0.91	0.0001	- 0.02	0.39	-	0.931	0.975	0.939
	> 2 years	159	0.79	0.0001	- 0.06	0.41	-	0.0002	0.122	0.134
LA/AO	All	202	0.11	0.626	0.16	-0.03	0.057	0.096	0.977	0.666
	≤ 2 years	44	0.18	0.497	0.20	-0.02	-	0.607	0.412	0.485
	> 2 years	158	0.12	0.825	0.26	-0.04	-	0.072	0.597	0.803
Pu/AO	All	207	0.17	0.428	- 0.09	-0.01	0.717	0.104	0.652	0.008
	≤ 2 years	45	0.41	0.109	- 0.02	-0.02	-	0.377	0.259	0.091
	> 2 years	162	0.23	0.454	- 0.18	-0.03	-	0.026	0.682	0.140
FS	All	212	0.15	0.578	1.58	0.04	0.232	0.098	0.314	0.112
	≤ 2 years	46	0.28	0.562	1.47	0.05	-	0.161	0.880	0.860
	> 2 years	166	0.15	0.665	1.54	0.02	-	0.133	0.233	0.030

R^2 = coefficient of determination of the statistical model; BW = body weight; p = p-value of the trait effect; a and b = a and b coefficient, respectively, of the linear regression between the echocardiographic parameters and BW; d and s = end-diastolic and end-systolic measurement, respectively; RVID and LVID = right and left ventricular internal diameter, respectively; IVS and LVFW = interventricular septum and left ventricular free wall thickness, respectively; Ao, Pu and LA = aortic, pulmonary and left atrial internal diameters, respectively; FS = fractional shortening of the left ventricle. The p-values shown in bold are lower than the significant threshold value (0.05).

Table 2: Least square means \pm SE values of echocardiographic measurements obtained in healthy horses of 4 different breeds and in healthy ponies.

Breed	Arabian				
	Ponies	Thoroughbreds	Warmbloods	Thoroughbreds	Standardbreds
n	32	31	59	36	28
BW (kg)	241.34 \pm 109.41 (8 – 450)	369.74 \pm 99.54 (82 – 500)	419.37 \pm 163.12 (78 – 662)	452.93 \pm 52.30 (86 – 560)	472.45 \pm 36.31 (370 – 541)
Age (years)	8.61 \pm 6.05 (0.02 – 8)	7.23 \pm 4.92 (0.17 – 18)	8.13 \pm 7.14 (0.03 – 35)	5.24 \pm 2.34 (2 – 21)	8.87 \pm 5.24 (1.7 – 21)
RVIDd (cm)	3.17 \pm 1.07	2.18 \pm 1.07 ^{W,I}	3.55 \pm 1.03	3.57 \pm 1.07	3.34 \pm 1.06
IVSd (cm)	2.48 \pm 1.03	2.59 \pm 1.03	2.42 \pm 1.02 ^S	2.57 \pm 1.03	2.57 \pm 1.03
LVIDd (cm)	9.16 \pm 1.02 ^{T,A,S}	9.83 \pm 1.02	9.43 \pm 1.02 ^{T,S}	10.28 \pm 1.02	9.98 \pm 1.02
LVFWd (cm)	2.13 \pm 1.03	2.12 \pm 1.03	1.94 \pm 1.02 ^{P,T,A,S}	2.14 \pm 1.03	2.14 \pm 1.03
IVSs (cm)	3.87 \pm 1.03	4.01 \pm 1.03	3.80 \pm 1.1	3.99 \pm 1.03	3.99 \pm 1.02
LVIDs (cm)	5.35 \pm 1.04 ^{T,A,S}	5.98 \pm 1.04	5.70 \pm 1.02 ^T	6.20 \pm 1.04	6.11 \pm 1.03
LVFWs (cm)	3.42 \pm 1.03	3.70 \pm 1.03	3.32 \pm 1.02 ^{T,A,S}	3.61 \pm 1.03	3.55 \pm 1.03
Ao (cm)	6.11 \pm 1.02 ^{W,T,A,S}	6.56 \pm 1.03	6.77 \pm 1.01	6.88 \pm 1.02	7.21 \pm 0.14
Pu (cm)	4.84 \pm 1.03 ^{W,T,S}	5.21 \pm 1.03 ^T	5.27 \pm 1.02 ^T	5.69 \pm 1.03	5.52 \pm 1.02
LA (cm)	9.12 \pm 1.02 ^{T,A}	9.73 \pm 1.02	9.43 \pm 1.01 ^T	10.16 \pm 1.02	9.48 \pm 1.02 ^T

See Table 1 for legends.

^{W, P, T, S, A} = mean value significantly lower than mean value obtained in warmbloods, ponies, thoroughbreds, standardbreds, Arabian thoroughbreds and thoroughbreds horses, respectively, $p \leq 0.05$.

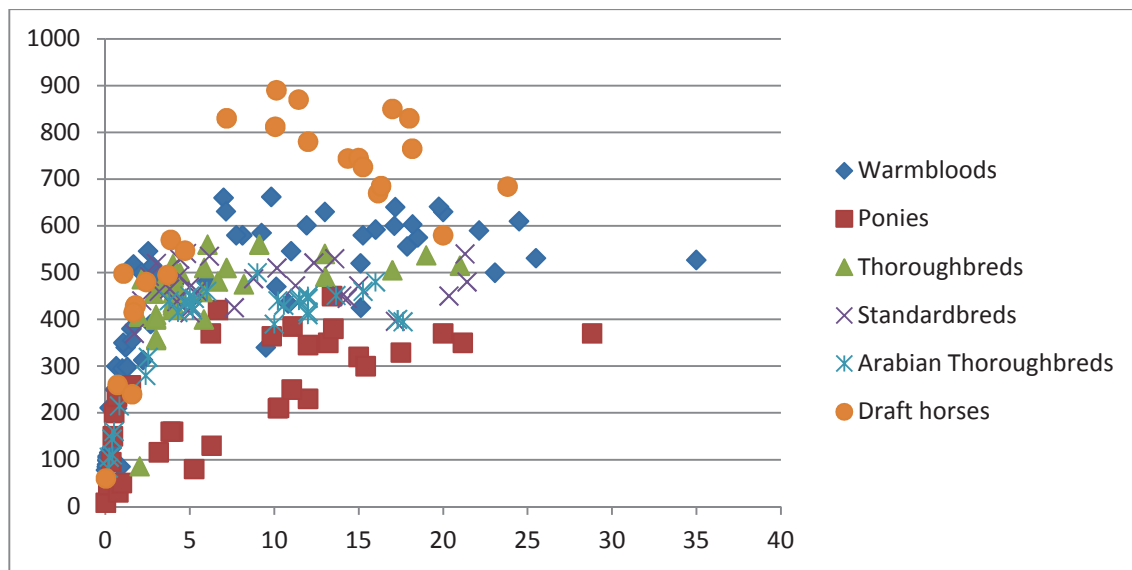


Figure 1: Distribution of age (in years, x-axis) and body weight (in kg, y-axis) of different breeds in the 212 horses and ponies included in this study.

References

- Amory, H., Bertrand, P., Delvaux, V., Sandersen, C., 2004. Doppler echocardiographic reference values in healthy donkeys. available at:<http://www.inis.org> (2004).
- Anderson, B., 2007. Echocardiography: The normal examination and echocardiographic measurements. 2nd Edn., Manly: MAG Graphics, 336pp.
- Armstrong, W.F., Ryan T., 2010. Feigenbaum's echocardiography. 7th Edn., Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 662pp.
- Bakos, Z., Voros, K., Jarvinen, T., 2002. Two dimensional and M-mode echocardiographic measurements of cardiac dimensions in healthy Standardbred trotters. *Acta Veterinaria Hungarica* 50, 273-282.
- Bavegems, V., Duchateau, L., Sys, S.U., Rick, A.D., 2007. Echocardiographic reference values in whippets. *Veterinary Radiology & Ultrasound* 48, 230-238.
- Blissitt, K.J., Bonagura, J.D., 1995. Pulsed wave Doppler echocardiography in normal horses. *Equine Veterinary Journal (Supplement)* 19, 38-46.
- Boon, J.A., 2011. *Veterinary echocardiography*. 2nd Edn., Ames, Iowa: Wiley-Blackwell, 610pp.
- Brown, D.J., Rush, J.E., Macgregor, J., Ross, J.J.N., Brewer, B., Rand, W.M., 2003. M-mode echocardiographic ratio indices in normal dogs, cats and horses: A novel quantitative method. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 17, 653-662.

- Buhl, R., Ersboll, A.K., Eriksen, L., Koch, J., 2005. Changes over time in echocardiographic measurements in young Standardbred racehorses undergoing training and racing and association with racing performance. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 226, 1881-1887.
- Cornell, C.C., Kittleson, M.D., Della Torre, P., Häggström, J., Lombard, C.W., Pederson, H.D., Vollmar, A., Wey, A., 2004. Allometric scaling of M-mode cardiac measurements in normal adult dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 18, 311-321.
- Cunningham, S.M., Rush, J.E., Freeman, L.M., Brown, D.J., Smith, C.E., 2008. Echocardiographic ratio indices in overtly healthy Boxer dogs screened for heart disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 1, 1-7.
- Godfrey, K., 1985. Simple linear regression in medical research. *the New England Journal of Medicine* 313, 1629-1636.
- Hall, D.J., Cornell, C.C., Crawford, S., Brown, D.J., 2008. Meta-analysis of normal canine echocardiographic dimensional data using ratio indices. *Journal of Veterinary Cardiology* 10, 11-23.
- Kampmann, C., Wiethoff, C., Wenzel, A., Stolz, G., Betancor, M., Wippermann, C.-F., Huth, R.-G., Habermehl, P., Knuf, M., Emschermann, T., Stopfkuchen, H., 2000. Normal values of M-mode echocardiographic measurements of more than 2000 healthy infants and children in central Europe. *Heart* 83, 667-672.
- Kayar, A., Gonul, R., Or, E.M., Uysal, A., 2006. M-mode echocardiographic parameters and indices in the normal German Shepherd dogs. *Veterinary Radiology & Ultrasound* 47, 482-486.
- Kizer, J.R., Arnett, D.K., Bella, J.N., Paranicas, M., Rao, D.C., 2004. Differences in left ventricular structure between black and white hypertensive adults: The hypertension genetic epidemiology network study. *Hypertension* 43, 1182-1188.
- Leadon, D., McAllister, H., Mullins, E., Osborne, M., 1991. Electrocardiographic and echocardiographic measurements and their relationships in Thoroughbred yearlings to subsequent performance. In: *Equine exercise physiology 3*, S.G. Persson, A. Lindholm and L.B. Jeffcott, (Eds.). Uppsala, Sweden ICEEP Publications, pp. 22-29.
- Lescure, F., Tamzali, Y., 1984. Valeur de référence en échocardiographie TM chez le cheval de sport (pur sang anglais - cheval de selle français). *Revue de Médecine vétérinaire* 135, 405-418.
- Lightowler, C., Piccione, G., Cattaneo, M.L., Giudice, E., 2004. Echocardiographic evaluation of mitral annulus excursion in normal horses. *Journal of Applied Research in Veterinary Medicine* 2, 110-114.
- Lobo, L., Canada, N., Bussadori, C., Gomes, J.L., Carvalheira, J., 2008. Transthoracic echocardiography in Estrela Mountain dogs: Reference values for the breed. *Veterinary Journal* 177, 250-259.

- Lombard, C.W., Evans, M., Martin, L., Tehrani, J., 1984. Blood pressure, electrocardiogram and echocardiogram measurements in the growing pony foal. *Equine Veterinary Journal* 16, 342-347.
- Long, K.J., Bonagura, J.D., Darke, P.G.G., 1992. Standardised imaging technique for guided M-mode and Doppler echocardiography in the horse. *Equine Veterinary Journal* 24, 226-235.
- Lonsdale, R.A., Labuc, R.H., Robertson, I.D., 1998. Echocardiographic parameters in training compared with non-trained greyhounds. *Veterinary Radiology & Ultrasound* 39, 325-330.
- Morrison, S.A., Moise, N.S., Scarlett, J., Mohammed, H., Yeager, A.E., 1992. Effect of breed and body weight on echocardiographic values in four breeds of dogs of differing somatotype. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 6, 220-224.
- Muzzi, R.A.L., Muzzi, L.A.L., Araujo, R.B.A., Cherem, M., 2006. Echocardiographic indices in normal German Shepherd dogs. *Journal of Veterinary Science* 7, 193-198.
- Neilan, T.G., Pradhan, A.D., Etta King, M., Weyman, A.E., 2009. Derivation of a size-independent variable for scaling of cardiac dimensions in a normal paediatric population. *European Journal of Echocardiography* 10, 50-55.
- Patteson, M.W., Gibbs, C., Wotton, P.R., Cripps, P.J., 1995. Echocardiographic measurements of cardiac dimensions and indices of cardiac function in normal adult Thoroughbred horses. *Equine Veterinary Journal (Supplement)* 19, 18-27.
- Rovira, S., Munoz, A., 2009. Two-dimensional and M-mode echocardiographic measurements and indices of cardiac function in Spanish colts and fillies of different age. *Journal of Veterinary Medical Science* 71, 957-964.
- Ruan, Q., Sherif, F.N., 2005. Effect of age on left ventricular systolic function in humans: A study isovolumic acceleration rate. *Experimental Physiology* 90, 527-534.
- Schummer, A., Wilkens, H., Wilkens, B., Habermehl, K.H., 1981. *The circulatory system, the skin, and the cutaneous organs of the domestic mammals*. 1st Edn., Heidelberg, Berlin: Springer Verlag, 610pp.
- Seder, J.A., Vickery, C.E., Miller, P.M., 2003. The relationship of selected two-dimensional echocardiographic measurements to the racing performance of 5431 yearlings and 2003 two-year-old Thoroughbred racehorses. *Journal of Equine Veterinary Science* 23, 149-167.
- Sisson, D., Schaeffer, D., 1991. Changes in linear dimensions of the heart, relative to body weight, as measured by M-mode echocardiography in growing dogs. *American Journal of Veterinary Research* 52, 1591-1596.
- Slater, J.D., Herrtage, M.E., 1995. Echocardiographic measurements of cardiac dimensions in normal ponies and horses. *Equine Veterinary Journal (Supplement)* 19, 28-32.
- Snedecor, G.W., Cochran, W.G., 1967. *Statistical methods*, 6th Edn. Ames: Iowa State University Press, 503PP.

- Stewart, J.H., Rose, R.J., Barko, A.M., 1984. Echocardiography in foals from birth to three months old. *Equine Veterinary Journal* 16, 332-341.
- Thomas, W.P., Gaber, C.E., Jacobs, G.J., Kaplan, P.M., Lombard, C.W., Moise, N.S., Moses, N.L., 1993. Recommendations for standards in transthoracic two-dimensional echocardiography in the dog and cat. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 7, 247-252.
- Vasan, R.S., Larson, M.G., Levy, D., Evans, J.C., Benjamin, E.J., 1997. Distribution and categorization of echocardiographic measurements in relation to reference limits. *Circulation* 96, 1863-1873.
- Voros, K., Hetyey, C., Reiczigel, J., Czirok, G.N., 2009. M-mode and two-dimensional echocardiographic reference values for three Hungarian dog breeds: Hungarian Vizsla, Mudi and Hungarian Greyhound. *Acta Veterinaria Hungarica* 57, 217-227.
- Young, L.E., 1999. Cardiac responses to training in 2 year old Thoroughbreds: An echocardiographic study. *Equine Veterinary Journal (Supplement)* 30, 195-198.
- Young, L.E., Rogers, K., Wood, J.L., 2005. Left ventricular size and systolic function in Thoroughbred racehorses and their relationships to race performance. *Journal of Applied Physiology* 99, 1278-1285.
- Zucca, E., Ferruccif, F., Croci, C., 2008. Echocardiographic measurements of cardiac dimensions in normal Standardbred racehorses. *Journal of Veterinary Cardiology* 10, 45-51.

Présentation systématique des études expérimentales

Etude 4

REFERENCE VALUES OF TWO-DIMENSIONAL AND M-MODE ECHOCARDIOGRAPHIC MEASUREMENTS AS A FUNCTION OF BODY SIZE IN VARIOUS EQUINE BREEDS AND IN PONIES.

AL HAIDAR A.¹, LEROUX A.¹, BORDE L.¹, CERRI S.¹, HOUBEN R.M.¹, SANDERSEN C.¹, MOULA N.², FARNIR F.², AMORY H.¹

¹Equine Teaching Hospital, Clinical Department of Companion Animals and Equids,

²Biostatistics, Bioinformatics, Economics and Animal Selection, Department of Animal Production, Faculty of veterinary Medicine, University of Liège, Belgium.

Running (short) title: Physiological variations in equine echocardiographic measurements

Key words: Cardiology; diagnostic imaging; breed; body weight; equine; echocardiography

Corresponding author: H. Amory, Equine teaching hospital, faculty of veterinary medicine, Faculty of veterinary Medicine, University of Liège, Bat. B41, Sart Tilman, B 4000 Liège, Belgium.

Tel : +32 4 3664103 – Fax : + 32 4 3664108

E. mail: helene.amory@ulg.ac.be

This work has been performed at the Equine teaching hospital, Faculty of veterinary Medicine, University of Liège, Bat. B41, Sart Tilman, B 4000 Liège, Belgium and has partly been supported by the “Fonds Spéciaux pour la recherche” from the University of Liege.

The results of this study were partly presented at the 3rd Annual Congress of the European College of Equine Internal Medicine (ECEIM), 28-30th January 2009, Barcelona.

Acknowledgments

The authors thank the all owners for allowing their animals to be included in this study.

Abbreviations:

2D: twodimensionnal

Ao: aortic internal diameter

BSA: body surface area

BW: body weight

d: end-diastolic measurement

ET: ejection time

FS: left ventricular fractional shortening

IVS: interventricular septum thickness

LA: left atrium internal diameter

LAX: long axis view
LVFW: left ventricular free wall thickness
LVID: left ventricular internal diameter
M: time-motion
Peak A: blood flow peak velocity of during atrial contraction
Peak E: blood flow peak velocity of during rapid ventricular filling
PEP: pre-ejection period
Pu : pulmonary artery internal diameter
RVID: right ventricular internal diameter
s: end- systolic measurement
SAX: short axis view
SE: standard error to the mean
TTP: time to peak of aortic blood flow velocity
V_{max} : peak velocity of aortic blood flow
VTI: area under the aortic velocity waveform

Abstract

Background: Despite the demonstrated effect of body size and breed on echocardiographic measurements in the equine species, there is a lack of published reference values taking these variables into account.

Objectives: To establish echocardiographic reference values using allometric regression equations with body weight (BW) and thoracic circumference (TC) in the equine species.

Animals: Animals included in the study were 65 Warmbloods, 33 Standardbreds, 41 Thoroughbreds, 32 Arabians, 28 Draft horses and 40 Ponies aged 1 day to 30 years, weighing from 18 to 890 kg, with no evidence of cardiac disease.

Methods: In each animal, a standard two-dimensional and M-mode echocardiography was performed to obtain a set of classic cardiac measurements. Within each breed, the relationship between BW or TC and the echocardiographic measurements was described by calculation of the power regression equations and their 95% prediction interval.

Results: All echocardiographic measurements showed a significant ($P \leq 0.05$) correlation and high coefficient of determination of the regression equations with BW and TC. For each of the studied breeds, power regression equations of the expected value of each of the echocardiographic parameters and BW or TC, and of their 95% negative and positive predictive values, were produced. Predictive values showed larger differences between breeds in animals of large size.

Conclusions and Clinical Importance: The use of the body size corrected and breed specific echocardiographic reference values of the present study could be used to discriminate between normal and pathological values in a given animal.

Introduction

Doppler echocardiography allows non-invasive evaluation of the anatomy and function of the heart, and has an increasingly important role in the assessment and management of patients or animals with all forms of cardiac disease.¹⁻⁵ It has now become a routine tool for the diagnosis and evaluation of heart disease in veterinary medicine.⁶ This is especially true in large animals in which most of the non-invasive cardiac diagnostic tools are of limited value due to the size and the specific anatomy and physiology of the heart in these species.⁷ The diagnostic value of echocardiography must first be based on a global evaluation of the heart and on comparison of visible structures which, in conjunction with the cardiologist's experience, gives a preliminary general impression of heart function.⁶ Additionally, Doppler echocardiography enables an accurate quantitative assessment of cardiac morphology and function based on morphological echocardiographic, blood flow velocities and systolic time intervals.^{3,5,8-12} These measurements are essential for diagnosis as well as prognosis of most cardiac diseases.¹³⁻¹⁵ However, in any species, availability of echocardiographic reference values is essential to allow for accurate assessment of cardiac dimensions and indices of cardiac function.^{9-12,16}

In humans and various animal species, echocardiographic reference values have been documented and the effects of several physiological variables such as body size,^{5,6,16-25} ethnicity¹⁹ or breed,^{5,12,18,25,26} sex,^{5,23-25,27} growth,^{5,9,10,16,17,20,28-31} training,^{15,32-35} obesity,³⁶ and pregnancy¹⁵ have been demonstrated.

In horses, an effect of training,^{33,34} growth,^{9,10} and breed^{8,12,16,37,38} on echocardiographic measurements has been reported, whereas sex appeared to be of none or minimal influence.^{38,39} Furthermore, several studies performed in groups of horses with a sufficiently wide BW range demonstrated that dimensional echocardiographic parameters are also significantly influenced by the body size in this species.^{9,12,17,37,40} Most of those studies used body weight (BW) as the anthropometric variable and linear models to adjust equine echocardiographic measurements to body size, but recent studies demonstrated that thoracic circumference (TC) is also an interesting anthropometric variable⁴⁰ and that allometric models could be more appropriate than linear models for this purpose.^{16,40} Despite the influence of all physiological factors mentioned, there are only limited published reference values of echocardiographic measurements which take these factors into account for the equine species.^{16,41}

The purpose of this study was to establish reference values and confidence interval limits of echocardiographic measurements in various common horse breeds and in ponies using allometric regression equations with BW and TC.

Material and methods

Animals

A total of 239 ponies and horses, including 130 mares, 55 geldings and 54 stallions, were included in this study. They were split into 6 groups according to their breed: 65 Warmbloods, 33 Standardbreds, 41 Thoroughbreds, 32 Arabs, 28 Draft horses and 40 ponies. The ponies group included a wide variety of breeds, but most of them were native breeds (i.e. Icelandic, Haflinger, Shetland, and Fjord). The descriptive data of age, sex, BW, and TC of the studied animals within each breed group are given in table 1. All studied animals were hospitalized in the equine teaching hospital of the University of Liege for complaints without any effect on general clinical exam findings (i.e. painless ophthalmic problem, orthopedic problem without signs of pain at rest, dermatologic complaint, recurrent colic, reproductive follow up, preoperative exam for minor or elective surgery). These horses were all in good general health with no evidence of cardiac disease on clinical, electrocardiographic, and two-dimensional and color flow mapping Doppler echocardiographic examination. The body condition score was evaluated for each horse,⁴² and animals with a poor (score lower or equal to 2/6) or excessive body condition (score of 6/6) were excluded from the study. Body weight of each horse was measured using an electronic walk-on scale (D410, Widra, Eupen, Belgium) and TC was measured as the circumference of the thorax caudal to the elbow and 2.5 cm caudal to the highest point of the withers.⁴³

Informed consent (including permission to clip the coat if necessary to acquire echocardiographic images of sufficient quality) was sought from the owner for each of the animals included in this study. All echocardiographic exams were performed by the same investigator (AHA).

Imaging Technique

Each horse underwent a standardized echocardiographic examination^{44,45} None of the studied horses was sedated during the echocardiographic examination. A portable ultrasound system equipped with color flow mapping and spectral Doppler modes and with a 1.5-3.6 MHz transducer (Vivid I, General Electric Healthcare Europe GMBH, Diegem, Belgium) was used. An electrocardiogram (ECG) was recorded simultaneously with the echocardiographic images, and recordings were only made when heart rate was within the physiological range. All examinations were digitally recorded and analyzed offline. Terminology and image orientation used were as recommended by the Echocardiographic Committee of the Specialty of Cardiology, American College of Veterinary Internal Medicine.⁴⁶ Imaging planes were selected according to identification of intracardiac landmarks as previously reported in horses.^{1,44}

The animals were first imaged from the right hemithorax. A 2D-mode long-axis five-chamber view showing the left ventricle and the left ventricular outflow tract, a 2D and a M-mode short-axis view of the left ventricle at the level of the chordae tendinae and a 2D-mode view of the heart base at the level

of the pulmonary valve were recorded. Thereafter, the animals were examined from the left hemithorax. A 2D-mode long-axis angled view of the left ventricle, where the largest diameter of the left atrium was obtained, was recorded.

Echocardiographic Measurements

Each 2D view was recorded as loops of 3 cardiac cycles view, and 3 loops were recorded for each of those views. The M-mode short axis view of the left ventricle was recorded as a frame including 2 to 3 cardiac cycles. A total of 3 M-mode frames was recorded, obtained after repositioning the transducer in the 2D-mode and the M-mode cursor between each recording. For each measured parameter, a total of at least 3 measurements were performed, obtained from 3 separate loops or frames. If successive measurements of the parameter were highly reproducible, the total number of measurements was 3. If there was some variability in the obtained measures, 2 additional measurements were performed. Therefore, all echocardiographic measurements were the mean value for a minimum of 3 cardiac cycles. Cardiac cycles with 2nd degree atrioventricular block or any other arrhythmia were discarded as well as the following cycle.

Left ventricular internal diameter (LVID) and interventricular and left ventricular free wall thickness (IVS and LVFW respectively) were measured at end-diastole (d) and at end-systole (s) from the M-mode right parasternal short-axis view of the left ventricle at the chordal level. The left atrium internal diameter (LA) was measured at end-diastole from the left parasternal 2D-mode long-axis four-chamber angled view of the left ventricle.

The aortic internal diameter (Ao) was measured at end-diastole from the 2D-mode right parasternal long-axis five-chamber view at level of the sinus of Valsalva. The pulmonary artery diameter (Pu) was measured at end-diastole at its largest perpendicular diameter from the 2D-mode right parasternal image of the heart base at the level of the right ventricular outflow tract.

Statistical Analysis

For each variable, normality was first verified using the univariate procedure of the SAS software (Version 9.1). Within each breed group, correlations between each echocardiographic parameter and each of the anthropometric variables (i.e. BW and TC) were then assessed using a Pearson's product-moment analysis. The relationship between these parameters was further evaluated by power regression analysis which produced the predictive values of dimensional echocardiographic measurements as a function of BW and TC. The form of the equations was:

$$Y = a.X^b$$

Where Y = echocardiographic parameter, X = anthropometric variable, b = coefficient of regression and a = constant.

For each equation, the 95% prediction intervals were calculated using the following equation:²²

$$Y_c \pm tS_{x,y} \sqrt{[1 + 1/n + ((x - X)^2 / \sum(x_1 - X)^2)]}$$

Where: Y_c = calculated value of the echocardiographic measurement for a given value of X , t = student's t value for $n - 2$ freedom degrees, n = number of data points, $S_{x,y}$ = standard error of the estimate, \bar{X} = mean of the individual x values, $\sum(x_1 - \bar{X})^2$ = sum of squared deviations of the sample mean.

Results

Irrespective of breed group, all the echocardiographic measurements showed a significant (P value ≤ 0.05) correlation with BW and TC. The coefficient of determination of the regression equations ranged from 0.54 to 0.94 for BW (Table 2) and from 0.53 to 0.93 for TC (Table 3).

The power regression equations of the expected value of each of the echocardiographic parameters and BW, and of their 95% negative and positive predictive values, are given in Table 2. Corresponding equations with TC are given in table 3. An example of a graph illustrating these equations is given for AO as a function of BW in the Warmblood group in Fig.1. Curves of the predicted values of LVIDd and AO as a function of BW in each of the 6 studied breed groups are shown in Fig. 2. These curves show breed differences in the relationship between theechocardiographic measurements and BW.

Discussion

Several prior studies have reported echocardiographic reference values in the equine species. A vast majority were performed using adult Thoroughbreds,^{1,8,17,44} but some values have also been reported in Standardbreds,^{37,39} Warmbloods,⁴⁷ Ponies,¹² Donkeys⁴⁸ and endurance horses.⁴⁹ However, the range of BW of the animals examined in those studies was small so up to now, the use of quantitative echocardiography was limited when performed on an equid belonging to a large or small breed with no published reference values or on an animal whose BW is out of the range of the population studied to produce the reference values. Moreover, reference value data were mostly available for mature horses only, so interpretation of data in growing foals was not possible, except in Shetland ponies or Thoroughbreds younger than 3 months-old^{9,10} or in Spanish foals up to 1 year-old¹⁶ for which normal values have been published. The results of the present study give simple equations that can be used to predict normal morphological echocardiographic measurements values in several common breeds of horses and in ponies with a wide range of body size, including during growth. The study also provides 95% prediction intervals for echocardiographic measures. This means that if an echocardiographic measurement from an individual horse or pony falls within the normal bounds of the 95% prediction interval, there is a 95% probability that it is normal.²² Because of the demonstrated significant and strong effect of body size on echocardiographic measurements in the equine species,^{11,12,37,40} development of reference values taking body size into account was essential. The use of these reference values should logically provide more accurate reference values and narrower prediction intervals than those previously published. Because of narrower predictive reference values, use of the

predicted values described in the present study could help discriminating between normal and pathological values dimensions in a given animal. The diagnostic and prognostic value of these reference values should however in the future be tested on a large range of horses with a variety of cardiac diseases.

Body weight was used in this study because most authors use this anthropometric variable as the scaling factor for echocardiographic measurements in human and veterinary medicine, including equine medicine. The obtained results can therefore easily be compared to results from previous studies. However, echocardiographic exams are increasingly being performed in the field because of recent greater availability of high-quality portable ultrasound systems. Under such field conditions, the BW of the examined animal is often unknown, but instead can be estimated from his TC using a weight tape. Furthermore, a recent study has shown that the correlation between equine echocardiographic measurements is greater with TC than with BW, body surface area, height at withers, or body length.⁴⁰ Publication of reference values with scaling to TC could therefore offer the double advantage of being more user-friendly in practice field and more accurate than scaling to BW. In the same way, the use of an allometric model was justified by the increasing evidence that the relationship between cardiac and body size measurements is more accurately expressed using allometric rather than linear models as demonstrated in humans,^{20,27} dogs^{17,22,25,30} and horses.^{16,40} In the present study, the high coefficients of determination obtained for the power regressions equations with BW as well as with TC in each studied breed indicate that using such an allometric model, most of the variation of the data was explained by the body size.

The scaling exponents (b) of the power equations between echocardiographic measures and BW ranged from 0.25 and 0.35 in dogs,^{6,22,23,30} and were close to 0.25 in humans.⁵⁰ The b values found in the present study were higher, as it has previously been found in a population of growing Spanish foals¹⁶ and a large population of mixed horses and ponies breeds.⁴⁰ This suggests that the allometric shape of the relationship between cardiac and body size could be less marked in horses than in dogs and humans: the proportional increase in cardiac size for each unit of BW increase seems to be higher in the equine species as compared with smaller species.

Because of the widely variable phenotypes amongst dog breeds, the effect of breed on echocardiographic measurements has mostly been documented in this species.^{5,18,25,51,52} This breed effect is likely partially due to the BW effect, but analyses of covariance including BW and breed indicated that for most echocardiographic measurements, there were significant differences among dog breeds even when differences in BW were taken into account.¹⁸ Furthermore, breed differences in heart weight to BW ratios have also been reported post-mortem in this species.⁵³ Echocardiographic reference values have therefore been published for several dog breeds. In horses, breed differences in echocardiographic measurements have been suggested by some authors and could similarly be attributed to BW.^{8,12,54} However, in a recent study performed on a mixed equine population, most of the left ventricular dimensional measurements allometrically adjusted for BW were significantly lower

in ponies, Warmbloods or draft horses compared to Arabians, Thoroughbreds or Standardbreds.³⁸ The data shown in Tables 4 to 9 and Figure 2 of the present study shows that the breed differences on echocardiographic predicted values were exaggerated at high BW or TC. Breed differences could partly be due to training levels, as those breeds found to have greater left ventricular dimensions are breeds more likely to undergo regular and/or intense training, which is known to induce such dimensional changes. Effect of training was not investigated in the present study because of the highly variable types of exercise performed by the investigated animals, which made quantification of the training level difficult. This is a limitation of the present study, and predicted normal values should be used with caution for animals which undergo intense training.

In order to obviate a breed bias, reference values generated by this study were determined separately within each studied breed. This drastically reduced the number of animals of each studied group and as a result the reference values were determined using a limited population which may have reduced their accuracy.

In the present study, the inclusion of growing as well as of adult animals broadened the range of body sizes investigated, which allowed better documentation of the relationship between cardiac measurements and body size within each breed. In all studied species, including humans,²⁰ dogs¹⁷ and horses,^{9,10} body growth is associated with an increase in cardiac size, which can be quantified by echocardiography. However, studies performed on these species showed that the variance in echocardiographic parameters during the growth period of life are mainly due to an effect of body size.^{40,55} Differentiating between the effect of body size and the body growth process during this period therefore is difficult, but has not precluded the inclusion of animals with an age range as wide as possible in this study, as the objective was to establish echocardiographic reference values useful at any age within each studied breed.

In conclusion, the results of this study have produced power regression equations and 95% prediction intervals of these equations that can be used to predict normal morphological echocardiographic measurements values in Ponies, Warmbloods, Thoroughbreds, Arabians, Standardbreds and Draft horses regardless of body size. These reference values should be taken into account when evaluating a case with suspected cardiac disease.

Table 1: Description of nombre, age and body weight of studied horses within each one of the studied breed.

RACE	All	Nombre			AGe		Bw	
		Stalion	Gelding	Female	Rage	Mean \pm SD	Rage	Mean \pm SD
Warmblood	65	19	19	27	2 d - 25,5 y	8,56 \pm 7,37	78-660 kg	420,36 \pm 10,37 kg
Pony	40	10	8	22	1 d - 30 y	9,68 \pm 6,16	18-480 kg	223,46 \pm 105,37 kg
Thoroughbred	41	2	18	21	1 w - 21 y	5,66 \pm 2,78	77-560 kg	402,72 \pm 110,43 kg
Standardbred	33	5	7	21	2 d - 21,42 y	7,81 \pm 5,21	60-541 kg	437,75 \pm 75,45 kg
Arabian	32	6	2	24	2 m - 17,63 y	7,08 \pm 4,87	82-500 kg	370,16 \pm 96,64 kg
Draft	28	10	2	16	1 d - 23,82 y	8,12 \pm 6,47	60-890 kg	604,07 \pm 184,99 kg

d: day, m: month, y: year

Table 2: Constant (a) and exponent (b) for calculating the power equation between echocardiographic measurements and body weight and their 95 % prediction interval in 65 Warmbloods, 40 Ponies, 40 Thoroughbreds, 32 Arabians, 30 Standardbreds and 28 Drafts horses.

Breed	Measurements	R ²	Exp. Value		Min. value		Max. value	
			a	B	a	b	a	b
Warmblood	IVSd	0.85	0.24	0.39	0.19	0.40	0.30	0.39
	LVIDd	0.88	1.06	0.37	0.87	0.37	1.29	0.37
	LVFWd	0.82	0.22	0.37	0.17	0.38	0.28	0.37
	IVSs	0.89	0.41	0.38	0.34	0.38	0.50	0.37
	LVIDs	0.67	0.95	0.30	0.69	0.31	1.30	0.30
	LVFWs	0.86	0.33	0.39	0.26	0.40	0.41	0.39
	Ao	0.93	0.50	0.44	0.41	0.45	0.59	0.44
	Pu	0.84	0.55	0.38	0.43	0.39	0.70	0.38
	LA	0.88	1.20	0.35	1.00	0.35	1.45	0.35
Ponies	IVSd	0.85	0.31	0.35	0.23	0.36	0.42	0.34
	LVIDd	0.83	1.13	0.35	0.82	0.36	1.57	0.34
	LVFWd	0.80	0.27	0.35	0.18	0.36	0.38	0.34
	IVSs	0.87	0.55	0.33	0.43	0.34	0.72	0.32
	LVIDs	0.65	0.69	0.34	0.41	0.36	1.16	0.33
	LVFWs	0.80	0.49	0.33	0.35	0.34	0.69	0.32
	Ao	0.91	0.64	0.39	0.50	0.39	0.82	0.37
	Pu	0.89	0.53	0.38	0.40	0.39	0.70	0.37
	LA	0.93	0.88	0.40	0.70	0.41	1.10	0.39
Thoroughbreds	IVSd	0.73	0.19	0.44	0.13	0.47	0.27	0.42
	LVIDd	0.79	1.10	0.38	0.84	0.40	1.44	0.36
	LVFWd	0.67	0.14	0.46	0.11	0.48	0.22	0.43
	IVSs	0.80	0.32	0.43	0.24	0.45	0.43	0.41
	LVIDs	0.72	0.96	0.31	0.73	0.33	1.27	0.30
	LVFWs	0.75	0.24	0.46	0.17	0.48	0.33	0.44
	Ao	0.79	0.84	0.36	0.66	0.37	1.07	0.34
	Pu	0.76	0.93	0.30	0.74	0.32	1.17	0.29
	LA	0.77	1.21	0.36	0.93	0.37	1.57	0.34
Arabians	IVSd	0.88	0.30	0.36	0.25	0.37	0.36	0.36
	LVIDd	0.86	1.23	0.35	1.00	0.36	1.51	0.35
	LVFWd	0.82	0.15	0.45	0.11	0.46	0.20	0.44
	IVSs	0.87	0.26	0.46	0.20	0.47	0.33	0.45
	LVIDs	0.64	0.89	0.33	0.64	0.34	1.23	0.31
	LVFWs	0.84	0.33	0.41	0.25	0.42	0.43	0.40
	Ao	0.84	0.49	0.45	0.38	0.46	0.62	0.44
	Pu	0.77	0.48	0.41	0.33	0.43	0.69	0.39
	LA	0.91	0.49	0.51	0.38	0.52	0.63	0.50

Drafts	IVSd	0.54	0.33	0.34	0.19	0.37	0.59	0.30
	LVIDd	0.87	1.23	0.34	0.95	0.36	1.55	0.33
	LVFWd	0.57	0.25	0.36	0.14	0.39	0.46	0.32
	IVSs	0.56	0.64	0.30	0.39	0.33	1.05	0.28
	LVIDs	0.72	0.56	0.38	0.36	0.40	0.87	0.36
	LVFWs	0.63	0.63	0.29	0.41	0.31	0.95	0.27
	Ao	0.84	0.70	0.37	0.52	0.39	0.95	0.36
	Pu	0.80	0.45	0.41	0.31	0.44	0.66	0.40
LA	0.87	1.16	0.35	0.91	0.37	1.49	0.34	
Standardbreds	IVSd	0.87	0.27	0.38	0.21	0.39	0.35	0.37
	LVIDd	0.89	1.36	0.34	1.11	0.35	1.66	0.33
	LVFWd	0.77	0.25	0.36	0.18	0.38	0.35	0.35
	IVSs	0.83	0.64	0.31	0.51	0.32	0.81	0.30
	LVIDs	0.73	0.85	0.33	0.61	0.35	1.18	0.31
	LVFWs	0.80	0.48	0.34	0.36	0.36	0.63	0.33
	Ao	0.94	0.67	0.40	0.56	0.41	0.79	0.39
	Pu	0.89	0.45	0.42	0.35	0.44	0.58	0.41
LA	0.87	0.99	0.38	0.78	0.40	1.27	0.37	

The form of the equations is : $Y = a.BW^b$

Where Y = echocardiographic measurement and BW = body weight.

IC- and IC+: Margins of echocardiographic measurements intervals at level 95% of confidence.

d and s = end-diastolic and end-systolic measurement, respectively; LVID: left ventricular internal diameter; IVS and LVFW: interventricular septum and left ventricle free wall thickness, respectively; Ao, Pu and LA: aortic, pulmonary, and left atrial internal diameter, respectively.

Table 3: Constant (a) and exponent (b) for calculating the power equation between echocardiographic measurements and thoracic circumference and their 95 % prediction interval in 65 Warmbloods, 40 Ponies, 40 Thoroughbreds, 32 Arabians, 30 Standardbreds and 28 Drafts horses.

Breed	Measurements	R ²	Exp. Value		Min. value		Max. value	
			a	B	a	b	a	b
Warmbloods	IVSd	0.83	0.01	1.06	0.01	1.08	0.01	1.05
	LVIDd	0.89	0.05	1.02	0.04	1.03	0.07	1.01
	LVFWd	0.81	0.01	1.01	0.01	1.02	0.01	1
	IVSs	0.89	0.02	1.02	0.02	1.02	0.03	1.01
	LVIDs	0.66	0.08	0.83	0.06	0.85	0.12	0.82
	LVFWs	0.86	0.01	1.07	0.01	1.08	0.02	1.06
	Ao	0.93	0.01	1.21	0.01	1.22	0.02	1.21
	Pu	0.82	0.03	1.02	0.02	1.03	0.04	1.01
	LA	0.88	0.08	0.94	0.07	0.94	0.10	0.93
Ponies	IVSd	0.79	0.02	0.99	0.01	1.01	0.02	0.96
	LVIDd	0.87	0.04	1.09	0.02	1.11	0.05	1.07
	LVFWd	0.86	0.01	1.13	0.00	1.15	0.01	1.10
	IVSs	0.90	0.02	1.02	0.02	1.04	0.03	1
	LVIDs	0.67	0.02	1.06	0.01	1.10	0.05	1.02
	LVFWs	0.88	0.02	1.05	0.01	1.07	0.02	1.03
	Ao	0.91	0.02	1.17	0.01	1.19	0.02	1.15
	Pu	0.89	0.01	1.15	0.01	1.18	0.02	1.13
	LA	0.94	0.02	1.24	0.01	1.26	0.02	1.22
Thoroughbreds	IVSd	0.71	0.01	1.22	0.003	1.28	0.01	1.15
	LVIDd	0.76	0.05	1.03	0.03	1.09	0.08	0.99
	LVFWd	0.64	0.00	1.25	0.002	1.32	0.01	1.17
	IVSs	0.77	0.01	1.17	0.01	1.22	0.02	1.12
	LVIDs	0.65	0.09	0.83	0.06	0.88	0.13	0.79
	LVFWs	0.75	0.01	1.28	0.003	1.33	0.01	1.23
	Ao	0.79	0.04	1.00	0.03	1.04	0.06	0.96
	Pu	0.75	0.07	0.85	0.05	0.89	0.10	0.81
	LA	0.75	0.07	0.98	0.04	1.03	0.10	0.94
Arabians	IVSd	0.88	0.01	1.03	0.01	1.05	0.02	1.00
	LVIDd	0.87	0.05	1.04	0.04	1.06	0.07	1.01
	LVFWd	0.85	0.003	1.28	0.00	1.32	0.00	1.25
	IVSs	0.86	0.01	1.12	0.01	1.15	0.02	1.09
	LVIDs	0.67	0.07	0.89	0.04	0.93	0.10	0.85
	LVFWs	0.86	0.01	1.27	0.00	1.31	0.01	1.24
	Ao	0.81	0.03	1.09	0.02	1.12	0.04	1.05
	Pu	0.82	0.01	1.20	0.01	1.24	0.02	1.17
	LA	0.91	0.03	1.15	0.02	1.17	0.04	1.13

Drafts	IVSd	0.53	0.02	0.90	0.01	0.98	0.06	0.82
	LVIDd	0.79	0.10	0.88	0.07	0.92	0.16	0.84
	LVFWd	0.58	0.01	0.97	0.01	1.05	0.03	0.90
	IVSs	0.59	0.05	0.84	0.03	0.90	0.10	0.77
	LVIDs	0.59	0.05	0.92	0.02	0.99	0.10	0.85
	LVFWs	0.67	0.06	0.81	0.03	0.86	0.10	0.76
	Ao	0.86	0.04	1.01	0.03	1.05	0.05	0.97
	Pu	0.82	0.02	1.11	0.01	1.16	0.03	1.06
	LA	0.77	0.11	0.88	0.07	0.93	0.17	0.84
Standardbreds	IVSd	0.88	0.01	1.10	0.01	1.13	0.01	1.06
	LVIDd	0.87	0.29	0.69	0.22	0.73	0.40	0.66
	LVFWd	0.77	0.05	0.76	0.03	0.80	0.07	0.71
	IVSs	0.83	0.15	0.65	0.11	0.68	0.21	0.61
	LVIDs	0.72	0.19	0.69	0.11	0.74	0.30	0.64
	LVFWs	0.79	0.10	0.70	0.08	0.71	0.57	0.41
	Ao	0.92	0.02	1.13	0.02	1.16	0.03	1.10
	Pu	0.87	0.01	1.21	0.01	1.25	0.02	1.17
	LA	0.86	0.04	1.09	0.03	1.13	0.05	1.06

The form of the equations is : $Y = a.TC^b$

Where Y = echocardiographic measurement and TC thoracic circumference.

See Table 2 for legends.

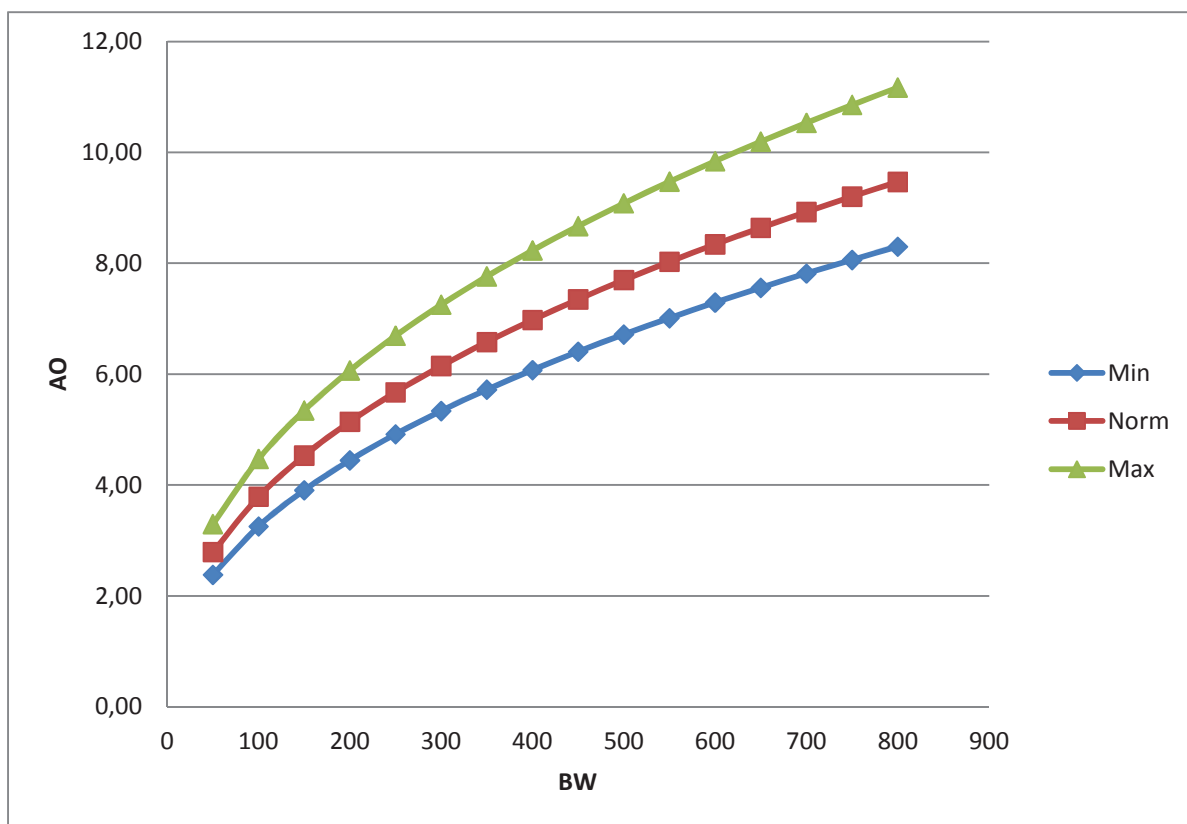


Figure 1: Predicted values and 95% confidence intervals of aortic diameter AO as a function of BW in Warmblood horses. Norm: Predicted values, Max: maximal values, Min: minimal values.

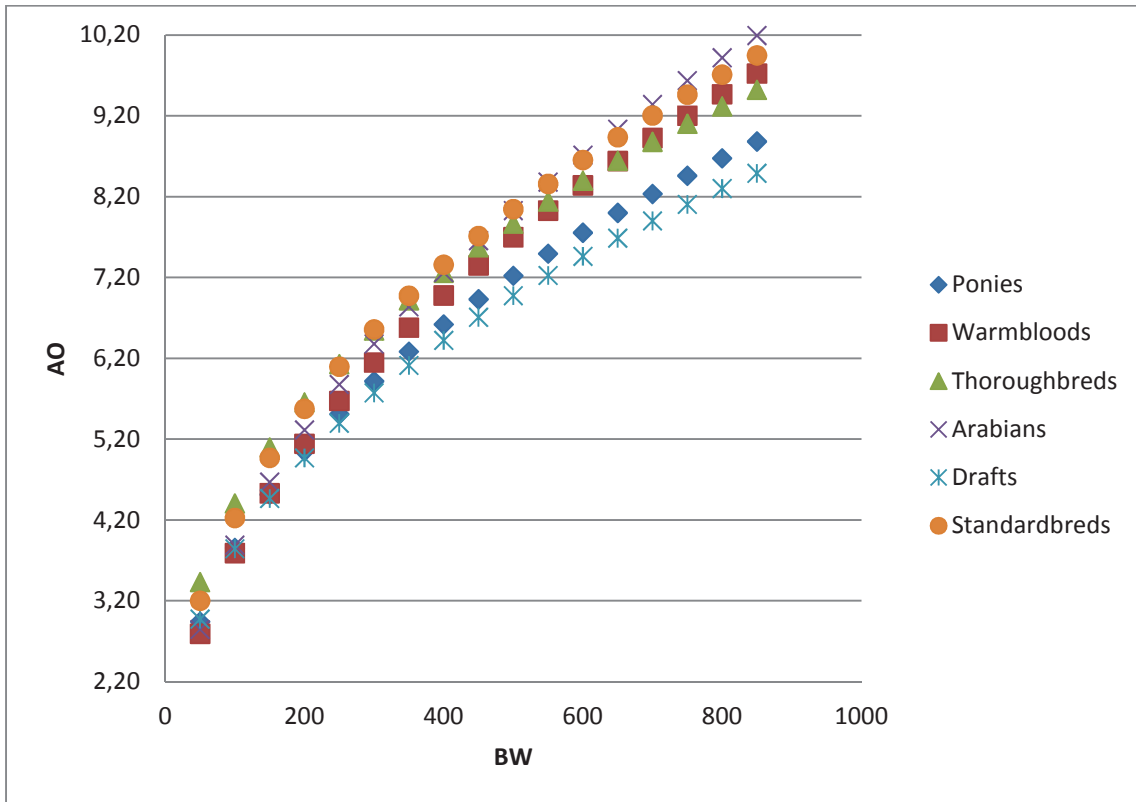
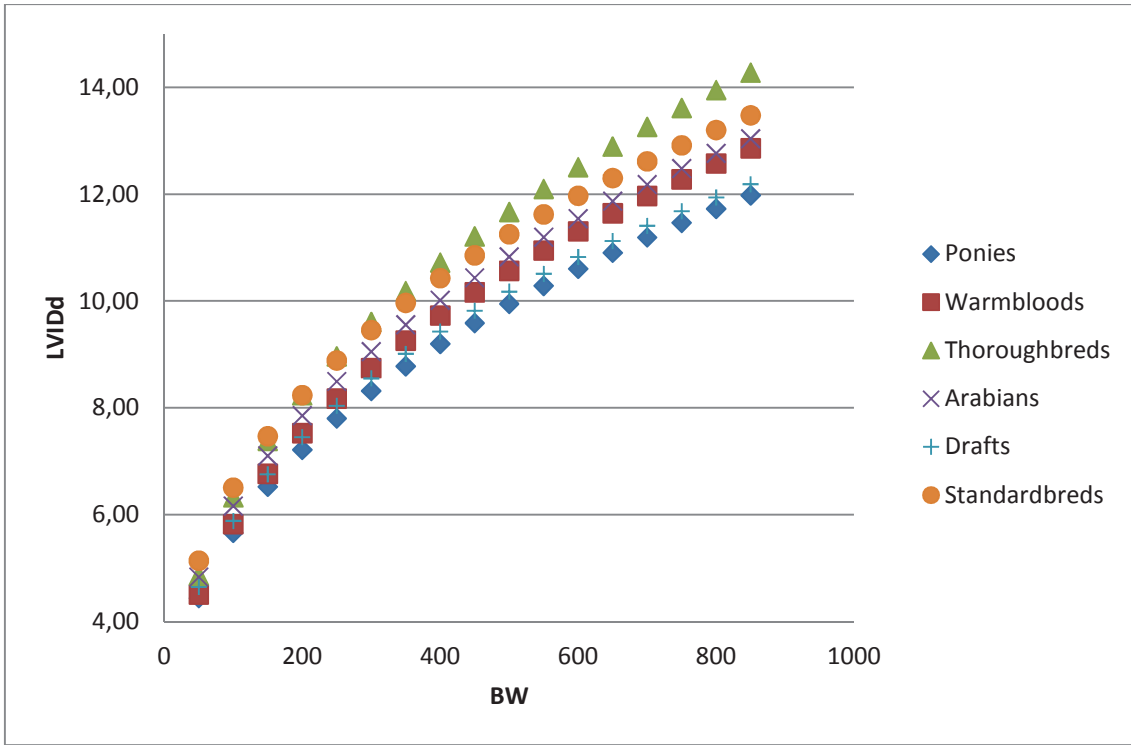


Figure 2: Curves of the predicted values of LVIDd and AO as a function of BW in each of the 6 studied breed groups

References

1. Patteson MW, Gibbs C, Wotton PR, et al. Echocardiographic measurements of cardiac dimensions and indices of cardiac function in normal adult Thoroughbred horses. *Equine Vet J (Suppl)* 1995;19:18-27.
2. Reef VB, Bain FT, Spencer PA. Severe mitral regurgitation in horses: Clinical, echocardiographic and pathological findings. *Equine Vet J* 1998;30:18-27.
3. Kriz NG, Rose RJ. Repeatability of standard transthoracic echocardiographic measurements in horses *Aust Vet J* 2002;80:362-370.
4. Marr CM, Patteson M. Echocardiography. In: Marr CM, Bowen ME, eds. *Cardiology of the horse*, 2nd ed. London: Saunders Elsevier; 2010:105-126.
5. Boon JA. Evaluation of size, function, and hemodynamics. In: Boon JA, ed. *Veterinary echocardiography*, 2nd ed. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell; 2011:153-256.
6. Brown DJ, Rush JE, MacGregor J, et al. M-mode echocardiographic ratio indices in normal dogs, cats, and horses: a novel quantitative method *J Vet Intern Med* 2003;17:653-662.
7. Reef VB. Cardiovascular disease in the equine neonate. *Vet Clin North Am Equine Pract* 1985;1:117-129.
8. Lescure F, Tamzali Y. Valeurs de référence en échocardiographie TM chez le cheval de sport (pur sang anglais - cheval de selle français). *Revue Méd Vet* 1984;135:405-418.
9. Lombard CW, Evans M, Martin L, et al. Blood pressure, electrocardiogram and echocardiogram measurements in the growing pony foal. *Equine Vet J* 1984;16:342-347.
10. Stewart JH, Rose RJ, Barko AM. Echocardiography in foals from birth to three months old. *Equine Vet J* 1984;16:332-341.
11. Voros K, Holmes JR, Gibbs C. Measurement of cardiac dimensions with two-dimensional echocardiography in the living horse. *Equine Vet J* 1991;23:461-465.
12. Slater JD, Herrtage ME. Echocardiographic measurements of cardiac dimensions in normal ponies and horses. *Equine Vet J (Suppl)* 1995;19:28-32.
13. Reef VB. The use of diagnostic ultrasound in the horse. *Ultrasound Quart* 1991;9:1-34.
14. Hunter JJ, Chien KR. Signaling pathways for cardiac hypertrophy and failure. *N Engl J Med* 1999;341:1276-1283.
15. Armstrong WF, Ryan T. Echocardiography in systemic disease and clinical problem solving. In: Armstrong WF, Ryan T, eds. *Feigenbaum's echocardiography*, 7th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2010:741-775.
16. Rovira S, Muñoz A, Rodilla V. Allometric scaling of echocardiographic measurements in healthy Spanish foals with different body weight. *Res Vet Science* 2009;86:325-331.
17. Sisson D, Schaeffer D. Changes in linear dimensions of the heart, relative to body weight, as measured by M-mode echocardiography in growing dogs. *Am J Vet Res* 1991;52:1591-1596.

18. Morrison SA, Moise NS, Scarlett J, et al. Effect of breed and body weight on echocardiographic values in four breeds of dogs of differing somatotype. *J Vet Intern Med* 1992;6:220-224.
19. Chaturvedi N, Athanassopoulos G, McKeigue PM, et al. Echocardiographic measures of left ventricular structure and their relation with rest and ambulatory blood pressure in blacks and whites in the United Kingdom. *J Am Coll Cardiol* 1994;24:1499-1505.
20. Kampmann C, Wiethoff CM, Wenzel A, et al. Normal values of M-mode echocardiographic measurements of more than 2000 healthy infants and children in central Europe. *Heart* 2000;83 667–672.
21. Gonçalves AC, Orton EC, Boon JA, et al. Linear, logarithmic, and polynomial models of M-mode echocardiographic measurements in dogs *Am J Vet Res* 2002;63:994-999.
22. Cornell CC, Kittleson MD, Della Torre P, et al. Allometric scaling of M-mode cardiac measurements in normal adult dogs *J vet Intern Med* 2004;18:311-321.
23. Kayar A, Gonul R, Or ME, et al. M-mode echocardiographic parameters and indices in the normal German shepherd dog *Vet Radiol & Ultrasound* 2006;47 482-486.
24. Anderson B. M-mode echocardiography measurements and calculations. In: Anderson B, ed. *Echocardiography: the normal examination and echocardiographic measurements*, 2nd ed. Manly, Australia: MGA Graphics; 2007:167-182.
25. Bavegems V, Duchateau L, Sys SU, et al. Echocardiographic reference values in whippets *Vet Radiol & Ultrasound* 2007;48:230-238.
26. Vörös K, Hetyey C, Reiczigel J, et al. M-mode and two-dimensional echocardiographic reference values for three Hungarian dog breeds: Hungarian Vizsla, Mudi and Hungarian Greyhound. *Acta veterinaria Hungarica* 2009;57:217-227.
27. Lauer MS, Larson MG, Levy D. Gender-specific reference M-mode values in adults: Population-derived values with consideration of the impact of height. *J Am Coll Cardiol* 1995;26:1039-1046.
28. Ichida F, Deneff B, Dumoulin M, et al. Cardiac chamber growth pattern determined by two-dimensional echocardiography. *Heart Vessels* 1988;4:26-33.
29. Gutgesell HP, Rembold CM. Growth of the human heart relative to body surface area. *Am J Cardiol* 1990;65:662-668.
30. Bayón A, Fernández del Palacio MJ, Montes AM, et al. M-mode echocardiography study in growing Spanish mastiffs. *J Small Animal Practic* 1994;35:473-479.
31. Collins NM, Palmer L, Marr CM. Two-dimensional and M-mode echocardiographic findings in healthy Thoroughbred foals *Aust Vet J* 2010;88:428-433.
32. Lonsdale RA, Labuc RH, Robertson ID. Echocardiographic parameters in training compared with non-training greyhounds. *Vet Radiol Ultrasound* 1998;39:325-330.
33. Young LE. Cardiac responses to training in 2-year-old thoroughbreds: an echocardiographic study *Equine Vet J (Suppl)* 1999;30:195-198.

34. Buhl R, Ersbøll AK, Eriksen L, et al. Changes over time in echocardiographic measurements in young Standardbred racehorses undergoing training and racing and association with racing performance. *J Am Vet Med Assoc* 2005;226:1881-1887.
35. Buhl R, Ersbøll AK. Echocardiographic evaluation of changes in left ventricular size and valvular regurgitation associated with physical training during and after maturity in Standardbred trotters. *J Am Vet Med Assoc* 2012;240:205-212.
36. Bazzano LA, Belame SN, Patel DA, et al. Obesity and left ventricular dilatation in young adulthood: the Bogalusa Heart Study *Clin Cardiol* 2011;34:153-159.
37. Bakos Z, Voros K, Jarvinen T, et al. Two-dimensional and M-mode echocardiographic measurements of cardiac dimensions in healthy Standardbred Trotters. *Act Vet Hung* 2002;50:273-282.
38. Al-Haidar A, Farnir F, Deleuze S, et al. Effet of physiological variables on echocardiographic measurements in the equine species. *Res Vet Science* 2012;In Press.
39. Zucca E, Ferrucci F, Croci C, et al. Echocardiographic measurements of cardiac dimensions in normal Standardbred racehorses. *J Vet Cardiol* 2008;10:45-51.
40. Al-Haidar A, Leroux A, Borde L, et al. Relationship Between Echocardiographic Measurements and Body Size in Horses. *J Equine Vet Science* 2012;in press.
41. Boon JA. Appendices. In: Boon JAE, ed. *Veterinary echocardiography*, 2nd ed. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell; 2011:527-581.
42. Carroll CL, Huntington PJ. Body condition scoring and weight estimation of horses *Equine Vet J* 1988;20:41-45.
43. Staniar WB, Kronfeld DS, Hoffman RM, et al. Weight prediction from linear measures of growing Thoroughbreds *Equine Vet J* 2004;36:149-154.
44. Long KJ, Bonagura JD, Darke GG. Standardised imaging technique for guided M-mode and Doppler echocardiography in the horse. *Equine Vet J* 1992;24:226-235.
45. Boon JA. The M-mode and Doppler examination. In: Boon JA, ed. *Veterinary echocardiography*, 2nd ed. Ames, Iowa: Wiley-Blakwell; 2011:101-149.
46. Thomas WP, Gaber CE, Jacobs GJ, et al. Recommendations for standards in transthoracic two-dimensional echocardiography in the dog and cat. *J Vet Intern Med* 1993;7:247-252.
47. Stadler P, Rewel A, Deegen E. M-mode echocardiography in dressage horses, class S jumping horses and untrained horses. *Zentralbl Veterinarmed A* 1993;40:292-306.
48. Amory H, Bertrand P, Delvaux V, et al. Doppler echocardiographic reference values in healthy donkeys. In: [en ligne] (Sep. 2004) Adresse URL : <http://www.inis.org> Consulté le 01/11/ 2007.; 2004.
49. Paull K, Wingfield W, Bertone J. Echocardiographic changes with endurance training. In: Gillespie J, Robinson NEE, eds. *Equine Exercise Physiology*. Davis, Calif. : ICEEP Publications; 1987.

50. Neilan TG, Pradhan AD, King EM, et al. Derivation of a size-independent variable for scaling of cardiac dimensions in a normal paediatric population. *Euro J Echocardiogr* 2009;10:50–55.
51. Cunningham SM, Rush JE, Freeman LM, et al. Echocardiographic ratio indices in overtly healthy Boxer dogs screened for heart disease. *J Vet Intern Med* 2008;1:1-7.
52. Hall DJ, Cornell CC, Crawford S, et al. Meta-analysis of normal canine echocardiographic dimensional data using ratio indices. *J Vet Cardiol* 2008;10:11-23.
53. Schummer A, Wilkens H, Wilkens B, et al. *The Circulatory System, the Skin, and the Cutaneous Organs of the Domestic Mammals*, 1st ed. Heidelberg, Berlin: Springer Verlag; 1981;610.
54. Rovira S, Munoz A. Two-dimensional- and M-mode echocardiographic measurements and indices of cardiac function in Spanish Colts and Fillies of different age. *J Vet Med Sci* 2009;71:957-964.
55. Neilan TG, Pradhan AD, King ME, et al. Derivation of a size-independent variable for scaling of cardiac dimensions in a normal paediatric population *Euro Heart J* 2009;10:50-55.

Présentation systématique des études expérimentales

Etude 5

Atrial Natriuretic Peptide as an indicator of the severity of valvular insufficiency and heart failure in horses

Al Haidar A.¹, REMY B.², LEROUX A.¹, BORDE L.¹, CERRI S.¹, HOUBEN R.¹, SANDERSEN C.¹, MOUSSA N.³, AMORY H.¹

¹ Al Haidar Ali, DVM, DEA. Leroux Aurelia, DVM, DEA. Borde Lora, DVM, DEA, ECEIM student. Cerri Semona, DVM, DEA. Houben Rosa, DVM. Sandersen Charlotte, DVM, PhD, Dipl. ECEIM. Amory Helene, DVM, PhD, Dipl. ECEIM. ² Rémy Benoit, DVM.

³ Moussa Nassim, DVM, PhD.

¹Equine Teaching Hospital, Clinical Department of Companion Animals and Equids,

²Biostatistics, Bioinformatics, Economics and Animal Selection, Department of Animal Production, Faculty of veterinary Medicine, University of Liège, Belgium.

³Laboratory of endocrinology and physiology of reproduction, Department of functional Science, Faculty of veterinary Medicine, University of Liège, Belgium.

Abstract

Background: Natriuretic peptides are cardiac biomarkers that have been shown to have high potential for diagnosis, prognosis, and guidance of treatment in human and small animal cardiology, but, even if partly investigated, little is known about their usefulness in equine cardiology.

Objective: To investigate the diagnostic value of plasma atrial natriuretic concentration (ANP_{pl}) in a large group of horses with various degrees of valvular insufficiencies (VI) and heart failure (HF).

Animals: Ninety-one horses with no, mild, moderate or severe VI at various stages of HF (Stage A: no VI, Stage B1: asymptomatic VI without cardiac remodelling, Stage B2: asymptomatic VI with cardiac remodelling and Stage C: symptomatic VI) were studied. **Methods:** All horses underwent clinical and Doppler echocardiographic examination, which allowed determining the presence, nature and severity of VI, and the HF stage. The ANP_{pl} was measured using a commercially available human RIA test.

Results: Horses with severe and moderate VI had significantly higher ANP_{pl} than horses with mild or no VI, whereas the ANP_{pl} was significantly different between the former but not between the latter groups. The ANP_{pl} was significantly higher in horses at each stage of HF than horses at the previous ones, and significantly correlated with most of the measured echocardiographic variables. This correlation was especially strong with the left atrial diameter and percentage of dilation.

Conclusions and Clinical Importance: Those results further suggest the diagnostic value of ANP_{PI} in horses suffering from VI, especially in horses with tricuspid or mitral insufficiency with enlargement or dysfunction of the atria.

Introduction

The cardiac natriuretic peptides are a group of hormones synthesized by cardiomyocytes, and include atrial and brain natriuretic peptide (ANP and BNP, respectively). They play an important role in the regulation of blood pressure and natriuresis and diuresis, causing a reduction of blood pressure and plasma volume.^{1,2} Both ANP and BNP are abundantly expressed in the heart and are secreted mainly from the atrial and ventricular myocytes, respectively, in response to cardiac stretch (myocardial tension and increased intravascular volume), increased pacing frequency, ischemia, hypoxia, or neurohormonal activation.^{1,2} Numerous studies in human patients with heart failure (HF) showed that both ANP and BNP (and their more stable inactive cleavage equivalents NT-pro ANP and NT-pro BNP, respectively) secretion increase in relation to the severity of ventricular dysfunction. They are good diagnosis and prognosis predictors of decompensated HF from a clinical standpoint and they are therefore widely used as cardiac biomarkers in human medicine.²⁻⁷ Numerous studies also demonstrated the clinical interest of those biomarkers in canine and feline medicine.^{3,8,9} The secretion patterns of ANP and BNP vary with underlying cardiac disorders of HF with different degrees of overload in atria and ventricles. However, comparisons of the diagnostic performance of ANP and BNP have generally favoured BNP.² Thus, most of the clinical work developing natriuretic peptides as diagnostic tests has focused on BNP or NT-proBNP.^{2,10} Nevertheless, ANP also occupies an important position in the diagnosis of heart failure as there is growing evidence that measurement of plasma ANP or NT-proANP has similar diagnostic and prognostic value than BNP when its level fall into the “grey zone” and may be a more potent marker of mortality in human cardiac patients.⁴

It has been shown that the entire precursor protein of ANP in horse is in good agreement with the ANP prohormones of other mammals, whereas those of BNP from different species shows divergences.¹¹ This allows using commercially available human essays to measure plasma ANP or NT-proANP concentration in horses. On the contrary, because equine specific BNP or NT-proBNP essays are not commercially available, there is up to now no way of measuring those peptides in the equine species. The use of ANP as cardiac biomarker has been suggested to be of interest in horses with cardiac disease,^{12,13} but proofs of its potential diagnostic or prognosis value needs to be extended to a large population of horses with various degree of atrial or ventricular enlargement.

The aim of this study was to evaluate the diagnostic value of ANP in horse with various degree of valvular insufficiencies associated or not with HF.

Material and methods

Animals

The study was conducted on 91 horses (38 mares, 13 stallions, 40 geldings) of various breeds (49 Warmbloods, 11 Thoroughbreds, 13 Standardbreds, 13 Arabians or Anglo-Arabians, 4 riding ponies, 1 Frisian horse), aged from 3 to 30 (mean \pm SE: 11.0 \pm 6.0) years-old and weighing from 370 to 780 (mean \pm SE: 494.5 \pm 71.8) kg, presented at the veterinary teaching hospital of Liege for evaluation of a cardiac murmur or exercise intolerance. From those horses, those suffering from a cardiac problem other than a valvular insufficiency were not included in this study.

Clinical exam and Echocardiography

All studied horses underwent a cardiologic examination including thorough physical examination and cardiac auscultation, electrocardiography, and standardized 2D, M and Doppler echocardiography within the routine workup of the cases. Echocardiography and electrocardiography were performed using a portable ultrasound system equipped with color flow mapping and spectral Doppler mode and with a 1.5-3.6 MHz transducer (Vivid I, General Electric Healthcare Europe GMBH, Diegem, Belgium). All examinations were recorded digitally and analyzed offline (Echopac, General Electric Healthcare Europe GMBH, Diegem, Belgium).

The echocardiographic recordings and measurements were made according to conventional methods.¹⁴ The left ventricular internal diameter was measured at end-diastole (LVIDd) and at end-systole (LVIDs) from the M-mode of the right parasternal short-axis view of the left ventricle at the level of the chordae tendinae, which allowed calculating the left ventricular fractional shortening (FS). The pulmonary and the aortic internal diameters (Pu and Ao respectively) were measured at the level of the Valsalva sinus from 2D-mode of the right parasternal image of the heart base at the level of the pulmonary valve and 2D-mode of the right parasternal long-axis five-chamber view, respectively. The left atrial internal diameter (LA) was measured from the two-dimensional left parasternal long-axis angled view of left ventricle. From those measurements, calculation of the LA/Ao and Pu/Ao ratios was carried out. The measurements of chambers and vessels diameters were normalised to a body weight (BW) of 500 kg according to the principle of allometric scaling¹⁵ and using the following equation as suggested by Trachsel et al. (2012)¹³:

$$\text{Chamber or vessel diameter}_{500} = \text{measured chamber or vessel diameter} / \text{BW}^{1/3} \times 500^{1/3}$$

The values of LVIDd and LA obtained in each horse were compared to the reference values and 95 percent confident limits according to its BW and breed as previously published.¹⁶ When the measured value was above the maximal confidence limit interval, the percentage of dilation as compared to this latter value was calculated.

For each heart valve, the presence of a valvular insufficiency was noted, and its grading was based on a subjective grading scale (absent, mild, moderate or severe) including its duration and timing, maximal velocity, area, maximal width and width at the regurgitant orifice.¹⁴ Concerning the area of the regurgitant flow, tricuspid and mitral insufficiency were estimated as mild when the regurgitation jet extended to less than 20% of right or left atrial cavity, moderate when the regurgitation jet extended to up to 50% of right or left atrial cavity, and severe when the regurgitation jet extended beyond 50% of right or left atrial cavity. Aortic and pulmonary insufficiencies were estimated as mild when the regurgitation jet extended just beyond the aortic valve, moderate when the regurgitation jet extended to the tips of opening mitral valve, and severe when the regurgitation jet extended beyond the mitral valve leaflets into the left ventricular cavity.¹⁴

Stage of heart failure

For each horse, the stage of HF was classified using the system of the American College of Cardiology/American Heart Association for the treatment of heart disease and failure in human patients¹⁷ and adapted to the management of canine chronic valvular heart diseases by the American College of Veterinary Internal Medicine (ACVIM) consensus panel.¹⁸ Horses with no cardiac disorder (i.e. horses without pathologic cardiac murmur and with no or mild regurgitation on echocardiography) and no clinical signs suggestive of a cardiac disorder were classified as stage A. Horses with a structural heart disease (i.e. horses with a pathologic cardiac murmur associated with a moderate or severe regurgitation on echocardiography) but without associated clinical signs were classified as stage B, and further classified as stage B1 or B2 according to the fact that they had not or had, respectively, echocardiographic evidence of cardiac remodelling (i.e. qualitative signs of volume overload and/or chambers measurements above of the normal range). Horses with clinical signs of HF and echocardiographic evidence of cardiac remodelling were classified as stage C. No attempt was made to further differentiate those horses into class C or D according to their response to standard therapy because not all horses were submitted to treatment according to the owner's will.

Blood sampling

Venous blood samples were collected from the jugular vein using monovette neutral tubes containing 200 µl Benzamidine/EDTA solution. The samples were immediately put on ice and were centrifuged at 2200 g for 10 min at 4°C within 10 minutes after sample collection. Plasma was then harvested, transferred into cryovials (TTP Techno Plastic Products), and stored at -80 °C upon analysis. The ANP was extracted and its plasma concentration (ANP_{pl}) was measured using a commercially available radioimmunoassay (RIA) kit (Atrial Natriuretic Fact 1-28 RIA Kit, Bachem Ltd, United Kingdom) and a gamma-counter (1261 multigamma, Perkin Elmer Life Science, Wallac Berthold).

Statistical Analysis

Correlations between ANP_{pl} and each echocardiographic parameter were assessed using a Pearson's product-moment analysis on the 91 studied horses. In horses with LVIDd or LA above the reference range, the correlations between ANP_{pl} and the percentage of dilation of each of those chambers were also assessed using a Pearson's product-moment analysis. In horses with HF Stage A, the correlations between ANP_{pl} and the BW and age were assessed using the same analysis.

The mean ANP_{pl} values were compared between horses with no, mild, moderate or severe mitral insufficiency using a one-way ANOVA test. The same test was performed to compare ANP_{pl} between horses with no, mild, moderate or severe aortic insufficiency, tricuspid insufficiency, or a valvular insufficiency whatever the affected valve.

The mean values of BW, age, ANP_{pl} and each echocardiographic parameter were compared between horses in stage A, B1, B2 or C of HF using a one-way ANOVA test. For all tests, a P value ≤ 0.05 was considered to be significant.

Results

Fourteen horses of the study had no valvular insufficiency, 49 had one or several mild or very mild valvular insufficiencies, 12 had one or more valvular insufficiencies no higher than moderate, and 16 had at least one severe valvular insufficiency. Most of the studied horses had several valves simultaneously affected. Table 1 compares mean values of ANP_{pl} in horses with various types and severities of valvular insufficiencies. Whatever the considered valve, horses with severe or moderate insufficiencies had significantly higher ANP_{pl} than horses with no or mild insufficiencies, horses with severe insufficiencies had significantly higher ANP_{pl} than horses with moderate insufficiencies, but ANP_{pl} was not significantly different between horses with no or mild insufficiencies. The highest ANP_{pl} values were reached in horses with severe atrioventricular regurgitation.

No significant correlation to ANP_{pl} was present with BW or age of the horses in HF stage A, with LVIDs, LVIDs₅₀₀, Ao, Ao₅₀₀, in the 91 studied horses, and with the percentage of left ventricular dilation in horses with cardiac remodelling. On the contrary, there was a significant correlation between ANP_{pl} and all the other echocardiographic parameters in the 91 studied horses, and the correlation was strong and markedly higher for LA₅₀₀ and for the percentage of left atrial dilation than for the other echocardiographic parameters (Table 2).

Table 3 compares the mean BW, age, ANP_{pl} and echocardiographic parameters in the studied horses according to their HF stage. Seven out of the 8 horses with HF stage C had a severe mitral insufficiency, and one of them had a severe tricuspid associated to a moderate mitral insufficiency. All of them were in atrial fibrillation, associated in 2 of them to premature ventricular depolarisations.

Horses with HF stage B1 and C were significantly older than horses with HF stage A. Horses with HF stage C and B1 were significantly heavier than horses with HF stage A and B2, and with HF stage B2, respectively. A plot box graph of ANP_{pl} in horses of each of the 4 HF stages groups is shown in Figure 1. The mean ANP_{pl} value was significantly higher in each HF stage than in all of the lower HF stages. All echocardiographic parameters, excepted for LVIDs, Ao and their parameters indexed for a BW of 500kg, were significantly higher in horses in the HF stage C group than in the other groups.

Discussion

This study only included cases of valvular insufficiencies because it is the most common cause of cardiac disease leading to HF in the equine species.¹⁹⁻²³ Assessment of the clinical importance of a valvular insufficiency can be a difficult challenge for the equine clinician when it is not associated with clinical signs specific of a cardiac problem, especially in the context of a prepurchase examination or evaluation of poor performance.²⁴ Assessment of the prognosis on horses with valvular insufficiency is also a very difficult task. Indeed, in a large majority of the cases, even if the prognosis can be roughly evaluated on the basis of the severity of the regurgitation and its repercussions on cardiac morphology and function on echocardiography, associated clinical signs, and evolution rate,^{20,21,25-28} the evolution remains often unpredictable.²⁰ Any additional tool that could help in this field would thus be of value.

Results of this study suggest that ANP_{pl} could be an additional useful diagnostic tool of valvular insufficiency and heart failure in the equine species, because whatever the affected valve, it was shown to be significantly higher in horses with severe and moderate valvular insufficiencies than in horses with no or mild valvular insufficiency. Even more interesting was the significantly higher ANP_{pl} found for each stage of HF as compared with the previous one. In human and small animal medicine, natriuretics have been shown to be useful biomarkers for staging of cardiac disease.^{2,8,9,29,30} The results of this study suggest that ANP_{pl} could play the same role in horses. This is of particular interest because accurate staging of heart failure in this species is limited by two facts. Firstly, evaluation of the severity of valvular regurgitations by Doppler echocardiography in this species is limited by the depth of the cardiac structures to be examined and the difficulties in adequate Doppler beam alignment with the valvular flows.¹⁴ Secondly, evaluation of the degree of cardiac remodelling based on echocardiographic measurements was, up to recently, limited by the lack of reference values in horses with small or large body size. Indeed, several studies demonstrated a significant correlation between echocardiographic parameters and BW in horses,^{15,16,31} which indicates the need for a correction of echocardiographic measurements for body size in this species and precluded interpretation of cardiac chambers diameters in small and large horses. The recent establishment of reference values of echocardiographic measurements in horses of various breed as a function of their BW,¹⁶ should however limit this problem.

Plasma concentration of natriuretics have been shown to be strong prognosis indicators at all stages of cardiac disease in human patients^{4,30,32} and in small animals.^{2,3,5,6} They were demonstrated to be better predictors of survival than many traditional prognostic indicators, such as New York Heart Association class, serum creatinine, or left ventricular ejection fraction.² Because of the above-mentioned difficult assessment of the prognosis in the equine species, the results of our study suggest to similarly investigate the prognostic value of ANP_{PI} in this species.

Another application of natriuretics in human and small animal cardiology that could also find an application in equine cardiology is treatment monitoring. Indeed, in humans and dogs with HF, a better outcome has been shown to be correlated with lower pre-treatment and greater percentage of decrease of natriuretic levels after starting the treatment.^{3,7,33,34}

In two previous studies performed in horses with cardiac problems, ANP_{PI} showed no statistical differences between control horses and horses with heart disease but without LA enlargement, LA dysfunction, or LV enlargement and that were asymptomatic.^{12,13} In the study of Gehlen et al., (2007)¹² ANP_{PI} was moreover not significantly higher in asymptomatic horses with valvular insufficiency and LA and/or left ventricular enlargement (a group that would have yet been classified in stage B2 in our study) as compared to the control group. Those discrepancies could be due to the larger number and the wider range of HF stages of the horses investigated in the present study, to the more strict criteria used in the present study to define LA or left ventricular enlargement from echocardiographic measurements thanks to the use of echocardiographic breed and BW-specific reference values, to the classification system used to define the HF stage, or to the technique used to measure ANP_{PI}, including sample handling, storage conditions, or sensitivity of the used RIA. From those hypothesis, the last is the most likely. Indeed, absolute values of ANP_{PI} obtained in the present study in the group of the 14 healthy horses without valvular regurgitation and using the Atrial Natriuretic Fact 1-28 RIA Kit produced by Bachem Ltd was 44.7 ± 29.6 pg/ml, ranging from 10.3 to 94.5 pg/ml. This was markedly higher than the values ranging from 7.2 to 34.0 pg/ml (mean 14.4 pg/ml) in the control group of the study of Trachsel et al. (2012)¹³ using the RK-005-06 RIA kit produced by Phoenix Pharmaceuticals, and that mean value ranging from 14.2 ± 3.4 pg/ml to 25.2 ± 4.4 pg/ml in healthy horses in previous studies using the S-2011 RIA kit produced by Peninsula Laboratorie.^{12,35-37} Those differences were even more striking for mean plasma ANP concentration obtained in horses with moderate and severe cardiac diseases: in the present study, values ranging from 280.3 to 599.5 pg/ml were obtained in horses with stage C of HF, which is markedly higher than the maximal value of 70.7 pg/ml obtained in the study of Trachel et al. 2012,¹³ the only study previously reporting plasma ANP concentration on horses with severe cardiac diseases associated with clinical signs. On the contrary, values of ANP_{PI} obtained in the present study were comparable to values reported in dogs and humans with and without various degree of cardiac failure.^{29,38,39}

The higher ANP values obtained using the RIA kit used in the present study than in previous studies in horses could be attributed to the specificity of the reference curve of the latter kit, or to a better affinity of the antibodies of the used kit than those of the previously used kit for equine ANP.^{40,41} The higher discrimination power between horses with no, slight, moderate or severe valvular insufficiencies obtained in the present study as compared with previous studies could suggest that the RIA kit used in the present study have a higher diagnostic value in horses than the previously used kits.

ANP is abundantly expressed in the heart, but the atrium is the major site of its synthesis, such as tissue levels of ANP are 250 to 1000 fold higher in the atria than in the ventricles.^{2,42} In healthy adult humans and dogs, ventricular myocytes produce little ANP, but ventricular ANP expression is increased in hypertrophied ventricles and in situations of volume overload, making the ventricle a substantial source of circulating ANP in cases of severe heart failure.^{2,3,42} This is in good agreement with the results of the present study in horses, where plasma ANP concentration was higher in the horses suffering from the 2 valvular insufficiencies most susceptible to induce an atrial overload and enlargement, i.e. mitral and tricuspid regurgitation, and was more closely correlated with LA and percentage of dilation of LA than with the other echocardiographic parameters, including LVIDd and percentage of dilation of the left ventricle. Moreover, all the horses in stage C of HF were in atrial fibrillation, which has been shown in human patients to be associated with high levels of ANP_{pl}.^{43,44}

There were significant age differences between horses of the different HF stage groups in this study. The fact that horses in the more advanced stages of HF were older than horses in stage A is not surprising, since the majority of the studied cardiac horses had a left-sided valvular insufficiencies, diseases that have been suggested to increase in incidence with age in horses.^{20,24,45} This could have partly biased the ANP_{pl} results obtained in those latter groups, since in humans, plasma natriuretic levels have been shown to rise with age, especially in the elderly (above 70-80 years-old). No such data are available in horses. However, there was absolutely no correlation between age and ANP_{pl} in horses with no significant valvular insufficiency in the present study (horses of the HF stage A group, with the same age range than horses in stage B or C of HF). Those results doesn't exclude that in older horses, more representative of human patients with increased plasma natriuretic levels, ANP_{pl} could be increased.

In conclusion, the results of our study suggest that in horses with valvular insufficiency, ANP_{pl} appears to be an accurate biomarker to evaluate the degree of heart failure, especially in valvular insufficiencies associated with an enlargement or a dysfunction of the atria. Pronostic value and usefulness of this biomarker to monitor response to cardiac therapy should be further investigate, as should NT-proANP. Moreover, cloning and sequencing the equine BNP gene would allow the possibility of developing equine-specific BNP and NT-proBNP essays, and those biomarkers could be

of interest in horses suffering from heart diseases, especially those mainly associated with ventricular enlargement or dysfunction.

Table 1: Comparison of mean values of ANP_{pl} in 91 horses with various* types and severities of valvular insufficiencies.

Type	Valvular insufficiency Severity	N	Mean ± SE
Mitral	S	7	419.89 ± 39.79 ^{M,Mil,Ab}
	M	6	182.23 ± 36.66 ^{Mil,Ab}
	Mil	29	68.81 ± 10.39
	Ab	49	62.18 ± 6.67
Tricuspid	S	4	372.97 ± 93.15 ^{M,Mil,Ab}
	M	9	189.01 ± 51.25 ^{Mil,Ab}
	Mil	21	45.95 ± 6.96
	Ab	57	86.26 ± 11.18
Aortic	S	10	245.87 ± 52.46 ^{Mil,Ab}
	M	5	175.98 ± 52.78 ^{Mil,Ab}
	Mil	32	65 ± 8.44
	Ab	44	83.09 ± 16.04
Mitral, Tricuspid and/or Aortic	S	16	292 ± 36.55
	M	12	97.35 ± 11.67
	Mil	49	53.77 ± 4.97
	Ab	14	42.57 ± 7.66

* Valvular insufficiency was classified as absent, mild, moderate or severe mitral, tricuspid, aortic or mitral, tricuspid and/or aortic insufficiency in the 91 horses.

Ab: Absent valvular insufficiency, Mil: Mild (slight) valvular insufficiency, M: Moderate valvular insufficiency, S: Severe valvular insufficiency. P < 0.05.

Table 2: P value and Correlation coefficient (R), using a Pearson’s product moment analysis, between plasma atrial natriuretic peptide concentration (ANP_{Pl}) and age and body weight (BW) in 63 horses without significant valvular insufficiency, between ANP_{Pl} and echocardiographic parameters in 91 horses without or with various degree of valvular insufficiencies, and between ANP_{Pl} and the percentage of dilation of the left ventricle or the left atrium in 13 and 15 horses, respectively, with valvular insufficiency and cardiac remodelling.

Parameter	n	P	R
BW	63	0.942	-0.01
Age	63	0.593	-0.07
LVIDd	91	< 0.0001	0.50
LVIDd ₅₀₀	91	< 0.0001	0.49
LVIDs	91	0.096	0.18
LVIDs ₅₀₀	91	0.140	0.16
LA	91	0.0001	0.64
LA ₅₀₀	91	< 0.0001	0.93
Ao	91	0.445	0.08
Ao ₅₀₀	91	0.520	0.07
Pu	91	0.006	0.29
Pu ₅₀₀	91	0.007	0.28
FS	91	0.0005	0.36
LA/AO	91	< 0.0001	0.52
Pu/AO	91	0.021	0.24
%DIL LV	13	0.275	-0.33
%DIL LA	15	< 0.0001	0.81

LVIDd and LVIDs: left ventricular internal diameter at end diastole and at end systole, respectively; Ao, Pu and LA: aortic, pulmonary, and left atrial internal diameter, respectively; FS: fractional shortening of the left ventricle; LVIDd, LVIDs₅₀₀, L₅₀₀, AO₅₀₀ and Pu₅₀₀ : LVIDd, LVIDs, LA, Ao and Pu normalized for a BW of 500 Kg; %DIL LV and %DIL LA: percentage of dilation of the LVIDd and of the LA, respectively, as compared to the upper limit of the reference range of this parameter for each considered horse.

Table 3: Comparison of the mean value of BW, age, and echocardiographic parameters in 91 horses with or without valvular insufficiency associated with various degree of heart failure (HF).

Parameter	P	Heart Failure Stage			
		A	B1	B2	C
N		61	14	8	8
BW (Kg)	0.017	498 ± 11	537 ± 20 ^{B2}	441 ± 22	562 ± 27 ^{A,B2}
Age (years)	0.035	9,4 ± 0,7 (3-27)	13,7 ± 2,5 ^A (3-26)	13,9 ± 3,5 (3-30)	14,9 ± 2,9 ^A (7-26)
ANP (pg/ml)	<0.0001	51 ± 4,34	90,32 ± 11,12 ^A	184,9 ± 27,4 ^{A,B1}	402,4 ± 38,6 ^{A,B1,B2}
LVIDd (cm)	<0.0001	11 ± 0,17	12,08 ± 0,24 ^A	13,60 ± 0,78 ^{A,B1}	13,88 ± 0,44 ^{A,B1}
LVIDd _{s00}	<0.0001	11,01 ± 0,15	11,85 ± 0,28 ^A	14,23 ± 0,89 ^{A,B1}	13,37 ± 0,39 ^{A,B1}
LVIDs	0.007	6,56 ± 0,14	6,96 ± 0,25	8,03 ± 0,70 ^{A,B1}	7,19 ± 0,29
LVIDs ₅₀₀	0.001	6,58 ± 0,14	6,84 ± 0,29	8,41 ± 0,79 ^{A,B1,C}	6,93 ± 0,27
LA	<0.0001	10,96 ± 0,18	11,68 ± 0,30	12,17 ± 0,47 ^A	15,12 ± 0,50 ^{A,B1,B2}
LA500	< .0001	10,99 ± 0,14	11,45 ± 0,31	12,69 ± 0,38 ^{A,B1}	14,58 ± 0,51 ^{A,B1,B2}
Ao	0.170	7,56 ± 0,12	7,97 ± 0,16	8,04 ± 0,37	8,03 ± 0,30
Ao ₅₀₀	0.033	7,56 ± 0,09	7,81 ± 0,17	8,41 ± 0,31 ^A	7,73 ± 0,26
FS	0.006	40,41 ± 0,69	42,30 ± 1,93	41,68 ± 2,48	48,17 ± 1,46 ^{A,B1,B2}
Pu	0.003	6,38 ± 0,13	6,88 ± 0,20	6,62 ± 0,36	7,76 ± 0,3 ^{A,B1,B2}

Pu ₅₀₀	0.013	6,39 ± 0,12	6,74 ± 0,21	6,93 ± 0,33	7,49 ± 0,35 ^A
LA/AO	<0.0001	1,34 ± 0,03	1,47 ± 0,04	1,45 ± 0,04	1,91 ± 0,11 ^{A,B1,B2}
Pu/AO	0.046	0,85 ± 0,02	0,86 ± 0,02	0,82 ± 0,01	0,97 ± 0,04 ^{A,B1,B2}

See Table 2 for legends.

Heart failure Stage A: horses without significant valvular insufficiency and without clinical signs of heart disease; Heart failure Stage B1: asymptomatic horses with significant valvular insufficiency but without cardiac remodelling, Heart failure Stage B2: asymptomatic horses with significant valvular insufficiency and cardiac remodelling; and Heart failure Stage C: horses with significant valvular insufficiency, cardiac remodelling, and clinical signs of heart failure.

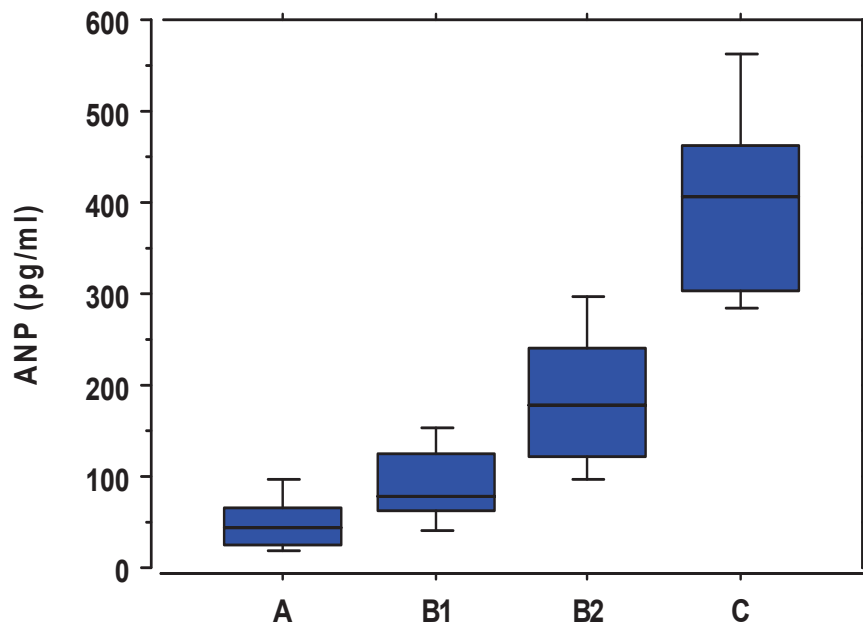


Figure 1. Box plot of the plasma ANP concentration in horses in class A, B1, B2 or C heart failure stage. For each plot, the box represents the interquartile range (IQR), the horizontal line in the middle of the box represents the median, and the whiskers denote the range extending to 1.5 times the IQR from the upper and lower quartiles.

References

1. Yoshimura M, Yasue H, Ogawa H. Pathophysiological significance and clinical application of ANP and BNP in patients with heart failure. *Can J Physiol Pharmacol*, 2001;79:730-735.
2. Nishikimi T, Kuwahara K, Nakao K. Current biochemistry, molecular biology, and clinical relevance of natriuretic peptides. *J Cardiol* 2011;57:131-140.
3. van Kimmenade RR, Januzzi JLJ. The evolution of the natriuretic peptides - Current applications in human and animal medicine. *J Vet Cardiol* 2009 (Suppl) 2009;11:9-21.
4. Ghosh N, Haddad H. Atrial natriuretic peptides in heart failure: pathophysiological significance, diagnostic and prognostic value. *Can J Physiol Pharmacol* 2011;89:587-591.

5. Reynolds CA, Brown DC, Rush JE, et al. Prediction of first onset of congestive heart failure in dogs with degenerative mitral valve disease: the PREDICT cohort study. *J Vet Cardiol* 2012;14:193-202.
6. Hezzell MJ, Boswood A, Chang YM, et al. The combined prognostic potential of serum high-sensitivity cardiac troponin I and N-terminal pro-B-type natriuretic peptide concentrations in dogs with degenerative mitral valve disease. *J Vet Intern Med* 2012;26:302-311.
7. Wolf J, Gerlach N, Weber K, et al. Lowered N-terminal pro-B-type natriuretic peptide levels in response to treatment predict survival in dogs with symptomatic mitral valve disease. *J Vet Cardiol* 2012; PMID: 22858663 [PubMed - as supplied by publisher]
8. Connolly DJ. Natriuretic peptides: the feline experience. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2010;40:559-570.
9. Oyama MA, Singletary GE. The use of NT-proBNP assay in the management of canine patients with heart disease. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2010;40:545.
10. Daniels LB, Maisel AS. Natriuretic peptides. *J Am Coll Cardiol* 2007;50:2357-2368.
11. Richter R, Mägert H, Mifune H, et al. Equine cardiodilatin/ atrial natriuretic peptide. Primary structure and immunohistochemical localization in auricular cardiocytes. *Acta Anat (Basel)* 1998;162:185-193.
12. Gehlen H, Sundermann T, Rohn K, et al. Plasma atrial natriuretic peptide concentration in warmblood horses with heart valve regurgitations. *J Vet Cardiol* 2007;9:99-101.
13. Trachsel DS, Grenacher B, Weishaupt MA, et al. Plasma atrial natriuretic peptide concentrations in horses with heart disease: a pilot study. *Vet J* 2012;192:166-170.
14. Boon JA. Evaluation of size, function, and hemodynamics. In: Boon JAE, ed. *Veterinary echocardiography*. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell; 2011:153-266.
15. Brown DJ, Rush JE, MacGregor J, et al. M-mode echocardiographic ratio indices in normal dogs, cats, and horses: a novel quantitative method *J Vet Intern Med* 2003;17:653-662.
16. Al-Haidar A, Leroux A, Borde L, et al. Relationship Between Echocardiographic Measurements and Body Size in Horses. *J Equine Vet Science* 2012;en press.
17. Hunt SA, Baker DW, Chin MH, et al. ACC/AHA guidelines for the evaluation and management of chronic heart failure in the adult: Executive summary. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (committee to revise the 1995 guidelines for the evaluation and management of heart failure). *J Am Coll Cardiol* 2001;38:2101-2113.
18. Atkins C, Bonagura J, Ettinger S, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of canine chronic valvular heart disease. ACVIM consensus statement. *J Vet Intern Med* 2009;23:1142-1150.
19. Patteson MW, Cripps PJ. A survey of cardiac auscultatory findings in horses. *Equine Vet J* 1993;25:409-415.

20. Patteson MW. Cardiovascular pathology and pathophysiology. In: Patteson MWE, ed. Equine cardiology. Blackwell Science Ltd: Oxford: Blackwell Science Ltd; 1996:27-37.
21. Kriz NG, Rose RJ, Hodgson DR. Cardiovascular system. In: Rose RJ, Hodgson DRE, eds. Manual of equine practice, 2nd ed. WB Saunders Co.: Philadelphia: WB Saunders Co.; 2000:237-257.
22. Young LE, Rogers K, Wood JLN. Heart murmurs and valvular regurgitation in Thoroughbred race horses: Epidemiology and associations with athletic performance. *J Vet Intern Med* 2008;22:418-426.
23. Imhasly A, Tschudi PR, Lombard CW, et al. Clinical and echocardiographic features of mild mitral valve regurgitation in 108 horses. *Vet J* 2010;183:166-171.
24. Marr CM. Cardiac murmurs: valvular regurgitation and insufficiency. In: Marr CM, Bowen ME, eds. Cardiology of the horse, 2nd ed. London: WB Saunders Company; 2010:207-216.
25. Reef VB. Cardiovascular problems associated with poor performance In: Robinson NE, ed. Current therapy in equine medicine 3. Philadelphia: WB saunders; 1992:381-383.
26. Geor R, McCutcheon LJ. Cardiovascular and respiratory function in the performance horse. In: Kobluk CN, Ames TR, Geor RJE, eds. The horse: diseases and clinical management WB Saunders Company: Philadelphia: Philadelphia; 1996:1285-1294.
27. Blissitt KJ. Diagnosis and treatment of atrial fibrillation. *Equine Vet Educ* 1999;11:11-19.
28. Maurin E, Amory H, Sandersen C. Etude rétrospective de quarante et un d'insuffisance mitrale chez le cheval (1995-2001). *Prat Vet Equine* 2003;35:13-19.
29. Hori Y, Yamano S, Kanai K, et al. Clinical implications of measurement of plasma atrial natriuretic peptide concentration in dogs with spontaneous heart disease. *J Am Vet Med Assoc* 2011;239:1077-1083.
30. Du JB, Da CH, Zhao Y, et al. The role of brain natriuretic peptide and serum triiodothyronine in the diagnosis and prognosis of chronic heart failure. *Acta Cardiol* 2012;67:291-296.
31. Rovira S, Muñoz A, Rodilla V. Allometric scaling of echocardiographic measurements in healthy Spanish foals with different body weight *Res Vet Scien* 2009;86:325-331.
32. Sato Y, Fujiwara H, Takatsu Y. Biochemical markers in heart failure. *J Cardiol* 2012;59:1-7.
33. Richards AM, Troughton RW. Use of natriuretic peptides to guide and monitor heart failure therapy. *Clin Chem* 2012;58:62-71.
34. Saremi A, Gopal D, Maisel AS. Brain natriuretic peptide-guided therapy in the inpatient management of decompensated heart failure. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2012 10:191-203.
35. Kokkonen UM, Hyyppä S, Pösö AR. Plasma atrial natriuretic peptide during and after repeated exercise under heat exposure. *Equine Vet J (Suppl)* 1999;30:184-189.
36. Kokkonen UM. Plasma atrial natriuretic peptides in the horse and goat with special reference to exercising horses. In: Department of Basic Veterinary Sciences. Helsinki, Finland: University of Helsinki and National Veterinary and Food Research Institute; 2002:64.

37. McKeever KH, Scali R, Geiser S, et al. Plasma aldosterone concentration and renal sodium excretion are altered during the first days of training. *Equine Vet J (Suppl)* 2002;34:524-531.
38. Shenker Y, Sider RS, Ostafin EA, et al. Plasma Levels of Immunoreactive Atrial Natriuretic Factor in Healthy Subjects and in Patients with Edema. *J Clin Invest* 1985;76:1684-1687.
39. Cody RJ, Atlas SA, Laragh JH, et al. Atrial Natriuretic Factor in Normal Subjects and Heart Failure Patients: Plasma Levels and Renal, Hormonal, and Hemodynamic Responses to Peptide Infusion. *J Clin Invest* 1986;78:1362-1374.
40. McDonagh TA, Robb SD, Murdoch DR, et al. Biochemical detection of left-ventricular systolic dysfunction. *The Lancet* 1998;351:9-13.
41. Clerico A, Silvia Del Ry SD, Giannessi D. Measurement of Cardiac Natriuretic Hormones (Atrial Natriuretic Peptide, Brain Natriuretic Peptide, and Related Peptides) in Clinical Practice: The Need for a New Generation of Immunoassay Methods. *Clin Chemist* 2000;46:1529-1534.
42. Yasue H, Yoshimura M, Sumida H, et al. Localization and mechanism of secretion of B-type natriuretic peptide in comparison with those of A-type natriuretic peptide in normal subjects and patients with heart failure. *Circulation* 1994;90:195-203.
43. Marsiliani D, Buccelletti F, Carroccia A, et al. Natriuretic peptides and atrial fibrillation. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2010;14:855-860.
44. Wozakowska-Kapłon B. Biomarkers for early diagnosis of subclinical organ damage in hypertension - whether it meets expectations. *Kardiol Pol* 2010;68:1003-1004.
45. Stevens KB, Marr CM, Horn JNR, et al. Effect of left-sided valvular regurgitation on mortality and causes of death among a population of middle-aged and older horses. *Vet Rec* 2009;164:6-10.

Discussion générale

DISCUSION GENERALE

La cardiologie occupe une place importante en médecine interne équine (Geor et McCutcheon, 1996; Reef *et al.*, 1998; Blissitt, 1999; Durando, 2003; Young *et al.*, 2008; Imhasly *et al.*, 2010) bien que les affections cardiaques soient relativement rares dans l'espèce équine par rapport aux autres espèces (Geor et McCutcheon, 1996; Bonagura *et al.*, 2010). La performance et la capacité sportive des chevaux peuvent cependant être influencées par de faibles dysfonctionnements de la fonction cardiaque (Geor et McCutcheon, 1996; Bonagura *et al.*, 2010). Ainsi, les pathologies cardiovasculaires constituent la troisième cause d'intolérance à l'effort chez le cheval, après les pathologies du système locomoteur et du système respiratoire (Reef *et al.*, 1989; Morris et Seeherman, 1991). Et, parmi les pathologies cardiaques affectant l'espèce équine, les insuffisances valvulaires occupent une place importante.

Le but de ce travail était d'améliorer et d'affiner les moyens permettant d'établir un diagnostic et un pronostic en cas d'insuffisance valvulaire chez le cheval en utilisant l'échocardiographie doppler et la mesure d'un biomarqueur cardiaque, qui, dans de nombreuses autres espèces sont considérées comme des techniques utiles et fiables dans ce domaine.

En ce qui concerne l'échocardiographie, la revue de la littérature révèle qu'en médecine équine, bien qu'une standardisation spécifique des vues en mode bidimensionnel (2D), temps-mouvement (TM) et Doppler a été établie pour cette espèce, et que la répétabilité de la technique a été testée et des normes de référence établies chez les chevaux pur sangs et trotteurs, il existe peu de données quant à la répétabilité des mesures échocardiographiques et aux normes de référence dans les autres races (Lescure et Tamzali, 1984; Paull *et al.*, 1987; Stadler *et al.*, 1993). Or, il a été suggéré par plusieurs auteurs que chez le cheval (Lescure et Tamzali, 1984; Lombard *et al.*, 1984; Slater et Herrtage, 1995; Brown *et al.*, 2003), comme c'est le cas dans d'autres espèces (Morrison *et al.*, 1992; Lonsdale *et al.*, 1998; Brown *et al.*, 2003; Kayar *et al.*, 2006; Muzzi *et al.*, 2006; Bavegems *et al.*, 2007; Hall *et al.*, 2008; Lobo *et al.*, 2008; Vörös *et al.*, 2009; Boon, 2011) les mesures échocardiographiques sont influencées par toute une série de variables physiologiques, dont principalement la taille corporelle. Chez l'homme, il a en outre été démontré que le sexe, l'âge ou la race influencent également les mesures échocardiographiques (Gardin *et al.*, 1995; Sadiq *et al.*, 2007). L'effet de ces variables physiologiques n'avait jusqu'alors que peu voire pas été étudié dans l'espèce équine. Les normes de références publiées chez le pur sang ou le trotteur adulte ne sont donc pas forcément applicables dans d'autres races ou chez de jeunes chevaux en croissance. Pourtant, la disponibilité de normes de référence des mesures échocardiographiques est essentielle pour pouvoir déterminer si, chez un patient donné, les mesures échocardiographiques obtenues sont normales ou suggestives d'une pathologie avec remodelage cardiaque. La première étape de notre étude a donc consisté en l'établissement de normes de référence échocardiographiques précises dans l'espèce

équine, basées sur l'établissement préalable de la répétabilité d'un protocole standardisé dans des races autres que le pur sang ou le trotteur, et sur le testage de l'effet de diverses variables physiologiques potentiellement influentes sur les mesures échocardiographiques dans cette espèce.

Dans notre première étude, les mesures échocardiographiques morphologiques se sont révélées plus répétables que les mesures de flux en mode Doppler pulsé. Les mesures échocardiographiques morphologiques obtenues en mode 2D et M, obtenues chez des chevaux de races et conformations très variables, présentaient une répétabilité élevée ou très élevée. Par contre, les mesures de flux en Doppler pulsé présentaient une répétabilité élevée ou modérée. Ces résultats étaient comparables à ceux rapportés dans la littérature chez des chevaux pur sang anglais et trotteurs (Long *et al.*, 1992; Buhl *et al.*, 2004). Il était cependant important de vérifier la répétabilité des mesures chez des chevaux de conformation thoracique très différente de ces deux races, car il est un fait établi que la qualité des images échocardiographiques produites chez des races plus lourdes ou dont le thorax possède une conformation plus profonde est moindre que chez les chevaux proches du sang. Ces difficultés techniques auraient pu limiter la répétabilité des mesures échocardiographiques dans les races autres que le trotteur ou le pur sang.

Les résultats obtenus dans cette étude suggèrent le protocole échocardiographique suivant pour optimiser la répétabilité des mesures échocardiographiques chez des chevaux de conformation variable:

- 1- Vue parasternale droite petit axe du ventricule gauche à hauteur des cordages tendineux en mode TM pour la mesure des paramètres ventriculaires gauches (LVID, IVS et LVFW) en fin de diastole (d) et de systole (s). En cas de difficulté pour obtenir cette vue, la vue parasternale long axe 4 cavités en mode 2D peut être utilisée comme vue alternative.
- 2- Vue parasternale droite long axe 5 cavités en mode 2D pour la mesure de Ao.
- 3- Vue parasternale gauche long axe 4 cavités inclinée pour la mesure de LA.
- 4- Vue parasternale droite petit axe en base cardiaque à hauteur du tractus d'éjection du ventricule droit pour la mesure de Pu.

L'étape suivante dans l'établissement des normes de référence échocardiographiques dans l'espèce équine a consisté à vérifier si les mesures échocardiographiques sont influencées par la taille corporelle dans cette espèce, et à déterminer le cas échéant quel était le meilleur paramètre anthropomorphique à utiliser et quel était le meilleur modèle mathématique à appliquer pour décrire cette relation. Pour ce faire, la relation entre différents paramètres d'évaluation de la taille corporelle, à savoir BW, BSA, TC, HT et BL, et les mesures échocardiographiques a été étudiée sur une large population de chevaux de taille variable. Selon les résultats obtenus dans cette étude, à l'exception des ratios LA/Ao et Pu/Ao et de FS, tous les paramètres échocardiographiques mesurés en mode 2D et TM

montraient une corrélation étroite significative avec chacun des paramètres anthropométriques d'estimation de la taille corporelle, bien que cette relation était moins étroite pour RVIDd ($r = 0.61$ à 0.68) que pour les autres paramètres morphologiques ($r = 0.78$ à 0.92). Ces résultats suggèrent que, comme démontré dans plusieurs autres espèces, il existe une corrélation étroite positive entre les mesures échocardiographiques et la taille corporelle dans l'espèce équine. De la même façon, l'absence de corrélation entre les ratios ou FS avec la taille corporelle exprimée sous forme de BW ou BSA avait déjà également été rapportée dans d'autres espèces (Brown *et al.*, 2003).

Cette relation était aussi significative et étroite quand l'analyse était réalisée séparément au sein de chaque sous-groupe d'âge (à savoir chevaux en croissance de moins de 2 ans et chevaux de plus de 2 ans) dans notre étude, ce qui suggère que l'effet de la taille corporelle sur les mesures échocardiographiques chez le cheval est indépendant du phénomène de croissance.

Pour la plupart des mesures échocardiographiques, TC était la variable d'estimation de la taille corporelle qui générait les plus hautes valeurs de coefficients de détermination (R^2). Ce paramètre est intéressant car il pourrait facilement être utilisé par des praticiens de terrain. Ceci étant dit, les valeurs de R^2 obtenues en utilisant BW, BSA or BL généraient des valeurs de R^2 légèrement plus faibles mais malgré tout très comparables à celles obtenues en utilisant TC. Seuls les R^2 obtenus en utilisant HT étaient nettement plus faibles, comme cela a également été démontré par plusieurs auteurs en médecine humaine (Lauer *et al.*, 1995).

Les R^2 obtenus par application d'une régression puissance étaient de façon générale plus élevés que ceux obtenus par application d'une régression linéaire ou logarithmique. Beaucoup d'études réalisées au départ chez l'homme et le chien et quelques rares études chez le cheval ont utilisé une régression linéaire pour décrire la relation entre les paramètres échocardiographiques et le poids corporel. Pourtant, de plus en plus d'auteurs suggèrent que la relation entre la taille du cœur et la taille corporelle est mieux décrite par un modèle curvilinéaire ou allométrique. Les résultats de la présente étude démontrent que cette hypothèse semble également être d'application en médecine équine, et que l'établissement de valeurs de référence utilisant de tels ajustements allométriques pour la taille corporelle devraient permettre d'augmenter la précision des mesures échocardiographiques dans cette espèce.

D'un autre côté, chez le cheval, les effets de variables physiologiques telles que l'entraînement et la croissance sur les paramètres échocardiographiques ont été rapportés (Lombard *et al.*, 1984; Stewart *et al.*, 1984; Young, 1999; Buhl *et al.*, 2005). Plusieurs auteurs ont suggéré un effet de la race sur ces mesures dans l'espèce équine (Lescure et Tamzali, 1984; Slater et Herrtage, 1995; Rovira et Munoz, 2009). Néanmoins, cet effet n'a jamais été statistiquement testé. De plus, l'effet du sexe et de l'âge sur les mesures échocardiographiques dans cette espèce n'ont pas non plus fait l'objet de tests statistiques. C'est la raison pour laquelle dans la troisième étape de ce travail, les effets du sexe, de la race, et de l'âge sur les mesures échocardiographiques ajustées de façon allométrique pour le BW ont été testés à

partir de mesures échocardiographiques et doppler réalisées dans une population large et hétéroclite de chevaux.

Aucune des mesures échocardiographiques obtenues en mode Doppler pulsé n'étaient significativement affectées par les variables physiologiques testées dans cette étude. Ce constat est en adéquation avec la plupart des études ayant été réalisées chez l'homme et chez les animaux de compagnie.

Par contre, la majorité (à savoir toutes sauf IVS, FS, et les ratios Pu/Ao et LA/Ao) des mesures échocardiographiques étaient significativement affectées par la race dans cette étude. Cependant, une partie des effets significatifs de la race étaient perdus lorsque l'analyse statistique était réalisée au sein de chaque sous-groupe d'âge (à savoir chevaux en croissance de moins de 2 ans et chevaux de plus de 2 ans). Les différences entre races sont bien sûr partiellement dues aux différences de taille corporelle. Il est donc très important d'inclure le poids corporel dans les études évaluant l'effet de la race sur ces paramètres, ce qui a été fait dans la présente étude. L'effet race démontré est donc bien distinguable de l'effet de la taille corporelle. Par contre, l'effet potentiel de l'entraînement sur les mesures échocardiographiques n'a pas été étudié. La raison en est que les chevaux investigués étaient soumis à des efforts physiques de nature extrêmement variable et qu'il était dès lors extrêmement difficile de classer leur statut d'entraînement sur base des données collectées auprès des propriétaires. Dès lors, les différences notées entre races dans notre étude peuvent donc avoir été partiellement dues à des différences de statut d'entraînement.

Concernant l'effet de l'âge sur les paramètres mesurés, les statistiques utilisées sur l'ensemble du groupe investigué ne permettaient cependant pas de faire la différence entre l'effet de la croissance et le vieillissement. C'est la raison pour laquelle une analyse supplémentaire a été réalisée au sein des deux sous-groupes d'âge. Cette dernière analyse n'a cependant pas permis de mettre en évidence un effet d'âge sur les mesures échocardiographiques chez le cheval, à l'exception des diamètres de l'artère pulmonaire et de l'aorte. Une investigation sur un plus grand nombre de chevaux d'âge avancé serait cependant utile pour étayer cette hypothèse. D'autre part, durant la période de croissance, il est difficile de différencier le processus intrinsèque de croissance de l'augmentation parallèle du poids corporel puisque ces deux phénomènes sont étroitement liés.

Sur l'ensemble du groupe investigué autant qu'au sein de chacun des deux sous-groupes, le sexe n'avait pas d'effet significatif sur les mesures échocardiographiques à l'exception de LVID dans le groupe des chevaux âgés de plus de 2 ans. Ces résultats sont différents de ceux obtenus dans la plupart des études réalisées chez l'homme et chez le chien, espèces dans lesquelles il a été démontré que la plupart des mesures échocardiographiques sont différentes chez les mâles et chez les femelles.

Sur base des résultats obtenus dans les 3 étapes préliminaires, il peut être conclu que pour être fiables et précises, les normes de référence échocardiographiques pour l'espèce devraient être établies au sein de chaque race et sous forme d'équation puissance avec le TC, le BW, la BL ou la BSA.

Or, la plupart des normes de référence échocardiographiques disponibles chez les chevaux ont été établies sous forme de moyennes \pm SE chez des chevaux adultes et seulement dans quelques races (Lescure et Tamzali, 1984; Paull *et al.*, 1987; Long *et al.*, 1992; Stadler *et al.*, 1993; Patteson *et al.*, 1995; Zucca *et al.*, 2008). Seule une étude a établi ces normes de référence en fonction du poids et sur base d'une équation puissance, mais cette étude n'incluait que des jeunes chevaux de race espagnole durant leur première année de vie (Rovira *et al.*, 2009).

Dans notre étude, la régression puissance (de type $Y = a.X^b$) entre les mesures échocardiographiques et BW d'une part et TC d'autre part, a été calculée pour différentes races fréquemment rencontrées dans nos contrées. De plus, pour établir les intervalles de confiance pour chacune des mesures échocardiographiques, les équations des intervalles de confiance au seuil 95% ont également été calculées au sein de chaque race. Les résultats de cette étude ont confirmé la corrélation significative et étroite existant entre les mesures échocardiographiques et BW d'une part et TC d'autre part (pour BW: $0.76 < R^2 < 0.89$ et pour TC: $0.77 < R^2 < 0.92$). Pour chacune des races étudiées, les normes de référence des mesures échocardiographiques ont ainsi été établies sous forme d'équations puissance en fonction de BW et puis en fonction de TC. Ces normes pourront être utilisées à l'avenir et renforceront considérablement la valeur diagnostique de l'échocardiographie dans l'espèce équine.

La mesure de marqueurs biochimiques occupe une place importante dans le diagnostic des pathologies cardiovasculaires (Nielsen *et al.*, 2003; Maurellet et Liu, 2008). Parmi ceux-ci, les peptides natriurétiques cardiaques (ANP, BNP et leurs dérivés de clivage NT-proANP et NT-proBNP) sont d'un intérêt considérable. De nombreuses études ont démontré en médecine humaine une augmentation de la sécrétion de ces biomarqueurs chez les patients présentant de l'insuffisance cardiaque congestive, et que cette augmentation est liée à la gravité de la pathologie en fonction du degré de surcharge ventriculaire et/ou auriculaire (van Kimmenade et Januzzi, 2009; Ghosh et Haddad, 2011; Nishikimi *et al.*, 2011; Hezzell *et al.*, 2012; Reynolds *et al.*, 2012; Wolf *et al.*, 2012). Il a aussi été démontré qu'ils sont très utiles pour établir le pronostic et pour assurer le suivi des patients en insuffisance cardiaque (van Kimmenade et Januzzi, 2009; Ghosh et Haddad, 2011; Nishikimi *et al.*, 2011; Reynolds *et al.*, 2012; Wolf *et al.*, 2012). Parmi ces marqueurs, de nombreuses études ont montré la supériorité diagnostique et pronostique du BNP ou son dérivé par rapport à l'ANP ou son dérivé chez des patients avec des pathologies cardiaques affectant la fonction ou la morphologie ventriculaire (Daniels et Maisel, 2007; Nishikimi *et al.*, 2011). Cependant, l'ANP et le NT-proANP ont aussi été montrés comme étant intéressants dans ce domaine, et de plus ils sont plus sensibles que le BNP ou le NT-proBNP chez les patients présentant une dilatation ou un dysfonctionnement auriculaire (Ghosh et Haddad, 2011).

Chez les chevaux, il n'existe pas de technique commercialement disponible pour mesurer la concentration du BNP ou NT-proBNP. Or, il a été démontré que la structure du BNP présente peu d'analogies entre espèces, et les tests disponibles chez l'homme ne sont donc pas applicables dans

d'autres espèces. A l'inverse, la structure de l'ANP a été démontrée comme étant bien conservée entre espèces, et donc les tests de mesure disponibles en médecine humaine sont fiables chez plusieurs autres espèces dont le cheval. En cardiologie équine, il a été récemment démontré que l'ANP pourrait constituer un biomarqueur intéressant. Cependant, les deux seules études menées dans ce domaine ont été réalisées sur un faible nombre de cas (Gehlen *et al.*, 2007; Trachsel *et al.*, 2012).

Notre travail a dès lors inclus une étude menée sur une large population de chevaux présentant des insuffisances valvulaires de degrés divers comme défini sur base d'un examen clinique et échocardiographique doppler. Un système de classification du degré d'insuffisance cardiaque préconisé par l'American College of Cardiology/American heart Association pour le traitement des pathologies cardiaques et de l'insuffisance cardiaque chez les patients humains (Hunt *et al.*, 2001) et récemment adapté pour le management des insuffisances valvulaires chez le chien par un panel de consensus du Collège American de Médecine Vétérinaire Interne (ACVIM) (Atkins *et al.*, 2009). L'avantage de ce système de classification, même si il n'a jamais été validé dans l'espèce équine, était qu'il permettait de classer les cas selon des critères objectifs facilement applicables chez le cheval puisque ce système se base sur la présence ou non d'une insuffisance valvulaire significative, d'un remodelage cardiaque à l'échocardiographie, et de signes cliniques d'insuffisance cardiaque. L'objectivité du classement a encore été renforcée dans notre étude grâce à une définition précise du remodelage cardiaque sur chaque cheval de l'étude grâce à l'application des normes de référence qui lui étaient propres (c'est-à-dire valeur attendue et intervalle de confiance en fonction de sa race et de son poids) et qui avaient été définies dans l'étape précédente de notre travail.

En appliquant une telle classification des cas, il a été intéressant de noter que la concentration plasmatique en ANP (ANP_{pl}) semble être prédictive du stade d'insuffisance cardiaque chez le cheval, et ce même à des stades subcliniques de la maladie avec ou sans remodelage cardiaque. Il a aussi été démontré que quelle que soit la valve affectée, l'ANP_{pl} était significativement plus élevée chez les chevaux souffrant d'insuffisance modérée ou sévère que chez ceux ne présentant pas ou de faibles insuffisances valvulaires. En outre, les valeurs d'ANP_{pl} plus élevées obtenues chez les chevaux souffrant d'IM ou d'ITr par rapport à celles obtenues chez les chevaux avec IAo, ainsi que la corrélation étroite existant entre l'ANP_{pl} et les mesures échocardiographiques de LA et de dilatation de l'oreillette gauche suggèrent que ce biomarqueur semble surtout intéressant pour détecter des dilatations ou dysfonctionnements des oreillettes, comme cela a été démontré dans les autres espèces.

Il est intéressant de noter que dans notre étude, l'ANP_{pl} est apparu comme ayant une valeur diagnostique des problèmes cardiaques chez le cheval supérieure à celle obtenue dans les deux études précédentes (Gehlen *et al.*, 2007; Trachsel *et al.*, 2012). De nombreux éléments (notamment le type et le nombre de cas étudiés) pourraient expliquer ces différences, mais parmi ceux-ci, il faut mentionner que le kit RIA utilisé dans notre étude était différent des kits utilisés dans les études précédentes chez le cheval. Les valeurs absolues d'ANP_{pl} obtenues étaient supérieures aux valeurs obtenues précédemment chez le cheval mais comparables aux mesures précédemment rapportées chez l'homme

et chez les animaux de compagnie, ce qui peut laisser supposer une meilleure affinité des anticorps de ce kit par rapport aux kits précédemment utilisés pour l'ANP équin.

Conclusions et Perspectives:

En conclusion, les résultats des études de cette thèse ont permis d'élaborer un protocole d'examen échocardiographique doppler qui permet des mesures échocardiographiques en mode 2D et TM répétables dans l'espèce équine, et ce quelle que soit la conformation corporelle. Il a été démontré que les mesures échocardiographiques sont fortement influencées par les paramètres d'estimation de la taille corporelle dans cette espèce, et que les paramètres anthropométriques les plus appropriés pour ajuster les mesures échocardiographiques sont le périmètre thoracique, le poids corporel ou la surface corporelle. De plus, l'ajustement des mesures échocardiographiques en fonction de la taille corporelle est optimisé en utilisant une régression puissance. Il a en outre été démontré que certains paramètres échocardiographiques semblent aussi influencés par la race dans l'espèce équine. Des normes de références ajustées pour le poids ou le périmètre thoracique ont en conséquence été établies pour diverses races équines communément investiguées en clinique. Ces normes devraient permettre à l'avenir d'augmenter considérablement la puissance diagnostique et pronostique de l'échocardiographie en cardiologie équine.

En appliquant ces normes sur une large population de chevaux souffrant d'insuffisance valvulaire à des degrés divers, il a été démontré que l'ANP_{PI} est un biomarqueur qui s'avère intéressant pour aider à établir le degré d'insuffisance cardiaque dans l'espèce équine. Il pourrait dès lors être utile de joindre cet examen, en complément de l'échocardiographie Doppler, dans l'évaluation clinique des chevaux présentant des insuffisances valvulaires, et ce surtout pour des insuffisances atrio-ventriculaires les plus susceptibles d'entraîner une dilatation auriculaire. A l'avenir, la valeur pronostique de ce marqueur devrait être testée, ainsi que son utilité pour le suivi de traitements des insuffisances valvulaires. Le pronostic est en effet très difficile à évaluer en cas d'insuffisance valvulaire chez le cheval, et l'efficacité de la plupart des traitements d'insuffisance valvulaire est encore fort mal documentée. D'autre part, d'autres biomarqueurs cardiaques qui ont montré une sensibilité et une spécificité supérieure à l'ANP dans d'autres espèces, mériteraient d'être testés chez le cheval.

La sensibilité et la spécificité des normes de référence échocardiographiques précises développées dans notre travail devraient en outre être testées dans le cadre du diagnostic et du pronostic de diverses pathologies en cardiologie équine, dont notamment les insuffisances valvulaires.

Bibliographie

- ATKINS C., BONAGURA J., ETTINGER S., FOX P., GORDON S., HAGGSTROM J., HAMLIN R., KEENE B., LUIS-FUENTES V., STEPIEN R. Guidelines for the diagnosis and treatment of canine chronic valvular heart disease. ACVIM consensus statement. *J. Vet. Intern. Med.*, 2009,**23**, 1142-1150.
- BAVEGEMS V., DUCHATEAU L., SYS S.U., RICK A.D. Echocardiographic reference values in whippets *Vet Radiol & Ultrasound*, 2007,**48**, 230-238.
- BLISSITT K.J. Diagnosis and treatment of atrial fibrillation. *Equine Vet. Educ.*, 1999,**11**, 11-19.
- BONAGURA J.D., REEF V.B., SCHWARZWALD C.C. Cardiovascular disease. In: Reed S. M., Bayly W. M., Sellon D. C. (Eds), *Equine internal medicine*. Saunders Elsevier: Saunders Elsevier: St. Louis, 2010, 372-487.
- BOON J.A. Evaluation of size, function, and hemodynamics. In: Boon J. A. (Ed), *Veterinary echocardiography*. Wiley-Blackwell: Ames, Iowa, 2011, 153-266.
- BROWN D.J., RUSH J.E., MACGREGOR J., ROSS J.N.J., BREWER B., RAND W.M. M-mode echocardiographic ratio indices in normal dogs, cats, and horses: a novel quantitative method *J Vet Intern Med*, 2003,**17**, 653-662.
- BUHL R., ERSBØLL A.K., ERIKSEN L., KOCH J. Sources and magnitude of variation of echocardiographic measurements in normal standardbred horses *Vet Radiol & Ultrasound*, 2004,**45**, 505-512.
- BUHL R., ERSBØLL A.K., ERIKSEN L., KOCH J. Changes over time in echocardiographic measurements in young Standardbred racehorses undergoing training and racing and association with racing performance. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2005,**226**, 1881-1887.
- DANIELS L.B., MAISEL A.S. Natriuretic peptides. *J. Am. Coll. Cardiol.* , 2007,**50**, 2357-2368.
- DURANDO M.M. Clinical techniques for diagnosing cardiovascular abnormalities in performance horses. *Clinic. Tech. Equine Pract.*, 2003,**2**, 266-277.
- GARDIN J.M., SISCOVICK D., ANTON-CULVER H., LYNCH J.C., ELIZABETH SMITH V.E., KLOPFENSTEIN S., BOMMER W.J., FRIED L., O'LEARY D., MANOLIO T.A. Sex, Age, and Disease Affect Echocardiographic Left Ventricular Mass and Systolic Function in the Free-Living Elderly *Circulation.*, 1995,**91**, 1739-1748.
- GEHLEN H., SUNDERMANN T., ROHN K., STADLER P. Plasma atrial natriuretic peptide concentration in warmblood horses with heart valve regurgitations. *J. Vet. Cardiol.*, 2007,**9**, 99-101.
- GEOR R., MCCUTCHEON L.J. Cardiovascular and respiratory function in the performance horse. In: Kobluk C. N., Ames T. R., Geor R. J. (Eds), *The horse: diseases and clinical management* WB Saunders Company: Philadelphia, 1996, 1285-1294.

- GHOSH N., HADDAD H. Atrial natriuretic peptides in heart failure: pathophysiological significance, diagnostic and prognostic value. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 2011,**89**, 587-591.
- HALL D.J., CORNELL C.C., CRAWFORD S., BROWN D.J. Meta-analysis of normal canine echocardiographic dimensional data using ratio indices. *J Vet Cardiol*, 2008,**10**, 11-23.
- HEZZELL M.J., BOSWOOD A., CHANG Y.M., MOONARMART W., SOUTTAR K., ELLIOTT J. The combined prognostic potential of serum high-sensitivity cardiac troponin I and N-terminal pro-B-type natriuretic peptide concentrations in dogs with degenerative mitral valve disease. *J. Vet. Intern. Med.*, 2012,**26**, 302-311.
- HUNT S.A., BAKER D.W., CHIN M.H., CINQUEGRANI M.P., FELDNANMD A.M. ACC/AHA guidelines for the evaluation and management of chronic heart failure in the adult: Executive summary. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (committee to revise the 1995 guidelines for the evaluation and management of heart failure). *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2001,**38**, 2101-2113.
- IMHASLY A., TSCHUDI P.R., LOMBARD C.W., GERBER V. Clinical and echocardiographic features of mild mitral valve regurgitation in 108 horses. *Vet. J.*, 2010,**183**, 166-171.
- KAYAR A., GONUL R., OR M.E., UYSAL A. M-mode echocardiographic parameters and indices in the normal German shepherd dog *Vet Radiol & Ultrasound*, 2006,**47** 482-486.
- LAUER M.S., LARSON M.G., LEVY D. Gender-specific reference M-mode values in adults: population-derived values with consideration of the impact of height. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1995,**26**, 1039-1046.
- LESCURE F., TAMZALI Y. Valeurs de référence en échocardiographie TM chez le cheval de sport (pur sang anglais - cheval de selle français). *Revue Méd. Vet.*, 1984,**135**, 405-418.
- LOBO L., CANADA N., BUSSADORI C., GOMES J.L., CARVALHEIRA J. Transthoracic echocardiography in estrela mountain dogs: reference values for the breed. *Vet. J.*, 2008,**177**, 250-259.
- LOMBARD C.W., EVANS M., MARTIN L., TEHRANI J. Blood pressure, electrocardiogram and echocardiogram measurements in the growing pony foal. *Equine Vet J*, 1984,**16**, 342-347.
- LONG K.J., BONAGURA J.D., DARKE G.G. Standardised imaging technique for guided M-mode and Doppler echocardiography in the horse. *Equine Vet. J.*, 1992,**24**, 226-235.
- LONSDALE R.A., LABUC R.H., ROBERTSON I.D. Echocardiographic parameters in training compared with non-training greyhounds. *Vet. Radiol. Ultrasound*, 1998,**39**, 325-330.
- MAURELLET J.D., LIU P.T. B-type natriuretic peptide in the management of heart failure. *Hong. Kong. Med. J.* , 2008,**14**, 216-219.
- MORRIS E.A., SEEHERMAN H.J. Clinical evaluation of poor performance in the racehorse: The results of 275 evaluation *Equine Vet. J.*, 1991,**23**, 169-174.

- MORRISON S.A., MOISE N.S., SCARLETT J., MOHAMMED H., YEAGER A.E. Effect of breed and body weight on echocardiographic values in four breeds of dogs of differing somatotype. *J Vet Intern Med*, 1992,**6**, 220-224.
- MUZZI R.A.L., MUZZI L.A.L., ARAUJO R.B.A., CHEREM M. Echocardiographic indices in normal german shepherd dogs. *J Vet Sci*, 2006,**7**, 193-198.
- NIELSEN O.W., MCDONAGH T.A., ROBB S.D., DARGIE H.J. Retrospective analysis of the cost-effectiveness of using plasma brain natriuretic peptide in screening for left ventricular systolic dysfunction in the general population. *J. Am. Coll. Cardiol.* , 2003,**41**, 113-120.
- NISHIKIMI T., KUWAHARA K., NAKAO K. Current biochemistry, molecular biology, and clinical relevance of natriuretic peptides. *J. Cardiol.* , 2011,**57**, 131-140.
- PATTESON M.W., GIBBS C., WOTTON P.R., CRIPPS P.J. Echocardiographic measurements of cardiac dimensions and indices of cardiac function in normal adult thoroughbred horses. *Equine Vet J (Suppl)*, 1995,**19**, 18-27.
- PAULL K., WINGFIELD W., BERTONE J. Echocardiographic changes with endurance training. In: Gillespie J., Robinson N. E. (Eds) *Equine Exercise Physiology*. ICEEP Publications: Davis, Calif. , 1987.
- REEF V.B., BAIN F.T., SPENCER P.A. Severe mitral regurgitation in horses: Clinical, echocardiographic and pathological findings. *Equine Vet. J.*, 1998,**30**, 18-27.
- REEF V.B., LALEZARI K., DE BOO J., VAN DER BELT A.J., SPENCER P.A., DIK K.J. Pulsed-wave Doppler evaluation of intracardiac blood flow in 30 clinically normal Standardbred horses. *Am. J. Vet. Res.*, 1989,**50**, 75-83.
- REYNOLDS C.A., BROWN D.C., RUSH J.E., FOX P.R., NGUYENBA T.P., LEHMKUHL L.B., GORDON S.G., KELLIHAN H.B., STEPIEN R.L., LEFBOM B.K., MEIER C.K., OYAMA M.A. Prediction of first onset of congestive heart failure in dogs with degenerative mitral valve disease: the PREDICT cohort study. *J. Vet. Cardiol.* , 2012,**14**, 193-202.
- ROVIRA S., MUNOZ A. Two-dimensional- and M-mode echocardiographic measurements and indices of cardiac function in Spanish Colts and Fillies of different age. *J. Vet. Med. Sci.* , 2009,**71**, 957-964.
- ROVIRA S., MUÑOZ A., RODILLA V. Allometric scaling of echocardiographic measurements in healthy Spanish foals with different body weight. *Res. Vet. Science* 2009,**86**, 325–331.
- SADIQ A., CHOUDHURY M., ALI K., MOHAMED E., SHETTY V., KABALKIN C., GREENGART A. Echocardiographic Characteristics in Patients >100 Years of Age. *Am. J. Cardiol.*, 2007,**100**, 1792-1794.
- SLATER J.D., HERRTAGE M.E. Echocardiographic measurements of cardiac dimensions in normal ponies and horses. *Equine Vet. J. (Suppl.)*, 1995,**19**, 28-32.
- STADLER P., REWEL A., DEEGEN E. M-mode echocardiography in dressage horses, class S jumping horses and untrained horses. *Zentralbl Veterinarmed A.*, 1993,**40**, 292-306.

- STEWART J.H., ROSE R.J., BARKO A.M. Echocardiography in foals from birth to three months old. *Equine Vet J*, 1984,**16**, 332-341.
- TRACHSEL D.S., GRENACHER B., WEISHAUPT M.A., SCHWARZWALD C.C. Plasma atrial natriuretic peptide concentrations in horses with heart disease: a pilot study. *Vet. J.*, 2012,**192**, 166-170.
- VAN KIMMENADE R.R., JANUZZI J.L.J. The evolution of the natriuretic peptides - Current applications in human and animal medicine. *J. Vet. Cardiol. 2009 (Suppl.)*, 2009,**11**, 9-21.
- VÖRÖS K., HETYEY C., REICZIGEL J., CZIROK G.N. M-mode and two-dimensional echocardiographic reference values for three Hungarian dog breeds: Hungarian Vizsla, Mudi and Hungarian Greyhound. *Acta Vet Hung*, 2009,**57**, 217-227.
- WOLF J., GERLACH N., WEBER K., KLIMA A., WESS G. Lowered N-terminal pro-B-type natriuretic peptide levels in response to treatment predict survival in dogs with symptomatic mitral valve disease. *J. Vet. Cardiol.* , 2012PMID: 22858663 [PubMed - as supplied by publisher]
- YOUNG L.E. Cardiac responses to training in 2-year-old thoroughbreds: an echocardiographic study *Equine Vet J (Suppl)*, 1999,**30**, 195-198.
- YOUNG L.E., ROGERS K., WOOD J.L.N. Heart murmurs and valvular regurgitation in Thoroughbred race horses: Epidemiology and associations with athletic performance. *J. Vet. Intern. Med.*, 2008,**22**, 418-426.
- ZUCCA E., FERRUCCI F., CROCI C., V. D.F., ZANINELLI M., FERRO E. Echocardiographic measurements of cardiac dimensions in normal Standardbred racehorses. *J. Vet. Cardiol.* , 2008,**10**, 45-51.