

1. **EINLEITUNG**

Eine Vielzahl der Erkrankungen, mit denen der in der Pferdemedizin tätige Tierarzt täglich konfrontiert wird, hat als Ursache einen entzündlichen Prozess oder ist in Folge eines solchen Prozesses entstanden. Hierbei bleibt häufig unklar, wie lange die entzündliche Veränderung bereits besteht. Ein wichtiges Hilfsmittel in der Diagnostik solcher Prozesse stellen Laboruntersuchungen entnommener Blutproben dar. Der Tierarzt führt diese Blutuntersuchungen i.d.R. nicht selbst durch, sondern beauftragt ein Fremdlabor. Traditionell wurden und werden die Parameter Leukozytengesamtzahl, Differentialblutzellbild und die Blutsenkungsreaktion bestimmt. Aber auch die Messung entzündungsspezifischer Proteine hat sich in der Veterinärmedizin in den letzten Jahrzehnten etabliert. In der Relevanz dieser Proteine bestehen große tierartliche Unterschiede, d.h. nicht bei jeder Tierart ist dasselbe Protein zur Erkennung entzündlicher Veränderungen geeignet. Es ergibt sich so für den Tierarzt die Notwendigkeit, tierartspezifisch aussagekräftige Parameter auszuwählen.

Ziel der vorliegenden Arbeit soll es sein, anhand der Literatur und durch die eigenen Untersuchungen herauszustellen, welche Blutparameter beim Pferd zur Diagnostik entzündlicher Erkrankungen am besten geeignet sind. Da der Zeitpunkt des Beginns der Erkrankungen häufig nicht bekannt ist, erschien es sinnvoll, im Rahmen der eigenen Untersuchung den Zeitaspekt weitgehend außer Acht zu lassen. Es wurden drei Gruppen vorgegeben, in welche die Patienten, vorgestellt zur stationären Behandlung in der Medizinischen und Gerichtlichen Veterinärklinik, Professur für Innere Krankheiten der Pferde, anhand der Ergebnisse ihrer klinischen Untersuchung retrospektiv eingeteilt wurden. Bei diesen Gruppen handelt es sich zum einen um eine Kontrollgruppe mit klinisch unauffälligen Tieren, zum anderen um eine Gruppe mit Patienten, deren klinische Untersuchung (und eventuelle Sektion) Hinweise auf einen entzündlichen Prozess erbrachte. Die dritte Gruppe umfasst Pferde, welche an chronisch obstruktiver Bronchitis (COB) erkrankt waren, da diese Erkrankung i.d.R. mit einem entzündlichen Prozess einhergeht. Folgende Parameter wurden für die eigenen Untersuchungen ausgewertet: Leukozytengesamtzahl, Differentialblutzellbild, Blutsenkungsreaktion, Gesamteiweiß, Albumin, Globuline, Fibrinogen und Serumproteinelektrophorese.

Zusammengefasst soll die vorliegende Arbeit anhand der Ergebnisse eines Vergleiches der verschiedenen Parameter zeigen, ob und wenn ja welcher Laborparameter beim Pferd bei Untersuchung einer einzelnen Blutprobe am besten für die Diagnostik entzündlicher Prozesse, unabhängig von der Dauer der Erkrankung, geeignet ist.

2. SCHRIFTTUM

2.1 DIE AKUT-PHASE-REAKTION DER ENTZÜNDUNG

Infektionen mit Viren, Bakterien, Pilzen oder Parasiten, mechanische Traumen, chemische Noxen, Tumoren, Allergien und Autoimmunerkrankungen werden vom geschädigten Organismus mit einer umfangreichen Zahl an Reaktionen beantwortet, die als Akut-Phase-Reaktion (APR) der Entzündung bezeichnet werden (DINARELLO 1984, HIGGINS und LEES 1984, PATTERSON et al. 1988, ANDUS et al. 1989). Sinn dieser Akut-Phase-Reaktion soll die vollständige Eliminierung der schädigenden Noxe und die Regeneration des geschädigten Gewebes sein. Ein Teil dieser Reaktionen wurde von *CELSUS* bereits um 35 v. Chr. als äußerlich feststellbare Kardinalsymptome beschrieben: Rubor, Tumor, Calor und Dolor. *VIRCHOW* fügte ihnen im 19. Jahrhundert als Fünftes noch die Functio laesa zu.

2.1.1 LOKALE REAKTIONEN

Die Akut-Phase-Reaktion beginnt zunächst als lokale Reaktion. Sie äußert sich in Gefäßdilatation und vermehrter Gefäßpermeabilität, Aktivierung des Gerinnungssystems mit Thrombusbildung und Plättchenaggregation. Verantwortlich hierfür sind die im Plasma befindlichen Mediatoren: Kininogene, Komplementproteine und Gerinnungsfaktoren (zitiert nach HIGGINS und LEES 1984). Durch Kontakt mit negativ geladenen Oberflächen oder negativen Ionen wird der *Hageman-Faktor* (Faktor XII) aktiviert und stimuliert hierdurch das Gerinnungs-, Komplement- und Kininsystem. Die Kinine (v.a. Bradykinin) gehören zu den potentesten Vasodilatoren. Die durch die Kinine und neuronale Reaktionen verursachte Vasodilatation führt zu einer vermehrten Durchblutung des betroffenen Gewebes. Zugleich ändert sich auch die Fließgeschwindigkeit des Blutes, der Blutstrom wird langsamer, weil das Flussbett größer wird. Im Verlauf der Komplementkaskade entstehen durch die Spaltung der Komplementproteine C3 oder C5 Proteinfragmente, die zur Degranulation von Mastzellen und Basophilen und somit zu einer Freisetzung von Histamin führen. Die Histaminausschüttung bewirkt eine starke Erhöhung der Gefäßpermeabilität. Hierbei entstehen durch Kontraktion der Endothelzellen Lücken im Endothel, wodurch bei

intakter Basalmembran Plasma mit darin enthaltenen Proteinen ins Gewebe gelangt (zitiert nach HIGGINS und LEES 1984, JAIN 1993b).

Elementar für die Eliminierung der schädigenden Noxe ist jedoch v.a. die zelluläre Antwort, die durch Aktivität von Leukozyten (v.a. neutrophile Granulozyten, Monozyten und Lymphozyten) geprägt ist. Monozyten wandern regelmäßig in das Gewebe aus, werden zu Gewebe-Makrophagen, und überleben in dieser Form Wochen bis Monate. Im Falle der segmentkernigen neutrophilen Granulozyten (polymorphonuclear neutrophil leukocyte = PMN) kommt es in Abhängigkeit von Kalziumionen zur Adhärenz der PMN an das Gefäßendothel, verursacht durch die Expression von Glycoprotein-Komplexen in der Zellmembran der PMN und der Endothelzelle. Im Verlauf der Akut-Phase-Reaktion führen zwei Faktoren zu einer Steigerung der Adhäsion. Zum einen führt die Vasodilatation zu einer Verlangsamung des Blutstromes. Zum andern bewirken Zytokine, welche die Akut-Phase-Reaktion vermitteln, die Expression von Glycoprotein-Komplexen. Der Tumornekrosefaktor- α (TNF α) verstärkt die Expression an PMN und Endothelzellen, und somit auch die Adhärenz an das Endothel (KUNKEL et al. 1989). Auch das Interleukin-1 (IL-1) verstärkt die Proteinexpression, jedoch nur an der Endothelzelle (MORRIS et al. 1990, MORRIS 1991).

Bei intakter Gefäßbasalmembran können die Leukozyten aus dem Blut nur aktiv durch Migration in das geschädigte Gewebe gelangen. Diese Migration wird durch chemische Mediatoren (Chemotaxine) vermittelt. Zu diesen gehören die Eicosanoide Prostaglandin E₂ (PGE₂) und Leukotrien B₄ (LTB₄), welche chemotaktisch auf polymorphkernige Leukozyten und mononukleäre Zellen wirken (SEDGWICK et al. 1987). Weitere Chemotaxine für neutrophile Granulozyten sind Interleukine (IL): IL-1 (MAY et al. 1991), IL-1b (HARDY et al. 1998), IL-8 (FRANCHINI et al. 1998); der „platelet activating factor“ (PAF) (FOSTER et al. 1992); das „macrophage inflammatory protein 2“ (MIP-2) (FRANCHINI et al. 1998) und Proteine des Komplementsystems (C5,6,7-Komplex) (HIGGINS und LEES 1984, SEDGWICK et al. 1987).

2.1.2 SYSTEMISCHE REAKTIONEN

Die im Gewebe bereits vorhandenen Gewebe-Makrophagen und die einwandernden Mono- und Granulozyten werden durch die Phagozytose von Mikroben bzw. ihrer Fragmente, deren Produkten, Toxinen oder Gewebezelltrümmern aktiviert. Hierauf sezernieren v.a. die Monozyten und die Makrophagen eine Vielfalt von Mediatoren (Zytokine): Interleukine (IL), Tumornekrosefaktor-alpha (TNFa), Eicosanoide, verschiedene CSF (= colony-stimulating factor), Interferone u.a. (DINARELLO 1984, ANDUS et al. 1989, MORRIS et al. 1990, MORRIS et al. 1992, JAIN 1993a)

Diese Mediatoren sind maßgeblich für die systemischen Reaktionen des Organismus verantwortlich. Sie beinhalten v.a. die Erhöhung der Körperinnentemperatur, die Steigerung der Myelopoese (v.a. Produktion von Leukozyten), die Produktion der Akut-Phase-Proteine in der Leber und die Aktivierung des humoralen und zellulären Immunsystems.

Die Erhöhung der Körperinnentemperatur beruht auf der Steigerung der PGE₂-Synthese im Hypothalamus unter dem Einfluss von IL-6 (MORRIS et al. 1992), TNFa (MORRIS et al. 1990) und IL-1 (MORRIS 1991).

Experimentell wiesen HAMOOD und FONDU (1991) an Mäusen nach, dass für die Steigerung der Granulopoese im Knochenmark im Verlauf einer Entzündung T-Lymphozyten (v.a. T-Helferzellen) benötigt werden, bzw. von ihnen ausgeschüttete Mediatoren. Ein direkter Einfluss der T-Zellen auf die Stammzellen im Knochenmark durch Zell-zu-Zell-Kontakte wurde ausgeschlossen. Aktivierte T-Zellen sezernieren IL-3 und GM-CSF (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor), die die gesteigerte Granulopoese bewirken (JAIN 1993a). Die Granulopoese steigert sich proportional zur Stärke des Entzündungsreizes (HAMOOD und FONDU 1991).

Dem IL-6 wird ebenfalls Wirkung auf die Steigerung der Granulopoese zugesprochen (ANDUS et al. 1989). Auch der TNFa steigert die Granulopoese und führt gleichzeitig zur Freisetzung jugendlicher, nicht vollständig ausgereifter (stabkerniger) Granulozyten aus dem Knochenmark (KUNKEL et al. 1989). Die Steigerung der Granulopoese durch TNFα wird vermutlich durch die Stimulation der Gewebezellen zur vermehrten Sekretion von CSF hervorgerufen (JAIN 1993a).

Wichtigster Mediator für die Synthese der Akut-Phase-Proteine (APP) in der Leber ist das IL-6 (ANDUS et al. 1989, MORRIS et al. 1992, MACKAY und LESTER 1992),

aber auch, entgegen der Ansicht von ANDUS et al.(1989), das IL-1 (MILNE et al. 1991). MACKAY und LESTER (1992) vermuten, dass IL-1 und TNFa einen regulativen Effekt auf die Wirkung von IL-6 besitzen.

Die APP werden im Einzelnen in Kapitel 2.2.2.3 (S. 26 ff.) beschrieben.

Die Aktivierung des Immunsystems wird ebenfalls durch die Wirkung der Interleukine bestimmt. ANDUS et al. (1989) bezeichneten das IL-6 auch als „Schlüsselhormon“. Es aktiviert T-Zellen des zellulären Immunsystems und führt zu ihrer Differenzierung (z.T. in Abhängigkeit von IL-2). Die für die Antikörper-Produktion verantwortlichen B-Zellen des humoralen Immunsystems werden von IL-4 und IL-5 aktiviert, und von IL-6 terminal differenziert (ANDUS et al. 1989).

Die Mediatoren vermitteln mit ihren zahlreichen Wirkungen den Großteil der systemischen Reaktionen, und sind somit maßgeblich für den Verlauf der Akut-Phase-Reaktion verantwortlich. Ist der die Entzündung auslösende Stimulus sehr massiv, kann dies die Freisetzung von übermäßigen Mengen der Mediatoren IL-6 und TNFa zur Folge haben. Dies kann zu einer überschießenden Akut-Phase-Reaktion führen, die i.d.R. letal endet (KUNKEL et al. 1989, MORRIS et al. 1990, MORRIS et al. 1992).

In der Vergangenheit wurde davon ausgegangen, dass im Verlauf einer Entzündung die unterschiedlichen Mediatoren gleichzeitig freigesetzt werden, und unabhängig voneinander ihre spezifischen Wirkungen vermitteln (MAY et al. 1991).

MAY et al. (1991) ermittelten in ihrer Untersuchung am Pferd den Verlauf der Konzentrationsveränderungen der Mediatoren PGE₂ und IL-1. Sie vermuteten auf der Grundlage ihrer Ergebnisse, dass die Mediatoren untereinander einen regulativen Effekt besitzen und die Mediatorfreisetzung einer unbekannten zeitlichen Kontrolle unterliegt. Ein Zusammenbruch dieser Kontrollfunktionen könnte dann im Fortbestehen der Freisetzung von IL-1 resultieren, und eine Gewebeerstörung aufgrund eines unangemessenen Katabolismus zur Folge haben (MAY et al. 1991).

Eine fehlende oder fehlerhafte Regulation von Synthese und/oder Freisetzung scheint auch im Falle des TNFa beim Pferd eine andauernd hohe Konzentration des Mediators hervorzurufen, die möglicherweise zur Aufrechterhaltung des Entzündungsprozesses und somit der Entwicklung einer chronischen Entzündung führen könnte (MACKAY und LESTER 1992).

Beim Menschen werden im Gewebe chronischer Entzündungsprozesse verschiedener Organe regelmäßig Plasmazellen nachgewiesen. Diese produzieren jedoch nicht nur die humoralen Antikörper, sondern auch Zytokine, die ursprünglich nur als Mediatoren der Frühphase der Entzündung galten. Es handelt sich hierbei um TNFa (AHMED et al. 1994, DiGIROLAMO et al. 1997), IL-1 (AHMED et al. 1994, HASSAN et al. 1997) und IL-6 (AHMED et al. 1994).

Nach Wissen der Autorin wurden bisher keine Untersuchungen über Zytokin-produzierende Plasmazellen beim Pferd durchgeführt.

2.2 HÄMATOLOGISCHE REAKTIONEN BEI ENTZÜNDLICHEN PROZESSEN BEIM PFERD

Bei entzündlichen Prozessen können sich zelluläre Zusammensetzung und Proteinkonzentrationen im Blut verändern. Routinemäßig werden in der Human- und Veterinärmedizin Gesamtleukozytenzahl, Differentialblutzellbild, Blutsenkung und Gesamteiweiß bestimmt. Jedoch hat auch die Messung einzelner Akut-Phase-Proteine zunehmend an Bedeutung gewonnen.

Speziell auf das Pferd bezogen werden die routinemäßig durchgeführten Untersuchungen und auch die meist noch unter experimentellen Bedingungen bestimmten APP im folgenden Kapitel beschrieben.

2.2.1 ZELLULÄRE REAKTIONEN

2.2.1.1 Blutsenkungsreaktion (BSR)

Die Blutsenkungsreaktion beruht auf Agglomeration und folgender Sedimentierung der Erythrozyten. Sie findet ihren Einsatz in der unspezifischen Diagnostik entzündlicher Veränderungen.

Für die BSR wird Vollblut im Verhältnis 1:4 mit einem Gerinnungshemmer (üblicherweise Natriumzitrat) vermischt und in ein Glasröhrchen verbracht. Die bei den verschiedenen Methoden (Westergren, Wintrobe, Standzylinder) verwendeten Röhrchen unterscheiden sich in Länge und Durchmesser, und somit auch in dem Volumen, das sie fassen. Die Röhrchen werden senkrecht oder in einem Winkel von 60° aufgestellt. Die Schrägsenkung führt durch das Entlangrollen der Erythrozyten an der Glaswand zu einer schnelleren Senkung als im senkrechten Röhrchen, und findet ihren Einsatz bei Tieren mit einer physiologisch eher langsamen Senkung wie Hund und v.a. Katze. Nach einer bestimmten Zeit (abhängig von Methode und v.a. Tierart) wird dann am Röhrchen direkt, oder mit Hilfe einer Schablone die Strecke in mm bestimmt, um die die Erythrozyten sedimentiert sind. Verlängert sich diese Strecke ist die BSR beschleunigt; ist sie kürzer, liegt eine Verlangsamung vor.

2.2.1.1.1 Methodik und Referenzbereiche

Die von WESTERGREN (1921) Anfang dieses Jahrhunderts entwickelte Methode wurde vom *International Committee for Standardization in Haematology* (1977) als Methode der Wahl für die Bestimmung der BSR beim Menschen empfohlen.

Bei Pferden wurde häufig ebenfalls die Methode nach Westergren verwandt (v. ZIJL 1948, GILMAN 1952, ALLEN 1988). V. ZIJL (1948) und GILMAN (1952) lasen die Senkungswerte nach 30 und 60 Minuten ab, und berechneten anschließend die durchschnittliche Senkungsrate nach 10 Minuten (SR/10) mit Hilfe der modifizierten

$$\text{Formel nach Katz:} \quad \text{SR/10} = \frac{\frac{a}{3} + \frac{b}{6}}{2}$$

a = Senkung nach 30 Minuten

b = Senkung nach 60 Minuten

ALLEN (1988) maß lediglich einen Wert nach 60 Minuten Senkungsdauer.

HAMMERL (1982) verglich in seiner Arbeit drei verschiedene Methoden: Westergren, Auslaufpipette und Standzylinder. Er ermittelte für jede Methode Senkungswerte von 10 bis 90 Minuten in 10-minütigem Abstand. Bei der Methode nach Westergren ergeben sich bei Mehrfachmessungen einer Probe stark voneinander abweichende Werte. Dieses Problem tritt bei der Methode im Standzylinder bzw. in der Sedifixpipette nicht auf. Aufgrund der sehr einfachen Durchführung im Standzylinder bevorzugte HAMMERL (1982) diese Methode.

Eine weitere Methode zur Bestimmung der BSR stellt die Methode nach Wintrobe dar (OSBALDISTON 1970, GEOR et al. 1992).

Eine Zusammenstellung von Referenzwerten für die BSR beim Pferd mit verschiedenen Methoden ist in Tabelle 1 (siehe S. 12) aufgeführt.

2.2.1.1.2 Einflussfaktoren auf die BSR

Die Aggregation der Erythrozyten wird bestimmt durch das Gleichgewicht von anziehenden und abstoßenden Faktoren, die auf die Zelloberfläche einwirken, und als Folge die sogenannte Geldrollenbildung der Erythrozyten verursachen (REINHART und SINGH 1990).

Die genauen für eine Beschleunigung bzw. Verlangsamung der BSR verantwortlichen Mechanismen sind auch heute noch nicht vollständig geklärt. Die auch bei klinisch unauffälligen Pferden im Vergleich zu anderen Tieren und dem Mensch beobachtete schnelle Senkung führte OSBALDISTON (1970) auf die besonders ausgeprägte Geldrollenbildung der Pferdeerythrozyten zurück. Diese Geldrollenbildung resultiert aus einer ungeklärten Besonderheit der Pferdeerythrozyten, denn sie sedimentieren im Plasma von Hund oder Schaf mit der selben Geschwindigkeit wie im Pferdeplasma (OSBALDISTON 1970). V. ZIJL (1948) ermittelte keinen Einfluss von Alter, Geschlecht und Tageszeit auf die BSR, wohl aber einen Einfluss der Rasse, wobei Vollblüter eine langsamere Senkung zeigten als Warmblüter. Ebenso stellte er einen Einfluss von körperlicher Arbeit auf die BSR fest: es kam zu einer geringgradigen Verlangsamung (bei Messung unmittelbar nach der Arbeit). 24 Stunden nach 20-minütiger Belastung ist die BSR in einer anderen Untersuchung geringgradig beschleunigt (SCHWAB 1986). Nach Aufnahme von Futter und Wasser zeigt sich eine

geringgradige Beschleunigung der BSR (v. ZIJL 1948). GILMAN (1952) zeigte auf, dass sich die BSR zwischen offensichtlich gesunden Pferden erheblich unterschied, er machte jedoch keine Aussage über mögliche Einflüsse bezüglich Alter, Geschlecht oder Rasse. Die SR/10 zeigte jedoch, gemessen über einen Zeitraum von dreizehn Monaten, erhebliche individuelle Schwankungen.

Der beim Menschen festgestellte Einfluss des Hämatokritwertes auf die BSR (STUART und WHICHER 1988) wurde von v. ZIJL (1948) und OSBALDISTON (1970) auch für das Pferd ermittelt, wobei sich Hämatokrit (Hkt) und BSR umgekehrt proportional zueinander verhielten. V. ZIJL (1948) erstellte experimentell eine Korrekturtafel, mit deren Hilfe sich die gemessene SR/10 bei einem Hämatokritwert zwischen 15-45 % auf den von ihm festgelegten Referenzwert von 30 % umrechnen lässt. Der von ihm beschriebene Einfluss der Rasse blieb hierbei unberücksichtigt. GILMAN (1952) übernahm die für menschliche Blutproben entwickelte Korrekturtafel von *Wintrobe und Landsberg*, wobei er den Hkt-Referenzwert auf 42 % festlegte. ALLEN (1988) wiederum erstellte sich eine eigene Standardisierung und legte den Vergleichswert des Hämatokrites auf 40 % fest. SCHWAB (1986) ermittelte ebenfalls eine negative Korrelation des Hämatokrites auf die BSR, eine Standardisierung auf einen definierten Hämatokrit fand nicht statt.

Einfluss auf die Geldrollenbildung nehmen v.a. die Plasmaproteine als anziehende Kraft (REINHART und SINGH 1990). Beim Menschen hat das Fibrinogen den größten Einfluss, gefolgt von α_2 -Makroglobulin, den Immunglobulinen und dem Albumin (STUART und WHICHER 1988). ALLEN (1988) beschrieb beim Pferd eine positive lineare Korrelation ($r = 0,754$) zwischen Hkt-korrigierter BSR und dem Fibrinogen. Die Messgröße Gesamt-Serum-Globulin wies ebenso eine positive Korrelation auf, jedoch geringer als beim Fibrinogen ($r=0,382$), der Korrelationsfaktor (KF) wurde nach Hkt-Korrektur größer ($r=0,424$). Albumin und BSR zeigten in dieser Untersuchung einen negativen KF, der bei der Hkt-korrigierten BSR aber nicht mehr vorhanden war. LÖTSCH und MÜLLER (1962) hingegen wiesen eine deutliche positive Korrelation von Albumin und der BSR nach, die (negative) Korrelation von g-Globulinen und der BSR war deutlich weniger ausgeprägt, und war im Falle der a- und b-Globuline praktisch nicht feststellbar. SCHWAB (1986) ermittelte positive Korrelationen für folgende Messgrößen (in absteigender Reihenfolge): Fibrinogen, α_2 -, β_2 - und g-Globuline.

Für Albumin berechnete er eine negative Korrelation zur BSR.

ALLEN (1988) untersuchte auch den Zusammenhang zwischen der BSR und der Gesamtzahl der Leukozyten sowie der neutrophilen Granulozyten. Sowohl für die absolut gemessene als auch die Hkt-korrigierte BSR bestand keine Korrelation. Auch SCHWAB (1986) ermittelte zwischen der BSR und den Gesamt-Leukozyten keine Korrelation.

In der Literatur finden sich zahlreiche weitere Einflussfaktoren (physikalisch, chemisch, Medikamente u.a.) auf die BSR, die beim Pferd jedoch nicht näher untersucht sind und aus diesem Grund in vorliegender Arbeit nicht weitergehend ausgeführt werden sollen.

2.2.1.1.3 Einsatzmöglichkeiten der BSR in der Diagnostik

SCHWAB (1986) fand, dass sich akute entzündliche Erkrankungen beim Pferd bereits einen Tag nach Auftreten klinischer Symptome in einer Senkungsbeschleunigung äußerten, und dass diese auch nach der klinischen Heilung erhalten blieb. Bei chronischen Entzündungen zeigte sich ebenfalls eine Tendenz zur Beschleunigung. Beim Menschen eignet sich die Bestimmung der BSR sowohl zum Monitoring akuter Erkrankungen, als auch zur Diagnostik und Verlaufskontrolle chronischer Entzündungen (STUART und WHICHER 1988).

Die BSR ist unspezifisch und lässt sowohl beim Pferd als auch beim Menschen keine Rückschlüsse auf die Lokalisation und Ursache einer Entzündung zu (STUART und WHICHER 1988, ALLEN 1988, MILLS et al. 1997). Vorteile der Methode liegen v.a. in der sehr einfachen Handhabung, Unabhängigkeit von Analysegeräten und nicht zuletzt der geringen Kosten (HAMMERL 1982, SCHWAB 1986, STUART und WHICHER 1988).

Tab. 1: Referenzwerte für die BSR aus der Literatur mit verschiedenen Methoden

Autor	Methode	Zeit (min)	Senkung (mm)	Rasse	Anzahl Pferde
ALLEN 1988	Westergren 1. absolut	60	37 ± 16^1	Vollblut	105
	2. Hkt-korrigiert (40%)	60	26 ± 8^1		
GILMAN 1952	Westergren Hkt-korrigiert (42%)	SR/10	$15,04^2$ $(7 - 23)^3$	keine Angabe	13
HAMMERL 1982	Westergren absolut	30	34 ± 15^1	Warmblut	92
		60	76 ± 24^1		
		SR/10 ⁴	12^2	Vollblut	23
		30	6 ± 4^1		
	Standzylinder absolut	60	23 ± 10^1	Vollblut	23
		SR/10 ⁴	$2,9^2$		
v. ZIJL 1948	Westergren absolut	SR/10	$17,1 \pm 0,89^1$	Vollblut	36
			$21,9 \pm 0,61^1$	Warmblut	57
OSBALDISTON 1970	Wintrobe absolut	30	51^2	keine Angabe	18
		60	$(24 - 60)^3$ 59^2 $(51 - 63)^3$		
GEOR et al. 1992	Wintrobe absolut	10	3 ± 0^1	Araber	4
		20	22 ± 2^1		
		30	46 ± 5^1		

SR/10 = durchschnittliche Senkungsrate nach 10 Minuten

¹ = $(\bar{x} \pm s)$ ² = Mittelwert³ = Spannweite⁴ = eigene Berechnung zum besseren Vergleich erstellt (anhand der Mittelwerte)

2.2.1.2 Leukozyten

Unter dem Begriff Leukozyten sind die Zellen zusammengefasst, die die körpereigene Abwehr vermitteln. Es handelt sich hierbei um Granulozyten, Lymphozyten und Monozyten. Die granulozytäre Reihe unterscheidet neutrophile, eosinophile und basophile Granulozyten. Im peripheren Blut sind basophile Granulozyten fast nie anzutreffen, sie zeigen auch keine spezifischen Reaktionen im Verlauf des Entzündungsgeschehens. Eosinophile Granulozyten lassen sich im Vergleich mit den basophilen Granulozyten zwar in einer größeren Zahl im Blut nachweisen, aber ihre Werte zeigen praktisch keine entzündungsspezifischen Reaktionen beim Pferd. Aus diesem Grund werden diese beiden Zelltypen im Folgenden nicht näher besprochen.

2.2.1.2.1 Physiologie

Der Ursprung aller Leukozyten (wie auch der Erythro- und Thrombozyten) sind totipotente Stammzellen im Knochenmark. Die Entwicklung der Zellen unterscheidet sich beim Pferd grundsätzlich nicht von der bei Mensch oder anderen Tieren (TSCHUDI 1975).

Die Regulation der Zellsynthese erfolgt über Stimulation durch CSFs (colony stimulating factor) und Hemmung durch CIFs (colony inhibitory factor) (JAIN 1993a).

Die Bildung der neutrophilen Granulozyten im Knochenmark des Pferdes dauert etwa 6 bis 7 Tage (VALLI et al. 1975), die Bildung der Monozyten erfordert lediglich Stunden bis maximal 2 Tage (MORITZ 1997). Im Falle der Granulo- und Monozyten sowie der B-Lymphozyten stellt das Knochenmark zugleich den Ort der Zellreifung dar, und dient für die neutrophilen Granulozyten auch als Speicher (JAIN 1986b, MORITZ 1997). Beim Hund enthält dieser Reservespeicher für Granulozyten etwa das 7,5fache der intravasalen Menge (zitiert nach MORITZ 1999). Angaben über die Größe des Reservespeichers beim Pferd liegen nach Wissen der Autorin nicht vor. Entfernt man beim Hund die Leukozyten experimentell aus der Blutbahn, werden die Neutrophilen innerhalb von 4-6 Stunden aus den Knochenmarksspeichern mobilisiert (zitiert nach JAIN 1986b). Sind die Knochenmarksspeicher entleert, werden auch nicht vollständig ausgereifte stabkernige Granulozyten ins Blut abgegeben (JAIN 1993a).

Eine Besonderheit der Verteilung im Gefäßsystem stellen die segmentkernigen neutrophilen Granulozyten (PMN) dar. Die Gesamtheit der PMN im Blut (total blood granulocyte pool = TBGP) ist in zwei Sektionen aufgeteilt: den zirkulierenden (circulating granulocyte pool = CGP) und den marginalen (marginal granulocyte pool = MGP) Granulozytenpool. Die Verteilung in die beiden Pools erfolgt beim Pferd wie auch beim Menschen und anderen Tieren etwa zu gleichen Teilen (ATHENS et al. 1961, CARAKOSTAS et al. 1981). Der TGBP beträgt beim Pferd etwa $5,65 \times 10^8$, der CGP $2,71 \times 10^8$ und der MGP $2,94 \times 10^8$ Zellen pro Kilogramm Körpergewicht (CARAKOSTAS et al. 1981). Die marginalen Pools liegen v.a. im retikuloendothelialen System, und hier im Besonderen in Milz und Lunge (JAIN 1993a, BUTSON et al. 1995, PETERS 1995).

Ausgereifte Monozyten und B-Lymphozyten finden sich nur in relativ geringer Zahl im Knochenmark (MORITZ 1997). Ein Speicher für Monozyten existiert im Organismus nicht. Nach einer relativ kurzen Durchgangszeit im Blut von wenigen Stunden wandern die Monozyten ins Gewebe aus, werden zu Makrophagen und überleben Wochen bis Monate. Reife Lymphozyten befinden sich nur zu einem sehr geringen Teil im Blut und haben eine Halbwertszeit von lediglich 30 Minuten, wobei das Verhältnis von T- zu B-Lymphozyten etwa fünf zu eins beträgt (KRAFT et al. 1997a, RUSSELL et al. 1998). Der größte Teil der Lymphozyten befindet sich in den lymphatischen Organen (z.B. Lymphknoten, Thymus, Milz, Ductus thoracicus) (KRAFT et al. 1997a, MORITZ 1997).

Leukozyten, die im Anschluss an den Aufenthalt im Gefäßsystem in das Gewebe ausgewandert sind, überleben dort Tage bis Monate und kehren nicht in die Blutbahn zurück (JAIN 1986b). Eine Ausnahme können tumorös entartete Leukozyten bilden, denen man die Fähigkeit zuspricht, aus dem Gewebe wieder ins Blut zurückzukehren (JAIN 1986b).

2.2.1.2.2 Einflussfaktoren auf die Verteilung im Gefäßsystem

Veränderungen der Zusammensetzung der Leukozytenpopulation sind auch unter physiologischen Bedingungen zu beobachten. So verändert sich beim Pferd im Alter das Verhältnis der neutrophilen Granulozyten zu den Lymphozyten zu Gunsten der

neutrophilen Granulozyten, da die absolute Zahl der Lymphozyten abnimmt (SCHALM 1975a). Die Anzahl der Monozyten unterliegt keinem Alterseinfluss (JAIN 1986a).

Ist die Blutentnahme mit Stress und Aufregung verbunden, reagiert der Organismus mit der Ausschüttung von Epinephrin. Dies bewirkt die Steigerung des Blutdruckes und dadurch Beschleunigung der Blutflussgeschwindigkeit, wodurch Anteile des MGP in das Gefäßlumen abgeschwemmt werden und so zu einer Erhöhung der Leukozytenzahl führen. Die Erhöhung der neutrophilen Granulozyten wird auch als „Pseudo“-Neutrophilie bezeichnet, da die Gesamtzahl der PMN im Blut unverändert bleibt (JAIN 1993a). SCHALM et al. (1970) hingegen beschrieben unter Stress eine Lymphopenie ohne Leukozytose.

Stress und Aufregung (ausgelöst auch durch Transport oder Schmerzen) führen zudem zu einer Ausschüttung von ACTH, welches die Nebennierenrinde zur Synthese und Ausschüttung von Corticosteroiden stimuliert (JAIN 1986c).

Dies wurde experimentell durch LANE et al. (1990) und OSBALDISTON und JOHNSON (1972) durch Injektion von Dexamethason bei Pferden simuliert. In einem Zeitraum von 4 bis 12 Stunden nach der Injektion bestand eine signifikante Erhöhung der Leukozyten (um etwa 50 %), die praktisch ausschließlich Folge einer Erhöhung der neutrophilen Granulozyten war. Diese Leukozytose normalisierte sich etwa nach 24 Stunden auf einen physiologischen Wert. Zur gleichen Zeit bestand bei einigen der Versuchspferde eine geringgradige Lymphopenie (LANE et al. 1990, OSBALDISTON und JOHNSON 1972). ATHENS et al. (1961) stellten anhand ihrer Untersuchungen am Menschen Überlegungen über die zugrunde liegenden Mechanismen an. Unter dem Einfluss von Cortison nahm der TGBP (total blood granulocyte pool) zu. Auch MGP (marginal granulocyte pool) und CGP (circulating granulocyte pool) wurden deutlich größer, wobei das Verhältnis von MGP zu CGP nicht mehr 1:1 betrug, sondern wesentlich zu Gunsten des CGP verändert war. Sie schlussfolgerten, dass diese Zunahme nicht durch eine gesteigerte Synthese von Granulozyten im Knochenmark zustande kam. Ursache schien entweder eine Ausschüttung von Granulozyten aus den Speichern im Knochenmark, oder eine verlängerte Verweildauer der Granulozyten im Blut zu sein (ATHENS et al. 1961). CARACOSTAS et al. (1981) ermittelten bei ihren Untersuchungen am Pferd, dass drei Stunden nach Injektion von Prednisolon die Granulozyten aus ihren Knochenmarksspeichern mobilisiert wurden.

Auch körperliche Arbeit beeinflusst die Leukozytenverteilung. Nach starker kurzzeitiger Arbeit steigt die Zahl der Gesamtleukozyten und der neutrophilen Granulozyten an, die der Lymphozyten nimmt ab. Bei langsam gesteigerter Arbeit über einen längeren Zeitraum kommt es ebenfalls zu einer Zunahme der Gesamtleukozyten, jedoch einer Abnahme der neutrophilen Granulozyten (DUSEK 1973).

2.2.1.2.3 Referenzbereiche

Ein Problem bei der Beurteilung der gemessenen Werte von Gesamtleukozyten und den einzelnen Leukozytenpopulationen besteht darin, dass die Referenzwerte, welche von verschiedenen Autoren ermittelt wurden, teilweise deutlich voneinander abweichen. Eine Erklärung hierfür könnte sein, dass es sich bei den Pferden in amerikanischen und englischen Untersuchungen i.d.R. um Vollblüter handelt, wohingegen das Untersuchungsmaterial deutschsprachiger Untersucher meist aus Warmblütern besteht. Eine Übersicht verschiedener Referenzwerte findet sich in Tabelle 2 (S. 17).

Auch die Definition der Leukozytose variierte zwischen den verschiedenen Untersuchern. SCHALM (1975a) wertet Leukozytenzahlen von $>12 \times 10^9/l$ als Leukozytose, während GERBER et al. (1975) dies schon bei Werten $>9 \times 10^9/l$ beschreiben. Bei ANDREWS et al. (1994) sind die Angaben höher. Erst wenn die Anzahl an neutrophilen Granulozyten einen Wert von $14 \times 10^9/l$ überschritt, wurde dies als pathologische Zunahme der Leukozyten gewertet, Werte zwischen 7 und $14 \times 10^9/l$ resultierten nach ihrer Ansicht aus Stresszuständen. Auch im unteren Grenzbereich tolerieren ANDREWS et al. (1994) deutlich niedrigere Werte als SCHALM (1975a). Eine Leukopenie beginnt bei SCHALM (1975a) bei einer Leukozytenzahl $<5,5 \times 10^9/l$, bei ANDREWS et al. (1994) erst bei einem Wert $<3 \times 10^9/l$.

Als gesichert gilt die Tatsache, dass Pferde mit wesentlich geringeren Zunahmen der Leukozyten und besonders der neutrophilen Granulozyten reagieren als beispielsweise Hunde oder Katzen. Somit sind gering- bis mittelgradige Erhöhungen der absoluten Werte ernster zu bewerten als bei Karnivoren (JAIN 1986c, ANDREWS et al. 1994, KRAFT et al. 1997a).

Tab. 2: Referenzwerte für Leukozyten beim erwachsenen Pferd (soweit nicht anders angegeben Mittelwerte \pm Standardabweichung)

Autor	Rasse	WBC ($\times 10^9/l$)	Differentialzellbild ($\times 10^6/l$)					
			Segm	Stabk	Lymph	Mono	Eos	Baso
DOXEY 1971	Vollblut	5,5 - 12 ¹	2500 - 6700 ¹		1500 - 5500 ¹	0 - 800 ¹	0 - 950 ¹	0 - 170 ¹
SCHALM 1975a	Vollblut	8,822 $\pm 1,760$	4877 ± 1316	22 ± 57	3146 ± 826	385 ± 240	316 ± 231	60 ± 72
LUMSDEN et al. 1980	Vollblut	8,1 $\pm 1,5$	4100 ± 100	30 ± 6	3400 ± 800	200 ± 100	200 ± 200	20 ± 30
JAIN 1986a	Vollblut	9,815 $\pm 1,449$	5326 ± 989	39 ± 67	3684 ± 975	371 ± 215	310 ± 208	31 ± 56
GERBER et al. 1975	Warmblut	5,5 - 9 ¹	2500 - 6000 ¹		1500 - 4000 ¹	100 - 500 ¹	0 - 350 ¹	0 - 150 ¹
KRAFT et al. 1997	Warmblut	5 - 10 ¹	3000 - 7000 ¹	0 - 600 ¹	1500 - 4000 ¹	40 - 400 ¹	40 - 350 ¹	0 - 150 ¹
MVK I	Warmblut	5 - 10 ¹	3000 - 7000 ¹	0 - 600 ¹	1500 - 4000 ¹	0 - 400 ¹	0 - 300 ¹	0 - 100 ¹
ANDREWS et al. 1994	k. A.	k. A.	3000 - 7000 ¹		1500 - 5500 ¹	350 - 850 ¹	80 - 200 ¹	k.A.

WBC = Gesamtleukozytenzahl

¹ = Spannbreite

k.A. = keine Angabe

MVK I = Medizinische und Gerichtliche Veterinärklinik I, Gießen

Segm = segmentkernige Neutrophile

Stabk = stabkernige Neutrophile

Lymph = Lymphozyten

Mono = Monozyten

Eos = Eosinophile Granulozyten

Baso = Basophile Granulozyten

2.2.1.2.4 Leukozytenveränderungen im Blut bei entzündlichen Prozessen

Bereits Anfang dieses Jahrhunderts postulierte *SCHILLING* seine biologische Leukozytenkurve, die die Veränderungen der Leukozytenpopulation im Verlauf einer entzündlichen Reaktion beim Menschen widerspiegelt. Sie besitzt auch heute noch in den Grundlagen ihre Gültigkeit. *SCHILLING* beschrieb vier aufeinanderfolgende Phasen: 1. Depression mit Leukopenie, Neutropenie und Lymphopenie; 2. Kampfphase mit Leukozytose, Neutrophilie und Lymphopenie; 3. Überwindung mit Abnahme von Leukozytose und Neutrophilie sowie Anstieg der Lymphozyten; 4. Heilung mit geringgradig Leukozytose, normaler Anzahl an neutrophilen Granulozyten und geringgradiger Monozytose (zitiert nach KRAFT et al. 1997a).

- Gesamtleukozyten und neutrophile Granulozyten

Die meisten der zu beobachtenden Veränderungen der Gesamtleukozytenzahl sind auf eine Änderung der Konzentration der neutrophilen Granulozyten zurückzuführen (JAIN 1986b).

Von *Schilling* wurde 1929 für das vermehrte Auftreten jugendlicher, nicht vollständig ausgereifter neutrophiler Granulozyten der Begriff „Linksverschiebung“ vorgeschlagen. Weiterhin klassifizierte er die Verschiebung als „regenerativ“ bei gleichzeitiger Erhöhung der Granulopoese und „degenerativ“ bei verminderter Neutrophilenproduktion und verzögerter -reifung (zitiert nach JAIN 1986b).

Eine Leukopenie zu Beginn der Akut-Phase-Reaktion ist nur in den ersten Stunden nach Einsetzen der Noxe zu beobachten. Bei i.v. Injektion von Endotoxinen, deren systemische Wirkungen häufig den Verlauf von Enteritiden bestimmen können, kommt es nach eineinhalb Stunden zu einem massiven Anstieg von TNFa und gleichzeitig zu einem hochgradigen Abfall der Leukozytenzahl (MORRIS et al. 1990). Hierbei handelt es sich v.a. um neutrophile Granulozyten, deren Adhäsion an das Endothel durch TNFa gesteigert wird (KUNKEL et al. 1989). Es besteht eine signifikante negative Korrelation zwischen Leukozytenzahl und TNFa (MORRIS et al. 1990). Eine Leukozytose ist bei MORRIS et al. (1992) 8 Stunden nach i.v. Endotoxininjektion feststellbar. Es wurde kein Differentialzellbild erstellt (MORRIS et al. 1992).

Bei Fohlen mit klinischen Anzeichen einer Septikämie war eine auffallende Abhängigkeit der Leukozytenzahl vom Alter der betroffenen Tiere festzustellen. Fohlen mit einem Alter von bis zu einer Woche zeigten im Vergleich mit gesunden Fohlen im selben Alter eine signifikante Leukopenie und Neutropenie mit Linksverschiebung. Bei Fohlen im Alter von ein bis zwei Wochen war im Vergleich mit gesunden Altersgenossen eine Leukozytose mit Neutrophilie und Linksverschiebung festzustellen. Die Fohlen wurden nach einem nicht näher erläuterten Score-System beurteilt, eine Angabe über die Dauer der Erkrankung erfolgte nicht (BARTON et al. 1998).

Der Einfluss von Corticosteroiden auf die Leukozyten (Neutrophilie) wurde oben bereits beschrieben (siehe Kap. 2.2.1.2.2; S.14 ff.). Im Verlauf der Akut-Phase-Reaktion wird von aktivierten Makrophagen IL-6 ausgeschüttet (siehe Kap. 2.1; S. 3 ff.). Dies induziert in der Hypophyse eine vermehrte ACTH-Synthese, durch dessen Wirkung die Nebennierenrinde vermehrt Corticosteroide synthetisiert und ausschüttet (ANDUS et al. 1989).

MILLS et al. (1998) induzierten bei Pferden durch eine i.m. Injektion von Freud's Adjuvans an den Tagen 0, 1 und 6 eine Entzündung. An Tag 3 ließ sich eine signifikante Erhöhung der Leukozytenzahl feststellen, die ausschließlich auf eine Neutrophilie zurückzuführen war. Ursache für diese Neutrophilie war nach Meinung der Autoren die Mobilisation der PMN aus ihren marginalen Pools. Die Werte kehrten an Tag 4 auf ihren Ausgangswert zurück und veränderten sich bis Tag 6 nicht. Nach der erneuten Injektion an Tag 6 stellte sich an Tag 7 wiederum ein signifikanter Anstieg der Leukozyten (deutlicher als an Tag 3) mit Neutrophilie und leichter Linksverschiebung ein. Diese Leukozytose blieb auch bis Tag 9 erhalten. Bei erneuter Messung an Tag 11 hatte sich die Zahl der Leukozyten wieder etwas reduziert, lag aber weiterhin über dem Ausgangswert vor der ersten Injektion (MILLS et al. 1998).

SCHALM (1979) induzierte durch eine i.m. Injektion mit *Corynebacterium pseudotuberculosis* eine Abszessbildung in der vorderen Brustmuskulatur eines Pferdes, die mit einer hochgradigen Leukozytose einherging. Nach Spaltung des Abszesses kehrte die Zahl der Leukozyten wieder zu dem vor dem Experiment gemessenen Wert zurück (SCHALM 1979). Kommt es zur natürlichen Abkapselung des Abszesses, finden sich ebenfalls wieder physiologische Leukozyten- und Neutrophilenkonzentrationen im Blut (JAIN 1986b).

Leukopenien treten beim Pferd häufig bei fieberhaften Diarrhoen auf, meist auch mit gleichzeitig bestehender Linksverschiebung (DORN et al. 1975, STEWART et al. 1995). In der Regel ist dieser Zustand prognostisch infaust (STEWART et al. 1995).

Bei einem Pferd, welches seit 2 Wochen an einer Infektion der Atemwege litt, wurden TBGP, CGP, MGP und die Halbwertszeit der Granulozyten im Blut ($T_{1/2}$) bestimmt. Hierbei ergibt sich, dass die TBGP deutlich erhöht, und das Verhältnis von CGP zu MGP zu Gunsten des MGP verschoben ist (CARAKOSTAS et al. 1981). Gleichzeitig kommt es zu einer Verlängerung der $T_{1/2}$, was CARAKOSTAS et al. (1981) darauf zurückführen, dass die Auswanderung der PMN in das nicht von der Entzündung betroffene Gewebe im Körper reduziert wird. Die Steigerung der Zahl der jugendlichen Granulozyten im Blut als Ursache wird von ihnen ausgeschlossen.

Bei der chronisch obstruktiven Bronchitis (COB), zeigen sich lokal in den Bronchien und Alveolen bestehende Entzündungen, gekennzeichnet durch erhöhte Anzahl an PMN in der broncho-alveolären Spülflüssigkeit, im Blut jedoch ist eine Neutrophilie nicht nachzuweisen (CHABCHOUB und GUELFY 1989, VANDENPUT und LEKEUX 1996).

SCHALM (1975b) erwähnt, dass im Falle einer chronischen Entzündung eine Leukozytose mit Neutrophilie und geringgradiger Linksverschiebung auftreten kann.

- Lymphozyten und Monozyten

Während der Akut-Phase-Reaktion kommt es durch den Einfluss von Cortison zu einem Abfall der Lymphozyten und auch der Monozyten (SCHALM 1975a). MILLS et al. (1998) ermittelten in ihrer Untersuchung keine Veränderung der Anzahl der Lymphozyten durch eine iatrogen mit Freud's Adjuvans induzierte Entzündung.

Im Vergleich mit gesunden Altersgenossen zeigen Fohlen im Alter von bis zu einer Woche bei dem Auftreten einer Septikämie eine signifikante Lymphopenie, bei den älteren Tieren zwischen ein und zwei Wochen ist dies nicht festzustellen. Eine signifikante Erhöhung der Monozyten weisen beide Gruppen auf (BARTON et al. 1998).

Bei viralen Infektionen zeigt das Differentialblutbild eine Lymphopenie (DOXEY 1971, RUSSELL et al. 1998), wobei die T-Lymphozyten deutlicher abnehmen als die B-Lymphozyten (RUSSEL et al. 1998). ALLEN et al. (1982) bezeichneten eine

Monozytose in den ersten Tagen einer Virusinfektion als typisch. Später wird sie von einer relativen Lymphozytose gefolgt.

Mit zunehmender Chronizität der Entzündung tritt bei Pferden eine Monozytose ein (DOXEY 1971, SCHALM 1975a). Als Ursache für diese Monozytose wird die Unfähigkeit des Organismus angesehen, allein mit Hilfe der Neutrophilen die Entzündungsursache zu bekämpfen (JAIN 1986c).

Ein aktivierter chronischer Entzündungsprozess wird häufig begleitet durch eine Monozytose mit gleichzeitig bestehender Erhöhung des Fibrinogens und/oder Linksverschiebung (JAIN 1986c, WUIJCKHUISE-SJOUKE 1984).

2.2.2 REAKTIONEN DER EIWEISSFRAKTIONEN

Der Gehalt an Proteinen im Plasma wird bestimmt durch das Gleichgewicht zwischen Filtration der Proteine durch die Kapillarwände in das Gewebe, und dem Rückfluss in das Blut mit der Lymphe in Abhängigkeit vom kolloidosmotischen Druck (JAIN 1993b). Bei Mensch und Tieren wurden mehr als 100 verschiedene Proteine im Serum beschrieben. Sie werden unterteilt in Albumin und Globuline. Die Globuline wandern im elektrischen Feld in drei Gruppen, diese werden als a-, b- und g-Globuline bezeichnet (KANEKO 1980).

In der Regel werden die Konzentrationen der Proteine im Serum bestimmt. Teilweise werden sie auch im Plasma gemessen, in diesem Falle beinhaltet das Gesamteiweiß (GE) auch das Fibrinogen.

Als Standardmethode der Proteinbestimmung gilt die *Biuret*-Methode. Sie basiert auf einer Blaufärbung der Proteine durch Verbindung mit zugefügten Kupferionen, die sich an die Peptidbindungen der Proteine anlagern. Die Farbintensität wird densitometrisch bei 546 nm gemessen, hierbei ist die Färbung proportional zur Zahl der Peptidbindungen (KANEKO 1980).

Mit zunehmendem Alter steigt die Konzentration an GE und Globulinen und fällt die Konzentration an Albumin (KANEKO 1980). Unmittelbar nach der Geburt liegt der Gehalt an GE bei Fohlen zwischen 36 und 52 g/l. Durch die Aufnahme des Kolostrums steigt das GE innerhalb von 3 bis 6 Stunden auf 50 bis 60 g/l an, und bleibt für etwa 28 Tage bei diesem Wert. Durch den Abbau der maternalen Proteine aus dem Kolostrum

sinkt das GE zunächst wieder und erreicht dann durch die körpereigene Produktion im fünften bis sechsten Lebensmonat mit 60 bis 75 g/l Normalwerte von adulten Tieren (JAIN 1986a). In einer anderen Quelle wird der untere Normwert mit 55 g/l angegeben (KRAFT et al. 1997b).

Eine Hämokonzentration, beispielsweise im Verlauf des Schockgeschehens führt durch den Flüssigkeitsverlust sekundär zu einer Hyperproteinämie (JEFFCOTT 1971, JAIN 1986d, BECHT 1987, KRAFT et al. 1997b).

JAIN (1993b) gibt zu bedenken, dass durch eine bestehende Hämokonzentration das Vorliegen einer Hypoproteinämie übersehen werden kann.

Gering- bis mittelgradige absolute Erhöhungen der Proteine sind meist Folge einer akuten oder chronischen Entzündung (SCHALM 1975b, FLOTHOW und DEEGEN 1994, KRAFT et al. 1997b). Myelome und die idiopathische Gammopathie führen zu hochgradigen Hyperproteinämien; beide Erkrankungen sind beim Pferd jedoch sehr selten, bzw. im Falle der idiopathischen Gammopathie nur als vereinzelte Fälle beschrieben (JAIN 1986d, FLOTHOW und DEEGEN 1994).

Beim Pferd sehr viel häufiger vorkommend sind die Hypoproteinämien. Ursächlich kann unterschieden werden zwischen einer mangelnden Synthese und einem Verlust der Proteine (JAIN 1986d, KRAFT et al. 1997b).

Als vermutlich häufigste Ursachen für eine verminderte Synthese kommen beim Pferd v.a. Parasitosen (besonders im Magen-Darm-Trakt) und chronische Enteritiden (die Folge einer Parasitose sein können) in Frage, die zu einer Malresorption führen. Weitere Ursachen sind Unter- bzw. Fehlernährung, chronische Lebererkrankungen (Zirrhose, Hepatitis, diffuse Fibrose) und maligne Tumoren (JAIN 1986d, FLOTHOW und DEEGEN 1994, KRAFT et al. 1997b).

Akute Enteritiden stellen beim Pferd die wichtigste Ursache für Proteinverluste, die zu einer hochgradigen Hypoproteinämie führen können, dar. Auch massive Blutverluste und seltener Tumoren oder Verbrennungen können eine Hypoproteinämie verursachen (JAIN 1986d, KRAFT et al. 1997b). Die chronischen Nierenerkrankungen spielen beim Pferd im Vergleich mit anderen Tierarten wie Hund oder Katze eine deutlich untergeordnete Rolle für Proteinverluste. Zudem führt diese Erkrankung lediglich zu Blutwerten, welche meist noch im unteren Grenzbereich der Normalkonzentration liegen (SCHOTT 1998).

2.2.2.1 Albumin

Albumin wird in der Leber synthetisiert. Die Synthese scheint der Regulation durch IL-1 zu unterliegen (JAIN 1993b). ANDUS et al (1989) beschrieben eine Synthesehemmung von Albumin unter dem Einfluss von IL-1, IL-6 und TNF α . Im Serum stellt Albumin den wichtigsten Faktor (zu etwa 75 %) für die Aufrechterhaltung des kolloidosmotischen Druckes dar. Gleichwohl befindet sich im extravasalen Gewebe eine etwa 2,9fache Menge an Albumin im Vergleich mit dem Serum (JAIN 1993b). Zudem dient das Albumin als wichtigstes Bindungs- und Transportprotein (KANEKO 1980). Die Halbwertszeit des Albumins wurde beim Pferd mit 19,4 Tagen ermittelt (MATTHEEUWS et al. 1966). Vergleicht man diesen Wert mit dem bei anderen Tieren ermittelten, scheint eine direkte Korrelation zwischen Halbwertszeit und Körpergröße zu bestehen (KANEKO 1980).

Der Mechanismus für die Kontrolle des Albumin-Spiegels im Blut ist nicht vollständig bekannt. Es wird jedoch vermutet, dass die Konzentration von Albumin im Interstitium der Leber bestimmt wird und hierdurch die Regulation der Synthese erfolgt (JAIN 1986d). Außerdem wird die Synthese von Ernährung, Hormonen und Stress beeinflusst (JAIN 1993b). Im Vergleich mit dem Menschen, bei welchem der Gehalt an Albumin 60 bis 67 % des Gesamteiweißes beträgt, liegen die Werte mit 35 bis 50 % bei Tieren deutlich niedriger (KANEKO 1980). Als Normalkonzentration wird für das Pferd ein Wert von 25 bis 45 g/l angegeben (KRAFT et al. 1997b).

Eine Zunahme der Albumin-Konzentration durch übermäßige Synthese ist bei Tieren nicht bekannt. Erhöhte Serumwerte sind i.d.R. Folge einer Dehydration (KANEKO 1980).

Experimentell wurde bei Ratten und Mäusen nachgewiesen, dass es im Verlauf der Akut-Phase-Reaktion zu einer drei- bis fünffachen Abnahme der Synthese von mRNS für die Synthese von Albumin in den Hepatozyten kommt. Hieraus resultiert auch die Bezeichnung als sogenanntes „negatives“ Akut-Phase-Protein (PEPYS und BALTZ 1983).

Bei der von AUER et al. (1989) und MILLS et al. (1998) induzierten Entzündung durch mehrfache i.m.-Injektion von Freud's Adjuvans war der Gehalt an Albumin im Blut von Tag 1 bis Tag 50 (AUER et al. 1989) bzw. Tag 9 bis 11 (MILLS et al. 1998) nach Injektion signifikant erniedrigt. Die operative Therapie von Gelenkserkrankungen

(Knorpelzysten bzw. OCD) führt an Tag 6 und 8 p. op. zu einem signifikanten Abfall des Albumingehaltes (ALLEN und KOLD 1988).

Bei den von MAIR et al. (1990) untersuchten adulten Pferde mit Diarrhoe zeigten die Tiere, die verstarben oder aufgrund infauster Prognose euthanasiert wurden nicht nur niedrigere Konzentrationen an GE, sondern auch der Albumingehalt des Blutes war signifikant niedriger im Vergleich zu den überlebenden Patienten.

COFFMAN (1981) beschrieb bei Pferden mit länger andauernden Proteinverlusten über die geschädigte Darmschleimhaut, dass der Verlust an Albumin wesentlich ausgeprägter war als der Verlust der a- und b-Globuline. Er erklärt dies mit der längeren Halbwertszeit des Albumin und die dadurch bedingte geringere Syntheserate (COFFMAN 1981). Auch das Vorliegen einer Cyathostominose äußert sich in einer Hypalbuminämie. Nach Behandlung mit Anthelmintika normalisierte sich der Gehalt wieder, was von den Autoren als Zeichen der Schleimhautregeneration gedeutet wird (MAIR et al. 1993).

RUSSELL et al. (1998) untersuchten Blut von klinisch inapparenten EIA-Virus seropositiven Pferden. Diese zeigen signifikant niedrigere Konzentrationen an Albumin als seronegative Pferde, unabhängig davon wie lange sie schon Träger waren (kürzer bzw. länger als ein Jahr). OSBALDISTON (1972) stellte ebenfalls erniedrigte Albumin-Werte, allerdings bei akut an EIA erkrankten Pferden, fest.

Nicht nur akute sondern auch chronische Infektionen und Entzündungen können zu einer Verminderung des Albumingehaltes im Blut führen (JAIN 1993b, FLOTHOW und DEEGEN 1994). Dieselbe Beobachtung machte COFFMAN (1981) bei länger bestehenden intraabdominalen Abszessen und chronischen Lebererkrankungen.

Pferde mit COB zeigen keinerlei Veränderungen der Albuminkonzentrationen (CHABCHOUB und GUELFY 1991).

KANEKO (1980) beschreibt, dass Veränderungen im Albumin/Globulin-Verhältnis häufig erste Anzeichen einer Protein-Abnormalität sein können. Er verwendet das Verhältnis A/G v.a. im Vergleich mit dem Elektrophorese-Profil, um die Ursache einer Dysproteinämie zu ermitteln. Er gibt jedoch an, dass andere, von ihm nicht persönlich genannte Autoren diesen errechneten Wert als wenig nützlich in der Diagnostik bezeichnen und die absoluten Werte der beiden Fraktionen bevorzugen (KANEKO 1980). Das Albumin/Globulin-Verhältnis sollte 0,7 bis 1,1 betragen (KRAFT et al. 1997b).

2.2.2.2 Globuline

Auf die Globuline wird an dieser Stelle ausschließlich in ihrer Gesamtheit eingegangen, die einzelnen Fraktionen werden im Kapitel 2.3.2.2 (S. 46 ff.) ausführlich besprochen.

Die Bestimmung der Globuline im Serum erfolgt meist durch Berechnung aus dem Gesamteiweiß abzüglich der Konzentration an Albumin. Eine direkte Messung der Gesamtglobuline ist, mit Ausnahme der Durchführung einer Elektrophorese (siehe Kap. 2.3; S. 41 ff.) nicht möglich. Von den Einzelfraktionen können lediglich die g-Globuline direkt bestimmt werden. Etabliert hat sich diese Messung im Serum von neugeborenen Fohlen. Durch die Messung im Serum lässt sich feststellen, ob die Aufnahme und Resorption der Immunglobuline aus dem Kolostrum ausreichend war. Die genaueste Messmethode stellt die radiale Immunodiffusion dar, allerdings dauert die Bestimmung 18 bis 24 Stunden (RUMBAUGH et al. 1978). Eine einfache, jedoch etwas ungenaue Methode ist der Zink-Sulfat-Trübungstest (RUMBAUGH et al. 1978). Kommerzielle Tests bei denen der g-Globulingehalt mittels Latex-Agglutination bestimmt wird (z.B. IgG Test Kit, IDEXX GmbH Wörrstadt) liefern schnelle, aussagekräftige g-Globulinwerte (THEIN et al. 1989). Ein fast vollständiges Fehlen an g-Globulinen ist physiologischerweise festzustellen bei neugeborenen Fohlen, die noch kein Kolostrum aufgenommen haben, und pathologisch bei Araberfohlen, die an der autosomal rezessiv vererbten kombinierten Immunodefizienz (CID) leiden (KANEKO 1980, JAIN 1993b, FLOTHOW und DEEGEN 1994).

Die mehrfache i.m.-Injektion von Freud's Adjuvans führt ab dem Tag nach der zweiten Injektion zu einer signifikanten Erhöhung des Gehaltes an Globulinen im Blut. Der Verlauf der Veränderungen an GE und Globulinen ist nahezu parallel (MILLS et al. 1998). Die Autoren führten diese Erhöhung auf eine unspezifische Stimulation des Immunsystems durch den Anteil von *Mycobacterium tuberculosis* im Freud's Adjuvans zurück.

Die chirurgische Behandlung von OCD bzw. Knorpelzysten führt von Tag 2 bis Tag 15 postoperativ zu einer Erhöhung der Serumglobuline (ALLEN und KOLD 1988).

RUSSELL et al. (1998) ermittelten bei klinisch unauffälligen EIA-seropositiven Pferden signifikant höhere Globulinwerte als bei den seronegativen Tieren. Von den g-Globulinen war allein das IgM signifikant erhöht. Die Autoren sahen eine fortbestehende Antigen-Stimulation als Ursache (RUSSELL et al. 1998).

Chronische Entzündungen (SCHALM 1975b) und chronische Lebererkrankungen (COFFMAN 1981) äußern sich in Erhöhungen der Globulinkonzentrationen.

2.2.2.3 Akut-Phase-Proteine (APP)

PEPYS und BALTZ (1983) verfassten einen Übersichtsartikel in Bezug auf die Akut-Phase-Proteine beim Menschen. Die Bezeichnung Akut-Phase-Proteine wurde 1941 von Avery *et al.* eingeführt, und bezog sich auf Serum, welches von akut infektiös erkrankten Menschen stammte (PEPYS und BALTZ 1983).

Bei den APP handelt es sich um Proteine, die im Rahmen der Akut-Phase-Reaktion (ANDUS *et al.* 1989, JAIN 1993b), aber auch bei chronischen Entzündungen (STUART und WHICHER 1988) von der Leber synthetisiert werden. Die Funktionen der verschiedenen APP sind nur unvollständig bekannt (siehe Kap. 2.2.2.3.1 ff.; S. 27 ff.). Induziert wird die Synthese v.a. durch IL-6 (ANDUS *et al.* 1989, MORRIS *et al.* 1992, MACKAY und LESTER 1992). Die APP scheinen als negative Rückkopplung auf die Freisetzung der Mediatoren zu wirken (JAIN 1993b). Der Anstieg der verschiedenen APP erfolgt im Blut zeitlich versetzt. Die Kontrollmechanismen, die für die Synthese und Freisetzung der Proteine verantwortlich sind, sind unbekannt (MILNE *et al.* 1991). Anhand mehrfacher Konzentrationsbestimmungen verschiedener APP können Beginn und Verlauf einer Entzündung genau bestimmt und beurteilt werden (STUART und WHICHER 1988).

Teilweise werden in der Literatur auch sogenannte „negative“ APP beschrieben, deren Konzentrationen im Verlauf der Akut-Phase-Reaktion abnehmen. Es handelt sich hierbei um Albumin und Transferrin (PATTERSON *et al.* 1988, JAIN 1993b).

Von besonderem Interesse für die Diagnostik sind die sogenannten Major-APP. Sie besitzen einen physiologisch niedrigen Blutspiegel, reagieren im Falle einer Entzündung sehr schnell und mit einem Anstieg um mehr als das 100fache (KENT 1992) bzw. 10- bis 1000fache (STUART und WHICHER 1988), und besitzen zudem eine kurze Halbwertszeit (STUART und WHICHER 1988). Aus diesen Gründen sind kleinste Anzeichen und Ausmaß einer beginnenden systemischen Entzündungsreaktion sehr schnell über die Bestimmung des oder der Major-APP zu ermitteln.

Die Major-APP variieren je nach Spezies: Major-APP beim Menschen sind das C-reaktive Protein (CRP) und das Serum Amyloid A (SAA) (PEPYS und BALTZ 1983).

Auch bei Hund, Schwein und Kaninchen ist das CRP Major-APP (KENT 1992). Für das Pferd trifft dies nicht zu, Major-APP scheint hier das SAA zu sein (PEPYS et al. 1989, KENT 1992, CHAVATTE et al. 1992, NUNOKAWA et al. 1993, SATOH et al. 1995). Der Anstieg der APP auf ihren jeweiligen Maximalwert im Verlauf der Akut-Phase-Reaktion beim Pferd erfolgt in folgender zeitlicher Abfolge: SAA, α_1 -saures Glykoprotein (auch Orosomukoid genannt), CRP, Haptoglobin, Fibrinogen, Ceruloplasmin (NUNOKAWA et al. 1993). Weitere APP sind α_2 -Makroglobulin und das „negative“ APP Transferrin (COTÉ et al. 1996, PATTERSON et al. 1988).

Im Folgenden werden die aus der Literatur zugänglichen Erkenntnisse zu diesen APP beim Pferd zusammengefasst.

2.2.2.3.1 Fibrinogen

Das Fibrinogen ist ein fadenförmiges Glykoprotein und wird in der Leber synthetisiert und auch gespeichert (JAIN 1993b). Die Synthesedauer beträgt etwa 24 bis 48 Stunden (BARTON et al. 1998). Die Halbwertszeit des Fibrinogen im Blut beträgt beim Pferd 4 bis 5 Tage (JAIN 1993b). Das Fibrinogen ist zum einen als Faktor I elementar für die Blutgerinnung und gehört zu den Akut-Phase-Proteinen (APP), ist jedoch kein Major-APP (KENT 1992). Als APP stellt es mit seinem Fibrinmaschenwerk eine Barriere dar, um eine Streuung der Entzündungsursache zu verhindern, und bildet das Gerüst, an dem neues Gewebe wiederaufgebaut wird (JAIN 1986d).

Die Bestimmung der Fibrinogenkonzentration im Blut erfolgt grundsätzlich nach zwei unterschiedlichen Prinzipien. Entweder wird der in vivo hämostatisch aktive Teil des Fibrinogens gemessen (z.B. Methode nach Clauss, nach Jacobsson, Gravimetrie u.a.), oder man ermittelt alle Fibrinogenmoleküle unabhängig von ihrer Funktion (z.B. Hitzepräzipitation, Immunologie) (MISCHKE 1997).

BRUGMANS et al. (1998) bestimmten die Fibrinogenkonzentration beim Pferd mit verschiedenen Methoden (M. nach Jacobsson, Hitzepräzipitation nach Schalm und nach Millar). Sie ermittelten in ihrer Untersuchung, dass die Methode nach Millar für den Praxisgebrauch gut einsetzbar ist (Referenzbereich 3,12 bis 5,89 ml/100ml). Die Methode nach Schalm (Referenzbereich 0,66 bis 3,36 g/l) war weniger zuverlässig, und ergab eine schlechte Korrelation mit der Referenzmethode nach Jacobsson (Referenzbereich 1,82 bis 4,94 g/l). Wichtiges Ergebnis der Untersuchung war die

Feststellung, dass eine Transformation von Messergebnissen zum besseren Vergleich von nach verschiedenen Methoden gemessenen Werten sehr fehlerträchtig ist (BRUGMANS et al. 1998). CAMPBELL et al. (1981) beispielsweise ermittelten die Fibrinogenkonzentration mit der Methode nach Millar, deren Werte in ml/100ml angegeben werden. Anschließend transformierten sie ihre Werte durch Multiplikation mit 100 in die Einheit mg/dl, um eine Vergleichbarkeit mit Literaturangaben, wo Fibrinogen nach anderen Methoden bestimmt wurde, zu ermöglichen. BRUGMANS et al. (1998) kritisierten dieses Vorgehen, da sie in ihren Untersuchungen ermittelt hatten, dass sich die Referenzwerte, gemessen mit verschiedenen Methoden, deutlich voneinander unterscheiden und somit nicht zu vergleichen waren. SCHALM et al. (1970) gaben als Normalwert für Fibrinogen beim Pferd 200 bis 400 mg/dl an (gemessen mit Hitzepräzipitation nach Schalm). Dieser Wert wurde von WUIJCKHUISE-SJOUKE (1984) übernommen, obwohl eine andere Bestimmungsmethodik verwendet wurde. JAIN gibt in seinen Veröffentlichungen als Referenzbereich für das Pferd einmal 100 bis 400 mg/dl (1993b), ein anderes Mal 100 bis 500 mg/dl (1986d) an, ohne die Messmethodik zu benennen, oder den Unterschied anderweitig zu begründen.

Da eine bestehende Hämokonzentration in erhöhten Fibrinogenwerten resultieren kann, empfiehlt sich die Bestimmung des Verhältnisses Plasma-Protein zu Fibrinogen (PP:F). Die Fibrinogenkonzentration wird vom Plasma-Protein subtrahiert (identisch mit dem Serumproteingehalt) und das Ergebnis durch das Fibrinogen dividiert. Ein Wert >15 spricht für einen normalen Gehalt an Fibrinogen, ist das Ergebnis <15 und >10 besteht eine geringgradige Erhöhung des Fibrinogens, Werte <10 sprechen für einen deutlichen Anstieg des Fibrinogen (SCHALM et al. 1970, JAIN 1986d, ANDREWS et al. 1994).

BRUGMANS et al. (1998) stellten, gemessen mit der Methode nach Jacobsson, eine Altersabhängigkeit des Fibrinogens fest. Fohlen bis zu einem Alter von 6 Monaten hatten signifikant höhere Fibrinogenwerte ($3,25 \pm 0,4$ g/l) als Tiere im Alter zwischen 3 und 19 Jahren ($2,86 \pm 0,65$ g/l), bei Pferden älter als 20 Jahre war die Konzentration noch weiter erniedrigt ($2,52 \pm 0,46$ g/l). BARTON et al. (1998) untersuchten Fohlen bis zu einem Alter von 2 Wochen und ermittelten hingegen geringere Fibrinogenwerte als bei adulten Tieren. Besonders niedrig waren die Werte bei Fohlen jünger als 24 Stunden. SCHALM et al. (1970) und JAIN (1986d) stellten praktisch keinen Einfluss des Alters auf die Fibrinogenkonzentration fest.

Beim Vergleich verschiedener Rassen (Vollblüter, Traber, Kaltblüter) zeigen sich keine Unterschiede im Fibrinogengehalt (CAMPBELL et al. 1981).

Bereits zwei Tage nach einer künstlich induzierten Entzündung bzw. operativen Therapie von Gelenkserkrankungen kommt es zu einer Erhöhung des Fibrinogens von ursprünglich durchschnittlich 3 g/l um 1,5 bis 2 g/l (ALLEN und KOLD 1988, AUER et al. 1989, MILLS et al. 1997, MILLS et al. 1998). Maximale Werte (2 bis 3,5fache Erhöhung) werden nach fünf bis sieben Tagen erreicht (WUIJCKHUISE-SJOUKE 1984, ALLEN und KOLD 1988). Die Erhöhung bleibt bis Tag 15 (ALLEN und KOLD 1988) bzw. Tag 50 (AUER et al. 1989) bestehen.

Besonders hohe Werte an Fibrinogen werden bei bakteriellen Infektionen mit oder ohne Abszessbildung gefunden (SCHALM et al. 1970, SCHALM 1979, CAMPBELL et al. 1981, WUIJCKHUISE-SJOUKE 1984, ALLEN und KOLD 1988, TOPPER und PRASSE 1998, BARTON et al. 1998). Hierbei scheint das Fibrinogen mit der Schwere der Erkrankung zu korrelieren (WUIJCKHUISE-SJOUKE 1984, ALLEN und KOLD 1988), bei Werten über 10 g/l ist die Prognose schlecht bis infaust (WUIJCKHUISE-SJOUKE 1984).

Pferde mit Obstipationskoliken zeigen keine Veränderungen der Fibrinogenkonzentration (SCHALM et al. 1970, CAMPBELL et al. 1981).

Auch bei chronischen Entzündungen mit aktivierter Entzündungsreaktion werden erhöhte Werte an Fibrinogen gemessen (SCHALM 1975b, WUIJCKHUISE-SJOUKE 1984). Die Bestimmung erscheint somit wichtiger als die Messung der Leukozyten (SCHALM 1975a).

Die Bestimmung der Fibrinogenkonzentration eignet sich, um den Therapieerfolg und auch die körpereigene Heilung zu kontrollieren (SCHALM 1975b, WUIJCKHUISE-SJOUKE 1984).

Erniedrigte Fibrinogenwerte kommen beim Pferd praktisch nie vor. Einen Ausnahmefall stellt das seltene Lebersversagen infolge einer Hepatitis dar. Auch hier sind die Fibrinogenwerte jedoch häufig noch im Referenzbereich oder nur ganz geringgradig erniedrigt (SCHALM 1979, ANDREWS et al. 1994). ANDREWS et al. (1994) beschrieben in ihrem Übersichtsartikel, dass im Falle einer DIC (disseminierte intravasale Coagulopathie) beim Pferd das Fibrinogen nicht wie zu erwarten erniedrigt, sondern teilweise sogar erhöht war. Sie erklärten dies damit, dass eine DIC häufig mit einer Entzündung einherging, welche zu einer erhöhten Synthese von Fibrinogen in der

Leber führt. Die Syntheserate übersteigt hierbei den Verbrauch, wodurch die Fibrinogenkonzentration im Blut im Normalbereich bleibt (ANDREWS et al. 1994). SCHALM et al. (1970) gaben zu bedenken, dass auch fehlerhaft entnommene Blutproben, bei denen es zu einer partiellen Gerinnung gekommen ist, zu erniedrigten Fibrinogenwerten führen können.

2.2.2.3.2 Serum Amyloid A (SAA)

Der Name SAA entstand aufgrund der engen biochemischen und immunochemischen Verwandtschaft zum Amyloid A. Während PEPYS und BALTZ (1983) es als nicht gesichert ansahen, dass das SAA eine Vorstufe des Amyloid A bildet, beschrieben SATOH et al. (1995) diesen Zusammenhang.

Die Induktion der Synthese von SAA in den Hepatozyten erfolgt durch IL-6 (ANDUS et al. 1989). Beim Menschen jedoch kommt es bei Virusinfektionen zwar zu einem Anstieg von SAA, nicht aber von C-reaktivem Protein (siehe Kap. 2.2.2.3.4; S. 33), einem weiteren APP, dessen Synthese auch von IL-6 vermittelt sein soll (SATOH et al. 1995). Dies lässt vermuten, dass ein anderer Mediator im Falle einer Virusinfektion für die Synthese verantwortlich sein könnte, oder dass IL-6 in der Leber einer weiteren unbekannten Kontrolle unterliegt.

Im Blut bei Kaninchen, Maus und Mensch ist das SAA als Apolipoprotein an HDL (high density lipoprotein) gebunden (PEPYS und BALTZ 1983), und wandert in dieser Form in der Elektrophorese in der α_1 -Region (JAIN 1993b). HULTÉN et al. (1997) isolierten drei Isoforme von SAA beim Pferd mit drei unterschiedlichen isoelektrischen Punkten zwischen 8,0 und 9,7. Da Serumproteinelektrophoresen i.d.R. bei basischem pH-Wert um 8,6 durchgeführt werden, würde natives ungebundenes SAA nicht, oder in Richtung der Kathode wandern (siehe Kap. 2.3; S. 41 ff.).

Die genaue Funktion des SAA im Verlauf der Akut-Phase-Reaktion ist unklar. Es wurde bei Mäusen nachgewiesen, dass die Eliminierung von SAA-gebundenem HDL aus dem Blut schneller erfolgt, als bei HDL ohne Bindung mit dem Apolipoprotein SAA (PEPYS und BALTZ 1983). HDL besitzt die Fähigkeit, Toxine und andere körperfremde Stoffe zu binden. Hieraus entstand die Hypothese, dass SAA als Apolipoprotein im Verlauf der Akut-Phase-Reaktion die Aufgabe besitzen könnte, die

Eliminierung des HDL und somit auch der an das HDL gebundenen Entzündungsprodukte zu beschleunigen (PEPYS und BALTZ 1983).

Die quantitative Bestimmung von SAA im Blut ist aufgrund der Bindung als Apolipoprotein an HDL schwierig (SATO et al. 1995).

Bei gesunden Pferden erfolgte die Messung von SAA im Serum mit drei verschiedenen Methoden: Elektroimmunoassay (PEPYS et al. 1989, CHAVATTE et al. 1992), radiale Immunodiffusion (NUNOKAWA et al. 1993) und ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) (SATO et al. 1995).

Die Konzentration an SAA beträgt bei erwachsenen (≥ 18 Monate) gesunden Pferden $14,93 \pm 9,07 \mu\text{g/ml}$ (SATO et al. 1995) bzw. $21,53 \pm 9,81 \mu\text{g/ml}$ (NUNOKAWA et al. 1993). Bei Fohlen (< 12 Monate) liegt der ermittelte Wert mit $21,23 \pm 12,2 \mu\text{g/ml}$ etwas höher als bei den erwachsenen Tieren (SATO et al. 1995). NUNOKAWA et al. (1993) fanden hingegen mit $19,37 \pm 9,41 \mu\text{g/ml}$ etwas niedrigere Werte als bei adulten Tieren. Bei beiden Untersuchungen werden keine Angaben bezüglich einer Signifikanz der altersunterschiedlichen Werte gemacht. Da beide Autorengruppen weitestgehend die selben Proben verwendeten, liegen die ermittelten Differenzen der Normalwerte vermutlich in der unterschiedlichen Methodik. In der Untersuchung von PEPYS et al. (1989) war bei etwa 50 % der untersuchten adulten Pferde SAA auch bei Mehrfachmessungen an verschiedenen Tagen nicht nachweisbar, bei den übrigen Tieren war die Konzentration sehr niedrig (0,3 - 16 U/L). Bei 11 untersuchten neugeborenen Fohlen fanden sie nur bei einem Tier SAA in einer Konzentration von 4,1 U/l. Bei 19 untersuchten Fohlen fanden auch CHAVATTE et al. (1992) ähnliche Ergebnisse mit einem Mittelwert von 0 U/ml und einer Spannweite von 0-20 U/ml.

Stuten in der postpartalen Phase weisen zwischen dem dritten und siebten Tag (SATO et al. 1995) bzw. bis 2 Wochen nach der Geburt (NUNOKAWA et al. 1993) eine signifikante Erhöhung des SAA um das Zwei- bis Fünffache auf.

Fohlen mit Enteritis oder Diarrhoe zeigen um das 50- bis 100fache erhöhte Konzentrationen von SAA (NUNOKAWA et al. 1993, SATO et al. 1995). Ebenso führen v.a. bakterielle Infektionen zu SAA-Werten von mehr als 200 U/l (CHAVATTE et al. 1992).

Nach Operationen in Allgemeinanästhesie (Kastration, Jejunojejunostomie u.a.) und nach induzierter Entzündung durch i.m. Injektion von Terpentin steigt das SAA bereits

nach 6 Stunden bzw. am Tag nach der OP an und zeigt am zweiten Tag seinen Maximalwert (PEPYS et al. 1989, NUNOKAWA et al. 1993, SATOH et al. 1995).

Sehr große Anstiege der Konzentration an SAA zeigen sich v.a. bei bakteriellen Infektionen (Pneumonie, Phlegmonen, infizierte Arthritis, Septikämie, Druse), wobei eine enge Beziehung zwischen der Konzentration an SAA und der Schwere der Entzündung bestand (PEPYS et al. 1989, NUNOKAWA et al. 1993, SATOH et al. 1995).

Auch eine Infektion mit equinem Herpesvirus 1 (EHV-1) führt zu einem geringen, aber deutlichen Anstieg an SAA, einhergehend mit Fieber und Virämie (PEPYS et al. 1989). PEPYS et al. (1989) stellten fest, dass bei erfolgreicher Antibiotika-Therapie die Konzentration an SAA sehr schnell abnimmt und dass somit die Messung von SAA sehr gut zur Verlaufskontrolle einer Therapie geeignet sei. Eine weitere wichtige Beobachtung dieser Untersuchung ist die Tatsache, dass Tiere, welche mit EHV-1 oder *Streptococcus equi* in Berührung gekommen waren, jedoch nicht erkrankten, auch keinen Anstieg an SAA aufwiesen (PEPYS et al. 1989).

2.2.2.3.3 α_1 -saures Glykoprotein (Orosomukoid)

Der Name Orosomukoid kommt von *oros* (griech.)=*plasma* und *mucus* (lat.)=*Schleim* und steht für den hohen Gehalt an Polysacchariden des Proteins (LAURELL 1985). In der Elektrophorese wandert es in der α_1 -Fraktion (TAIRA et al. 1992b). Seine Halbwertszeit im Blut beträgt bei Tieren etwa 5 Tage (JAIN 1993b).

Das α_1 -saure Glykoprotein (α_1 G) hat beim Menschen eine immunsuppressive Wirkung, bedingt durch Hemmung von T-Lymphozyten (MILNE et al. 1991, TAIRA et al. 1992b, JAIN 1993b), ist vermutlich Modulator der Hämostase (JAIN 1993b), und ist durch Stimulation des Fibroblasten-Wachstums an der Gewebereparatur beteiligt (MILNE et al. 1991).

TAIRA et al. (1992b) isolierten equines α_1 G und bestimmten die Konzentration in Serumproben mittels radialer Immunodiffusion. Gesunde erwachsene (≥ 18 Monate) Pferde zeigen eine Konzentration von $90,87 \pm 29,73 \mu\text{g/ml}$ und Fohlen (≤ 12 Monate) von $72,62 \pm 36,14 \mu\text{g/ml}$ (TAIRA et al. 1992b). MILNE et al. (1991) maßen die Konzentration von α_1 G nach der indirekten Methode von Varley (Bestimmung des

Tyrosinanteils im a_1G). Die Normalkonzentration beträgt bei gesunden erwachsenen Pferden $0,43 \pm 0,11$ g/l.

Nach Kastration oder experimenteller Jejunojejunostomie steigt das a_1G bereits am Tag nach der Operation an, mit einer maximalen Erhöhung um das 1,5- bis 2fache am dritten Tag. Nach 14 Tagen ist wieder die präoperative Konzentration erreicht (TAIRA et al. 1992b).

Fohlen mit Enteritis, Pneumonie und Knochenerkrankungen (z.B. Osteomyelitis) zeigen signifikant höhere Konzentrationen an a_1G , wobei die Werte die physiologischen Konzentrationen um maximal das Zweifache überschreiten. Erwachsene Tiere mit Entzündungen verschiedenster Genese zeigen zweifach höhere Konzentrationen an a_1G (MILNE et al. 1991), Phlegmonen führen nicht zu einer Konzentrationserhöhung an a_1G (TAIRA et al. 1992b). Eine signifikante Erhöhung des a_1G zeigt sich auch sowohl bei einer akuten, subakuten als auch chronischen Grass sickness (MILNE et al. 1991).

2.2.2.3.4 C-reaktives Protein (CRP)

Tillet und Francis fanden 1930 im Serum akut kranker Menschen ein Protein, welches in vitro eine Präzipitation mit sogenannten C-Polysacchariden von Pneumokokken zeigte, deshalb gaben sie ihm den Namen C-reaktives Protein (PEPYS und BALTZ 1983, LAURELL 1985).

Das equine CRP wandert in der Elektrophorese zwischen den b- und g-Globulinen (TAKIGUCHI et al. 1990). Die Halbwertszeit im Blut beträgt beim Pferd 6 bis 8 Stunden (JAIN 1993b).

Die spezifischen Wirkungen von CRP sind beim Pferd nicht untersucht. Beim Menschen opsoniert CRP Bakterien und sorgt somit für eine effizientere Phagozytose. Es scheint auch Funktionen der neutrophilen Granulozyten, Makrophagen und Lymphozyten zu regulieren, und die Komplementkaskade zu aktivieren (JAIN 1993b).

Die Bestimmung von CRP beim Pferd erfolgt durch radiale Immunodiffusion (TAKIGUCHI et al. 1990, YAMASHITA et al. 1991) und einem kommerziellen für den Menschen entwickelten Testkit (Rapitex®, Herstellerfirma in der Quelle nicht genannt) (AUER et al. 1989). Mit dem Testkit konnte bei Pferden mit einer induzierten Entzündung kein CRP nachgewiesen werden (AUER et al. 1989). Eine Erklärung hierfür könnten die Untersuchungen von TAKIGUCHI et al. (1990) geben. Sie wiesen

nach, dass Pferdeserum, im Gegensatz zu dem Serum anderer Tiere, keine Kreuzreaktionen mit Kaninchenserum, welches Antikörper gegen menschliches CRP beinhaltete, aufwies. Gereinigtes equines CRP hingegen zeigte eine Kreuzreaktion (TAKIGUCHI et al. 1990).

Aus diesem Grund könnten für den Nachweis von CRP im menschlichen Serum hergestellte Testkits in der Diagnostik beim Pferd versagen.

Die mittels Immunodiffusion gemessene Konzentration von CRP beträgt bei gesunden erwachsenen (≥ 12 Monate) Pferden $7,4 \pm 2 \mu\text{g/ml}$ (TAKIGUCHI et al. 1990) bzw. $7,9 \pm 3,3 \mu\text{g/ml}$ (YAMASHITA et al. 1991). YAMASHITA et al. (1991) bestimmten die Konzentration auch bei gesunden Fohlen (≤ 12 Monate). Hier war CRP in einer Konzentration von $9,2 \pm 4,4 \mu\text{g/ml}$ nachweisbar.

Nach einer induzierten Entzündung (i.m. Injektion von Terpentin) beginnt CRP nach 24 Stunden anzusteigen mit einer maximalen Erhöhung zwischen dem dritten und vierten (TAKIGUCHI et al. 1990) bzw. am fünften Tag (YAMASHITA et al. 1991). Die maximale Konzentration übersteigt den Normwert hierbei um das drei- bis sechsfache. Ähnliche Ergebnisse zeigen sich auch nach Kastration oder experimenteller Jejunojejunostomie (YAMASHITA et al. 1991).

Bei Pferden mit klinischen Anzeichen einer Entzündung (Enteritis, Pneumonie, Phlegmone) zeigen lediglich Fohlen mit Enteritis oder Pneumonie signifikante Erhöhungen von CRP um etwa das Doppelte (YAMASHITA et al. 1991). Adulte Tiere weisen zwar auch erhöhte Werte auf, es waren jedoch keine signifikanten Unterschiede zu berechnen (TAKIGUCHI et al. 1990, YAMASHITA et al. 1991).

2.2.2.3.5 Haptoglobin (Hp)

Der Name Haptoglobin (Hp) leitet sich ab von *haptein* (griech.)=anziehen, fangen und der Fähigkeit Globin, einen Bestandteil des Hämoglobins, zu binden (LAURELL 1985). Equines Haptoglobin ist ein Glykoprotein, welches in der Elektrophorese in der α_2 -Fraktion wandert (TAIRA et al. 1992a). Die Halbwertszeit von Hp wird bei Tieren mit 2 bis 4 Tagen angegeben (JAIN 1993b).

Haptoglobin bindet freies Hämoglobin im Blut und bildet mit ihm feste Komplexe. Es dient dadurch als natürliches Bakteriostatikum, da Bakterien für ihr Wachstum Eisen benötigen (EATON et al. 1982, TAIRA et al. 1992a). Die Haptoglobin-Hämoglobin-

Komplexe (Hp-Hb-Komplexe) werden sehr schnell von den Kupffer-Zellen der Leber und anderen Zellen des retikuloendothelialen Systems aufgenommen, und freies Hämoglobin somit aus der Blutbahn entfernt (JAIN 1993b, TAIRA et al. 1992a). Desweiteren wird vermutet, dass Haptoglobin regulierend auf die Funktionen von Lymphozyten und Makrophagen wirkt (TAIRA et al. 1992a).

Die Bestimmung im Serum erfolgt entweder durch die Messung der Hämoglobin-Bindungs-Kapazität, wobei nur freies Hp gemessen wird (ALLEN und ARCHER 1971, SHELDRIK et al. 1982), bzw. durch radiale Immunodiffusion (TAIRA et al. 1992a) oder Immun-Turbidimetrie (MILNE et al. 1991), die Hp-Hb-Komplexe und freies Hp nachweisen können.

Die Konzentrationen an Hp zeigen bei gesunden Pferden einen sehr geringen, wenngleich kontinuierlichen Abfall bis zu einem Alter von etwa 5 Jahren (TAIRA et al. 1992a). Da dieser Abfall im Alter zwischen 18 Monaten und 5 Jahren nur noch äußerst gering ist, wird der Normwert für gesunde erwachsene Pferde älter als 18 Monate mit $2,19 \pm 1,54$ mg/ml angegeben (TAIRA et al. 1992a). Bei gesunden Fohlen (≤ 12 Monate) ist Hp in einer Konzentration von $5,25 \pm 2,36$ mg/ml nachzuweisen (TAIRA et al. 1992a). Ein geringgradiger Anstieg von Hp ist bei Stuten unmittelbar um die Geburt zu verzeichnen (TAIRA et al. 1992a).

MILNE et al. (1991) ermittelten Referenzwerte an Hp im Blut von $1 \pm 0,4$ g/l.

SHELDRIK et al. (1982) gaben als Normalwert für die Hämoglobin-Bindungs-Kapazität 0,4 bis 1,7 g/l an. ALLEN und ARCHER (1971) ermittelten ebenfalls die Hb-Bindungs-Kapazität. Sie beträgt bei gesunden erwachsenen Ponies 69 ± 20 mg/100 ml, bei gesunden erwachsenen Pferden 88 ± 31 mg/100ml. Gesunde Fohlen weisen etwa dieselben Werte auf wie die erwachsenen Tiere (ALLEN und ARCHER 1971). Bei künstlich induzierter Hämolyse kommt es zu einer hochgradigen Abnahme der Hb-Bindungs-Kapazität, in einzelnen Fällen lag sie gar bei null (ALLEN und ARCHER 1971).

Eine induzierte Entzündung (Injektion von Terpentin), Kastration oder experimentelle Jejunojejunostomie führt bereits nach 6 Stunden zu einem Anstieg von Hp, mit einem Peak von zwei- bis fünffach höheren Normalwerten nach 6 Tagen (TAIRA et al. 1992a). MILNE et al. (1991) fanden dies auch bei erwachsenen Tieren mit Entzündungen verschiedenster Genese. Auch die Hb-Bindungs-Kapazität steigt bei klinischen und

subklinischen Entzündungen und bakteriellen Infektionen um das 3- bis 4fache an (SHELDRIK et al. 1982).

Fohlen mit klinischen Anzeichen einer Pneumonie oder Enteritis weisen doppelte bzw. dreifach höhere Hp-Werte auf, als gesunde Tiere. Dasselbe gilt für adulte Pferde mit einer Pneumonie (TAIRA et al. 1992a).

Auch Pferde mit akuter, subakuter oder chronischer Grass sickness zeigen erhöhte Hp-Werte (MILNE et al. 1991).

2.2.2.3.6 Ceruloplasmin (Cp)

Der Name Ceruloplasmin (Cp) kommt von *ceruleus* (lat.)=*himmelblau* aufgrund der durch den Kupferanteil blauen Farbe des Proteins (LAURELL 1985).

Equines Cp ist ein Glykoprotein und wandert in der Elektrophorese in der α_1 -Fraktion (OKUMURA et al. 1991). Hierbei unterscheidet es sich von menschlichem Cp, welches in der α_2 -Fraktion wandert. Zu berücksichtigen ist hier, dass die Einteilung der α -Globuline beim Pferd bei verschiedenen Autoren sehr unterschiedlich ist (siehe auch Kap. 2.3.2.2.1; S. 47). Die Halbwertszeit von Cp beträgt bei Tieren etwa 4 Tage (JAIN 1993b).

Das Cp ist das wichtigste Transportprotein für Kupfer und dient zugleich auch als Speicher. Es ist ein wichtiges Antioxidans (AUER et al. 1989, MILNE et al. 1991) und besitzt außerdem Ferroxidase-Aktivität (oxidiert Fe^{2+} zu Fe^{3+}). Als Fe^{3+} kann das freie Eisen an Transferrin und Ferritin gebunden werden (siehe Kap. 2.2.2.3.8; S. 38) und steht dann für Wachstum und Vermehrung von Bakterien nicht zur Verfügung (AUER et al. 1989). Im Zusammenhang mit der Akut-Phase-Reaktion könnte Cp der Kupferbereitstellung dienen, denn Kupfer wird eine endogene antiinflammatorische Wirkung zugesprochen (AUER et al. 1989).

OKUMURA et al. (1991) bestimmten die Konzentration von Cp durch radiale Immunodiffusion, eine andere Methodik stellt die Bestimmung von Cp durch Oxidation mit p-Phenylenediamin (SMITH und CIPRIANO 1987) dar. Bei AUER et al. (1989) und MILNE et al. (1991) wurde die Methodik nicht näher beschrieben. Die Konzentration von Cp beträgt bei gesunden Pferden $4,26 \pm 1,21$ mg/ml (OKUMURA et al. 1991) bzw. $0,72 \pm 0,16$ optische Dichteeinheiten (MILNE et al. 1991). Tragende

Stuten zeigen in einem Zeitraum von 4 Monaten vor und nach der Geburt keine signifikanten Änderungen der Konzentration an Cp (OKUMURA et al. 1991).

Eine induzierte Entzündung (Injektion von Terpentin bzw. Freud's Adjuvans), Kastration oder experimentelle Jejunojejunostomie führt nach 5 bis 6 Tagen zu einem signifikanten Anstieg des Cp. Maximalwerte (Zunahme um etwa 50 %) werden nach ungefähr 7 Tagen erreicht (SMITH und CIPRIANO 1987, AUER et al. 1989, OKUMURA et al. 1991). Nach 21 bis 28 (OKUMURA et al. 1991) bzw. 50 (AUER et al. 1989) Tagen werden wieder Normalwerte erreicht. AUER et al. (1989) bestimmten außerdem noch die Konzentration an freiem Kupfer. Auch diese steigt (maximal auf den doppelten Wert) parallel zum Cp an.

Fohlen mit Enteritis, Pneumonie oder Arthritis zeigen keine Veränderung in der Cp-Konzentration (OKUMURA et al. 1991). Ebenso verhielt es sich bei den (erwachsenen) Patienten in der Untersuchung von MILNE et al. (1991).

2.2.2.3.7 α_2 -Makroglobulin (α_2 M)

Wie alle anderen APP wird auch das α_2 -Makroglobulin (α_2 M) von Hepatozyten synthetisiert. Es ist wichtigster Protease-Hemmstoff von Plasmin, Elastase, Chymotrypsin und Trypsin beim Pferd (FELLENBERG 1978). Es wirkt somit der (unerwünschten) Fibrinolyse am Entzündungsort entgegen, und verhindert die Gewebeerstörung durch die Proteasen. Außerdem ist α_2 M fähig, Antigen-Antikörper-Komplexe zu binden (LAVERGNE und REYNAUD 1970).

Eine wichtige Funktion besteht beim Menschen in der Bindung von TNF α an α_2 M. Hieraus wurde die Hypothese entwickelt, α_2 M könnte als Modulator der Aktivität von TNF α dienen, indem es die Clearance aus dem Blut beschleunigt (COTÉ et al. 1996). Untersuchungen beim Pferd ergaben keine Bindung von TNF α an α_2 M, jedoch wurde hier die Bindung zwischen equinem α_2 M und humanem TNF α geprüft (COTÉ et al. 1996). Die Autoren vermuteten als mögliche Ursache für die „Nicht“-Bindung strukturelle Unterschiede des TNF α von Mensch und Pferd, trotz einer Übereinstimmung in der Aminosäuresequenz von 85 %.

MILNE et al. (1991) ermittelten mit Hilfe der Immunelektrophorese die Konzentration von α_2 M. Sie liegt bei gesunden erwachsenen Pferden bei $4,9 \pm 1,5$ g/l, Entzündungsreaktionen führen zu keiner signifikanten Änderung der Konzentration.

Pferde, die an akuter Grass Sickness erkrankt sind, zeigen jedoch eine Erhöhung um etwa 2 g/l (MILNE et al. 1991).

Nach Wissen der Autorin liegen keine Untersuchungen über die Bestimmung von a_2M nach induzierter Entzündung beim Pferd vor.

2.2.2.3.8 Transferrin (Tr)

Transferrin (Tr) ist ein Glykoprotein, wird in der Leber synthetisiert und ist als einziges Protein im Blut in der Lage, Eisen zu transportieren. Jedes Tr-Molekül kann zwei Eisenionen (Fe^{3+}) binden. Dadurch steht Eisen für Wachstum und Vermehrung von Bakterien nicht zur Verfügung (AUER et al. 1989). In der Regel ist ein Drittel des Serum-Tr mit Eisen gesättigt. Die Plasmahalbwertszeit von Tr beträgt 8 bis 10 Tage (JAIN 1993b). In der Elektrophorese wandert equines Tr in der b_1 -Fraktion (MAKIMURA et al. 1975). MATTHEWS (1982) beschrieb zwei verschiedene Phänotypen des Tr, einer in der b_1 - und einer in der b_2 -Fraktion. Ebenso wie das Albumin wird das Tr auch als „negatives“ APP bezeichnet, dessen Konzentration im Verlauf der Akut-Phase-Reaktion abnimmt (PATTERSON et al. 1988).

Ein direkter Nachweis von Transferrin wurde von MAKIMURA et al. (1975) beim Pferd mittels Immunelektrophorese geführt. Die Tr-Konzentration bei Fohlen (< 1 Jahr) beträgt 263 ± 39 mg/100ml. Adulte nichttragende Stuten liegen mit 306 ± 37 mg/100ml etwas höher. Bei tragenden Stuten steigt die Konzentration weiter auf 346 ± 56 mg/100ml an. Diese Werte weisen jedoch statistisch keine signifikanten Unterschiede auf (MAKIMURA et al. 1975).

Nach künstlich induzierter Entzündung (Injektion von Freud's Adjuvans) ist ein signifikanter Abfall der Tr-Konzentration allein am Tag 50 nach Beginn des Experimentes nachweisbar (PATTERSON et al. 1988). Die Gesamt-Eisen-Bindungskapazität (die identisch mit dem Transferringehalt des Blutes ist) nimmt nach Injektion von Terpentin ebenfalls ab, die Veränderung war jedoch nicht signifikant im Vergleich mit den Kontrolltieren (SMITH und CIPRIANO 1987). Aus diesen Beobachtungen resultiert die Bezeichnung des Tr als sogenanntes „negatives“ APP.

Werden die Konzentrationen an freien Eisenionen im Serum gemessen ist festzustellen, dass die induzierte Entzündung zu einem signifikanten Abfall um etwa 75 % (SMITH und CIPRIANO 1987) bzw. 30 % (AUER et al. 1989) führt. Zugleich ist ein dreifacher

Anstieg der Ferritinkonzentration festzustellen (SMITH und CIPRIANO 1987). Ferritin ist ein Protein und stellt die Speicherform für Eisen im Körper dar. Von SMITH und CIPRIANO (1987) wurde Ferritin auch als Indikator der Akut-Phase-Reaktion, jedoch nicht explizit als APP bezeichnet. In dieser Form gebundenes Eisen ist für die Hämatopoese nicht verfügbar und könnte die bei chronischen Entzündungen teilweise zu beobachtende Anämie erklären (AUER et al. 1989).

2.2.2.3.9 Tabellarische Übersicht

In der folgenden Tabelle 3 werden die wichtigsten Angaben über die einzelnen APP beim Pferd zusammengefasst. Das Transferrin als sogenanntes „negatives“ APP wird an dieser Stelle nicht aufgeführt. Die Quellenangaben können dem oben stehenden Text (2.2.2.4.1 bis 2.2.2.4.8) entnommen werden.

Tab. 3: Zusammenstellung wichtiger Charakteristika ausgewählter APP beim Pferd

APP	Frakt.	HWZ	max. Anstieg (x-fache)	Beginn Anstieg post St.	max. Anstieg post St.	Referenz- bereich (Adulte)	Methode
Fibri- nogen	$\beta_2^{(1)}$	4-5 d	2 - 3,5	2 d	5-7 d	1,5-3,5 ^(a) 1(2)-4 ^(a) 1,82-4,94 ^(a) 3,12-5,89 ^(b)	Clauss Schalm Jacobsson Millar
SAA	$\alpha_1^{(3)}$?	20 - 100	6 h	2 d	14,93±9,07 ^(c) 21,53±9,81 ^(c) 0,3-16 ^(d)	ELISA Immunodiffusion Elektroimm.assa y
a ₁ G	α_1	5 d ⁽²⁾	1,5 - 2	1 d	3 d	90,87±29,7 ^(c) 0,43±0,11 ^(a)	Immunodiffusion Varley
CRP	$\beta - \gamma$	6-8 h	3 - 6	1 d	3-5 d	7,4 ± 2 ^(c) 7,9 ± 3,3 ^(c)	Immunodiffusion dito
Hp	α_2	2-4 d ⁽²⁾	2 - 5 2 - 4 ⁽⁴⁾	6 h	6 d	2,19±1,54 ^(e) 1 ± 0,4 ^(a) 88±31 ^{(f),(4)} 0,4-1,7 ^{(a)(4)}	Immunodiffusion Imm.turb.metrie Hb-Bind.-Kapaz. Hb-Bind.-Kapaz.
Cp	α_1	4 d ⁽²⁾	1,5	5-6 d	7 d	4,26±1,21 ^(e) 0,72±0,16 ^(g)	Immunodiffusion ?
a ₂ M	α_2	?	?	?	?	4,9±1,5 ^(a)	Immunelektroph.

d = Tage

Frakt. = Fraktion in der Elektrophorese

Elektroimm.assay = Elektroimmunoassay

Hb-Bind.-Kapaz. = Hb-Bindungs-Kapazität

⁽¹⁾ = nur bei Verwendung von Plasma⁽³⁾ = als Apolipoprotein gebunden an HDL

h = Stunden

post St. = nach Stimulation

Imm.turb.metrie = Immun-Turbidimetrie

Immunelektroph. = Immunelektrophorese

⁽²⁾ = nicht spezifisch Pferd⁽⁴⁾ = nur freies Hp^(a) = g/l^(b) = ml/100ml^(c) = µg/ml^(d) = U/l^(e) = mg/ml^(f) = mg/100ml^(g) = optische Dichteeinheiten

2.3 DIFFERENZIERUNG DER SERUMPROTEINE MITTELS ELEKTROPHORESE

Mit Hilfe der Elektrophorese lassen sich durch Anlegen einer elektrischen Spannung Proteine in einem Gemisch, wie es in Plasma und Serum vorliegt, voneinander trennen und nach Sichtbarmachung durch Färbung identifizieren.

KLEINERT (1990) gibt in seinem Lehrbuch eine Übersicht über die Prinzipien und Methoden der elektrophoretischen Auftrennung in der Proteinanalytik. Proteine bestehen aus einer unterschiedlichen Zahl an Aminosäuren (AS). Jede dieser AS besitzt ionisierbare funktionelle Gruppen, welche positiv oder negativ geladen sein können. Die Summe aller Ladungen (Nettoladung) hat entscheidenden Einfluss auf das Verhalten des Proteins im elektrischen Feld. Eine negative Nettoladung bewirkt eine Wanderung zum positiven Pol (Anode), eine positive Nettoladung bewirkt die Annäherung zum negativen Pol (Kathode) der angelegten Spannung. Durch eine Veränderung des pH-Wertes des Elektrophoresemediums (Puffer) verändert sich auch die Nettoladung des Proteins. Steigt der pH-Wert, verschiebt sich die Nettoladung des Proteins zum Negativen, sinkt der pH-Wert, verändert sich die Nettoladung in die positive Richtung. Aus diesem Grund existiert für jedes Protein ein spezifischer pH-Wert, bei dem die Nettoladung gleich null ist. Man bezeichnet diesen als isoelektrischen Punkt (IP) des Proteins. Für die Serumproteinelektrophorese (SPE) wird i.d.R. ein basischer pH-Wert gewählt, die Proteine liegen dann praktisch ausnahmslos negativ geladen vor.

Für die Trennung ist ein Trennmedium erforderlich, welches die Teilchen in keiner Weise fixieren darf. Man unterscheidet grundsätzlich trägerfreie von trägerstabilisierten Medien. Ein trägerfreies Medium besteht aus einer Pufferlösung und ist von Vorteil, wenn größere Partikel wie Bakterien, Viren oder Zellen getrennt werden sollen.

In der Serum- oder Plasmaproteintrennung spielen trägerfreie Medien keine Rolle. Hier werden trägerstabilisierte Medien eingesetzt, wobei die zu untersuchende Probe auf den Träger (z.B. Papier, Zelluloseazetat, Agarose, Stärke, Polyacrylamid) aufgebracht wird, der von der Pufferlösung (Medium) durchsetzt ist.

Man unterscheidet die folgenden Trennprinzipien: die konventionelle Elektrophorese, bei der Proteine in ihrer im Serum gegebenen natürlichen Form getrennt werden; die SDS-PAGE (sodium dodecyl sulfate-Polyacrylamidgelelektrophorese), bei der Proteine erst denaturiert und anschließend nach ihrer Molmasse getrennt werden; die

isoelektrische Fokussierung (Trennung nach dem isoelektrischen Punkt) und die Immunelektrophorese (Trennung nach immunologischen Eigenschaften) (KLEINERT 1990).

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde die konventionelle Elektrophorese durchgeführt, auf die im Folgenden näher eingegangen wird.

2.3.1 Die konventionelle Elektrophorese

Die konventionelle Elektrophorese lässt sich weiterhin durch gezielte Auswahl des Trägers modifizieren: Trennung ausschließlich nach Ladung, Trennung nach dem Verhältnis von Ladung zu Masse und die Trennung nach der Molmasse. Die Trennung nur nach Ladung erfordert einen nichtrestriktiven Träger (z.B. Agarose, Zelluloseazetat), der die Proteine bei ihrer Wanderung nicht behindert. Für die Trennung nach dem Ladung/Masse-Verhältnis wird ein restriktiver Träger benötigt, d.h. je größer die Ladung und geringer die Masse desto höher ist die Mobilität des Proteins und somit die Strecke, die es im Träger zurücklegen kann. Die Trennung nach der Molmasse wiederum erfolgt in einem zunehmend restriktiven Medium, bei welchem die Porengröße des Trägers in der Wanderrichtung der Proteine dichter wird (KLEINERT 1990).

Je nach System und Untersucher wird über unterschiedliche Zeiträume ein unterschiedlich starker Strom angelegt. Nach Beendigung der eigentlichen Trennung der Proteine wird der Träger fixiert und anschließend gefärbt. Die Proteinfractionen erscheinen dann als farbige Banden auf dem Träger.

Als Indikationen für den Einsatz der Serumproteinelektrophorese (SPE) beim Pferd werden angesehen: unklarer Gewichtsverlust, rezidivierende Koliken, Fieber unklarer Genese und chronische Diarrhoe (COFFMAN 1981). Zudem eignet sich die SPE zur Verlaufskontrolle einer Erkrankung und der Überwachung des Therapieerfolgs (OSBALDISTON 1972).

In der Routinediagnostik werden meist Zellulose-Azetat-Folien (ZAF) oder Agarose-Gele verwandt. Mit Hilfe dieser Träger lassen sich beim Pferd jeweils zwischen 5 und 10 Proteinfractionen auftrennen (siehe Kap. 2.3.2; S. 44 ff.). Im Vergleich mit dem früher gebräuchlichen Träger Papier benötigt die Elektrophorese unter Verwendung von ZAF und Agarose deutlich weniger Zeitaufwand (etwa 1 Stunde). KRISTENSEN und

FIRTH (1977) gaben an, die Elektrophorese auf Basis von Agarose-Gelen benötige weniger Zeit, als jene auf ZAF und liefere zugleich eine bessere Auftrennung der Fraktionen. Dies kann anhand der Zeitangaben und Anzahl der differenzierten Fraktionen anderer Autoren (KIRK et al. 1975, BAUER et al. 1985, COYNE et al. 1990, FLOTHOW und DEEGEN 1994), die ZAF verwendeten, nicht nachvollzogen werden. Möglicherweise liegt der Grund für die Verwendung von ZAF oder Agarosegelen in bereits vorhandenem Labormaterial oder Labortradition.

2.3.1.1 Zellulose-Azetat-Folie

Zelluloseazetat ist ein nichtrestriktiver Träger und trennt somit das Proteingemisch nach der unterschiedlichen Ladung der Proteine.

Bei den in der Literatur beschriebenen Untersuchungen mittels Elektrophorese beim Pferd handelt es sich fast ausschließlich um die Elektrophorese auf Basis der Zellulose-Azetat-Folie (BIERER 1969, EK 1970, OSBALDISTON 1972, MASSIP und FUMIÈRE 1974, KIRK et al. 1975, PIERCE 1975, COYNE et al. 1990, FLOTHOW und DEEGEN 1994, TRUMEL et al. 1996). Soweit angegeben lag der pH-Wert des Mediums bei 8,6 oder 8,8. In diesem basischen Milieu waren die Proteine praktisch ausnahmslos negativ geladen und wanderten somit in Richtung der Anode. Die Molarität des nicht immer näher bezeichneten Puffers lag in den oben angegebenen Untersuchungen bei 0,04 M, 0,05 M oder 0,075M.

Die Laufzeit betrug zwischen 20 und 75 Minuten bei unterschiedlichen Stromstärken von 200 bis 280 V.

2.3.1.2 Agarose-Gel

Agarose ist ein Polysaccharid und wird aus Meeresalgen gewonnen. Sie ist bei 100°C in Wasser und Elektrolytlösung löslich und geliert beim Erkalten. Der Gehalt an Agarose beträgt bei den in der Elektrophorese eingesetzten Gelen meistens 1 %. Agarosegele besitzen eine sehr große Porenweite und wirken nicht restriktiv auf die elektrophoretische Wanderung von Proteinen (KLEINERT 1990). Es liegen nur wenige Untersuchungen beim Pferd vor, in denen für die Durchführung der Elektrophorese

Agarosegele verwendet wurden (KRISTENSEN und FIRTH 1977, KEAY und DOXEY 1981, MATTHEWS 1982, MAIR et al. 1993).

Soweit angegeben lag der pH-Wert des Mediums bei 8,6 mit einer Molarität des Puffers von 0,05 M. Die Stromstärke war i.d.R. 100 V, die Laufzeit betrug zwischen 21 und 35 Minuten.

2.3.2 Die Auswertung der Träger

Um eine möglichst objektive Beurteilung der Proteinfractionen zu erhalten, wird mit Hilfe der Densitometrie die Farbintensität der einzelnen Banden auf dem gefärbten Träger gemessen. Wichtig hierbei ist, dass ein Densitometer nur solche Banden untersuchen kann, die auf dem Träger schon mit dem bloßen Auge zu erkennen sind. Das Prinzip der Densitometrie beruht auf der Absorption einer Strahlung mit einer bestimmten Wellenlänge (konventionelle Lichtquelle oder Laser) durch den gewählten Farbstoff. Hierbei wird vom Densitometer entweder die reflektierte oder die transmittierte Strahlung gemessen. In der Protein-Elektrophorese wird i.d.R. mit Transmission gearbeitet. Die Messung ist um so empfindlicher, je stärker der Farbstoff den Lichtstrahl absorbiert. Die Auflösung nahe beieinander liegender Banden ist um so besser, je schmaler der abtastende Lichtstrahl ist. Das Ergebnis der Abtastung des Lichtstrahls wird anhand eines Kurvendiagramms (Elektropherogramm) verdeutlicht. Hierbei wird auf der Abszisse (x-Achse) die bei der Wanderung der Proteine zurückgelegte Strecke aufgezeigt, die Ordinate (y-Achse) gibt das Maß der Absorption des Lichtstrahls an. Prinzipiell existiert für jede Proteinbande eine eigene Extinktionskurve. Durch die unmittelbare Nähe der Banden kommt es jedoch im Elektropherogramm zu einer Überschneidung der Kurven. Die Umrechnung der Kurven in absolute oder relative Proteinkonzentrationen erfolgt durch Integration der Fläche unter der Extinktionskurve. Diese Berechnung erfolgt durch den Computer des Densitometers nach dem „Drop-Line“-Verfahren oder durch Gaußsche Näherung (KLEINERT 1990). Beide Verfahren werden in Abbildung 1a und 1b dargestellt.

Traditionell werden die im Elektropherogramm bestehenden Peaks von der anodalen Seite her differenziert. Bei dem ersten Peak handelt es sich um Albumin, es folgen in Richtung der Kathode a-, b- und g-Globuline. Die Globuline werden weiterhin in Untergruppen differenziert.

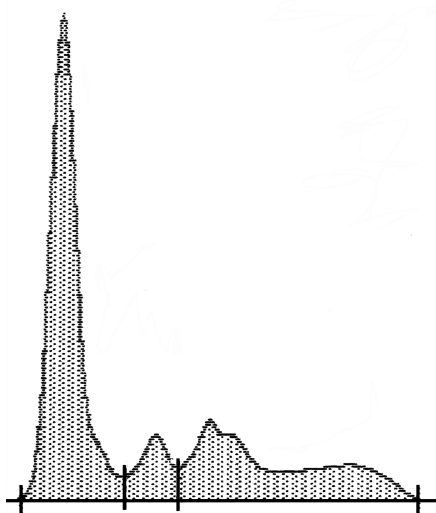


Abb 1a: „Drop-line“-Verfahren

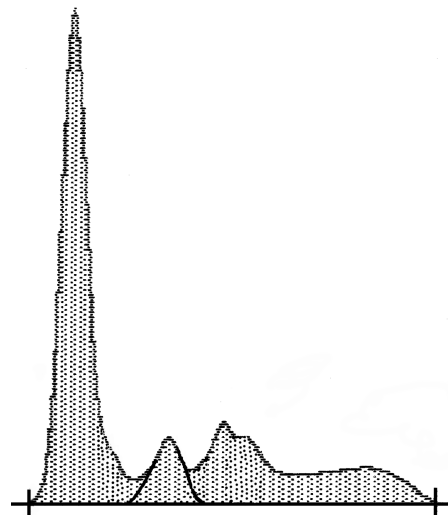


Abb 1b: Gaußsche Näherung

Das Elektropherogramm des Pferdes unterscheidet sich im Vergleich zu jenem von Mensch oder anderen Tieren. So fehlt beim Pferd beispielsweise der a_1 -Peak, wie er beim Menschen zu beobachten ist (ERICKSON 1975).

In der Literatur existiert kein allgemein gültiges Schema für die Auswertung des Elektropherogramms beim Pferd. Die Anzahl der zu unterscheidenden Fraktionen variiert je nach Autor und Methode zwischen fünf und zehn Einzelfraktionen (siehe Kap. 2.3.2.2). Eine Ausnahme stellt die Untersuchung von BIAGI (1980) dar. Sie legte sich im Unterschied zu den anderen Autoren nicht auf eine bestimmte Anzahl an Fraktionen fest, sondern unterschied bei ihren Elektropherogrammen vier verschiedene Typen mit 4, 5, 6 oder 8 Einzelfraktionen, wobei 76,7% (von 1000 Proben) der Elektropherogramme fünf und 22% sechs Einzelfraktionen aufwiesen (BIAGI 1980).

Ein weiteres Problem liegt beim Pferd in den besonders großen individuellen Variationen (EK 1970, MAIR et al. 1993, FLOTHOW und DEEGEN 1994). Diese könnten sich auf unerkannte subklinische Erkrankungen oder verschiedene Haltungsformen zurückführen lassen (SCHALM 1979, MAIR et al. 1993, FLOTHOW und DEEGEN 1994). EK (1980) fand individuelle Unterschiede besonders im Bereich der b-Globuline. Er vermutete als Ursache genetisch terminierte Transferrinunterschiede.

Unbeeinflusst bleibt das Ergebnis der Elektrophorese von Alter und Geschlecht der Tiere (MASSIP und FUMIÈRE 1974, KRISTENSEN und FIRTH 1977). Einen

möglichen Einfluss kann die Rasse haben, KIRK et al. (1975) zeigten, dass α_3 - und β_2 -Fraktionen bei Ponies eine höhere Konzentration besaßen, als bei Pferden.

2.3.2.1 Albumin

Bei dem meist basischen pH-Wert, der für die SPE gewählt wird, ist Albumin das Serumprotein, welches die stärkste negative Ladung besitzt. Aus diesem Grund wandert es am weitesten in Richtung der Anode (KANEKO 1980). Da Albumin physiologischerweise das Serumprotein mit der höchsten Konzentration ist, stellt es sich als prominentester Peak im Elektropherogramm dar (JAIN 1993b, KANEKO 1980).

Beim Pferd stellt sich der Albumin-Peak häufig nicht symmetrisch dar. Verschiedene Autoren beschrieben an der kathodalen Seite eine sogenannte „Schulter“, unabhängig von der von ihnen verwendeten Elektrophoresemethodik (BIERER 1969, MASSIP und FUMIÈRE 1974, KIRK et al. 1975, KRISTENSEN und FIRTH 1977, BIAGI 1980, KANEKO 1980, KEAY und DOXEY 1981, MATTHEWS 1982). Da keine Angaben über eine Heterogenität von Albumin vorliegen, muss es sich hierbei um eine Überlappung mit der Proteinbande eines Globulins handeln (KRISTENSEN und FIRTH 1977). KRISTENSEN und FIRTH (1977) gaben an, dass die Schulter ausnahmslos vorhanden war. Auch KANEKO (1980) beschrieb das Vorhandensein dieser Schulter, die prominenter wurde, wenn die Konzentration an Albumin abnahm oder wenn eine akute Entzündung vorlag. Trotzdem wurde sie von ihm dem Albumin zugerechnet. Bei den übrigen Autoren wurde sie als α_1 -Globulin bezeichnet.

2.3.2.2 Globuline

Die Globuline wandern in der Elektrophorese in drei Hauptfraktionen: a-, b- und g-Globuline. Da sich im Serum etwa 100 verschiedene Proteine befinden (KANEKO 1980), wird deutlich, dass die einzelnen Fraktionen aus einem Gemisch verschiedenster Proteine bestehen müssen. Nach dem Albumin sind die a-Globuline die Globuline mit der stärksten negativen Ladung. Sie wandern dicht hinter dem Albumin in Richtung der Anode, gefolgt von den b-Globulinen. Die g-Globuline wandern kaum, falls doch zeigen sie eher eine Wanderung in Richtung der Kathode (KANEKO 1980).

Die Interpretation des Elektropherogramms zeigt bei verschiedenen Autoren große Unterschiede bezüglich der Globuline, unabhängig von der gewählten Elektrophoresemethodik. Die Anzahl der einzeln zu unterscheidenden Fraktionen liegt bei drei (BIAGI 1980), vier (EK 1970, OSBALDISTON 1972, PIERCE 1975, BIAGI 1980, COFFMAN 1981, GREEN et al. 1982, COFFMAN 1969, CHABCHOUB und GUELFI 1991), fünf (KANEKO 1980, BIAGI 1980, MAIR et al. 1993, FLOTHOW und DEEGEN 1994, TRUMEL et al. 1996), sechs (MASSIP und FUMIÈRE 1974, KIRK et al. 1975, KEAY und DOXEY 1981, MATTHEWS 1982), sieben (BIAGI 1980, KEAY und DOXEY 1981) oder neun (BIERER 1969, KRISTENSEN und FIRTH 1977) Fraktionen.

Wird für die Elektrophorese hämolytisches Serum verwendet, kann es durch die Bildung von Hämoglobin-Haptoglobin-Komplexen zu einer Erhöhung der α_2 - bzw. β_1 -Fraktion kommen (TRUMEL et al. 1996).

2.3.2.2.1 α -Globuline

Zu den wichtigsten in der α -Fraktion aufzufindenden Globulinen gehören: verschiedene Akut-Phase-Proteine (α_2 -Makroglobulin, Haptoglobin, α_1 -saures Glykoprotein, Ceruloplasmin, Serum Amyloid A), Protease-Inhibitoren (z.B. α_1 -Antitrypsin) und Lipoproteine (HDL, LDL, VLDL) (KANEKO 1980, JAIN 1993b).

Von den Globulinen zeigen die α -Globuline des Pferdes die deutlichsten Unterschiede im Vergleich mit Mensch und anderen Tieren (ERICKSON 1975). Sie stellen zudem die Globulinfraktion dar, die beim Pferd am unterschiedlichsten von verschiedenen Autoren interpretiert wurde. Dies äußert sich v.a. in der Interpretation der „Schulter“ am Albumin (siehe Kap. 2.3.2.1; S. 46). In der überwiegenden Zahl der Untersuchungen wurden die α -Globuline in zwei Unterfraktionen geteilt (EK 1970, PIERCE 1975, KANEKO 1980, COFFMAN 1981, GREEN et al. 1982, MATTHEWS 1982, BAUER et al. 1985, CHABCHOUB und GUELFI 1991, MAIR et al. 1993, FLOTHOW und DEEGEN 1994). OSBALDISTON (1972) ermittelte keine Unterteilung der α -Globuline, KRISTENSEN und FIRTH (1977) beschrieben hingegen sechs verschiedene Unterfraktionen. Auch drei (MASSIP und FUMIÈRE 1974, KIRK et al. 1975) und vier (BIERER 1969, KEAY und DOXEY 1981) Untereinheiten wurden beschrieben. Über die Gründe für diese verschiedenen Interpretationen bestehen keine Informationen, auch

ist die Zahl unabhängig von der gewählten Methodik. Wichtig ist hierbei zu bemerken, dass die Autoren verschieden große Abschnitte im Elektropherogramm den α -Globulinen zuordneten.

Eine Erhöhung der α -Globuline wird bei verschiedenen Erkrankungen beobachtet: im Verlauf der Akut-Phase-Reaktion der Entzündung (KANEKO 1980, JAIN 1993b, FLOTHOW und DEEGEN 1994), bei subakuten und chronischen Entzündungen (JEFFCOTT 1971, FLOTHOW und DEEGEN 1994) und bei verschiedenen Tumorerkrankungen (FLOTHOW und DEEGEN 1994). MAIR et al. (1993) zeigten bei adulten Pferden mit akuter Diarrhoe, dass zwischen einer Erhöhung der Konzentration von α_2 -Globulinen und dem Verlauf der Erkrankung ein relativ enger Zusammenhang bestand; Pferde, die verstarben oder aufgrund infauster Prognose euthanasiert wurden, zeigten signifikant höhere Konzentrationen. Die Autoren sahen eine Zunahme der Akut-Phase-Proteine als Ursache (MAIR et al. 1993).

Pferde mit COB weisen keine Veränderungen der α -Globuline auf (CHABCHOUB und GUELFİ 1991).

2.3.2.2.2 β -Globuline

Zu den β -Globulinen werden gezählt: Komplement-Proteine, Transferrin und ein Teil der Immunglobuline (IgM, IgG(T) und IgA) (KANEKO 1980, JAIN 1993b). Im Unterschied zu den α -Globulinen bestehen bei der Definition und Aufteilung der β -Globuline kaum Differenzen zwischen verschiedenen Autoren. In der Regel werden zwei Unterfraktionen beschrieben (OSBALDISTON 1972, MASSIP und FUMIÈRE 1974, KIRK et al. 1975, KRISTENSEN und FIRTH 1977, KANEKO 1980, KEAY und DOXEY 1981, MATTHEWS 1982, BAUER et al. 1985, MAIR et al. 1993, FLOTHOW und DEEGEN 1994). Nur selten ist zu beobachten, dass die β -Fraktion nicht unterteilt wurde (PIERCE 1975, EK 1970, COFFMAN 1981, GREEN et al. 1982, CHABCHOUB und GUELFİ 1991). BIERER (1969) war der Einzige, der drei Untergruppen fand. Erklärungen für diese unterschiedlichen Interpretationen werden nicht gegeben, sie sind unabhängig von der Methodik.

Mehrfach wird von einer Erhöhung der β -Globuline im Zusammenhang mit Strongylidenbefall (v.a. kleine Strongyliden) berichtet (JEFFCOTT 1971, AMBORSKI et al. 1974, HERD und KENT 1986, MAIR et al. 1993, FLOTHOW und DEEGEN

1994). MAIR et al. (1993) stellten fest, dass von 22 untersuchten Pferden mit Cyathostomen-Befall nur 10 Pferde stark erhöhte b₁-Globuline zeigten, alle anderen Pferde lagen im Normbereich. Sie schlossen daraus, dass stark erhöhte Werte ein Indiz für das Vorliegen einer Cyathostominose sein könnten, wohingegen normale Werte diese Diagnose nicht ausschließen. HERD und KENT (1986) untersuchten Pony-Jährlinge, die fortwährend einer mit Strongyliden (große Strongyliden und Cyathostomen) kontaminierten Weide ausgesetzt waren. Sie zeigten bei regelmäßiger Entwurmung keine Veränderungen der b-Globuline. Erst wenn die Weide zusätzlich mit *Trichostrongylus axei* „infiziert“ war, kam es zu einer hochgradigen Zunahme der b-Globuline. Nach erneuter Entwurmung kam es zu einem Abfall der b-Globuline in den Normbereich, was die Autoren als Therapieerfolg deuteten. Bei adulten Ponies war eine Zunahme der b-Globuline auch ohne regelmäßige Entwurmung nicht festzustellen (HERD und KENT 1986). MIRCK (1980) ermittelte einen Anstieg der b-Globuline bedingt durch eine Infektion mit Strongyliden. Es bestand ein quantitativer Zusammenhang zwischen der Konzentration der b-Globuline und der Anzahl der histiotrophen Strongyliden-Larven.

Pferde mit COB zeigen keine Abweichungen im Gehalt der b-Globuline (CHABCHOUB und GUELFY 1991).

2.3.2.2.3 g-Globuline

Bei den Proteinen der g-Globuline handelt es sich ausschließlich um Immunglobuline (Ig). Beim Pferd sind dies IgG, IgM, IgE und IgA. Zu berücksichtigen ist hierbei, dass IgA und ein Subtyp des IgG [IgG(T)] in der b₂-Fraktion und IgM zwischen b₂- und g-Globulinen wanderten (MAKIMURA et al. 1975). Die verschiedenen Subtypen von IgG [IgGa, IgGb, IgGc, IgG(T)a, IgG(T)b] stellen den größten Anteil der Immunglobuline im Serum von Pferden (MAKIMURA et al. 1975, JAIN 1993b, TIZARD 1996).

Bis auf wenige Ausnahmen, bei denen die Fraktion in zwei Unterfraktionen geteilt wird (BIERER 1969, MATTHEWS 1982), werden die g-Globuline von den verschiedenen Autoren als einheitliche Fraktion betrachtet.

Eine Zunahme der g-Globuline (polyklonale Hypergammaglobulinämie) spricht für das Vorliegen einer subakuten bis chronischen Erkrankung (JEFFCOTT 1971, SCHALM 1975a, COFFMAN 1981, KANEKO 1980, WUIJCKHUISE-SJOUKE 1984, JAIN

1993b, FLOTHOW und DEEGEN 1994). Gelegentlich ist das sogenannte „b-g-bridging“ zu beobachten, hierbei vermischt der Übergang zwischen der b- und der g-Fraktion, verursacht durch einen Anstieg an IgM und IgA (KANEKO 1980). Fand sich im Bereich der g-Globuline ein einzelner Peak, was bei Pferden einen äußerst seltenen Befund darstellte, war dies Zeichen einer monoklonalen Hypergammaglobulinämie, welche durch Neoplasien verursacht sein kann (JAIN 1993b).

Bei chronischen Durchfällen war i.d.R. ein Mangel an g-Globulinen nachweisbar, COFFMAN (1981) führte dies darauf zurück, dass durch die relativ lange Synthesedauer der g-Globuline die Verluste über die geschädigte Darmschleimhaut nicht ausreichend kompensiert werden können.

JEFFCOTT (1971) und WUIJCKHUISE-SJOUKE (1984) beschrieben die Erhöhung der g-Globuline als typisches Zeichen einer chronischen Entzündung.

Bei an COB erkrankten Pferden ist eine Erhöhung der g-Globuline festzustellen (CHABCHOUB und GUELF 1991, FLOTHOW und DEEGEN 1994). Bei CHABCHOUB et al. (1991) zeigten allerdings nur 11 von 30 untersuchten Tieren diese Erhöhung. Bei anderen Autoren werden diese Veränderungen nicht beschrieben (ROBINSON et al. 1996, VANDENPUT und LEKEUX 1996).

COFFMAN (1981) gab zu bedenken, dass möglicherweise auch die regelmäßig durchgeführten Impfungen bei älteren Pferden zu einer Erhöhung der g-Globuline führen könnten.

Ein fast vollständiges Fehlen an g-Globulinen ist physiologisch festzustellen bei neugeborenen Fohlen, die noch kein Kolostrum aufgenommen haben, und pathologisch bei Araberfohlen, die an der autosomal rezessiv vererbten kombinierten Immunodefizienz (CID) leiden (KANEKO 1980, JAIN 1993b, FLOTHOW und DEEGEN 1994).