

Aus der Klinik für Pferde
und dem Institut für Veterinär-Biochemie
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

**Charakterisierung der fibrinolytischen Aktivität in der bronchoalveolären
Lavageflüssigkeit beim chronisch lungenkranken Pferd und der Einfluss
einer inhalativen Glukokortikoidtherapie**

Inaugural-Dissertation

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

vorgelegt von

Caroline Michaela Johanna Wirth

Tierärztin aus Menden

Berlin 2015

Journal-Nr.: 3811

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

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

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):
horses, chronic obstructive pulmonary disease, bronchoalveolar lavage,
hemostasis, fibrinolysis, fibrin, ELISA

Tag der Promotion: 12.04.2016

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

ISBN: 978-3-86387-717-0

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

Dissertation, Freie Universität Berlin

D 188

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

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

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

This document is protected by copyright law.

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

Alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© Mensch und Buch Verlag 2016

Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

*Diese Arbeit wurde finanziell unterstützt durch die Mehl-Mülhens-Stiftung
(Köln, Deutschland).*

Meinen Eltern.

„Jeder junge Wissenschaftler sollte stets die Möglichkeit im Auge behalten, dass ein vermeintlich irritierendes Versagen von Labortechnik, das zu inkonsistenten Ergebnissen führt, ein- oder zweimal im Leben auch ein Hinweis auf eine großartige Entdeckung sein könnte.“

Patrick Blauvelt (1897-1974)

Inhaltsverzeichnis

INHALTSVERZEICHNIS	VII
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	XII
I EINLEITUNG	1
II LITERATURÜBERSICHT	4
1 Chronisch obstruktive Bronchitis (COB).....	4
1.1 Begriffsbestimmung COPD / COB / RAO	4
1.2 Differentialdiagnosen – SPAOPD / IAD / interstitielle Pneumopathie	4
1.3 Vorkommen und Klinik.....	6
1.4 Ätiologie und Pathogenese	8
1.5 Pathomorphologische Veränderungen.....	13
1.6 Diagnostik.....	16
1.7 Therapie.....	19
2 Das Hämostasesystem	24
2.1 Das Gerinnungssystem	24
2.1.1 Die Physiologie der Gerinnung	24
2.1.1.1 Das Kaskaden-Modell	25
2.1.1.2 Das Zell-basierte Modell	27
2.1.2 Vom Fibrinogen zum Fibrin.....	30
2.1.2.1 Das Fibrinogenmolekül	30
2.1.2.2 Das Fibrinogen und seine klinische Bedeutung.....	31
2.1.2.3 Die Entstehung von Fibrin aus dem Fibrinogenmolekül	32
2.2 Das Fibrinolyseystem	32
2.2.1 Die Physiologie der Fibrinolyse.....	32
2.2.1.1 Die Aktivierung der Fibrinolyse.....	34
2.2.1.1.1 Die Plasminwirkung und die Entstehung der D-Dimere	34
2.2.1.1.2 Die D-Dimere und ihre klinische Bedeutung	35
2.2.1.2 Die Inhibierung der Fibrinolyse	37
2.2.1.2.1 Der PAI-1 und seine klinische Bedeutung	38
3 Die pulmonale Hämostase beim Menschen	40
3.1 Allgemeine Pathophysiologie der pulmonalen Hämostase.....	40
3.2 Veränderungen der Hämostase bei ausgewählten respiratorischen Erkrankungen.....	41
3.2.1 Veränderungen der Hämostase bei Asthma	41
3.2.2 Veränderungen der Hämostase bei ARDS	46

Inhaltsverzeichnis

3.2.3	Veränderungen der Hämostase bei interstitiellen Pneumopathien	50
3.2.4	Veränderungen der Hämostase bei Pneumonien	52
4	Die Hämostase beim Pferd.....	53
4.1	Die pulmonale Hämostase beim Pferd.....	53
4.2	Die Fibrinolyse beim Pferd bei ausgewählten Erkrankungen.....	55
4.2.1	Die Fibrinolyse bei akuten gastrointestinalen Erkrankungen.....	56
4.2.2	Die Fibrinolyse bei der Septikämie des Fohlens	62
4.2.3	Die Fibrinolyse bei Arthropathien.....	64
4.2.4	Fibriolytisch-therapeutische Ansätze	66
III	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	68
1	Material und Methoden	68
1.1	Patienten	68
1.1.1	Allgemeines Patientenkollektiv.....	68
1.1.2	Gruppeneinteilung (Ein-/Ausschlusskriterien).....	68
1.2	Untersuchungen.....	70
1.2.1	Allgemeines Untersuchungsschema.....	70
1.2.2	Allgemeine und spezielle klinische Untersuchung.....	71
1.2.3	Weiterführende Untersuchungen.....	72
1.2.3.1	Venöse und arterielle Blutanalysen	72
1.2.3.2	Belastungsuntersuchung	73
1.2.3.3	Interpleuraldruckmessung	73
1.2.3.4	Endoskopische Untersuchung.....	74
1.2.3.5	Bronchoalveoläre Lavage.....	76
1.2.3.5.1	Aufbereitung der BAL (Probenaufbereitung)	76
1.2.3.5.2	Zytologische Untersuchung.....	77
1.2.3.6	Röntgenologische Untersuchung.....	77
1.2.4	Klinischer Score.....	78
1.3	Inhalationstherapie	79
1.4	Laboranalytische Verfahren.....	80
1.4.1	Bestimmung von Fibrinogen.....	80
1.4.2	Bestimmung von SAA	80
1.4.3	Bestimmung der D-Dimere	81
1.4.3.1	Anreicherung der D-Dimere in der BALF.....	82
1.4.4	Bestimmung von PAI-1.....	82
1.5	Statistische Auswertung und graphische Darstellung.....	84
2	Ergebnisse	88
2.1	Probandengut/Patientenkollektiv	88
2.2	Ergebnisse der Untersuchungen	89

Inhaltsverzeichnis

2.2.1	Ergebnisse der allgemeinen und speziellen klinischen Untersuchung	89
2.2.2	Ergebnisse der weiterführenden Untersuchungen	93
2.2.2.1	Ergebnisse der venösen und arteriellen Blutanalysen.....	93
2.2.2.2	Ergebnisse der Belastungsuntersuchung.....	96
2.2.2.3	Ergebnisse der Interpleuraldruckmessung	97
2.2.2.4	Ergebnisse der endoskopischen Untersuchung.....	99
2.2.2.5	Ergebnisse der bronchoalveolären Lavage	102
2.2.2.5.1	Ergebnisse der zytologischen Untersuchung.....	102
2.2.2.6	Ergebnisse der röntgenologischen Untersuchung.....	106
2.2.3	Ergebnisse des klinischen Scores – Schweregrad der Erkrankung.....	108
2.3	Ergebnisse der laboranalytischen Verfahren	110
2.3.1	Ergebnisse der Bestimmung von Fibrinogen	110
2.3.2	Ergebnisse der Bestimmung von Serum-Amyloid-A	115
2.3.3	Ergebnisse der Bestimmung von D-Dimeren.....	117
2.3.4	Ergebnisse der Bestimmung von PAI-1 und u-PA.....	119
2.4	Vergleichende Darstellung der Ergebnisse vor und nach Therapie	120
2.4.1	Ergebnisse der Untersuchungen vor vs. nach Therapie.....	120
2.4.1.1	Ergebnisse der allgemeinen und speziellen klinischen Untersuchung vor vs. nach Therapie 120	
2.4.1.2	Ergebnisse der weiterführenden Untersuchungen vor vs. nach Therapie	122
2.4.1.2.1	Ergebnisse arteriellen Blutanalysen vor vs. nach Therapie.....	122
2.4.1.2.2	Ergebnisse der Belastungsuntersuchung vor vs. nach Therapie.....	124
2.4.1.2.3	Ergebnisse der interpleuralen Druckmessung vor vs. nach Therapie.....	125
2.4.1.2.4	Ergebnisse der endoskopischen Untersuchung vor vs. nach Therapie	125
2.4.1.2.5	Ergebnisse der bronchoalveolären Lavage vor vs. nach Therapie	127
2.4.1.2.5.1	Ergebnisse der zytologischen Untersuchung vor vs. nach Therapie.....	127
2.4.1.3	Ergebnisse des klinischen Scores – Schweregrad der Erkrankung vor vs. nach Therapie ...	130
2.4.2	Ergebnisse der laboranalytischen Verfahren vor vs. nach Therapie.....	132
2.4.2.1	Ergebnisse der Bestimmung von Fibrinogen vor vs. nach Therapie	132
2.4.2.2	Ergebnisse der Bestimmung von Serum-Amyloid-A vor vs. nach Therapie.....	134
2.4.2.3	Ergebnisse der Bestimmung von D-Dimeren vor vs. nach Therapie.....	135
3	Diskussion	138
3.1	Ziele der Studie.....	138
3.2	Probandengut / Patientenkollektiv	138
3.3	Einschlusskriterien / Gruppeneinteilung / Diagnosestellung	139
3.4	Diskussion der Ergebnisse der Untersuchungen.....	141
3.4.1	Diskussion der Ergebnisse der allgemeinen und speziellen klinischen Untersuchung.....	141
3.4.2	Diskussion der Ergebnisse der weiterführenden Untersuchungen	142
3.4.2.1	Diskussion der Ergebnisse der venösen und arteriellen Blutuntersuchung	142
3.4.2.2	Diskussion der Ergebnisse der Interpleuraldruckmessung	142

Inhaltsverzeichnis

3.4.2.3	Diskussion der Ergebnisse der Belastungsuntersuchung	143
3.4.2.4	Diskussion der Ergebnisse der endoskopischen Untersuchung	143
3.4.2.5	Diskussion der Ergebnisse der bronchoalveolären Lavage	144
3.4.2.5.1	Diskussion der Ergebnisse der zytologischen Untersuchung	145
3.4.2.6	Diskussion der Ergebnisse der röntgenologischen Untersuchung	145
3.4.3	Diskussion der Ergebnisse des klinischen Scores	146
3.5	Diskussion des Studiendesigns und der Ergebnisse der Inhalationstherapie	146
3.6	Diskussion der Ergebnisse der Laboranalysen	150
3.6.1	Auswahl der Parameter zur Charakterisierung der Fibrinolyse.....	150
3.6.2	Auswahl der laboranalytischen Nachweisverfahren.....	151
3.6.3	Diskussion der Ergebnisse der Bestimmung von Fibrinogen.....	155
3.6.4	Diskussion der Ergebnisse der Bestimmung von D-Dimeren	159
3.6.5	Diskussion der Ergebnisse der Fibrinogen- und D-Dimer-Bestimmung im Kontext der Gerinnung und Fibrinolyse.....	162
3.6.6	Diskussion der Ergebnisse der Bestimmung von Serum-Amyloid-A	164
3.7	Schlussfolgerung und Ausblick	166
IV	ZUSAMMENFASSUNG	169
V	SUMMARY	171
VI	LITERATURVERZEICHNIS	173
VII	TABELLENVERZEICHNIS.....	207
VIII	ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	209
IX	ANHANG	215
1	Allgemeine Übersicht über das Patientenkollektiv.....	215
2	Datentabellen	218
3	Untersuchungsbögen.....	223
4	Verwendete Materialien.....	230
4.1	Geräte	230
4.2	Sonstige Verbrauchsmaterialien	231
4.3	Reagenzien und Medikamente.....	232
4.4	Laboranalytische Tests	232

Inhaltsverzeichnis

X	PUBLIKATIONEN	233
XI	DANKSAGUNG.....	234
XII	SELBSTSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG	235

Abkürzungsverzeichnis

A-aDO₂	Alveolo-arterielle Sauerstoffpartialdruckdifferenz
Abb.	Abbildung
ADP	Adenosindiphosphat
AF	Atemfrequenz
α2-AP	Alpha-2-Antiplasmin
APC	Aktiviertes Protein C
aPTT	Aktivierte partielle Thromboplastinzeit
ARDS	Acute Respiratory Distress Syndrome
AST	Aspartat-Aminotransferase
AT	Antithrombin
BAL	Bronchoalveoläre Lavage
BALF	Bronchoalveoläre Lavageflüssigkeit
BE	Base Excess (Basenüberschuss)
BGA	Blutgasanalyse (hier: arteriell)
bzw.	beziehungsweise
°C	Grad Celsius
cAMP	Zyklisches Adenosinmonophosphat
C_{dyn}	Dynamische Compliance
CK	Kreatinkinase
cmH₂O	Zentimeter Wassersäule
COB	Chronisch Obstruktive Bronchitis
COPD	Chronic Obstructive Pulmonary Disease
d	Tag
DAD	Diffuse Alveolar Damage
d.h.	das heißt
ΔPplmax	Maximale Interpleuraldruckdifferenz
DIG	Disseminierte Intravasale Gerinnung
DPI	Dry Powder Inhaler
DPPC	Dipalmitoylphosphatidylcholine
EAA	Exogene Allergische Alveolitis
ECS	Equines Cushing Syndrom
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
EMS	Equines Metabolisches Syndrom
Eos	Eosinophile Granulozyten

Abkürzungsverzeichnis

EZM	Extrazelluläre Matrix
F	Faktor
FDPs	Fibrin(ogen) Abbauprodukte (Fibrin Degradation Products)
FEU	Fibrinogenäquivalent (Fibrinogen Equivalent Unit)
FEV	Forciertes expiratorisches Volumen
FP	Fibrinopeptid
g	Gramm
GP	Glykoprotein
h	Stunde
HCO₃⁻	Bikarbonat
HDS	Hay Dust Suspension
HF	Herzfrequenz
HIPT	Histamin-Inhalations-Provokations-Test
HMWK	High Molecular Weight Kininogen
HRP	Horseradish Peroxidase
IAD	Inflammatory Airway Disease
ICAM	Intercellular Adhesion Molecule
inkl.	inklusive
IFN-γ	Interferon-gamma
IPF	Idiopathische pulmonale Fibrose
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
ILD	Interstitial Lung Diseases
IPD	Interpleuraldruck
i.v.	intravenös
K.	Kapitel
kD	Kilodalton
KFZ	Kapilläre Füllungszeit
kg	Kilogramm
KGW	Körpergewicht
KU	Klinische Untersuchung
kV	Kilovolt
l	Liter
LABA	Long Acting Beta Agonists
Lnn.	Lymphonodi

Abkürzungsverzeichnis

LPS	Lipopolysaccharide
LTB₄	Leukotrien B ₄
Lymph	Lymphozyten
mA	Milliampere
Mastz	Mastzellen
Max.	Maximum
Md	Median
MDI	Metered-Dose Inhaler
mg	Milligramm
MIGET	Multiple-Inertgas-Eliminationstechnik
Min.	Minimum
MIP	Macrophage Inflammatory Protein
MK	Makrophagen
ml	Milliliter
µl	Mikroliter
µm	Mikrometer
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
MMP	Matrix-Metalloprotease
MW	Mittelwert
NF-κB	Nuclear Factor kappaB (nuclear factor “kappa-light-chain-enhancer” of activated B-cells)
ng	Nanogramm
NPV	Negativer prädiktiver Wert (negative predictive value)
NSAIDs	Nichtsteroidale Antiphlogistika
OA	Osteoarthritis
OCD	Osteochondrosis dissecans
paCO₂	arterieller Kohlendioxidpartialdruck
paO₂	arterieller Sauerstoffpartialdruck
PAF	Plättchenaktivierender Faktor
PAI	Plasminogen-Aktivator-Inhibitor
PAR	Proteaseaktivierter Rezeptor
PAS	Plasminogen Activation System
PBS	Phosphatgepufferte Salzlösung
PCA	Prokoagulatorische Aktivität
PCR	Polymerase-Kettenreaktion (Polymerase Chain Reaction)
PK	Prekallikrein
PMN	Polymorphkernige neutrophile Granulozyten

Abkürzungsverzeichnis

p.o.	per os
PTZ	Prothrombinzeit
Q_{1/3}	1. und 3. Quartil
RABA	<i>Rapid Acting Beta Agonists</i>
RAO	Recurrent Airway Obstruction
R_L	Lungenwiderstand (Resistance der Lunge)
ROS	Reactive Oxygen Species
rpm	Umdrehungen pro Minute (revolutions per minute)
r_s	Korrelationskoeffizient nach Spearman / Rangkorrelationskoeffizient
r-TPA	rekombinanter Tissue-Plasminogen-Aktivator
s.	siehe
S.	Seite
SAA	Serum-Amyloid-A
SABA	Short Acting Beta Agonists
SD	Standardabweichung
SERPIN	Serinproteaseinhibitor
SFD	lösliche Fibrinogenderivate (soluble fibrinogen derivatives)
s.o.	siehe oben
SPAOPD	Summer Pasture-associated Obstructive Pulmonary Disease
SPA-RAO	Summer Pasture-associated Recurrent Airway Obstruction
s.u.	siehe unten
Tab.	Tabelle
TAFI	Thrombin-aktivierbarer Fibrinolyse-Inhibitor
TAT	Thrombin-Antithrombin-Komplex
TBS	Tracheobronchialsekret
TF	Tissue Factor
TFPI	Tissue Factor Pathway Inhibitor
TGF-β	Transforming Growth Factor-beta
Th-Zelle	T-Helferzelle
TM	Thrombomodulin
TMT	Thrombin-Thrombomodulin-Komplex
t-PA	tissue-type Plasminogenaktivator
u.a.	unter anderem
u-PA	Urokinase (urokinase-type Plasminogenaktivator)
u-PAR	Urokinase-Rezeptor
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor

Abkürzungsverzeichnis

vgl.	verglichen
vs.	versus
vWF	von-Willebrand-Faktor
z.B.	zum Beispiel
z.T.	zum Teil

I Einleitung

Pferde mit Erkrankungen des Respirationstrakts machen einen großen Anteil der in Klinik und Praxis vorgestellten internistischen Patienten aus. Neben der Chronisch Obstruktiven Bronchitis (COB), stellen auch die immer häufiger diagnostizierte Inflammatory Airway Disease (IAD) sowie die interstitielle Pneumopathie bedeutende Differenzialdiagnosen chronischer Lungenerkrankungen beim Pferd dar. Die hohe Prävalenz chronisch respiratorischer Erkrankungen, insbesondere der COB, in der Pferdepopulation und der, vor allem beim Sportpferd mit Leistungseinschränkungen verbundene, wirtschaftliche Aspekt (Wilsher, Allen et al. 2006; Gerber 2013) tragen dazu bei, dass auf diesem Gebiet in den letzten Jahren viel geforscht wurde. Das Hauptziel bestand darin, den Pathomechanismus so detailliert wie möglich aufzuschlüsseln und dadurch neue prognostische und therapeutische Ansatzpunkte zu finden. Der Fokus lag hierbei vor allem auf dem Mechanismus der lokalen Entzündungsreaktion in der Lunge, die als zentraler Punkt in der Pathogenese gilt. Vor allem in Bezug auf die mit einer allergischen Komponente vergesellschafteten Atemwegserkrankungen (COB, IAD), rückte dabei das Verständnis komplexer immunologischer Zusammenhänge in den Vordergrund (Robinson 2001; Pirie 2014).

Langanhaltende und immer wiederkehrende Entzündungsprozesse, wie sie bei genannten Erkrankungen auftreten, führen langfristig zu einem Umbau des Lungengewebes. Dabei kommt es neben Differenzierungsstörungen und damit einhergehendem Funktionsverlust verschiedener spezialisierter Zellen sowie einer Hypertrophie der glatten Muskulatur auch zu Fibrosierungen unterschiedlichen Schweregrades (Kaup, Drommer et al. 1990b; Leclere, Lavoie-Lamoureux et al. 2011a). Langfristig führen diese Veränderungen zu persistierenden Einschränkungen in der Lungenfunktion, wobei die Vernarbung des Lungengewebes je nach Ausmaß eine bedeutende Rolle spielt (Setlakwe, Leclere et al. 2009).

In der Humanmedizin konnte für viele verschiedene, akute wie chronische, respiratorische Erkrankungen, unter anderem für das der equinen COB sehr ähnliche Asthma, ein gestörtes hämostatisches Gleichgewicht im Lungenkompartiment als wesentlicher Einflussfaktor für ablaufende Fibrosierungsprozesse herausgestellt werden (Wygrecka, Jablonska et al. 2008; Brims, Chauhan et al. 2009).

Grundsätzlich kommt es bei mechanischen oder entzündlichen Schädigungen natürlicher Barrieren wie dem Kapillarendothel und dem Alveolarepithel zunächst zu einem sogenannten *plasma protein leakage* mit Extravasation und damit einhergehendem Übertritt von Plasmaproteinen wie beispielsweise Fibrinogen oder auch Thrombin in den Alveolarraum. Daran angeschlossen findet in der Regel eine verstärkte Gerinnungsaktivierung und Fibrinbildung als Teil eines natürlichen Heilungs- und Reparaturmechanismus statt, der dem primären Verschluss geschädigter Membranen dient (Günther, Mosavi et al. 2000a). Wenn nun jedoch die natürliche Balance zwischen

I Einleitung

Gerinnung und Fibrinolyse gestört ist, führt dies zu übersteigter Fibrinbildung mit dauerhaften Fibrinablagerungen und langfristig zu genannter Bildung schwerwiegender irreversibler Fibrosen. Dabei ist nicht nur die Vernarbung des Parenchyms mit daraus resultierenden Lungenfunktionsstörungen von Bedeutung, auch das Fibrinogen und Fibrin sowie deren Abbauprodukte haben erheblichen Einfluss auf verschiedene pathogenetische Vorgänge im Respirationstrakt. So werden durch diese Moleküle unter anderem profibrotische Prozesse gefördert, die Zytokinproduktion moduliert und die Surfactant-Funktion negativ beeinflusst (Seeger, Elssner et al. 1993; Sitrin, Pan et al. 1998; Ruppert, Markart et al. 2008).

Neben dem Beweis überschüssiger Fibrin- und Fibrosenbildung per se, gelang es bereits auch die dafür verantwortlichen Mechanismen im Rahmen der Hämostase-Imbalance im Alveolarraum aufzuschlüsseln. Hierbei konnten eine gesteigerte, überwiegend extrinsisch vermittelte Gerinnungsaktivität in Kombination mit einer signifikanten Fibrinolysehemmung herausgestellt werden (Wygrecka, Jablonska et al. 2008). Letztere ist unter anderem geprägt durch vermehrte Expression eines der wichtigsten Inhibitoren der Fibrinolyse, dem Plasminogen-Aktivator-Inhibitor-1 (PAI-1), der wesentlichen Einfluss auf jegliche Strukturveränderungen in der extrazellulären Matrix (EZM) besitzt (Cho, Ryu et al. 2004; Ghosh and Vaughan 2012).

Die zahlreichen Erkenntnisse über die zentrale Bedeutung von Gerinnung und Fibrinolyse im Pathomechanismus respiratorischer Erkrankung haben in der Humanmedizin bereits neue Perspektiven für therapeutische Interventionen eröffnet (Ware, Bastarache et al. 2005; Lee, Eren et al. 2012).

Bei der Betrachtung chronisch respiratorischer Erkrankungen beim Pferd wurde der Aspekt der alveolären Hämostasestörung bisher weitestgehend außen vor gelassen, wenngleich die veterinärmedizinische Literatur zahlreiche Anhaltspunkte bietet, ähnliche pathologische Veränderungen von Gerinnung und Fibrinolyse anzunehmen wie beim Menschen.

So konnten bei Pferden mit chronischen Bronchitiden neben einer entzündlich bedingten Plasmaexsudation, vermehrtem Fibrinogenaufkommen in Sekreten des Respirationstraktes und histologisch nachweisbaren Fibrinogen- und Fibrinablagerungen sowie Fibrosen, auch signifikant erhöhte Gerinnungsaktivitäten in Tracheobronchialsekret und bronchoalveolärer Lavageflüssigkeit gefunden werden (Grünig, Hermann et al. 1988; Grünig, Hulliger et al. 1990; Winder, Grünig et al. 1990). Letztere war gleichfalls auf den extrinsischen Hämostaseweg zurückzuführen und korrelierte positiv mit dem Schweregrad der Entzündung und der Anzahl an neutrophilen Granulozyten, was Hinweise auf einen direkten pathogenetischen Zusammenhang liefert. Darüber hinaus spielt auch bei der COB des Pferdes eine gestörte Surfactant-Funktion mit einhergehender Veränderung in der Phospholipidzusammensetzung eine Rolle, wobei konkrete Hinweise auf dessen Ursachen bisher weitestgehend fehlen (Jahn and Deegen 1985; Christmann, Welles et al. 2008).

I Einleitung

Das Ziel der vorliegenden Arbeit bestand darin, in einer prospektiv-klinischen Studie unter Einschluss einer gesunden Kontrollgruppe, anhand Analysen von bronchoalveolärer Lavageflüssigkeit erstmalig Hinweise auf mögliche Veränderungen in der fibrinolytischen Aktivität im alveolären Kompartiment bei chronisch lungenkranken Pferden zu erhalten und diese auf etwaige pathogenetische Relevanz zu überprüfen. Zur Charakterisierung der Fibrinolyse sollten das Fibrinogen, als essentieller Grundbaustein des Fibrinnetzwerkes, die D-Dimere als spezifische Abbauprodukte eben dieses sowie PAI-1 und Urokinase (u-PA, urokinase-type Plasminogenaktivator) als bedeutende hemmende bzw. aktivierende Regulatoren des fibrinolytischen Weges hinzugezogen werden. Ergänzen sollte untersucht werden, ob eine, in der Therapie beim Pferd regelmäßig zur Anwendung kommende, Glukokortikoidinhalation Einfluss auf die genannten Parameter hat.

Darüber hinaus wurde in diese Arbeit die Bestimmung von Serum-Amyloid-A (SAA) in bronchoalveolärer Lavageflüssigkeit begleitend mit aufgenommen. Dieses Akute-Phase-Protein gilt als sehr sensibler Entzündungsmarker und konnte beim Pferd bereits systemisch in Zusammenhang mit der COB-Erkrankung gebracht werden (Lavoie-Lamoureux, Leclere et al. 2012).

II Literaturübersicht

1 Chronisch obstruktive Bronchitis (COB)

1.1 Begriffsbestimmung COPD / COB / RAO

Lange Zeit wurde der aus der Humanmedizin übernommene Begriff „Chronic Obstructive Pulmonary Disease“ (COPD) für die – im deutschen Sprachgebrauch auch als „Dämpfigkeit“, im Englischen auch als „heaves“ oder „broken wind“ bekannte – entzündliche Erkrankung der tiefen Atemwege des Pferdes verwendet (Sasse 1971; Robinson 2001).

Neue Erkenntnisse in Ätiologie und Pathogenese deckten jedoch auf, dass das Krankheitsbild beim Pferd mehr Ähnlichkeit mit dem humanen Asthma hat als mit der COPD, die progressiv, irreversibel und meist durch Rauchen bedingt ist (Lowell 1990; Fahy, Kim et al. 1995; Robinson 2001; Leclere, Lavoie-Lamoureux et al. 2011b). Dies machte eine neue Begriffsdefinition erforderlich und im Jahr 2000 wurde auf dem „International Workshop on Equine Chronic Airway Disease“ an der Michigan State University „Recurrent Airway Obstruction“ (RAO) als international einheitlich zu gebrauchende Bezeichnung festgelegt (Robinson 2001). Im Zuge dessen wurde die Krankheit so konkret wie möglich definiert, um einen fälschlichen, übergreifenden Gebrauch für andere respiratorische Erkrankungen, wie es mit COPD bisher der Fall war, zu verhindern.

Die wichtigsten Kriterien für die Diagnosestellung einer RAO sind demnach eine bestehende Atemwegsobstruktion (ausgedrückt durch eine maximale Interpleuraldruckdifferenz (ΔP_{plmax}) > 15 cm H₂O oder durch einen validierten klinische Score), die durch Bronchodilatoren oder Änderung der Haltungsbedingungen reversibel ist sowie eine charakteristische Zellerhöhung in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit (BALF) (neutrophile Granulozyten $> 25\%$) (Robinson 2001). Dieses Bild zeigen viele Patienten jedoch nur im akuten Schub (Exazerbation) der Erkrankung, weshalb im deutschen Sprachgebrauch meist auf den Begriff „Chronisch Obstruktive Bronchitis“ bzw. „Bronchiolitis“ (COB) zurückgegriffen wird, welche auch in Remission diagnostiziert werden kann, und dieser Begriff soll daher auch in der vorliegenden Arbeit verwendet werden.

1.2 Differentialdiagnosen – SPAOPD / IAD / interstitielle Pneumopathie

Eine in Klinik und Pathogenese der COB sehr ähnliche Erkrankung ist die sogenannte Summer Pasture-associated Obstructive Pulmonary Disease (SPAOPD) oder auch Summer Pasture-associated Recurrent Airway Obstruction (SPA-RAO). Das Hauptunterscheidungsmerkmal liegt hierbei in der Ätiologie – während die COB vor allem mit der Staubexposition im Stall verknüpft ist, manifestiert sich die SPAOPD nur unter Weidehaltungsbedingungen, vorzugsweise im Sommer (Seahorn and Beadle 1993; Mair

II Literaturübersicht

1996; Costa, Johnson et al. 2006; Lavoie 2007), wobei ein gleichzeitiges Auftreten beider Krankheitsformen möglich ist (Dixon, Railton et al. 1995a; Mair 1996).

Des Weiteren ist die, ebenfalls mit einer Entzündung der tiefen Atemwege einhergehende, sogenannte Inflammatory Airway Disease von der COB abzugrenzen. Diese Erkrankung ist in ihrer Ätiologie und Pathogenese noch weitestgehend unerforscht, jedoch wurde 2007 in einem Consensus Statement auf Basis der aktuell vorhandenen Erkenntnisse der Begriff IAD – soweit anhand bereits vorliegender Erkenntnisse möglich – genauer eingegrenzt und definiert. Als minimale Kriterien für die Diagnosestellung einer IAD gelten demnach eine Leistungsminderung oder gar Leistungsverweigerung sowie fakultativ Husten und tracheale Mukusansammlungen in Kombination mit einer Lungenfunktionsstörung oder zytologisch nachweisbaren, nicht infektiösen Atemwegsentzündung (Couetil, Hoffman et al. 2007). Nolen-Walston, Harris et al. (2013) konnten in einer retrospektiven Studie mit 98 Pferden, die aufgrund von Leistungsabfall in der Klinik vorgestellt wurden, bei 81% dieser Tiere zytologisch eine IAD diagnostizieren.

Die Zytologie dieser Erkrankung weist, ebenso wie die COB, eine dominierende Neutrophilie, allerdings in schwächerer Ausprägung (< 20%), auf, kann aber auch durch erhöhte Ansammlung an metachromatischen Zellen und eosinophilen Granulozyten gekennzeichnet sein (Moore, Krakowka et al. 1995; Hare and Viel 1998; Nolen-Walston, Harris et al. 2013). Auch die Lungenfunktionsstörungen sind hier schwächer ausgeprägt und nie so weit fortgeschritten, dass sie sich in offensichtlicher Dyspnoe widerspiegeln (Couetil, Hoffman et al. 2007). Während die COB eine Erkrankung des älteren Pferdes ist, betrifft die IAD alle Altersgruppen, vor allem jedoch junge (< 2 Jahre) Tiere mit einer hohen Prävalenz unter Vollblütern (Allen, Tremaine et al. 2006; Wilsher, Allen et al. 2006; Couetil, Hoffman et al. 2007). Die genannten Spezifikationen der IAD lassen erkennen, dass, vor allem unter der Berücksichtigung von Zellzahl und sichtbarer Dyspnoe, eine Unterscheidung zwischen IAD und COB in Exazerbation gut möglich ist, sich die Abgrenzung zu Tieren in Remission durch, in diesem Fall weitreichende Überschneidungen klinischer und diagnostischer Befunde, hingegen als sehr schwierig erweist. Die einzige Möglichkeit allein klinisch die korrekte Diagnose zu stellen, wäre mittels Bronchoprovokation durch entsprechenden Allergenkontakt (Schimmelpilzsporen in trockenem Heu) und damit die potentielle Induktion einer akuten Exazerbation (Pirie 2014).

Therapeutisch wird bislang eine Haltungsoptimierung mit systemischer oder inhalativer Glukokortikoidtherapie über 2-4 Wochen empfohlen und je nach Symptomatik auch eine zusätzliche Behandlung mit Sekretolytika und/oder Bronchospasmolytika. Auch Mastzellstabilisatoren und Interferone haben sich als effektiv erwiesen (Hare, Viel et al. 1994; Moore, Horney et al. 2004; Couetil, Hoffman et al. 2007). Zusätzlich scheint eine Langzeitanwendung von Mastzellstabilisatoren bei IAD-Formen mit erhöhtem Mastzellanteil von Vorteil zu sein (Hoffman 1997). Allerdings ist anzumerken, dass für die Therapie der IAD noch verlässliche evidenz-basierte Studien fehlen (Couetil, Hoffman et al. 2007).

Eine weitere Erkrankung, die zu den chronischen Lungenerkrankungen des Pferdes zählt und differentialdiagnostisch mit in Betracht gezogen werden muss, ist die chronisch

interstitielle Pneumopathie. Die interstitiellen Pneumopathien stellen grundsätzlich ein heterogenes Krankheitsbild mit unterschiedlichen Ursachen (z.B. Virusinfektion, Inhalation von Noxen) dar, bei dem es in variabler Ausprägung, im Anschluss an eine akute exsudative Phase mit Alveolarnekrosen, durch proliferative Prozesse zu einer Fibrosierung des Lungengewebes kommt (Dungworth 1982).

Im Gegensatz zu den akuten progredient verlaufenden Formen, die in der Regel mit deutlichen respiratorischen Symptomen einhergehen, ist die chronische Verlaufsform oft schleichend und symptomlos oder mit nur geringgradigen Erkrankungsanzeichen vergesellschaftet, wobei ein häufiger Vorstellungsgrund der Pferde eine Leistungsschwäche ist (Buergelt, Hines et al. 1986; Dieckmann, Klein et al. 1990). Im Falle von apparenten klinischen Symptomen ist die Abgrenzung zu einer klassischen COB häufig schwierig (Winder and von Fellenberg 1987). So waren beispielsweise von 18 – histologisch sicher mit einer interstitiellen Pneumopathie diagnostizierten – Schlachtpferden in der Schweiz 8 Tiere laut Vorbericht und Klinik an COB erkrankt.

Die Diagnose der chronisch interstitiellen Lungenerkrankung stellt sich in der Regel durch eine charakteristische Kombination von Untersuchungsbefunden. Dazu zählen der typische Vorbericht, eine arterielle Normoxie, wenig gering bis mäßig visköser Schleim in der Trachea sowie eine deutlich erhöhter Makrophagenanteil im Tracheobronchialsekret (TBS) wie auch in der BALF und eine verschieden stark ausgeprägte diffuse Verschattung des gesamten Lungenfeldes (Winder and von Fellenberg 1987; Dieckmann, Klein et al. 1990; Fey and Grabner 2013). Therapeutisch sollte eine Kombination von Haltungsoptimierung und einer langen Belastungspause von bis zu drei Monaten sowie in jedem Fall auch eine Glukokortikoidtherapie über einen längeren Zeitraum (z.B. Prednisolon per os (p.o.) über mindestens 10 Tage) erfolgen (Dieckmann, Klein et al. 1990).

1.3 Vorkommen und Klinik

Die COB wird in der Literatur einheitlich als eine Erkrankung des älteren Pferdes beschrieben (McPherson, Lawson et al. 1979b; Dixon, Railton et al. 1995b; Lavoie 2007). Dabei liegen die durchschnittlichen Altersangaben für die größte Wahrscheinlichkeit des Erkrankens bei ≥ 4 (Couetil and Ward 2003), zwischen 6 und 10 Jahren (McPherson, Lawson et al. 1979b), ≥ 7 (Lavoie 2007) und ≈ 9 (Dixon, Railton et al. 1995b) Jahren, wobei mit zunehmendem Alter eine steigende Prävalenz vermerkt wird (McPherson, Lawson et al. 1979b; Couetil and Ward 2003; Hotchkiss, Reid et al. 2007). So stellten Couetil und Ward (2003) in einer retrospektiven Fall-Kontroll-Studie mit rund 1500 Tieren (aus Nord Amerika) heraus, dass bei Pferden, die ≥ 7 Jahre alt sind, eine 6-7x höhere Wahrscheinlichkeit besteht, an COB zu erkranken als mit ≤ 4 Jahren.

Grundsätzlich ist aber auch vereinzelt das Auftreten bei jungen Pferden ab etwa zwei Jahren möglich (Gerber 1973; McPherson, Lawson et al. 1979b).

II Literaturübersicht

Die weltweite Prävalenz in der Pferdepopulation liegt bei bis zu 50 % (Bowles, Beadle et al. 2002), variiert jedoch in Abhängigkeit von den Erdregionen. In warmen Gebieten, in denen die Pferde überwiegend draußen gehalten werden, wie beispielweise in Australien und Kalifornien, tritt die COB sehr selten auf, während in kälteren sowie stark urbanisierten Regionen, in denen Stallhaltung und Heufütterung stark verbreitet sind, das Vorkommen hingegen höher ist (Robinson, Derksen et al. 1996; Hotchkiss, Reid et al. 2007). Länderspezifisch schwanken die Zahlen zwischen 7 % in Nordamerika (Larson and Busch 1985), 14 % in Großbritannien (Hotchkiss, Reid et al. 2007) und 54 % in der Schweiz (Bracher, von Fellenberg et al. 1991), wobei bei letzterem zu berücksichtigen ist, dass aufgrund der Kriterien zur Diagnosestellung andere entzündliche Erkrankungen der Atemwege nicht ganz ausgeschlossen werden können. Allerdings deckten, ebenfalls in der Schweiz durchgeführte, post mortem Untersuchung von 100 Schlachtpferden mit 37,4 % eine ähnlich hohe Zahl für die Prävalenz der Erkrankung auf (Winder and von Fellenberg 1987; Robinson, Derksen et al. 1996). In den Niederlanden liegt der Anteil der an COB erkrankten Tiere sogar bei 79% (Gerber 2013).

Neben diesen regionalen Unterschieden in Bezug auf das Krankheitsvorkommen gibt es zusätzlich noch Häufungen, was das klinische Auftreten der COB betrifft. So werden in den Wintermonaten sowie im Herbst und Frühling vermehrt Tiere mit respiratorischer Symptomatik dem Tierarzt vorgestellt und als an COB erkrankt eingestuft (Couetil and Ward 2003; Hotchkiss, Reid et al. 2007).

In Bezug auf die Geschlechter- und Rasseverteilung existieren in der Literatur unterschiedliche Angaben. In der Regel scheinen beide Geschlechter und alle Rassen gleichermaßen betroffen zu sein (Dixon, Railton et al. 1995b; Lavoie 2007). Jedoch gibt es auch Studien, die über ein gehäuftes Vorkommen bei zum Beispiel Vollblütern (Couetil and Ward 2003) oder Ponys berichten (McPherson, Lawson et al. 1979b). Bei letzteren spielte aber eine erhöhte Allergenexposition durch qualitativ schlechtes Futter und Einstreu in der Ponypopulation eine Rolle. Auch wenn in Einzelfällen eine Geschlechterdominanz bezüglich der Erkrankungswahrscheinlichkeit besteht, weisen die meisten Studien eine ausgeglichene Verteilung der Erkrankungswahrscheinlichkeit von männlichen und weiblichen Tieren auf (Couetil and Ward 2003; Lavoie 2007).

Das klinische Bild der COB ist in Form und Ausprägung sehr variabel. Die Intensität der Symptome hängt dabei von dem Krankheitsstatus des Tieres ab. So ist der Wechsel von akuten Exazerbationsphasen und klinisch milden bis inapparenten Remissionsphasen ein Charakteristikum der COB.

Wenn sich das Pferd in Remission befindet, erscheint es in Ruhe häufig als klinisch gesund. Erst bei Belastung kann eine Leistungsintoleranz auffallen, die sich durch schnelles Schwitzen, schnelle Ermüdung, herabgesetzten Leistungswillen, verstärkte Atemarbeit und anschließend verzögerte Normalisierung der Atemfrequenz bemerkbar machen kann. Husten tritt in dieser Phase häufig zu Beginn der Arbeit oder auch beim Fressen auf.

II Literaturübersicht

Auskultatorisch lassen sich meist nur bei forcierter Atmung, induziert durch beispielsweise eine CO₂-Rückatmung, abnorme Lungengeräusche feststellen (Lavoie 2007).

Die Exazerbationsphase stellt die akute Phase dieser chronischen Atemwegserkrankung dar. In diesem Stadium zeigen die Pferde deutliche Symptome, die die ablaufende Entzündungsantwort in den Atemwegen mit resultierender Hypersekretion, Atemwegsobstruktion- und hyperreagibilität widerspiegeln (Pirie 2014). Dies äußert sich klinisch in inkonsistentem Nasenausfluss (serös, seromukös, mukös oder mukopurulent), Husten, forcierter Atmung, gekoppelt mit einer Erhöhung der Atemfrequenz sowie Leistungsintoleranz oder -verweigerung, wobei die Intensität entsprechend variiert.

Die forcierte Atmung als Zeichen von Dyspnoe kann sich expiratorisch in einer bi-phasigen abdominal betonten Atemtätigkeit und inspiratorisch in geblähten Nüstern und einsinkenden Interkostalräumen äußern sowie einer atemsynchronen Ein- und Auswärtsbewegung des Afterkegels, der sogenannten Afteratmung. Zusätzlich wird von manchen Tieren eine gestreckte Kopf-Hals-Haltung eingenommen.

Die lang andauernden und erschwerten Ausatmungsphasen über einen langen Zeitraum führen zu einer äußerlich sichtbaren Hypertrophie des *Musculus obliquus externus abdominis*, der sogenannten „Dampfrinne“ oder auch „heave-line“ und sind ein Indiz für die Chronizität der Erkrankung. Darüber hinaus kann es in schweren Fällen durch einen resultierenden erhöhten Energiebedarf zu deutlichem Gewichtsverlust kommen (Mazan, Deveney et al. 2004).

Auskultatorisch können neben verschärften Atemgeräuschen auch Hiemen und Giemen, Rasseln oder Knistern zu hören sein, wobei hier nicht zwingend ein Zusammenhang mit dem äußeren Bild besteht und der Auskultationsbefund auch „falsch“ negativ ausfallen kann und durch seine Subjektivität mit dem Untersucher variiert (Dixon, Railton et al. 1995b).

Die Lungenperkussion kann ein eventuell vorhandenes vergrößertes Lungenfeld aufdecken, was die Folge einer massiven Hyperinflation durch sogenanntes „air trapping“ und im schlimmsten Fall eines Lungenemphysems im Zuge der Atemwegsobstruktion ist (McPherson, Lawson et al. 1978; Dixon, Railton et al. 1995b; Pirie 2013).

1.4 Ätiologie und Pathogenese

Die Ursachen und Mechanismen der COB sind inzwischen schon in viele Richtungen detailliert erforscht und zum Teil bis auf molekularer Ebene aufgeschlossen. Dieser Abschnitt soll daher nur eine zusammenfassende Übersicht liefern.

Ätiologisch handelt es sich bei der COB um ein multifaktorielles Geschehen, bei dem genetische und immunologische Komponenten mit Umweltfaktoren interagieren (Lavoie 2009). Wie dem humanen Asthma wird auch der COB des Pferdes eine mit einer Bronchokonstriktion einhergehende Hyperreagibilität der Atemwege zugesprochen (Klein and Deegen 1986; Doucet, Vrins et al. 1991; Fairbairn, Lees et al. 1993; Leclere, Lavoie-

II Literaturübersicht

Lamoureux et al. 2011b). So zeigten Fairbairn and Lees et al. (1993), dass an COB erkrankte Pferde in Remission nach einer Antigenexposition durch Stroh und Heu stärker auf Metacholin, ein Acetylcholinderivat und somit direktes Parasympathomimetikum, reagierten als gesunde. Klein und Deegen (1986) untersuchten die Hyperreagibilität mittels Histamin-Inhalations-Provokations-Test (HIPT). Hierbei zeigten 25% mit milden Symptomen und 100% der schwer erkrankten Tiere eine positive Testantwort, die sich in einer Herabsetzung der Lungenfunktion widerspiegelte. Bei den gesunden Pferden blieb eine Reaktion hingegen aus.

Zu den Allergenen, die diese Hypersensitivitätsreaktion der Lunge auslösen können, zählen organische Bestandteile wie Schimmelpilzsporen, Aktinomyzeten, Milben und deren Fäzes sowie Endotoxine, aber auch anorganische Bestandteile und Schadgase wie Ammoniak und Methan (Clarke and Madelin 1987; Woods, Robinson et al. 1993; Hare, Viel et al. 1999; Robinson 2001; Pirie, Collie et al. 2003a; Lavoie 2007). Betroffen sind somit besonders Pferde aus dauerhafter Stallhaltung, die durch trockenes Stroh und Heu sowie durch Staubexposition aus der Umgebung ständig diesen Allergenen ausgesetzt sind (Woods, Robinson et al. 1993; McGorum, Dixon et al. 1993a; McGorum, Ellison et al. 1998; Lavoie 2007). In der Stallluft vorkommend und wesentlich beteiligt am Geschehen sind unter anderem die Schimmelpilzart *Aspergillus fumigatus* sowie die thermophilen Aktinomyzetenarten *Faenia rectivirgula* und *Thermoactinomyces vulgaris* (McPherson, Lawson et al. 1979a; Derksen, Robinson et al. 1988; Woods, Robinson et al. 1993; McGorum, Dixon et al. 1993a). Welchen Anteil die jeweilige Art an der pulmonalen Hyperreagibilitätsantwort hat, bleibt unklar. Bewiesen ist jedoch, dass viele verschiedene Komponenten zusammen eine größere Wirkung haben als einzelne und dass neben den drei genannten Organismen noch weitere Bestandteile in der Inspirationsluft eine Rolle spielen. So zeigte die Studie von McGorum et al. (1993) eine höhere Neutrophilie in der BALF von Pferden mit COB nach einer sogenannten „natural challenge“ (d.h. Kontakt mit Stroh oder Heu) als bei denen, die isoliert *F. rectivirgula* und *A. fumigatus* ausgesetzt wurden. Speziell die Endotoxine in Form von Lipopolysacchariden (LPS) scheinen hier eine weitere wesentliche Rolle zu spielen. Die Entzündungsantwort der Lunge fällt stärker aus, wenn ebendiese ein Bestandteil der Einatemungsluft sind (Pirie, Collie et al. 2003a; Pirie, Dixon et al. 2003b).

Darüber hinaus werden auch vorangegangene virale Infektionen, vor allem mit Influenza Viren, ätiologisch für die Entstehung der COB in Betracht gezogen (Gerber 1973; Thorsen, Willoughby et al. 1983; Hotchkiss, Reid et al. 2007). Während dieser Zusammenhang bei Hotchkiss et al. (2007) und Gerber (1973) epidemiologisch begründet ist und die Virusart nicht weiter spezifiziert wird, konnten Thorsen et al. (1983) signifikant höhere Antikörper-Titer gegen *Influenza A equine 1* in Serum und Mukus des Respirationstraktes von Pferden mit COB verglichen mit gesunden nachweisen.

Inzwischen ist auch bekannt, dass die Heritabilität bei der Entstehung der COB eine wesentliche Rolle spielt. Das Risiko der Nachkommen entsprechend zu erkranken, erhöht sich, wenn ein Elternteil erkrankt ist und ist noch größer, wenn beide Vorfahren betroffen

II Literaturübersicht

sind (Marti, Gerber et al. 1991; Gerber, Swinburne et al. 2008). Laut Gerber (2008) ist die Wahrscheinlichkeit hierfür entsprechend dreimal bzw. fünfmal größer. Molekulargenetische Studien an Halbgeschwister-Populationen konnten zudem eine signifikante Korrelation zwischen der phänotypischen Ausprägung der Erkrankung und den Equinen Chromosomen ECA13 und ECA15 sowie dem, auf ECA13 lokalisiertem, Interleukin-4-Rezeptor- α -Gen feststellen (Jost, Klukowska-Rotzler et al. 2007; Swinburne, Bogle et al. 2009).

Trotz der erblichen Komponente bleibt die COB des Pferdes eine multifaktorielle Krankheit, deren große Variabilität in der Ausprägung durch die komplexe Interaktion zwischen Genetik und Umwelt bedingt ist (Marti, Gerber et al. 1991; Ramseyer, Gaillard et al. 2007; Gerber, Baleri et al. 2009).

Die genannten ätiologischen Faktoren initiieren bei an COB erkrankten Pferden einen komplexen pathologischen Prozess, dem als zentraler Wirkmechanismus eine Entzündung der Atemwege in Form einer Bronchitis bzw. Bronchiolitis zugrunde liegt und der eine reversible Atemwegsobstruktion zur Folge hat (Robinson, Derksen et al. 1996; Lavoie 2007). Die Verengung der Luftwege ist bedingt durch Bronchospasmus, Ödematisierung der Schleimhaut und vermehrte Mukusansammlungen (Robinson, Derksen et al. 1996). Die übersteigerte Kontraktion der glatten Muskulatur der Bronchien wird vor allem parasympathisch über muskarinerge Rezeptoren gesteuert und durch Entzündungsmediatoren, wie beispielweise Serotonin, Histamin oder Leukotrien B₄ (LTB₄), ausgelöst (Olszewski, Robinson et al. 1999). Ein chronisch anhaltender Spasmus führt zu einer Hypertrophie und Hyperplasie der Myozyten, was die Obstruktion weiter verstärkt (Leclere, Lavoie-Lamoureux et al. 2011a). Durch eine Hyper- und Dyskrie, gekoppelt mit einer gestörten mukoziliären Clearance, kommt es zu der vermehrten Mukusakkumulation in den tiefen wie auch luftleitenden Atemwegen (Gerber, King et al. 2000; Gerber, Straub et al. 2004). Verantwortlich hierfür werden unter anderem eine Becherzellhyperplasie sowie -metaplasie (Lugo, Harkema et al. 2006; Range, Mundhenk et al. 2007) und eine erhöhte Expression des Muzin-Gens (eq)MUC5AC (Gerber, Robinson et al. 2003) gemacht.

Diese pathogenetischen Vorgänge resultieren letztendlich in einer Hypoventilation, einem gestörten Sauerstoffaustausch und der phänotypischen Ausprägung in Form von dem für die COB charakteristischen klinischen Bild, das bereits beschrieben wurde.

Grundlage für die im Mittelpunkt stehende Entzündungsreaktion in den Atemwegen ist ein komplexes Zusammenspiel zwischen verschiedenen Entzündungszellen, Zytokinen und anderen proinflammatorischen Faktoren, wobei der jeweilige Einfluss, die exakte Bedeutung und die genaue Interaktion der verschiedenen Komponenten noch nicht vollständig aufgeklärt ist.

Sicher ist, dass das angeborene und das erworbene Immunsystem gemeinsam an der Entstehung der Entzündungsreaktion beteiligt sind (Laan, Bull et al. 2006a) und dass bei letzterem die zu der Gruppe der Lymphozyten gehörenden (eq)CD4⁺-Zellen eine wesentliche Rolle spielen (McGorum, Dixon et al. 1993b; Kleiber, Grunig et al. 1999).

II Literaturübersicht

Die CD4+-Zellen stellen die sogenannten T-Helferzellen (Th-Zellen) dar, die sich in den Th1- und den Th2-Subtyp aufteilen. Der jeweilige Subtyp ist spezifisch für eine bestimmte Immunreaktion mit entsprechendem Zytokin- und Zellprofil, wobei aus der Th2-vermittelten Reaktion eine humorale und aus der Th1-vermittelten Reaktion eine zelluläre Immunantwort hervorgeht. Während beim humanen Asthma die Th2-Immunantwort vorherrscht (Holgate 2008), wird der jeweilige Einfluss von Th1- oder Th2-Zellen bei der COB in der Literatur kontrovers diskutiert (Lavoie 2007).

So konnte zum einen eine vermehrte zelluläre Expression von Zytokinen nachgewiesen werden, die für eine Th2-vermittelte Immunantwort sprechen, wie Interleukin (IL)-4 und IL-5 (Lavoie, Maghni et al. 2001; Bowles, Beadle et al. 2002; Cordeau, Joubert et al. 2004), zum anderen aber auch eine für eine Th1-Reaktion charakteristische Expression, wie die von IL-1 β , IL-8 und Interferon-gamma (IFN- γ) (Ainsworth, Grunig et al. 2003; Ainsworth, Wagner et al. 2006; Laan, Bull et al. 2006a). Zum Teil wurde diese Divergenz auch innerhalb einer Studie festgestellt (Giguere, Viel et al. 2002; Horohov, Beadle et al. 2005). So konnten Giguere et al. (2002) neben einem Anstieg der mRNA von IL-1 β , IL-8, IFN- γ und Tumornekrosefaktor-alpha (TNF- α) (Zytokine der Th1-Zellen) auch eine Erhöhung der IL-4 (Th2) mRNA messen. Horohov, Beadle et al. (2005) stellten die Hypothese auf, dass die kontroversen Forschungsergebnisse auf die heterogene Methodik der einzelnen Studien zurückzuführen sind und untersuchten mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR, Polymerase-Chain-Reaction) die Expression von IL-4, IL-5, IL-13 und IFN- γ bei COB Pferden zu verschiedenen Zeitpunkten. Die lymphozytäre Zytokinproduktion wurde vor dem Auftreten von klinischen Symptomen, während der akut symptomatischen Phase und noch einmal im folgenden asymptomatischen Stadium gemessen, wobei sich eine zeitlich und symptomatisch gekoppelte Variation in der Erhöhung von IL-4, IL-13 und IFN- γ zeigte. Diese Beobachtungen deuten darauf hin, dass beide T-Helferzelltypen die Immunantwort bei der COB beeinflussen, ihre jeweilige Dominanz jedoch von dem Krankheitsstatus und Probenentnahmezeitpunkt abhängt (Horohov, Beadle et al. 2005). Auch Pietra, Cinotti et al. (2011) konnten diese Hypothese zu einem späteren Zeitpunkt bestätigen (Pietra, Cinotti et al. 2011).

Neben den „klassischen“ CD4+ Zelltypen Th1 und Th2 gibt es auch noch den relativ neu entdeckten Th17-Typ, der unter anderem das proinflammatorisch und chemoattraktiv wirkende IL-17 exprimiert. In der Humanmedizin wurde eine Beteiligung dieses Subtyps mit seinem Zytokin bei asthmatischen Erkrankungen bereits bewiesen, was die zunehmende Annahme untermauert, dass das humane Asthma in Ätiologie, Pathogenese und Klinik sehr heterogen und nicht immer nur eine Th2-Reaktion mit vorherrschender Eosinophilie krankheitsprägend ist (Molet, Hamid et al. 2001; Cosmi, Liotta et al. 2011). Auch bei Pferden mit RAO scheint dieses Zytokin eine Rolle zu spielen, was eine erhöhte mRNA Expression von IL-17 in BALF bei exazerbierten Probanden zeigt (Debrue, Hamilton et al. 2005; Ainsworth, Wagner et al. 2006), wobei die genaue Einordnung in den pathologischen Kontext und die Beteiligung der Th17-Zellen noch unklar ist (Ainsworth, Wagner et al. 2006).

II Literaturübersicht

Neben den T-Lymphozyten sind auch andere, residente und transiente, Zellen des Respirationstraktes wie Epithel- und Endothelzellen, Makrophagen, Mastzellen und neutrophile Granulozyten an der Entzündungsantwort beteiligt. Dabei ist der zugrunde liegende Mechanismus immer ein Wechselspiel zwischen den verschiedenen Zellen in Bezug auf Expressierung, Freisetzung und Wirkung.

So besteht zum Beispiel eine Interaktion zwischen den residenten Lungenmakrophagen und transienten neutrophilen Granulozyten. Letztere stellen für die initiale Reizantwort und den weiteren inflammatorischen Prozess Schlüsselzellen dar. Die neutrophilen Granulozyten, die bereits 4h (Peak bei 7h) nach einer Allergenexposition in die Lunge eingewandert sind (Fairbairn, Page et al. 1993), werden unter anderem durch IL-8, IL-1 β , TNF- α und Macrophage Inflammatory Protein (MIP-2) chemotaktisch angelockt. Diese Zytokine werden neben den Th1-Zellen unter anderem auch durch Makrophagen exprimiert (Franchini, Gilli et al. 1998; Franchini, Gill et al. 2000; Laan, Bull et al. 2006a). Die aktivierten neutrophilen Granulozyten setzen schließlich selbst auch Entzündungsmediatoren in Form von Zytokinen frei (Joubert, Silversides et al. 2001) und wirken darüber hinaus durch Bildung von Histiotoxinen schädigend auf das Lungengewebe ein (Lavoie 2007). Zu den Histiotoxinen zählen unter anderem die sogenannten Reactive Oxygen Species (ROS), die zu Zellschädigung durch oxidativen Stress führen, was in der Exazerbationsphase der COB eine Rolle spielt (Art, Kirschvink et al. 1999).

Zusätzlich zu der Anregung der Zytokin-Ausschüttung durch ihresgleichen wird deren Bildung noch durch eine bei an COB erkrankten Tieren mehrfach erhöhte Aktivität des Transkriptionsfaktors Nuclear Factor kappaB (NF- κ B) verstärkt (Bureau, Bonizzi et al. 2000; Marti, Horohov et al. 2003). Die gesteigerte Faktoraktivität bedingt überdies eine verstärkte Expression des Intercellular Adhesion Molecule-1 (ICAM-1) durch die alveolären Epithelzellen, was für die Adhäsion der neutrophilen Granulozyten im Rahmen der Leukodiapedese entscheidend ist (Bureau, Bonizzi et al. 2000).

Diese enge Verknüpfung und das stetige Wechselspiel zwischen Entzündungszellen und -mediatoren verdeutlicht die Komplexität der immunologischen Vorgänge und lässt die Schwierigkeit, die in ihrer Entschlüsselung und Gewichtung der jeweiligen Bedeutung liegt, erahnen.

Neben den Makrophagen und neutrophilen Granulozyten sind auch die Mastzellen und eosinophilen Granulozyten am pathogenetischen Prozess der COB beteiligt, wobei letztere eher eine untergeordnete Rolle spielen (Fairbairn, Page et al. 1993; Lavoie 2007). Die Mastzellen hingegen sind mit ihrer Immunglobulin (Ig)-E-vermittelten Degranulation und insbesondere der damit einhergehenden Histaminfreisetzung maßgeblich an der Hyperreagibilität der Atemwege und deren Folgen beteiligt (McGorum, Dixon et al. 1993c; Hoffman, Mazan et al. 1998; Hare, Viel et al. 1999). In diesem Zusammenhang steht auch die Hypothese der Hypersensitivitätsreaktion vom Typ 1 als Ursache für die Hyperreagibilität der Atemwege, die von den Autoren mit dem Auftreten erhöhter IgE-Spiegel gegen bestimmte Pilzantigene in der BALF begründet wird (Halliwell, McGorum et al. 1993). Andere Autoren hingegen ziehen aufgrund fehlender unmittelbarer Sofort-Reaktion auf eine

Allergenexposition (<5h) eher eine Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp in Betracht (McGorum, Dixon et al. 1993c; Deaton, Deaton et al. 2007).

Als weitere Einflussfaktoren auf die Pathogenese der COB und hierbei insbesondere in Bezug auf die Veränderungen im Lungengewebe sind die Matrixmetalloproteasen (MMPs) zu nennen, eine Gruppe von zinkhaltigen Enzymen, die durch ihre proteolytischen Eigenschaften wesentlich am Umbau der extrazellulären Matrix inklusive der Basalmembran beteiligt sind (Raulo, Sorsa et al. 2006). Sie spielen hier in Form von Kollagenasen unter anderem als MMP-8 und MMP-13 (Koivunen, Maisi et al. 1997; Raulo, Sorsa et al. 2001a) und in Form von Gelatinasen als MMP-9 (Koivunen, Maisi et al. 1997; Raulo, Sorsa et al. 2001b) eine Rolle und werden von Epithelzellen, Makrophagen, neutrophilen Granulozyten und Lymphozyten exprimiert, was anhand von Immunassays gezeigt werden konnte (Raulo, Sorsa et al. 2001a; Raulo, Sorsa et al. 2001b). Nevalainen, Raulo et al. (2002) konnten einen direkten Zusammenhang zwischen dem Auslösen einer Hyperreaktivitätsreaktion durch Heu und Stroh, eine Hay Dust Suspension (HDS) und LPS bei Pferden mit COB und einer Erhöhung der MMP-9 Aktivität sowie ihrer Vorstufe, der pro-MMP-9, nachweisen. Die Erhöhungen waren dabei bereits 5 Stunden nach der Allergenexposition zu messen. Zudem zeigte sich eine positive Korrelation zwischen MMP und der Anzahl der neutrophilen Granulozyten in der BALF (Nevalainen, Raulo et al. 2002). Somit sind die MMPs nicht nur hinweisgebend auf einen pathologischen Gewebsumbau, sondern bieten auch Anhaltspunkte für ihren Gebrauch als Entzündungsmarker, insbesondere MMP-9, in der Diagnostik der COB (Raulo, Sorsa et al. 2001b; Nevalainen, Raulo et al. 2002).

Im Gegensatz zu all diesen weitreichenden Forschungsergebnissen über die pathogenetischen Mechanismen im Respirationstrakt, gibt es nur wenige Untersuchungen, die sich mit systemisch-plasmatischen Auswirkungen der COB beschäftigen, wobei auch hier vereinzelt physiologische Abweichungen vorhanden sind (Lavoie-Lamoureux, Leclere et al. 2012; Pirie 2014). Lavoie-Lamoureux, Leclere et al. (2012) untersuchten beispielsweise die Serumkonzentrationen verschiedener Akute-Phase-Proteine und Entzündungsmediatoren bei exazerbierten Pferden und gesunden Kontrolltieren zu verschiedenen Zeitpunkten. Dabei zeigten sich für die erkrankten Probanden signifikant höhere Konzentrationen für Haptoglobin sowie ein signifikant vermehrter SAA-Nachweis mit höherer Durchschnittskonzentration an Tag sieben nach Antigenkontakt. Veränderungen bei verschiedenen Entzündungsmediatoren konnten jedoch nicht festgestellt werden und auch eine Korrelation zwischen Lungenfunktion und Neutrophilenanzahl mit den veränderten Parametern blieb aus, weshalb die endgültige biologische Relevanz zu klären bleibt (Lavoie-Lamoureux, Leclere et al. 2012).

1.5 Pathomorphologische Veränderungen

Neben makroskopisch sichtbaren Merkmalen, wie vermehrter Blässe durch Hyperinflation als Folge von „air trapping“, Exsudat in den luftleitenden Atemwegen sowie vereinzelt bei

II Literaturübersicht

schweren Fällen auch interlobuläre und vesikuläre Emphyseme (Gerber 1973; Beech 1991) zeigen sich vor allem histomorphologisch Befunde, die mit einer Bronchiolitis und Peribronchiolitis gleichzusetzen und für die COB charakteristisch sind (Gerber 1973; Robinson, Derksen et al. 1996). Diese werden vor allem durch drei grundlegende Prozesse verursacht: Alteration und Proliferation von verschiedenen Zellen und Geweben sowie flüssige und zelluläre Exsudation bzw. Infiltration in das Interstitium oder Lumen betroffener Gebiete (Van den Ingh 1985).

Letzteres ist in möglichen entzündungsbedingten Permeabilitätsveränderungen peribronchialer und peribronchiolarer Kapillaren begründet (Van den Ingh 1985). Je nach Schwere der entzündlich bedingten Kapillarschädigung können dabei Plasmaproteine wie Albumin und Fibrinogen austreten, was zu einem Exsudat mit fibrinösem Charakter und histologisch nachweisbaren Fibrinogen- sowie Fibrinablagerungen führt (Van den Ingh 1985; Winder, Grünig et al. 1990; Kaup, Drommer et al. 1990b).

Die prominentesten histomorphologischen Befunde erstrecken sich auf die Bronchiolar – und Alveolarregion, wobei auch die luftleitenden Atemwege von morphologischen Veränderungen betroffen sein können (Kaup, Drommer et al. 1990a; Kaup, Drommer et al. 1990b). Dort lässt sich vor allem ein fokaler Verlust von zilienträgenden Epithelzellen und vereinzelt eine Zilienmalformation finden. Der Verlust der für die mukoziliäre Clearance so bedeutenden spezialisierten Zellen wird durch die Ausbildung undifferenzierter zilienloser hyperplastischer Epithelzellen kompensiert (Kaup, Drommer et al. 1990a). Weitere Befunde in dieser Region sind dilatierte Interzellularräume und Mastzellakkumulationen, die von Kaup, Drommer et al. (1990a) als Ausdruck einer unspezifischen Hypersensibilitätsreaktion gewertet werden.

Die histomorphologischen Veränderungen in den terminalen Atemwegen sind geprägt durch einen chronischen Entzündungsprozess und erstrecken sich von den Bronchiolen bis auf die Alveolarregion (Van den Ingh 1985; Kaup, Drommer et al. 1990b; Nyman, Lindberg et al. 1991; Naylor, Clark et al. 1992; Robinson, Derksen et al. 1996).

Charakteristisch ist hier, neben intraluminalen Mukusansammlungen mit oder ohne neutrophile Granulozyten und Zelltrümmern, vor allem eine bronchioläre und peribronchioläre Infiltration mit mononuklearen Entzündungszellen, vorwiegend lymphoplasmazellulärer Natur, selten mit Eosinophilen (Winder and von Fellenberg 1987; Kaup, Drommer et al. 1990b; Naylor, Clark et al. 1992). Weniger regelmäßig treten – insbesondere bei mittelgradig und hochgradig erkrankten Tieren – auch peribronchioläre Fibrosen auf, die sich bis auf die anliegenden Alveolarsepten erstrecken und dort zu Septenverdickungen führen (Winder and von Fellenberg 1987; Kaup, Drommer et al. 1990b; Setlakwe, Leclere et al. 2009). Frühe Stadien von Fibrosen wurden indes von Kaup, Drommer et al (1990b) einheitlich bei allen hochgradig erkrankten Tieren gefunden. Zudem zeigten sich hier bei mildereren Formen der COB bereits charakteristische Vorläufer eines Fibrosierungsprozesses in Form von proteinreichen Ödemen in den Alveolarsepten, Kollagenen, elastischen Fasern und verschiedenen Bindegewebszellen (Kaup, Drommer et al. 1990b). Setlakwe, Leclere et al. (2009) konnten bei an COB erkrankten Pferden einen nahezu zweifach erhöhten

II Literaturübersicht

Kollagengehalt in den superepithelialen Bereichen der peripheren Atemwege verglichen mit gesunden Kontrolltieren zeigen. Diese Fibrosen waren dabei in der Remissionsphase und nach einer induzierten Exazerbation unverändert und korrelierten überdies mit Lungenfunktionsmessungen. Dies liefert deutliche Indizien dafür, dass sich im Zuge der Chronizität der Erkrankung persistierende Fibrosen bilden, die maßgeblich an einer permanenten Lungenfunktionsstörung beteiligt sind (Setlakwe, Leclere et al. 2009).

Zusätzlich kommt es, wie in den proximaler gelegenen Bereichen, zu gravierenden Epithelveränderungen in Form von Becherzellhyper- und -metaplasie, Basalzellhyperplasie sowie Metaplasie der Clara-Zellen mit Granulationsverlust (Winder and von Fellenberg 1987; Kaup, Drommer et al. 1990b; Nyman, Lindberg et al. 1991; Naylor, Clark et al. 1992; Range, Mundhenk et al. 2007). Die Becherzellhyperplasie kann sich zuweilen auf Bronchien und Trachea ausweiten (Range, Mundhenk et al. 2007).

Im Bereich der Alveolen äußern sich die Epithelveränderungen in Nekrosen der, die Blut-Luft-Schranke bildenden und damit für den Gasaustausch wesentlich verantwortlichen, Pneumozyten vom Typ I. Deren Fehlen wird durch eine Proliferation von – für die Surfactantbildung verantwortlichen – Typ II Pneumozyten kompensiert (Kaup, Drommer et al. 1990b). In emphysematösen Bereichen konnte darüber hinaus noch eine Vermehrung der sogenannten Kohn-Poren festgestellt werden (Kaup, Drommer et al. 1990b).

Eine weitere Zellgruppe, die im Laufe des chronischen Erkrankungsprozesses deutliche morphologische Veränderungen aufweisen, sind die Myozyten. So weisen die peripheren Atemwege bei an COB erkrankten Pferden signifikante Massenzunahmen der glatten Muskulatur auf (Herszberg, Ramos-Barbon et al. 2006; Leclere, Lavoie-Lamoureux et al. 2011a). Ursächlich hierfür ist neben einer Hypertrophie vor allem eine Gewebshyperplasie mit hoher Apoptose- und Proliferationsrate (Herszberg, Ramos-Barbon et al. 2006; Leclere, Lavoie-Lamoureux et al. 2011a).

All die genannten pathomorphologischen Veränderungen der verschiedenen Zellen und des umgebenden Parenchyms können unter dem Begriff „Airway Remodeling“ zusammengefasst werden und sind letzten Endes, zusammen mit resultierenden Mukusakkumulationen, für eine Lumenreduktion der Atemwege, eine Reduktion von Compliance und Resistance, eine gestörte mukoziliäre Clearance sowie eine verminderte Gasaustauschfähigkeit der Lunge verantwortlich (Lavoie 2007). Dieser Gewebsumbau scheint in einem gewissen Maße irreversibel und auch bei optimierter Haltung und klinisch gesunden Pferden persistent und für eine dauerhaft eingeschränkte Lungenfunktion verantwortlich zu sein (Miskovic, Couetil et al. 2007; Setlakwe, Leclere et al. 2009).

Außerdem ist an dieser Stelle noch kurz die morphologische Veränderung des für die Lungenfunktion so bedeutenden Surfactant zu nennen. Untersuchungen von verdünntem wie auch unverdünntem Tracheobronchialsekret von Pferden mit chronischen Bronchitiden deckten eine mit dem Schweregrad der Erkrankung positiv korrelierende, signifikante Veränderung der Phospholipidzusammensetzung dieses Faktors auf (Jahn and Deegen 1985). Diese Bildungsstörung wird unter anderem von den Autoren mit der oben

aufgeführten pathologischen Vermehrung der Typ II Pneumozyten und ihrer verstärkten Freisetzung von unreifem Surfactant erklärt (Jahn and Deegen 1985; Kaup, Drommer et al. 1990b). Auch Christmann, Welles et al. (2008) konnten bei BALF-Analysen signifikante Veränderungen in der Surfactant-Zusammensetzung bei Pferden mit klinischer RAO feststellen.

1.6 Diagnostik

Zu der Diagnosestellung der COB können, neben einer ausführlichen Anamneseerhebung und einer allgemeinen und speziellen klinischen Untersuchung, auch weiterführende Untersuchungsmethoden zur Evaluierung mit herangezogen werden. Dazu zählen eine arterielle Blutgasanalyse, ein Belastungstest, Lungenfunktionsmessungen, eine Bronchoskopie mit Tracheobronchialsekretentnahme oder bronchoalveolärer Lavage inklusive Zytologie und eine radiologische Untersuchung des Thorax.

Die Erhebung und übergreifende Interpretation mehrerer Parameter ist dabei von enormer Bedeutung, da sich eine genaue Differenzierung zwischen verschiedenen entzündlichen Atemwegserkrankungen zum Teil als schwierig erweist (Couetil, Rosenthal et al. 2001; Kutasi, Balogh et al. 2011).

Die Evaluation anhand der Klinik allein deckt zwar relativ zuverlässig die COB in Exazerbation auf, lässt jedoch häufig keine sichere Unterscheidung zwischen COB in Remission, IAD und gesunden Pferden zu, da hier eine Überlappung der Symptomart und -stärke besteht bzw. ebendiese auch fehlen können (Couetil, Rosenthal et al. 2001) und eine präsenzte, klinisch jedoch inapparente Obstruktion der tiefen Atemwege unentdeckt bleiben kann (Robinson, Olszewski et al. 2000).

Überdies ermöglicht die Hinzunahme weiterer diagnostischer Methoden eine objektivierte Befunderhebung und Klassifizierung des Krankheitsgrades und dadurch auch eine gute Kontrolle und Beurteilung von Krankheitsverlauf und Therapieerfolg des Patienten (Tesarowski, Viel et al. 1996; Pirie 2014). Validierte Scoring-Systeme helfen bei solch einer objektiven Einstufung (Ohnesorge, Trötschel et al. 1998; Robinson 2001). Tilley, Sales Luis et al. (2012) haben hierfür ein relativ umfassendes Modell entwickelt, das klinische, endoskopische, röntgenologische und zytologische Befunde mit einschließt und damit eine differenziertes Staging von COB-Pferden ermöglicht (Tilley, Sales Luis et al. 2012).

Im Folgenden soll nun kurz auf einzelne weiterführende Untersuchungsmethoden eingegangen werden.

Einen Teil davon stellen die Lungenfunktionsmessungen dar. Lange Zeit war die Ermittlung von Messgrößen wie Lungenwiderstand (R_L), dynamische Compliance (C_{dyn}), Atemarbeit und maximale Interpleuraldruckdifferenz (ΔP_{plmax}) mittels der Interpleuraldruckmessung in Kombination mit pneumotachographischen Aufzeichnungen eine gebräuchliche Methode zur Evaluierung der mechanischen Funktionalität der Lunge. Aufgrund ihrer relativ hohen Invasivität und geringen Sensitivität wurden jedoch zunehmend andere Verfahren, wie

II Literaturübersicht

beispielsweise die Messung des forcierten expiratorischen Volumens (FEV) mittels Spirometrie, die volumetrischen Kapnographie oder die Impulsoszillometrie für den Einsatz beim Pferd validiert (Herholz, Gerber et al. 2003; van Erck, Votion et al. 2004; Pirie 2014). Diese Methoden machen unter anderem eine Unterscheidung zwischen gesunden Pferden und Pferden in Remission möglich (Herholz, Gerber et al. 2003) und lassen auch schon frühzeitige Lungenfunktionsstörungen bei subklinischen Fällen von IAD erkennen (Richard, Fortier et al. 2009).

Darüber hinaus findet die Lungenfunktionsmessung ihren Einsatz bei der Durchführung von Bronchoprovokationstests. Hierbei werden den Probanden definierte Konzentrationen von beispielsweise Histamin oder Metacholin über die Atemwege zugeführt und anschließend wird anhand den gemessenen Veränderungen in der Lungenfunktion die unspezifische Reagibilität der Atemwege eingeschätzt (Klein and Deegen 1986; Fairbairn, Lees et al. 1993; Mazan, Hoffman et al. 1999).

In engem Zusammenhang mit den mechanischen Lungenfunktionsstörungen stehen die Gasaustauschstörungen der Lunge, die durch die arterielle Blutgasanalyse in die Routinediagnostik der COB mit einfließen, wobei das besondere Augenmerk hier auf dem arteriellen Sauerstoffpartialdruck (paO_2), dem arteriellen Kohlendioxidpartialdruck ($paCO_2$), der alveolo-arteriellen Sauerstoffpartialdruckdifferenz ($A-aDO_2$) und dem Säure-Basen-Status (Bikarbonat (HCO_3^-), pH, Base Excess (BE)) liegt. Diese Parameter sind zwar relativ einfach zu bestimmen, allerdings auch zum Teil recht variabel, was zu Fehlinterpretationen in Bezug auf die Gasaustauschfähigkeit der Lunge führen kann (Dixon, Railton et al. 1995c). Es empfiehlt sich daher, mehrere Proben zeitgleich und über mehrere Tage auszuwerten.

Analysen des Ventilations-Perfusionsverhältnisses mittels Szintigraphie (Votion, Ghafir et al. 1999) oder der Multiple-Inertgas-Eliminationstechnik (MIGET) (Nyman, Bjork et al. 1999) lassen eine sensitivere und zudem genau lokalisierte Beurteilung von Gasaustauschstörungen zu, sind jedoch aufwendig und in praxi noch nicht etabliert.

Allgemein unterliegt die Lungenfunktion tageszeitlichen Schwankungen (Deegen, Stadler et al. 1985; Stadler and Deegen 1986), was in der Klinik bei der Interpretation von Messergebnissen und in der Forschung beim Studiendesign beachtet werden sollte (Deegen, Stadler et al. 1985). Deegen, Stadler et al. (1985) konnten zeigen, dass für die Funktionsparameter Compliance, Resistance, Atemarbeit und arteriellem paO_2 ein signifikanter sinusförmiger Verlauf über 24h mit einem Optimum zwischen 6:00 und 13:00 Uhr und einem Pessimum zwischen 18:00 und 01:00 Uhr besteht.

Ein hilfreiches und in der Klinik regelmäßig angewandtes Diagnostikum ist die endoskopische Untersuchung der Atemwege, dessen Bedeutung in der guten Korrelation zwischen den dabei erhobenen Befunden und einer vorhandenen Atemwegsentszündung begründet ist (Koblinger, Nicol et al. 2011; Kutasi, Balogh et al. 2011).

Dabei werden – in der Regel anhand von Scoring-Systemen – insbesondere Mukusansammlungen und -beschaffenheit, Schleimhautverdickung und -rötung, Schwellung der Carina und ein eventueller dynamischer Bronchialkollaps beurteilt (Dieckmann 1987; Gerber, Straub et al. 2004). Die jeweiligen Parameter gehen dabei mit einer

II Literaturübersicht

unterschiedlichen Sensitivität einher. Die Beurteilung der Mukusmenge zeigt in diesem Fall die höchste Reproduzierbarkeit und Verlässlichkeit bezüglich der Diagnosestellung (Gerber, Straub et al. 2004; Koblinger, Nicol et al. 2011). Allerdings ist zu beachten, dass tracheale Schleimansammlungen nicht ausschließlich COB-spezifisch sind (Dixon, Railton et al. 1995c; Gerber, Straub et al. 2004) und die Abwesenheit ebensolcher eine Entzündung der tiefen Atemwege nicht ausschließt (Koblinger, Nicol et al. 2011).

Weniger sensitiv ist hingegen die Beurteilung der Schwellung der Carina. Während Koblinger, Nicol et al. (2011) eine gute Korrelation mit dem Grad der Atemwegsentszündung zeigten, konnten Koch, Straub et al. (2007) keinen signifikanten Zusammenhang hierzu feststellen, wohl aber zum Alter der Tiere (signifikant höhere Messwerte bei Pferden > 10 Jahren) (Koch, Straub et al. 2007; Koblinger, Nicol et al. 2011).

Ein weiteres diagnostisches Tool mit großem Nutzen stellt die Gewinnung und zytologische Untersuchung von Tracheobronchialsekret und bronchoalveolärer Lavageflüssigkeit allein oder in Kombination dar, wobei die Untersuchung des TBS zwar einen Überblick über den Entzündungsstatus der Atemwege gibt, jedoch eine große Variabilität mit sich bringt und zum Teil nicht mit den Befunden aus der BALF korreliert (Derksen, Brown et al. 1989; May 2009). Die Auswertung von Lavageflüssigkeit gilt hier als sensitiver und besitzt eine hohe Aussagekraft für die Art und Schwere der Entzündung in den tiefen Atemwegen (Derksen, Brown et al. 1989; Fey 2005; Hoffman 2008). Grundsätzlich ist für die BALF-Zytologie eine Probe aus einem Bronchialsegment ebenso wie nur ein zurückgewonnener Anteil der gesamten instillierten Flüssigkeit repräsentativ für die gesamte Lunge (Sweeney, Rossier et al. 1992; McGorum, Dixon et al. 1993f; Pickles, Pirie et al. 2002a; Jean, Vrins et al. 2011) und die transendoskopische wie auch die „blinde“ Probenentnahme stellen diagnostisch gleichwertige Vorgehensweisen dar (Wehrl, Feige et al. 2000). Zudem besitzt diese Untersuchungsmethode eine gute Reproduzierbarkeit über einen längeren Zeitraum, was neben ihrem Nutzen in der Differentialdiagnostik entzündlicher Atemwegserkrankungen auch die Relevanz für ein Monitoring von Krankheits- und Therapieverlauf unterstreicht (Jean, Vrins et al. 2011).

Die radiologische Untersuchung der Lunge wird in der Regel seltener angewendet und dient vor allem dem Ausschluss anderer Pathologien, wie abszedierenden Pneumonien oder Neoplasien, kann aber auch zusätzlichen Aufschluss über das Krankheitsbild der COB geben. So können unter anderem bronchiale und/oder interstitielle Zeichnungen, von Hyperinflation betroffene oder emphysematöse Bereiche sowie Bronchiektasien hinweisend auf Art und Schwere der Erkrankung sein (Ainsworth 2010; Tilley, Sales Luis et al. 2012).

Weiterhin werden im Rahmen der Diagnostik häufig intradermale Allergietests mit aufgeführt, die jedoch von untergeordneter Bedeutung sind, da sie sehr konträre Ergebnisse liefern und als unzuverlässig für die Diagnosestellung der COB wie auch für die Spezifizierung des Antigens gelten (Evans, Paradis et al. 1992; Lorch, Hillier et al. 2001).

Schließlich ist als mögliches Diagnoseverfahren noch die Lungenbiopsie zu erwähnen, die ein detailliertes und differenziertes Bild über die spezifische Lungenpathologie liefert und

somit vor allem bei schwierigen Diagnosestellungen, wie der interstitiellen Pneumopathie eingesetzt wird (Fey 2005).

1.7 Therapie

Die Therapie der COB stellt eine Kombinationstherapie aus Haltungsoptimierung und medikamentöser Behandlung dar, welche sich stark nach dem jeweiligen Krankheitsstatus des Patienten richtet und individuell zu gestalten ist. Das Ziel ist vor allem eine Bekämpfung der für Pathogenese und Klinik ausschlaggebenden Entzündungsreaktion in den tiefen Atemwegen sowie darüber hinaus das Erreichen einer Bronchospasmolyse und/oder Sekretolyse (Pirie 2014).

Der zentrale Punkt des gesamten Therapiekonzeptes und in jedem Fall unabdingbar ist die Verbesserung der Lufthygiene und damit die Reduzierung entsprechender Allergene in der Umgebung des Patienten (Jackson, Berney et al. 2000; Couetil, Chilcoat et al. 2005). Dies kann zum einen durch dauerhafte Weidehaltung geschehen und zum anderen auch durch den Austausch von Stroh und Heu durch zum Beispiel Sägespäne und Heulage oder eingeweichtes Heu, was beides erwiesenermaßen zu einer signifikanten Verminderung der Staubpartikel in der Atemluft führt (Clements and Pirie 2007a; Clements and Pirie 2007b). Auf dieser Basis kann dann eine auf die Symptome abgestimmte, medikamentöse Therapie erfolgen. Fey and Ohnesorge (2009) haben hierfür eine sogenannte Stufentherapie formuliert, wonach an erster Stelle die Haltungsoptimierung mit optionaler Bronchospasmolyse und/oder Sekretolyse steht. Erfolgt innerhalb von zwei Wochen damit keine Besserung wird als nächster Schritt eine zusätzliche Glukokortikoidgabe und schließlich, bei weiter anhaltender Symptomatik, als ultima ratio Maßnahme eine Lungenspülung empfohlen. Jeder Therapiestufe geht dabei selbstverständlich eine eingehende Untersuchung voraus, die zunehmend detailliertere Diagnostik mit einschließt (Fey and Ohnesorge 2009).

Im Folgenden soll nun auf die gebräuchlichsten Therapeutika näher eingegangen werden. Wie schon erwähnt, ist die Reduktion der Entzündungsreaktion essentiell. Die für diese Indikation sonst häufig eingesetzten nichtsteroidalen Antiphlogistika (NSAIDs) haben sich für die Behandlung der COB als wirkungslos erwiesen (Gray, Derksen et al. 1989; Lavoie 2007). Im Gegensatz dazu zeigen Glukokortikoide einen sehr guten antiinflammatorischen Effekt in den tiefen Atemwegen mit nachweisbarer klinischer Verbesserung und sind dadurch für die Therapie der COB von essentieller Bedeutung (van der Velden 1998; Ainsworth and Hackett 2004). Zwar beeinflussen beide Wirkstoffgruppen den bei der COB veränderten Arachidonsäurestoffwechsel, greifen jedoch hierbei auf verschiedenen Stufen ein. So hemmt die Gruppe der NSAIDs lediglich die Cyclooxygenase, deren Abbauprodukte nicht ausschlaggebend für die Pathogenese der Erkrankung zu sein scheinen (Gray, Derksen et al. 1989; Watson, Sweeney et al. 1992). Die Glukokortikoide hingegen verhindern schon die Arachidonsäurebildung an sich und damit die Bildung aller aus dieser Stoffwechselkaskade

II Literaturübersicht

hervorgehenden Produkte inklusive der Leukotriene. Diese spielen eine zentrale Rolle im Pathomechanismus der COB, insbesondere durch ihre bronchokonstriktorische Wirkung, aber auch durch Erhöhung der Gefäßpermeabilität und Mukusproduktion (Lavoie, Leguillette et al. 2002). Zusätzlich beeinflussen die Glukokortikoide über intrazelluläre Rezeptoren die Synthese verschiedener Zytokine. Dies geschieht indirekt über die Hemmung von Transkriptionsfaktoren wie beispielsweise NF- κ B (van der Velden 1998; Leguillette 2003). Einzelheiten hierzu wurden bereits im Kapitel II, Abschnitt 1.4 „Ätiologie und Pathogenese“ aufgeführt.

Diese genannten Eigenschaften erklären den großen unabdingbaren Nutzen dieser Wirkstoffklasse bei der Therapie der COB.

Bei der Anwendung der Glukokortikoide ist eine systemische (enterale wie parenterale) sowie inhalative Applikation möglich. Die häufigsten systemisch eingesetzten Glukokortikoide sind das Prednisolon und das Dexamethason, wobei Letzteres intravenös verabreicht die schnellste und größte Wirkung (Verbesserung der Lungenfunktion innerhalb von 2h mit Peak bei 4-6 h bei einer Dosierung von 0,1mg/kg Körpergewicht(KGW)/24h) zeigt und daher bei akuter Exazerbation mit starker Dyspnoe anderen Möglichkeiten vorgezogen werden sollte (Cornelisse, Robinson et al. 2004). Zusätzlich kann mit der parenteralen Dexamethasongabe eine signifikante Reduktion der neutrophilen Granulozyten in der BALF erreicht werden, was aufgrund der Bedeutung dieses Zelltyps in der Pathogenese der COB von Vorteil ist (Robinson, Jackson et al. 2002). Die orale Anwendung von Dexamethason (0,05-0,164 mg/kg KGW/24h) geht zwar mit einem etwas verzögerten Wirkungseintritt einher, ist jedoch bei präprandialer Gabe ebenso effektiv mit zum Teil verlängerter Wirkungsdauer (Cornelisse, Robinson et al. 2004; Leclere, Lefebvre-Lavoie et al. 2010). Das ausschließlich enteral zu verabreichende Prednisolon hat eine etwas schwächere Wirkung und empfiehlt sich vor allem für die Langzeittherapie der COB (max. 1,5 mg/kg KGW ausschleichend über 6 Wochen) (Fey and Ohnesorge 2009). Hier ist darauf hinzuweisen, dass die Vorstufe Prednison aufgrund ihrer schlechten Bioverfügbarkeit und der mangelnden Metabolisierung in der Leber beim Pferd für eine adäquate Behandlung nicht geeignet ist (Peroni, Stanley et al. 2002).

Weniger gebräuchliche Glukokortikoide sind das Isoflupredon und das Triamcinolon. Das Isoflupredon zeigt bei einer Dosierung von 0,03 mg/kg KGW/24h zwar eine vergleichbare Wirkung wie das Dexamethason (0,04 mg/kg KGW/24h), ist jedoch auch mit einem größeren mineralokortikoiden Effekt verbunden, der sich in einer Hypokaliämie widerspiegelt (Picandet, Leguillette et al. 2003). Auch das Triamcinolon hat sich als effektiv für die COB-Therapie erwiesen. So konnte bei exazerbierten Patienten durch einmalige intramuskuläre Injektion (0,09 mg/kg KGW) eine signifikante Verbesserung der Lungenfunktion für bis zu fünf Wochen erreicht werden (Lapointe, Lavoie et al. 1993). Trotzdem ist dieses Medikament nicht für die Therapie der COB empfohlen, da es sich um ein Depot-Kortison handelt, bei dem die Langzeitwirkung auch eine größere Wahrscheinlichkeit für unerwünschte Arzneimittelwirkungen mit sich bringt (Lavoie 2007).

II Literaturübersicht

Mögliche Nebenwirkungen der systemischen Glukokortikoidgabe sind unter anderem adrenale Suppression, Hufrehe und bakterielle Pneumonie, weshalb sie vor allem bei Pferden mit Stoffwechselerkrankungen wie dem Equinen Metabolischen Syndrom (EMS) und dem Equinen Cushing Syndrom (ECS) kontraindiziert sind (Lavoie 2007; Niedermaier and Gehlen 2009).

Die inhalative Verabreichung hingegen bietet den Vorteil, lokal hohe Medikamentenkonzentrationen in der Lunge zu erreichen und dabei gleichzeitig die systemischen Glukokortikoideffekte weitestgehend zu umgehen (Duvivier, Votion et al. 1997). Mögliche Applikationsformen sind via Metered Dose Inhaler (MDI), Dry Powder Inhaler (DPI), Jet-Vernebler oder Ultraschallvernebler (Votion, Ghafir et al. 1997; Niedermaier and Gehlen 2009). Die Effizienz der Medikation ist dabei von mehreren Variablen, wie beispielsweise dem Atemtyp des Patienten, der Medikamentenformulierung, der „Verneblerart“ sowie der erreichten Partikelgröße (Optimum bei 1-5 µm), abhängig (Votion, Ghafir et al. 1997; Mevissen and Burgener 2010).

Als wirkungsvoll für die inhalative Glukokortikoidtherapie haben sich Beclomethason-dipropionat (3750 µg/Pferd/12h) (Ammann, Vrins et al. 1998; Rush, Raub et al. 1998), Fluticasonpropionat (2000-6000 µg/Pferd/12h) (Giguere, Viel et al. 2002; Robinson, Berney et al. 2009) und Budesonid (1,4 mg/Pferd/12h) (Kampmann 2001) erwiesen. Im Falle einer akuten Exazerbation (Robinson, Berney et al. 2009) oder bei hochgradig erkrankten Tieren (Kampmann 2001) ist eine isolierte inhalative Therapie jedoch meistens nicht ausreichend wirksam, da zum einen der Wirkungseintritt zu verzögert und schwach geschieht und zum anderen auch durch die bestehende Bronchokonstriktion schon per se nicht genügend Medikament bis in die tiefen Atemwege gelangt (Kampmann 2001; Robinson, Berney et al. 2009). In diesen Fällen kann eine vorangehende oder begleitende Gabe eines Bronchodilatators und/oder systemischen Glukokortikoids von Vorteil sein (Rush, Hoskinson et al. 1999; Pirie 2014). Besonders vor dem Hintergrund der minimalen systemischen (Neben)wirkungen von inhalativen Glukokortikoiden sind diese vor allem für die Langzeittherapie der COB und zur Prävention von Exazerbationsschüben gut geeignet (Robinson, Berney et al. 2009; Dauvillier, Felipe et al. 2011). Eine Langzeitstudie, bei der an COB erkrankte Pferde eine Fluticason-Inhalation über einen Zeitraum von elf Monaten erhielten, hat gezeigt, dass diese Therapieform langfristig weder Auswirkungen auf das Immunsystem in jeglicher Form, noch andere systemische Nebenwirkungen zur Folge hat (Dauvillier, Felipe et al. 2011).

Die mit der Entzündungsreaktion einhergehende Obstruktion der Atemwege ist bedingt durch luminale Mukusansammlungen, Ödematisierung der Schleimhaut und durch eine Bronchokonstriktion, die durch die Wirkung der Entzündungsmediatoren auf die glatte Muskulatur hervorgerufen wird. Letzterem kann, natürlich neben der Bekämpfung der Entzündung selbst, mit Bronchodilatoren entgegengewirkt werden. Diese greifen auf nervaler Ebene an, was eine Unterteilung in Sympathomimetika und Parasympatholytika mit sich bringt.

II Literaturübersicht

Erstgenannte finden ihre Anwendung in Form von β_2 -Adrenorezeptor-Agonisten und können systemisch (Clenbuterol) wie auch inhalativ (z.B. Salbutamol, Salmeterol) verabreicht werden.

Das Clenbuterol in seiner oralen Formulierung (0,8 $\mu\text{g}/\text{kg}/12\text{h}$, stufenweise bis 3,2 μg möglich) wird, mitunter auch durch entsprechende arzneimittelrechtliche Zulassung, am häufigsten angewandt (Erichsen, Aviad et al. 1994; Fey and Ohnesorge 2009). Der Wirkstoff hat neben seiner bronchodilatatorischen Wirkung noch einen antiinflammatorischen (Laan, Bull et al. 2006b; Laan, Bull et al. 2006c) sowie die Sekretkonsistenz und mukuziliäre Clearance begünstigenden (Turgut and Sasse 1989; Dixon 1992) Effekt. Die Anwendung über einen längeren Zeitraum führt allerdings zur Tachyphylaxie durch Down-Regulierung der β_2 -Rezeptoren und damit zu einer Wirkungsminderung, was beim Pferd anhand von Untersuchungen an lymphozytären β_2 -Adrenorezeptoren gezeigt werden konnte (Abraham, Brodde et al. 2002). Eine gleichzeitige oder vorangehende Gabe von Dexamethason verhindert bzw. beugt einer Desensibilisierung vor (Abraham, Brodde et al. 2002). Unerwünschte Arzneimittelwirkung von Clenbuterol werden durch die nichtselektive β_2 -Rezeptor Wirkung hervorgerufen und äußern sich beispielsweise in Schwitzen, Zittern und Nervosität, sind jedoch bei moderater Dosierung vernachlässigbar (Erichsen, Aviad et al. 1994).

Neben dem systemisch zu verabreichenden Clenbuterol gibt es für die β_2 -Sympathomimetika auch inhalativ wirksame Präparate, die man in schnell- bzw. kurzwirksame (Rapid Acting Beta Agonists, RABA bzw. Short Acting Beta Agonists, SABA – Salbutamol/Albuterol, Fenoterol, Terbutalin und Pirbuterol) und langwirksame (Long Acting Beta Agonists, LABA – Salmeterol und Formoterol) Beta-Agonisten einteilt (Hoffman 1997; Niedermaier and Gehlen 2009). So konnte beispielsweise durch Verabreichung von Albuterol (360 $\mu\text{g}/\text{Pferd}$) (Derksen, Olszewski et al. 1999), Fenoterol (1-2 mg/Pferd) (Tesarowski, Viel et al. 1994) oder Pirbuterol (600 $\mu\text{g}/\text{Pferd}$) (Derksen, Olszewski et al. 1996) eine signifikante Verbesserung der Lungenfunktion bei Pferden mit akuter Exazerbation innerhalb von etwa fünf bis zehn Minuten und einer Dauer von 1-6 Stunden erreicht werden. Mit Salmeterol (210 $\mu\text{g}/\text{Pferd}$), als Beispiel für ein LABA-Präparat, konnte eine Verbesserung der Lungenfunktion innerhalb von 15-30 Minuten und eine Wirkungsdauer von etwa sechs Stunden erzielt werden (Henrikson and Rush 2001). Beim Einsatz dieser Präparate ist jedoch zu beachten, dass sie für die Anwendung am lebensmittelliefernden Tier verboten sind.

Der andere Weg, die Bronchokonstriktion zu beeinflussen, ist über den Parasympathikus mittels Anticholinergika. Diese sind in der Regel potenter als die β_2 -Agonisten und daher in Einzelfällen diesen vorzuziehen. Auch hier besteht die Möglichkeiten der systemischen (Atropin, Glykopyrrolat) wie auch inhalativen (Ipratropiumbromid, Tiotropiumbromid) Verabreichung (Hoffman 1997). Das Atropin ist das klassische systemisch eingesetzte Anticholinergikum und findet wegen seiner hohen Potenz und dem schnellen Wirkungseintritt vor allem bei Notfällen mit starker akuter Dyspnoe seinen Einsatz (0,01-0,015 mg/kg KGW, intravenös (i.v.)) und sollte wegen seinen weitreichenden Nebenwirkungen (u.a. Ileus, Tachykardie, Mydriasis, zäherer Schleim) auch dieser Indikation vorbehalten sein (Pearson

II Literaturübersicht

and Riebold 1989; Fey and Ohnesorge 2009; Pirie 2014). Mit geringeren Nebenwirkungen, jedoch vergleichbarer Potenz einhergehend hat sich das bisher überwiegend zur gastrointestinalen Spasmyolyse und Tokolyse eingesetzte N-Butylscopolamin (0,3 mg/kg KGW) erwiesen, was daher als Alternative zu dem üblichen Atropin-Einsatz mit in Betracht gezogen werden sollte (Couetil, Hammer et al. 2012; de Lagarde, Rodrigues et al. 2014; Pirie 2014). Als inhalatives Anticholinergikum hat sich vor allem das schnell wirksame Ipratropiumbromid (600-1200 µ/kg KGW) als effektiv gezeigt, wobei der Vorteil in der Anwendung neben der Reduktion von Nebenwirkungen auch in der verlängerten Wirkungsdauer (4-6 h vgl. mit 2 h bei Atropin) liegt (Robinson, Derksen et al. 1993; Duvivier, Votion et al. 1997). Ipratropiumbromid steht, im Gegensatz zum Tiotropium, auf der Positivliste für Equiden und kann somit auch beim Schlachtpferd eingesetzt werden.

Auch die Gruppe der Methylxanthine (Theophylline, Theobromin, Koffein) wirkt über eine Phosphodiesterase-Inhibierung und folgender intrazellulärer cAMP (zyklisches Adenosinmonophosphat)-Erhöhung sympathomimetisch sowie darüber hinaus mastzellstabilisierend. Sie werden jedoch aufgrund ihrer unerwünschten Arzneimittelwirkungen und einer geringen therapeutischen Breite eher nicht für die Therapie der COB eingesetzt (Pearson and Riebold 1989; McKiernan, Koritz et al. 1990; Lavoie 2007). Für die an der Atemwegsobstruktion beteiligte Mukusakkumulation ist neben der verringerten mukuziliären Clearance auch eine Hyper- und Dyskrie mitverantwortlich, der ebenfalls medikamentös entgegengewirkt werden kann. Neben dem Clenbuterol, das laut Dixon (1992) am potentesten ist, gilt das Dembrexin (0,6 mg/kg/12h, p.o.) – ein Bromhexinderivat – als bedeutendes Sekretolytikum in der Pferdemedizin (Dixon 1992; Mevissen and Burgener 2010). Seine Wirkung erschließt sich aus einer Förderung der Produktion von flüssigerem Sekret sowie einer Begünstigung der mukuziliären Clearance und der Surfactantbildung (Matthews, Hackett et al. 1988; Mevissen and Burgener 2010). Darüber hinaus kann unterstützend eine Inhalation mit saliner Lösung erfolgen (Niedermaier and Gehlen 2009) und durch regelmäßige leichte bis mittlere Belastung die natürliche Reinigungsfunktion der Lunge gefördert werden.

Zur Prävention der COB-Symptomatik können, abgesehen von einer dauerhaften Haltungsoptimierung, Mastzellstabilisatoren eingesetzt werden. Die inhalative Verabreichung von Chromoglyzinsäure hat sich hier bei Pferden mit COB als wirkungsvoll erwiesen und führt bereits nach einmaliger Gabe zu einer deutlichen Verzögerung des Auftretens von Symptomen nach Antigenkontakt (Murphy, McPherson et al. 1979; Thomson and McPherson 1981). Die Wirkungseffizienz dieses Therapeutikums ist jedoch individuell sehr variabel und das Pharmakon daher nicht allgemeingültig einsetzbar (Niedermaier and Gehlen 2009).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Therapie der COB auf die Bekämpfung der zentralen Pathomechanismen Entzündung, Bronchospasmus sowie Hyper- und Dyskrie abzielt, wobei die Haltungsoptimierung der Schlüsselpunkt ist und die Basis für jegliche weitere medikamentöse Therapie bildet. Dabei sollten die zunehmend besser werdenden Möglichkeiten der inhalativen Medikamentenapplikation immer mit in Betracht gezogen werden. Allerdings sind die geltenden arzneimittelrechtlichen Vorschriften zu beachten und

eventuelle Probleme bezüglich der Besitzer-Compliance sowie wirtschaftlichen Aspekte bei der Wahl des Therapeutikums abzuwägen.

2 Das Hämostasesystem

Neben der eigentlichen Hämostase im engeren Sinne, die eine effiziente Blutstillung bezeichnet, kann man auch die Fibrinolyse im weiteren Sinne zu dem gesamten Hämostasesystem hinzuzählen, da beide Mechanismen eng miteinander verknüpft sind und in einem wechselseitigen Balanceakt zueinander stehen (Preissner 2008).

Im Folgenden werden die beiden Vorgänge in ihren Grundzügen erläutert und es wird auf einzelne, für diese Arbeit relevante, Faktoren näher eingegangen.

2.1 Das Gerinnungssystem

2.1.1 Die Physiologie der Gerinnung

Die Gerinnung ist ein Teil des übergeordneten Hämostasesystems und hat zum Ziel, bei Verletzungen des Gefäßsystems ein stabiles lokales Koagulat aus Fibrin und Thrombozyten zu bilden und damit einen übermäßigen Blutverlust zu verhindern sowie ein adäquates Ausgangsmilieu für anschließende Entzündungs- und Reparaturmechanismen zu bilden.

Dabei liegt dem Ganzen ein komplexer Mechanismus mit Beteiligung und Wechselwirkung von zellulären (Thrombozyten, Endothel) und plasmatischen (Gerinnungsfaktoren) Komponenten zugrunde, welcher für die meisten Säugetierspezies identisch ist (Meyers, Menard et al. 1987). Der entscheidende Schritt besteht dabei in der Generierung ausreichender Mengen an enzymatisch wirksamem Thrombin. Die Stabilität des Gerinnsels steht und fällt mit der Konzentration dieses Enzyms (Wolberg 2007).

Da physiologischerweise die Erhaltung eines kontinuierlichen Blutflusses im Vordergrund steht, liegen entsprechende Faktoren und Zellen in inaktiver antithrombotischer Form vor, in der sie sich gegenseitig abstoßen. Erst bei entsprechendem Insult werden sie in eine aktive Form überführt, die unter anderem durch Ausbildung spezifischer Oberflächenrezeptoren und Freisetzung verschiedener Faktoren gekennzeichnet ist, was dann schließlich die Interaktion der Gerinnungskomponenten ermöglicht (Preissner 2008).

Lange Zeit wurde der komplexe Gerinnungsablauf anhand des, in den 60er Jahren etablierten, sogenannten klassischen Kaskaden- oder auch „Waterfall“ Modells beschrieben (Davie and Ratnoff 1964; Preissner 2008). Neuere Erkenntnisse ließen die Wissenschaftler jedoch zu dem Schluss kommen, dass diese Beschreibung der Gerinnungskaskade zwar ein guter theoretischer Ansatz ist und vor allem bei der Vorstellung und Interpretation der gängigen Gerinnungstests (Prothrombinzeit (PTZ), aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT)) hilft, jedoch keine adäquate Darstellung der Vorgänge *in vivo* präsentiert (Hoffman

and Monroe 2007; Brooks 2008). Im Zuge dessen wurde das sogenannte „cell-based model of hemostasis“ formuliert (Hoffman and Monroe 2001).

Da das Kaskadenmodell jedoch zum Verständnis der Gerinnung beiträgt und durch die Anwendung der Gerinnungstests immer noch Bestand im Klinikalltag hat, sollen im Folgenden beide Modelle in ihren Grundzügen beschrieben werden.

2.1.1.1 Das Kaskaden-Modell

Bei dem klassischen Modell der Gerinnung erfolgt eine grundlegende Einteilung in primäre und sekundäre (plasmatische) Gerinnung mit Differenzierung zwischen einem extrinsischen und einem intrinsischen Weg. Die einzelnen Vorgänge sind natürlich miteinander verknüpft und laufen mehr oder weniger parallel ab, sollen aber aufgrund der besseren Anschaulichkeit hier getrennt voneinander erläutert werden.

Primäre Hämostase

Die primäre Hämostase steht am Anfang der Gerinnung und umfasst vaskuläre wie zelluläre (Thrombozyten) Strukturen. Im Mittelpunkt stehen dabei die generelle Aktivierung des Gerinnungsprozesses und die Bildung eines „vorläufigen“ Thrombus (Preissner 2008).

Ausgelöst wird dieser Schritt durch eine Läsion am Endothel, durch die Strukturen der Basalmembran, wie verschiedene Kollagene oder der von-Willebrand-Faktor (vWF) freigelegt werden. Dies hat die Adhäsion zirkulierender, inaktiver Thrombozyten zur Folge. Diese binden dabei mit ihren Oberflächenrezeptoren Glykoprotein (GP) Ia und GP Ib an Kollagen bzw. den vWF. Dadurch werden die Blutplättchen aktiviert, gehen in eine kugelige, Pseudopodien enthaltende Form über und setzen thrombozytenaktivierende sowie adstringierende Faktoren, wie beispielsweise das Adenosindiphosphat (ADP), den plättchenaktivierenden Faktor (PAF) und das Thromboxan A₂, frei (Meyers, Menard et al. 1987; Preissner 2008).

Im Zuge der Formänderung werden zudem weitere Oberflächenrezeptoren exprimiert, von denen das GP IIb/IIIa eine zentrale Rolle spielt, da es als Bindungsstelle für Fibrinogen fungiert, welches wiederum ein essentielles Brückenmolekül zwischen den Plättchen darstellt. Diese Wechselwirkung sorgt so für die entscheidende Thrombozytenaggregation und die Bildung des sogenannten „weißen Thrombus“, der durch Leukozyten- und Erythrozyteneinlagerungen in den stabileren „roten Thrombus“ übergeht.

Sekundäre Hämostase

Die sekundäre Hämostase umfasst die plasmatische Gerinnung mit ihrer kaskadenartigen Faktoraktivierung, die im klassischen Sinne je nach Initiator als (exogener) extrinsischer bzw.

II Literaturübersicht

(endogener) intrinsischer Weg bezeichnet wird und deren Ziel die Bildung von quervernetztem Fibrin darstellt.

Die Gerinnungskaskade – im alten wie im neuen Modell – ist charakterisiert durch enzymatische und proteolytische Prozesse, bei denen die einzelnen Gerinnungs- bzw. Kofaktoren in Form von Enzymkomplexen miteinander interagieren und dafür sorgen, dass die inaktiven Proenzyme in die aktive Form überführt werden, die dann wiederum katalytisch tätig werden kann. Bestandteile eines solchen Enzymkomplexes sind in der Regel ein Enzym mit seinem nicht enzymatischen Kofaktor, eine kalziumvermittelte Ionenbindung an negativ geladene Phospholipide der freigelegten Membran sowie das entsprechende Proteinsubstrat (Proenzym) (Preissner 2008). Die enzymatisch wirksamen Gerinnungsfaktoren gehören alle der Gruppe der Serinproteasen an. Nur der Faktor (F) XIII bildet als Transglutaminase eine Ausnahme.

Die Abb. 1 (S. 27) gibt eine schematische Übersicht über die klassische Gerinnungskaskade mit ihren zwei fakultativen Wegen.

Der **extrinsische Weg** gilt inzwischen als Hauptkomponente der Gerinnung. Die Aktivierung dieses Weges erfolgt über die Bindung von F VII an den nicht enzymatischen Kofaktor *tissue factor* (TF), auch Gewebsthromboplastin oder Faktor III genannt, wodurch der F VII aktiviert wird. Der entstandene FVIIa/TF-Enzymkomplex bildet die sogenannte extrinsische Tenase, die mit dem Faktor X als Substrat für die Faktor Xa-Generierung zuständig ist (Preissner 2008).

Der **intrinsische Weg** beginnt mit der Bildung von aktiviertem F XIIa durch Wechselwirkung zwischen F XII und verschiedenen Proteinen, wie dem High Molecular Weight Kininogen (HMWK) oder dem Prekallikrein (PK). F XIIa aktiviert den F XI zu F XIa, der wiederum den F IX zu F IXa aktiviert. Dieser bildet dann Zusammen mit seinem Kofaktor VIIIa die sogenannte intrinsische Tenase, die genau wie die extrinsische Tenase den Enzymkomplex für die Faktor Xa-Generierung darstellt (Hoffman and Monroe 2007; Preissner 2008).

An dem Punkt der F Xa-Generierung gehen die beiden Gerinnungszweige in einen gemeinsamen Weg über. Der F Xa bildet mit seinem membranassoziierten Kofaktor F Va, die sogenannte Prothrombinase, die das entsprechende Substrat Prothrombin (F II) aktiviert und somit für die entscheidende Thrombin (F IIa)-Bildung sorgt (Preissner 2008).

Das Thrombin katalysiert schließlich die Entstehung von löslichem Fibrin aus dem Fibrinogenmolekül und aktiviert zusätzlich den Faktor XIII zu F XIIIa, der wiederum die Quervernetzung des Fibrins bewirkt, woraus letztendlich die endgültige stabile Fibrinstruktur resultiert. Dieser Mechanismus wird an entsprechender Stelle (Kapitel II, Abschnitt 2.1.2 „Vom Fibrinogen zum Fibrin“) noch näher erläutert.

Neben den genannten Schwerpunkten in der Interaktion zwischen den einzelnen Faktoren bestehen noch viele weitere Querverbindungen und Auto-Aktivierungen, die jedoch an dieser Stelle nicht weiter ausgeführt werden sollen, da sie für die Untersuchungen im Rahmen dieser Arbeit nicht relevant sind (Engelmann, Luther et al. 2003; Preissner 2008).

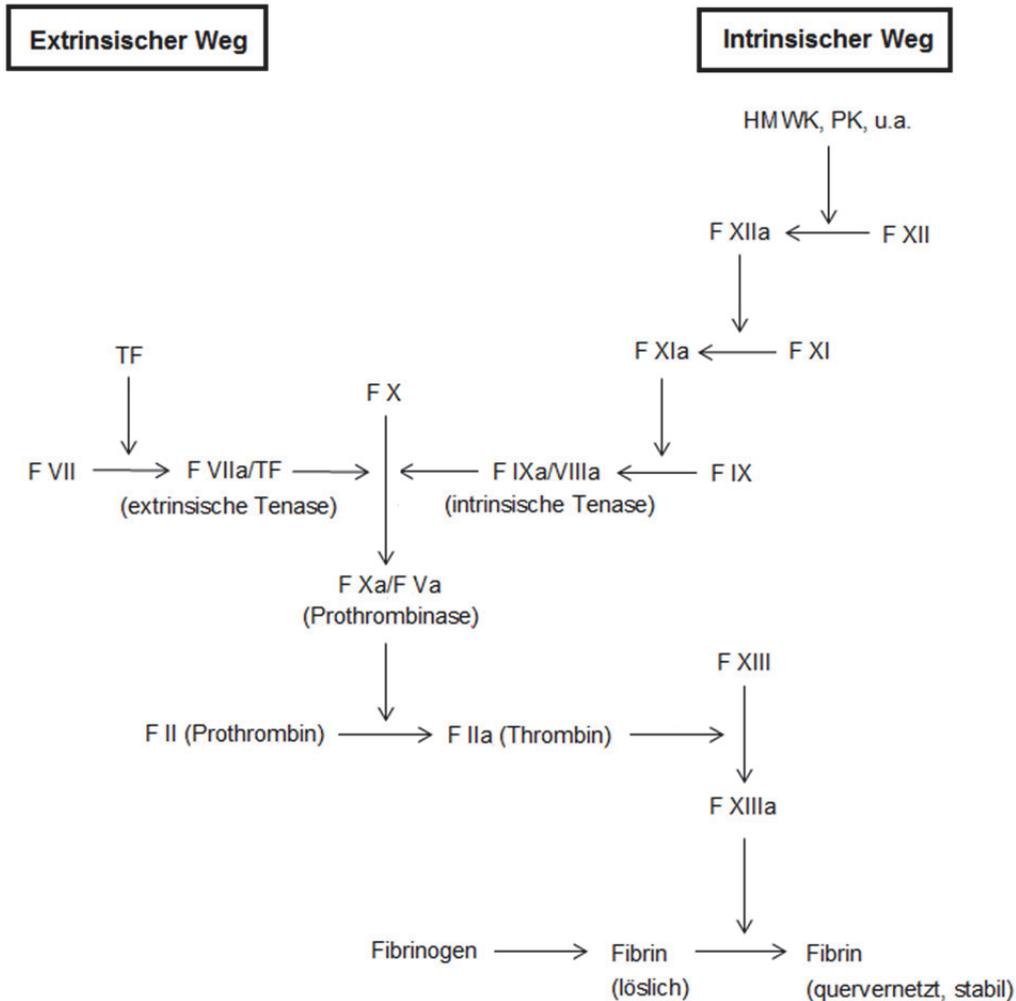


Abb. 1: Schematische Übersicht über die sekundäre (plasmatische) Hämostase mit ihrem extrinsischen und intrinsischen Gerinnungsweg modifiziert nach Hoffman and Monroe (2007) und Preissner (2008). Das Ziel der kaskadenartigen Faktoraktivierung ist die Bildung von quervernetztem Fibrin. TF, HMWK (high molecular weight kininogen), PK (Prekallikrein), F VIIIa und F Va fungieren dabei als Kofaktoren und sind Bestandteile der verschiedenen Enzymkomplexe, die eine Aktivierung der Proenzyme (inaktive Gerinnungsfaktoren) bewirken.

2.1.1.2 Das Zell-basierte Modell

Auf der Basis neuerer Erkenntnisse, insbesondere was die Bedeutung der Zellen als Rezeptoren wie auch Faktorträger und -produzenten angeht, entwickelten Wissenschaftler das sogenannte „cell-based model of hemostasis“, das die Gerinnungsprozesse *in vivo* realistischer wiedergibt (Hoffman and Monroe 2001; Brooks 2008).

II Literaturübersicht

Grundlage bilden TF-exprimierende Zellen, wie Endothelzellen, Fibroblasten oder Monozyten und ruhende wie aktivierte Thrombozyten, wobei die bekannten intrinsischen und extrinsischen Wege vom Prinzip weiter Bestand haben, jedoch entsprechend zellgebunden und in sich verknüpft ablaufen (Hoffman and Monroe 2007).

Grundlage des Zell-basierten Gerinnungsmodells bilden die drei Phasen Initiation, Amplifikation und Propagation, an deren Ende der sogenannte „Thrombinburst“ steht. Abb. 2, S. 29 zeigt eine schematische Übersicht über die einzelnen zellgebundenen Vorgänge.

Die erste Phase, die **Initiation**, läuft an der Oberfläche TF-tragender Zellen ab und beinhaltet im weiteren Sinne den extrinsischen Weg. Dabei bildet der membrangebundene TF mit seinem Kofaktor F VIIa einen Enzymkomplex (Tenase), der zum einen die Aktivierung von F X zu F Xa und zum anderen die Aktivierung von F IX zu Faktor F IXa katalysiert. Entscheidend zu diesem Zeitpunkt ist allerdings ersteres, während F IXa an späterer Stelle noch zum Tragen kommt. Der aktivierte F Xa kann nun mit seinem membranassoziierten Kofaktor F Va den sogenannten Prothrombinase-Komplex bilden und das Substrat Prothrombin umsetzen – eine geringe Grundmenge an Thrombin ist so entstanden und fungiert als Trigger-Molekül für den nachfolgenden Schritt. So werden in der zweiten Phase, der **Amplifikation**, durch das Thrombin F VIII, F XI und der membranassoziierte F V in ihre jeweiligen aktiven Formen überführt, die dann im letzten Schritt zum Tragen kommen. Der Faktor V kann hierbei auch aus thrombozytären Granula freigesetzt werden. Im Zuge der Amplifikation kommt es schließlich zu einer Aktivierung der Thrombozyten und dem Übergang in die dritte und letzte Phase, die **Propagation**. Diese ist an die Oberfläche der nun aktivierten Plättchen gekoppelt. Dabei schließt sich der bei der Initiation gebildete F IXa mit dem aktivierten und an die Thrombozyten gebundenen F VIIIa zu einem Tenase-Komplex zusammen, der die F Xa-Generierung katalysiert. Durch membrangebundenen F XIa wird die Menge an bereits gebildetem F IXa noch zusätzlich erhöht. Der enzymatisch gebildete F Xa bildet nun wiederum mit dem membranassoziierten F Va die Prothrombinase, die an dieser Stelle nun zu dem genannten finalen „Thrombinburst“ führt. Die dabei entstandenen Thrombin-Mengen sind jetzt ausreichend, um einen stabiles Fibringerinnsel zu bilden (Hoffman and Monroe 2007; Brooks 2008; Preissner 2008). Auch in diesem System spielen noch viele weitere Interaktionen eine Rolle, die hier ebenfalls nicht weiter genannt werden sollen (Hoffman and Monroe 2007; Preissner 2008).

II Literaturübersicht

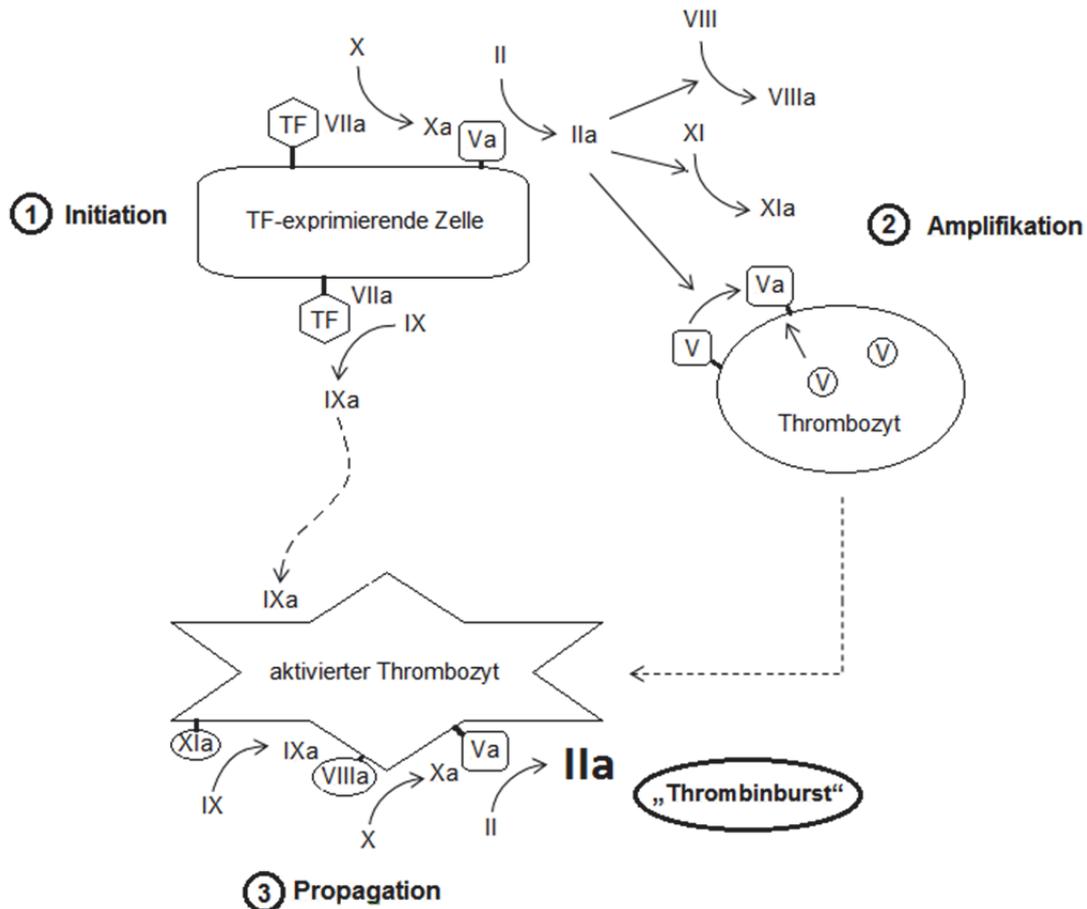


Abb. 2: Schematische Darstellung des zell-basierten Gerinnungsmodells modifiziert nach Hoffman and Monroe (2007). Grundlage bilden hier Tissue Factor (TF) exprimierende Zellen (z.B. Endothelzellen, Fibroblasten und Monozyten) sowie ruhende und aktivierte Thrombozyten an denen die verschiedenen Gerinnungsprozesse ablaufen, die im Wesentlichen den klassischen intrinsischen und extrinsischen Kaskaden entsprechen. Die zellgebundenen Vorgänge werden in die drei Phasen Initiation (1), Amplifikation (2) und Propagation (3) unterteilt, an deren Ende der sogenannte finale „Thrombinburst“ steht.

Der gesamte Gerinnungsprozess unterliegt verschiedenen Kontroll- und Hemmmechanismen, die physiologischerweise eine überschießende und generalisierte Thrombusbildung verhindern (Preissner 2008).

Dazu tragen neben der Fibrinolyse, auf die später noch näher eingegangen wird, antikoagulatorische, die Thrombingenerierung eingrenzende Faktoren wie der Tissue Factor Pathway Inhibitor (TFPI), das Antithrombin (AT) und das Protein C bei. Die wichtigste Stellung nimmt das AT ein, das als sogenannter Serinproteaseinhibitor (SERPIN) alle Serinproteasen des Gerinnungsweges hemmt, wobei die größte Affinität zu F Xa und Thrombin besteht, mit denen es Enzyminhibitor-Komplexe, wie den Thrombin-Antithrombin-Komplex (TAT) eingeht.

An zweiter Stelle steht das Protein C – eine inaktive Serinprotease, die durch den Thrombin-Thrombomodulin-Komplex aktiviert wird. Dieser bildet sich, indem der größte Anteil des gebildeten Thrombins in der Umgebung des Gewebeschadens an das Thrombomodulin bindet, welches seinerseits an das gesunde Endothel gebunden ist. Dadurch kommt auch dem Thrombin selbst eine indirekte regulierende Wirkung zugute (Preissner 2008). Das aktivierte Protein C (APC) geht einen Komplex mit dem membranassoziierten Protein S ein, der schließlich direkt die Faktoren Va und VIIIa inhibiert. Durch zusätzliche Hemmung des Plasminogen-Aktivator-Inhibitor-1 greift das Protein C darüber hinaus aktivierend in das fibrinolytische System ein.

Der TFPI hemmt die Gerinnung auf Ebene des TF/F VIIa-Komplexes und des Faktors Xa.

2.1.2 Vom Fibrinogen zum Fibrin

2.1.2.1 Das Fibrinogenmolekül

Das Fibrinogenmolekül ist ein 430 kDa schweres Glykoprotein und wird hauptsächlich in der Leber synthetisiert, wobei eine Freisetzung auch durch Plättchengranula erfolgen kann (Plendl, Caliebe et al. 2002). Beim Menschen ist zudem eine Bildung durch Pneumozyten Typ II beschrieben (Haidaris 1997).

Es erscheint mikroskopisch als lineare, trinoduläre Struktur, auch „coiled coil“ genannt, die sich aus der komplexen Verknüpfung der einzelnen Untereinheiten ergibt (Fowler and Erickson 1979; Plendl, Caliebe et al. 2002).

Wie die Abb. 3 (S. 31) zeigt, besteht das Molekül aus jeweils 3 parallel angeordneten Paaren von Polypeptidketten, die sich in ihrer Aminosäureanzahl und ihrem Molekulargewicht unterscheiden. Die größte ist die sogenannte α -Kette, gefolgt von der β -Kette und schließlich der γ -Kette als kleinster Teil. Die insgesamt sechs Ketten sind an mehreren Stellen über eine unterschiedliche Anzahl an Disulfidbrücken miteinander verknüpft und bilden eine zentrale E-Domäne und zwei terminale D-Domänen. Die E-Domäne wird von den aminoterminalen Enden aller sechs Ketten gebildet sowie den carboxyterminalen Enden der zwei α -Ketten, die sich von Außen her wieder zurückschlagen und im Zentrum eine nicht kovalente Bindung eingehen. In diesem zentralen Bereich enthalten die α - und β -Ketten zudem an ihren aminoterminalen Enden die namensgebenden Fibrinopeptide A und B (FPA und FPB).

Die D-Domänen bestehen jeweils aus den carboxyterminalen Enden einer β - und einer γ -Kette, wobei auf letzterer zudem die Bindungsstellen für den GP IIb/IIIa-Rezeptor und den Faktor XIIIa lokalisiert sind (Plendl, Caliebe et al. 2002).

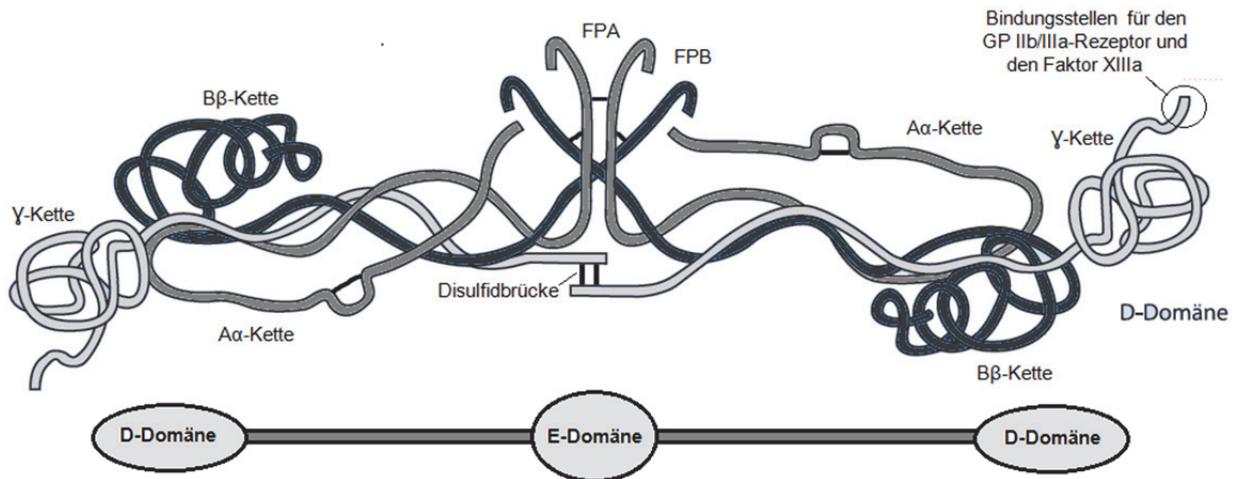


Abb. 3: Schematische Darstellung des Fibrinogenmoleküls modifiziert nach Geiger (2010). Die insgesamt sechs Polypeptidketten, aus denen das Molekül aufgebaut ist, sind über Disulfidbrücken miteinander verknüpft und bilden im Zentrum die sogenannte E-Domäne und an den Außenseiten jeweils eine D-Domäne. Während die E-Domäne die Fibrinopeptide-A und-B (FPA, FPB) enthält, sind an der D-Domäne die Bindungsstellen für den Glykoprotein (GP) IIb/IIIa-Rezeptor sowie für den Faktor XIIIa lokalisiert. Im Zuge der Fibrinbildung werden die Fibrinopeptide A und B durch das Thrombin abgespalten, wodurch neue Bindungsstellen entstehen.

2.1.2.2 Das Fibrinogen und seine klinische Bedeutung

Die Hauptfunktion des Fibrinogens liegt im Bereich der Hämostase, speziell in der Gerinnung. Als Grundbaustein des gesamten Fibrinnetzwerkes kommt ihm hier eine besondere Bedeutung zu. Im Zuge dessen spielt es auch für Fibrinablagerungen in den tiefen Atemwegen bei verschiedenen respiratorischen Erkrankungen eine wesentliche Rolle (Winder, Grünig et al. 1990; Günther, Mosavi et al. 2000a), worauf im Laufe der Arbeit noch näher eingegangen wird.

Während das Blutgerinnsel in seiner Gesamtheit ein optimales Milieu für die Wundheilung mit Einwanderung von Entzündungs- und Gewebezellen darstellt, konnte dem Fibrinogenmolekül, speziell seinen Aα- und Bβ-Ketten, hierbei eine besondere Bedeutung für die Fibroblastenmigration und -proliferation zugeordnet werden, was auf die Rolle dieser Spaltungsprodukte bei Fibrosierungsprozessen im Zuge der Gewebereparatur hindeutet (Gray, Bishop et al. 1993; Gray, Bishop et al. 1995).

Ferner gehört dieses Molekül zu den klassischen Akute-Phase-Proteinen und fungiert in diesem Zusammenhang als Marker für Gewebeschädigungen, Entzündungen und Infektionen (Murata, Shimada et al. 2004). Im Vergleich mit anderen Proteinen, wie dem Serum-Amyloid-A steigt es jedoch relativ langsam an und weist bei gesunden Pferden

zudem einen weiten Referenzbereich auf (Allen and Kold 1988; Pollock, Prendergast et al. 2005). Dabei wird die Fibrinogensynthese durch inflammatorische Cytokine wie IL-1, IL-6 und TNF- α beeinflusst (Nguyen and Simpson-Haidaris 2000; Pollock, Prendergast et al. 2005).

Der Nachweis von Fibrinogen kann einmal über die Bestimmung des funktionell indifferenten Moleküls mittels Hitzepräzipitation oder immunologischen Methoden oder über die Bestimmung des aktivierten und hämostatisch wirksamen Fibrinogens mittels Gravimetrie, Fotometrie oder der Koagulationsmethode nach Clauss geschehen (Mischke 2013).

2.1.2.3 Die Entstehung von Fibrin aus dem Fibrinogenmolekül

Am Ende der Gerinnungskaskade stehen die Umwandlung vom Fibrinogenmolekül zum Fibrin und die Bildung eines Fibrinnetzwerkes. Für die Entstehung dieses Netzwerkes sind im Wesentlichen zwei Schritte notwendig, die durch die Enzyme Thrombin und Faktor XIIIa katalysiert werden.

Im ersten Schritt entstehen die sogenannten **Fibrinmonomere**. Dabei werden die Fibrinopeptide A und B an den aminoterminalen Enden entsprechender Ketten durch Thrombin vom Fibrinogenmolekül abgespalten, wodurch in der zentralen E-Domäne neue Bindungsstellen (A und B) frei werden. Diese können nun nicht kovalent an entsprechenden Bindungsstellen (a und b) im Bereich der D-Domäne benachbarter Fibrinogenmoleküle binden. Es kommt zur parallelen Anordnung einzelner Fibrinmonomere und Bildung von doppelsträngigen Protofibrillen. Diese wiederum binden lateral aneinander, wodurch die sogenannte **Fibrinfaser** in Form eines **Fibrinpolymers** entsteht (Plendl, Caliebe et al. 2002). Der zweite große Schritt führt schließlich zur Bildung des stabilen **Fibrinnetzes** und damit zum Abschluss der Blutgerinnung. An dieser Stelle kommt der durch Thrombin aktivierte Faktor XIIIa zum Tragen. Dieser katalysiert, unter anderem durch die Verbindung der D-Domänen von jeweils zwei γ -Ketten, die kovalente Quervernetzung zwischen den einzelnen Fibrinpolymeren (Plendl, Caliebe et al. 2002).

Das entstandene Fibringerinnsel ist nun in seiner stabilsten Form und kann erst durch Einwirken fibrinolytischer Faktoren wieder aufgelöst werden.

2.2 Das Fibrinolysestern

2.2.1 Die Physiologie der Fibrinolyse

Die Fibrinolyse ist der zweite Teil des Hämostasesystems und erfüllt verschiedene Aufgaben. Zum einen gilt sie als Gegenspieler der Gerinnung, der neben den direkten Antikoagulantien dafür sorgt, dass eine überschießende oder gar generalisierte Thrombusbildung verhindert und das gebildete Fibringerinnsel nach Abschluss der

II Literaturübersicht

Gewebereparatur wieder aufgelöst wird. Zum anderen ist das fibrinolytische System an Auf- und Abbauvorgängen der Extrazellulären Matrix und damit am Gewebeumbau auch außerhalb des Gefäßsystems beteiligt (Preissner 2008). Entsprechend spricht man auch von intravasaler bzw. extravasaler Fibrinolyse (Madlener and Pötzsch 2010).

Vom Prinzip entspricht die Funktionsweise des fibrinolytischen Systems der des Gerinnungsprozesses, bei dem Aktivierung und Inhibition von Faktoren und enzymatische Abläufe im Vordergrund stehen. Die beteiligten Enzyme sind hier überwiegend Serinproteasen oder Serinproteaseinhibitoren (Serpine) (Geiger 2010).

Schlüsselenzym ist hierbei das Plasmin mit seinen proteolytischen Eigenschaften.

Die Abb. 4 zeigt die wesentlichen Zusammenhänge des fibrinolytischen Systems, die im Folgenden näher erläutert werden.

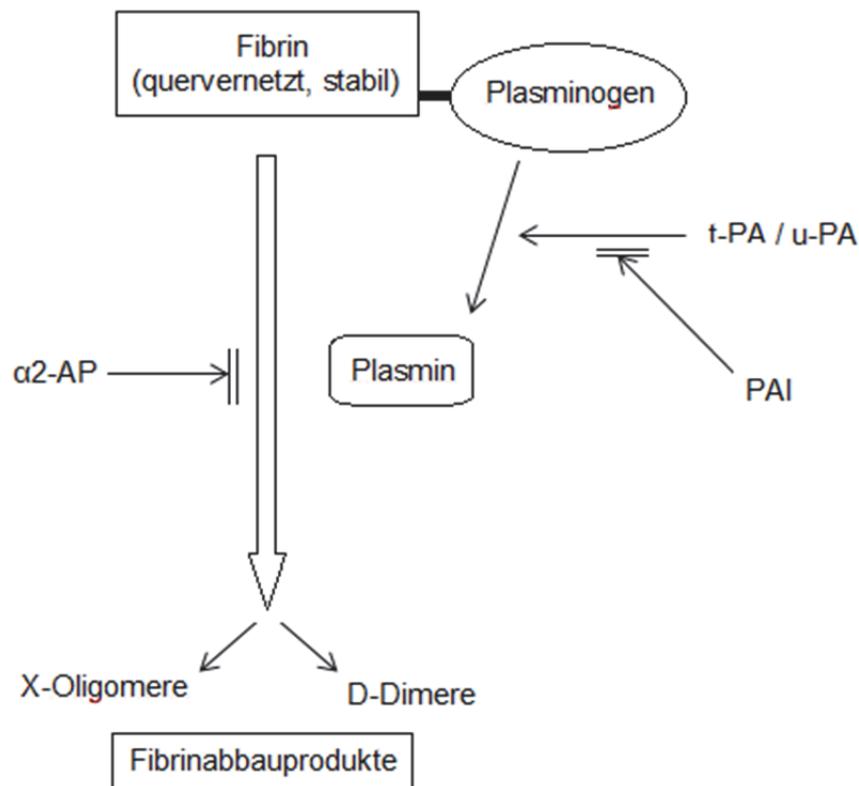


Abb. 4: Schematische Übersicht über das fibrinolytische System als Gegenspieler der Gerinnung modifiziert nach Geiger (2010) und Stokol, Erb et al. (2005). Fibrin und Plasminogen gehen hier einen Enzymkomplex ein, bei dem das Fibrin als Kofaktor fungiert. t-PA (tissue-type Plasminogenaktivator) und u-PA (Urokinase) haben eine aktivierende und der PAI (Plasminogen-Aktivator-Inhibitor) sowie das α_2 -AP (α_2 -Antiplasmin) eine inhibierende Rolle. Die hier dargestellten Fibrinabbauprodukte (X-Oligomere und D-Dimere) können ausschließlich aus dem plasmin-vermittelten Abbau von, durch Thrombin- und F XIIIa-Wirkung entstandenem, quervernetztem Fibrin resultieren.

2.2.1.1 Die Aktivierung der Fibrinolyse

Da das Plasminmolekül das Effektorenzym des fibrinolytischen Systems darstellt, steht seine Aktivierung am Anfang des Prozesses. Die Umwandlung des inaktiven Proenzym Plasminogen erfolgt dabei durch die Serinproteasen tissue-type Plasminogenaktivator (t-PA) und Urokinase (u-PA) (Hoffman and Monroe 2007), wobei für die intravasale Gerinnung das t-PA essentiell ist (Mondino and Blasi 2004). Die beiden Aktivatoren werden ebenfalls in einer aktivierbaren einkettigen pro-Form sezerniert und durch proteolytische Vorgänge – unter anderem durch Plasmin selber – in ein zweikettiges aktives Molekül überführt (Geiger 2010).

Das unter anderem durch Endothelzellen gebildete t-PA bindet zusammen mit Plasminogen an Fibrin, wodurch lokal am Wirkungsort ein Enzymkomplex entsteht, bei dem das Fibrin die Rolle des Kofaktors einnimmt. Durch proteolytische Spaltung des Substrates Plasminogen durch das Enzym t-PA entsteht das doppelsträngige aktive Plasminmolekül (Preissner 2008; Geiger 2010).

Auf diesen Initiierungsschritt folgt, wie schon bei der Gerinnung, eine Amplifikation der Fibrinolyse, die hier durch positive Feedbackmechanismen gesteuert wird. So werden zum einen durch die proteolytische Aktivität des gebildeten Plasmins Bindungsstellen in Form von carboxyterminalen Lysinresten am Fibrin frei, die wiederum neue Bindungen des Proenzym Plasminogen und seiner Aktivatoren ermöglichen, und zum anderen kommt es zu leichten Formänderungen von t-PA und Plasminogen, die zu einer erhöhten Bindungsaffinität und katalytischen Effektivität führen (Preissner 2008).

Bei der extravaskulären Fibrinolyse ist zusätzlich die Aktivierung der inaktiven Vorstufen von u-PA und von Matrix-Metalloproteinasen durch das entstandene Plasmin für eine positive Rückkopplung und Potenzierung der Abläufe entscheidend (Preissner 2008).

2.2.1.1.1 Die Plasminwirkung und die Entstehung der D-Dimere

Nachdem das Plasminogen in das aktive Plasminmolekül überführt wurde, kann es proteolytisch tätig werden. Während die enzymatische Wirkung intravasal vor allem am Fibrin ausgeübt wird, kommt sie extravaskulär an Komponenten der extrazellulären Matrix zum Tragen. Hierbei kann das Plasmin direkten und indirekten Einfluss auf den Gewebeumbau und -abbau nehmen. Dies geschieht beispielsweise durch Spaltung von Proteoglykanen und damit einem direkten Angriff der extrazellulären Matrix oder durch Umwandlung von pro-MMPs in aktive MMPs, die dann wiederum Strukturveränderungen der EZM bewirken (Kucharewicz, Kowal et al. 2003). Auf die schon angesprochene Bedeutung dieser Vorgänge bei Pathologien des Atemtraktes wird im Laufe dieser Arbeit noch einmal näher eingegangen.

Die intravasale Auflösung des Fibringerüsts geschieht ausschließlich über eine direkte Plasmin-Wirkung. Dabei kann die Spaltung der Fibrinmoleküle ausschließlich zwischen den

E- und D-Domänen stattfinden, da die durch F XIIIa gebildeten Verbindungsstellen für das Effektorenzym unangreifbar sind (Geiger 2010).

Durch Trennung der Fibrinpolymere an unterschiedlichen Stellen entstehen verschieden große Abbauprodukte, zu denen die sogenannten X-, Y-, D-, E-, und D-D-Fragmente – auch D-Dimere genannt – sowie hochmolekulare X-Oligomere zählen (Stokol, Brooks et al. 2000). Während X-, Y-, D- und E-Fragmente durch die Spaltung von Fibrinogen und löslichem Fibrin entstehen können, gehen die D-D Fragmente ausschließlich aus dem Abbau von quervernetztem Fibrin hervor und sind somit spezifische Indikatoren für die plasminvermittelte Fibrinolyse. Diese Eigenschaft verschafft den D-Dimeren einen großen labordiagnostischen Vorteil gegenüber den Fibrin-Fibrinogen Abbauprodukten (fibrin-fibrinogen degradation products, FDP), die auch Spaltprodukte früherer Schritte darstellen können (Stokol, Erb et al. 2005). In der folgenden Abb. 5 ist die Entstehung der D-Dimere schematisch dargestellt.

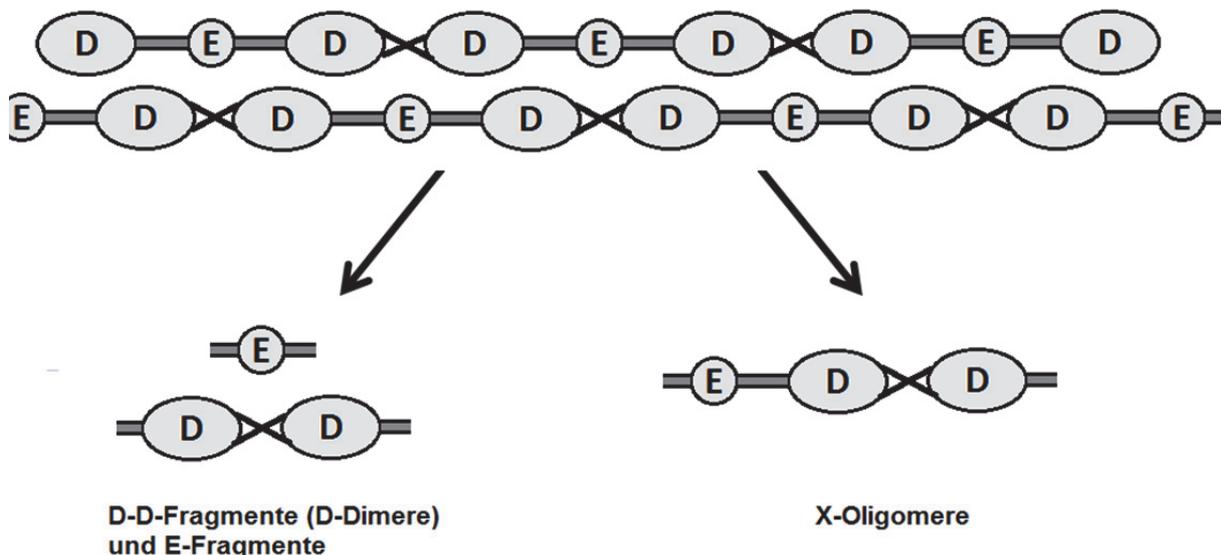


Abb. 5: Schematische Darstellung über die Entstehung der D-Dimere modifiziert nach Stokol, Brooks et al. (2000). Die plasmin-vermittelte Spaltung der quervernetzten Fibrinmoleküle kann ausschließlich zwischen den E- und D-Domänen stattfinden. Die, durch den Faktor XIIIa herbeigeführte, Verbindung der γ -Ketten zwischen den D-Domänen bleibt für das Enzym hingegen unangreifbar. Dadurch entstehen die D-D- und E-Fragmente sowie die höhermolekularen X-Oligomere.

2.2.1.1.2 Die D-Dimere und ihre klinische Bedeutung

Als spezifische Abbauprodukte des quervernetzten Fibrins sind die D-Dimere ein Indikator für pathologische Prozesse mit exzessiver thrombinvermittelter Fibrinbildung und gleichzeitigem plasminvermitteltem fibrinolytischen Abbau (Stokol, Brooks et al. 2000; Monreal 2003). Unter diesem Gesichtspunkt haben sie, vor allem in der Humanmedizin und zunehmend auch in

II Literaturübersicht

der Veterinärmedizin, eine große Bedeutung bei der Diagnose prothrombotischer Zustände erlangt. Hierbei gelten sie als sensitive Marker, die es möglich machen, eine Gerinnungsaktivierung bei verschiedenen systemischen Erkrankungen schon früh zu erkennen. Diese frühe Erkennung entsprechender Pathologien ist von großer Relevanz, da prothrombotische Stadien, die mit primären systemischen Erkrankungen vergesellschaftet sind, und auch frühe Formen der disseminierten intravasalen Gerinnung (DIG) häufig ohne klinisch bemerkbare Veränderungen einhergehen und somit häufig unterdiagnostiziert werden, was eine erhöhte Mortalität durch falsche oder zu späte antithrombotische Therapie zur Folge haben kann (Monreal 2003).

In der Humanmedizin sind die D-Dimere inzwischen etablierte Marker, die in der Routinediagnostik von thrombotischen und thrombembolischen Erkrankungen, insbesondere von tiefen Beinvenenthrombosen und Lungenembolien verwendet werden. Aufgrund ihrer sehr hohen Sensitivität, aber relativ geringen Spezifität erfolgt in der Regel eine Ausschlussdiagnostik mit Festlegung von Cut-off-Werten, die einen negativen prädiktiven Wert (negative predictive value, NPV) von möglichst nahezu 100% ermöglichen (Di Nisio, Squizzato et al. 2007).

Auch beim Hund haben sich die D-Dimere als sensitive Marker für die Diagnose von thrombotischen Erkrankungen und einer DIG erwiesen (Stokol, Brooks et al. 2000; Griffin, Callan et al. 2003; Nelson and Andreasen 2003; Dewhurst, Cue et al. 2008). So zeigte sich beispielsweise bei Nelson und Andreasen (2003) bei einem Cut-off-Wert von > 500 ng/ml eine Sensitivität von nahezu 100% für die Erkennung thrombembolischer Erkrankungen. Die Spezifität war jedoch – den Bedingungen in der Humanmedizin gleichend – mit 70% auch hier wesentlich geringer.

Die hier zusätzlich gemessenen Fibrin(ogen)-Abbauprodukte (FDPs) zeigten hingegen keinerlei Erhöhung bei den Tieren mit thrombotischen Erkrankungen, was deren schlechte Sensitivität und den Vorteil der D-Dimer-Messung widerspiegelt (Nelson and Andreasen 2003). Entsprechende Vergleiche beim Pferd konnten dies bestätigen (Stokol, Erb et al. 2005).

Auch beim Pferd hat sich im Allgemeinen ein guter Nutzen der D-Dimer Bestimmung für die Erkennung prothrombotischer Zustände oder einer bestehenden DIG gezeigt, insbesondere im Zusammenhang mit darmassoziierten Kolikerkrankungen (Sandholm, Vidovic et al. 1995; Feige, Kästner et al. 2003; Stokol, Erb et al. 2005; Cesarini, Monreal et al. 2010) sowie der Sepsis des Fohlens (Armengou, Monreal et al. 2008). Der jeweilige Nutzen und die entsprechenden Zusammenhänge bei den verschiedenen Erkrankungen werden in Abschnitt 4.2 „Die Fibrinolyse beim Pferd bei ausgewählten Erkrankungen“ im Einzelnen erläutert.

Die Bestimmung der D-Dimere kann mit verschiedenen immunologischen Analyseverfahren erfolgen, zu denen die qualitativ-quantitative ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay)-Methode sowie quantitative und semiquantitative Methoden, wie die Immunturbidimetrie und die Latexagglutination (LA) zählen. Letztere hat in Form von Schnelltests als sogenannter Point-of-Care-Test besondere Bedeutung in der Notfalldiagnostik erlangt.

Dabei sind Kreuzreaktivitäten zwischen den – ursprünglich für die Humanmedizin entwickelten – eingesetzten monoklonalen Antikörpern und caninen (Griffin, Callan et al. 2003; Boutet, Heath et al. 2009) wie equinen (Sandholm, Vidovic et al. 1995; Stokol, Erb et al. 2005) D-Dimer Antigenen erwiesen und verschiedene Tests entsprechend validiert, wobei sich semiquantitative Schnelltests aufgrund ihrer vielen Vorteile (schnell und einfach, z.T. ohne spezielle Geräte durchführbar, Einzelbestimmungen möglich) trotz geringerer Sensitivität durchgesetzt haben. Trotz allem wird eine 100%ige Kreuzreaktivität nicht erreicht, was bei der Interpretation stets im Hinterkopf behalten werden sollte (Stokol, Erb et al. 2005).

Da aufgrund ihrer Praktikabilität dieser Tests ihre Entwicklung in der Humanmedizin immens vorangetrieben wurde, werden hier inzwischen sogar Sensitivitäts/NPV-Werte von annähernd 100 % erreicht, womit sie dem ELISA als ursprünglichen Gold-Standard so gut wie ebenbürtig sind (van der Graaf, van den Borne et al. 2000; Schutgens, Haas et al. 2003). Auch beim Tier sind Daten vorhanden, die eine gleichwertige Aussagekraft beider Verfahren im klinischen Alltag belegen (Griffin, Callan et al. 2003).

Die Angaben über physiologische Referenzwerte von D-Dimeren im Plasma beim Pferd liegen in der Regel bei etwa 500 ng/ml, weisen jedoch Schwankungen bis zu einer maximal gemessenen Konzentration von um die 1000 ng/ml auf (Monreal, Angles et al. 1995; Weiss, Monreal et al. 1996; Monreal, Angles et al. 2000; Stokol, Erb et al. 2005).

2.2.1.2 Die Inhibierung der Fibrinolyse

Ebenso wie die Gerinnung unterliegt auch das fibrinolytische System speziellen Kontrollmechanismen, um eine frühzeitige Fibrinolyse eines noch nicht stabilen Gerinnsels sowie unangemessene systemische Effekte zu verhindern. Die Regulation erfolgt dabei zum einen durch direkte Inhibierung des zentralen Effektormoleküls Plasmin und zum anderen durch Hemmung seiner Bildung über Beeinflussung des Aktivierungsweges. Neben explizit der Fibrinolyse zugehörigen Regulationsmechanismen nimmt darüber hinaus auch die Gerinnung mit ihrem Bestreben des Thrombuserhalts an verschiedenen Stellen inhibitorischen Einfluss.

Im fibrinolytischen System lassen sich spezifische und unspezifische Inhibitoren unterteilen, wobei erstere durch ihre Serinprotease-hemmende Funktion die Bezeichnung Serinproteaseinhibitor (SERPIN oder Serpin) tragen (Geiger 2010).

Ein wichtiger spezifischer Plasmininhibitor ist das α 2-Antiplasmin (α 2-AP). Dieses Serpin hemmt die Fibrinolyse relativ frühzeitig und ist somit bedeutend für die Stabilisierung des Fibringerinnsels (Preissner 2008). Dabei nimmt der Gerinnungsweg selbst Einfluss auf die Funktionalität dieses Enzyms. So findet die Aktivierung des AP durch seine kovalente Bindung an Fibrin statt, die von dem Gerinnungsfaktor XIIIa vermittelt wird. In gebundenem und aktiviertem Zustand kann das AP dann mit hoher Spezifität und

II Literaturübersicht

Reaktionsgeschwindigkeit das Plasminmolekül binden und hemmen und so einem frühzeitigen plasminvermittelten Fibrinabbau entgegenwirken (Preissner 2008; Geiger 2010). Ebenfalls eine Rolle für die Regulation des zeitversetzten Ablaufs von Gerinnung und Fibrinolyse spielt der zu den unspezifischen Inhibitoren zählende Thrombin-aktivierbare Fibrinolyse-Inhibitor (TAFI). Der zur Gruppe der Procarboxypeptidasen zählende Faktor spaltet an teilweise degradiertem Fibrin die Bindungsstellen ab, an die sonst Plasminogen und t-PA binden würden und wirkt somit dem fibrinolytischen Aktivierungsweg entgegen. TAFI selbst wird unter anderem durch Plasmin und Thrombin in hohen Konzentrationen aktiviert, wobei gebildete Thrombin-Thrombomodulin-Komplexe (TMT-Komplexe) diesen Effekt immens erhöhen (Bouma and Meijers 2003; Geiger 2010). Somit wirkt auch hier wieder die Gerinnung indirekt selbstregulatorisch.

Als weiterer unspezifischer Inhibitor ist noch das α 2-Makroglobulin zu nennen. Die Wirkung dieses Glykoproteins erfolgt im Wesentlichen über die Komplexbildung mit entsprechenden Proteasen, in diesem Fall Plasmin, die eine Endozytose des Proteins bewirkt, wodurch das zentrale Effektormolekül aus dem Gefäßraum entfernt und somit seinem Wirkungsort entzogen wird (Geiger 2010).

Auf Ebene der indirekten Hemmung des Fibrinolysesystems kommen schließlich die wichtigsten spezifischen Serinproteaseinhibitoren PAI-1 und PAI-2 zum Tragen. Diese gehen mit den Hauptaktivatoren t-PA und u-PA kovalente 1:1 Bindungen ein und bilden so inaktive Enzym-Inhibitor-Komplexe, was die Bildung des fibrinolytischen Schlüsselenzyms Plasmin verhindert (Preissner 2008; Geiger 2010). Während PAI-1 auf beide Serinproteasen Einfluss nimmt, beschränkt sich die Wirkung des PAI-2 vor allem auf das u-PA (Preissner 2008).

2.2.1.2.1 Der PAI-1 und seine klinische Bedeutung

Der etwa 50 kDa messende Plasmin-Aktivator-Inhibitor-1 gehört der Serpin-Subfamilie E an und wird daher auch als Serpin E1 bezeichnet (Collatos, Barton et al. 1994; Geiger 2010; Ghosh and Vaughan 2012). Wie alle Serpine ist auch PAI-1 ein einkettiges Glykoprotein, das mit seinem Zielsubstrat eine kovalente Bindung an dem sogenannten „reactive center loop“ eingeht, was die Bildung eines inaktiven Enzymkomplexes zur Folge hat (Geiger 2010). Neben seiner freien aktiven und seiner komplexierten inaktiven Form kann PAI-1 noch in latentem, reaktivierbaren Zustand vorliegen (Geiger 2010). Gebildet wird das Protein durch verschiedenste Zellen, unter anderem Endothelzellen, Hepatozyten, Adipozyten, Makrophagen, Fibroblasten (Ghosh and Vaughan 2012) und Thrombozyten (Brogren, Karlsson et al. 2004). Letzteres erklärt eine wesentlich effektivere Hemmung der Fibrinolyse in plättchenreichen Thromben, wie sie insbesondere im arteriellen System zu finden sind (Preissner 2008). Darüber hinaus sind auch Lungenepithelzellen in der Lage, PAI-1 zu synthetisieren (Shetty, Padijnyayveetil et al. 2008).

Die Exprimierung und Freisetzung aus den Zellen wird unter anderem durch Entzündungsmediatoren, wie Interleukine, TNF- α , IFN- γ oder TGF- β (Transforming Growth

II Literaturübersicht

Factor-beta) stimuliert (Kucharewicz, Kowal et al. 2003) und erlangt im Zuge dessen eine Bedeutung als Akute-Phase-Protein, welches beispielsweise nach schwerem chirurgischen Trauma ansteigt und kennzeichnend für den in der Humanmedizin beschriebenen sogenannten „fibrinolytic shutdown“ ist (Schneiderman and Loskutoff 1991; Geiger 2010). Zum Teil ist der die Expression stimulierende Faktor zellspezifisch – so führt beispielsweise in Lungenfibroblasten das IL-6 zu einer erhöhten PAI-Synthese (Samad, Bergtrom et al. 1994). Darüber hinaus unterliegt, zumindest beim Menschen, die basale Plasmakonzentration zirkadianen Schwankungen mit morgendlichen Höchstwerten und einem Tiefpunkt am Nachmittag (Geiger 2010).

Die Funktion des PAI-1 liegt in seiner schon angesprochenen Inhibierung von t-PA und u-PA. Dabei stellt es den potentesten Inhibitor für die beiden Aktivatorproteasen im gesamten fibrinolytischen System dar. Zusätzlich ist dieses Enzym noch in der Lage, Thrombin und APC zu inaktivieren (Geiger 2010).

Durch die Hemmung von t-PA und u-PA nimmt PAI-1 in logischer Konsequenz erheblichen Einfluss auf die Plasminbildung und dadurch weiter auch indirekt auf die Aktivierung von Matrixmetalloproteasen. Damit spielt es zum einen bei der Kontrolle der Gerinnungsbildung eine wichtige Rolle, hat aber überdies auch zentralen Einfluss auf die Regulation von Gewebeum- und -abbauvorgängen (Ghosh and Vaughan 2012).

Daraus ergeben sich auch die verschiedenen pathologischen Konsequenzen. Während in der Veterinärmedizin diesem, wie auch anderen fibrinolytischen Faktoren, nur vereinzelt Studien zukommen, ist die pathologische Bedeutung des PAI-1 in der Humanmedizin schon sehr detailliert erforscht. So weiß man, dass ein PAI-1 Mangel zu erhöhter oder verlängerter Blutungsneigung und verstärkter Zellproliferation führt und eine übermäßige Produktion dieses Faktors auf die Fibrosierung verschiedener Organe, wie Herz, Lunge, Leber, Niere und Haut (Ghosh and Vaughan 2012) sowie auf die Bildung von Artherosklerosen (Aso 2007) einen wesentlichen Einfluss hat. Im Zusammenhang mit der Fibrosierung kommt dem PAI-1 auch eine besondere Bedeutung bei verschiedenen respiratorischen Erkrankungen zu, worauf im Laufe der Arbeit noch näher eingegangen wird. Darüber hinaus hat die quantitative Bestimmung von PAI-1 zusammen mit u-PA eine wichtige Stellung in der Diagnostik von Mammakarzinomen erlangt. So ist die Erhöhung einer oder beider Faktoren mit einer schlechten Prognose und größeren Rezidivrate vergesellschaftet (Anneck, Schmitt et al. 2008).

Der Nachweis des Serpin E1 kann durch quantitative Detektion des Proteins mittels ELISA oder durch quantitative Bestimmung seiner enzymatischen Aktivität mittels entsprechender Aktivitätsassays erfolgen.

3 Die pulmonale Hämostase beim Menschen

3.1 Allgemeine Pathophysiologie der pulmonalen Hämostase

Im alveolären Kompartiment der gesunden Lunge herrscht im Allgemeinen ein antikoagulatorisches und profibrinolytisches Milieu (Idell, James et al. 1989b; Chambers 2008). Dabei ähneln die Gerinnungs- und Fibrinolyseprozesse denen im Intravasalraum, wobei in den Alveolen die Koagulation ausschließlich über den extrinsischen Weg, via TF-VIIa-Komplex, abläuft (Chapman, Stahl et al. 1988) und die Fibrinolyse überwiegend auf einer Urokinase-Typ Plasminogenaktivator-Aktivität beruht (Idell, Peters et al. 1989a), die in der BALF von gesunden Menschen leicht nachzuweisen ist (Chapman, Allen et al. 1986).

Der Alveolarraum stellt eine eigene hämostatische Einheit dar, was durch die zum Teil natürlich vorhandenen Faktoren und die lokale Expression verschiedener Komponenten (u.a. TF, u-PA, PAI-1) durch Lungenepithelzellen und Alveolarmakrophagen verdeutlicht wird (McGee and Rothberger 1985; Chapman, Bertozzi et al. 1990; Gross, Simon et al. 1990; Bastarache, Wang et al. 2007; Shetty, Padijnayaveetil et al. 2008). Das für die Fibrinbildung essentielle Fibrinogenmolekül hingegen befindet sich normalerweise nicht oder in nur sehr geringen Mengen im intraalveolären Kompartiment und gelangt erst durch Extravasation von Plasmaproteinen an seinen Wirkungsort (Idell, James et al. 1989b; Günther, Mosavi et al. 2000a).

Bei mechanischen oder entzündlichen Schädigungen, bei denen die natürlichen Barrieren wie das Kapillarendothel und insbesondere auch das Alveolarepithel geschädigt werden, kommt es initial zu solch einem Übertritt von Plasmaproteinen (*plasma protein leakage*) und zu einer verstärkten Gerinnungsaktivierung mit vermehrter Fibrinbildung. Dies ist Teil des natürlichen Heilungs- und Reparaturmechanismus und dient als primärer Verschluss der geschädigten Membranen (Günther, Mosavi et al. 2000a).

Wenn die Gerinnungsprozesse jedoch im Übermaß ablaufen und dazu noch für längere Zeit persistent sind, schlägt dieser Heilungsmechanismus in einen pathologischen Prozess um, der langfristig zu dauerhaften Fibrinablagerungen und Fibrosierung führt und damit erheblichen negativen Einfluss auf die Pathogenese und den Verlauf verschiedenster respiratorischer Erkrankungen hat (Nakstad, Lyberg et al. 1990; Akinnusi and El Solh 2007). Das histomorphologische Äquivalent dazu und Charakteristikum vieler Lungenerkrankungen stellen Fibrinablagerungen auf der Alveolaroberfläche dar, sichtbar in Form von hyalinen Membranen (Bachofen and Weibel 1982).

Die – mit der übermäßigen Fibrinbildung gekoppelte – begünstigte Fibrosierung hat ihren Ursprung in schon früh ansetzenden Auswirkungen des Fibrins auf verschiedene pathogenetische Mechanismen. Damit hat dies bei längerer Präsenz erheblichen Einfluss auf den Verlauf der inflammatorischen Prozesse und Reparaturen von geschädigtem Lungengewebe (Idell 2003). So beeinflussen Fibrinderivate unter anderem die Migration von Entzündungszellen (Ciano, Colvin et al. 1986; Leavell, Peterson et al. 1996) und die

Adhäsion sowie Proliferation von Fibroblasten mit folgender Kollagenproduktion (Grinnell, Feld et al. 1980; Gray, Bishop et al. 1995). Die vorhandene Fibrinmatrix wirkt somit also in hohem Maße fördernd auf fibrotische Prozesse und kann am Ende zu irreversiblen Fibrosen führen (Ruppert, Markart et al. 2008).

Ferner ist das Fibrinogenmolekül an der Modulation der Entzündungsantwort beteiligt, indem es an Monozyten bindet, wodurch Transkriptionsfaktoren wie NF- κ B aktiviert werden, was wiederum eine verstärkte Zytokinproduktion zur Folge hat (Sitrin, Pan et al. 1998).

Darüber hinaus führen das Fibrin und seine Derivate zu einer Inhibierung des Surfactant, wodurch die Oberflächenspannung verloren geht, es zu Mikroateletasen und damit zu einer Beeinträchtigung des Gasaustausches kommt (Markart 1999). Diese Dysfunktion entsteht zum einen durch den Einschluss von Surfactantkomponenten in die Fibrinmatrix und eine dadurch gestörte Funktion des Hauptphospholipides Dipalmitoylphosphatidylcholin (DPPC) (Seeger, Elssner et al. 1993) und zum anderen durch Wechselwirkung mit Fibrinogen, Fibrin-Monomeren und anderen Proteinen, wobei die Fibrinmonomere die stärkste Hemmwirkung besitzen (Seeger, Stohr et al. 1985).

Neben dem Fibrinogen und dem Fibrin mit seinen Derivaten weisen auch verschiedene Faktoren der Gerinnung entzündungsmodulatorische Effekte in der Lunge auf (Nieuwenhuizen, de Groot et al. 2009). Der Mechanismus, der diesen Effekten zugrunde liegt, beruht in vielen Fällen auf einer Bindung der Gerinnungsproteine an einen bestimmten Rezeptor, was dann die Expressierung und Freisetzung unter anderem von Zytokinen und Chemokinen zur Folge hat. So können beispielsweise der TF-FVIIa-Komplex und das Thrombinmolekül eine Bindung mit einem proteaseaktivierten Rezeptor (PAR) eingehen, wodurch entsprechend vermehrt Chemokine und Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) bzw. Zytokine, wie IL-6 und -8, freigesetzt werden. (Ollivier, Bentolilla et al. 1998; Coughlin 2000; Wang, Gjernes et al. 2002; Nieuwenhuizen, de Groot et al. 2009). Auch dem F Xa wird eine ähnliche Wirkungsweise zugesprochen (Borensztajn, Stiekema et al. 2008).

3.2 Veränderungen der Hämostase bei ausgewählten respiratorischen Erkrankungen

3.2.1 Veränderungen der Hämostase bei Asthma

Das humane Asthma stellt ein in Ätiologie und Ausprägung heterogenes Krankheitsbild dar, bei dem eine Hyperreagibilität in den Atemwegen auf verschiedene Umweltfaktoren besteht. Durch diese wird eine Immunantwort ausgelöst, die eine akute oder chronische Entzündung der Atemwege mit Atemwegobstruktion zur Folge hat (Holgate 2008).

Bei der Erforschung der Pathogenese dieser Krankheit rückte unter anderem die Hämostase im alveolären Kompartiment in den Fokus der Wissenschaft.

Dabei konnte gezeigt werden, dass Faktoren von Gerinnung und Fibrinolyse sowie das Fibrin mit großer Wahrscheinlichkeit Einfluss auf verschiedene Pathomechanismen haben.

Plasmaexsudation, Fibrinbildung und Hyperreagibilität

Die Entzündungsreaktion beim Asthma geht mit einer erhöhten Gefäßpermeabilität und einem anschließenden Austritt von Plasmaproteinen in das Interstitium und in den luminalen Raum der Atemwege einher (*plasma protein leakage*) (Brogan, Ryley et al. 1975; Persson 1986; Barnes, Boschetto et al. 1990; Yager, Kamm et al. 1995). Zu diesen Plasmaproteinen zählen auch Schlüsselmoleküle der Gerinnung, wie Thrombin und Fibrinogen, die im Expektorat von Asthmapatienten gefunden werden konnten (Pizzichini, Pizzichini et al. 1996; Gabazza, Taguchi et al. 1999). Beide sind bekanntlich wesentlich für die Fibrinbildung.

Das am Ende der Gerinnungskaskade stehende Fibrin wurde von Wagers et al. (2004) histologisch mittels Immunochemie auf der Oberfläche der distalen Atemwege und Alveolen bei einem im Status asthmaticus verstorbenen Patienten gefunden. Diese Funde konnten bei Mäusen mit induzierter allergischer Atemwegsentzündung mittels Ovalbumin reproduziert werden. Die Gerinnung im alveolären Kompartiment scheint demnach verstärkt aktiviert bzw. die Fibrinolyse vermindert zu sein und Fibrinbildung sowie -ablagerung zu begünstigen.

Wagers et al. (2004) zeigten mittels eines Mausmodells außerdem, dass die Proteine des Gerinnungs- und Fibrinolysesystems an dem Pathomechanismus der Hyperreagibilität der Atemwege beteiligt sind. So zeigten Mäuse, die einem mit Fibrinogen gefolgt von Thrombin versetzten Aerosol ausgesetzt wurden, eine erhöhte Hyperreagibilität bei anschließendem Metacholin-Provokationstest verglichen mit Mäusen, die nur eine Salzlösung einatmeten. Die Stärke der Überempfindlichkeitsreaktion verhielt sich dabei entsprechend zu der von Mäusen mit allergischer Atemwegsentzündung (Wagers, Norton et al. 2004).

Darüber hinaus ist Fibrin, wie schon beschrieben, ein potenter Inhibitor des Surfactants (Seeger, Stohr et al. 1985; Seeger, Elssner et al. 1993) und wird von verschiedenen Autoren als wahrscheinliche Ursache der reduzierten Surfactantfunktion beim Asthma genannt (Kurashima, Fujimura et al. 1997; Babu, Woodcock et al. 2003; Wagers, Norton et al. 2004).

Die Faktoren der extrinsischen Gerinnung

Alterationen auf Seiten der Gerinnung spielen bei der Pathogenese des Asthmas eine wesentliche Rolle, worauf Forschungen am Mausmodell sowie auch klinische Studien Hinweise geben. Schon aus der oben bereits aufgeführten Präsenz von Thrombin, Fibrinogen und Fibrin (Pizzichini, Pizzichini et al. 1996; Gabazza, Taguchi et al. 1999; Wagers, Norton et al. 2004) in den Atemwegen bei asthmatischer Erkrankung lässt sich nicht nur auf eine Hemmung der Fibrinolyse, sondern auch auf eine verstärkte Aktivierung der Gerinnung schließen.

Yuda et al. (2004) zeigten dies anhand eines Asthma-Mausmodells, bei dem sie in der BALF von durch Ovalbumin Inhalation exazerbierten Mäusen erhöhte Konzentrationen von Thrombin und löslichem TF nachweisen konnten. Zusätzlich behandelten sie eine Versuchsgruppe mit dem natürlichen Antikoagulans APC. Dies führte über die Hemmung der

II Literaturübersicht

Th2-vermittelten Immunantwort zu einer verringerten Atemwegsobstruktion. Beide Beobachtungen deuten auf eine verstärkte Koagulation hin (Yuda, Adachi et al. 2004).

Shinagawa et al. (2007) untersuchten am Mausmodell den Faktor Xa. Dabei fanden sie erhöhte mRNA Konzentrationen von F X im Lungengewebe sowie eine gesteigerte Aktivität von F Xa in der BALF bei Tieren, bei denen mittels Allergenexposition eine Atemwegsentzündung ausgelöst wurde. Sie deckten einen klaren Bezug dieser Gerinnungskomponenten zur Pathogenese des Asthmas auf. Hier spielt der Faktor Xa scheinbar eine Rolle bei dem Gewebsumbau. So führte die Gabe eines F Xa Inhibitors bei eben diesen Mäusen zu verminderter Hyperreagibilität der Atemwege sowie einer signifikanten Abnahme der Mukosadicke und der Kollagenablagerungen in der Lunge. Zudem konnten sie anhand von Zelllinien eine, von der F Xa Menge abhängige, vermehrte Mucinproduktion *in vitro* feststellen (Shinagawa, Martin et al. 2007).

Dass für die Aktivierung des Faktors X der Faktor VIIa und somit der extrinsische Gerinnungsweg ausschlaggebend ist, konnten Shinagawa et al. (2009) in einer weiteren Studie zeigen. Hier wiesen F VII-defiziente Mäuse eine verringerte Reaktivität auf Allergenexposition auf als der Wildtyp. Dies äußerte sich in einer geringeren Mukosawanddicke und Mucinproduktion sowie einer abgeschwächten Hyperreagibilität der Atemwege – also eine genau gegensätzliche Entwicklung der Eigenschaften, wie sie im Zusammenhang mit einer vermehrten F Xa-Aktivität auftraten. Zudem zeigten die Ergebnisse der Studie, dass F VIIa die Zahl der eosinophilen Granulozyten und Th2-assoziierten Zytokine erhöht (Shinagawa, Ploplis et al. 2009).

Wie schon erwähnt, finden sich neben diesen Beobachtungen am Mausmodell analoge Verhältnisse auch beim Menschen. So konnten Schouten et al. (2009) mit ihrer Studie an Asthmapatienten zeigen, dass hier die Gerinnung im alveolären Kompartiment erhöht ist und durch Allergenexposition noch verstärkt wird. Neben gemessenen Erhöhungen der Gerinnungsindikatoren (TAT, löslicher TF, lösliches Thrombomodulin (TM)) wurde zusätzlich eine verminderte APC Konzentration festgestellt, was, ebenso wie die oben aufgeführte Studie von Yuda et al. (2004), auf die Bedeutung dieses natürlichen Antikoagulanz beim Asthma hinweist.

Gabazza et al. (1999) konnten signifikant höhere Konzentrationen an Thrombin, TAT und TF im Expektorat von Patienten mit bronchialem Asthma verglichen mit gesunden Probanden messen. Auch hier wird der Bezug zur Pathophysiologie in den Atemwegen deutlich. So zeigten sie einen positiv-proliferativen Effekt des Sputums von Asthmatikern und von Thrombin im Speziellen anhand von Zellkulturen aus glatten Muskelzellen der Bronchien. Darüber hinaus wurde eine signifikant positive Korrelation zwischen bronchialer Hyperreagibilität, induziert durch Metacholin, und der Thrombin-Konzentration herausgefunden, was zusammen mit den anderen Feststellungen die Bedeutung der Gerinnung für die Pathogenese des Asthmas, speziell des Gewebeumbaus, verdeutlicht (Gabazza, Taguchi et al. 1999). Derselbe Zusammenhang zwischen Thrombin und dem „airway remodeling“ beim Asthma wurde auch von Terada et al. (2004) herausgestellt.

II Literaturübersicht

Im Zeitraum vor einer akuten Exazerbation scheint diese Aktivierung der extrinsischen Gerinnungskaskade verstärkt abzulaufen, wie ein Case Report aus England zeigt (Brims, Chauhan et al. 2010). In dem induzierten Sputum eines Patienten kurz vor einer akuten Exazerbation wurden, im Vergleich zu anderen Asthmapatienten, eine vermehrte Plasmaexsudation, erhöhte Werte an Fibrinogen, TF und Plasminogen gemessen. Auch PAI-1 und TAFI waren deutlich vermehrt, was unter anderem, über die Hemmung der Plasminogenation, den hohen Plasminogenwert erklären könnte (Brims, Chauhan et al. 2010). Zudem wies das Expektorat sehr hohe Konzentrationen an D-Dimeren auf (70-mal höher als der Median von mittelgradig Erkrankten), was, in Verbindung mit den erhöhten PAI-1 und TAFI-Leveln, einer massiven Fibrinbildung mit hohem Fibrinumsatz zugesprochen werden kann (Brims, Chauhan et al. 2010). Unveränderte F VIIa Konzentrationen wurden als Ausdruck des Verbrauchs durch die Einbindung in den TF-FVIIa-FXa-Komplex angesehen. Zusammengenommen lassen diese Verhältnisverschiebungen auf eine Aktivierung der extrinsischen Gerinnungen, möglicherweise mit einer verringerten Fibrinolyse, in den Atemwegen bei Asthma kurz vor der Exazerbation schließen und bieten Anhaltspunkte für mögliche diagnostische Biomarker (Brims, Chauhan et al. 2010). In der Studie, aus der dieser Case Report entstand, fanden Brims et al. (2009) auch bei hochgradigem Asthma ein profibrotisches antifibrinolytisches Milieu. Zusätzlich wurde hier der Einfluss einer Kortikosteroidinhalation mit einbezogen. Unter dieser Therapie zeigten sich signifikant verminderte Plasminogen und t-PA Konzentrationen. Die Autoren beleuchten zum einen den daraus resultierenden positiven Effekt – und zwar, dass durch die eingeschränkte Fibrinolyse die fibrinabhängige Reparatur des Atemwegsepithels unterstützt wird. Zum anderen wird aber auch der negative Einfluss, den die herabgesetzte Fibrinolyse hat, angemerkt. So bestand eine signifikant positive Korrelation zwischen der Medikamentendosis und der PAI-1 Konzentration im Sputum mittelgradig und hochgradig erkrankte Asthmatiker, was sich laut Brims et al. (2009) mit allgemeinen Belegen für eine erhöhte PAI-1- und TAFI-Expression durch Kortikosteroide deckt (Saksela and Rifkin 1988; Boffa and Koschinsky 2007; Brims, Chauhan et al. 2009). Laut der Autoren könnte die Folge der Kortikosteroidgabe mit anschließender Erhöhung dieser Faktoren eine exzessive Fibrinbildung sein, die dann ihren Beitrag zur Atemwegsverengung und -hyperreagibilität leisten würde (Brims, Chauhan et al. 2009). Der Zusammenhang zwischen Fibrin und PAI-1 mit der Pathogenese beim Asthma wird im folgenden Abschnitt genauer dargestellt.

Die Fibrinolyse und die Rolle des PAI-1

Als Ursache für die verstärkten Fibrinablagerungen wird neben der, bereits genannten, Exsudation von Plasmaproteinen und ihrer nachfolgenden Ansammlung auf der Atemwegsoberfläche auch die Hemmung des Fibrinolysesystems angeführt, worauf Messungen erhöhter PAI-1 Aktivität gekoppelt mit verminderter PA Aktivität im Lungengewebe von Mäusen mit allergischer Atemwegsentszündung hindeuten (Wagers, Norton et al. 2004). Unterstützt wird diese Vermutung durch die verminderte

II Literaturübersicht

Reaktivitätsantwort auf Metacholin bei Mäusen mit allergischer Atemwegsentzündung, die einem mit t-PA angereicherten Aerosol ausgesetzt wurden. Das t-PA aktiviert in diesem Fall die Fibrinolyse wieder, wie Messungen signifikant erhöhter D-Dimer Konzentrationen in der BALF dieser Tiere zeigen. Diese Beobachtungen lassen rückschließend wieder einen Zusammenhang zwischen dem Pathomechanismus der Hyperreagibilität und der Hämostase und Fibrinolyse mit ihren Komponenten erkennen (Wagers, Norton et al. 2004).

Wie schon die Arbeit von Wagers et al. (2004) zeigt, scheint PAI-1 eine besondere Bedeutung in der Pathogenese asthmatischer Erkrankungen zu haben. Dieser Faktor fungiert nicht nur im Plasma, sondern auch im Alveolarraum als Hauptinhibitor des sogenannten Plasminogen Activation System (PAS) und somit der Fibrinolyse (Idell, James et al. 1989b; Lijnen and Collen 1995).

Als Inhibitor der Plasminbildung wird dem PAI-1 außerdem eine wesentliche Rolle beim Gewebeumbau, unter anderem im Respirationstrakt, zugesprochen (Eitzman, McCoy et al. 1996; Oh, Ariue et al. 2002; Cho, Ryu et al. 2004). Das Plasmin wirkt positiv auf den Fibrinabbau und die Aktivierung von Matrix-Metalloproteasen ein (Ghosh and Vaughan 2012). Matrix-Metalloproteinasen sind eine Gruppe von Peptidasen, die als Proenzym freigesetzt werden und nach ihrer Aktivierung, unter anderem durch Plasmin, vor allem durch Proteinspaltung am Abbau von Extrazellulärer Matrix (EZM) und somit am Gewebeumbau beteiligt sind (Collen 1999). Bei asthmatischen Krankheitsprozessen spielt insbesondere MMP-9 eine Rolle (Mautino, Oliver et al. 1997). Eine vermehrte PAI-1 Aktivität fördert also nicht nur die Fibrinbildung, sondern hemmt auch über die gestörte Plasminbildung indirekt die Aktivität von MMPs, speziell von MMP-9, was dann zu vermehrter Ablagerung von EZM in den Atemwegen führt (Oh, Ariue et al. 2002; Cho, Ryu et al. 2004). Als Folge dessen kann dieser Mechanismus schließlich eine Fibrosierung des Lungengewebes begünstigen (Hattori, Degen et al. 2000; Kucharewicz, Kowal et al. 2003; Liu 2008) und hat somit Einfluss auf die Pathogenese des Asthmas (Elias, Zhu et al. 1999; Jeffery 2001).

Darüber hinaus lässt sich auch auf Ebene der Regulation der PAI-1 Expression ein Zusammenhang mit dem Asthma erkennen. Cho et al. (2004) weisen in ihrer Arbeit darauf hin, dass die Gentranskription von PAI-1 durch verschiedene Entzündungsmediatoren, wie beispielweise IL-1 β , TNF- α und TGF- β initiiert wird (Schleef, Bevilacqua et al. 1988; Meulders, He et al. 1992; Dennler, Itoh et al. 1998; Cho, Ryu et al. 2004; Terada, Kelly et al. 2004) – Zytokine, die während der Entzündungsreaktion des Asthmas vermehrt auftreten (Tanaka, Masuda et al. 2001; Horiba, Qutna et al. 2011).

Zudem wurde eine Verknüpfung auf genetischer Ebene zwischen der PAI-1 Ausprägung und Vorkommen der asthmatischen Erkrankung festgestellt. So ist ein Polymorphismus des Allels der Promoter-Region des PAI-1 Genes, der sogenannte 4G/5G-Polymorphismus, bekannt. Die genotypische Ausprägung von 4G/5G bzw. 4G/4G ist mit erhöhten PAI-1 Konzentrationen im Plasma verbunden und es besteht weiter eine Korrelation dieser Allele mit dem Auftreten von Asthma (Dawson, Wiman et al. 1993; Eriksson, Kallin et al. 1995; Cho, Hall et al. 2001; Buckova, Izakovicova Holla et al. 2002).

II Literaturübersicht

Die Mastzellen des Respirationstraktes, die in der Pathophysiologie des Asthmas eine wichtige Funktion für die Entzündungsmodulation besitzen (Bradding, Walls et al. 2006; Holgate 2008), wurden als bedeutende Quelle für PAI-1 ausgemacht (Cho, Tam et al. 2000; Ma, Jhun et al. 2007; Ma, Paek et al. 2009). Cho et al. (2000) konnten beispielsweise *in vitro* eine erhöhte Freisetzung von aktivem PAI-1 aus stimulierten Mastzellen zeigen. Zusätzlich konnten sie PAI-1 Vorkommen in Lungenmastzellen von einem Patienten, der an einem schweren Asthmaanfall verstorben war, histologisch darstellen.

Neben der Bereitstellung durch Mastzellen, wird PAI-1 auch von den Epithelzellen der Bronchien und Alveolen exprimiert (Chu, Cheng et al. 2006; Stevens, Kicic et al. 2008), wobei dem Faktor in diesem Zusammenhang initial eine positive Eigenschaft zugesprochen werden kann. So spielt er, unter anderem durch Förderung der Zellmigration und in diesem Fall auch durch Blockade der Proteolyse und damit des Fibrinabbaus, eine unterstützende Rolle bei physiologischen Reparaturprozessen von geschädigtem Epithelgewebe (Maquerlot, Galiacy et al. 2006; Stevens, Kicic et al. 2008). Inwieweit dies bei Asthmapatienten jedoch von Bedeutung ist, ist unklar. Steven et al. (2008) zeigten zwar einen signifikanten Anstieg von PAI-1, nicht nur bei gesunden sondern vor allem auch bei asthmatischen Alveolarzellen, jedoch scheint dies bei letzteren nicht zur Regeneration beizutragen. Im Gegensatz scheint das, den Epithelzellen des Respirationstraktes von Asthmapatienten innewohnende, Unvermögen der Barriereregeneration bestehen zu bleiben.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die bestehenden Forschungsergebnisse Hinweise und Belege dafür liefern, dass beim Asthma im alveolären Kompartiment eine Tendenz zu prokoagulatorischen und antifibrinolytischen Verhältnissen mit vermehrter Fibrinbildung besteht. Dabei zeigt sich ein Einfluss der Faktoren von Gerinnung und Fibrinolyse direkt oder auch indirekt, zum Beispiel über das Fibrin, auf die Ausprägung der Entzündungsantwort, auf die Mukosawanddicke und die Muzinproduktion (dadurch auf die Obstruktion) sowie auf die Hyperreagibilität der Atemwege und damit letztendlich auf Schlüsselemente in der Pathogenese des Asthmas.

3.2.2 Veränderungen der Hämostase bei ARDS

Das akute Lungenversagen, das Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS), des Erwachsenen resultiert aus einer akuten Schädigung der Lunge (primär durch einwirkende Noxen oder sekundär aus einer systemischen Erkrankung heraus resultierend), die mit einer diffusen Alveolarschädigung (Diffuse Alveolar Damage, DAD) einhergeht. Einer akut entzündlich exsudativen Phase schließt sich eine organisierende proliferative Phase an, die das Ziel der Reparatur und Regeneration hat. Je nach Schwere und Verlauf kommt es zu einer teilweisen Gewebsregeneration, oder aber zu einer chronischen Fibrosierung und folgender, persistierender respiratorischer Insuffizienz. Die *restitutio ad integrum* wird in den seltensten Fällen erreicht.

II Literaturübersicht

Ein charakteristisches, histomorphologisches Kennzeichen von akuten Lungenschädigungen, so auch des ARDS, sind vermehrte Fibrinablagerungen auf der Alveolaroberfläche, die sich als hyaline Membranen darstellen (Bachofen and Weibel 1982). Den Fibrinablagerungen und Fibrosen wird eine große Bedeutung in der Pathogenese dieser Krankheit zugeschrieben.

Ursächlich für die vermehrten und persistierenden extravaskulären Fibrinakkumulationen und deren Folgen sind, neben einem *plasma protein leakage*, vor allem Verschiebungen im Hämostasegleichgewicht im alveolären Kompartiment. Dabei konnten Alterationen auf beiden Seiten, der Gerinnung und der Fibrinolyse, gezeigt werden (Idell, Gonzalez et al. 1987b; Idell, Peterson et al. 1988; Idell, Peters et al. 1989a; Ware, Fang et al. 2003)

Schon früh wurden diese Gleichgewichtsverschiebungen und deren zugrunde liegende Mechanismen anhand von verschiedenen Nager- und Säugetiermodellen, unter anderem an Pinseläffchen (Idell, Gonzalez et al. 1987a), Kaninchen (Sitrin, Brubaker et al. 1987), Schafen (Idell, Peterson et al. 1988) und Schimpansen (Johanson, Holcomb et al. 1982), untersucht. Bei den Tieren wurde entsprechend mit verschiedenen Noxen (Bleomycin, Ölsäure, Phorbol-myristat-acetat, 100%iger Sauerstoff) eine akute Lungenschädigung ausgelöst und anschließend anhand von bronchoalveolärer Lavageflüssigkeit die hämostatischen Verhältnisse im Extravasalraum analysiert. Die Ergebnisse zeigten einheitlich einen Anstieg der prokoagulatorischen Aktivität, der mit histologisch nachweisbaren intraalveolären Fibrinablagerungen korrelierte.

Die Gerinnungsaktivierung ist hierbei vor allem dem extrinsischen Weg, charakterisiert durch den TF-VIIa-Komplex, zuzuschreiben (Idell, Gonzalez et al. 1987a; Idell, Peterson et al. 1988; Idell, Peters et al. 1989a).

Möglichen Einfluss auf die Aktivierung der Gerinnungskaskade haben außerdem natürliche Antikoagulantien wie das APC, welches bei ARDS in verminderter Konzentration gefunden wird. Hier korreliert es mit einem schlechteren Krankheitsverlauf, was sich möglicherweise durch seinen Effekt einer verminderten Zytokin-Produktion und Leukozytenanhaftung an Epithelzellen sowie einer Neutralisierung von PAI-1 erklären lässt (Ware, Fang et al. 2003). Zugleich findet sich in der Ödemflüssigkeit von ARDS Patienten das, lokal durch Pneumozyten Typ II produzierte, Protein C aktivierende Thrombomodulin in zweifacher Konzentration gegenüber Serum oder gesunden Probanden.

Neben der Gerinnungskomponente ist auch die fibrinolytische Seite Gegenstand der Untersuchungen von pathogenetischen Hintergründen des ARDS.

Am Tiermodell wurde nach Induktion eines DAD durch schon genannte Noxen parallel zu einer erhöhten Gerinnungsaktivität eine verminderte bis fehlende fibrinolytische Aktivität gemessen (Idell, Peterson et al. 1988; Idell, Peters et al. 1989a). Dies korrelierte wiederum mit charakteristischen alveolären Fibrinablagerungen.

Für die herabgesetzte Fibrinolyseaktivität konnte ein dualer Hemmmechanismus herausgestellt werden. So wurde die Bildung von Plasmin zum einen direkt, über erhöhte $\alpha 2$ -Antiplasmin Aktivität, geblockt und zum anderen indirekt über die Hemmung des Plasminogenaktivators (u-PA) durch erhöhte Plasminogenaktivatorinhibitor (PAI-1) Aktivität.

II Literaturübersicht

Dieser zweifache Angriff auf die Generierung des Fibrinolyse-Schlüsselmoleküls (Plasmin) ist potent genug, um die nach induziertem DAD ebenfalls gemessene Erhöhung von Plasminogen im Alveolarraum zu neutralisieren und somit trotz gesteigerter Proenzym-Konzentration einen deutlichen Abfall der fibrinolytischen Aktivität zu bewirken (Idell, Peters et al. 1989a). Darüber hinaus konnten Idell et al. (1989a) feststellen, dass die bei Gesunden vorhandene fibrinolytische Aktivität im alveolären Kompartiment Urokinase vermittelt ist.

Neben den Forschungen an Tiermodellen wurden die Verschiebungen im intraavleolären Hämostasegleichgewicht bei ARDS schließlich auch anhand von klinischen Studien eruiert. Die Ergebnisse deckten sich dabei weitestgehend mit den Erkenntnissen aus den Tiermodellen. So zeigten sich auch hier erhöhte prokoagulatorische Aktivitäten (PCA) bei einer gleichzeitig verminderten fibrinolytischen Aktivität (Idell, Gonzalez et al. 1987b; Idell, James et al. 1989b; Idell, Koenig et al. 1991; Fuchs-Buder, de Moerloose et al. 1996).

Der deutliche Anstieg der Gerinnungsaktivität in der BALF von ARDS Patienten konnte in allen klinischen Studien registriert werden, wobei Idell et al. (1987b) die ersten waren, die eine TF-FVIIa vermittelte FX-Aktivierung als Ursache für diese erhöhte lokale PCA abseits des Tiermodells ermittelten und beschrieben (Idell, Gonzalez et al. 1987b). Die daraus resultierende, histomorphologisch anhand von entsprechenden Ablagerungen beschriebene, Fibrinbildung konnte auch schon *in vivo* gezeigt werden. So spiegeln erhöhte Konzentrationen von dem Fibrinogenspaltprodukt Fibrinopeptid A in der BALF eine vermehrte Umwandlung von Fibrinogen in Fibrin beim ARDS wider (Idell, Koenig et al. 1991). Fuchs-Buder, de Moerloose et al. (1996) maßen parallel zu einem PCA-Anstieg auch eine höhere Konzentration an D-Dimeren, was sie als Ausdruck eines verstärkten Fibrinumsatzes und im Umkehrschluss somit einer vermehrten Fibrinbildung deuteten (Fuchs-Buder, de Moerloose et al. 1996). Kontrovers hierzu sind Ergebnisse von Idell et al. (1991), bei denen nur geringe D-Dimer-Konzentrationen gemessen und als Ausdruck der gehemmten Fibrinolyseaktivität interpretiert wurden.

Neben den Veränderungen auf Seiten der Gerinnung konnte in den klinischen Studien bei Patienten mit ARDS ebenso Alterationen auf Seiten der Fibrinolyse gefunden werden. So wurde bei betroffenen Personen oft überhaupt keine fibrinolytische Aktivität mehr in der BALF gemessen, was, wie schon im Tiermodell gezeigt, auf einer doppelten Hemmung der Aktivierungs-Kaskade durch α 2-AP und PAI-1 beruht (Idell, James et al. 1989b; Idell, Koenig et al. 1991). Die Tatsache, dass im Gegensatz dazu in der BALF von gesunden Probanden eine Detektion dieser beiden Serinprotease-Inhibitoren nicht möglich war, ließ Idell et al. (1989b) schlussfolgern, dass beide (α 2-AP und PAI-1), zusammen mit dem Plasminogen und Fibrinogen, erst durch die veränderte Gefäßpermeabilität im Zuge einer ARDS-Erkrankung in das alveoläre Kompartiment übertreten.

Diese Ergebnisse decken sich weitestgehend mit denen von Bertozzi, Astedt et al. (1990), wobei hier noch ein weiterer, indirekter Beweis für das Einwirken von Plasminogenaktivator-Inhibitoren, speziell auf das u-PA, geliefert wurde. So blieben u-PA-Antigen Level in der BALF von ARDS Patienten unverändert, während die u-PA-vermittelte fibrinolytische Aktivität deutlich abnahm (Bertozzi, Astedt et al. 1990).

II Literaturübersicht

In einer weiteren, 68 ARDS-Patienten umfassenden, klinischen Studie konnte ebenfalls ein PCA Anstieg (fast zweifach) gekoppelt mit einem PAI-1/ α 2-AP-abhängigen Abfall der fibrinolytischen Aktivität festgestellt werden (Günther, Mosavi et al. 2000a). Kontrovers zu der Studie von Bertozzi et al. (1990) wurde hier eine signifikante Verringerung von u-PA-Antigen festgestellt. Darüber hinaus erfassten Günther et al. (2000a) deutlich erhöhte Mengen an Fibrinopeptid A und D-Dimeren in der BALF. Ersteres (Fibrinopeptid A-Erhöhung) schließt sich somit den Beobachtungen von Idell et al. (1991) an und Letzteres (D-Dimer-Erhöhung) bestätigt die Messungen und Vermutungen bezüglich des Fibrinumsatzes von Fuchs-Buder, de Moerloose et al. (1996).

Zwar zeigen die verschiedenen Studienergebnisse einheitlich ein Wirken von beiden Proteasehemmern, PAI-1 und α 2-Antiplasmin, jedoch scheint PAI-1 die größere pathogenetische Bedeutung zu haben. Hinweise darauf liefert ein Versuch am Tiermodell mit transgenen Mäusen (-/- = PAI-1 defizient, +/- = Wildtyp, +/+ = PAI-1 Überexpression), bei denen mittels Belomycin-Inhalation eine akute Lungenschädigung ausgelöst wurde. Die homozygot PAI-1 gendefizienten Mäuse (-/-) entwickelten nachfolgend keine Lungenfibrosen, was die Bedeutung dieses Faktors hierfür zeigt (Eitzman, McCoy et al. 1996). Darüber hinaus ergaben sich Anhaltspunkte, nach denen der PAI-1 als prognostischer Marker für den Verlauf nach einem akuten Lungenschaden dienen könnte (Prabhakaran, Ware et al. 2003). So korrelierten erhöhte PAI-1 Level positiv mit der Mortalitätsrate, was ebenfalls die Bedeutung dieses Serpins hervorhebt.

Neuere Forschungen beschäftigen sich mit Regulationsmechanismen für die Expression von u-PA, u-PA-Rezeptor (u-PAR) und PAI-1 auf posttranskriptionaler Ebene sowie für die Aktivierung der Generation dieser Proteine durch u-PA selber (Shetty and Idell 2001; Idell 2002; Shetty, Pendurthi et al. 2002; Shetty, Bdeir et al. 2003). Es wurden bestimmte, an die mRNA bindende, Proteine entdeckt (u-PA mRNABp, u-PAR mRNABp, PAI-1 mRNABp), die im Zusammenhang mit einer Destabilisierung der mRNA stehen und somit Einfluss auf die Translation haben (Shetty, Kumar et al. 1997; Shetty and Idell 2000; Shetty, Velusamy et al. 2010). Allerdings braucht es noch weitere Studien, die die genaue Bedeutung dieser Mechanismen auf die Modulation der Fibrinolyse bei akuten Lungenschädigungen *in vivo* entschlüsseln (Idell 2002).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die intraalveolären Veränderungen von Gerinnungs- und Fibrinolysekomponenten bei ARDS eine wesentliche Bedeutung in den Pathomechanismen und in Bezug auf den Krankheitsverlauf haben. Schlüsselpunkte sind hierbei unter anderem der Einstrom von Plasmaproteinen infolge der erhöhten Gefäßpermeabilität, eine Verhältnisverschiebung von verschiedenen Faktoren hin zu prokoagulatorischen und antifibrinolytischen Bedingungen sowie die charakteristische Fibrinbildung- und Ablagerung mit den durch das Fibrin bedingten negativen Folgen (Surfactant-Inaktivierung, Fibroblastenproliferation, proinflammatorische Wirkungen).

Der Gewinn detaillierter Kenntnisse über die hämostatischen Verhältnisse im alveolären Kompartiment liefert die Basis für die Erforschung neuer Therapieansätze, die die Fibrinbildung stoppen und den Krankheitsverlauf beim ARDS positiv beeinflussen könnten.

3.2.3 Veränderungen der Hämostase bei interstitiellen Pneumopathien

Die interstitiellen Lungenerkrankungen (Interstitial Lung Diseases, ILD) umfassen in der Humanmedizin eine große heterogene Gruppe mit über einhundert verschiedenen Erkrankungen, denen eine Fibrosierung des Parenchyms und der Alveolen mit resultierenden schweren Gasaustauschstörungen sowie Verringerung der Lungen-Compliance gemein ist. Dabei gibt es zum einen Formen mit bekannter Ätiologie, wie zum Beispiel die Sarkoidose oder die – unter anderem durch eingeatmete Stäube verursachte – exogene allergische Alveolitis (EAA), die aus einem chronischen Entzündungsprozess resultieren und zum anderen solche unbekannter Genese, wie beispielsweise die idiopathische pulmonale Fibrose (IPF) (Günther, Mosavi et al. 2000b).

Zu den Gründen für die veränderten Reparaturmechanismen und den damit einhergehenden exzessiven Ablagerungen von extrazellulärer Matrix bei diesen Erkrankungen wird, wie bei anderen Lungenerkrankungen auch, eine Verschiebung im pulmonalen Hämostasegleichgewicht mit prokoagulatorischen und antifibrinolytischen Tendenzen gezählt (Günther, Mosavi et al. 2000b; Ruppert, Markart et al. 2008; Wygrecka, Jablonska et al. 2008).

Hinweisgebend sind auch hier Untersuchungen an Tiermodellen sowie klinische Untersuchungen am Menschen direkt, wobei für die experimentellen Studien das, auch in der ARDS-Forschung eingesetzte, Bleomycin-Modell angewandt und übergreifend interpretiert wird. Dieses Tiermodell ist auch für fibrotische Lungenerkrankungen – zumindest für die entzündlich bedingten – repräsentativ, da die Auslösung eines akuten Lungenschadens mit Bleomycin eine fibroproliferative Reaktion mit chronischen Fibrosierungsprozessen nach sich zieht (Eitzman, McCoy et al. 1996; Swaisgood, French et al. 2000; Günther, Lubke et al. 2003). Durch eben diesen Zusammenhang und die Tatsache, dass eine chronisch interstitielle Lungenerkrankung aus einer akuten Pathologie entstehen kann, ähneln sich die hämostatischen Verhältnisse beider Erkrankungsgruppen stark und sollen daher hier nur in ihren Grundzügen beschrieben werden.

Die verschiedenen tierexperimentellen Studien zeigen auch für die interstitiellen Lungenerkrankungen das Missverhältnis zwischen Gerinnung und Fibrinolyse und die Bedeutung der einzelnen Faktoren auf (Eitzman, McCoy et al. 1996; Swaisgood, French et al. 2000). Eitzman, McCoy et al. (1996) stellen in ihrer schon bei ARDS aufgeführten Studie die besondere Bedeutung des PAI-1 heraus. So konnte bei Mäusen mit einer genetisch bedingten PAI-1 Überexpression anhand von Hydroxyprolin-Analysen eine signifikante Erhöhung des Kollagengehaltes im Lungengewebe nachgewiesen werden (Eitzman, McCoy et al. 1996). Zusätzlich zeigte sich eine Korrelation zwischen dem Fibringehalt und dem

II Literaturübersicht

Fibrosierungs- sowie Entzündungsgrad. Swaisgood, French et al. (2000) untersuchten t-PA, u-PA und Plasminogen defiziente Mäuse und konnten in histologischen Untersuchungen 14 Tage nach Belomycin-Insult bei ebendiesen Tieren im Vergleich zu Kontrollen verstärkt interstitielle Fibrosen nachweisen (Swaisgood, French et al. 2000). Diese beispielhaft für viele weitere experimentelle Studien am Tiermodell stehenden Untersuchungen zeigen, dass die fibrinolytischen Komponenten eine wesentliche Rolle in der Ausbildung fibrotischer Veränderungen in der Lunge spielen und eine Imbalance zugunsten der hemmenden Faktoren des fibrinolytischen Systems Fibrosierungsprozesse begünstigt. Therapiestudien unterstreichen die darin liegende Bedeutung, so zum Beispiel die Untersuchungen von Günther, Lubke et al. (2003) am Bleomycin-Modell beim Hasen. Hier gelang eine erfolgreiche therapeutische Interventionen in Form von Regression der Fibrosierung durch inhalative Verabreichung des Antikoagulanz Heparin und des Fibrinolytikums u-PA (Urokinase) (Günther, Lubke et al. 2003).

Auch verschiedene klinische Studien am Menschen konnten ein alveoläres Ungleichgewicht mit antifibrinolytischen und prokoagulatorischen Verhältnissen zeigen. So stellten Untersuchungen der BALF von Patienten mit ILD unterschiedlicher Genese signifikante Erhöhungen der prokoagulatorischen Aktivität heraus, die wie auch bei anderen respiratorischen Erkrankungen vor allem TF/FVIIa-vermittelt war (Hasday, Bachwich et al. 1988; Kotani, Sato et al. 1995; Günther, Mosavi et al. 2000b). Günther, Mosavi et al. (2000b) schlossen die Formen einer EAA, einer IPF und einer Sarkoidose in ihr Probandengut mit ein und konnten einheitlich eine signifikant erhöhte PCA sowie D-Dimer Konzentrationen als Ausdruck eines erhöhten Fibrinumsatzes feststellen. Auch wenn hier keine signifikant verringerte relative fibrinolytische Aktivität gemessen werden konnte, wurden dennoch deutlich erhöhte AP-Spiegel sowie signifikante Aktivitätsminderungen von u-PA ermittelt und damit eine antifibrinolytische Tendenz aufgedeckt (Günther, Mosavi et al. 2000b). Dies steht in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Hasday, Bachwich et al. (1988), die bei Sarkoidose-Patienten ebenfalls neben einer PCA-Erhöhung eine signifikant verminderte u-PA Aktivität ermittelten konnten und mit den Ergebnissen von Kotani, Sato et al. (1995), die bei IPF-Patienten eine signifikante Erhöhung speziell für PAI-1 feststellten.

Der Zusammenhang zwischen den nachgewiesenen prokoagulatorischen und antifibrinolytischen Bedingungen und der folgenden Entwicklung von Fibrosen lässt sich vor allem aus den – in Abschnitt 3.1 „Allgemeine Pathophysiologie der pulmonalen Hämostase“ dieses Kapitels näher beschriebenen – profibrotischen Eigenschaften der Fibrinmatrix sowie der – in Abschnitt 2.2.1.1.1 „Die Plasminwirkung und die Entstehung der D-Dimere“ beschriebenen Bedeutung des fibrinolytischen Effektormoleküls Plasmin in Bezug auf die Umbauvorgänge an der EZM erklären.

3.2.4 Veränderungen der Hämostase bei Pneumonien

Auch bei Pneumonien, bei denen es sich um akute oder chronische Entzündungen des Lungengewebes handelt, sind Fibrinablagerungen in den Alveolen ein charakteristisches Kennzeichen (Burkhardt 1989; McDonald 1990), wobei diese hier oft nur temporär auftreten und sich anschließend eine vollständige Heilung des geschädigten Gewebes einstellt (Günther, Mosavi et al. 2000a). Auch bei dieser Erkrankung kommt es initial zu einer partiellen Aufhebung der Barriere von Alveolarendothel und -epithel und einem Übertritt von Plasmaproteinen in den Alveolarraum (Günther, Mosavi et al. 2000a).

Im Allgemeinen können, wie auch bei anderen respiratorischen Erkrankungen, hämostatische Verschiebungen mit eindeutig prokoagulatorischen Verhältnissen in den Alveolen vorgefunden und für die vermehrten Fibrinablagerungen verantwortlich gemacht werden, was verschiedene Studien belegen (Nakstad, Lyberg et al. 1990; de Moerloose, De Benedetti et al. 1992; Günther, Mosavi et al. 2000a; Schultz, Millo et al. 2004).

Der mit der vermehrten Fibrinbildung gekoppelte erhöhte Fibrinumsatz drückt sich, wie auch beim ARDS, in erhöhten Fibrinopeptid A und D-Dimer Konzentrationen aus (Nakstad, Lyberg et al. 1990; Günther, Mosavi et al. 2000a).

Ebenso läuft die Gerinnungskaskade bei dieser Krankheitsform hauptsächlich über den extrinsischen Weg ab, was unter anderem durch eine gleichzeitige Erhöhung von Fibrinopeptid A zusammen mit TF und eine Unterdrückung von > 95 % der Gerinnungsaktivität durch Zugabe eines antihuman TF-Antikörpers zum Ausdruck kommt (Nakstad, Lyberg et al. 1990; Günther, Mosavi et al. 2000a). Spätere Studien unterstützen diese Hypothese (Schultz, Millo et al. 2004; Rijneveld, Weijer et al. 2006).

Günther et al. (2000) setzten ihren Untersuchungsschwerpunkt vor allem auch auf die fibrinolytischen Verhältnisse im alveolären Kompartiment. Wie bei ARDS fand sich bei den Pneumonie-Patienten neben der genannten erhöhten prokoagulatorischen Aktivität zusätzlich eine verminderte fibrinolytische Aktivität, die sich in signifikant erhöhten PAI-1- und α 2-AP-Konzentrationen sowie signifikant erniedrigten u-PA-Konzentrationen widerspiegelte.

Die Ergebnisse der Studien zeigen, dass auch bei Pneumonien im alveolären Kompartiment eine Verschiebung des hämostatischen Gleichgewichts hin zu prokoagulatorischen und antifibrinolytischen Verhältnissen vorherrscht, was mit dem Vorkommen von lokalen Fibrinablagerungen und Fibrinabbauprodukten einhergeht.

4 Die Hämostase beim Pferd

4.1 Die pulmonale Hämostase beim Pferd

Im Gegensatz zu der Humanmedizin gibt es in der Pferdemedizin bisher keine Studien, die sich mit der fibrinolytischen Aktivität im alveolären Kompartiment beschäftigt haben. Allerdings sind verschiedene Forschungsergebnisse zur Gerinnungsaktivität vorhanden, die vermuten lassen, dass auch bei den Equiden pathologische Prozesse in der pulmonalen Hämostase ablaufen, die denen des Menschen ähneln.

Grünig et al. (1988) entdeckten laut eigenen Angaben durch Zufall, dass der zellfreie Überstand von Sekreten des Respirationstraktes von Pferden die Gerinnung von Plasma auslösen kann. Daraufhin untersuchten sie mit einem einphasigen Gerinnungstest, der dem Quick Test analog ist, die prokoagulatorische Aktivität (PCA) in unverdünntem TBS von 103 Patienten mit chronischen Lungenerkrankungen und konnten bei 59% (n=61) dieser Proben eine Gerinnungsaktivität feststellen (Grünig, Hermann et al. 1988). Und auch in Zellsuspensionen und zellfreien Überständen aus bronchoalveolärer Lavageflüssigkeit von Pferden mit selbiger Diagnose wurden erhöhte prokoagulatorische Aktivitäten gemessen (Grünig, Hulliger et al. 1990).

Die Höhe der relativen PCA zeigte überdies positive Korrelationen mit dem Schweregrad der Erkrankung sowie der Anzahl der neutrophilen Granulozyten und ließ somit auf eine Beteiligung hämostatischer Prozesse an der ablaufenden Entzündungsreaktion der erkrankten Lunge schließen. Im Zuge dessen wird die PCA von Grünig, Hermann et al. (1988) auch als zusätzlicher Indikator für das Ausmaß der Entzündung mit in Betracht gezogen.

Ebenso wie bei den verschiedenen Lungenerkrankungen des Menschen (Idell, Gonzalez et al. 1987b; Günther, Mosavi et al. 2000a; Shinagawa, Ploplis et al. 2009) ist die verstärkte Gerinnungsaktivität in der Lunge auch beim Pferd auf eine TF-FVIIa-Aktivierung und somit auf den extrinsischen Weg zurückzuführen (Grünig, Hermann et al. 1988; Grünig, Hulliger et al. 1991a).

Auch Erkenntnisse über die Rolle der Makrophagen im Zusammenhang mit der Gerinnungsaktivität decken sich mit den Verhältnissen beim Menschen (Chapman, Allen et al. 1985; Lyberg, Nakstad et al. 1990) oder auch anderen Spezies wie dem Kaninchen (Sitrin, Brubaker et al. 1986). So zeigt sich in der Lunge des Pferdes eine zellassoziierte PCA, die überwiegend die Alveolarmakrophagen gebunden ist, was unter anderem durch Auftrennung der Zellpopulationen aus der BALF mittels Dichtegradientenzentrifugation und anschließender Aktivitätsbestimmung gezeigt werden konnte (Grünig, Hulliger et al. 1990; Grünig, Hulliger et al. 1991a). Hierbei korrelierte die gemessene PCA positiv mit der Makrophagenanzahl, während sie zu den neutrophilen Granulozyten und den Lymphozyten in einem negativen Verhältnis stand (Grünig, Hulliger et al. 1990).

II Literaturübersicht

Unterstützt wird diese These zusätzlich durch immunhistochemische Nachweise von Fibrin bzw. Fibrinogen an Makrophagen in TBS-Ausstrichen von Pferden mit als mittel- bis hochgradig eingestuften chronischen Lungenerkrankungen. Dabei machen die Autoren auf der Basis humanmedizinischer Erkenntnisse eine vermehrt exprimierte prokoagulatorische Aktivität der Makrophagen mit folgender Gerinnungssteigerung für die Fibrinbildung und -ansammlung mitverantwortlich (Tipping, Campbell et al. 1988; Winder, Grünig et al. 1990).

Als potenter Stimulator für eine Steigerung der PCA-Produktion durch Monozyten und deren Abkömmlinge gelten im Allgemeinen unter anderem die Endotoxine (Semeraro, Biondi et al. 1983; Henry and Moore 1988). Neben deren Einfluss auf periphere Blutmonozyten bei Mensch (Semeraro, Biondi et al. 1983) und Pferd (Henry and Moore 1988) zeigte sich auch eine stimulierende Wirkung von Lipopolysacchariden auf die ausdifferenzierten Alveolarmakrophagen der Pferdelunge (Grünig, Hulliger et al. 1991a).

In einer weiteren Studie konnten Grünig, Winder et al. (1991c) außerdem zeigen, dass nicht nur Endotoxine, sondern auch Lymphozyten – Zellen, die an der Immunantwort in der Lunge bei COB wesentlich beteiligt sind – die PCA-Expression durch die Lungenmakrophagen verstärken (Grünig, Winder et al. 1991c) und somit einen weiteren Verbindungspunkt zur Pathogenese schaffen.

Wie bereits angedeutet gibt es zudem Hinweise dafür, dass auch beim Pferd das Fibrin mit seinen Derivaten eine Rolle bei chronisch entzündlichen Atemwegserkrankungen spielt und im Zusammenhang mit hämostatischen Veränderungen steht (Winder, Grünig et al. 1990).

Bei Untersuchungen auf, bei der Fibrinbildung anfallende, lösliche Fibrinogenderivate (SFD) in zellfreien TBS-Überständen von chronisch lungenkranken Pferden konnten in 53 von 80 Proben ebendiese nachgewiesen werden (Winder, Grünig et al. 1990). Die gemessenen Konzentrationen waren dabei signifikant höher bei mittel- bis hochgradig erkrankten Tieren sowie bei Proben mit vermehrtem Neutrophilen-Gehalt. Dadurch können nach Meinung der Autoren auch diese Spaltprodukte als zusätzlicher Indikator für den Entzündungsprozess in der Lunge angesehen werden. Aufgrund der teilweisen Konzentrations-Überlappung zwischen den einzelnen Gruppen sind sie jedoch nur hinweisgebend und stellen kein verlässliches Routinediagnostikum dar (Winder, Grünig et al. 1990).

In Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Grünig, Hermann et al. (1988) wiesen auch die Messungen von Winder, Grünig et al. (1990) positive Korrelationen der prokoagulatorischen Aktivität sowie der hier zusätzlich bestimmten Proteaseaktivität zur Neutrophilen-Anzahl und dem Schweregrad der Erkrankung auf. Darüber hinaus zeigten sich diese Korrelationen auch mit den SFD-Konzentrationen. Da Letzteres zwar statistisch signifikant, der Zusammenhang in graphischer Darstellung jedoch fraglich war, lassen die Autoren die letztendliche biologische Bedeutung dieser Korrelation jedoch offen (Winder, Grünig et al. 1990).

Weitere Indizien für eine pathogenetische Relevanz von Fibrin bzw. Fibrinogen bei chronisch respiratorischen Erkrankungen des Pferdes liefern immunhistochemische Nachweise beider Proteine in TBS-Ausstrichen (Makrophagenassoziiert, s.o.) sowie in Organpräparaten der Lunge. Die Lungenproben wiesen allesamt – bei gesunden wie kranken Tieren – positive

Färbungen in den Gefäßlumina auf, während der Fibrin-/Fibrinogen-Nachweis an anderen Lokalisationen nur bei pathologisch veränderten Präparaten gelang (Winder, Grünig et al. 1990). So konnten bei Pferden mit histologisch diagnostizierter chronischer Entzündung der tiefen Atemwege diese Proteine in einigen verdickten Alveolarsepten sowie auch vereinzelt in bronchiolären Mukusansammlungen nachgewiesen werden. Lungenproben mit der Diagnose chronischer broncho-interstitieller Pneumonie und chronischer granulomatös-interstitieller Pneumonie zeigten sogar konstant und vermehrt positive Nachweise in Alveolarsepten sowie Granulomen auf (Winder, Grünig et al. 1990).

Als mögliche Erklärung für das Auftreten von Fibrin/Fibrinogen in entsprechenden Arealen der Lunge wird von den Autoren eine entzündlich bedingte Veränderung der Gefäßpermeabilität mit folgender Extravasation der Plasmaproteine für wahrscheinlich erachtet (Winder, Grünig et al. 1990), was sich mit Beweisen aus der Humanmedizin decken würde (Goldie and Pedersen 1995).

Die Ergebnisse dieser Studien liefern Indizien wie auch Beweise dafür, dass auch beim Pferd pathologische Veränderungen in der Hämostase im alveolären Kompartiment vorliegen, die – im Zusammenhang mit einer erhöhten prokoagulatorischen Aktivität – an pulmonalen Entzündungsprozessen beteiligt sind und dabei unter anderem eine erhöhte Fibrinbildung bewirken. Inwiefern beim Pferd Veränderungen in der Fibrinolyse bei den Hämostaseverschiebungen in der Lunge eine Rolle spielen, geht aus den bisherigen Arbeiten jedoch nicht hervor.

4.2 Die Fibrinolyse beim Pferd bei ausgewählten Erkrankungen

Aktivitätsmessungen im Plasma haben gezeigt, dass die Regulation der Fibrinolyse im Blut des Pferdes, wie beim Menschen auch, vor allem durch die Plasminogenaktivierung mittels der zwei Hauptregulatoren – t-PA als Aktivator und PAI-1 als Inhibitor – gesteuert wird (Collatos, Barton et al. 1994). Eine erhöhte PAI-1 Aktivität in thrombozytenreichem verglichen mit thrombozytenarmem Plasma lässt zudem darauf schließen, dass die Blutplättchen einen Teil zur Generation dieser Protease beitragen, was gleichfalls im Konsens mit den physiologischen Begebenheiten beim Menschen steht (Booth, Simpson et al. 1988; Collatos, Barton et al. 1994).

Bisher gibt es in der Pferdemedizin noch keine Forschungen, die sich mit der Fibrinolyse im alveolären Kompartiment bei respiratorischen Erkrankungen beschäftigt haben.

Jedoch zeigt sich anhand mehrerer Studien bezüglich anderer Erkrankungen, dass es bei unterschiedlichen, verschiedene Organsysteme betreffenden, Krankheitsprozessen, wie Kolik, Sepsis, sekundär auftretende DIG und Gelenkserkrankungen zu Veränderungen im Hämostase-Gleichgewicht, nicht nur auf Seiten der Gerinnung, sondern auch auf Seiten der Fibrinolyse, kommt, die häufig mit den Erkenntnissen aus der Humanmedizin

übereinstimmen (Collatos, Barton et al. 1995b; Barton, Morris et al. 1998; Monreal, Angles et al. 2000; Ribera, Monreal et al. 2013)

Dabei kommt es zum einen zu Verschiebungen im Vaskularsystem der betroffenen Tiere und zum anderen auch zu Konzentrations- und Aktivitätsverschiebungen einzelner koagulatorischer und fibrinolytischer Parameter in Flüssigkeiten krankheitsassoziierter Körperhöhlen, wie z.B. in Peritonealflüssigkeit bei gastrointestinal bedingter Kolik oder in Synovia bei Synovitis (Collatos, Barton et al. 1995a; Delgado, Monreal et al. 2009a; Ribera, Monreal et al. 2011).

Im Folgenden soll auf diese Begebenheiten bei ausgewählten Erkrankungen näher eingegangen werden.

4.2.1 Die Fibrinolyse bei akuten gastrointestinalen Erkrankungen

Die gastrointestinal bedingte akute Kolikerkrankung geht beim Pferd mit einer hohen Inzidenz mit Veränderungen in der Hämostase, meist benannt als Koagulopathien, einher, die zu thrombotischen Komplikationen wie beispielsweise Thrombophlebitiden führen (Johnstone and Crane 1986; Prasse, Topper et al. 1993; Stern-Balestra 2000).

Dabei liegt in der Regel eine Hyperkoagulabilität vor, die mit einer kompensierten oder dekompenzierten disseminierten intravasalen Gerinnung vergesellschaftet ist. Bestehen und Ausprägung der Koagulopathie korrelieren hierbei positiv mit schweren ischämischen oder entzündlichen Darmopathologien (Monreal and Cesarini 2009).

Die Hämostaseverschiebungen beim Kolikpatienten werden vor allem anhand von Gerinnungsparametern, wie beispielweise der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (aPTT), der Prothrombinzeit (PTZ), der Thrombozytenzahl, der Antithrombinaktivität und der Fibrinogenkonzentration diagnostiziert und beurteilt (Dallap Schaer and Epstein 2009; Monreal and Cesarini 2009), wobei mindestens Veränderungen von drei Parametern als Sicherung für die Diagnosestellung der DIG angesehen werden (Monreal, Angles et al. 2000).

Mit dem Gebrauch dieser Parameter zur Evaluierung des Hämostasestatus lagen lange Zeit allein die Pathologien der Gerinnung im Fokus der Wissenschaft und erst nach und nach wurde auch zu Teilen ihr – ebenso bedeutender – Gegenspieler, die Fibrinolyse mit in Betracht gezogen (Monreal, Angles et al. 2000; Monreal and Cesarini 2009).

Die genaue Verifizierung einer veränderten Fibrinolyse anhand deren spezifischen regulatorischen Faktoren gestaltet sich jedoch, aufgrund fehlender validierter Testverfahren zur quantitativen Messung, als schwierig – mitunter auch ein Grund, warum dieser Aspekt bei der Untersuchung von Koagulopathien beim Kolikpferd bisher außer Acht gelassen wurde (Collatos, Barton et al. 1995a).

Daher werden Aussagen über die fibrinolytischen Verhältnisse bei akuten gastrointestinalen Erkrankungen zunächst vorrangig nicht direkt durch die Messung der Regulatorproteine getroffen, sondern indirekt durch Evaluierung von Neben- und Endprodukten, die der

II Literaturübersicht

fibrinolytische Weg hervorbringt. Dazu zählten anfänglich die Fibrin(ogen) Abbauprodukte (FDPs) (Johnstone and Crane 1986; Prasse, Topper et al. 1993), die jedoch aufgrund ihrer geringeren Spezifität und Sensitivität später von den D-Dimeren abgelöst wurden (Monreal, Angles et al. 2000; Feige, Kästner et al. 2003; Stokol, Erb et al. 2005). Während die FDPs bei Spaltung von Fibrinogen und löslichem Fibrin auch zeitlich vor dem Abschluss der Gerinnung anfallen können und somit nicht zwangsläufig an die Fibrinolyse gekoppelt sind, handelt es sich bei den D-Dimeren um direkte plasminvermittelte Abbauprodukte des quervernetzten Fibrins, woraus vor allem ihre hohe Spezifität resultiert (Stokol, Erb et al. 2005). Somit spiegelt ihr Konzentrationsanstieg einen gesteigerten Fibrinabbau sekundär zu einer Hyperkoagulation mit gesteigerter Fibrinbildung wider – je nach Ausmaß in Form einer Hyperfibrinolyse (Delgado, Monreal et al. 2009a). Dadurch stellt dieser Parameter einen bedeutenden Schwerpunkt in der Evaluierung der Fibrinolyse beim Kolikpatienten dar (Sandholm, Vidovic et al. 1995; Monreal, Angles et al. 2000; Feige, Kästner et al. 2003; Cesarini, Monreal et al. 2010), wobei der erhobene Befund meist in Zusammenhang mit etablierten Gerinnungstests gestellt und übergreifend interpretiert wird.

Für die D-Dimere zeichnete sich ein diagnostischer sowie prognostischer Nutzen bei der Beurteilung von akuten gastrointestinalen Erkrankungen ab. So konnte eine positive Korrelation zwischen signifikant erhöhten D-Dimer-Konzentrationen im Plasma und der Diagnosestellung von ischämischen sowie schweren entzündlichen (Enteritis, Peritonitis) Darnpathologien einerseits (Cesarini, Monreal et al. 2010; Dunkel, Chan et al. 2010) und einer höheren Sterbewahrscheinlichkeit andererseits (Sandholm, Vidovic et al. 1995; Cesarini, Monreal et al. 2010; Dunkel, Chan et al. 2010) bewiesen werden.

Sandholm, Vidovic et al. (1995) analysierten mehrere klinische und labordiagnostische Parameter, inklusive der D-Dimere, auf ihren prognostischen Nutzen hin. Die verknüpfte Analyse von Herzrate, Chlorid- und D-Dimer-Konzentration im Blut bei 105 Pferden mit schwerer gastrointestinaler Kolik ergab eine Sensitivität von 78 % und eine Spezifität von 77% für die Vorhersage der Sterbewahrscheinlichkeit. Der Zusammenhang bestand dabei in einer erhöhten Herzfrequenz, einem verminderten Chloridgehalt und einer erhöhten D-Dimer Konzentration, wobei Letztere den fortlaufenden – eine DIG beeinflussenden – thrombotischen und fibrinolytischen Prozess widerspiegelt (Sandholm, Vidovic et al. 1995).

Cesarini, Monreal et al. (2010) konnten einen prognostischen wie auch diagnostischen Nutzen der D-Dimere durch Konzentrationsbestimmungen zum Zeitpunkt der Aufnahme von Kolikpatienten zeigen. Dabei half der Parameter zum einen bei der Abgrenzung von entzündlichen Erkrankungen wie Enteritis und Peritonitis zu anderen Kolikformen und zum anderen bei der Vorhersage der Überlebenswahrscheinlichkeit, was jeweils durch signifikant erhöhte D-Dimer Konzentrationen im Plasma dieser Pferde verglichen mit den anderen Gruppen (nichtentzündliche Darnpathologien und Überlebende respektive) bewiesen wurde. Für die genaueste und verlässlichste Prognose stellten die Autoren einen Cut-off-Wert von > 4000 ng/ml heraus (Cesarini, Monreal et al. 2010).

Allerdings gibt es auch Studien, die konträre Ergebnisse in Bezug auf den klinischen Nutzen der D-Dimer Bestimmung liefern. So konnten Stokol et al. (2005) keine ausreichenden

II Literaturübersicht

Zusammenhänge zwischen der D-Dimer-Konzentration im Plasma und dem Ausgang der Krankheit feststellen, die einen klinischen Einsatz zur Prognosestellung rechtfertigen würden (Stokol, Erb et al. 2005). Wohl aber sprechen sie dem Parameter eine Funktion als additiver Hilfsmarker zur Diagnosestellung der DIG zu, da eine Erhöhung der D-Dimere, neben einer verlängerten aPTT-Zeit und einer verringerten AT-Aktivität, der dritthäufigste abnorme Wert der Hämostaseveränderung war (Stokol, Erb et al. 2005).

Auch Dallap, Dolente et al. (2003) konnten keinen prognostischen Nutzen der D-Dimere feststellen – weder in Bezug auf den Ausgang der Krankheit noch auf die Entwicklung einer globalen Gerinnungsstörung. Allerdings wiesen hier alle erkrankten Pferde konstant höhere D-Dimer-Konzentrationen im Plasma auf als die gesunden und es zeigte sich zusätzlich ein Anstieg über 48 Stunden (Dallap, Dolente et al. 2003). Damit liegen trotz allem in Bezug auf Prognose und Diagnose Tendenzen zur Übereinstimmungen mit anderen Forschungsergebnissen vor.

Als Grund für die konträren Forschungsergebnisse genannter Studien muss vor allem die Heterogenität bezüglich Studiendesign, Probenentnahme (einmalig bei Aufnahme, mehrfach über Stunden/Tage) und Probandengut (Anzahl, Diagnose) kritisch in Betracht gezogen werden. So liegt bei Stokol, Erb et al. (2005) lediglich eine Zahl von 20 kranken Probanden vor, während die meisten anderen Studien mit Patientenzahlen um die 100 agieren. Und bei Dallap, Dolente et al. (2003) beispielweise wurden ausschließlich Pferde mit chirurgischer Intervention aufgrund einer *Torsio coli totalis* (360°) untersucht, während sonst auch andere Darmpathologien mit in die Untersuchungen eingeschlossen wurden. Solche Unterschiede machen daher einen Vergleich der Ergebnisse unter den verschiedenen Arbeiten nur mit Einschränkungen möglich.

Des Weiteren ist auch der Einsatz verschiedener Testverfahren bei der Interpretation der Forschungsergebnisse zu beachten. Während die vorher benannten Studien alle eine Hyperfibrinolyse herausgearbeitet haben, stellten Monreal, Angles et al. (2000) neben der charakteristischen Hyperkoagulation – vor allem ausgedrückt durch TAT, aPTT und PT – eine Hypofibrinolyse bei an Kolik erkrankten Pferden fest. Diese zeigte sich durch signifikant erniedrigte D-Dimer Werte und stand im Zusammenhang mit der Ausprägung einer DIG (Monreal, Angles et al. 2000). Eine mögliche Erklärung für diese Diskrepanz könnte hier der Gebrauch des ELISA als Messmethode und damit verbunden einer eventuell ungenügenden Kreuzreaktion mit den testspezifischen Antikörpern sein (Stokol, Erb et al. 2005). Dabei ist anzumerken, dass bei der Evaluierung verschiedener Tests zur D-Dimer Bestimmung für humane Schnelltests, wie Latex-Agglutinations-Tests und Immunofiltrationstests, eine verlässliche Funktion mit gutem klinischen Nutzen für den Einsatz beim Pferd herausgestellt werden konnte, während ähnliches für den Gebrauch eines ELISAs fehlt (Stokol, Erb et al. 2005).

Trotz der genannten unterschiedlichen Messergebnisse lässt der überwiegende Teil der Arbeiten nach kritischer Berücksichtigung der genannten Punkte den Schluss zu, dass die D-Dimere mindestens als additiver Parameter für die prognostische und diagnostische Beurteilung von Patienten mit gastrointestinalen Koliken von klinischem Nutzen sind und sie

II Literaturübersicht

durch ihre Charakterisierung einer Hyperfibrinolyse bei bestehender Hyperkoagulation zusätzlich Aufschluss über bestehende Hämostaseveränderungen bis hin zur Entwicklung und Ausprägung einer DIG geben.

Neben dieser indirekten Beurteilung der fibrinolytischen Verhältnisse mittels der D-Dimere gibt es auch Arbeiten, die eventuelle Veränderungen direkt anhand von spezifischen Regulatorproteinen untersucht haben, wobei auch hier Übereinstimmungen und Diskrepanzen bezüglich der Ergebnisse und Beurteilung der fibrinolytischen Aktivität vorhanden sind.

Collatos, Barton et al. (1995b), die erstmals humane Aktivitäts-Tests modifizierten und dadurch die Regulatoren der equinen Fibrinolyse (t-PA und PAI-1) definierten, beleuchteten im Zuge dessen auch deren Zusammenhang mit verschiedenen akuten gastrointestinalen Erkrankungen (nichtstrangulierend oder entzündlich, strangulierend einschließlich Laparotomie mit oder ohne Resektion) und konnten signifikante pathologische Veränderungen der Fibrinolysefaktoren nachweisen.

Hierbei beschränkten sich die Messungen bei den insgesamt 59 Pferden auf die ersten fünf Tage nach Einlieferung der Patienten in die Klinik, da dies der Zeitraum ist, in dem bei vorherigen Studien, die sich mit der Evaluierung der Gerinnung bei Kolikern beschäftigt haben, die deutlichsten hämostatischen Veränderungen festgestellt werden konnten (Prasse, Topper et al. 1993; Collatos, Barton et al. 1995b). Insgesamt zeigte sich eine Inhibierung der Fibrinolyse vorrangig zwischen Tag zwei und fünf im Plasma erkrankter Tiere. Diese kam vor allem durch eine erhöhte PAI-1 Aktivität zum Ausdruck und zeigte zum Teil bedeutende krankheitsspezifische Variationen. So wurde bei Pferden mit akut entzündlichen Darmerkrankungen bei Einlieferung initial eine signifikante Erhöhung der Inhibitoraktivität gemessen, die mit Beginn der antiinflammatorischen Therapie konsequent abfiel. Das spricht dafür, dass das entzündliche Geschehen in diesen Fällen bei Diagnosestellung in der Klinik schon für einen längeren Zeitraum bestand, der ausreichte, um bereits messbare Hämostaseimbalancen festzustellen (Collatos, Barton et al. 1995b). Weiter kam es auch infolge einer zweckmäßigen Laparotomie zu einer Fibrinolysehemmung – ausgedrückt durch einen signifikanten PAI-1 Aktivitätsanstieg an Tag zwei und drei, wobei an Tag zwei zusätzlich eine Minderung der t-PA-Aktivität bestand. Der unmittelbare Faktoraktivitäts-Anstieg post OP gibt Hinweise darauf, dass PAI-1 auch beim Pferd als Marker für eine Akute-Phase-Reaktion in Betracht gezogen werden kann (Collatos, Barton et al. 1995b).

Daneben kann dieses Serpin bei der Wahl des therapeutischen Vorgehens bei kritischen Patienten als zusätzliche Entscheidungshilfe dienen, womit ihm als prognostischer Indikator eine weitere klinische Bedeutung zukommt. Diesen Rückschluss ziehen Collatos, Barton et al. (1995b) aus der positiven Korrelation zwischen der Sterblichkeit und einer signifikanten PAI-1 Erhöhung an Tag zwei, vier und fünf.

Die genannten Veränderungen in der Faktoraktivität geben somit nicht nur Aufschluss über eine, zeitlich mit Gerinnungsstörungen korrelierende (Prasse, Topper et al. 1993), Inhibierung der plasmatischen Fibrinolyse bei gastrointestinalen Erkrankungen, womit diese

II Literaturübersicht

ebenfalls als Ausdruck des Verlustes der Hämostase-Balance bei schweren Verläufen der Kolik gewertet werden kann, sondern zeigen auch die besondere Bedeutung des PAI-1 im Einzelnen als klinischen Hilfsmarker auf (Collatos, Barton et al. 1995b).

Darüber hinaus scheint ein direkter Zusammenhang zwischen der Hämostase und der fibrinolytischen Aktivität im speziellen und Endotoxinen zu bestehen. Die Endotoxine (Lipopolysaccharide) der gramnegativen Bakterien spielen eine bedeutende Rolle in der Pathogenese der Kolik, da sie aufgrund der gestörten Mukosabarriere des Intestinums bei den verschiedenen Darmpathologien in die Blutbahn übergehen können und hier, unter anderem durch Induktion von Zytokinproduktion, eine Kaskade von komplexen Entzündungsmechanismen initiieren, aus denen die multiple organische Veränderungen resultieren (King and Gerring 1988; Senior, Proudman et al. 2011). Dazu zählt vor allem auch eine hämostatische Dysfunktion mit hyperkoagulärem Status im Gefäßsystem, wobei unter anderem die prokoagulatorische Aktivität von Monozyten – verstärkt exprimiert unter Endotoxineinfluss – die vaskuläre Gerinnung und Bildung von Mikrothromben beeinflusst (Henry and Moore 1988; Henry and Moore 1991; Collatos, Barton et al. 1994).

Neben dieser bekannten Korrelation zwischen Endotoxämie und Gerinnung konnten Collatos, Barton et al. (1994) experimentell wie klinisch auch einen Zusammenhang zu Verschiebungen im fibrinolytischen System herstellen. So konnte im Plasma von Pferden mit induzierter Endotoxämie nach einem anfänglichen, nur kurz andauernden t-PA Anstieg eine signifikant erhöhte PAI-1 Aktivität mit Peak bei 6h gemessen werden, was humanen Verhältnissen ähnelt (Suffredini, Harpel et al. 1989; Collatos, Barton et al. 1994). Zudem zeigte sich bei natürlich erkrankten Kolikpferden mit einem positiven Endotoxinnachweis eine höhere Faktoraktivität des Inhibitors als bei solchen mit negativem LPS-Ergebnis.

Diese Beobachtungen sprechen somit deutlich für eine Beteiligung des fibrinolytischen Systems an dem verschobenen Hämostasegleichgewicht und dem dabei vorherrschenden prokoagulatorischen, prothrombotischen Milieu im Gefäßsystem im Zusammenhang mit einer Endotoxämie (Collatos, Barton et al. 1994; Collatos, Barton et al. 1995b).

Die hier genannten Ergebnisse stehen im Widerspruch zu den oben aufgeführten Studien, bei denen anhand der Messung der D-Dimere eine Hyperfibrinolyse herausgearbeitet wurde. Dies zeigt, dass das fibrinolytische System sehr komplex ist und nur eine umfassende Beurteilung mehrerer Parameter Aufschluss darüber gibt, ob eine Hyperfibrinolyse vorliegt, oder die vermehrt auftretenden Fibrinabbauprodukte nur eine gesteigerte Fibrinolyse als Antwort auf eine erhöhte Gerinnungsaktivität darstellen, diese Netto betrachtet jedoch inhibiert ist und keine adäquate Gegenreaktion bieten kann.

Ein weiterer wichtiger Aspekt, der bei der Evaluierung der Hämostaseverschiebungen zu beachten ist, ist die Tatsache, dass sich die Gerinnung und Fibrinolyse mit all ihren Faktoren in verschiedenen Kompartimenten des Körpers auch unterschiedlich verhalten und man nicht von den Verhältnissen in dem einen auf gleiche Bedingungen in dem anderen System schließen kann (Collatos, Barton et al. 1994; Collatos, Barton et al. 1995a; Delgado, Monreal et al. 2009a). Während im Vaskularsystem eine Fibrinolyseinhibierung und

II Literaturübersicht

Gerinnungsaktivierung vorherrschen, verhält es sich in der Peritonealflüssigkeit betroffener Tiere genau gegensätzlich, was unter anderem ebenfalls anhand der Aktivität von t-PA und PAI-1 (Collatos, Barton et al. 1995a; Delgado, Monreal et al. 2009a) sowie der Konzentration an Fibrinogen- und Fibrinabbauprodukten, wie FDPs (Collatos, Barton et al. 1995a) und D-Dimeren (Delgado, Monreal et al. 2009a) festgemacht werden konnte.

Collatos, Barton et al. (1995a) zeigten durch eine etwa zweifache Erhöhung der t-PA Aktivität bei gesunden Tieren und eine etwa sechsfache Erhöhung dieser bei Kolikern in der Peritonealflüssigkeit verglichen mit den Werten im Plasma, dass in diesem organspezifischen Kompartiment schon primär ein profibrinolytisches Milieu vorherrscht, was sich bei vorhandener Darmpathologie noch verstärkt. Ebenso ließ sich hier eine, in diesem Fall umgekehrte, Korrelation mit einem Endotoxinnachweis feststellen, womit die LPS in diesem Kompartiment zu einer Aktivierung der Fibrinolyse zu führen scheinen. Die hierbei gleichzeitig gemessene erhöhte Aktivität des Fibrinolyseinhibitors $\alpha 2$ -Antiplasmin wird von Collatos, Barton et al. (1995a) als Schutz vor überschießendem unwillkürlichem Fibrinabbau gedeutet. Diese Hypothese wird dadurch gestützt, dass eine gleichzeitig erhöhte Konzentration an FDPs in der Peritonealflüssigkeit vorliegt, die die im Plasma übersteigt und damit zeigt, dass die Fibrinolyse trotz der parallelen Aktivierung von t-PA und $\alpha 2$ -AP verstärkt abläuft und die Plasminaktivierung hier überwiegt (Collatos, Barton et al. 1995a).

Auch Delgado, Monreal et al. (2009a) stellten in ihrer Studie eine gesteigerte fibrinolytische Aktivität in der Bauchhöhlenflüssigkeit von an Kolik erkrankten Pferden heraus. Allerdings lieferten sie gegensätzliche Ergebnisse bezüglich der t-PA und PAI-1 Aktivität. So wurde hier im Gegensatz zu den Messungen von Collatos, Barton et al. (1995a) ein t-PA Aktivitätsabfall bei gleichzeitigem PAI-1 Aktivitätsanstieg gemessen. Die verringerte Aktivator-Aktivität sei hier, laut der Autoren, auf den hohen Verbrauch dieses Faktors im Zuge einer gesteigerten Fibrinolyse zurückzuführen, welche sich in einer signifikanten Erhöhung der D-Dimer-Konzentration widerspiegelt (Delgado, Monreal et al. 2009a).

Der Grund für diese Diskrepanz bezüglich der regulatorischen Veränderungen bleibt unklar, wobei auch hier wieder zum Beispiel die unterschiedlichen Entnahmezeitpunkte der Blutproben sowie der Gebrauch verschiedener Analyseverfahren eine Rolle spielen könnten. Trotz der spezifischen Unterschiede bezüglich der Faktoraktivitäten stimmen die Autoren in den wesentlichen Schlussfolgerungen jedoch überein – nämlich in der Tatsache, dass eine peritoneale Hyperfibrinolyse vorliegt sowie in der Feststellung, dass sich die Hämostasevorgänge in der peritonealen Flüssigkeit von denen im vaskulären Kompartiment unterscheiden. In einer Folgearbeit konnten Delgado, Monreal et al. (2009b) zusätzlich ausschließen, dass eine Kontamination mit Blut bei der Bauchhöhlenpunktion die Werte in der Peritonealflüssigkeit signifikant verändern.

Neben der Feststellung einer hämostatischen Imbalance grundsätzlich könnte die Evaluierung der Fibrinolyse im peritonealen Raum des Weiteren eine umfassende Bedeutung in Bezug auf die Einschätzung von postoperativer Adhäsionsbildung haben. Durch fehlende Anzahl an Langzeitbeobachtungen mit entsprechenden Komplikationen lässt sich jedoch hierfür noch kein Zusammenhang erstellen (Collatos, Barton et al. 1995a).

II Literaturübersicht

Studien aus der Humanmedizin geben allerdings Hinweise darauf, dass beispielsweise durch entzündliche Erkrankungen und durch operative Eingriffe das peritoneale Fibrinolyse-System eher gehemmt und für die progressive Bildung von Adhäsionen bedeutend ist (Thompson, Paterson-Brown et al. 1989; Holmdahl 1997), was im Gegensatz zu den genannten Beobachtungen bezüglich der Hyperfibrinolyse in der Veterinärmedizin steht.

Allerdings ist zu beachten, dass es sich in den equinen Studien bei dem Analysemedium immer um den zellfreien Überstand der Bauchhöhlenflüssigkeit handelte und daraus keine Rückschlüsse auf die Verhältnisse auf Zelloberflächen und intestinalen Viscera gezogen werden können (Collatos, Barton et al. 1995a) und somit eine mesotheliale vermittelte persistierende Fibrinbildung, wie sie in der Humanmedizin vorkommt, nicht ausgeschlossen werden kann.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Imbalancen im hämostatischen Gleichgewicht bei Pferden mit akut gastrointestinalen Erkrankungen nicht nur in Koagulopathien begründet sind, sondern die fibrinolytische Komponente ebenso daran beteiligt ist.

Neben dem allgemeinen Konsens über eine global gestörte Hämostase liegen gleichzeitig konträre Ergebnisse vor, die einmal eine Hemmung und ein anderes Mal hingegen eine Aktivierung der Fibrinolyse herausstellen. Dabei ist jedoch zu beachten, dass sich die meisten Arbeiten entweder nur mit den Abbauprodukten des gebildeten Fibrins oder nur mit den Regulatoren des fibrinolytischen Weges beschäftigen und somit eine komplexe zusammenhängende Beurteilung der fibrinolytischen Verhältnisse in vielen Fällen nicht stattfindet. Hinzu kommt die Heterogenität der Studien, insbesondere auch der angewendeten Analyseverfahren, die eine verlässliche Aussage für die überwiegende Plausibilität der einen oder der anderen Hypothese schwierig macht.

Bezüglich der D-Dimere hat sich gezeigt, dass diese ein sicherer Indikator für eine Hyperkoagulation mit resultierendem Fibrinabbau sind, ihre Aussagekraft bezüglich der Aktivierung oder Hemmung des fibrinolytischen Weges jedoch nur unter Zunahme direkter Regulatoren verlässlich ist. Ohne diese kann somit nur mit Einschränkungen gesagt werden, ob bei gesteigerter Gerinnung die fibrinolytische Aktivität erhöht oder gehemmt ist. Denn trotz vermehrter D-Dimer-Aufkommen und somit einem hohen, plasmin-vermittelten, Fibrinumsatz kann die Fibrinolyse gehemmt und nicht ausreichend aktiv sein, um der Hyperkoagulation adäquat entgegenzuwirken und auszugleichen.

4.2.2 Die Fibrinolyse bei der Septikämie des Fohlens

Neben den umfassenderen Forschungen über die Fibrinolyse auf dem Gebiet der akuten gastrointestinalen Erkrankungen gibt es auch Ansätze hierzu bei der Septikämie des Fohlens.

Wie die akuten entzündlichen und ischämischen Darmerkrankungen ist auch die Sepsis ein Zustand, der bekanntermaßen mit einer Gerinnungsaktivierung und gegebenenfalls einer

II Literaturübersicht

DIG einhergeht (Barton, Morris et al. 1998; Armengou, Monreal et al. 2008). Und auch hier spielen neben den koagulatorischen ebenso die fibrinolytischen Komponenten eine Rolle.

Dabei ist bei der Interpretation der einzelnen Parameter darauf zu achten, dass gesunde Fohlen innerhalb des ersten Lebensmonats ein eigenes physiologisches hämostatisches Gleichgewicht besitzen, welches sich vom adulten Pferd unterscheidet und mit signifikant unterschiedlichen Referenzwerten von koagulatorischen, antikoagulatorischen und fibrinolytischen Faktoren einhergeht (Barton, Morris et al. 1995). Grundsätzlich scheint eine verminderte Möglichkeit der Gerinnel- bzw. Fibrinbildung (ausgedrückt z.B. in verlängerten PTZ- und aPTT-Werten) zu bestehen, die sich aber durch eine gleichzeitig schwächer ausgeprägte fibrinolytische Kapazität (unter anderem ausgedrückt durch basal verringerte t-PA- und erhöhte PAI-Aktivitäten) ausgleicht (Barton, Morris et al. 1995). Bis zu dem Alter von einem Monat findet eine dynamische Anpassung dieser Indizes von Neonaten an Adulte statt und bei Fohlen > 1 Monat gleichen die Werte schließlich weitestgehend denen eines erwachsenen Pferdes (Barton, Morris et al. 1995).

Unter Berücksichtigung dieser physiologischen Unterschiede durch Bildung von Altersgruppen (<24h, 2-7d, 8-14d) und ausschließlichem Vergleich mit altersgleichen Kontrolltieren, konnten Barton, Morris et al. (1998) zeigen, dass es bei Fohlen mit Septikämie zu einer Unterbrechung des fragilen neonatalen Hämostasesystems kommt. So wurden signifikante und klinisch relevante Veränderungen von verschiedenen Parametern des koagulatorischen, antikoagulatorischen und fibrinolytischen Systems gemessen, die auf prokoagulatorische und antifibrinolytische Verhältnisse hindeuten. Letzteres wurde ausgedrückt durch signifikante Erhöhungen der α 2-Antiplasmin- und PAI-1-Aktivitäten (bei <24h und 8-14d), wobei der PAI-1 der am häufigsten veränderte Parameter war. Die t-PA-Aktivität hingegen zeigte keine deutlichen Veränderungen, was die Hypothese der verstärkten Fibrinolyseinhibierung und das Vorhandensein eines prothrombotischen Milieus im Blut erkrankter Fohlen zusätzlich unterstreicht (Barton, Morris et al. 1998). Neben der grundsätzlichen Feststellung einer bestehenden Hämostaseimbalance konnten die Autoren überdies zeigen, dass die Einbeziehung mehrerer hämostatischer (inklusive fibrinolytischer) Komponenten in die Diagnostik hilfreich bei der Aufdeckung von Koagulopathien beim septischen Fohlen ist. Allerdings helfen sie nicht zu unterscheiden, ob hierbei eher ein thrombotischer oder ein hämorrhagischer Zustand vorliegt. Auch konnte – im Gegensatz zu den Kolikpatienten (Collatos, Barton et al. 1994; Collatos, Barton et al. 1995b) – keine Korrelation zwischen der Überlebenswahrscheinlichkeit und hämostatischen Faktoren oder einem Endotoxinnachweis ausgemacht werden (Barton, Morris et al. 1998). Dagegen konnte aber auch hier der Einfluss der Endotoxine, die als Bestandteile der gram-negativen Bakterien – einem Hauptpathogen der neonatalen Sepsis (Theelen, Wilson et al. 2014) – häufig am Krankheitsgeschehen beteiligt sind, auf die vaskuläre Hämostase bewiesen werden. So zeigte sich eine Korrelation zwischen dem plasmatischen Endotoxinnachweis und der Veränderung einiger Gerinnungs- und Fibrinolyseparameter, was deren Einfluss auf die Hämostase vermuten lässt (Barton, Morris et al. 1998).

II Literaturübersicht

Unter dem Aspekt, dass auch die Sepsis beim Fohlen eine schnelle und sichere Evaluierung des Krankheitsstatus fordert, um Behandlungsmöglichkeiten und -grenzen so früh wie möglich zu erkennen, untersuchten Armengou, Monreal et al. (2008) die D-Dimere in Bezug auf ihren Nutzen diagnostische Marker. Dabei stellte sich eine signifikante Korrelation zwischen einer D-Dimer Erhöhung im Blut und der Diagnose der Septikämie heraus, insbesondere bei den Proben, die in dem Zeitraum von 24-48 h während des Klinikaufenthaltes entnommen wurden. Für diese Zeit werden die D-Dimere von den Autoren als zusätzlicher Routinemarkers in der klinischen Diagnostik von Fohlen mit Verdacht auf Sepsis empfohlen.

Überdies konnte ein Cut-off-Wert von 2000 ng/ml festgesetzt werden, der eine Sensitivität von 97 % für die Erkennung der Sepsis und von 91 % in Bezug auf den Ausgang der Erkrankung aufweist. Aufgrund einer geringen Spezifität und somit einer hohen Rate an falsch positiven Vorhersagen (71 %) und im Zuge eines guten negativen prädiktiven Wertes von 88 % sollte jedoch im klinische Alltag eher eine normale D-Dimer Konzentration für eine Ausschlussdiagnose als Abweichungen zur alleinigen Diagnosestellung verwendet werden (Armengou, Monreal et al. 2008).

Für die Vorhersage einer DIG erwiesen sich die D-Dimer Messungen in diesem Zusammenhang als unbrauchbar, wobei die Autoren Schwierigkeiten bei der Festlegung der spezifischen Diagnose aufführten und die Relevanz des fehlenden Zusammenhanges als kritisch betrachten werden sollte (Armengou, Monreal et al. 2008).

Allgemein werden hier, wie auch in anderen Studien, die D-Dimere als Indikatoren für eine, mit einer vermehrten Gerinnungsaktivität einhergehende, Erhöhung der fibrinolytischen Aktivität angesehen. Aber auch in diesem Fall ist wieder zu beachten, dass die Analyse spezifischer Faktoren fehlt und somit keine verlässliche Aussage getroffen werden kann, ob trotz der Erhöhung der Fibrinabbauprodukte der fibrinolytische Weg an sich nicht doch gehemmt ist.

Sicher aber ist, dass auch die Septikämie des Fohlens eine Erkrankung ist, die eine Ruptur des hämostatischen Gleichgewichtes zur Folge hat und sich die Einschätzung des Ausmaßes anhand der Analyse aller beteiligten Hämostase-Komponenten verbessert.

4.2.3 Die Fibrinolyse bei Arthropathien

Bei infektiösen Arthritiden sowie darüber hinaus zu einem geringeren, aber trotzdem bedeutenden Anteil, bei wachstumsbedingten und degenerativen Gelenkerkrankungen, wie der Osteoarthritis (OA) und der Osteochondrosis dissecans (OCD), spielt vor allem die inflammatorische Komponente eine Rolle in der Pathogenese (McIlwraith 2005). Durch die Interaktion von Entzündungsmediatoren mit intraartikulären Zellen und koagulatorischen sowie fibrinolytischen Faktoren kommt es hierbei zu Veränderungen im Hämostasesystem (Ribera, Monreal et al. 2013). In Übereinstimmung mit Ergebnissen aus der Humanmedizin (So, Varisco et al. 2003; Ribera, Monreal et al. 2011; Ribera, Monreal et al. 2013) liegt im

II Literaturübersicht

Zuge dessen eine gelenksspezifische synoviale Aktivierung von Gerinnung und Fibrinolyse vor, die sich unter anderem durch eine lokale Erhöhung der D-Dimere ausdrückt (Ribera, Monreal et al. 2011; Ribera, Monreal et al. 2013).

Da wie bei der akuten Kolikerkrankung und der neonatalen Septikämie auch bei bestimmten Arthropathien eine frühe Diagnose maßgeblich für Therapieverfahren und vor allem auch den -erfolg ist, wurde hier bei der Evaluierung der Fibrinolyse ein Schwerpunkt auf die Messung der D-Dimere in Hinblick auf deren Eignung als diagnostische und prognostische Biomarker gesetzt. Daneben dient es natürlich der weiteren pathogenetischen Aufklärung und damit der eventuellen Erschließung von Präventionsmaßnahmen bei entsprechenden Erkrankungen. Dabei erwiesen sich die spezifischen Fibrinabbauprodukte, die D-Dimere, als nützliche Indikatoren (Ribera, Monreal et al. 2011; Ribera, Monreal et al. 2013).

Untersuchungen bei Fohlen zeigten einen signifikanten Anstieg der D-Dimer-Konzentration in der Synovia von septischen Gelenken systemisch gesunder und septischer Tiere verglichen mit Synovia septischer Fohlen ohne Anzeichen einer Arthritis und einer Kontrollgruppe (Ribera, Monreal et al. 2011). Aufgrund der hier sehr deutlichen Konzentrations-unterschiede sprechen Ribera et al. (2011) den D-Dimeren einen guten klinischen Nutzen als sensitive Marker zur Diagnoseabsicherung septischer Arthritiden beim Fohlen zu. Die relativ geringe Probandenanzahl machte jedoch noch keine Definition eines genauen Cut-off-Wertes, wie er zum Teil bei bestimmten Darmopathologien und auch bei der Septikämie benannt wurde (Barton, Morris et al. 1998; Stokol, Erb et al. 2005; Cesarini, Monreal et al. 2010), möglich (Ribera, Monreal et al. 2011).

Neben diesen deutlichen Veränderungen in septischen Gelenken von Fohlen konnte auch bei nicht infektiösen Gelenkerkrankungen, wie der OA und der OCD, ein etwas geringer ausfallender lokaler D-Dimer Anstieg gemessen werden, was die Beteiligung einer, hier etwas schwächer ablaufenden, Entzündungsreaktion an diesen Arthropathie-Formen verdeutlicht (Ribera, Monreal et al. 2013). Im Umkehrschluss bedeutet dies, dass die Schwere der Entzündung im Gelenk, den Grad der Hämostaseveränderungen bestimmt (Ribera, Monreal et al. 2011; Ribera, Monreal et al. 2013) Im Gegensatz zu den Untersuchungen beim Fohlen wurde in diesem Fall ein Cut-off-Wert von 20 000 ng/ml festgelegt, bei dessen Überschreitung die Wahrscheinlichkeit auf eine bestehende Gelenkerkrankung um das 9,8fache steigt. Dies zeigt zwar, dass die D-Dimere auch hier einen prädikativen Wert besitzen, ist aber aufgrund einer geringen Sensitivität und Spezifität mit einer hohen Quote an falsch negativen Ergebnissen noch ohne klinischen Nutzen und bedarf in jedem Fall des Hinzuziehens der konventionellen laboratorischen sowie bildgebenden diagnostischen Verfahren (Ribera, Monreal et al. 2013).

Die beim Koliker gezeigte Unabhängigkeit zwischen Vaskularsystem und Peritonealhöhle (Collatos, Barton et al. 1995a) lässt sich auch auf das Gelenk übertragen (Ribera, Monreal et al. 2013). So übersteigen beispielsweise die Werte in der Synovia septischer Gelenke die im Plasma schwer kranker Fohlen um ein 100 bis 150faches, was zeigt, dass entsprechende pathologische Vorgänge auch hier lokal und kompartimentspezifisch ablaufen (Armengou, Monreal et al. 2008; Ribera, Monreal et al. 2011; Ribera, Monreal et al. 2013).

Allerdings ist an dieser Stelle anzumerken, dass dies keine direkten Vergleichswerte einer Probandengruppe sind, sondern synoviale- und plasmatische Konzentrationen aus verschiedenen Studien herangezogen wurden.

Neben den oben im einzelnen aufgeführten Krankheiten konnten vereinzelt auch in anderen Bereichen Veränderungen in Gerinnung und Fibrinolyse festgestellt werden, was wiederum verdeutlicht, wie bedeutend und gleichzeitig auch wie fragil das hämostatische Gleichgewicht für den Gesamtorganismus und seine umfassenden physiologischen Vorgänge in vielen Organsystemen ist.

So zeigte sich zum Beispiel bei Pferden unter der Belastung eines Distanzrittes die Entstehung eines hyperkoaguablen Status, ausgedrückt durch einen signifikanten D-Dimer Anstieg im Blut, dem eine leichte Hyperfibrinolyse entgegenwirkt (Monreal, Angles et al. 1995).

Des Weiteren konnte beispielsweise bei Pferden mit einer EHV-1 (equines Herpesvirus-1) Infektion – eine mit thrombotischen Pathologien einhergehende Erkrankung – eine Verknüpfung zwischen bestehender Virämie und einem D-Dimer Nachweis gezogen werden. Dies könnte hilfreich sein, um im Einzelfall eine besonders starke Aktivierung des Entzündungsprozesses zu erkennen und entsprechend früh in diese Richtung zu intervenieren, um Komplikationen, wie eine Infektion von Endothelzellen, gering zu halten (Goehring, Soboll Hussey et al. 2013).

Bei Ponies mit Hufrehe wurden die D-Dimere überdies, neben Thrombin-Antithrombin-Komplexen, zur Evaluierung systemischer Hämostasestörungen herangezogen, lieferten jedoch keine signifikanten Ergebnisse. Daraus schlossen die Autoren, dass die prothrombotischen Prozesse bei dieser Erkrankung lokal begrenzt sind (Weiss, Monreal et al. 1996).

4.2.4 Fibrinolytisch-therapeutische Ansätze

So wie neben der Gerinnung auch die Fibrinolyse als bedeutender Einflussfaktor bei Koagulopathien verschiedener Erkrankungen erkannt wurde, so wird auch aus therapeutischer Sicht das Augenmerk nicht nur mehr auf die bekannte antikoagulatorische Therapie (z.B. Heparin) gelegt, sondern auch auf die Beeinflussung des wichtigsten natürlichen Gegenspielers, der Fibrinolyse (Dias and De Lacerda Neto 2013).

In der Humanmedizin finden natürliche Fibrinolytika wie Streptokinase und Urokinase sowie gentechnisch hergestellte Präparate in Form von humanem rekombinantem Tissue-Plasminogen-Aktivator (r-TPA) wie Alteplase und Tenecteplase ihre Anwendung.

Einzelne Studien beim Pferd liefern Ansätze für den Einsatz fibrinolytischer Therapeutika auch bei dieser Spezies. Dabei konnten mit der Behandlung von Streptokinase und Alteplase bei Thrombophlebitis (Baumer, Herrling et al. 2013; Dias and De Lacerda Neto 2013), mit einem r-TPA in der Augenkammer zur Behandlung eines Hypopyon beim Fohlen mit

II Literaturübersicht

Pneumocystis carinii Pneumonie (Clark-Price, Cox et al. 2004) und mit Alteplase und Tenecteplase bei der Behandlung von Pleuropneumonien (Hilton and Pusteria 2009; Rendle, Armstrong et al. 2012) Erfolge erzielt werden.

Auch für die Indikation der Förderung einer Gerinnselbildung und -erhaltung (z.B. bei intra- und postoperativen Blutungen oder Luftsackmykosen) gibt es Hinweise, dass die, in diesem Fall negative, Beeinflussung des fibrinolytischen Weges von therapeutischem Nutzen sein könnte (Heidmann, Tornquist et al. 2005).

Die in den verschiedenen Studien gezeigten Erkenntnisse über die Ruptur des natürlichen hämostatischen Gleichgewichts einhergehend mit Konzentrationsverschiebungen spezifischer Faktoren bei den verschiedenen Erkrankungen zusammen mit den beweisenden Ergebnissen in Bezug auf den Respirationstrakt aus der Humanmedizin lassen die Vermutung zu, dass auch bei Lungenerkrankungen des Pferdes, wie COB, IAD oder interstitieller Pneumopathie derartige pathologische Veränderungen vorzufinden sind und eine Stärkung der Fibrinolyse möglicherweise ein sinnvoller Therapieansatz wäre.

III Eigene Untersuchungen

1 Material und Methoden

1.1 Patienten

1.1.1 Allgemeines Patientenkollektiv

Die eigenen Untersuchungen am Patientenkollektiv wurden im Zeitraum von April 2012 bis Dezember 2013 an der Klinik für Pferde, Allgemeine Chirurgie und Radiologie der Freien Universität Berlin durchgeführt. Das Patientenkollektiv umfasste insgesamt 61 Pferde, deren Altersspanne zwischen einem Jahr und 23 Jahren lag. Die Tiere gehörten zu 39,3% (n=24) der Rasse der Warmblutpferde an. Die – in einer Gruppe zusammengefassten – Kleinpferde und Ponies hatten einen Anteil von 36,1% (n=22) und die Gruppe „Sonstige“ machte 24,6% (n=15) aus. In letztere wurden die Rassen American Quarter Horse, Friese, Traber, arabisches Vollblut und Shagya-Araber eingeschlossen. Mit rund 57% (n=35) war der überwiegende Anteil männlich kastriert und der Rest mit rund 43% (n=26) weiblich. Hengste waren hier nicht vertreten. Weitergehende Informationen zu dem Probandengut wie Verteilung von Größe, Gewicht und Alter sind im Ergebnisteil dieser Arbeit aufgeführt.

Von den 61 Pferden wurden 48 aufgrund klinischer Auffälligkeiten von ihren Besitzern zur diagnostischen Abklärung in der internistischen Abteilung der Klinik vorgestellt. Zwei dieser Tiere stellten sich als lungengesund heraus und wurden in die insgesamt 15 Tiere umfassende Kontrollgruppe eingeschlossen. Die restlichen 13 lungengesunden Tiere dieser Kontrollgruppe waren zum Zeitpunkt der Untersuchungen im Besitz der Klinik für Pferde, Allgemeine Chirurgie und Radiologie und unterlagen in ihrer Verwendung der Genehmigung vom Landesamt für Gesundheit und Soziales (LaGeSo) des Landes Berlin (AZL0294/13).

Da bei allen anderen in der Klinik vorgestellten Pferden eine tierärztliche Indikation für die Durchführung der Untersuchungen gegeben war, wurden diese vom LaGeSo als anzeige- und genehmigungsfrei eingestuft.

Eine Aufstellung der Patienten im Einzelnen ist im Anhang in Tab. 20 (S. 215-217) zu finden.

1.1.2 Gruppeneinteilung (Ein-/Ausschlusskriterien)

Nach Erhebung aller Daten der im Folgenden dargestellten Untersuchungen erfolgte die Diagnosestellung und die Einteilung der Patienten in folgende Gruppen:

1 = lungengesund (gesund)

III Material und Methoden

- 2 = COB in Exazerbation
- 3 = IAD/COB in Remission
- 4 = interstitielle Pneumopathie
- 5 = akute/subakute Pneumonie

Für die Zuordnung zu den jeweiligen Gruppen wurden spezifische Einschlusskriterien definiert.

Als lungengesund galten demnach die Pferde, die in der klinischen, der bronchoskopischen und der zytologischen Untersuchung keine auffälligen Befunde aufwiesen.

Die Einordnung in die Gruppe „COB in Exazerbation“ wurde anhand der internationalen Definition für den sogenannten „*heaves-phenotype*“ nach Robinson (2001) vorgenommen. Demnach wurden nur die Tiere in die Gruppe zwei eingeschlossen, die eine eingeschränkte Lungenfunktion mit Atemwegsobstruktion – ausgedrückt durch einen $\Delta P_{pi,max} \geq 15$ cmH₂O oder durch einen vergleichbaren validierten klinischen Score – verbunden mit einem Anteil von $\geq 25\%$ neutrophilen Granulozyten in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit aufwiesen. Die Tiere, deren respiratorische Symptomatik und diagnostischen Befunde zu gering ausfielen, um ihnen den Status „Exazerbation“ zu geben und die gleichzeitig gemäß dem Consensus Statement des American College of Veterinary Internal Medicine (ACVIM) (Couetil, Hoffman et al. 2007) Grundmerkmale einer IAD aufwiesen (Leistungseinschränkungen oder Husten, fakultativ Sekret in der Trachea, zytologisch nachgewiesene nichtinfektiöse Atemwegsentzündung ($< 20\%$ neutrophile Granulozyten in der BALF) oder nachgewiesene Lungendysfunktion), erhielten die Diagnose „IAD/COB in Remission“ (Gruppe 3).

Die Zuordnung zu der Gruppe der chronisch interstitiellen Lungenerkrankungen erfolgte anhand eines charakteristischen Kombinationsbefundes mit vorberichtlicher Leistungsinsuffizienz, arterieller Normoxie oder Hypoxie, fakultativ wenig gering bis mäßig viskösem Schleim in der Trachea, einem deutlich erhöhten Makrophagenanteil in der BALF (Verhältnis Makrophagen : neutrophilen Granulozyten $\geq 2,6 : 1$) bei deutlich erhöhtem Zellgehalt und einer ausgeprägten interstitiellen Lungenzeichnung mit einem Grad von ≥ 2 (Gradeinteilung siehe Kapitel 1.2.3.6 „Röntgenologische Untersuchung“) (Dieckmann, Klein et al. 1990; Fey and Grabner 2013).

In die Gruppe „akute/subakute Pneumonie“ wurden die Pferde eingeschlossen, bei denen im zytologischen Ausstrich intrazelluläre Bakterien zu sehen waren und deren, daraufhin durchgeführte, mikrobiologische Untersuchung der BALF einen positiven Nachweis pathogener Keime erbrachte.

Ein veränderter Säure-Base-Haushalt sowie klinische und labordiagnostische Anzeichen einer systemischen Erkrankung führten, mit Ausnahme von Patienten aus Gruppe fünf, in der Regel zum Ausschluss der Tiere.

1.2 Untersuchungen

1.2.1 Allgemeines Untersuchungsschema

Über einen Zeitraum von drei Tagen wurde das in Tab. 1 (S. 70) dargestellte Untersuchungsschema durchgeführt. Unter der Berücksichtigung zirkadianer Schwankungen in der Lungenfunktion (s. K. II, Abschnitt 1.6) wurde darauf geachtet, dass die Untersuchungen immer zur gleichen Zeit, zwischen acht und zwölf Uhr, stattfanden. Bei 30 Pferden konnte aufgrund einer hochgradigen Ruhedyspnoe, eines orthopädischen Problems oder auf Wunsch der Besitzer keine Belastungsuntersuchung durchgeführt werden. Bei 24 Pferden war zudem aufgrund massiver Abwehrbewegungen keine Bestimmung des Interpleuraldrucks (IPD) möglich.

Die Aufstallung der Patienten erfolgte grundsätzlich bis zum Zeitpunkt der endoskopischen Untersuchung gemäß den Haltungsbedingungen im Heimatstall.

12 Tiere erhielten im Anschluss an die dreitägige Untersuchung eine 10-tägige inhalative Glukokortikoidtherapie unter optimierten Haltungsbedingungen und wurden danach, zum Zwecke der Therapiekontrolle, noch einmal dem gleichen Untersuchungsschema – exklusive Lungenperkussion, venösem Blutbild und Thoraxröntgen – unterzogen. Eine vergleichende Belastungsuntersuchung sowie Interpleuraldruckmessung wurden nur bei veränderten Werten im ersten Durchlauf wiederholt.

Tab. 1: Allgemeines Untersuchungsschema

Tag	Untersuchungen
1	Anamnese 1. KU inklusive Lungenperkussion und CO ₂ -Rückatmung 1. BGA Venöse Blutuntersuchung, Belastungsuntersuchung
2	2. KU 2. BGA Interpleuraldruckmessung Endoskopie mit bronchoalveolärer Lavage, Röntgenologische Untersuchung
3	3. KU 3. BGA
4 – 14	Inhalative Glukokortikoidtherapie (fakultativ)
15 – 17	s. Tag 1 – 3 (exklusive venöser Blutuntersuchung, Perkussion und Röntgen)

KU = Klinische Untersuchung (inkl. spezielle KU des Respirationstraktes), **BGA** = Blutgasanalyse (hier: arteriell)

1.2.2 Allgemeine und spezielle klinische Untersuchung

Zu Beginn wurde das Signalement der Patienten aufgenommen (Rasse, Geschlecht, Alter, Farbe, Abzeichen, Größe, Gewicht, erworbene Kennzeichen/Identifikationsnummer) und die Anamnese mit Schwerpunkt auf Haltung, Fütterung, Impfung, Entwurmung, Symptome, Dauer der Erkrankung und Medikation erhoben. Anschließend fand eine allgemeine klinische Untersuchung statt, die die Dokumentation von Haltung, Verhalten, Entwicklungs-, Ernährungs- und Pflegezustand sowie Herzfrequenz (HF), Atemfrequenz (AF) und rektaler Körpertemperatur umfasste. Zusätzlich wurden die Maul- und Konjunktivalschleimhäute, die kapilläre Füllungszeit (KFZ), die Körperoberflächentemperatur, der Hautturgor sowie die *Lymphonodi (Lnn.) mandibulares* beurteilt.

An den Tagen zwei und drei erfolgte diese Untersuchung in etwas reduzierter Form (s. Abb. 36, S. 226 und Abb. 37, S. 227).

Im Anschluss an die allgemeine klinische Untersuchung folgte die spezielle klinische Untersuchung des Respirationstraktes. Hierbei fand zunächst eine adspektorische Untersuchung statt, bei der der Atemtyp (kostal, kostoabdominal, abdominal), eine eventuell vorhandene expiratorische (biphasische Expiration, Dampftrinne, Afteratmung), inspiratorische (Nüsternblähen, Einziehung der Interkostalräume) oder gemischten Dyspnoe, ein vorhandener Nasenausfluss (Menge, Konsistenz, Farbe, Geruch) sowie eine bestehende Depigmentierung im Nüsternbereich im Sinne einer „Sekretrinne“ als Zeichen für chronischen Nasenausfluss beurteilt wurden.

Zudem wurde auf spontanen Husten geachtet und auch getestet, ob dieser durch manuelle Kompression der ersten Trachealspangen auszulösen war. Hierbei wurden Häufigkeit und Charakter (feucht, trocken) des Husten protokolliert. Anschließend erfolgte die Auskultation der Lunge auf der rechten und linken Thoraxseite sowie der Trachea und des Kehlkopfes. Dabei wurde auf verstärkte oder fehlende sowie auf abnorme Atemgeräusche (Hiemen, Giemen, Rasseln, Knistern) geachtet. Neben der Auskultation in Ruhe fand auch noch eine auskultatorische Beurteilung der Lunge nach einer Atemverstärkung durch CO₂-Rückatmung statt. Hierbei wurde den Pferden für etwa zwei Minuten ein luftundurchlässiger Beutel über die Nüstern gezogen, um die Atmung zu forcieren. Die Auskultation fand dann unmittelbar nach Abnahme des Beutels zeitgleich mit den ersten tiefen Atemzügen des Tieres statt. Bei Patienten mit deutlicher Dyspnoe wurde diese Untersuchung unterlassen.

Zuletzt erfolgte noch eine Lungenperkussion mittels Hammer und Plessimeter, um eine eventuell vorhandene Vergrößerung des Lungenfeldes aufgrund emphysematösen Veränderungen sowie mögliche Schalldämpfungen durch Flüssigkeitsansammlungen feststellen zu können.

Die Ergebnisse der Untersuchungen wurden schließlich für jeden Tag in eigens erstellten Untersuchungsbögen eingetragen, die dieser Arbeit vorliegen (Kapitel XII „Anhang“, Abschnitt 3 „Untersuchungsbögen“, 223-231).

1.2.3 Weiterführende Untersuchungen

1.2.3.1 Venöse und arterielle Blutanalysen

Die venöse Blutuntersuchung erfolgte einmalig an Tag eins und diente, zusätzlich zu den erhobenen klinischen Befunden, dem Ausschluss einer systemischen Erkrankung. Die Entnahme erfolgte mit einer Einmal-Injektions-Kanüle (Sterican®, 1,20 x 40 mm BC/SB, 18G x 1 ½", B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) aus der *Vena jugularis* im Bereich des oberen Halsdrittels in ein heparinisiertes Röhrchen. Die Analyse des Blutes wurde innerhalb einer Viertelstunde nach Entnahme im hauseigenen Labor durchgeführt. Hierbei erfolgte die automatische Erstellung eines roten und weißen Blutbildes durch ein Hämatologiegerät (poch-100iV Diff, Sysmex Europe GmbH, Bornbach, Deutschland) sowie die manuelle Bestimmung von Hämatokrit und Gesamteiweiß.

Für die an allen drei Tagen durchgeführte arterielle Blutgasanalyse wurde die *Arteria carotis communis dextra* etwa eine handbreit proximal des Brusteinganges im Bereich der Drosselrinne mit einer Einmal-Injektions-Kanüle (Sterican®, 0.70 x 30 mm BL/LB, 22G x 1 ¼", B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) punktiert. Der Einstich erfolgte dabei waagrecht in Richtung des gegenüberliegenden Hüfthöckers. Das austretende Blut wurde in drei heparinisierten Glaskapillarröhrchen (Capillary Tubes, ~200µl, cobas®, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland) blasenfrei aufgefangen und diese dann jeweils an beiden Enden mit entsprechenden Kappen luftdicht verschlossen. Die Analyse erfolgte unmittelbar nach Entnahme durch ein automatisches Blutgasanalysegerät (cobas b 123 Blutgas-Analysesystem, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland) nach Eingabe der zuvor gemessenen Körpertemperatur des Patienten. Von den drei Einzelmessungen der Kapillarröhrchen wurden die Werte des arteriellen Kohlendioxidpartialdrucks (paCO₂), des arteriellen Sauerstoffpartialdrucks (paO₂) sowie der alveolo-arteriellen Sauerstoffpartialdruckdifferenz (A-aDO₂) jeweils arithmetisch gemittelt.

Die Berechnung der A-aDO₂ erfolgte automatisch durch das Analysegerät. Da sich dieser Wert aus mehreren Variablen erschließt und unter anderem auch den aktuellen Luftdruck mit einbezieht, gilt er als relativ unabhängige Messgröße, die eine bessere Beurteilung des Schweregrades der kapillären Gasaustauschstörung ermöglicht als die Interpretation der anderen Partialdrücke allein (Grabner und Fey 2013b).

Die Formel zur Berechnung der alveolo-arteriellen Sauerstoffpartialdruckdifferenz setzt sich wie folgt zusammen (Grabner and Fey 2013):

$$A-aDO_2 = pAO_2 - paCO_2$$

pAO₂ = alveolärer Sauerstoffpartialdruck

paCO₂ = arterieller Kohlenstoffdioxidpartialdruck

$$p\text{AO}_2 = (p_B - 47 \text{ Torr}) \times 0,2095 - p\text{aCO}_2$$

p_B = aktueller Barometerdruck (in Torr)

47 Torr = Wasserdampfdruck-Konstante

0,2095 = $F_i\text{O}_2$: aktuelle Ventilation, bei Atmung von Raumluft konstant 20,95%

Die jeweiligen Referenzwerte liegen für $p\text{aCO}_2$ bei 40 ± 5 mmHg, für $p\text{aO}_2$ bei 100 ± 5 mmHg und für A-a DO_2 bei $5,4 \pm 5,1$ mmHg (bei einer Höhe von NN = Normalnull) (Grabner and Fey 2013).

1.2.3.2 Belastungsuntersuchung

An Tag eins wurde nach Abschluss der entsprechenden klinischen und labordiagnostischen Untersuchungen eine Belastungsuntersuchung durchgeführt, um erkrankungsbedingte Leistungseinschränkungen zu evaluieren. Nach einer kurzen Aufwärmphase im Schritt wurden die Tiere hierfür ohne Unterbrechung zehn Minuten im Trab und anschließend fünf Minuten im Galopp an der Longe bewegt, wobei auf Husten, Nasenausfluss, erschwerte Atmung und generelle Leistungsbereitschaft geachtet wurde. Im Anschluss erfolgte durch Dokumentation von Puls- und Atemfrequenz ab dem Zeitpunkt Null und dann folgend im Abstand von fünf Minuten die Ermittlung der Wiederberuhigungszeit. Physiologischerweise sollten die Pferde nach 15 Minuten ihre Ausgangswerte erreicht haben. Außerdem fand wenige Minuten nach Belastungsstopp eine Laktat-Bestimmung aus dem venösen Blut (entnommen aus der *Vena jugularis*) statt, um eine muskulär bedingte Leistungsminderungen auszuschließen. Bei einem Laktatwert ≥ 4 mmol/l wurden zusätzlich die Kreatinkinase (CK) und die Aspartat-Aminotransferase (AST) 4 und 24 Stunden nach Belastung bestimmt.

1.2.3.3 Interpleuraldruckmessung

Zur weiteren Beurteilung der Lungenfunktion wurde mithilfe des „Venti-Graph“ (Modell PG 100/REC, Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Ingelheim Deutschland) die maximale interpleurale Druckdifferenz ($\Delta P_{pi,max}$) über die indirekte Messung des Interpleuraldrucks mittels Ösophagusballonsonde ermittelt. Die Durchführung der Methode erfolgte am stehenden unsedierten Patienten. Hierfür wurden die Pferde in einen Zwangsstand verbracht und je nach Wehrhaftigkeit mit einer Oberlippenbremse versehen. Dann folgte das Einführen der Ballonsonde über den ventralen Nasengang in den Ösophagus bis auf Höhe der Herzbasis. Die für diese Position benötigte ungefähre Sondenlänge wurde im Voraus außen am Patienten abgemessen. Dann wurde die Ösophagussonde an das Gerät angeschlossen und einige Minuten bis zur Beruhigung des Patienten abgewartet, bis die Aufzeichnung der Druckschwankungen beginnen konnte. Bei Gebrauch der Oberlippenbremse wurde diese in

der Regel für die Messung wieder entfernt. Die Aufzeichnung der Druckkurven erfolgte auf entsprechendem Diagrammpapier unter manueller Einstellung der Empfindlichkeitsstufe (Stufe 1-3) sowie der Schreibgeschwindigkeit (0, 2 oder 10 mm/s) und solange bis 5-10 zusammenhängende, vergleichbare Atemzüge vorlagen. Anschließend wurde die Ballonsonde erst von dem Gerät entfernt und dann langsam aus dem Ösophagus zurückgezogen. Mit einer gerätespezifischen Auswerteschablone wurde dann die maximale interpleurale Druckdifferenz ermittelt. Dazu wurde der Wert der $\Delta P_{pi,max}$ an einer, der Empfindlichkeitsstufe entsprechenden, Skala für 5-10 Atemzüge abgelesen und arithmetisch gemittelt. Werte > 4 cmH₂O weisen hierbei auf eine Atemwegsobstruktion hin. Neben der Messung der $\Delta P_{pi,max}$ ermöglichten die Aufzeichnungen auch das Erkennen einer eventuell verlängerten und/oder biphasigen Expiration.

Eine schnelle und unregelmäßige Atmung führt bei dieser Methode zu verfälschten Messergebnissen, weshalb bei einigen Probanden keine adäquate Auswertung erfolgen konnte.

1.2.3.4 Endoskopische Untersuchung

Direkt im Anschluss an die interpleurale Druckmessung erfolgte die Tracheobronchoskopie mit einem flexiblen Videoendoskop (Firma Videomed, 2,70 m Länge, 0,9 cm Durchmesser). Hierfür wurden die Patienten im Zwangsstand belassen und mit Detomidinhydrochlorid (Cepesedan® RP, CP-Pharma; 0,01-0,02 mg/kg KGW) sowie ergänzend für eine gleichzeitige Hemmung des Hustenreizes mit Levomethadonhydrochlorid (L-Polamivet®, Intervet Deutschland GmbH, 0,05-0,075 mg/kg KGW) sediert. Es wurde gewartet, bis der Patient deutliche Anzeichen einer Sedierung (hängender Kopf und Ohren, schläfriger Gesichtsausdruck, gedämpfte Reaktion auf Umgebungsreize) zeigte. Die Wirkung dieser Sedation wurde auch für die im nächsten Abschnitt beschriebene bronchoalveoläre Lavage ausgenutzt.

Bei der Endoskopie wurden zunächst der Kehlkopf und das Rachendach beurteilt, wobei auf funktionelle und anatomische Pathologien, wie beispielsweise eine idiopathische *Hemiplegia laryngis*, eine Dorsalverlagerung des Gaumensegels oder eine pharyngeale follikuläre Hyperplasie, geachtet wurde. Wurde hierbei ein hochgradiger Befund einer Pathologie der oberen Atemwege festgestellt führte dies zum Ausschluss des Patienten aus der Studie. Anschließend erfolgte die endoskopische Exploration der Trachea bis hin zur Aufzweigung in die Hauptbronchien. Dabei wurden die tracheobronchiale Schleimhaut, die Sekretmenge und -viskosität sowie die Schwellung der *Carina tracheae* beurteilt. Die Beurteilung der Sekretmenge und -viskosität erfolgte mithilfe eines von Dieckmann (1987) entwickelten und in Bezug auf die Sekretmenge von Gerber, Straub et al. (2004) validierten Scores. Die Kriterien für die Vergabe der Punkte von 0 bis 5 sind in der folgenden Tab. 2 (S. 75) aufgeführt.

III Material und Methoden

Tab. 2: Beurteilungsmaßstab für die tracheobronchoskopischen Befunde nach Dieckmann (1987)

Sekretmenge		Sekretviskosität	
Keine Sekretansammlungen, keine Sekretflocken	0	Schleimhaut feucht, nur geringe Mengen wässrigen Sekretes aspirierbar	0
Keine Sekretansammlungen, einzelne Sekretflocken	1	Schleimhaut feucht, einzelne feine Sekretflocken in wässrigem Sekret, leichte Aspiration	1
Flache ventrale Sekretansammlung, einzelne größere Sekretflocken	2	Schleimhaut feucht, seromuköses Sekret, ventral gelegen, homogen, leichte Aspiration	2
Deutlich ventrale Sekretansammlung, reichlich Sekretflocken	3	Schleimhaut feucht, seromuköses Sekret mit einzelnen konsistenteren Sekretflocken, ventral gelegen, leichte Aspiration	3
Durchgehende ventrale Sekretstraße, Sekretseebildung	4	Schleimhaut feucht/pappig, muköses bis mukopurulenten Sekret, einige dorsale Schleimflocken, deutlich erschwerte Aspiration	4
Mehr als ein Viertel des tracheallumens füllende(r) Sekretstraße/-see	5	Schleimhaut pappig/trocken, muköses bis purulenten Sekret, reichlich dorsale Schleimflocken, teilweise spinnwebartige Schleimformationen, schwere Aspiration (kaum noch möglich)	5

Der Übertrag der Bewertung der tracheobronchoskopischen Befunde in den modifizierten klinischen Untersuchungsscore von Ohnesorge (Gesamtscore) (s.u.) wurde anschließend wie folgt vorgenommen: Eine 0-1 ergab eine 0 im Gesamtscore, eine 2-3 eine 1 und eine 4-5 eine 2. Lagen große Diskrepanzen zwischen der Viskosität und der Menge vor, so wurde immer zugunsten der Menge beurteilt, da diese die validierte und verlässlichere Messgröße darstellt (Gerber, Straub et al. 2004).

Während der Tracheobronchoskopie wurde – sofern es die Sekretmenge zuließ – über den Arbeitskanal des Endoskops mithilfe eines flexiblen Katheters eine TBS-Probe entnommen. Da für die Evaluierung des Krankheitsstatus allerdings bei allen Patienten die wesentlich repräsentativere Zytologie der BALF vorlag, soll die quantitative Auswertung des anschließend angefertigten TBS-Ausstriches in dieser Arbeit nicht weiter aufgeführt werden. Vor Abschluss der endoskopischen Untersuchung wurden noch in Vorbereitung auf die folgende bronchoalveoläre Lavage über den Arbeitskanal des Endoskops 20 ml Lidocainhydrochlorid (Lidocainhydrochlorid 2%, bela-pharm GmbH und Co. KG, Vechta, Deutschland) zur Lokalanästhesie an die *Bifurcatio tracheae* gegeben.

1.2.3.5 Bronchoalveoläre Lavage

Im Anschluss an die endoskopische Untersuchung folgte in Anlehnung an die Empfehlungen von Robinson (2001) die Durchführung der bronchoalveolären Lavage (BAL) mithilfe eines sterilen BAL-Katheters aus Silikon mit einer Länge von 3 m und einem äußeren Durchmesser von 11 mm (Broncho-Alveolar Lavage Catheter (Silicone), SurgiVet®, Smiths Medical ASD Inc., St. Paul, MN, USA). Der Katheter wurde bei überstreckter Kopf-Hals-Haltung des Pferdes über den ventralen Nasengang ohne endoskopische Kontrolle in die Trachea eingeführt und so weit vorgeschoben, bis ein Widerstand zu spüren war. Nach Infiltration des am distalen Katheterende liegenden Ballons (Cuffs) mit Luft erfolgte die portionierte Instillation von insgesamt 500 ml vorgewärmter (~37°C) steriler phosphatgepufferter Salzlösung (PBS, BioWhittaker®, Lonza, Verviers, Belgien) mittels steriler 100 ml Spritzen. Nach Eingabe der letzten Teilmenge wurde die Flüssigkeit unmittelbar langsam aspiriert und für den Erhalt einer Poolprobe wieder zurück in das Ausgangsgefäß überführt. An dem skalierten Gefäß konnte dann direkt die zurückgewonnene Menge in ml abgelesen werden. Hierbei gilt eine durchschnittliche Rückgewinnrate von 40 bis 60 % als physiologisch, wobei sich diese bei bestehender Atemwegsobstruktion vermindern kann (Robinson 2001). Vorhandener Schaum als Ausdruck des Surfactant in der wiedergewonnenen Flüssigkeit diente als Kontrollkriterium für den Erhalt einer repräsentativen Probe aus dem Alveolarbereich.

Am Ende der Untersuchungen wurden die Patienten für durchschnittlich 2 Stunden nüchtern gehalten und erhielten für 24 Stunden Boxenruhe. Zudem erfolgte am Abend und am darauffolgenden Morgen eine Kontrolle der Körperinnentemperatur.

1.2.3.5.1 Aufbereitung der BAL (Probenaufbereitung)

Die Aufbereitung der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit für die Anfertigung von Ausstrichpräparaten und für das Einfrieren der Proben erfolgte unmittelbar oder innerhalb einer halben Stunde (solange Kühlung bei 4°C) im hauseigenen Labor. Zunächst wurde die BALF makroskopisch beurteilt, wobei auf Farbe, Trübung, Schaummenge und Beimengungen wie Schleim oder Blut geachtet wurde. Dann wurden von der Flüssigkeit jeweils etwa 12 ml in vier 15 ml Röhrchen (Zentrifugenröhren, steril, Sarstedt AG&Co, Nümbrecht, Deutschland) verteilt und bei 1500 rpm für 10 Min. zentrifugiert. Die für das spätere Einfrieren verwendete Flüssigkeit wurde gesondert (bei gleicher Einstellung) in einer Kältezentrifuge (Tischkühlzentrifuge Z 326 K, HERMLE Labortechnik GmbH, Wehingen, Deutschland) bearbeitet und dabei auf 4°C herunter gekühlt. Anschließend wurde hiervon der Überstand in 1,5 ml Röhrchen abpipettiert (unter Vermeidung von Schaumbeimengungen) und bis zur weiteren Verwendung (s. Abschnitt 1.4 „Laboranalytische Verfahren“) bei -80°C gelagert.

Für die Anfertigung eines Ausstrichpräparates wurde der bei der ungekühlten Zentrifugation gewonnene Überstand vorsichtig abgekippt und Teile des Zellsedimentes mit einer Pipette (100µl) aspiriert. Durch gleichzeitige Mitnahme von geringen Flüssigkeitsmengen und anschließender Mischung in der Pipettenspitze erfolgte eine leichte Resuspension der Zellen, was für eine gleichmäßigere Zellverteilung im Ausstrich sorgte. Es wurden insgesamt drei Objektträger mit einem Ausstrich angefertigt und nach Lufttrocknung mit der Pappenheim-Färbung (May-Grünwald-Giems-Färbung) gefärbt.

1.2.3.5.2 Zytologische Untersuchung

Bei der anschließenden zytologischen Auswertung der Ausstrichpräparate unter dem Lichtmikroskop (Olympus BX41TF, Olympus Corporation, Tokyo, Japan) wurde zunächst der gesamte Objektträger bei 100facher Vergrößerung mäanderförmig durchgemustert. Dabei wurde auf Zellmenge und -verteilung, Mukusgehalt sowie auf besondere Beimengungen wie Curschmannspiralen, Bakterien, Pflanzenteile und Pilzsporen geachtet. Außerdem erfolgte eine Bewertung des Zellgehaltes mit einer Unterteilung in gering-, mittel- und hochgradig.

Die genaue Zelldifferenzierung wurde dann bei 1000facher Vergrößerung mit Ölimmersion vorgenommen. Hierfür wurden insgesamt 500 Zellen mithilfe eines Zellcounters (Zell-Counter AC-8, Karl-Hecht GmbH & Co. KG, Sondheim, Deutschland) ausgezählt und der jeweilige prozentuale Anteil der einzelnen Zellarten an der Gesamtmenge berechnet. Dabei wurden Alveolarmakrophagen (schaumige und nicht-schaumige), Lymphozyten, neutrophile Granulozyten, eosinophile Granulozyten und Mastzellen berücksichtigt. Ferner wurde das Vorhandensein von Epithelzellen oder Bakterien, die Häufigkeit und Ausprägung von Schaumzellen und mehrkernigen Riesenzellen, der Segmentierungsgrad der neutrophilen Granulozyten sowie das Vorkommen von Kernpyknosen, die Phagozytose von Pollen und andere Auffälligkeiten dokumentiert.

Das physiologische Differentialzellbild der BALF enthält etwa 60 % Makrophagen, 35 % Lymphozyten, < 5 % neutrophile Granulozyten bzw. < 10 % (ältere Pferde > 5 Jahre), < 2 % Mastzellen und < 0,1 % eosinophile Granulozyten (Robinson 2003; Fey and Grabner 2013).

1.2.3.6 Röntgenologische Untersuchung

Als weiteres diagnostisches Hilfsmittel wurden mit einer digitalen Röntgenanlage (GIERTH RHF200 ML, GIERTH X-Ray International GmbH, Riesa, Deutschland) radiologische Aufnahmen der Lunge angefertigt. Dabei wurden zwei laterolaterale Aufnahmen in kaudodorsaler (Mitte der Röntgenkassette etwa 11. Rippe/Sitzbeinhöcker) und kaudo-ventraler (etwa 7. Rippe/Buggelenk) Position angefertigt (Gehlen, Niedermaier et al. 2009). Die Aufnahmen erfolgten mit einem Film-Fokus Abstand von etwa 1-1,2 m bei 90 kV und 0,30 mAs unter Verwendung eines Rasters. Die Beurteilung der Bilder erfolgte an einem gesonderten Auswertungsbildschirm, wobei für die bronchiale und interstitielle

Lungenzeichnung eine Graduierung mit Werten von 0-3 erfolgte. Dabei wurde für einen unauffälligen Befund eine 0, für eine geringgradige Zeichnung eine 1, für eine mittelgradige eine 2 und für eine hochgradige Zeichnung eine 3 vergeben. Für die unmittelbare Diagnosestellung erfolgte eine erste Beurteilung der Bilder immer direkt im Zuge der Untersuchungen. Für die Ergebnisse und die statistischen Auswertungen allerdings wurden die Röntgenbilder am Ende der Studie noch einmal verblindet bewertet.

1.2.4 Klinischer Score

Zusätzlich zu der Einteilung in die verschiedenen Gruppen in Anlehnung an die Diagnose erfolgte noch eine Einteilung nach dem Schweregrad der Erkrankung in gesund, geringgradig, mittelgradig und hochgradig erkrankt. Hierfür wurde ein modifizierter Untersuchungsscore nach Ohnesorge, Trötschel et al. (1998) angewandt, der unter anderem die für die Definition des „*heaves-phenotyp*“ essentielle Beurteilung der Atemwegsobstruktion impliziert (Robinson 2001).

Anhand des Scores wurde an allen drei Tagen ein Wert für den Schweregrad der Erkrankung ermittelt und aus diesen drei Zahlen wiederum das arithmetische Mittel gebildet, was dann den für die abschließende Einteilung ausschlaggebenden Wert darstellte. So wurde versucht, eventuelle Variabilitäten der Lungenfunktion und damit auch von klinischen Befunden auszugleichen. Die nur einmalig erhobenen Befunde der Endoskopie und Zytologie sowie der Perkussion wurden für alle drei Tage einheitlich übernommen. Die zur Beurteilung herangezogenen Kriterien mit der entsprechenden Punkteverteilung und die abschließende Einteilung in den Schweregrad können aus der folgenden Tab. 3 (S. 79) entnommen werden.

III Material und Methoden

Tab. 3: Klinischer Untersuchungsscore modifiziert nach Ohnesorge, Trötschel et al. (1998)

Untersuchung	Befund	Punktzahl	Score		
			Tag 1	Tag 2	Tag 3
Hustenauslösung (max. 1 Punkt)	Nicht auslösbar	0			
	Mehrfach auslösbar	1			
	Auswurf	1			
	Spontaner Husten	1			
Ruhedyspnoe (max. 3 Punkte)	Abdominale Atmung	1			
	Verlängerte Expiration	1			
	Einsinkende ICR	3			
	Nüsternblähen	3			
	Dampfrinne	3			
	Afteratmung	3			
Lungenperkussion (max. 2 Punkte)	Erweiterung 3 Finger	0			
	Erweiterung handbreit	1			
	Dämpfung	2			
Lungenauskultation (max. 2 Punkte)	Rasseln	2			
	Knistern	2			
	Giemen	2			
Tracheobronchoskopie (max. 2 Punkte)	Sekret deutlich vermehrt u./o. mäßig viskös	1			
	Sekret hgr. vermehrt u./o. zähviskös	2			
	Carina tracheae deutlich verdickt	1			
BAL (max. 3 Punkte)	Neutrophile < 10%	0			
	Neutrophile 10-15 %	1			
	Neutrophile 15-25%	2			
	Neutrophile >25%	3			
Blutgasanalyse (max. 2 Punkte)	A-aDO ₂ 7-14mmHg	1			
	A-aDO ₂ > 14mmHg	2			
Gesamtpunktzahl					
Erkrankungsgrad: 0 – 1 gesund 2 – 3 ggr. erkrankt 4 – 6 mgr. erkrankt ≥ 7 hgr. erkrankt					

1.3 Inhalationstherapie

Bei 12 Patienten (8 Pferde mit der Diagnose „COB in Exazerbation“ und 4 Pferde mit der Diagnose „IAD/COB in Remission“) wurde in der Klinik unter optimierten Haltungsbedingungen (Späne, nasses Heu, fakultativ Paddock) eine 10-tägige Inhalationstherapie mit Budesonid (3 µg/kg KGW, Pulmicort® (2 mg/1 ml), AstraZenecea,

Wedel, Deutschland) durchgeführt. Die Inhalation erfolgte zweimal täglich in einem Abstand von mindestens vier Stunden in Ruhe oder unter leichter Bewegung an der Longe mithilfe einer mobilen Inhalationsmaske mit integriertem Ultraschallvernebler-System (SaHoMa®-II, NEBU-TEC International med. Produkte Eike Kern GmbH, Eisenfeld, Deutschland). Nach Abschluss der Therapie erfolgte bei diesen Patienten ein zweiter Untersuchungsdurchlauf (s. Kapitel III, Abschnitt 1.2.1) mit entsprechend analoger Probenaufbereitung.

1.4 Laboranalytische Verfahren

1.4.1 Bestimmung von Fibrinogen

Für die Bestimmung der Fibrinogenkonzentration in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit wurden die Proben an das Labor für klinische Diagnostik LABOKLIN GmbH & CO. KG in Bad Kissingen weitergeleitet. Der Transport erfolgte dabei auf Trockeneis, um den gefrorenen Zustand zu erhalten und größere präanalytische Temperaturschwankungen zu vermeiden.

Die Fibrinogenbestimmung erfolgte automatisiert auf einem c701 Modul der Serie Cobas® 8000 der Firma Roche Diagnostics Deutschland GmbH (Mannheim, Deutschland). Bei der auf diesem Gerät verwendeten Methode handelte es sich um ein immunologisches Messverfahren mit photometrischer Bestimmung der Trübungszunahme (Turbidimetrie). Das eingesetzte Testreagenz wurde von der Firma Dako Deutschland GmbH (Hamburg, Deutschland) bezogen.

Die spezifische Nachweisgrenze für die Fibrinogenkonzentration lag hier bei 0,001 g/l, wobei sich der valide Messbereich bis 5 g/l erstreckte. Die Kennwerte für die Testpräzision, die Intra- und Inter-Assay-Variationskoeffizienten, lagen bei < 2 % und < 3 % entsprechend.

1.4.2 Bestimmung von SAA

Für die Bestimmung der SAA-Konzentration wurden die Proben ebenfalls an das Labor für klinische Diagnostik LABOKLIN GmbH & CO. KG in Bad Kissingen weitergeleitet. Der Transport erfolgte in gefrorenem Zustand auf Trockeneis.

Hier kam dann der von dem Labor standardmäßig verwendete „Phase“™ Serum Amyloid A Assay (SAA) – Multispecies der Firma Tridelata Development Ltd. (Irland) zum Einsatz. Bei diesem Testsystem handelt es sich um einen sogenannten „Sandwich-ELISA“, bei dem das zu detektierende Protein – in diesem Fall das SAA – zwischen zwei Antikörpern eingeschlossen wird. Einer der Antikörper ist hierbei fest an den Boden der Mikrotiterplatte gebunden, während der zweite, sogenannte Anti-SAA Antikörper erst zusammen mit der Testlösung auf die Platte aufgebracht wird. In dem anschließenden Inkubationsvorgang kann dann das in den Proben vorhandene SAA an den stationären Antikörper binden und der freie zweite Antikörper entsprechend an das SAA der Proben. Nichtgebundene Antikörper werden

durch mehrmaliges Waschen entfernt. Da der zweite Antikörper mit Meerrettich-Peroxidase (horseradish peroxidase, HRP) versehen ist, kommt es nach Zugabe von TMB-Substrat (Tetramethylbenzidin) zu einem Farbumschlag, dessen Intensität der Menge an vorhandenem SAA entspricht. Mithilfe einer erstellten Standardkurve lässt sich dann daraus die entsprechende Konzentration in den Proben ermitteln.

Alle Proben wurden unverdünnt eingesetzt und der Test wurde nach der Anleitung des Herstellers durchgeführt. Demnach erstreckte sich der valide Messbereich von 2,5 µg/ml bis 40 µg/ml, wobei sich eine spezifische Nachweisgrenze von 0,01 µg/ml ergab. Für den Intra- und Inter-Assay-Variationskoeffizienten wurden Werte von 5 % bzw. 9 % ermittelt.

1.4.3 Bestimmung der D-Dimere

Für die Bestimmung der Konzentration der D-Dimere wurden die Proben an das Synlab Pharmainstitut in Berlin übermittelt. Während des Transportes wurden die Proben mit Trockeneis in gefrorenem Zustand gehalten. In dem Labor erfolgte die Messung der D-Dimere in der BALF mit dem INNOVANCE® D-Dimer Test (Siemens Healthcare Diagnostics GmbH, Eschborn, Deutschland) auf dem automatischen Analysegerät Sysmex® CA-1500 System (Sysmex Corporation, Norderstedt, Deutschland). Bei dem INNOVANCE® D-Dimer handelt es sich um einen immunturbidimetrischen Test mit Latexpartikelverstärkung, der zum quantitativen D-Dimer-Nachweis dient. Das Prinzip des Analyseverfahrens basiert dabei auf einer Aggregationsreaktion, die durch die Verbindung von – kovalent mit einem monoklonalen Antikörper (8D3) versehenen – Polystyrolpartikel mit den in der Probe enthaltenen D-Dimeren entsteht. Da die D-Dimer-Quervernetzungsregion spiegelsymmetrisch aufgebaut ist, genügt hierbei ein Antikörper für die Aggregation. Der Partikelzusammenschluss führt zu einer Trübungszunahme der Lösung, die dann immunturbidimetrisch gemessen und als die dementsprechende D-Dimer-Konzentration in mg/l Fibrinogenäquivalent (Fibrinogen Equivalent Unit, FEU) ausgegeben wird. 1mg/l FEU entspricht dabei der Konzentration an Fibrinabbauprodukten, die aus dem Abbau von 1 mg/l Fibrinogen resultiert. Die gerätespezifische untere Nachweisgrenze lag für das hier verwendete Analysesystem bei 0,190 mg/l FEU. Als oberer Messbereich wurden 4,40 mg/l FEU angegeben.

Die Durchführung des Tests erfolgte nach der Standardarbeitsanweisung für die Labore von synlab pharma institute (Dok-Nr.: mSOP_HS6442 V2) gemäß den Angaben des Herstellers (Packungsbeilage, INNOVANCE® D-Dimer, Siemens). Die, vom Labor übermittelte, Qualitätsprüfung ergab einen Intra-Assay-Variationskoeffizient von rund 3 % und einen Inter-Assay-Variationskoeffizient von rund 10 %.

1.4.3.1 Anreicherung der D-Dimere in der BALF

Für einen Nachweis von D-Dimer Konzentrationen in den Proben unterhalb der angeführten Nachweisgrenze ($< 0,190$ mg/l FEU) wurde von genanntem Referenzlabor für 25 Fälle (Pferde Nr. 6, 13, 17, 18, 21, 23, 31, 37, 42, 43, 45, 49, 54, 57, 58, 62, 66, 70, 71 sowie Pferde Nr. 31, 37, 43, 45, 54, 57 nach Therapie) eine Proteinanreicherung der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit vorgenommen. Die Gründe für diese Auswahl sind an entsprechender Stelle im Ergebnis- und Diskussions-Teil dieser Arbeit ausführlich dargelegt und werden daher an dieser Stelle nicht weiter benannt.

Für das Anreicherungsverfahren wurden die entsprechenden Proben jeweils in speziellen Ultrafiltrationsröhrchen (Centrifree® Ultrafiltrationseinheiten, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland) bei 2000g eine Stunde lang zentrifugiert (Rotina 420R, Andreas Hettich GmbH & Co. KG, Tuttlingen, Deutschland). Durch den zweiteiligen Aufbau der Röhrchen mit eingebauter Ultrafiltrationsmembran werden bei der Zentrifugation bis zu 99,9% der Proteine im Überstand zurückgehalten, was in einer Faktor-anreicherung in eben diesem resultiert. Der Anreicherungsfaktor wurde in diesem Fall nicht durch Proteinbestimmung exakt ermittelt, sondern durch Wägung der entsprechenden Einheiten vor und nach Zentrifugation hypothetisch berechnet (Ausgangsgewicht/Endgewicht der BALF). Anschließend wurde die D-Dimer Konzentration in dem Filtrat mit dem INNOVANCE® D-Dimer Test wie oben aufgeführt bestimmt und am Ende durch Hinzunahme des Anreicherungsfaktors die entsprechende Menge in der Ursprungsprobe berechnet (D-Dimere im Filtrat / Anreicherungsfaktor = D-Dimere in der Ausgangslösung).

1.4.4 Bestimmung von PAI-1

Die Bestimmung von PAI-1 wurde eigenständig in den Räumen und unter Aufsicht von Mitarbeitern des Instituts für Veterinärbiochemie sowie der Veterinärphysiologie durchgeführt.

Dabei kamen drei Testsysteme zum Einsatz. Diese waren ein speziesspezifischer kompetitiver ELISA mit equinen Antikörpern (Horse Plasminogen activator inhibitor 1 (SERPINE1) ELISA Kit, Cusabio Biotech Co., Ltd.) sowie zwei sogenannte Sandwich-ELISA, bei denen es sich zum einen um einen humanen Test der Firma R&D Systems®, Inc. (Quantikine® ELISA, Human Serpin E1/PAI-1) handelte und zum anderen um einen speziesspezifischen ELISA der Firma Genorise Scientific, Inc. (Nori® Equine Serpin E1/PAI-1 ELISA Kit). Das Testprinzip letzterer Assays wurde bereits im Zuge der SAA-Bestimmung eingehend erläutert. Bei dem kompetitiven ELISA-System konkurrieren unmarkierte Standards und Proben mit einem Enzym-gebundenen sekundären Antikörper um die Bindungsstellen auf der Mikrotiterplatte. Da der Farbumschlag auch hier auf einer Enzym-vermittelten chemischen Reaktion beruht, ist die Konzentration an Antigen im Standard und in den Proben demnach umgekehrt proportional zu der gemessenen optischen Dichte. Der

III Material und Methoden

Messbereich des kompetitiven ELISA erstreckte sich von 1,56 bis 100 pg/ml und es wurden Werte von 8 % und 10 % für die Intra- bzw. Inter-Assay-Varianz angegeben.

Die anderen beiden Testsysteme wiesen Messbereiche von 0,014 bis 20 ng/ml (Quantikine® ELISA) und von 3 bis 10000 pg/ml (Nori® Equine Serpin E1/PAI-1 ELISA) auf. Als Intra- und Intervariationskoeffizienten wurden 6 % bzw. 7 % für erstgenannten sowie von 6 % bzw. 9 % letzteren aufgeführt.

Die Durchführung des Assays erfolgte jeweils nach der vom Hersteller mitgelieferten Anleitung. Dabei wurden für den Standard wie auch für die Proben die Bestimmungen stets im doppelten Ansatz vorgenommen. Neben dem Einsatz verschiedener Verdünnungsstufen der Proben in den ersten (Test-)Durchläufen, wurden auch Kavitäten mit Plasma von gesunden Pferden und von Kolik-Patienten belegt.

1.5 Statistische Auswertung und graphische Darstellung

Die statistische Auswertung und auch die Erstellung von Grafiken erfolgte mithilfe der Software „SPSS“ (IBM SPSS Statistics 22, SPSS Campus Edition).

Für die verschiedenen Parameter, bei denen Daten an drei Tagen erhoben wurden (s.o.), wurde das daraus hervorgehende Mittel für die Berechnungen herangezogen.

Es erfolgte zunächst eine deskriptive Analyse der Daten, aus der für kontinuierliche (intervallskalierte) Variablen die Verteilung, die zentrale Tendenz und die Streuung beurteilt wurde. Dabei wurde geprüft, ob die Annahme für eine Normalverteilung der Daten (sogenannte Gauss'sche Normalverteilung) gegeben war, was ein wesentliches Entscheidungskriterium bei der Wahl der weiterführenden statistischen Testverfahren darstellte (s.u.). Um eine Aussage über die Verteilung zu treffen, wurden mehrere Kenngrößen betrachtet. Folgende Parameter wurden herangezogen, um zu beurteilen, ob eine Normalverteilung angenommen werden kann:

- 1) Verteilung der Daten im Histogramm entspricht annähernd einer Normalverteilung
- 2) Punkteverteilung im Q-Q-Plot nahe der aufgetragenen Diagonale
- 3) Mittelwert und Median ohne wesentliche Differenz
- 4) Die Spanne zwischen dem Wert für die berechnete Schiefe und dem Ergebnis der Subtraktion der zweifachen Standardabweichung von dieser schließt die Zahl 0 mit ein.
- 5) Bei den statistischen Tests auf Normalverteilung (Kolmogorov-Smirnov, Shapiro-Wilk) kann die Nullhypothese „H₀ = Daten sind normalverteilt“ nicht verworfen werden ($p > 0,05$).

Die Beschreibung der Daten (Deskription) erfolgte für normalverteilte Daten anhand des Mittelwertes (MW) und der Standardabweichung (\pm SD) und für nicht normalverteilte Daten anhand des Medians (Md) und den 25%- und 75%-Quartilen, auch 1. und 3. Quartil ($Q_{1/3}$) genannt. Eine Ausnahme hiervon bildete die Diagnosegruppe 5 „akute/subakute Pneumonie“. Da durch die geringe Fallzahl von 3 eine verlässliche Aussage über die Verteilung der Daten nicht möglich war, wurden die Ergebnisse dieser drei Patienten immer im Einzelnen aufgeführt.

Für ordinale und nominale Daten wurden für die Deskription die Häufigkeiten der einzelnen Ausprägungen angegeben sowie für die Scoresysteme mit Punktevergabe zusätzlich der Modalwert, also der Wert, der am häufigsten auftritt.

Für die anschließende schließende Statistik wurden nur die Diagnosegruppen 1, 2, 3 und 4 berücksichtigt. Die Gruppe 5 wurde aufgrund der sehr geringen Anzahl der Probanden, die einen aussagekräftigen Rückschluss auf die Grundgesamtheit schwierig macht, sowie wegen des biologischen Unterschieds in der Krankheitsgenese zwischen akuten und chronischen Erkrankungen von den weiterführenden statistischen Berechnungen ausgeschlossen.

III Statistische Auswertung und graphische Darstellung

Die schließende Statistik wurde jeweils für das gesamte Patientenkollektiv sowie getrennt davon für die zwölf Pferde mit Arzneimittelbehandlung durchgeführt. Im Folgenden sind die verwendeten Analyseverfahren im Einzelnen aufgeführt.

Bei der Betrachtung des gesamten Patientenkollektivs wurde untersucht, ob es zwischen den Gruppen statistisch signifikante Unterschiede bezüglich der verschiedenen Parameter der klinischen Untersuchungen sowie der drei Laborparameter gab. Getestet wurden hierbei Unterschiede in den Werten zwischen:

- a) der gesunden Kontrollgruppe und dem gesamten Kollektiv chronisch kranker Tiere
- b) der gesunden Kontrollgruppe und den verschiedenen Diagnosegruppen im Einzelnen
- c) den Diagnosegruppen 2, 3 und 4.

Die Berechnungen erfolgten dabei unter der Annahme der Nullhypothese „ H_0 = es besteht kein Unterschied zwischen den jeweiligen Gruppen“ und der entsprechenden Alternativhypothese „ H_A = es besteht eine Unterschied zwischen den Gruppen“. Für die Beurteilung wurde stets das Ergebnis der zweiseitigen Testhypothese herangezogen und das Signifikanzniveau mit 0,05 definiert. Demnach wurde bei einem p-Wert $< 0,05$ die Nullhypothese verworfen und die Alternativhypothese angenommen. P-Werte zwischen 0,01 und 0,05 wurden als signifikant, p-Werte von 0,001 bis 0,01 als hoch signifikanten und p-Werte $< 0,001$ als höchst signifikant betrachtet. Grundsätzlich wurden bei Zielvariablen mit normalverteilten Daten parametrische und bei solchen mit nicht normalverteilten oder nicht-intervall-skalierten Daten nicht-parametrische Testverfahren (sogenannte Ranganalysen) angewandt. Dabei kamen immer die jeweiligen Tests für unabhängige Stichproben zum Einsatz. Bei dem Vergleich von zwei oder mehr Gruppen musste die Normalverteilungsannahme für jede einzelne Gruppe geprüft werden. Wurde diese bei nur mindestens einer verletzt, wurde ein nicht-parametrischer Test angewandt.

Dementsprechend wurde zur Testung der Unterschiedshypothese zwischen zwei Gruppen (entspricht a)) bei normalverteilten Daten der Studentsche t-Test (parametrisches Testverfahren) und bei nicht normalverteilten oder ordinal skalierten Daten der Mann-Whitney-U-Test (nicht-parametrisches Testverfahren) durchgeführt. Für nominale Daten fanden die Berechnungen mittels des Chi-Quadrat-Tests bzw. des exakten Tests nach Fisher statt. Letzterer kam zur Anwendung, wenn in mindestens 25% der Zellen des Chi-Quadrat-Tests weniger als fünf erwartete Häufigkeiten vorlagen.

Wurden mehr als zwei Gruppen miteinander verglichen (entspricht b) und c)), fand die Hypothesen-Testung bei gegebener Normalverteilung mittels einfaktorieller Varianzanalyse (UNIANOVA) und bei fehlender Normalverteilung bzw. ordinalen Daten mittels Kruskal-Wallis-Test und bei nominalen Daten wieder mit dem Chi-Quadrat bzw. dem exakten Test nach Fisher statt. Zeigten die genannten Tests einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den Diagnosegruppen an, wurde eine sogenannte Post-Hoc-Analyse angeschlossen, bei der paarweise Vergleiche der Gruppen untereinander mit entsprechender Ausgabe der p-Werte erfolgten. Im Falle des UNIANOVA handelte es sich dabei um den Tukey-Test und im Falle des Kruskal-Wallis um den Test nach Dunnett. Beide

III Statistische Auswertung und graphische Darstellung

Verfahren korrigieren den sogenannten alpha-Fehler. Um die Power des Tests zu erhöhen, wurde zudem bei dem Vergleich aller Diagnosegruppen mit Kontrasten gearbeitet – ein gängiges Verfahren für ein Kontrollgruppendesign. Dabei wurde der Kontrasttyp „Einfach“ für die Berechnungen gewählt und die Gruppe der lungengesunden Kontrolltiere als Referenzkollektiv herangezogen.

Bei dem Chi-Quadrat-Test wurde mittels des spaltenweisen Z-Vergleichs mit Bonferroni-Korrektur geprüft, welche Gruppen sich auf dem Signifikanzniveau von 0,05 signifikant voneinander unterscheiden. Die Ausgabe einzelner gruppenspezifischer p-Werte war hierbei jedoch nicht möglich.

An dieser Stelle ist noch anzumerken, dass für die statistische Auswertung der Unterschiede in der maximalen interpleuralen Druckdifferenz trotz normalverteilten Daten immer das nicht-parametrische Testverfahren gewählt wurde, da für diese Untersuchung nur relativ kleine Stichprobenzahlen in den einzelnen Gruppen vorlagen ($n = 7, 13, 9$ und 6).

Bei den zwölf therapierten Pferden wurden speziell Unterschiede zwischen den Werten vor und nach Therapie untersucht. Getestet wurden hierbei Unterschiede zwischen:

- a) den Werten vor und denen nach Therapie aller zwölf Pferde zusammengenommen
- b) den Werten vor und denen nach Therapie für die beiden Diagnosegruppen („COB in Exazerbation“ und „IAD/COB in Remission“) getrennt.

Da es sich bei dem Kollektiv der Therapie-Gruppe um eine relativ geringe Stichprobenzahl von insgesamt 12 bzw. nur 8 und 4 Tieren in den jeweiligen Gruppen handelte, wurden für die statistischen Berechnungen immer nicht-parametrische Analyseverfahren (für verbundene Stichproben) angewandt. Diese waren für intervall- und ordinal-skalierte Daten der Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test und für nominale Daten der McNemar-Test. Die Formulierung der Nullhypothese und die Wahl des Signifikanzniveaus erfolgten analog zu den Analysen der unverbundenen Stichproben (s.o.).

Neben der Untersuchung von Unterschieden wurde vereinzelt auch überprüft, ob es einen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen einzelnen Parametern gibt. Für die Bestimmung von Zusammenhängen wurde der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman herangezogen (nicht-parametrische Korrelationsanalyse). Zur Beurteilung des Zusammenhanges wurde neben dem Wert des Rangkorrelationskoeffizienten (r_s) auch der p-Wert betrachtet. Bei Werten für r_s von 0 bis 0,25 wurde von keiner Korrelation, bei Werten von 0,25 bis 0,5 von einer schwachen, bei Werten von 0,5 bis 0,75 von einer guten und bei Werten von 0,75 bis 1 von einer starken Korrelation ausgegangen. Zusätzlich wurde für die weitergehende Interpretation über die Art bzw. die Ursache des Zusammenhanges der entsprechende Scatter-Plot betrachtet. Anhand dieser Grafik konnte gezeigt werden, ob ein tatsächlicher Zusammenhang der getesteten Parameter bestand oder ob die angezeigte Korrelation durch Clusterbildung innerhalb der einzelnen Gruppen in spezifischen Wertebereichen entstanden und ein weiterführendes Berechnungsmodell für eine verlässliche Aussage nötig war. Aufgrund fehlender Normalverteilung der Daten wurde dann

III Statistische Auswertung und graphische Darstellung

an dieser Stelle eine logistische Regression (statt der gängigen erweiterten linearen Regression) angewandt, mit der entsprechende Einflussfaktoren analysiert werden konnten.

Die grafische Darstellung der Ergebnisse erfolgte in Form von Box-plots für intervallskalierte Daten und in Form von Balkendiagrammen für ordinale Daten. Zusätzlich wurden die gruppenspezifischen Werte aus der deskriptiven Datenanalyse ausgewählter Parameter in Tabellen vergleichend aufgeführt. Entsprechend der Werteverteilung und des Skalenniveaus sind darin entweder der Mittelwert (\pm SD), der Median (inkl. $Q_{1/3}$) oder der Modalwert angegeben sowie die beobachteten Minima und Maxima.

2 Ergebnisse

2.1 Probandengut/Patientenkollektiv

Von den insgesamt 61 für die Studie verwendeten Probanden konnten nach Abschluss aller Untersuchungen und unter Berücksichtigung der in Kapitel III, Abschnitt 1.1.2, S. 68 formulierten Einschlusskriterien 15 Pferde der Gruppe 1 (Gesund), 18 Pferde der Gruppe 2 (COB in Exazerbation), 14 Pferde der Gruppe 3 (IAD/COB in Remission), 11 Pferde der Gruppe 4 (interstitielle Pneumopathie) und 3 Pferde der Gruppe 5 (akute/subakute Pneumonie) zugeordnet werden. Von den insgesamt 12 Patienten, die eine Inhalationstherapie mit anschließender Kontrolluntersuchung erhielten, stammten 8 Tiere aus der Gruppe 2 und 4 Tiere aus der Gruppe 3.

Entsprechend der in Kapitel III Abschnitt 1.1.1 „Allgemeines Patientenkollektiv“ bereits aufgeführten heterogenen Rasseverteilung reichte die Größe von 123 cm bis 175 cm (154 ± 12 cm). Das Gewicht der Tiere lag im Mittel bei 469 (± 96) kg mit einem Minimum von 250 kg und einem Maximum von 650 kg.

Im Durchschnitt waren die Probanden 12 (± 5) Jahre alt, wobei das jüngste Pferd ein Jahr alt war und das älteste 23 Jahre alt. Dabei zeigten sich zum einen ein höchst signifikanter Unterschied ($p < 0,001$) zwischen dem durchschnittlichen Alter der gesunden Kontrollgruppe und dem der chronisch kranken Tiere sowie signifikante Unterschiede zwischen dem durchschnittlichen Alter der Pferde mit „COB in Exazerbation“ und denen mit der Diagnose „IAD/COB in Remission“ ($p = 0,037$) und „interstitielle Pneumopathie“ ($p = 0,013$). Die Altersunterschiede für die einzelnen Gruppen sind in der folgenden Tab. 4 dargestellt.

Tab. 4: Übersicht über die durchschnittliche Altersverteilung in den Diagnosegruppen

Diagnosegruppe	Alter in Jahren (MW \pm SD)
gesund	$8 \pm 4^{a,b}$
chronisch krank (Gruppe 2,3 und 4)	14 ± 5^a
COB in Exazerbation	$17 \pm 5^{b,c}$
IAD/COB in Remission	$13 \pm 4^{b,c}$
interstitielle Pneumopathie	$12 \pm 4^{b,c}$
akute/subakute Pneumonie	Die 3 Tiere waren 1, 8 und 18 Jahre alt.

a Höchst signifikanter Altersunterschied zwischen „Gesund“ und „chronisch krank“ ($p < 0,001$).

b Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen 1 und 2 ($p < 0,001$), den Gruppen 1 und 3 ($p = 0,006$) und den Gruppen 1 und 4 ($p = 0,041$). **c** Signifikanter Unterschied zwischen Gruppe 2 und Gruppe 3 ($p = 0,037$) sowie 2 und 4 ($p = 0,013$).

2.2 Ergebnisse der Untersuchungen

2.2.1 Ergebnisse der allgemeinen und speziellen klinischen Untersuchung

Von den 61 Pferden des vorliegenden Patientenkollektivs wurden 48 aufgrund klinischer Auffälligkeiten von ihren Besitzern zur diagnostischen Abklärung in der internistischen Abteilung der Klinik vorgestellt, wobei der Grund für die Vorstellung ein einzelnes dominierendes Symptom oder eine Mehrzahl von Symptomen war (Abb. 6). Mit 52,1% (n=25) wurde die überwiegende Zahl der Patienten wegen einer Kombination von Symptomen vorstellig. Dabei wurde bei fast allen dieser Tiere (n=25) von den Besitzern eine bereits bekannte COB-Erkrankung genannt. Eine genaue Abgrenzung der Dauer der Vorerkrankung war jedoch in der Regel nicht möglich, da die Angaben sehr unsicher waren und häufig Faktoren wie Besitzerwechsel mit hinzukamen. Am zweithäufigsten wurde eine Leistungseinschränkung (n=12) genannt, gefolgt von einst beobachteter oder aktuell akuter Dyspnoe (n=9), Husten (n=8), Nasenausfluss (n=6), erhöhter Atemfrequenz (n=3), Gewichtsverlust (n=3) und einer vergangenen viralen Infektion (n=2).

Bei den Patienten, die vor allem wegen eines dominierenden Symptoms zur Abklärung in die Klinik gebracht wurden, gaben die Besitzer zu 37,5% (n=18) Husten, zu 6,3% (n=3) Leistungseinschränkungen und zu je 2,1% (n=1) ein erhöhten Atemfrequenz bzw. zeitweise auftretende Dyspnoe als alleinige Auffälligkeit an.

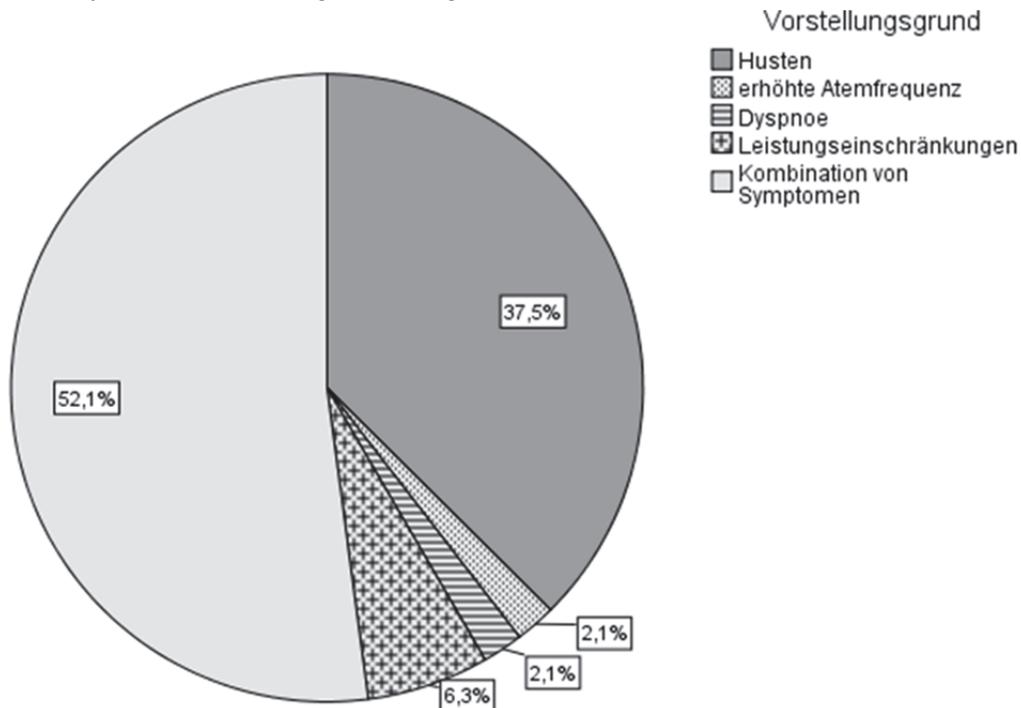


Abb. 6: Häufigkeitsverteilung der verschiedenen Gründe für die Vorstellung in der Klinik. Bei einer Kombination von Symptomen nannten die Besitzer neben den in der Legende bereits namentlich aufgeführten Auffälligkeiten auch noch Nasenausfluss, Gewichtsverlust und eine durchgemachte virale Infektion.

III Ergebnisse

Bei Einlieferung in die Klinik war das Allgemeinbefinden der Patienten, außer bei denen, die eine akute Dyspnoe aufwiesen, weitestgehend ungestört. Bei bestehender Atemnot wurden die Tiere mit mittelgradig bis zum Teil hochgradig gestörtem Allgemeinbefinden beurteilt.

Von den drei Patienten (Pferd Nr. 35, 38 und 44), die neben respiratorischen Symptomen auch wegen Gewichtsverlust in die Klinik kamen, wies Pferd Nr. 44 einen mäßigen und Pferd Nr. 38 einen schlechten Ernährungszustand auf. Pferd Nr. 35 wurde als kachektisch eingestuft. Bei Pferd Nr. 44 lag zudem eine erhöhte Atemfrequenz und bei den Pferden Nr. 38 und 35 sogar eine hochgradige Atemnot vor – beide Tiere zeigten diesen Zustand laut Besitzerangaben in alterierender Stärke bereits über einen Zeitraum von mehreren Wochen. Die Tiere, die für die gesunde Kontrollgruppe ausgewählt wurden, hatten alle ein ungestörtes Allgemeinbefinden.

Weitere Parameter der allgemeinen klinischen Untersuchung wie die kapilläre Füllungszeit, der Hautturgor etc. waren übereinstimmend ohne besonderen Befund. Vereinzelt zeigten sich geringgradig vergrößerte *Lnn. mandibulares* (verschieblich, nicht schmerzhaft) und lediglich bei 2 der 3 Patienten mit akuter/subakuter Pneumonie eine pathologische Größenzunahme dieser.

Bei den Vitalparametern lag die Herzfrequenz in der gesunden Kontrollgruppe im Durchschnitt bei 37 ± 4 Schlägen pro Minute und die innere Körpertemperatur bei $37,4 \pm 0,3$ °C. Für die chronisch lungenkranken Probanden ergaben sich Durchschnittswerte von 38 ± 4 Schlägen pro Minute und $37,5 \pm 0,3$ °C respektive.

Im Gegensatz zu der Herzfrequenz und der inneren Körpertemperatur konnten bei der Atemfrequenz deutliche Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden. In der gesunden Kontrollgruppe lag die durchschnittliche Atemfrequenz bei 14 ± 2 Atemzügen pro Minute, in der Gruppe 2 bei 22 ± 6 , in der Gruppe 3 bei 17 ± 4 und in der Gruppe 4 bei 16 ± 4 Atemzügen pro Minute. Die Patienten mit akuter/subakuter Pneumonie zeigten alle eine Atemfrequenz von 13 Atemzügen pro Minute. Die Unterschiede erwiesen sich hierbei zwischen den Pferden mit COB in Exazerbation zu allen anderen Gruppen als signifikant. Die einzelnen p-Werte gehen aus der Abb. 7 (S. 91) hervor.

III Ergebnisse

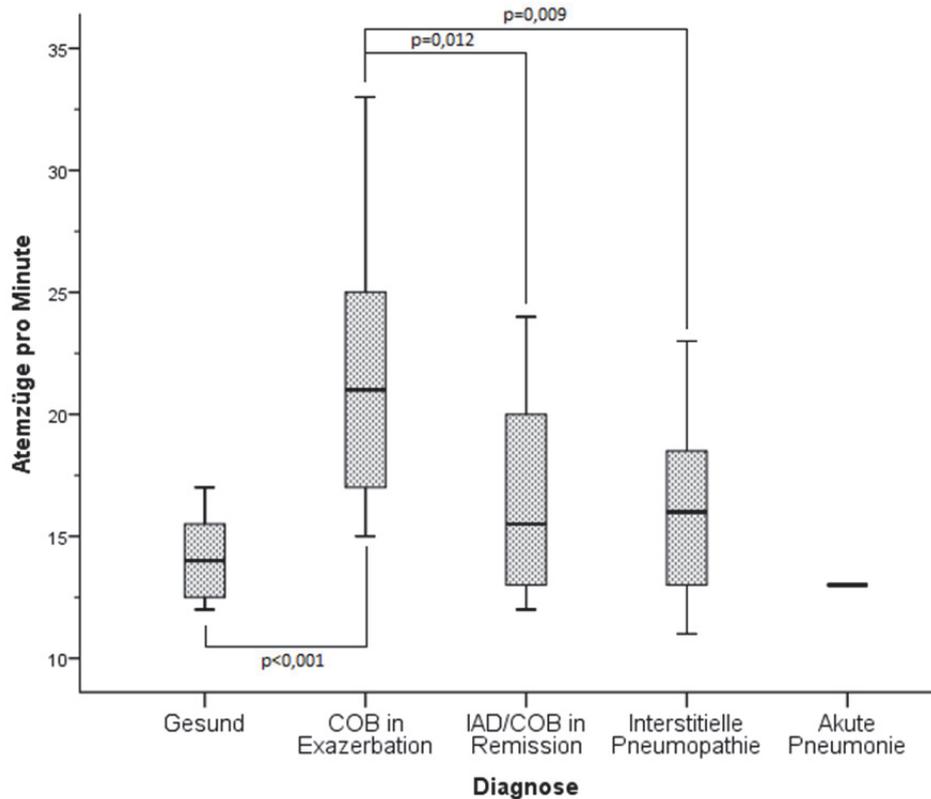


Abb. 7: Atemfrequenz in Abhängigkeit von der Diagnosegruppe. Signifikante Unterschiede zwischen einzelnen Gruppen sind durch die Klammern und mit den entsprechenden p-Werten ausgewiesen.

Von der speziellen klinischen Untersuchung des Respirationstraktes sind im Folgenden nur die Parameter aufgeführt, die auch in dem modifizierten klinischen Score nach Ohnesorge (1998) berücksichtigt werden. Dazu gehören die Hustenauslösung, die Ruhedyspnoe, die Lungenperkussion und die Lungenauskultation.

In der Gruppe der gesunden Kontrolltiere zeigten sich keinerlei Auffälligkeiten in der speziellen Untersuchung des Respirationstraktes. Im Vergleich dazu konnten bei den erkrankten Tieren durchweg pathologische Befunde mit unterschiedlicher Intensität und Häufigkeit festgestellt werden. So ließ sich bei 37% (n=17) mehrfach manuell Husten auslösen, 28,2% (n=13) zeigten eine gering- bis mittelgradige und 13% (n=6) eine hochgradige Ruhedyspnoe. Bei ebenfalls 13% (n=6) ergab die Lungenperkussion eine Vergrößerung des Lungenfeldes und 6,5% (n=3) hatten einen positiven Auskultationsbefund mit abnormen Atemgeräuschen wie Rasseln, Hiemen oder Giemen. Bei Betrachtung der einzelnen Gruppen ergaben sich krankheitsspezifische und zum Teil auch statistisch signifikante Unterschiede in der Häufigkeit bzw. Stärke der jeweiligen Befunde, wobei die Ausprägungen bei den Pferden mit der Diagnose „COB in Exazerbation“ grundsätzlich am stärksten waren. Im Folgenden werden diese Gruppenunterschiede für Husten, Dyspnoe, Perkussion und Auskultation näher erläutert. Eine manuelle Hustenauslösung war bei 8 von

III Ergebnisse

18 Pferden (44,4%) der Gruppe 2, bei 5 von 14 Pferden (35,7%) der Gruppe 3, bei nur 2 von 11 Pferden (18,2%) der Gruppe 4 und bei 2 von 3 Pferden (66,7%) der Gruppe 5 möglich. Bei den Tieren mit akuter/subakuter Pneumonie (Gruppe 5) waren alle weiteren Parameter (Ruhedyspnoe, Lungenperkussion, Lungenauskultation) ansonsten ohne besonderen Befund, weshalb diese Diagnosegruppe im Folgenden nicht mehr weiter genannt wird. Hingegen zeigten 11 (61,1%) Tiere mit der Diagnose „COB in Exazerbation“ eine gering- bis mittelgradige und 5 (27,8%) Tiere aus dieser Gruppe eine hochgradige Ruhedyspnoe. Von den Patienten mit der Diagnose „IAD/COB in Remission“ zeigte lediglich ein Patient (gering- bis mittelgradig) und von denen mit der Diagnose „interstitielle Pneumopathie“ nur zwei Patienten (1x gering- bis mittelgradig, 1x hochgradig) dieses klinische Bild. Dieser Unterschied erwies sich über alle Diagnosegruppen hinweg (mit und ohne Einschluss von Gruppe 1) als höchst signifikant ($p < 0,001$). Im paarweisen Einzelvergleich zeigten sich schließlich höchst bzw. hoch signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen 1 und 2 ($p < 0,001$) sowie zwischen den Gruppen 2 und 3 ($p < 0,001$) und 2 und 4 ($p = 0,002$) (Abb. 8).

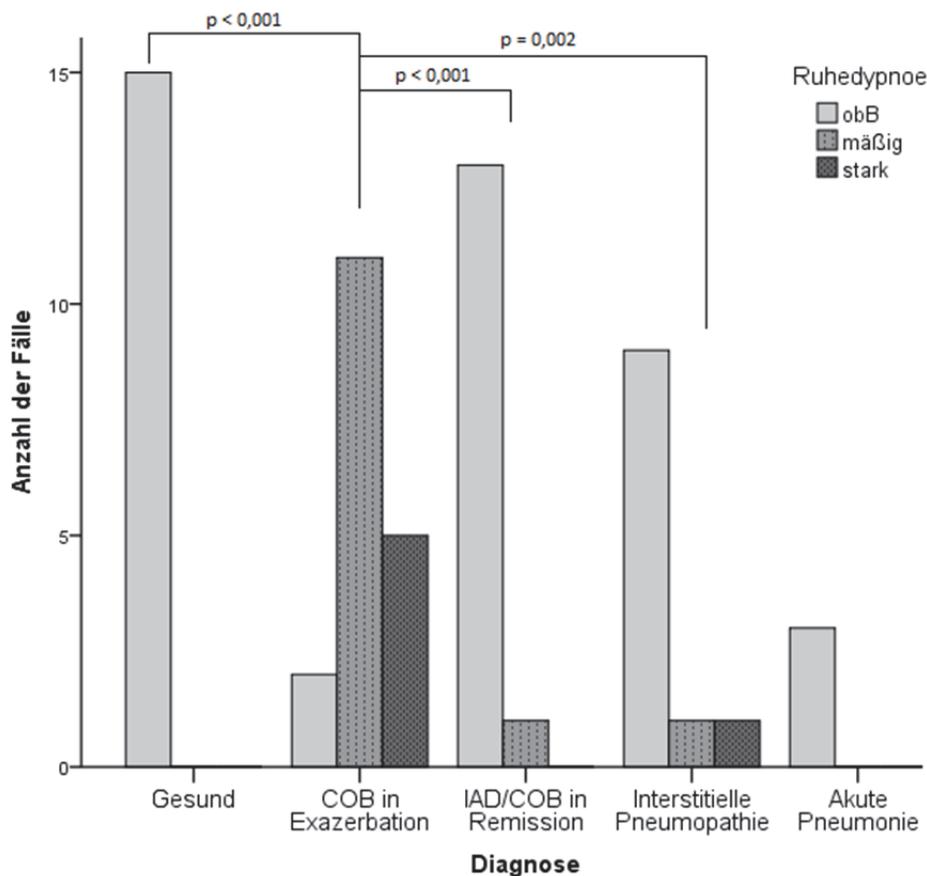


Abb. 8: Häufigkeitsverteilung der Ausprägung einer Ruhedyspnoe in den einzelnen Diagnosegruppen. Signifikante Unterschiede zwischen einzelnen Gruppen sind durch die Klammern und mit den entsprechenden p-Werten ausgewiesen.

III Ergebnisse

Die Lungenperkussion ergab bei 3 (16,7%) Pferden der Gruppe 2, bei einem der Gruppe 3 (7,1%) und bei zwei Tieren der Gruppe 4 (18,2%) eine pathologische Erweiterung des Lungenfeldes. Die zwei Patienten der Gruppe 4 waren in diesem Fall dieselben, die auch die bereits genannte Ruhedyspnoe aufwiesen (Pferde Nr. 1 und Nr. 22). Auch die Einzelbetrachtung der Pferde aus Gruppe 2 zeigte, dass bei allen drei Patienten mit dem vergrößerten Lungenfeld auch eine Ruhedyspnoe vorlag.

Bei der Lungenauskultation war häufig eine verschärfte In- und/oder Expiration zu hören. Da diese Befunde jedoch als sehr subjektiv anzusehen sind und auch keinen Einfluss auf den Gesamtscore hatten, werden sie hier nicht weiter aufgeführt. Abnorme Atemgeräusche im Sinne von Hiemen, Giemen und Rasseln wurden nur bei insgesamt drei Pferden festgestellt. Diese gehörten allesamt der Gruppe „COB in Exazerbation“ an und waren auch die drei Patienten mit dem vergrößerten Lungenfeld bei gleichzeitig bestehender Ruhedyspnoe (Pferde Nr. 13, 21 und 35).

Bei der CO₂-Rückatmung wurde bei keinem der Pferde ein abnormes Atemgeräusch festgestellt, welches nicht auch schon während der Ruheatmung auszukultieren war – lediglich die Atemlautstärke war logischerweise erhöht und der Atemcharakter häufiger als deutlich verschärft wahrnehmbar.

2.2.2 Ergebnisse der weiterführenden Untersuchungen

2.2.2.1 Ergebnisse der venösen und arteriellen Blutanalysen

Die zur Beurteilung des allgemeinen Gesundheitsstatus der Probanden herangezogene venöse Blutuntersuchung, bei der unter anderem der Hämatokrit, das Gesamteiweiß und die Leukozytenanzahl gemessen wurden, ergab ausschließlich Werte im Referenzbereich.

Auch die im Rahmen der arteriellen Blutgasanalyse ermittelten Parameter des Säure-Basen-Haushalts, d.h. pH, HCO₃⁻ und BE, zeigten fast keinerlei Abweichungen von der Norm. Eine Ausnahme bildete hier das Pferd Nr. 35, bei dem ein HCO₃⁻ von 33,97 mmol/l gemessen wurde. Die Erhöhung dieser Base ging mit einem sehr stark erhöhtem paCO₂ (58,20 mmHg) und einem sehr stark erniedrigten paO₂ (57,93 mmHg) bei deutlich erhöhter A-aDO₂ (21,90 mmHg) einher. Der pH-Wert lag mit 7,38 dabei noch im Referenzbereich. Dieser Patient gehörte der Gruppe 2 an und zeigte den Status der Exazerbation in höchstgradiger Form.

Die gemessenen Werte des arteriellen Kohlendioxidpartialdrucks bewegten sich, mit einem durchschnittlichen paCO₂ von 44 ± 2,25 mmHg für die gesunde Kontrollgruppe und einem durchschnittlichen Wert von 43,97 ± 3,18 mmHg für die Gruppe der kranken Tiere, ebenfalls fast ausschließlich im Referenzbereich (40 ± 5 mmHg) und ohne nennenswerte Unterschiede zwischen den einzelnen Diagnosegruppen. Einzig der Patient Nr. 35 wies den bereits genannten deutlich pathologisch erhöhten Wert von 58,20 mmHg auf.

Der arterielle Sauerstoffpartialdruck lag zwar ebenfalls bei allen Gruppen im Mittel im Referenzbereich, jedoch zeigten sich hier in der Einzelbetrachtung der Diagnosegruppen

III Ergebnisse

deutliche Variationen im Wertebereich mit pathologischen Werten. Die einzelnen Zahlen hierzu sind in Tab. 21 (S. 218) aufgeführt. Die statistischen Berechnungen ergaben dabei einen signifikanten Unterschied ($p=0,028$) über die Gruppen 2, 3 und 4 hinweg, wobei der anschließende Post-Hoc-Vergleich den entscheidenden Unterschied zwischen Gruppe 2 und 3 ($p=0,043$) herausstellte. Obwohl auch der Vergleich über die Gruppen 1, 2, 3 und 4 einen signifikanten Unterschied ($p=0,037$) aufzeigte, blieb die Post-Hoc-Analyse hier ohne Ergebnis. Anhand der grafischen Analyse (Abb. 9, S. 94) war jedoch ersichtlich, dass der Median für den paO_2 der Gruppe 2 knapp außerhalb des Interquartilbereichs der Gruppe 1 lag, was auf mögliche signifikante Unterschiede hinwies. Auf Grundlage dessen wurden daher diese beiden Kollektive mit dem Mann-Whitney-U-Test einzeln gegeneinander getestet. Dabei ergab sich wie zu erwarten ein statistisch signifikanter Unterschied ($p=0,025$) zwischen dem arteriellen Sauerstoffpartialdruck der gesunden Kontrolltiere und dem der Pferde, die sich im Exazerbationsstadium befanden.

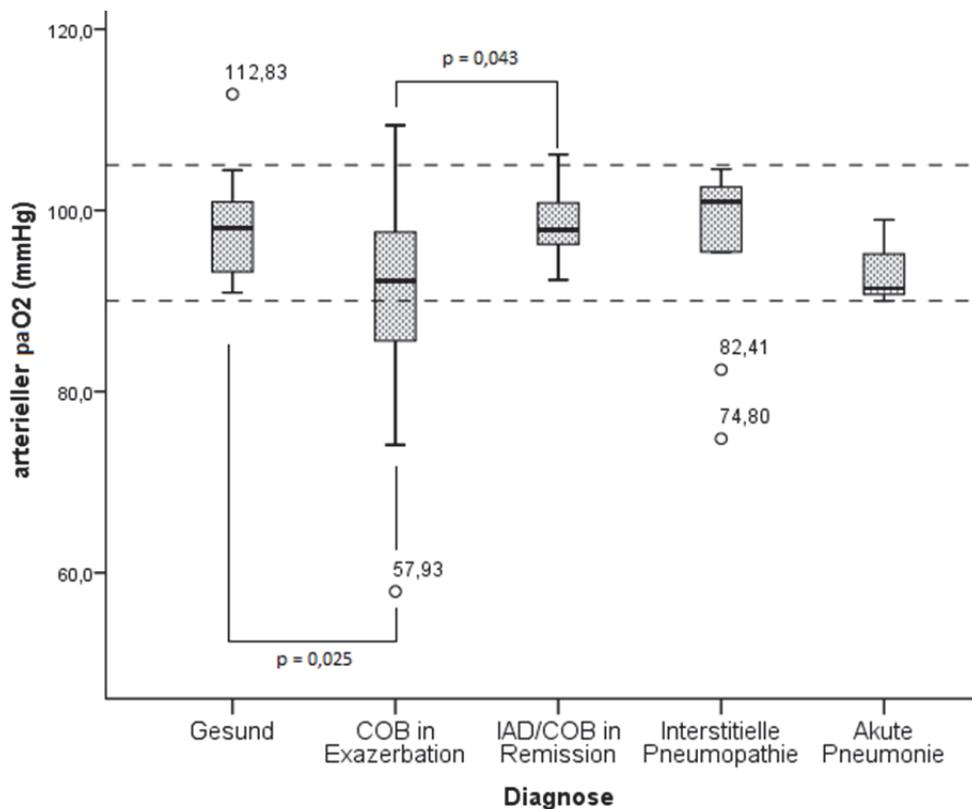


Abb. 9: Vergleichende Darstellung des arteriellen Sauerstoffpartialdruckes (paO_2) in den verschiedenen Diagnosegruppen. Die gestrichelten Linien markieren die obere und untere Grenze des Referenzbereichs (95-105 mmHg). Für die Extremwerte (\circ) sind die jeweiligen Messergebnisse angegeben. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind durch die Klammern und mit den entsprechenden p-Werten ausgewiesen.

III Ergebnisse

Die gemessenen Werte der A-aDO₂ verhielten sich weitestgehend analog zu denen des paO₂. Auch hier lag der Mittelwert bzw. der Median der einzelnen Gruppen im Referenzbereich oder an seiner oberen Grenze, wobei sich ebenfalls deutliche Variationen bei der Betrachtung der Standardabweichungen bzw. Quartile und der Minima und Maxima zeigten (Abb. 10, S. 95). In Tab. 22 (S. 218) sind die einzelnen Werte entsprechend aufgeführt.

Wie schon bei den Berechnungen für den arteriellen Sauerstoffpartialdruck, ergaben die statistischen Analysen auch für die alveolo-arterielle Sauerstoffpartialdruckdifferenz signifikante Unterschiede über die Gruppen 1, 2, 3 und 4 (p=0,017) hinweg sowie allein über die kranken Gruppen 2, 3 und 4 (p=0,016). Der paarweise Einzelvergleich der automatischen Post-Hoc-Analyse zeigte, dass analog zum paO₂ auch in diesem Fall der entscheidende signifikante Unterschied (p=0,018) zwischen Gruppe 2 und 3 lag.

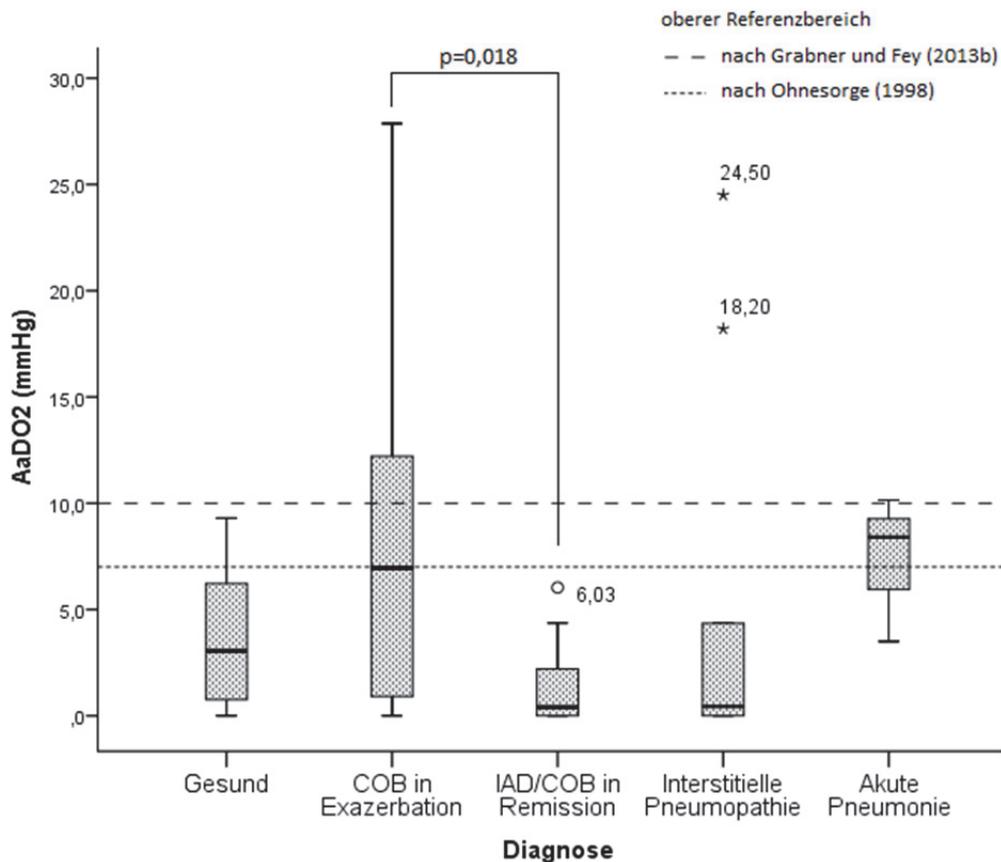


Abb. 10: Vergleichende Darstellung der alveolo-arteriellen Sauerstoffpartialdruckdifferenz (A-aDO₂) in den einzelnen Diagnosegruppen. Die Linien zeigen die in der Legende näher benannten Referenzbereiche an. Für die Extremwerte (○/*) sind die jeweiligen Messergebnisse angegeben. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind durch die Klammern und mit den entsprechenden p-Werten ausgewiesen.

III Ergebnisse

Die vergleichende Betrachtung der A-aDO₂ eingeteilt in Kategorien gemäß des Gesamtscores (< 7 mmHg, 7-14 mmHg, > 14 mmHg) ergab analoge Unterschiede zu den eben beschriebenen intervallskalierten Daten. So zeigten sich auch hier signifikante Unterschiede über die Gruppen 1, 2, 3 und 4 ($p=0,022$) hinweg sowie allein über die kranken Gruppen 2, 3 und 4 ($p=0,017$). Und auch hier ergab der paarweise Einzelvergleich einen signifikanten Unterschied ($p=0,021$) zwischen Gruppe 2 und 3.

2.2.2.2 Ergebnisse der Belastungsuntersuchung

Die Belastungsuntersuchung konnte nur bei gut der Hälfte ($n=31$) der Probanden durchgeführt werden. Bei den übrigen 30 Pferden aus dem Patientenkollektiv wurde aufgrund einer hochgradigen Ruhedyspnoe, eines orthopädischen Problems oder auf Wunsch der Besitzer darauf verzichtet. Auch bei den Patienten mit akute/subakute Pneumonie wurde aus medizinischen Gründen von dieser Untersuchung abgesehen. Vereinzelt musste die Untersuchung auch wegen aufkommender Dyspnoe während der Belastung vorzeitig abgebrochen werden. Die gemessenen Laktatwerte vor und nach Belastung bewegten sich ausschließlich im Referenzbereich und sollen daher an dieser Stelle nicht weiter benannt werden.

Von den 15 lungengesunden Pferden konnten 11 belastet werden, wovon ein Proband eine geringgradig verzögerte Wiederberuhigungszeit aufwies. Die restlichen 10 Pferde aus dieser Gruppe zeigten sich unauffällig in der Belastung. Von den Patienten, die am Ende die Diagnose „COB in Exazerbation“ erhielten, konnten nur weniger als die Hälfte ($n=6$) der Belastungsuntersuchung unterzogen werden, wovon nur Proband innerhalb der tolerierten Zeit seine Ruheatemfrequenz wiedererlangte. Die anderen 5 Pferde aus Gruppe 2 hingegen zeigten deutlich verlängerte Beruhigungswerte. Aus der Gruppe „IAD/COB in Remission“ war die Belastungsuntersuchung bei 4 von 6 Patienten auffällig und bei den Patienten mit der Diagnose „interstitielle Pneumopathie“ bei 5 von 8.

Der exakte Test nach Fisher zeigte hierbei einen hochsignifikanten Unterschied ($p=0,002$) in dem Ausgang der Belastungsuntersuchung zwischen der gesunden Kontrollgruppe und der Gruppe der chronisch lungenkranken Tiere sowie einen hoch signifikanten Unterschied ($p=0,009$) über alle Diagnosegruppen (inkl. Gr. 1) hinweg. Der spaltenweise Z-Vergleich mit Bonferroni-Korrektur stellte dabei heraus, dass sich die Gruppe 1 von jeweils allen anderen Gruppen (2, 3 und 4) auf dem 0,05-Niveau signifikant unterschied. Zwischen den Gruppen der kranken Tiere untereinander bestand kein signifikanter Unterschied. Eine grafische Veranschaulichung hierzu bietet die Abb. 11 (S. 97).

III Ergebnisse

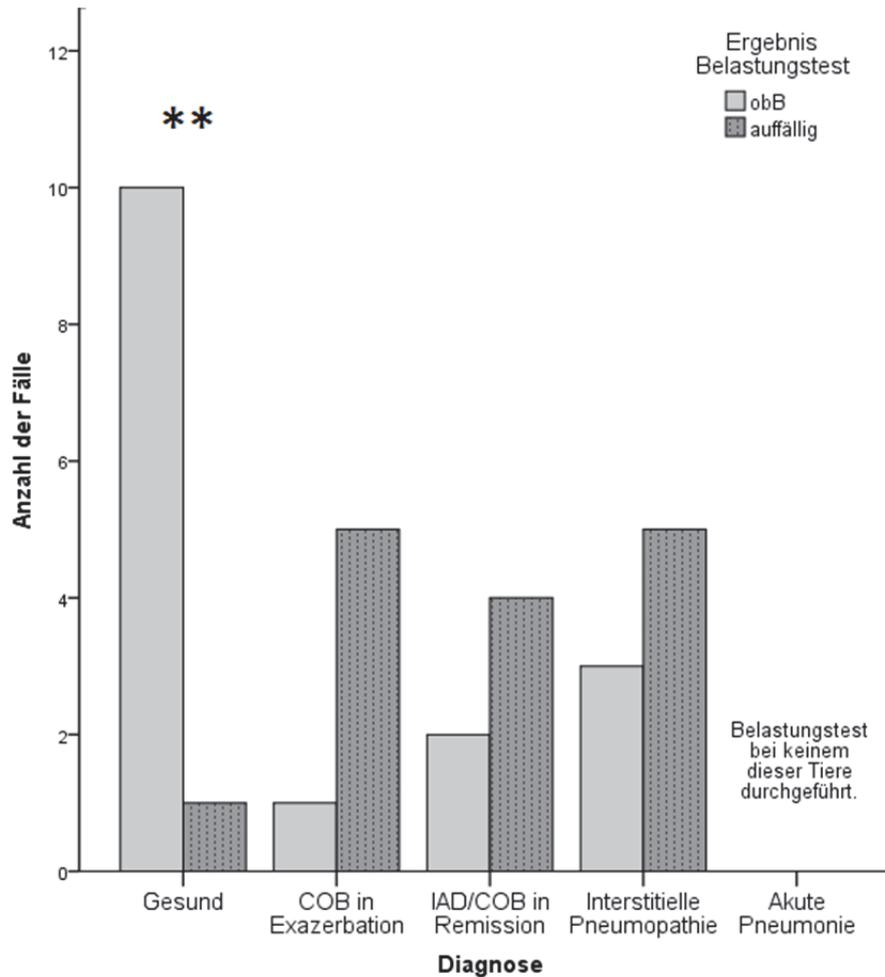


Abb. 11: Verteilung unauffälliger und auffälliger Ergebnisse im Belastungstest in den einzelnen Diagnosegruppen. Als auffällig galt eine verlängerte Wiederberuhigungszeit von > 15 Minuten. Der Unterschied im Ausgang dieser Untersuchung war zwischen den gesunden Kontrolltieren und den jeweiligen Erkrankungsgruppen (2, 3 und 4) auf dem 0,05-Niveau signifikant (**).

2.2.2.3 Ergebnisse der Interpleuraldruckmessung

Die Interpleuraldruckmessung wurde bei insgesamt 37 (60,7%) Probanden durchgeführt. Die übrigen 24 (39,3%) Patienten zeigten so starke Widersetzlichkeit bei dieser Untersuchung, dass es entweder erst gar nicht möglich war, die Sonde einzuführen, oder keine auswertbaren Messergebnisse erzielt werden konnten.

Von den lungengesunden Probanden, bei denen eine Messung möglich war (n=7), wiesen alle eine physiologische maximale interpleurale Druckdifferenz von ≤ 4 cmH₂O auf (2 ± 1). Von den Patienten mit der Diagnose „COB in Exazerbation“ hatten 8 von 13 (61,54%) eine pathologisch erhöhte $\Delta P_{pl,max}$ von > 4 cmH₂O (5 ± 3), von denen mit „IAD/COB in Remission“ hatten nur 2 von 9 (22,22%) auffällige Werte (4 ± 1) und von denen mit „interstitieller Pneumopathie“ wiesen 2 von 6 (33,33%) Probanden eine $\Delta P_{pl,max}$ von > 4

III Ergebnisse

cmH₂O (4 ± 1) auf. Von den drei Tieren aus Gruppe „akute/subakute Pneumonie“ konnte bei 2 Pferden der IPD gemessen und beide Male physiologische Werte von 2 und 4 cmH₂O vermerkt werden. Die höchste überhaupt gemessene interpleurale Druckdifferenz wurde in der Gruppe zwei ermittelt und lag bei 11 cmH₂O.

Der Unterschied in dem gemessenen Interpleuraldruck erwies sich zwischen der gesunden Kontrollgruppe und der Gruppe der chronisch kranken Tiere als hoch signifikant (p=0,004). Auch die Unterschiedsberechnungen über alle einzelnen Gruppen (inkl. Gr. 1) hinweg wiesen eine Signifikanz (p=0,029) aus, wobei der gruppenweise Einzelvergleich die entscheidende Differenz zwischen der gesunden Kontrollgruppe und der Gruppe mit der Diagnose „COB in Exazerbation“ herausstellte (p=0,017) (Abb. 12).

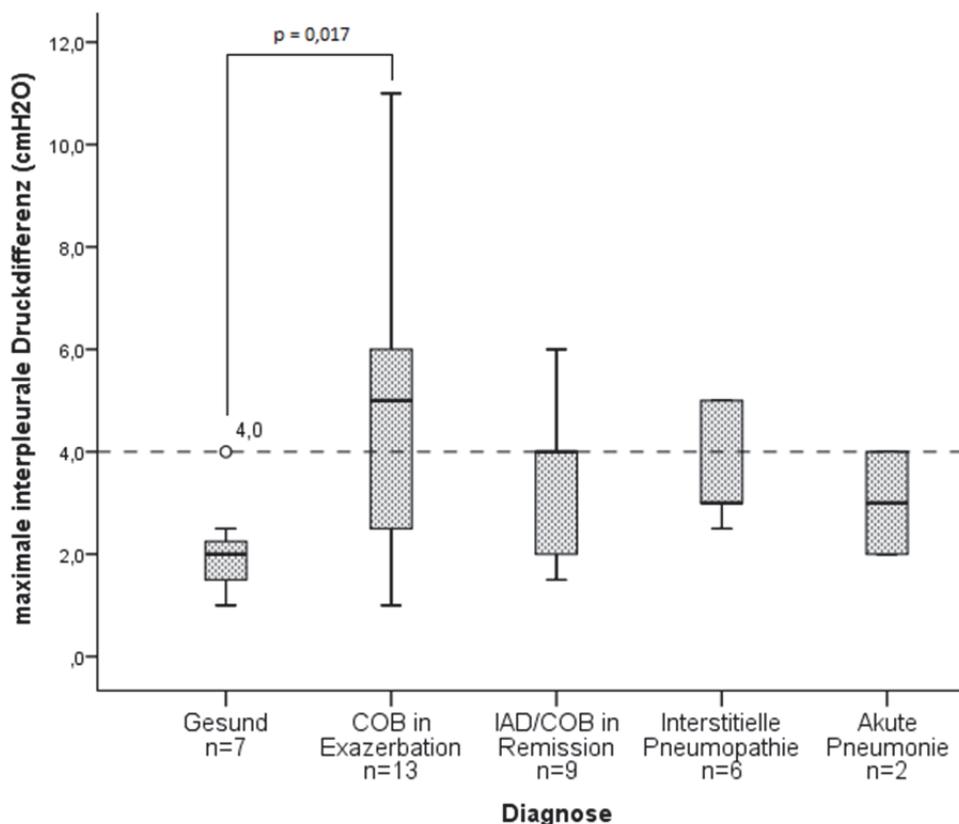


Abb. 12: Maximale interpleurale Druckdifferenz ($\Delta P_{p,i,max}$) in den einzelnen Diagnosegruppen. Werte über 4 cmH₂O zeigen eine Atemwegsobstruktion an. Der Unterschied in der gemessenen $\Delta P_{p,i,max}$ erwies sich zwischen der gesunden Kontrollgruppe und den Tieren mit „COB in Exazerbation“ als signifikant (p=0,017).

2.2.2.4 Ergebnisse der endoskopischen Untersuchung

Die Darstellung der Ergebnisse der endoskopischen Untersuchung soll an dieser Stelle zum einen allgemein anhand der Punkte aus dem Gesamtscore modifiziert nach Ohnesorge (1998) erfolgen und zum anderen soll speziell auf die beobachtete Sekretmenge und -viskosität anhand der entsprechenden Punkte aus dem Score nach Dieckmann (1987) eingegangen werden.

Die Punktevergabe für den klinischen Score modifiziert nach Ohnesorge ließ eine Einteilung der endoskopischen Befunde in unauffällig, gering- bis mittelgradig und hochgradig zu. Hierbei zeigten sich hoch signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Diagnosegruppen. So konnten die Probanden der lungengesunden Kontrollgruppe nach Ohnesorge allesamt (n=15) ohne besonderen Befund beurteilt werden, während im Gegensatz dazu die Mehrheit der chronisch erkrankten Pferde zu 88,4% (n=38) Befunde unterschiedlichen Schweregrades aufwiesen. Nur 5 (10,9%) der als krank diagnostizierten Probanden waren endoskopisch unauffällig. Davon gehörten zwei Tiere der Gruppe 3 („IAD/COB in Remission“) und drei der Gruppe 4 („interstitielle Pneumopathie“) an. Die restlichen Patienten der Gruppe 3 wiesen zu 57,1% (n=8) gering- bis mittelgradige und zu 28,6% (n=4) hochgradige Endoskopiebefunde auf. Auch bei der Gruppe 4 wurden mit 54,5% (n=6) bei den meisten Tieren gering bis mittelgradige Befunde festgestellt und bei nur 18,2% (n=2) hochgradige Veränderungen. Von den Pferden mit der Diagnose „COB in Exazerbation“ zeigte sich bei allen Tieren ein pathologisches Endoskopiebild, wobei hier mit 77,8% (n=14) die Mehrzahl hochgradige Befunde aufwies und nur 4 (22,2%) Probanden dieser Gruppe mit nicht mehr als mittelgradig beurteilt wurden. Aus den paarweisen Einzelvergleichen ging hervor, dass die Endoskopiebefunde der gesunden Kontrolltiere signifikant verschieden von allen anderen Erkrankungsgruppen waren ($p < 0,001$ für Gruppe 2, $p = 0,001$ für Gruppe 3 und $p = 0,038$ für Gruppe 4) und dass sich zudem die Befunde der Gruppe „COB in Exazerbation“ jeweils signifikant von denen der Gruppe „IAD/COB in Remission“ ($p = 0,021$) bzw. „interstitielle Pneumopathie“ ($p = 0,003$) unterschieden. Die Patienten, bei denen eine akute/subakute Pneumonie vorlag, wurden nach dem Gesamtscore alle mit einem hochgradigen Befund beurteilt. In Abb. 13 (S. 100) sind die genannten Unterschiede noch einmal grafisch veranschaulicht.

III Ergebnisse

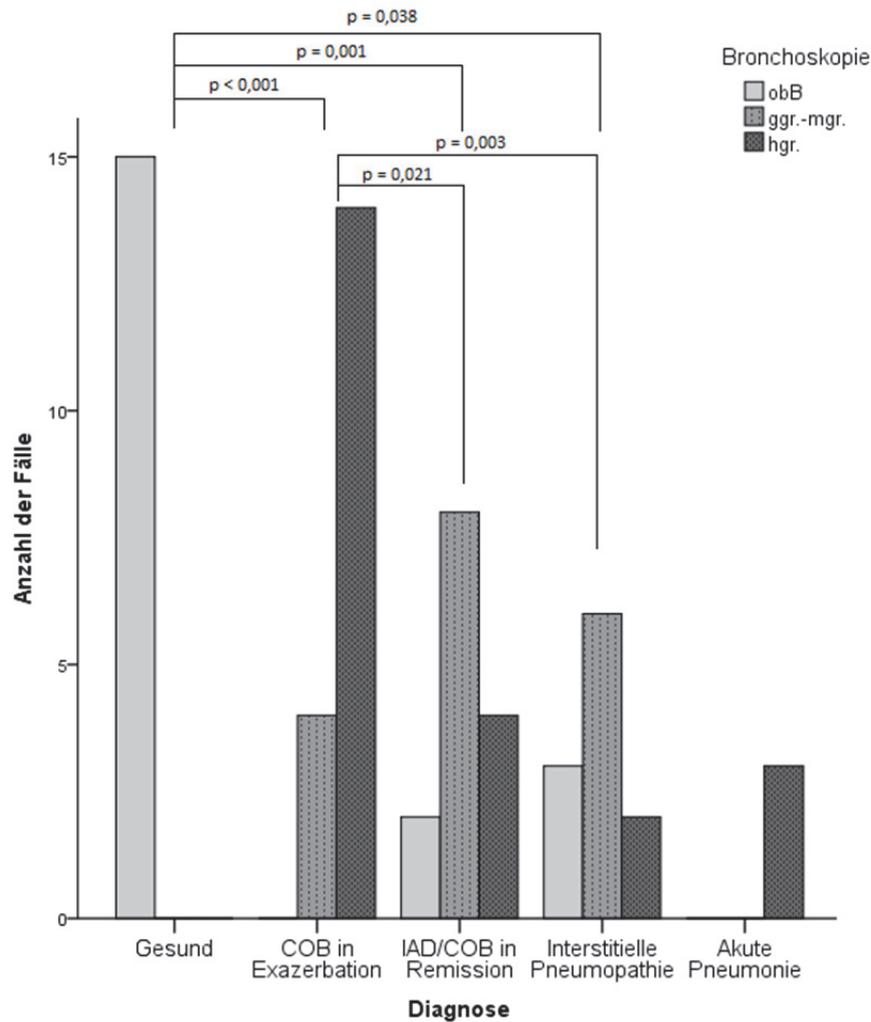


Abb. 13: Häufigkeitsverteilung des Vorkommens unauffälliger, gering- bis mittelgradiger und hochgradiger Befunde (nach Ohnesorge 1998) in der endoskopischen Untersuchung in den einzelnen Diagnosegruppen. Signifikante Unterschiede zwischen einzelnen Gruppen sind durch die Klammern und mit entsprechenden p-Werten gekennzeichnet.

Konsequenterweise spiegelte sich die genannte Verteilung des modifizierten Scores nach Ohnesorge weitestgehend in dem mit Punkten von 0 bis 5 bezifferten Score nach Dieckmann für die Beurteilung der Sekretmenge und -viskosität wider. Auch hier war der Unterschied zwischen dem bronchoskopischen Befund der gesunden und dem der chronisch lungenkranken Tiere höchst signifikant ($p < 0,001$). Während in der Gruppe der gesunden Kontrolltiere alle Patienten für beide Nenngrößen mit 0 oder nur einem Punkt beurteilt wurden, zeigten die Tiere des erkrankten Patientenkollektivs die gesamte Spannweite an möglichen Scorepunkten für Sekretmenge und -viskosität. Dabei ergaben sich zudem krankheitsspezifische Häufigkeitsverteilungen, deren Unterschied über die einzelnen Diagnosegruppen hinweg (mit und ohne Einschluss von Gruppe 1) ebenfalls höchst signifikant ($p < 0,001$) war. Im Rahmen der Post-Hoc-Analysen erwies sich die beobachtete

III Ergebnisse

Sekretmenge der lungengesunden Pferde höchst signifikant ($p < 0,001$) verschieden zu der die in Gruppe 2 vorgefunden wurde und etwas weniger stark verschieden, aber dennoch signifikant ($p = 0,043$) zu der in Gruppe 3. Die vergleichende Betrachtung der kranken Tiere untereinander ergab, dass sich die Sekretmenge der Patienten mit „COB in Exazerbation“ höchst signifikant ($p < 0,001$) von jener der Tiere mit „IAD/COB in Remission“ sowie von der der Pferde mit „interstitieller Pneumopathie“ unterschied. Der paarweise Vergleich für die Sekretviskosität stellte dieselben Gruppenunterschiede mit lediglich etwas anderen Signifikanzen heraus. Dabei ergaben sich zwischen Gruppe 1 und 2 und Gruppe 1 und 3 p-Werte von jeweils $< 0,001$ und $0,019$ und zwischen Gruppe 2 und 3 und Gruppe 2 und 4 p-Werte von $0,005$ und $< 0,001$ entsprechend. Die für die jeweilige Messgröße am häufigsten vergebene Punktzahl, ausgedrückt durch den Modalwert sowie die entsprechenden Minima und Maxima der einzelnen Gruppen, sind in folgender Tab. 5 aufgeführt.

Tab. 5: Übersicht über die Anzahl an vergebenen Punkten für die endoskopisch beobachtete Sekretmenge und –viskosität (nach Dieckmann 1987).

Diagnosegruppe	Sekretmenge			Sekretviskosität		
	Modalwert	Min.	Max.	Modalwert	Min.	Max.
gesund ^{a, b}	0	0	1	0	0	1
chronisch krank ^a	4	0	5	4	0	5
COB in Exazerbation ^{b, c}	4	3	5	4	3	5
IAD/COB in Remission ^{b, c}	2	0	4	2/3	0	4
interstitielle Pneumopathie ^c	2	0	4	1	0	4
akute/subakute Pneumonie	Alle Tiere wurden mit 4 Punkten beurteilt.			Zwei Tiere wurden mit 4 und eines mit 3 Punkten beurteilt.		

a Die Häufigkeitsverteilung der einzelnen Punkte für **Sekretmenge und –viskosität** war zwischen den gesunden und chronisch kranken Tieren höchst signifikant ($p < 0,001$) verschieden. **b** Es bestanden höchst signifikante Unterschiede zwischen Gruppe 1 und 2 ($p < 0,001$) sowie hoch signifikante Unterschiede zwischen Gruppe 1 und 3 ($p = 0,043$ und $p = 0,019$) für die Sekretmenge und –viskosität. **c** Hoch signifikante ($p = 0,001$) Unterschiede zwischen den Gruppen 2 und 3 bzw. 4 in der beobachteten Sekretmenge sowie signifikante Unterschiede zwischen Gruppe 2 und 3 ($p = 0,005$) bzw. 4 ($p < 0,001$) in der Sekretviskosität.

An dieser Stelle ist noch auf eine nennenswerte Beobachtung hinzuweisen, die während der Bronchoskopie gemacht wurde. Und zwar zeigte sich bei dem Pferd Nr. 35, bei dem es sich um einen 15 Jahre alten Warmblutwallach mit einer COB in Exazerbation in höchstgradiger Form (siehe hierzu bereits genannte Daten) handelte, bei einem hochgradigen Endoskopiebefund mit einer maximalen Punktzahl von 5 für Sekretmenge wie auch –viskosität gleichzeitig eine sehr dünne, messerscharfe Carina.

2.2.2.5 Ergebnisse der bronchoalveolären Lavage

Für die Durchführung der bronchoalveolären Lavage wurden bei jedem Patienten 500 ml vorgewärmte PBS-Lösung in die Lunge instilliert. Nur bei Pferd Nr. 6 wurde von diesem Standardschema abgewichen. Hier konnte beim ersten Mal keinerlei Flüssigkeit wiedergewonnen werden, weshalb zusätzlich 250 ml nachgegeben wurden und sich somit die Gesamtmenge eingegebener Flüssigkeit auf 750 ml erhöhte.

Die Rückgewinnrate lag über alle Gruppen hinweg im Mittel zwischen 42 – 54%. Dabei gab es keinen wesentlichen Unterschied in den Werten der einzelnen Diagnosegruppen. So konnten bei Gruppe 1 im Durchschnitt 244 (\pm 91) ml (48,8%) zurückgewonnen werden, bei Gruppe 2 241 (\pm 94) ml (48,1%), bei Gruppe 3 264 (\pm 90) ml (52,7%), bei Gruppe 4 213 (\pm 75) ml (42,5%) und bei Gruppe 5 270 (\pm 26) ml (54%).

Mit Hinzunahme der zweiten Untersuchung von den Patienten aus der Therapie-Gruppe wurde die bronchoalveoläre Lavage insgesamt 83 Mal durchgeführt. Dabei zeigte sich bei zwei Pferden (1,66%) am Abend nach der BAL ein Temperaturanstieg über 38°C, der mit einer einmaligen Gabe eines antipyretisch wirksamen Pharmakons (Metamizol, 20 mg/kg KGW) nachhaltig gesenkt werden konnte. Das Allgemeinbefinden der Tiere war zu keinem Zeitpunkt beeinträchtigt. Bei einem Proband aus der Gruppe der gesunden Kontrolltiere fiel am Tag nach der Untersuchung vermehrtes Husten auf, was innerhalb einer Woche wieder abgeklungen war. Weitere unerwünschte Nebenwirkungen im Anschluss an die BAL traten nicht auf.

2.2.2.5.1 Ergebnisse der zytologischen Untersuchung

Die zytologische Auswertung der bronchoalveolären Lavage ergab über alle Zelltypen hinweg deutliche Variationen zwischen den einzelnen Gruppen. Der Übersichtlichkeit halber sollen im folgenden Text nur die Signifikanzen betreffenden Zahlen genannt werden. Eine detaillierte Übersicht mit allen Werten der jeweiligen Zelltypen für die einzelnen Diagnosegruppen liefert die Tab. 23 (S. 219). Zusätzlich sind Unterschiede der Zellprozentage grafisch dargestellt (Abb. 14, S. 104 und Abb. 15, S. 105)

Der Anteil an Makrophagen war im allgemeinen Vergleich „gesund“ gegen „chronisch krank“ sowie auch über die einzelnen Gruppen hinweg (mit und ohne Einschluss von Gruppe 1) höchst signifikant ($p < 0,001$) verschieden. Die Post-Hoc-Analyse zeigten hierbei, dass sich der Anteil der Makrophagen in der Diagnosegruppe „COB in Exazerbation“ mit 21,6 (\pm 13,6)% höchst signifikant ($p \leq 0,001$) von dem aller anderen Diagnosegruppen unterschied. In diesen zeigten sich deutlich höhere Makrophagenanteile von 56,5 (\pm 4,8)% in Gruppe 1, 49,5 (30,7/52,5)% in Gruppe 3 und 50,8 (\pm 15,5)% in Gruppe 4.

Auch für die Lymphozyten ergab sich ein hoch signifikanter ($p \leq 0,001$) Unterschied zwischen der gesunden Kontrollgruppe und dem Patientenkollektiv chronisch kranker Tiere sowie über alle Diagnosegruppen hinweg. Über die Gruppen 2, 3 und 4 allein war dieser Unterschied mit

III Ergebnisse

einem p-Wert von 0,02 etwas weniger stark ausgeprägt. Die Post-Hoc-Analyse stellten zudem lediglich eine Signifikanz ($p < 0,001$) zwischen dem Lymphozytenanteil der gesunden Kontrollgruppe (38,1 ($\pm 6,4$)%) und dem der Gruppe exazerbierter Pferde (17,6 (6,9/30,25)%) heraus.

Der Anteil der polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten (PMN) (Abb. 15, S. 105) zeigte wie schon der der Makrophagen höchst signifikante ($p < 0,001$) Unterschiede beim Vergleich der gesunden und chronisch kranken Tiere im Allgemeinen sowie über die einzelnen Diagnosegruppen (mit und ohne Einschluss von Gruppe 1) hinweg. Den höchsten Anteil an neutrophilen Granulozyten hatte dabei mit durchschnittlich 60,1 ($\pm 21,7$)% die Gruppe „COB in Exazerbation“ zu verzeichnen und unterschied sich damit höchst signifikant ($p < 0,001$) nicht nur von der gesunden Kontrollgruppe, die lediglich einen Neutrophilen-Anteil von 2 (1,2/4,6)% aufwies, sondern auch von den Patientenkollektiven der beiden anderen Krankheitsgruppen. Diese wiesen ebenfalls einen deutlich geringeren Anteil dieses Entzündungszelltyps auf. So lagen die PMN-Prozente bei den Pferden mit der Diagnose „IAD/COB in Remission“ im Durchschnitt bei 17,1 ($\pm 7,4$)% und bei denen mit der Diagnose „interstitielle Pneumopathie“ bei nur 7,2 (5,8/10)%.

Während die eosinophilen Granulozyten als einzige Zellart ohne wesentliche Unterschiede zwischen den Gruppen blieben, konnten bei den Mastzellen wieder krankheitsspezifische Variationen im Anteil an der Gesamtzellzahl festgestellt werden. So zeigten sich mit einem p-Wert von 0,003 bei Einschluss der gesunden Kontrollgruppe und einem nur etwas geringeren p-Wert von 0,002 bei alleinigem Vergleich der Gruppe 2, 3 und 4 hochsignifikante Unterschiede in dem jeweiligen Mastzellanteil. Dabei ergab sich aus dem paarweisen Post-Hoc-Vergleich eine statistische Signifikanz zwischen Gruppe 2 und 3 ($p = 0,031$) sowie zwischen Gruppe 2 und 4 ($p = 0,003$). Der durchschnittliche Anteil an Mastzellen lag hier bei den Pferden mit „IAD/COB in Remission“ (Gruppe 3) und bei denen mit „interstitielle Pneumopathie“ (Gruppe 4) mit durchschnittlich 3,3 ($\pm 2,6$)% und 5 ($\pm 4,3$)% entsprechend über dem Anteil, der für die Pferde mit „COB in Exazerbation“ (Gruppe 2) ermittelt wurde. Hier lagen die Mastzellen bei lediglich 1 (0,15/1,6)%. Grafisch ließ sich erkennen, dass trotz fehlender statistischer Signifikanz für die gesunde Kontrollgruppe die gleiche Tendenz bestand wie für die Gruppe 2, es jedoch dabei mehr einflussnehmende Ausreißer gab (Abb. 15, S. 105).

III Ergebnisse

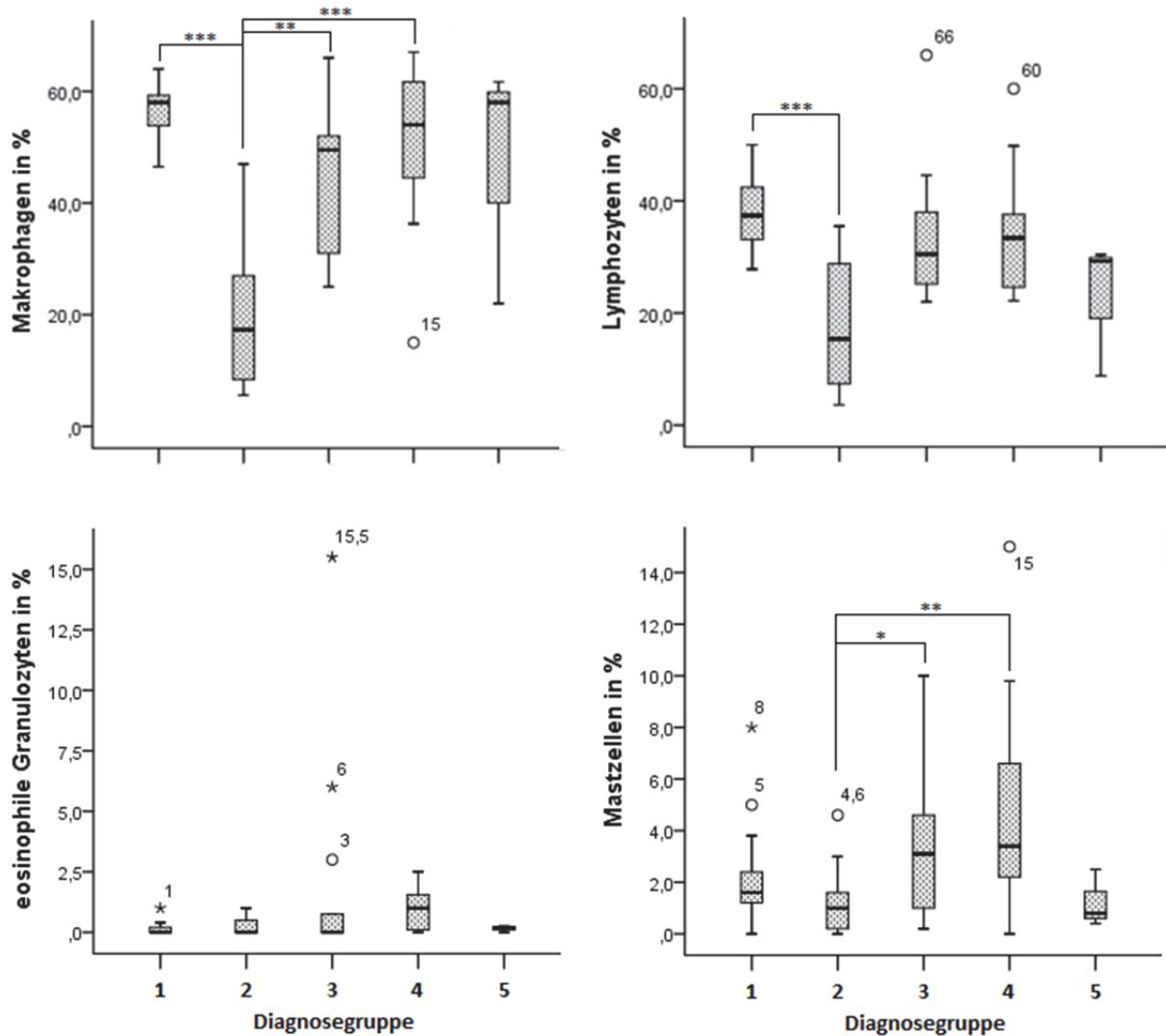


Abb. 14: Vergleichende Darstellung der Anteile an Makrophagen, Lymphozyten, eosinophilen Granulozyten und Mastzellen an der Gesamtzellzahl in den einzelnen Diagnosegruppen. * höchst signifikanter ($p < 0,001$), ** hoch signifikanter ($p = 0,001-0,01$), * signifikanter ($p = 0,01-0,05$) Unterschied zwischen den einzelnen Gruppen. Die genauen p-Werte sind dem Fließtext zu entnehmen. Für die Extremwerte (o/*) sind die jeweiligen Messergebnisse angegeben.**

Der sogenannte „BAL-Score“ als Teil des Gesamtscores, der eine Gruppierung entsprechend dem Anteil an neutrophilen Granulozyten (<10%, 10-15%, 15-25%, >25%) vorsieht, verhielt sich konsequenterweise analog zu den für diesen Zelltyp bereits beschriebenen Zahlenverhältnissen in den einzelnen Gruppen. Und auch hier stellte sich der Unterschied zwischen der gesunden Kontrollgruppe und der Gruppe chronisch lungenkranker Tiere im Allgemeinen sowie über die einzelnen Diagnosegruppen hinweg als höchst signifikant ($p < 0,001$) heraus. Im Einzelnen lagen die Unterschiede hierbei zwischen den Diagnosegruppen 1 und 2 ($p < 0,001$) bzw. 3 (0,005) sowie zwischen Gruppe 2 und 3 ($p = 0,001$) bzw. 4 ($p < 0,001$) (Tab. 6 und Abb. 15, S. 105)

III Ergebnisse

Tab. 6: Übersicht über die Häufigkeiten verschiedener Neutrophilen-Anteile an der Gesamtzellzahl in den einzelnen Diagnosegruppen.

Diagnosegruppe	BAL-Score (PMN in %) (Anzahl Fälle n (%))			
	<10%	10-15%	15-25%	>25%
gesund ^{a, b}	15 (100%)	0	0	0
chronisch krank ^a	9 (20,9%)	8 (18,6%)	5 (11,6%)	21 (48,9%)
COB in Exazerbation ^{b, c}	0	0	0	18 (100%)
IAD/COB in Remission ^{b, c}	2 (14,3%)	5 (35,7%)	4 (28,6%)	3 (21,4%)
interstitielle Pneumopathie ^c	7 (63,6%)	3 (27,3%)	1 (9,1%)	0
akute/subakute Pneumonie	1 (33,3%)	1 (33,3%)	0	1 (33,3%)

a Höchst signifikanter ($p < 0,001$) Unterschied in der Häufigkeitsverteilung verschiedener PMN-Anteile zwischen den gesunden Kontrolltieren und der Gruppe chronisch kranker Pferde. **b** Höchst signifikanter ($p < 0,001$) bzw. hoch signifikanter ($p = 0,005$) Unterschied zwischen gesunden und exazerbierten Probanden bzw. jenen mit „IAD/COB in Remission“. **c** Höchst signifikanter ($p \leq 0,001$) Unterschied zwischen der Gruppe 2 und 3 bzw. 4.

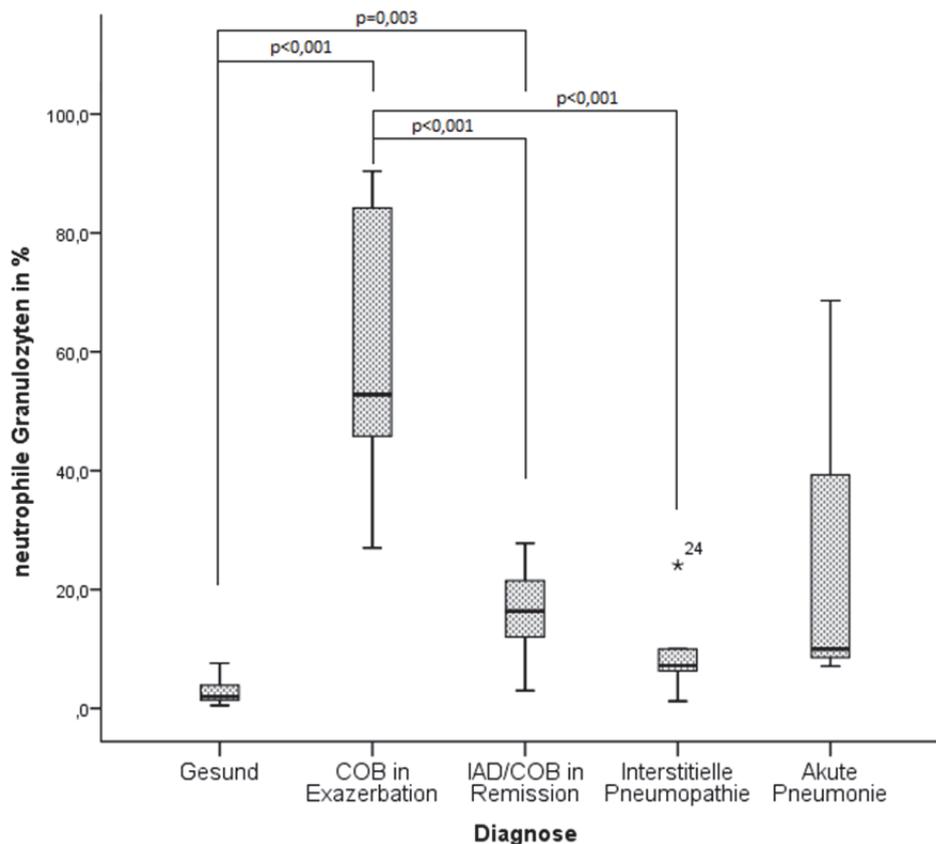


Abb. 15: Vergleichende Darstellung der Anteile von neutrophilen Granulozyten (PMN) an der Gesamtzellzahl in der BALF-Zytologie. Signifikante Unterschiede zwischen einzelnen Gruppen sind durch die Klammern und mit den entsprechenden p-Werten ausgewiesen.

III Ergebnisse

2.2.2.6 Ergebnisse der röntgenologischen Untersuchung

Bei der Auswertung der Röntgenbilder konnten in allen Diagnosegruppen einschließlich der gesunden Kontrollgruppe bronchiale wie auch interstitielle Lungenzeichnungen gefunden werden. Dabei zeigten sich zum Teil krankheitsspezifische Variationen in dem Auftreten der verschiedenen Schweregrade (ohne besonderen Befund, geringgradige, mittelgradige, hochgradige Zeichnung). Die genauen Häufigkeitsverteilungen hierzu in den einzelnen Diagnosegruppen sind in Tab. 7 (S. 106-106) aufgeführt. Für die bronchiale Zeichnung ergab sich ein schwach signifikanter Unterschied ($p=0,047$) in der Verteilung des befundeten Schweregrades zwischen der gesunden Kontrollgruppe und dem Patientenkollektiv chronisch lungenkranker Pferde. Über alle Diagnosegruppen hinweg war die Variation in der Verteilung mit und ohne Einschluss der Gruppe 1 sogar hochsignifikant ($p=0,003$ bzw. $0,005$). Dabei unterschied sich die Ausprägung der bronchialen Zeichnung bei den Pferden mit „COB in Exazerbation“ signifikant von allen anderen Diagnosegruppen, wobei der Unterschied zu den lungengesunden Tieren mit $p=0,005$ am größten war. Aber auch im Vergleich zu den Patienten mit „IAD/COB in Remission“ ($p=0,016$) und „interstitielle Pneumopathie“ ($p=0,021$) war der Schweregrad der bronchialen Zeichnung deutlich verschieden. In Bezug auf die interstitielle Lungenzeichnung wies die Beurteilung der Röntgenbilder ebenfalls zum Teil gruppenspezifische Variationen auf. Der Unterschied zwischen den gesunden und chronisch kranken Tieren war hierbei signifikant ($p=0,013$) und bei vergleichender Berechnung über die Diagnosegruppen hinweg (mit und ohne Einschluss von Gruppe 1) sogar hoch signifikant ($p\leq 0,001$). Die Gruppe der Probanden mit der Diagnose „interstitielle Pneumopathie“ hob sich mit ihrer durchweg mittelgradigen interstitiellen Zeichnung hoch signifikant von Gruppe 2 ($p=0,002$), Gruppe 3 ($p=0,005$) und Gruppe 1 ($p<0,001$) ab. Aber auch zwischen den Patienten im exazerbierten COB-Stadium und denen in Remission bzw. mit IAD bestand ein signifikanter ($p=0,007$) Unterschied in der Ausprägung der interstitiellen Zeichnung. In Abb. 16 (S. 107) sind die genannten Unterschiede noch einmal anschaulich dargestellt.

Tab. 7: Übersicht über die Häufigkeiten der verschiedenen Ausprägungsstufen bronchialer sowie interstitieller Lungenzeichnung in den einzelnen Diagnosegruppen.

Diagnosegruppe	Bronchiale Zeichnung (Anzahl der Fälle n (%))			
	obB	ggr.	mgr.	hgr.
gesund ^{a, b}	3 (20%)	6 (40%)	6 (40%)	0
chronisch krank ^a	3 (7%)	12 (28%)	24 (56%)	4 (9%)
COB in Exazerbation ^{b, c}	0	2 (11,1%)	12 (66,7%)	4 (22,2%)
IAD/COB in Remission ^c	2 (14,3%)	5 (35,7%)	7 (50%)	0
interstitielle Pneumopathie ^c	1 (9,1%)	5 (45,5%)	5 (45,5%)	0
akute/subakute Pneumonie	0	1 (33,3%)	2 (66,7%)	0

III Ergebnisse

Fortsetzung Tabelle 7:

Diagnosegruppe	Interstitielle Zeichnung			
	obB	ggr.	mgr.	hgr.
gesund ^{a, b}	3 (20%)	10 (66,7%)	2 (13,3%)	0
chronisch krank ^a	4 (9%)	17 (40%)	22 (51%)	0
COB in Exazerbation ^{b, c}	2 (11,1%)	9 (50%)	7 (38,9%)	0
IAD/COB in Remission ^{c, d}	2 (14,3%)	8 (57,1%)	4 (28,6%)	0
interstitielle Pneumopathie ^{c, d}	0	0	11 (100%)	0
akute/subakute Pneumonie	1 (33,3%)	1 (33,3%)	1 (33,3%)	0

Die hochgestellten Buchstaben (**a**, **b**, **c** und **d**) zeigen auf, zwischen welchen Diagnosegruppen signifikante Unterschiede in dem Ausprägungsgrad der bronchialen bzw. interstitiellen Lungenzzeichnung bestanden. Die einzelnen p-Werte können dem Fließtext entnommen werden.

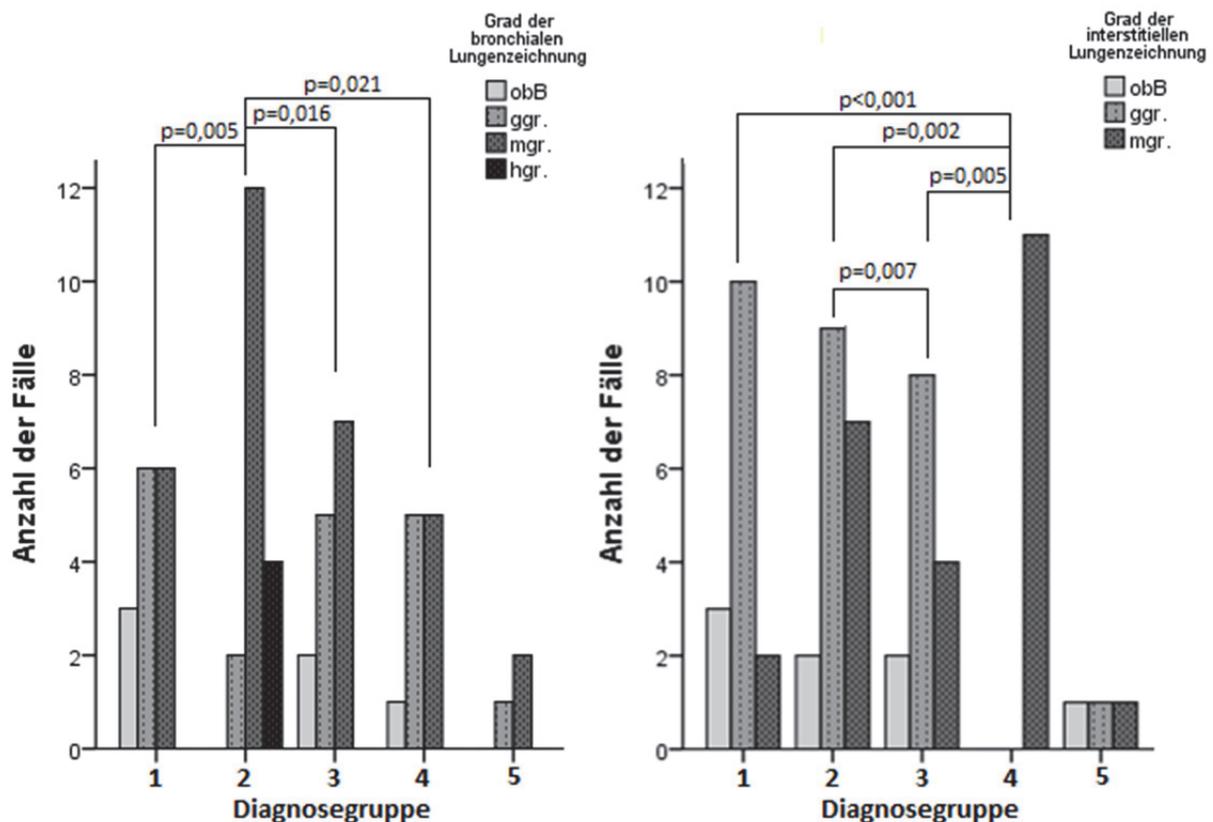


Abb. 16: Vergleichende Darstellung des Auftretens verschiedener Schweregrade bronchialer und interstitieller Lungenzzeichnung in den einzelnen Diagnosegruppen. Signifikante Unterschiede zwischen einzelne Gruppen sind durch die Klammern und mit den entsprechenden p-Werten ausgewiesen. 1 Gesund, 2 COB in Exazerbation, 3 IAD/COB in Remission, 4 Interstitielle Pneumopathie, 5 Akute/subakute Pneumonie

III Ergebnisse

2.2.3 Ergebnisse des klinischen Scores – Schweregrad der Erkrankung

Die Darstellung der Ergebnisse des modifizierten klinischen Scores nach Ohnesorge (1998) (Gesamtscore) soll sich hier ausschließlich auf das Endergebnis, also auf die insgesamt erreichte Punktzahl und den entsprechenden Schweregrad beziehen. Die Ergebnisse der einzelnen Untersuchungen, aus denen sich der Score letztendlich zusammensetzte (Hustenauslösung, Ruhedyspnoe, Lungenperkussion, Lungenauskultation, Tracheobronchoskopie, BAL-Zytologie, arterielle Blutgasanalyse), wurden bereits an entsprechenden Stellen aufgeführt und werden daher hier nicht noch einmal erwähnt.

Insgesamt erstreckte sich die erreichte Punktzahl von 0 bis 14 Punkte mit gruppenspezifischen Unterschieden. Die am häufigsten erreichte Punktzahl in der jeweiligen Diagnosegruppe (ausgedrückt durch den Modalwert) sowie entsprechende Minima und Maxima sind in Tab. 8 (S. 108) einzeln aufgeführt. Der dort zu erkennende Unterschied in der Punkteverteilung war zwischen der gesunden Kontrollgruppe und den chronisch kranken Tieren sowie über alle Diagnosegruppen hinweg (mit und ohne Einschluss von Gruppe 1) statistisch höchst signifikant ($p < 0,001$). Der Post-Hoc-Vergleich stellte schließlich im Einzelnen heraus, dass sich die erreichte Punktzahl bei den Patienten mit „COB in Exazerbation“ höchst signifikant ($p < 0,001$) von jeweils allen anderen Diagnosegruppen unterschied. Darüber hinaus war die Anzahl an Scorepunkten auch zwischen Gruppe 1 und 3 hoch signifikant ($p = 0,007$) verschieden.

Tab. 8: Übersicht über erreichte Gesamtpunktzahlen im klinischen Score modifiziert nach Ohnesorge (1998) in den jeweiligen Diagnosegruppen.

Diagnosegruppe	Scorepunkte		
	Modalwert	Min.	Max.
gesund ^{a, b}	0	0	1
chronisch krank ^a	1	0	14
COB in Exazerbation ^{b, c}	6	6	14
IAD/COB in Remission ^{b, c}	4	1	5
interstitielle Pneumopathie ^c	1	0	9
akute/subakute Pneumonie	Die Werte lagen bei 3, 4 und 7.		

a Hochsignifikanter Unterschied ($p < 0,001$) in der erreichten Gesamtpunktzahl zwischen lungengesunden und chronisch lungenkranken Tieren. **b** Höchst signifikanter ($p < 0,001$) bzw. hoch signifikanter ($p = 0,007$) zwischen Gruppe 1 und 2 bzw. 3. **c** Höchst signifikanter ($p < 0,001$) Unterschied zwischen Gruppe 2 und 3 bzw. 4.

III Ergebnisse

Der Schweregrad der Erkrankung, der sich aus der insgesamt erreichten Punktzahl im Gesamtscore ergab, verhielt sich konsequenterweise analog zu eben dieser. Dabei wies die Verteilung der als gesund (0-1 Punkt), geringgradig erkrankt (2-3 Punkte), mittelgradig erkrankt (4-6 Punkte) und hochgradig erkrankt (≥ 6 Punkte) klassifizierten Probanden deutliche gruppenspezifische Unterschiede auf (Tab. 9, S. 109 und Abb. 17, S. 110). Der offensichtliche Unterschied in der Häufigkeitsverteilung des Schweregrades der Erkrankung war, ebenso wie bei der Gesamtpunktzahl, zwischen der gesunden Kontrollgruppe und dem Kollektiv chronisch kranker Tiere sowie über alle Diagnosegruppen (mit und ohne Einschluss von Gruppe 1) hinweg statistisch höchst signifikant ($p < 0,001$). Und auch hier unterschied sich die Gruppe der Patienten mit „COB in Exazerbation“ höchst signifikant ($p \leq 0,001$) von allen anderen sowie die Gruppe 1 hoch signifikant ($p = 0,008$) von der Gruppe 2.

Tab. 9: Übersicht über die Häufigkeitsverteilung der verschiedenen Schweregrade der Erkrankung (nach Ohnesorge (1998)) in den einzelnen Diagnosegruppen.

Diagnosegruppe	Schweregrad der Erkrankung (Anzahl der Fälle n (%))			
	„gesund“	ggr.	mgr.	hgr.
gesund^{a, b}	15 (100%)	0	0	0
chronisch krank^a	8 (18,6%)	7 (16,2%)	14 (32,6%)	14 (32,6%)
COB in Exazerbation^{b, c}	0	0	5 (27,8%)	13 (72,2%)
IAD/COB in Remission^{b, c}	1 (7,1%)	6 (42,9%)	7 (50%)	0
interstitielle Pneumopathie^c	7 (63,6%)	1 (9,1%)	2 (18,2%)	1 (9,1%)
akute/subakute Pneumonie	0	1 (33,3%)	1 (33,3%)	1 (33,3%)

a Der Unterschied im Schweregrad der Erkrankung zwischen lungengesunden und chronisch lungenkranken Tieren war höchst signifikant ($p < 0,001$). **b** Höchst bzw. hoch signifikanter Unterschied zwischen Gruppe 1 und 2 ($p < 0,001$) bzw. 3 ($p = 0,008$). **c** Höchst signifikanter ($p \leq 0,001$) Unterschied zwischen exazerbierten Probanden und jenen mit „IAD/COB in Remission“ sowie „interstitieller Pneumopathie“.

III Ergebnisse

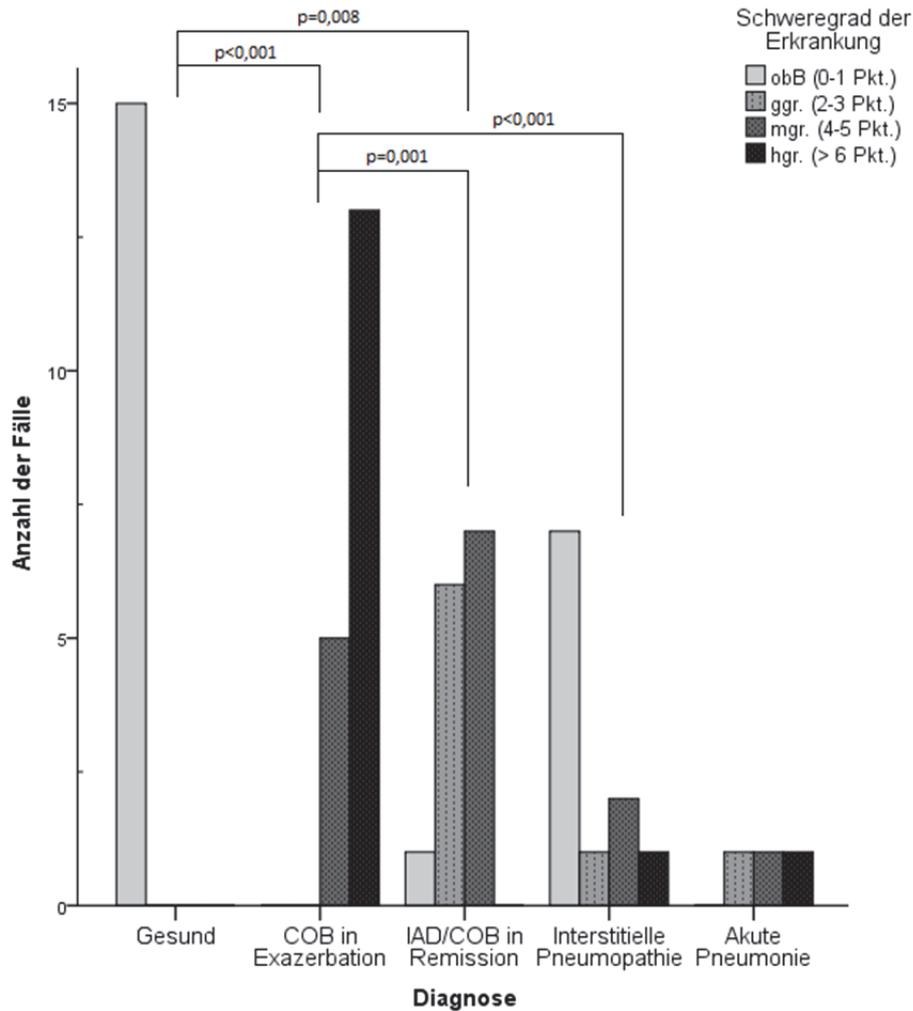


Abb. 17: Häufigkeitsverteilung verschiedener Erkrankungsgrade in den einzelnen Diagnosegruppen. Die Einteilung des Schweregrades richtete sich nach der erreichten Gesamtpunktzahl im Gesamtscore. Signifikante Unterschiede zwischen einzelnen Gruppen sind durch die Klammern und mit den entsprechenden p-Werten ausgewiesen.

2.3 Ergebnisse der laboranalytischen Verfahren

2.3.1 Ergebnisse der Bestimmung von Fibrinogen

Für die Berechnungen der Fibrinogenkonzentration in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit wurden alle Werte, die unterhalb der laboranalytischen Nachweisgrenze von 0,001 g/l lagen, mit einer Konzentration von 0,0005 g/l definiert.

Die gruppenvergleichenden statistischen Analysen ergaben für diesen Laborparameter zwar keine signifikanten Unterschiede, jedoch zeigten sich in der deskriptiven Datenanalyse leichte Tendenzen (Tab. 10, S. 111 und Abb. 18, S. 111). Trotz der großen und sich deutlich überlappenden Spannweiten der Fibrinogenkonzentrationen in den einzelnen Diagnosegruppen ließ sich hierbei feststellen, dass der Median der gesunden Kontrollgruppe mit 0,0024 g/l deutlich unter dem der Gruppe chronisch lungenkranker Tiere mit 0,0052 g/l

III Ergebnisse

lag. Die vergleichende Betrachtung der Diagnosegruppen im Einzelnen zeigte darüber hinaus, dass dieser Unterschied zwischen den gesunden Probanden und den Pferden mit „COB in Exazerbation“, die einen Median von 0,0062 g/l aufwiesen, am deutlichsten ausfiel. Bei den statistisch getrennt zu betrachtenden drei Patienten mit akuter/subakuter Pneumonie fiel auf, dass alle diese Tiere Fibrinogenkonzentrationen aufwiesen, die deutlich über der laboranalytischen Nachweisgrenze lagen.

Tab. 10: Übersicht über die Fibrinogenkonzentrationen (in g/l) in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit in den einzelnen Diagnosegruppen.

Diagnosegruppe	Fibrinogen (g/l)		
	Md (Q _{1/3})	Minimum	Maximum
gesund	0,0024 (0,0005/0,0084)	0,0005	0,0173
chronisch krank	0,0052 (0,0017/0,0106)	0,0005	0,0195
COB in Exazerbation	0,0062 (0,0035/0,0118)	0,0005	0,0182
IAD/COB in Remission	0,0055 (0,0014/0,0152)	0,0005	0,0195
interstitielle Pneumopathie	0,0036 (0,0005/0,0087)	0,0005	0,0097
akute/subakute Pneumonie	Die Werte lagen bei 0,0036, 0,0055 und 0,0131.		

Obwohl für die Gruppe „COB in Exazerbation“ normalverteilte Daten vorlagen, ist hier zugunsten der Vergleichbarkeit ebenfalls der Median angegeben. Die sehr geringen Unterschiede im Median zwischen den verschiedenen Gruppen blieben ohne statistische Signifikanz.

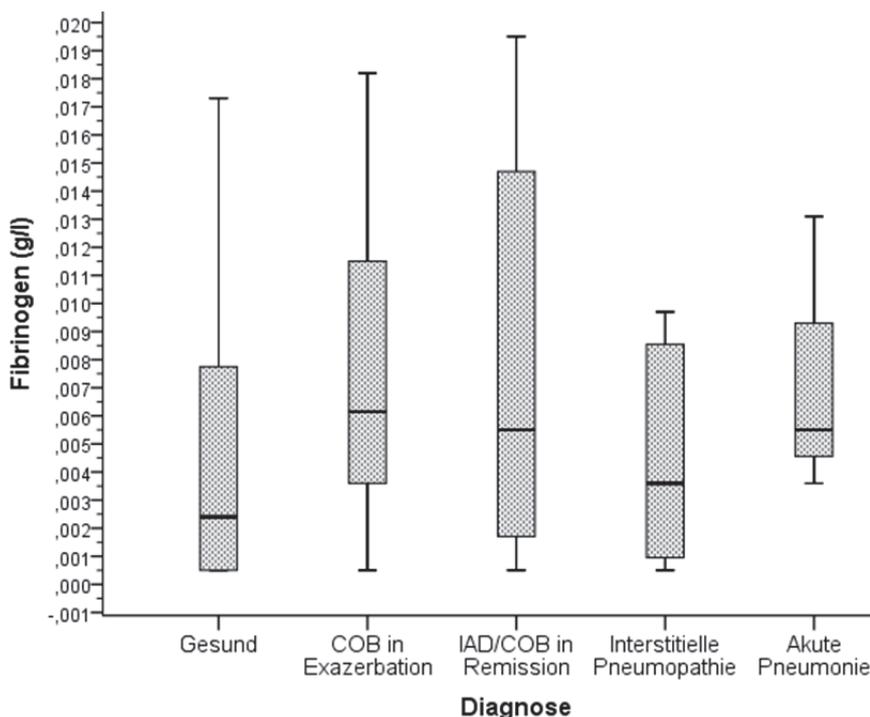


Abb. 18: Werteverteilung der Fibrinogenkonzentration (in g/l) in der broncho-alveolären Lavageflüssigkeit in den einzelnen Diagnosegruppen.

Es fällt auf, dass in der Gruppe der gesunden Kontrolltiere sich die Konzentrationen überwiegend im unteren Wertebereich bewegen (deutlich rechtschiefe Verteilung), während in den Gruppen der lungenkranken Tiere sich der Interquartilsabstand vergleichsweise höher absetzt.

III Ergebnisse

Neben den leichten Unterschieden im Median-Wert war zusätzlich zu erkennen, dass die Fibrinogenkonzentration der gesunden Kontrolltiere im Vergleich zu allen anderen Gruppen, insbesondere der Gruppe 2, eine deutlich rechtsschiefe Verteilung aufwies. Demnach bewegten sich die Werte hier mehrheitlich bei 0,0005 g/l, sprich unter der Nachweisgrenze von 0,001 g/l.

Auf der Grundlage all dieser genannten Tendenzen in der Häufigkeitsverteilung auftretender Fibrinogenkonzentrationen in den einzelnen Gruppen – insbesondere in Gruppe 1 und 2 – und mit dem Hintergedanken, dass alle Werte mit 0,0005 g/l unter der laboranalytischen Nachweisgrenze lagen, wurde eine Kategorisierung in zwei Ausprägungen vorgenommen. Hierbei fand eine Unterscheidung zwischen „Fibrinogenkonzentration = 0,0005 g/l“ und „Fibrinogenkonzentration > 0,0005 g/l“ statt. Nach dieser Einteilung fanden sich die in Tab. 11 (S. 112) und Abb. 19 (S. 113) dargestellten Häufigkeiten für die einzelnen Diagnosegruppen wieder.

Tab. 11: Übersicht über die Häufigkeitsverteilung der Fibrinogenkonzentrationen von $\leq 0,0005$ g/l bzw. von $>0,0005$ g/l in der BALF in den einzelnen Diagnosegruppen.

Diagnosegruppe	Fibrinogen (g/l) (Anzahl der Fälle n (%))	
	$\leq 0,0005$	$>0,0005$
gesund ^a	6 (40%)	9 (60%)
chronisch krank	7 (16,3%)	36 (83,7%)
COB in Exazerbation ^a	1 (5,6%)	17 (94,4%)
IAD/COB in Remission	3 (21,4%)	11 (78,6%)
interstitielle Pneumopathie	3 (27,3%)	8 (72,7%)
akute/subakute Pneumonie	0	3 (100%)

^a Zwischen den gesunden Kontrolltieren und den Tieren mit „COB in Exazerbation“ konnte ein signifikanter Unterschied in der Häufigkeit des Auftretens von Fibrinogenkonzentrationen von 0,0005 bzw. $<0,0005$ g/l festgestellt werden. Lagen Konzentrationen $>0,0005$ g/l vor, erhöhte sich die Wahrscheinlichkeit für den Patienten die Diagnose „COB in Exazerbation“ zu erhalten um den Faktor 11.

Aus den Zahlen und auch der Grafik geht hervor, dass in der Gruppe der gesunden Kontrolltiere mit 40% deutlich mehr Pferde eine geringe Fibrinogenkonzentration von 0,0005 g/l ($<0,001$ g/l) aufwiesen als die Pferde, die an einer chronischen Lungenerkrankung litten. Hier konnte bei lediglich 16% nur geringe Mengen an Fibrinogen in der BALF nachgewiesen werden, während mit rund 84% der überwiegende Teil der Tiere aus dieser Gruppe Konzentrationen über diesem Grenzwert hatte. Bei der vergleichenden Betrachtung der Diagnosegruppen im Einzelnen zeigte sich schließlich, dass die Gruppe der exazerbierten COB-Patienten hier den größten Unterschied zur Gruppe 1 aufwies. Bei diesen Patienten konnten zu rund 94% und somit in fast allen Fällen Fibrinogenkonzentrationen $> 0,0005$ g/l

III Ergebnisse

nachgewiesen werden. Der Unterschied in der Häufigkeitsverteilung zwischen dieser Gruppe und der Gruppe der gesunden Kontrolltiere war in diesem Fall statistisch signifikant ($p=0,03$). Die binäre logistische Regression ergab schließlich, dass bei Fibrinogenkonzentrationen $> 0,0005$ g/l die Wahrscheinlichkeit, die Diagnose „COB in Exazerbation“ zu erhalten, 11mal ($\text{Exp}(B)=11,33$) höher lag, als in diesem Fall dem Status „Gesund“ zugeordnet zu werden. Die Gegenüberstellungen anderer Diagnosegruppen blieben ohne signifikante Ergebnisse.

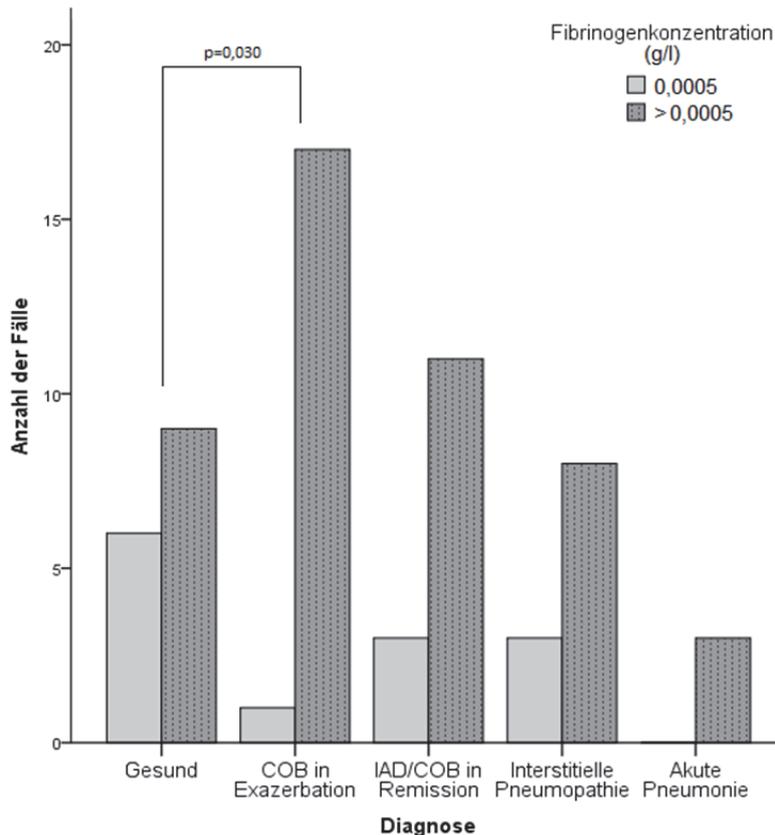


Abb. 19: Vergleichende Darstellung der Häufigkeiten von Fibrinogenkonzentrationen in der BALF von 0,0005 bzw. $>0,0005$ g/l in den einzelnen Diagnosegruppen. Es fällt auf, dass in der Gruppe der gesunden Kontrolltiere das Verhältnis zwischen Werten von 0,0005 und $>0,0005$ g/l ausgeglichener ist, während in den anderen Diagnosegruppen, insbesondere in der Gruppe „COB in Exazerbation“, eine deutliche Tendenz zugunsten Werten von $>0,0005$ g/l besteht. Der Unterschied zwischen Gruppe 1 und 2 erwies sich als signifikant ($p=0,03$).

Die Berechnung eventueller Zusammenhänge der Fibrinogenkonzentration in der BALF mit verschiedenen Parametern ergab eine schwach positive Korrelation ($r_s=0,377$; $p=0,004$) dieser mit dem Anteil an polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten (Abb. 20, S. 114). Dementsprechend zeigte sich auch ein Zusammenhang mit dem BAL-Score, der sich ja wie bereits beschrieben nach dem prozentualen PMN-Anteil richtete. Die Korrelation fiel hier mit einem Koeffizienten von $r_s=0,3$ ($p=0,022$) geringfügig schwächer aus. Aus dem Scatter Plot (Abb. 20, S. 114) für die Zusammenhangsdarstellung der Fibrinogenkonzentration mit dem

III Ergebnisse

PMN-Anteil war eine Gruppierung der Korrelationspunkte in bestimmten Wertebereichen entsprechend den unterschiedlichen Diagnosegruppen zu erkennen. Daraufhin wurde zusätzlich ein erweitertes statistisches Modell in Form einer logistischen Regression angewandt, um zu prüfen, ob sich der mit Pearson berechnete Zusammenhang zwischen diesen beiden Messgrößen lediglich aus den jeweiligen Verteilungen innerhalb der einzelnen Gruppen ergab, oder ob eine reelle Abhängigkeit dieser beiden Variablen bestand. Aufgrund fehlender Normalverteilung konnte dies nur mittels logistischer Regression unter Einschluss der kategorisierten Fibrinogenkonzentrationen erfolgen. Aus diesen Berechnungen ging hervor, dass der Anteil an neutrophilen Granulozyten tendenziell deutlich mehr Einfluss auf die jeweilige Fibrinogenkategorie hatte als die Diagnosegruppe.

Daneben zeigte sich auch noch ein negativer Zusammenhang zwischen der Fibrinogenkonzentration und dem prozentualen Lymphozytenanteil, der allerdings mit einem r_s von $-0,286$ ($p=0,03$) nur sehr schwach ausgeprägt war.

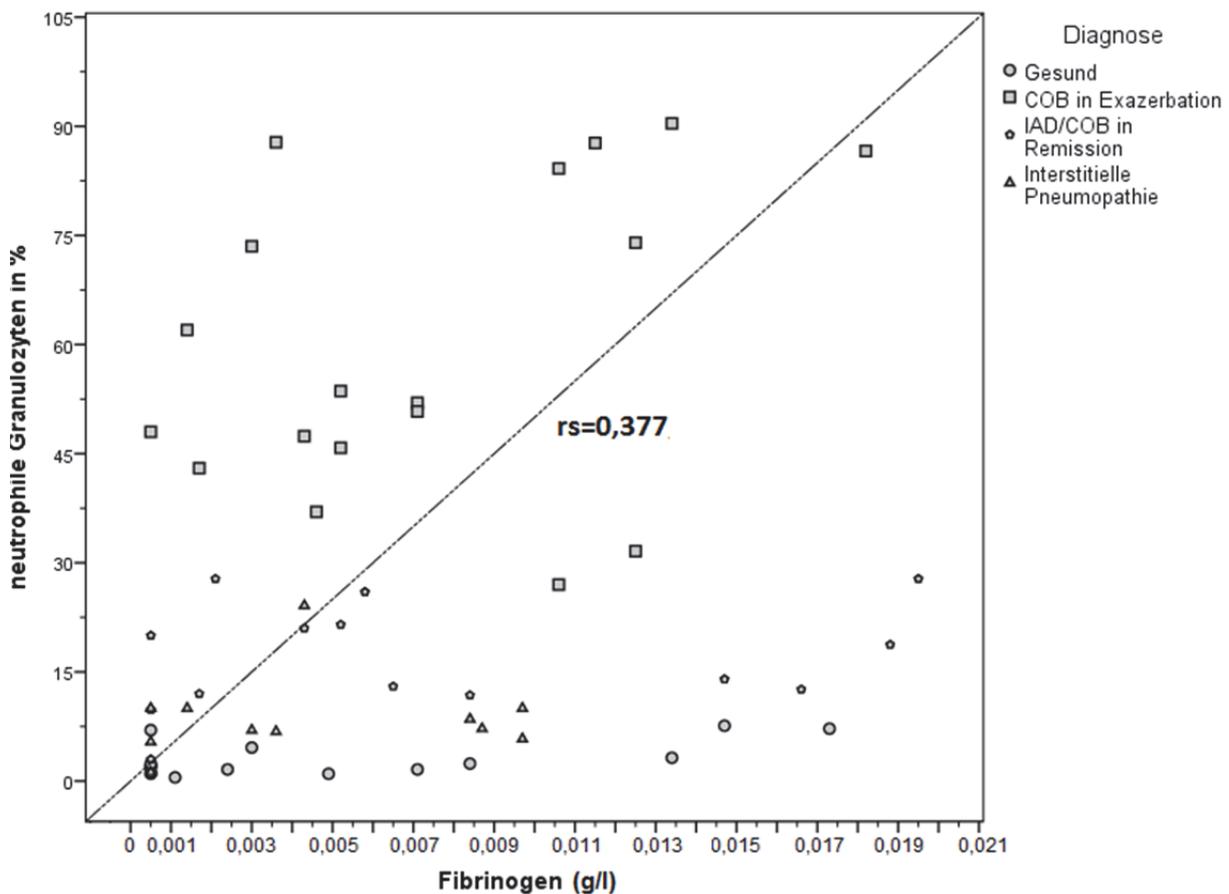


Abb. 20: Darstellung des Zusammenhangs zwischen dem prozentualen Anteil an neutrophilen Granulozyten an der Gesamtzellzahl und der ermittelten Fibrinogenkonzentration (in g/l) in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit. Neben der schwachen Korrelation zwischen beiden Parametern lässt sich auch eine Clusterbildung in bestimmten Wertebereichen entsprechend den einzelnen Diagnosegruppen erkennen. r_s Korrelationskoeffizient nach Spearman

III Ergebnisse

2.3.2 Ergebnisse der Bestimmung von Serum-Amyloid-A

Für die Berechnungen der SAA-Konzentration in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit wurden alle Werte, die unterhalb der laboranalytischen Nachweisgrenze von 0,01 µg/ml lagen, mit einer Konzentration von 0,005 µg/ml definiert. Und auch hier wurde analog zum Fibrinogen eine Kategorisierung vorgenommen, bei der zwischen Konzentrationen von 0,005 µg/ml (respektive < 0,01 µg/ml) und Konzentrationen über 0,005 µg/ml unterschieden wurde. Im Allgemeinen lagen die gemessenen SAA-Konzentrationen über alle Gruppen hinweg in sehr niedrigen Bereichen und insgesamt bei deutlich über der Hälfte aller Probanden (67,2%) bei nur 0,005 µg/ml, sprich unter der laboranalytischen Nachweisgrenze. Während in der Gruppe der gesunden Kontrolltiere sowie den Gruppen „IAD/COB in Remission“ und „interstitielle Pneumopathie“ bei jeweils immerhin um die 40% der Patienten SAA-Mengen > 0,005 µg/ml nachgewiesen werden konnten, war dies in der Gruppe der exazerbierten Pferde bei nur bei 16,7% der Fall. Trotz dieser Unterschiede ergab sich für alle Diagnosegruppen immer noch ein Median von nur 0,005 µg/ml. In Tab. 12 (S. 115) Tab. 13 (S. 116) sind die einzelnen Werte der SAA-Konzentrationen sowie die Häufigkeiten der kategorisierten Mengen für die einzelnen Diagnosegruppen aufgeführt. Eine grafische Veranschaulichung dazu liefert die Abb. 21 (S. 116). Wie hieraus schon ersichtlich ist, blieben die vergleichenden Analysen für das Serum-Amyloid-A ohne statistisch signifikante Ergebnisse.

Tab. 12: Übersicht über die Konzentrationen an Serum-Amyloid-A (SAA) (in µg/ml) in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit in den einzelne Diagnosegruppen.

Diagnosegruppe	SAA (µg/ml)		
	Md (Q _{1/3})	Minimum	Maximum
gesund	0,005 (0,005/0,37)	0,005	1,13
chronisch krank	0,005 (0,005/0,13)	0,005	2,27
COB in Exazerbation	0,005 (0,005/0,005)	0,005	2,27
IAD/COB in Remission	0,005 (0,005/0,112)	0,005	1,01
interstitielle Pneumopathie	0,005 (0,005/0,25)	0,005	0,44
akute/subakute Pneumonie	Alle Fälle weisen eine Konzentration von 0,005 µg/ml auf.		

Abgesehen von einzelnen Extremwerten (siehe Maxima) lagen die SAA-Konzentrationen insgesamt in sehr niedrigen Bereichen, was zu einem Median-Wert von 0,005 µ/ml in allen Gruppen führte. Folglich blieben die Gruppenvergleiche ohne signifikante Unterschiede.

III Ergebnisse

Tab. 13: Übersicht über die Häufigkeitsverteilung von SAA-Konzentrationen von 0,005 µg/ml bzw. von >0,005 µg/ml in der BALF in den einzelnen Diagnosegruppen.

Diagnosegruppe	SAA (µg/ml) (Anzahl der Fälle n (%))	
	0,005	>0,005
gesund	9 (60%)	6 (40%)
chronisch krank (2,3,4)	29 (67,4%)	14 (32,6%)
COB in Exazerbation	15 (83,3%)	3 (16,7%)
IAD/COB in Remission	8 (57,1%)	6 (42,9%)
interstitielle Pneumopathie	6 (54,5%)	5 (45,5%)
akute/subakute Pneumonie	Alle Fälle weisen eine Konzentration von 0,005 µg/ml auf.	

In allen Diagnosegruppen wies die Mehrzahl der Patienten (> 50%) SAA-Konzentrationen von 0,005 µg/ml sprich <0,01 µg/ml auf. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen zeigten sich dabei nicht.

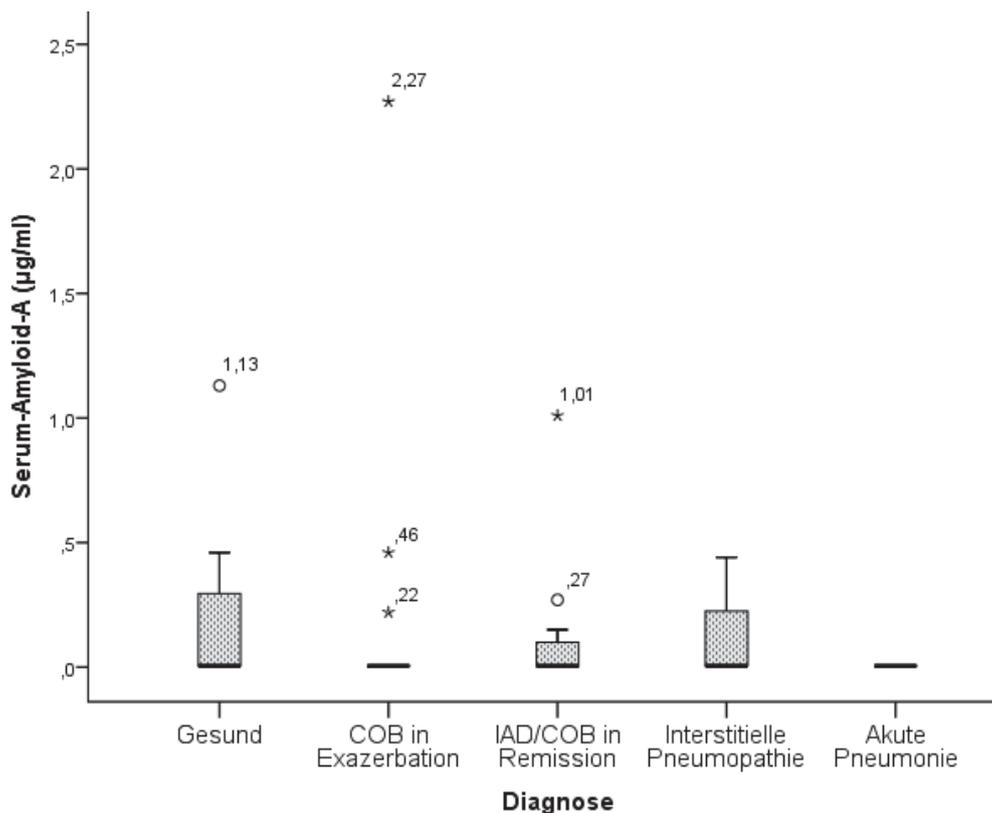


Abb. 21: Werteverteilung der Serum-Amyloid-A-Konzentration in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit in den einzelnen Diagnosegruppen. Neben einzelnen Extremwerten (o/*) bewegt sich die SAA-Konzentration überwiegend im unteren Wertebereich mit einer stark rechtschiefen Verteilung in allen Diagnosegruppen. Signifikante Unterschiede in der SAA-Konzentration zwischen den Gruppen blieben aus.

2.3.3 Ergebnisse der Bestimmung von D-Dimeren

Bei der Bestimmung der D-Dimere mithilfe des immunturbidimetrischen Analyseverfahrens lag die Konzentration bei rund 92% (n=56) aller Proben unter der testspezifischen Nachweisgrenze von 0,19 mg/l. Die fünf Pferde, bei denen ein Nachweis möglich war, gehörten den Gruppen 2 („COB in Exazerbation“) und 5 („akute/subakute Pneumonie“) an. Die Werte lagen hier für die Tiere aus Gruppe 2 bei 0,2 mg/l (Pferd Nr. 38), 0,28 mg/l (Pferd Nr. 34) und 0,33 mg/l (Pferd Nr. 35) und für die Tiere aus Gruppe 5 bei einmal ebenfalls 0,2 mg/l und einmal bei 1,37 mg/l. Letzteres bildete den mit Abstand höchsten Wert, der in dieser Studie an D-Dimeren in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit gemessen wurde. Aufgrund der scheinbar geringen Konzentrationen an den Fibrinogenabbauprodukten in den vorliegenden BALF-Proben und der Tatsache, dass das hier verwendete Nachweisverfahren mit einer eher geringen Sensitivität einherging, wurde bei ausgewählten Proben eine Proteinanreicherung vorgenommen (s. Kapitel III, Abschnitt 1.4.3.1 „Anreicherung der D-Dimere in der BALF“), aus der sich neue niedrigere Nachweisgrenzen ergaben. Dieses Verfahren wurde bei den übrigen Proben aus den Gruppen 2 und 5 sowie bei drei zufällig ausgewählten Proben von gesunden Kontrolltieren durchgeführt. Bei der anschließend erfolgten erneuten Analyse der nun aufkonzentrierten Lavageflüssigkeit blieben die drei Proben der gesunden Probanden sowie die Probe des dritten Pferdes mit akuter/subakuter Pneumonie erneut ohne Ergebnis. Von den Tieren mit „COB in Exazerbation“ ließen sich hingegen nun in fast allen Proben D-Dimere mit definierten Konzentrationen nachweisen (Abb. 22, S. 118). Lediglich bei einem Pferd blieb auch hier die Konzentration wieder unter der (neu berechneten) Nachweisgrenze. Insgesamt ergab sich für die D-Dimer-Konzentration in Gruppe 2 ein durchschnittlicher Wert von 0,1 (0,07-0,185) mg/l mit einer Spannweite von 0,035-0,33 mg/l. Die einzelnen Werte für die angereicherten BALF-Proben sind zusammen mit dem entsprechenden Anreicherungsfaktor in der Tab. 24 (S. 220) im Einzelnen aufgeführt.

III Ergebnisse

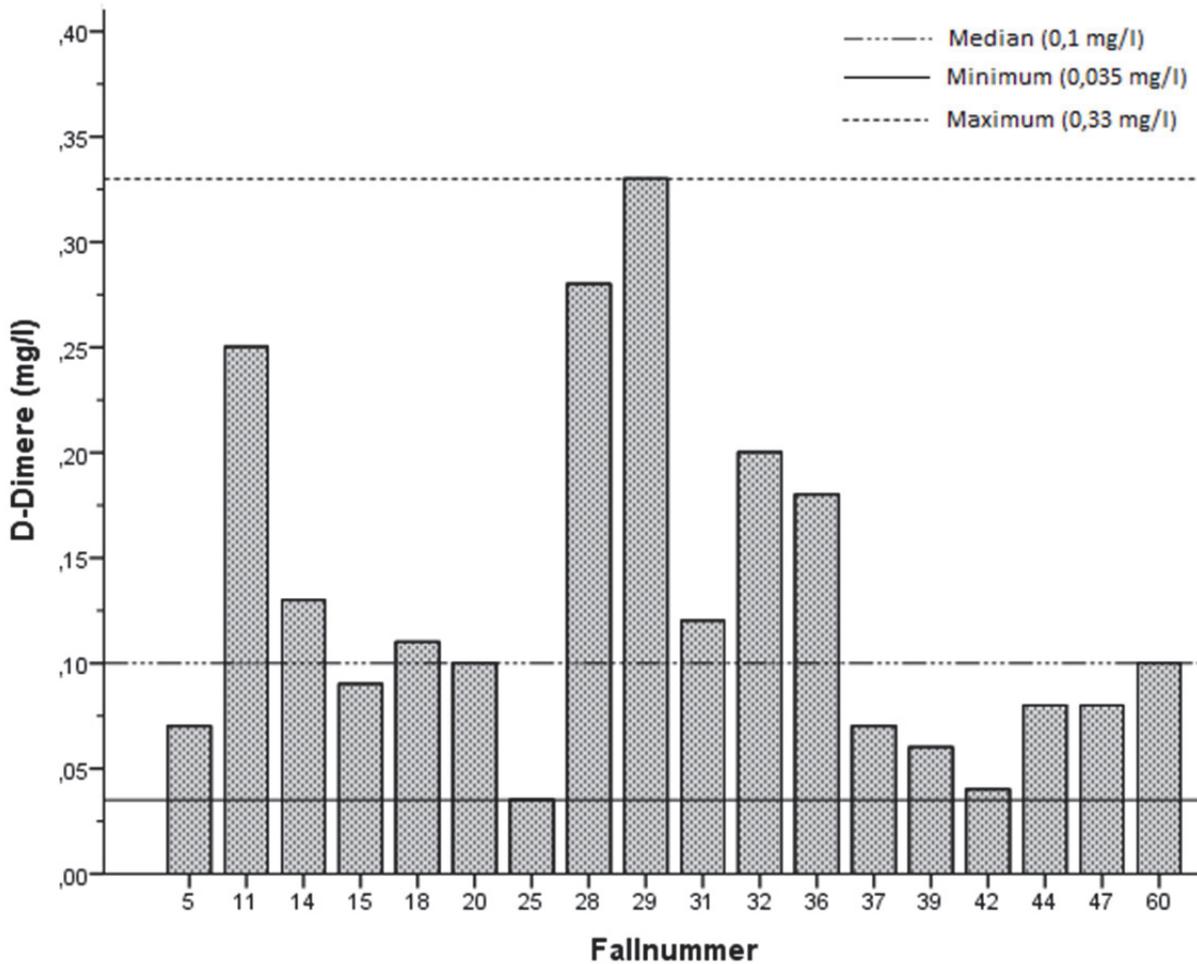


Abb. 22: Konzentration der D-Dimere in mg/l für die einzelnen Pferde (Fallnummer) aus der Gruppe „COB in Exazerbation“. Der Median und die Spannweite (Minimum und Maximum) für diese Diagnosegruppe sind entsprechend der Legende ausgewiesen.

Mit den Ergebnissen der angereicherten Proben aus der Gruppe „COB in Exazerbation“ wurden Korrelationsanalysen durchgeführt. Hierfür wurde für den einen Fall, bei dem die D-Dimer-Konzentration auch nach Anreicherung unter der neu berechneten Nachweisgrenze von 0,04 mg/l lag, die Konzentration mit 0,035 mg/l definiert. Wie schon aus dem Streu-Punktdiagramm ersichtlich war (Abb. 23, S. 119), ergab die Rangkorrelation nach Spearman mit $r_s=0,511$ ($p=0,03$) einen deutlich positiven Zusammenhang zwischen der dokumentierten Atemfrequenz pro Minute und der gemessenen D-Dimer-Konzentration.

Von weiteren gruppenvergleichenden Analysen musste aufgrund der unvollständig vorliegenden Ergebnisse abgesehen werden.

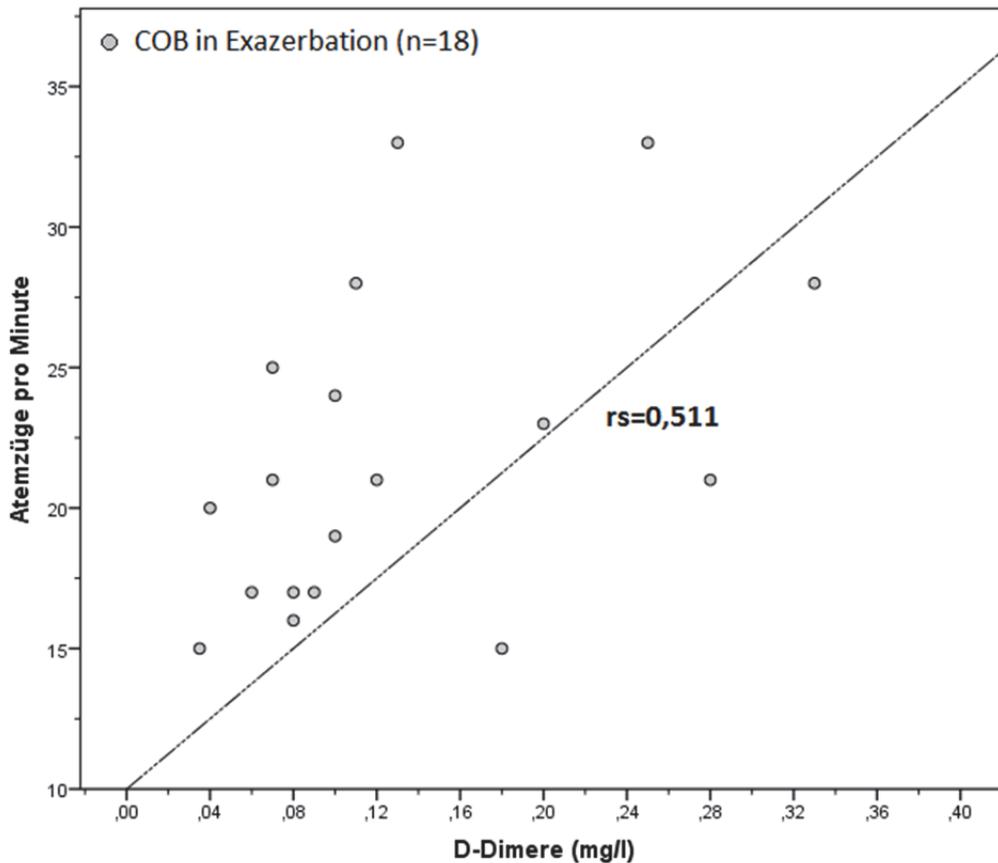


Abb. 23: Darstellung des Zusammenhangs zwischen der Atemfrequenz (Atemzüge pro Minute) und der ermittelten D-Dimer-Konzentration (in mg/l) in der Gruppe „COB in Exazerbation“. Es ist ein deutlich positiver Zusammenhang zwischen den beiden ausgewiesenen Parametern zu erkennen. r_s Korrelationskoeffizient nach Spearman

2.3.4 Ergebnisse der Bestimmung von PAI-1 und u-PA

Die Bestimmung der PAI-1 Konzentrationen im Plasma mit den in dieser Arbeit verwendeten Tests blieb ohne verwertbare Ergebnisse, weshalb an dieser Stelle von einer weiterführenden deskriptiven, statistischen und graphischen Darstellung abgesehen wird.

Bei dem speziesspezifische ELISA der Firma Cusabio Biotech Co., Ltd. (Horse Plasminogen activator inhibitor 1 (SERPINE1) ELISA Kit), zeigte sich wiederholt eine relativ flache und nicht-linear verlaufende Standardkurve, die eine exakte Abgrenzung verschiedener PAI-1 Konzentrationen innerhalb eines großen Wertebereich nicht möglich machte. Zudem wurden bei den Proben wie auch bei dem, vom Hersteller mitgelieferten, Standard häufig stark voneinander abweichende Doppelwerte festgestellt. Der ELISA wurde insgesamt viermal durchgeführt und es zeigten sich bei jeder Analyse die gleichen, nicht auszuwertenden, Ergebnisse.

III Ergebnisse

Der humane PAI-1-ELISA (Quantikine® ELISA, Human Serpin E1/PAI-1, R&D Systems®, Inc.) gab zwar eine annähernd lineare Standardkurve mit nur geringen Abweichungen der Doppelwerte aus, jedoch blieb hier bei allen, mit equinen BALF- oder Plasma-Proben besetzten Kavitäten, ein Farbumschlag im letzten Schritt aus. Eine wiederholte Testdurchführung erbrachte das gleiche Ergebnis.

Auch bei dem dritten durchgeführten Test der Firma Genorise Scientific, Inc. (Nori® Equine Serpin E1/PAI-1 ELISA Kit) zeigten sich technische Probleme, die keine adäquate Auswertung zuließen. Hier blieb nicht nur bei den Proben, sondern auch bei dem mitgelieferten Standard ein Farbumschlag entweder gänzlich aus oder war so minimal, dass sich schon die optische Dichte des Standards mit der höchsten Konzentration nur in den niedrigsten, überhaupt messbaren Bereichen bewegte.

Von der Bestimmung der u-PA Konzentration wurde am Ende abgesehen, da hier die gleichen Schwierigkeiten wie bei den PAI-1 Messungen zu erwarten waren.

2.4 Vergleichende Darstellung der Ergebnisse vor und nach Therapie

Im Folgenden soll nun eine vergleichende Darstellung der Ergebnisse vor und nach Therapie erfolgen. Dafür wurden in die Berechnungen nur die Patienten eingeschlossen, die auch die 10-tägige Inhalationstherapie mit Budesonid und die anschließende Kontrolluntersuchung erhielten. Hierzu zählten die bereits genannten 12 Patienten, von denen acht aus der Diagnosegruppe „COB in Exazerbation“ (Gruppe 2) und vier aus der Diagnosegruppe „IAD/COB in Remission“ (Gruppe 3) stammten. Die vergleichende Darstellung erfolgt zum einen im Allgemeinen durch eine Gegenüberstellung der Daten vor und nach Therapie unter Einschluss aller 12 Patienten und zum anderen im Speziellen für die jeweiligen Diagnosegruppen getrennt.

2.4.1 Ergebnisse der Untersuchungen vor vs. nach Therapie

2.4.1.1 Ergebnisse der allgemeinen und speziellen klinischen Untersuchung vor vs. nach Therapie

Von der allgemeinen und speziellen klinischen Untersuchung sollen im Folgenden nur die Atemfrequenz, die Hustenauslösung und die Ruhedyspnoe gegenübergestellt werden. Die Lungenperkussion und Lungenauskultation werden außen vor gelassen, da erstere nur einmalig durchgeführt wurde und zweitere bei allen zwölf Patienten der Therapie-Gruppe vor wie auch nach Behandlung ohne besonderen Befund war.

Die vergleichende Betrachtung der Atemfrequenz (AF) ließ zwar grafisch für den zusammengefassten Gruppenvergleich wie auch isoliert für Gruppe 2 bzw. Gruppe 3 leichte Verbesserungen erkennen (Abb. 24, S. 121), diese waren jedoch statistisch nicht signifikant.

III Ergebnisse

Insgesamt betrachtet lag die mittlere Atemfrequenz vor Therapie bei 17 (± 3) und nach Therapie bei 14 (12/20) Atemzügen pro Minute. Für die Probanden der Gruppe zwei im Einzelnen ergaben die Berechnungen eine mittlere AF von 18 (± 3) Atemzügen pro Minute mit einem Minimum von 15 und einem Maximum von 23 vor Therapie und eine mittlere AF von 18 (± 5) Atemzügen pro Minute mit einem Minimum von 12 und einem Maximum von 25 nach Therapie. Für die Probanden der Gruppe drei wurde vor Therapie eine mittlere Atemfrequenz von 16 (± 4) mit einem Minimum von 12 und einem Maximum von 22 ermittelt, welche sich nach der Behandlung mit durchschnittlich 12 (± 1) Atemzügen pro Minute im Mittel und einer Spannweite von 12 – 14 deutlich reduziert hatte.

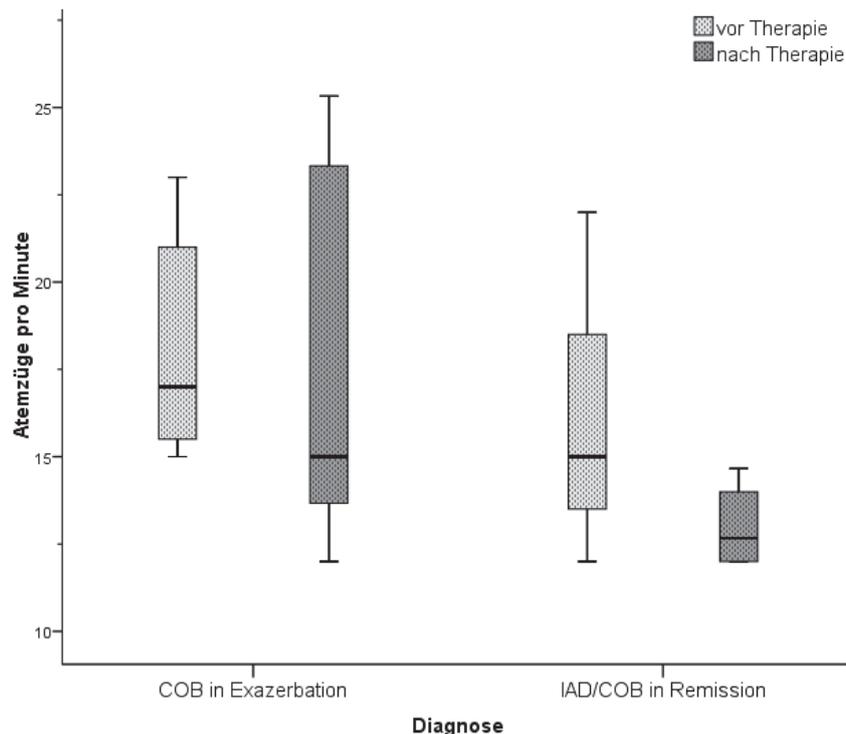


Abb. 24: Vergleichende Darstellung der Atemfrequenz (Atemzüge pro Minute) innerhalb der einzelnen Diagnosegruppen vor und nach Therapie. In Gruppe 3 ist eine deutliche Erniedrigung der AF nach Therapie zu erkennen und auch in Gruppe 2 zeigt sich, trotz der großen Spannweite, eine Verschiebung in den unteren Wertebereich. Die Veränderungen blieben ohne statistische Signifikanz.

Eine manuelle Hustenauslösung war vor der Inhalationstherapie bei insgesamt 5 Tieren (41,7%) möglich. Davon gehörten 4 Pferde der Gruppe 2 an und nur ein Patient der Gruppe 3. Bei letzterem sowie bei einem Proband mit der Diagnose „COB in Exazerbation“ konnte nach den 10 Tagen Therapie kein Husten mehr ausgelöst werden. Somit verringerte sich die Gesamtzahl an positiven Befunden von den genannten 5 auf noch 3 Tiere (25%). Dieser Unterschied war statistisch jedoch nicht signifikant.

Für die Ruhedyspnoe mit ihrer Unterteilung in die drei Ausprägungen „nicht vorhanden“, „mäßig“ und „schwer“ fand die vergleichende Berechnung lediglich innerhalb der Gruppe 2

III Ergebnisse

statt, da die Patienten mit „IAD/COB in Remission“ allesamt vor wie nach Therapie keine erschwerte Atmung zeigten. Wie schon für den Scoreparameter „Hustenauslösung“ ließen sich auch für die Ruhedyspnoe rein rechnerisch keine signifikanten Unterschiede feststellen, wenngleich auch hier die Zahlen eine leichte Verbesserung aufzeigten. So konnte vor der Budesonid-Inhalation bei allen acht Patienten der Gruppe 2 eine Ruhedyspnoe festgestellt werden. Diese war mit 75% (n=6) bei der überwiegenden Zahl der Tiere mäßig stark ausgeprägt und bei 25% (n=2) sogar sehr stark. Nach den zehn Tagen Haltungsoptimierung und inhalativer Arzneimitteltherapie zeigte kein Pferd mehr die stärkste Form der Dyspnoe und nur noch die Hälfte der Tiere (n=4) wies eine mäßig stark ausgeprägte Atemnot auf. Bei den anderen 50% waren nun in Ruhe sogar keinerlei Anzeichen einer angestregten Atmung mehr feststellbar.

2.4.1.2 Ergebnisse der weiterführenden Untersuchungen vor vs. nach Therapie

2.4.1.2.1 Ergebnisse arteriellen Blutanalysen vor vs. nach Therapie

Für die drei Parameter der arteriellen Blutgasanalyse (paCO_2 , paO_2 und A-aDO_2) ergaben sich zum Teil Veränderungen in den Werten vor und nach Therapie (Tab. 25, S. 221), auf die im Folgenden näher eingegangen werden soll.

Bei vergleichender Betrachtung des arteriellen Kohlendioxidpartialdruckes konnten weder insgesamt noch innerhalb der einzelnen Diagnosegruppen wesentliche Unterschiede zwischen den Werten vor und denen nach Glukokortikoidtherapie festgestellt werden. Grundsätzlich lag der paCO_2 bei den exazerbierten Probanden mit $42,53 (\pm 3,06)$ mmHg vor und $42,64 (\pm 2,35)$ mmHg nach Therapie geringfügig unter den durchschnittlichen Werten, die bei den Tieren mit der Diagnose „IAD/COB in Remission“ gemessen wurden. Diese lagen hier im Mittel bei $45,27 (\pm 1,22)$ mmHg vor und $46,85 (\pm 1,02)$ mmHg nach Therapie. Bei beiden Gruppen bewegte sich aber demnach der paCO_2 durchweg im Referenzbereich.

Im Gegensatz zum Kohlendioxidpartialdruck zeigte sich bei dem arteriellen Sauerstoffpartialdruck bei der Betrachtung aller zwölf Pferde eine signifikante ($p=0,041$) Verbesserung der Werte im Zuge der Therapie. Dabei erhöhte sich der durchschnittliche paO_2 von $96,89 (\pm 8,25)$ mmHg auf $103,20 (\pm 5,14)$ mmHg. Die Einzelanalysen innerhalb der beiden Gruppen stellten heraus, dass der paO_2 bei den Patienten mit der Diagnose „IAD/COB in Remission“ mit durchschnittlich $99,15 (\pm 3,89)$ mmHg vor und $104,52 (\pm 3,88)$ mmHg nach Therapie sowie $94,27$ mmHg als kleinster gemessener Wert durchweg im Referenzbereich bzw. sehr nah am unteren Grenzbereich lag und ohne signifikante Veränderungen blieb. Die Patienten mit der Diagnose „COB in Exazerbation“ hingegen wiesen anfänglich einen mittleren paO_2 von $95,75 (\pm 9,8)$ mmHg mit einem hochgradig pathologischen minimalen Wert von $81,81$ mmHg auf. Die erneuten Messungen ergaben in dieser Gruppe schließlich einen durchschnittlichen Wert von $105,63 (\pm 3,86)$ mmHg und damit eine deutliche und statistisch auch signifikante ($p=0,017$) Verbesserung des arteriellen Sauerstoffpartialdruckes. Dabei

III Ergebnisse

wies der paO_2 nach Therapie nicht nur im Durchschnitt einen physiologischen Wert auf, sondern auch der kleinste gemessene Wert bewegte sich dabei mit rund 100 mmHg nun im Referenzbereich. Eine grafische Veranschaulichung der beschriebenen Verhältnisse bietet die folgende Abb. 25.

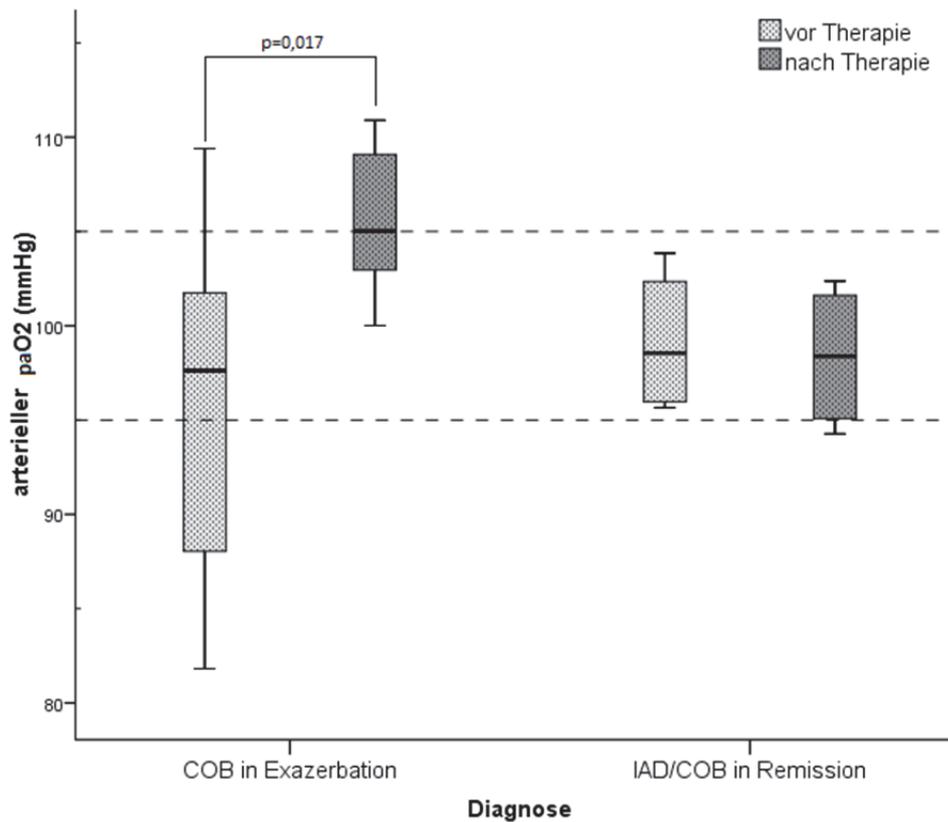


Abb. 25: Veränderung der arteriellen Sauerstoffpartialdruckdifferenz (paO_2) im Zuge der Arzneimitteltherapie innerhalb der einzelnen Diagnosegruppen. Die gestrichelten Linien markieren die obere und untere Grenze des Referenzbereichs (95-105 mmHg). Der Unterschied zwischen den Werten vor und denen nach Therapie erwies sich innerhalb der Gruppe 2 als signifikant ($p=0,017$)

Für die alveolo-arterielle Sauerstoffpartialdruckdifferenz ergaben sich logischerweise analoge Verhältnisse zu dem arteriellen Sauerstoffpartialdruck. So lagen auch bei dieser Messgröße die durchschnittlichen Werte für die Pferde mit „IAD/COB in Remission“ vor und nach Therapie durchweg im Referenzbereich, während die schwer erkrankten Probanden im exazerbierten Stadium pathologische Abweichungen aufwiesen, die sich nach der Therapie normalisierten (Tab. 25, S. 221). Während der maximale Wert für die $A-aDO_2$ hier vor Therapie mit 18,7 mmHg noch deutlich über dem physiologischen oberen Grenzwert lag, wurde dieser nach Budesonid-Inhalation nicht mehr überschritten. Diese Unterschiede in der gemessenen $A-aDO_2$ für die Diagnosegruppe „COB in Exazerbation“ waren statistisch signifikant ($p=0,028$) (Abb. 26, S. 124).

III Ergebnisse

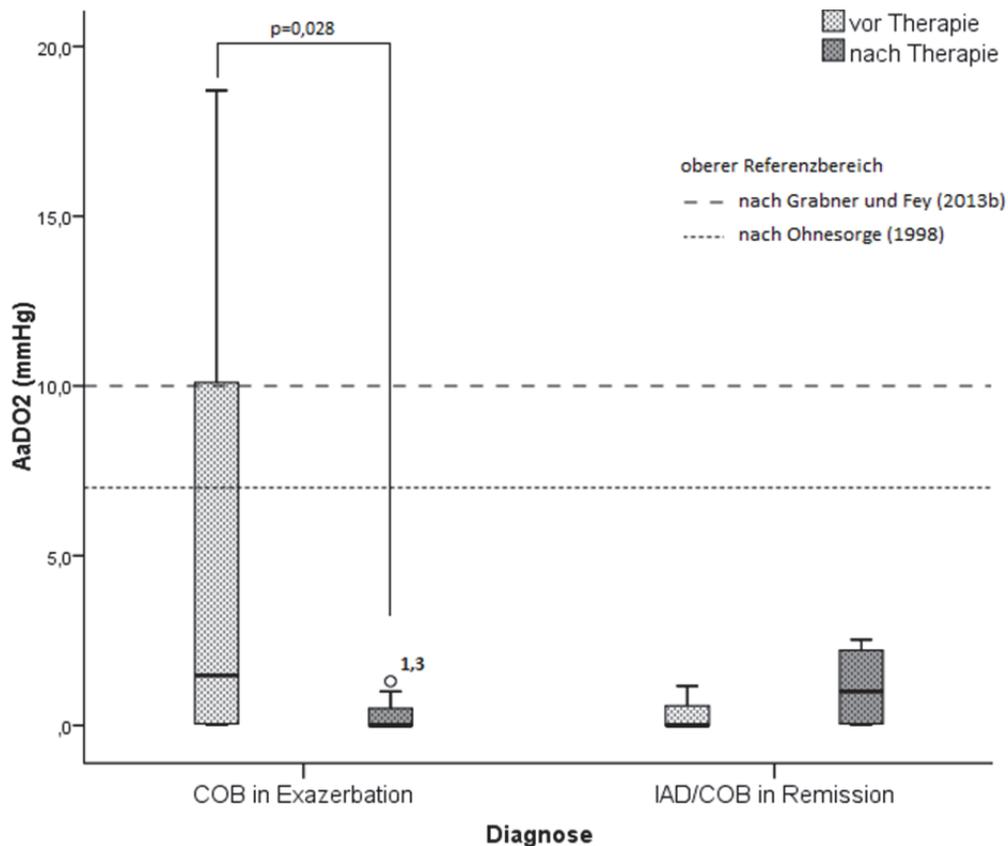


Abb. 26: Veränderung der alveolo-atriellen Sauerstoffpartialdruckdifferenz (A-aDO₂) im Zuge der Therapie innerhalb der Diagnosegruppen. Die Linien geben die in der Legende näher benannten Referenzbereiche an. Für den ausgegeben „Extremwert“ (○) ist der genaue Wert aufgeführt. Für die Gruppe 2 („COB in Exazerbation“) zeigte sich im Rahmen der Inhalationstherapie eine signifikante Verbesserung (p=0,028) in der A-aDO₂.

Die vergleichende Betrachtung der A-aDO₂ eingeteilt in Kategorien gemäß des Scores nach Ohnesorge (< 7 mmHg, 7-14 mmHg, > 14 mmHg) ergab keinerlei signifikante Unterschiede, weder im allgemeinen noch im speziellen Vergleich der beiden Diagnosegruppen.

2.4.1.2.2 Ergebnisse der Belastungsuntersuchung vor vs. nach Therapie

Für den Vergleich vor und nach Therapie lagen nur Ergebnisse von einem Pferd aus Gruppe zwei und einem aus Gruppe drei vor, da bei den übrigen Probanden eine Belastungsuntersuchung nicht möglich war oder diese ohne besonderen Befund ausfiel und daher nicht noch einmal wiederholt wurde.

Die genannten Patienten zeigten bei schon erhöhter Ruheatemfrequenz (> 20 Atemzüge pro Minute) vor wie auch nach Therapie eine deutlich verlängerte Wiederberuhigungszeit im Anschluss an die Belastung.

III Ergebnisse

Aufgrund der unvollständigen Befunde und der daraus resultierenden sehr geringen Fallzahl konnte hier keine statistisch vergleichende Berechnung der Ergebnisse vor und nach Therapie durchgeführt werden.

2.4.1.2.3 Ergebnisse der interpleuralen Druckmessung vor vs. nach Therapie

Von den 12 Patienten, die eine Arzneimitteltherapie erhielten, konnte bei acht Tieren eine Interpleuraldruckmessung durchgeführt werden. Davon gehörten sechs Pferde der Gruppe 2 und zwei Pferde der Gruppe 3 an. In letzterer („IAD/COB in Remission“) lagen die Werte mit jeweils 2 cmH₂O und 4 cmH₂O im Normbereich (≤ 4 cmH₂O). In der Gruppe 2 („COB in Exazerbation“) hingegen war bei der Hälfte der Patienten (n=3), bei denen diese Untersuchung durchgeführt werden konnte, vor Therapie eine $\Delta P_{pl,max}$ über 4 cmH₂O messbar. Dabei wiesen zwei Patienten Werte von 5 cmH₂O und ein Patient einen Wert von 8 cmH₂O auf. Die Therapie bewirkte bei den beiden Probanden mit nur geringgradig erhöhter $\Delta P_{pl,max}$ eine Normalisierung der Werte in den Referenzbereich und bei dem anderen Patienten immerhin eine leichte Reduktion der $\Delta P_{pl,max}$ von 8 auf 6 cmH₂O. Statistisch waren diese Unterschiede jedoch nicht signifikant ($p=0,066$).

2.4.1.2.4 Ergebnisse der endoskopischen Untersuchung vor vs. nach Therapie

Der Vergleich der endoskopischen Befunde, ausgedrückt durch den klinischen Score modifiziert nach Ohnesorge (1998) sowie durch den Endoskopie-Score nach Dieckmann (1987), ergab signifikante Unterschiede vor und nach Therapie, die einen positiven Effekt der Glukokortikoid-Inhalation aufzeigten (Abb. 27, S. 126). So konnte vor der Therapie noch bei allen Patienten ein pathologisches Endoskopie-Bild vorgefunden werden, wobei jeweils die Hälfte aller Tiere nach Ohnesorge geringgradige bis mittelgradige (50%) bzw. hochgradige (50%) Befunde aufwiesen. Die Kontrolluntersuchung im Anschluss an die 10-tägige Behandlung ergab deutliche signifikante ($p=0,007$) Unterschiede hierzu. Dabei zeigte sich im zweiten Untersuchungsdurchlauf nur noch bei einem der Patienten ein hochgradig pathologischer Befund, während nun insgesamt sieben Tiere (58,3%) mit gering- bis mittelgradig eingestuft wurden und 4 Patienten (33,3%) sogar ohne besonderen Befund blieben. Bei der Betrachtung der Diagnosegruppen im Einzelnen ergab sich rechnerisch allerdings lediglich für die Pferde mit der Diagnose „COB in Exazerbation“ ein signifikanter ($p=0,034$) Unterschied zwischen dem endoskopischen Bild vor und nach Therapie.

III Ergebnisse

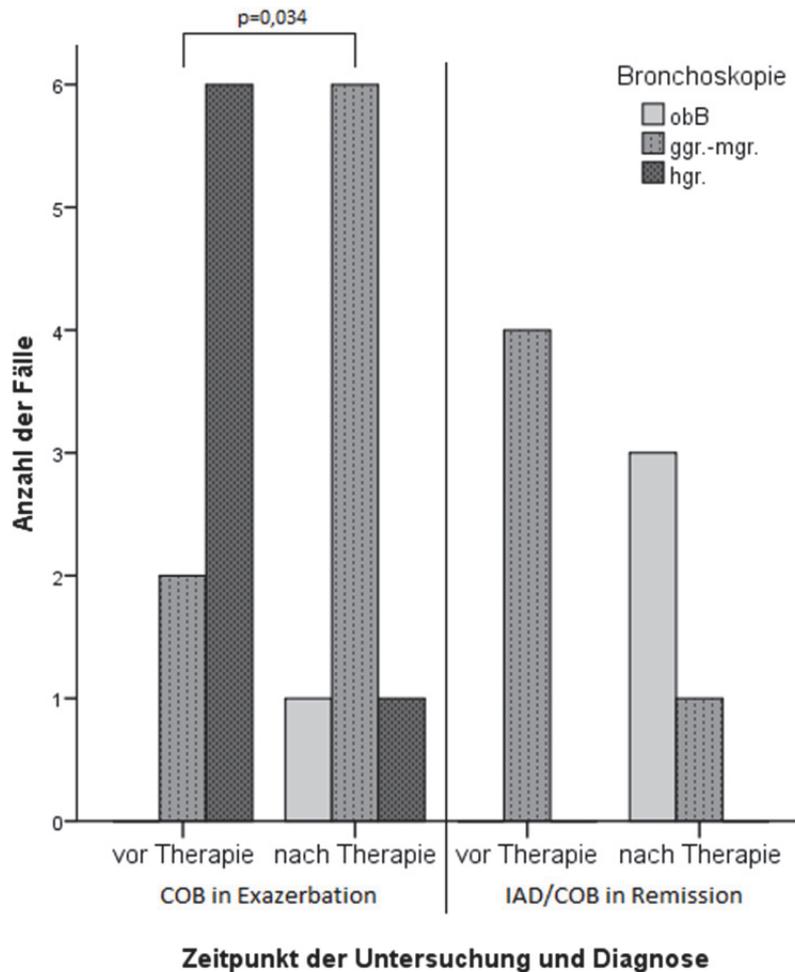


Abb. 27: Häufigkeitsverteilung des Vorkommens unauffälliger, gering- bis mittelgradiger und hochgradiger Befunde (nach Ohnesorge 1998) in der endoskopischen Untersuchung in den einzelnen Diagnosegruppen im Vergleich vor und nach Therapie. Bei den Tieren mit „COB in Exazerbation“ waren die Veränderungen im endoskopischen Befund statistisch signifikant (0,034).

Wie aus Tab. 14 (S. 127) hervorgeht, veränderten sich analog zum Gesamtscore auch die Punkteverteilungen bei der nach Dieckmann beurteilten Sekretmenge und -viskosität. Hierbei wurden nach Therapie insgesamt häufiger geringere Punktzahlen vergeben, als dies noch bei der Eingangsuntersuchung der Fall war. Der Unterschied war unter Einbezug aller zwölf Tiere für die Sekretmenge wie auch für die Sekretviskosität signifikant ($p=0,023$ bzw. $p=0,007$). Der gruppenspezifische Vergleich deckte, wie schon beim Gesamtscore, lediglich für die Pferde mit der Diagnose „COB in Exazerbation“ einen signifikanten Unterschied im Therapievergleich auf. Dieser war für die Sekretviskosität etwas stärker ausgeprägt ($p=0,027$) als für die Sekretmenge ($p=0,041$).

III Ergebnisse

Tab. 14: Übersicht über die Anzahl an vergebenen Punkten für die endoskopisch beobachtete Sekretmenge und –viskosität (nach Dieckmann 1987) im Vergleich vor und nach Therapie.

		Gesamt (n=12)		„COB in Exazerbation“ (n=8)		„IAD/COB in Remission“ (n=4)	
		Vor	Nach	Vor	Nach	Vor	Nach
Sekretmenge	Modalwert	4 ^a	1/3 ^a	4 ^b	3 ^b	2	1
	Min	1	0	3	1	1	0
	Max	4	4	4	4	2	3
Sekretviskosität	Modalwert	4 ^c	1 ^c	4 ^d	2 ^d	2	1
	Min	2	0	3	1	2	0
	Max	5	4	5	4	3	3

Die Unterschied in der beobachteten **Sekretmenge** war **a** insgesamt ($p=0,023$) und **b** allein in der Gruppe 2 ($p=0,041$) signifikant. Auch in der dokumentierten **Sekretviskosität** ergaben sich **c** insgesamt ($p=0,007$) sowie **d** bei den Tieren mit „COB in Exazerbation“ ($p=0,027$) signifikante Unterschiede vor und nach Therapie.

2.4.1.2.5 Ergebnisse der bronchoalveolären Lavage vor vs. nach Therapie

Allen 12 Probanden wurden für die Erst- wie auch für die Kontrolluntersuchung jeweils 500 ml PBS-Lösung via BAL-Katheter instilliert, wovon im ersten Durchgang durchschnittlich 269 (± 100) ml (54%) wiedergewonnen werden konnten und im zweiten durchschnittlich 210 (± 65) ml (42%). Im Einzelnen zeigten sich dabei keine wesentlichen Unterschiede, weder allgemein betrachtet noch speziell innerhalb der beiden Diagnosegruppen. So konnten bei den Tieren mit „COB in Exazerbation“ durchschnittlich 246 (± 105) ml vor und 214 (± 57) ml nach Therapie und bei den Tieren mit der Diagnose „IAD/COB in Remission“ entsprechend durchschnittlich 315 (± 87) ml bzw. 202 (± 88) ml wiedergewonnen werden.

Alle Probanden der Therapiegruppe blieben nach beiden Lavagen fieberfrei und zeigten auch sonst keinerlei Nebenwirkungen im Anschluss an diese Untersuchung.

2.4.1.2.5.1 Ergebnisse der zytologischen Untersuchung vor vs. nach Therapie

Die zytologische Auswertung der bronchoalveolären Lavage ergab beim Vergleich vor und nach Therapie nur leichte Veränderungen im Zellbild. Dabei wiesen die statistischen Berechnungen einzig für die Mastzellen einen signifikanten ($p=0,016$) Unterschied bei der gemeinsamen Betrachtung aller zwölf Tiere aus. Hier verringerte sich der prozentuale Anteil

III Ergebnisse

dieses Zelltyps an der Gesamtzellzahl von 2 ($\pm 1,8$)% auf 0,9 ($\pm 0,9$)%. Die individuelle Analyse jeden einzelnen Falles zeigte zudem, dass nicht nur im Mittel betrachtet, sondern tatsächlich auch konstant bei fast jedem Patienten der Anteil an Mastzellen durch die 10-tägige Therapie verringert wurde.

Für alle anderen Zelltypen blieben die vergleichenden Berechnungen ohne signifikante Unterschiede. Daher soll im Folgenden nur noch auf den pathogenetisch bedeutendsten Zelltyp, die neutrophilen Granulozyten, näher eingegangen werden. Eine detaillierte Auflistung der Prozentzahlen aller Zelltypen für die jeweiligen Gruppen sowie eine grafische fallspezifische Gegenüberstellung finden sich in Tab. 26 (S. 222) und in Abb. 28 (S. 129).

Für die neutrophilen Granulozyten zeigte sich grundsätzlich der sich durch die definierten Einschlusskriterien logisch ergebende Unterschied zwischen Gruppe 2 und 3. Demnach wurden in der Erstuntersuchung bei Pferden mit „COB in Exazerbation“ mit 55,1 ($\pm 20,7$)% deutlich mehr PMN im zytologischen Ausstrich nachgewiesen als bei den Tieren mit der Diagnose „IAD/COB in Remission“. Hier lag der Anteil dieses Zelltyps im Schnitt bei 17 ($\pm 8,1$)%. Die 10-tägige Budesonid-Inhalation bei gleichzeitiger Haltungsoptimierung führte nun in der Gruppe 2 zu einer, rechnerisch zwar nicht signifikanten, aber dennoch sichtbaren leichten Reduktion der neutrophilen Granulozyten um etwa 16% auf durchschnittlich 39,1 ($\pm 18,1$)%. Während die Spannweite vor Therapie noch von 27% bis 87,8% reichte, hatte sich dieser Bereich mit einem Minimum von 14,4% und einem Maximum von 67,8% nach der Therapie insgesamt nach unten verschoben. Auch in der Gruppe „IAD/COB in Remission“ reduzierte sich der Anteil an neutrophilen Granulozyten nach der Therapie (Tab. 26, S. 222). Ein Pferd dieser Gruppe bildete hier allerdings eine sehr markante Ausnahme. Bei diesem Tier (Pferd Nr. 55) stiegen die PMN von anfangs 27,8% sehr deutlich um rund 42% auf 69,4% an, was natürlich erheblichen Einfluss auf die Werteverteilung und die durchschnittlichen Anteile dieses Zelltyps in der Gruppe 3 zufolge hatte. Bei den Pferden mit „COB in Exazerbation“ kam eine Erhöhung der PMN nach Therapie sogar gleich zweimal vor, wobei der Unterschied hier wesentlich geringer ausfiel und somit weniger Einfluss auf die Gesamtzahl hatte. Bei diesen Pferden (Pferd Nr. 38 und Pferd Nr. 42) erhöhte sich der Anteil an neutrophilen Granulozyten lediglich um rund 16% bzw. 7% (von 52% auf 67,8% bzw. von 27% auf 34,2%). An dieser Stelle ist anzumerken, dass sich in all diesen Fällen trotz der erhöhten Entzündungszellen in der BALF bei der Kontrolluntersuchung keine klinische Verschlechterung zeigte. So wurden bei dem Pferd aus Gruppe 3 vor wie nach Therapie insgesamt jeweils 4 Scorepunkte und damit beide Male ein mittlerer Schweregrad ermittelt. Bei den zwei Pferden mit der Diagnose „COB in Exazerbation“ wurden sogar im zweiten Untersuchungsdurchlauf niedrigere Scorepunkte ermittelt als vorher und der Schweregrad verringerte sich bei beiden von „hochgradig erkrankt“ zu „mittelgradig erkrankt“. Die vergleichenden Berechnungen mit dem sogenannten „BAL-Score“ als Teil des Gesamtscores, der eine Gruppierung entsprechend dem Anteil an neutrophilen Granulozyten (<10%, 10-15%, 15-25%, >25%) vorsieht, blieben entsprechend ohne signifikante Unterschiede.

III Ergebnisse

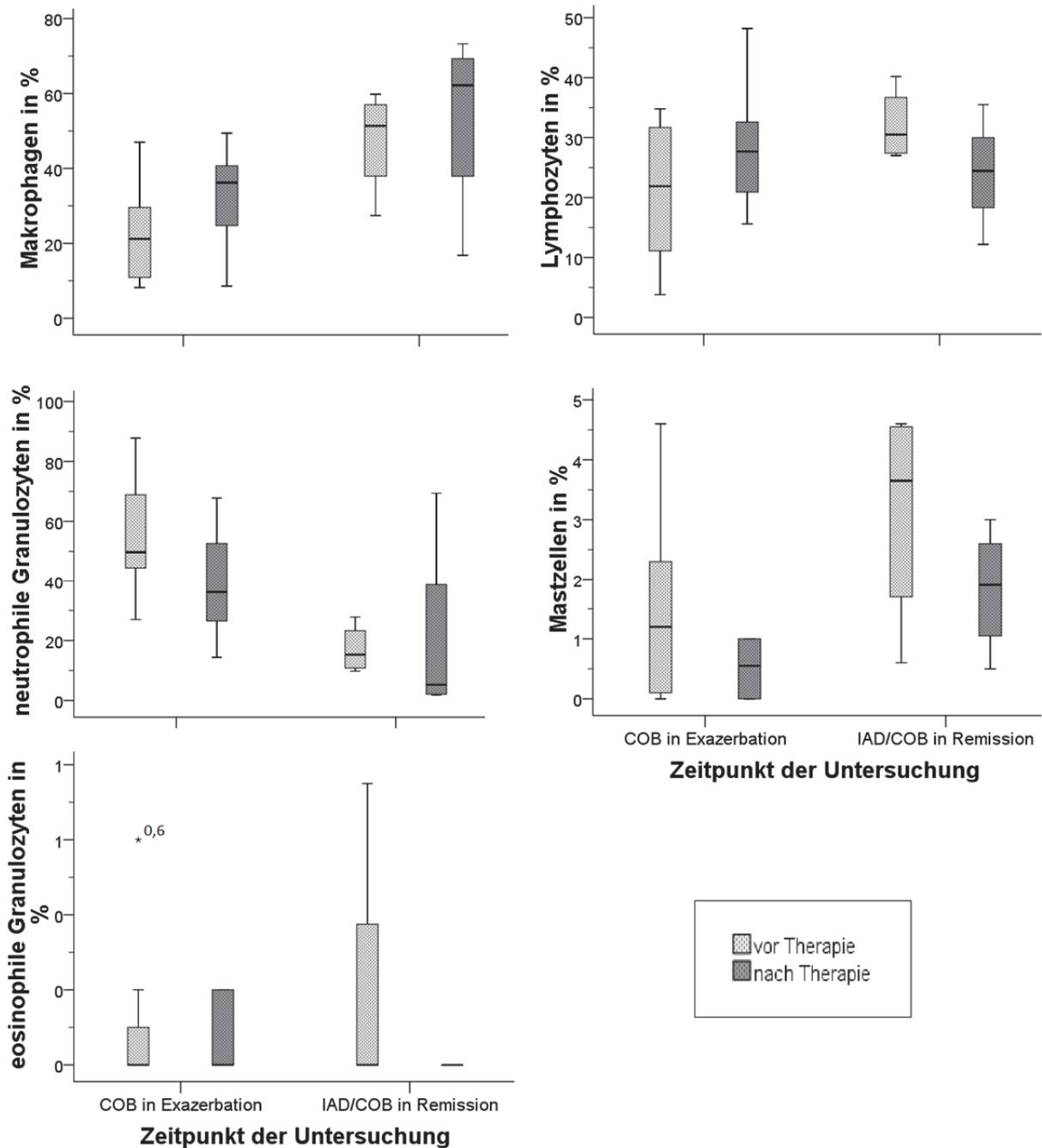


Abb. 28: Vergleichende Darstellung der Anteile an Makrophagen, Lymphozyten, eosinophilen Granulozyten und Mastzellen an der Gesamtzellzahl in den beiden Diagnosegruppen vor und nach Therapie. Trotz fehlender rechnerischer Signifikanzen sind grafisch zum Teil deutliche Veränderungen in den Zellanteilen zu sehen.

III Ergebnisse

2.4.1.3 Ergebnisse des klinischen Scores – Schweregrad der Erkrankung vor vs. nach Therapie

Auch an dieser Stelle soll, wie schon bei der Ergebnisdarstellung für die 5 Diagnosegruppen, nur auf die im Gesamtscore erreichte Gesamtpunktzahl und den entsprechenden Schweregrad eingegangen werden, da die diesem Ergebnis zugrunde liegenden Befunde bereits in vorigen Abschnitten beschrieben wurden.

Die Auswertungen des Gesamtscores zeigten, dass sich der Ausprägungsgrad der Erkrankung nach der therapeutischen Intervention zum Teil deutlich reduziert hatte. So erstreckte sich die Anzahl an Scorepunkten vor Therapie bei Betrachtung aller Patienten von 1 bis 9 und nach Therapie von 0 bis nur noch maximal 6 Punkten. Dabei war die am häufigsten vergebene Punktzahl in der Erstuntersuchung noch eine 8 und in der Zweituntersuchung nur noch eine 4. Dieser Unterschied zwischen der Häufigkeitsverteilung der Gesamtpunktzahl vor und nach Therapie erwies sich rechnerisch als hoch signifikant ($p=0,005$). Bei der getrennten Betrachtung von Gruppe 2 und 3 konnte für beide Kollektive eine Reduktion der Gesamtpunktzahl nach Inhalations-Therapie festgestellt werden, die sich allerdings nur für die Diagnosegruppe 2 „COB in Exazerbation“ als signifikant ($p=0,011$) herausstellte. Alle Modi mit entsprechenden Minima und Maxima für die Gesamtpunktzahl der einzelnen Gruppen sind in folgender Tab. 15 aufgeführt.

Tab. 15: Übersicht über die erreichten Gesamtpunktzahlen im klinischen Score modifiziert nach Ohnesorge (1998) im Vergleich vor und nach Therapie.

		Gesamt (n=12)		„COB in Exazerbation“ (n=8)		„IAD/COB in Remission“ (n=4)	
		Vor	Nach	Vor	Nach	Vor	Nach
Scorepunkt	Modalwert	8 ^a	4 ^a	8 ^b	4/5 ^b	4	0
	Minimum	1	0	6	3	1	0
	Maximum	9	6	9	6	4	4

Die Anzahl an vergebenen Scorepunkten war **a** insgesamt ($p=0,005$) sowie **b** allein in der Gruppe 2 ($p=0,011$) im Vergleich vor und nach Therapie signifikant verschieden.

III Ergebnisse

Die Verteilung des aus dem Gesamtscore hervorgehenden Schweregrades der Erkrankung (gesund (0-1 Punkt), geringgradig erkrankt (2-3 Punkte), mittelgradig erkrankt (4-6 Punkte) und hochgradig erkrankt (≥ 6 Punkte)) verhielt sich konsequenterweise auch hier analog zu der bereits genannten Gesamtpunktzahl. So ergab die Beurteilung nach Ohnesorge nach erfolgter Therapie deutlich geringere Schweregrade als dies noch bei der Eingangsuntersuchung der Fall war. Die Unterschiede erwiesen sich für alle Patienten zusammengenommen sowie für die Patienten der Diagnosegruppe „COB in Exazerbation“ mit $p=0,008$ und $p=0,02$ entsprechend als signifikant. In folgender Tab. 16 sind die entsprechenden Häufigkeitsverteilungen im Einzelnen aufgeführt und in Abb. 29 (S. 132) grafisch veranschaulicht.

Tab. 16: Übersicht über die Häufigkeitsverteilung der verschiedenen Schweregrade der Erkrankung (nach Ohnesorge (1998)) im Vergleich vor und nach Therapie.

		Gesamt (n=12)		„COB in Exazerbation“ (n=8)		„IAD/COB in Remission“ (n=4)	
		Vor ^a	Nach ^a	Vor ^b	Nach ^b	Vor	Nach
Schweregrad der Erkrankung (Anzahl Fälle n (%))	obB	1 (8,3%)	3 (25%)	0	0	1 (25%)	3 (75%)
	ggr.	1 (8,3%)	1 (8,3%)	0	1 (12,5%)	1 (25%)	1 (25%)
	mgr.	4 (33,3%)	8 (66,7%)	2 (25%)	7 (87,5%)	2 (50%)	0
	hgr.	6 (50%)	0	6 (75%)	0	0	0

Analog zu den Scorepunkten (s. Tab. 15) ergaben sich auch für den Schweregrad der Erkrankung signifikante Unterschiede **a** insgesamt ($p=0,008$) sowie **b** allein für die Tiere mit „COB in Exazerbation“ ($p=0,020$) im Vergleich vor und nach Therapie.

III Ergebnisse

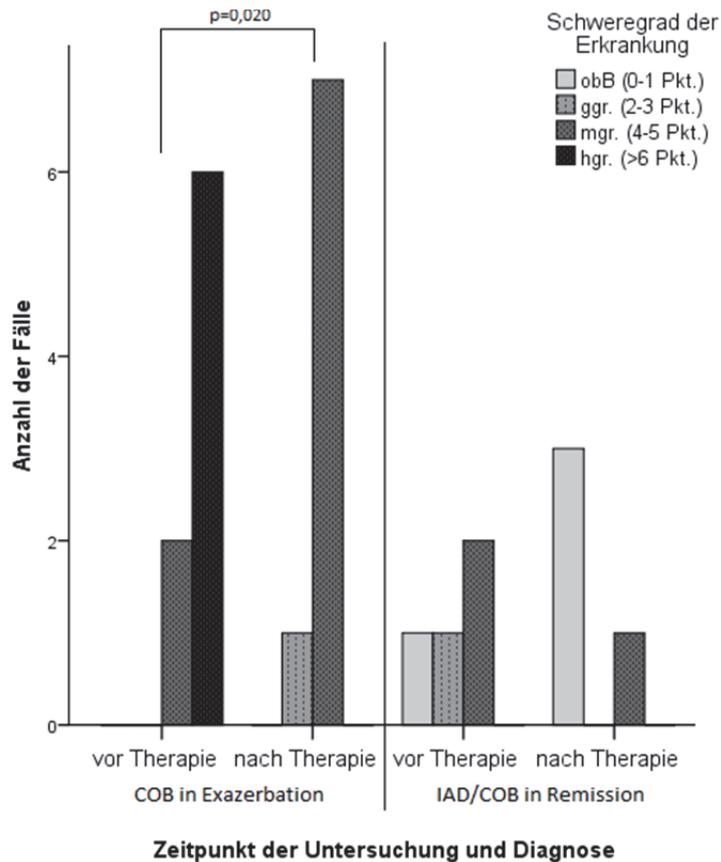


Abb. 29: Vergleichende Darstellung der Häufigkeitsverteilungen verschiedener Erkrankungsgrade in den einzelnen Diagnosegruppen vor und nach Therapie. Die Therapie führte bei den Tieren mit „COB in Exazerbation“ zu einer signifikanten ($p=0,02$) Veränderung in der Verteilung des Schweregrades der Erkrankung.

2.4.2 Ergebnisse der laboranalytischen Verfahren vor vs. nach Therapie

2.4.2.1 Ergebnisse der Bestimmung von Fibrinogen vor vs. nach Therapie

Wie bereits erwähnt, wurden für die Berechnungen der Fibrinogenkonzentration alle Werte, die unterhalb der laboranalytischen Nachweisgrenze von 0,001 g/l lagen, mit einer Konzentration von 0,0005 g/l definiert.

Die vergleichende Betrachtung der Werte aus den Messungen vor mit denen nach Therapie zeigte für beide Gruppen zusammen wie auch einzeln für Gruppe 2 und Gruppe 3 eine Erniedrigung der durchschnittlichen Fibrinogenkonzentration in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit mit unterschiedlicher Ausprägung (Tab. 17 und Abb. 30, S. 133). Dabei reduzierte sich die Durchschnittskonzentration insgesamt von 0,008 ($\pm 0,0061$) g/l auf 0,0052 ($\pm 0,0046$) g/l. Die Betrachtung der einzelnen Diagnosegruppen ergab für die Pferde mit „COB in Exazerbation“ eine leichte Verringerung von 0,006 ($\pm 0,0032$) g/l auf 0,0053 ($\pm 0,005$) g/l und für die Tiere mit der Diagnose „IAD/COB in Remission“ den mit Abstand deutlichsten Abfall der durchschnittlichen Fibrinogenkonzentration von 0,0118 ($\pm 0,0091$) g/l

III Ergebnisse

auf 0,0051 ($\pm 0,0042$) g/l. Wie schon die Standardabweichungen vermuten lassen (Tab. 17) und was auch aus der grafischen Darstellung (Abb. 30) deutlich hervorgeht, lag dabei stets eine große Spannweite der Werte vor. Trotz der zahlenmäßig und grafisch erkennbaren Erniedrigung der Fibrinogenkonzentration in der BALF nach Arzneimitteltherapie blieben die statistischen Berechnungen ohne signifikante Unterschiede.

Tab. 17: Übersicht über die Fibrinogenkonzentrationen (in g/l) in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit im Vergleich vor und nach Therapie.

		Gesamt (n=12)		„COB in Exazerbation“ (n=8)		„IAD/COB in Remission“ (n=4)	
		Vor	Nach	Vor	Nach	Vor	Nach
Fibrinogen (g/l)	MW \pm SD	0,008 \pm 0,0061	0,0052 \pm 0,0046	0,006 \pm 0,0032	0,0053 \pm 0,005	0,0118 \pm 0,0091	0,0051 \pm 0,0042
	Min/Max	0,0005/0,0195	0,0005/0,0141	0,0017/0,0106	0,0005/0,0141	0,0005/0,0195	0,0017/0,0112

Die Veränderungen in den durchschnittlichen Werten der gemessenen Fibrinogenkonzentration in der BALF im Zuge der Therapie blieben ohne statistische Signifikanzen.

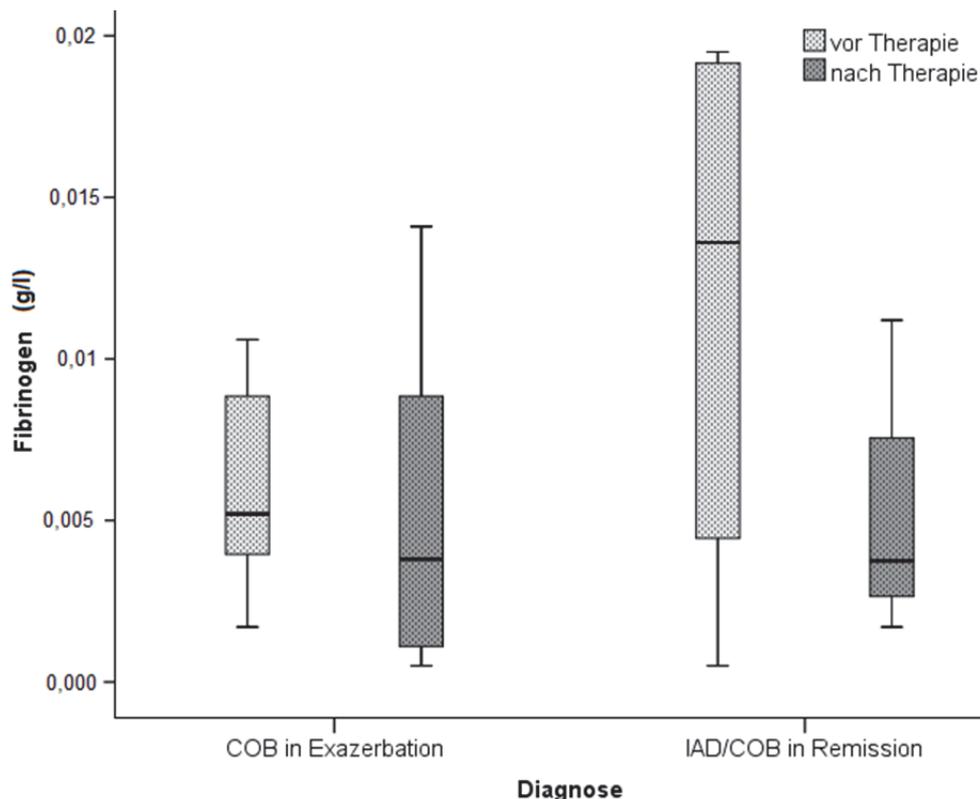


Abb. 30: Vergleichende Darstellung der Fibrinogenkonzentration (in g/l) innerhalb der einzelnen Diagnosegruppen vor und nach Therapie. Insbesondere in der Gruppe „IAD/COB in Remission“ ist eine Werteverchiebung in untere Bereiche sichtbar.

III Ergebnisse

2.4.2.2 Ergebnisse der Bestimmung von Serum-Amyloid-A vor vs. nach Therapie

Analog zum Fibrinogen wurden für die Berechnungen der SAA-Konzentration in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit alle Werte, die unterhalb der laboranalytischen Nachweisgrenze von 0,01 µg/ml lagen, mit einer Konzentration von 0,005 µg/ml definiert.

Während in der BALF aus der Erstuntersuchung bei nur einem Fall eine sehr geringe SAA-Konzentration (0,010 µg/ml) nachgewiesen wurde und alle anderen Werte unter 0,01 µg/ml lagen, konnte hingegen in der Lavage aus der Kontrolluntersuchung bei 4 Fällen eine, teilweise sogar relative hohe, SAA-Konzentration gemessen werden. Drei dieser Proben stammten dabei aus der Diagnosegruppe „COB in Exazerbation“. Die fallspezifischen Veränderungen der SAA-Konzentration gehen aus der folgenden Tab. 18 sowie der Abb. 31 (S. 135) hervor.

Trotz einzelner Konzentrationsunterschiede blieb der Median bei der Betrachtung aller Tiere sowie bei Betrachtung derer mit „COB in Exazerbation“ vor wie auch nach Therapie konstant bei 0,005 µg/ml. Lediglich bei der Einzelanalyse der Diagnosegruppe „IAD/COB in Remission“ machten sich die Erhöhungen in den SAA-Konzentrationen einzelner Tiere nach Therapie auch im Median bemerkbar. Der Unterschied war jedoch mit einem Anstieg von 0,005 µg/ml auf nur 0,0075 µg/ml sehr minimal und statistisch ebenfalls nicht signifikant.

Tab. 18: Übersicht über die Konzentrationen an Serum-Amyloid-A (in µg/ml) in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit im Vergleich vor und nach Therapie.

		Gesamt (n=12)		„COB in Exazerbation“ (n=8)		„IAD/COB in Remission“ (n=4)	
		Vor	Nach	Vor	Nach	Vor	Nach
SAA (µg/ml)	Md (Q_{1/3})	0,005 (0,005/ 0,005)	0,005 (0,005/ 0,207)	Alle 8 Fälle hatten Werte von 0,005 bzw. <0,01 µg/ml.	0,005 (0,005/ 0,44)	0,005 (0,005/ 0,009)	0,0075 (0,0057/ 0,167)
	Min/ Max	0,005/ 0,01	0,005/ 1,09		0,005/ 1,09	0,005 /0,01	0,005/ 0,22

Trotz einzelner Werteveränderungen blieb der Median fast immer konstant bei 0,005 µg/ml und es zeigten sich demnach keine signifikanten Veränderungen im Vergleich vor und nach Therapie.

III Ergebnisse

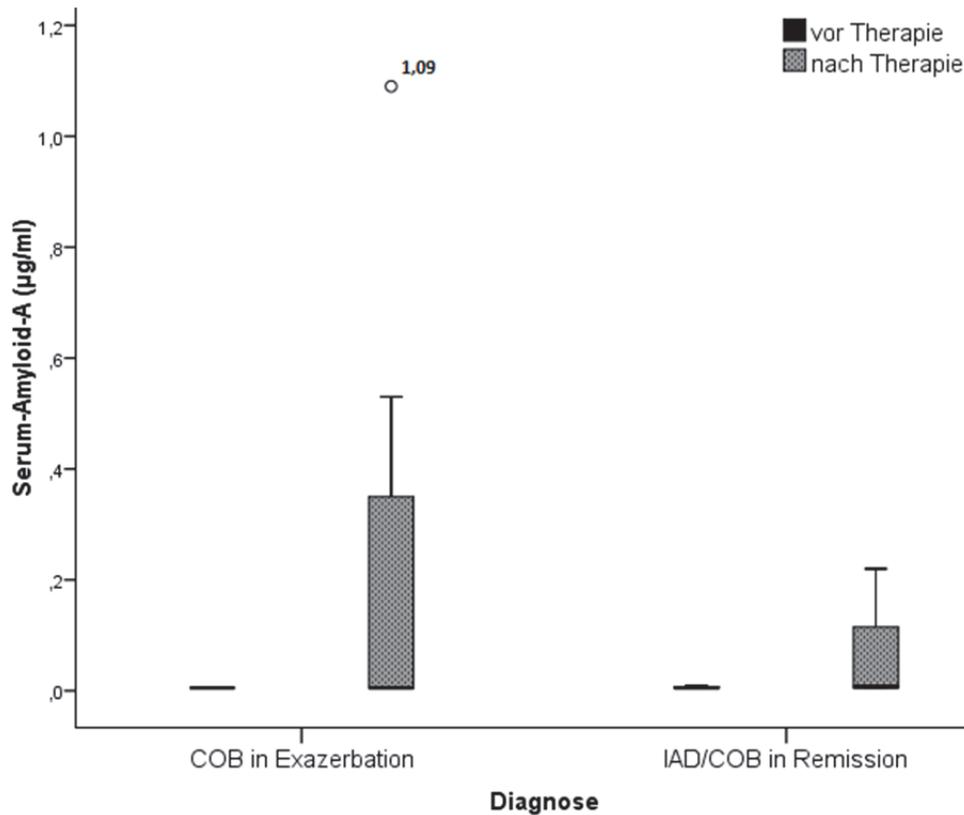


Abb. 31: Vergleichende Darstellung der SAA-Konzentration (in µg/ml) innerhalb der einzelnen Diagnosegruppen vor und nach Therapie. Der grafisch sichtbare Unterschied im Vergleich vor und nach Therapie erwies sich statistisch als nicht signifikant. Trotz Erweiterung des Wertebereichs insgesamt lag der Median auch nach Therapie immer noch bei 0,005 µg/l. Die Einzelfallbetrachtung konnte zudem zeigen, dass sich reell nur bei 3 von 8 Pferden aus Gruppe 2 und bei 1 von 4 aus Gruppe drei eine Erhöhung gezeigt hatte.

2.4.2.3 Ergebnisse der Bestimmung von D-Dimeren vor vs. nach Therapie

Der Vergleich der D-Dimer-Konzentration in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit vor und nach Therapie findet im Folgenden nur für die Diagnosegruppe „COB in Exazerbation“ statt, da bei den Tieren mit „IAD/COB in Remission“ die Werte immer unter der laboranalytischen Nachweisgrenze von 0,19 mg/l lagen und auch keine Proteinanreicherung durchgeführt wurde, wodurch hier kein Unterschiedsvergleich möglich war. Für die BALF-Proben der Patienten aus Gruppe 2 hingegen fand eine Proteinanreicherung zur besseren Nachweisbarkeit statt, wobei in drei Fällen (einer vor und zwei nach Therapie) bereits ohne diese Aufbereitung definierte D-Dimer-Konzentrationen gemessen werden konnten. Nach dem Anreicherungsverfahren blieben die D-Dimer-Konzentrationen in drei Fällen (einer vor und zwei nach Therapie) weiter unter der, nun neu definierten, Nachweisgrenze. Da diese zweimal bei < 0,04 mg/l und einmal bei < 0,05 mg/l lag, wurde für die Berechnungen die

III Ergebnisse

Konzentration bei diesen drei Tieren mit 0,035 mg/l definiert. Der Vergleich der D-Dimere aus Gruppe 2 vor und nach Therapie blieb ohne signifikanten Unterschied. Allerdings zeigte sich bei über der Hälfte (62% (n=5)) der Tiere eine Erniedrigung bzw. in einem Fall eine Stagnation der D-Dimer-Konzentration nach Therapie (Abb. 32, S. 136 und Tab. 19, S. 137), die sich auch geringfügig im Median bemerkbar machte. Dieser verringerte sich leicht von 0,08 mg/l auf 0,06 mg/l. Die Spannweite veränderte sich dabei von 0,062-0,165 mg/l auf 0,036-0,182 mg/l.

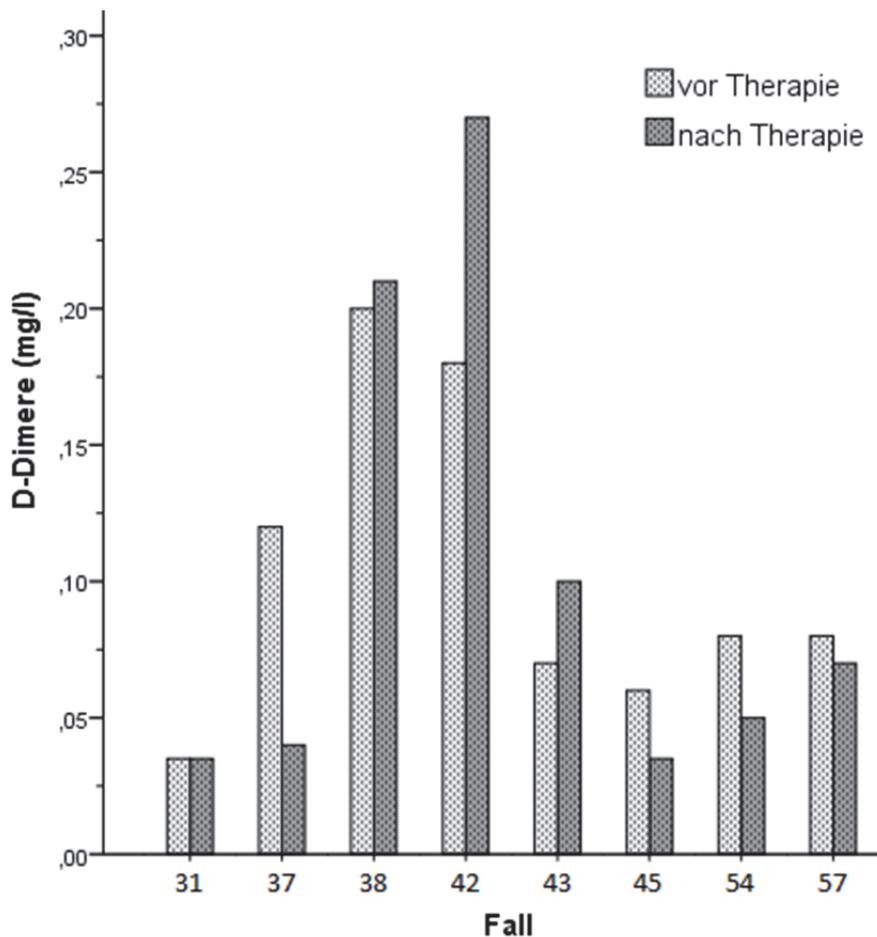


Abb. 32: Vergleichende Darstellung der D-Dimer-Konzentration (in mg/l) in der BALF vor und nach Therapie für die Patienten (Fall) der Gruppe „COB in Exazerbation“.

Bei mehr als der Hälfte der Tiere verringert sich die D-Dimer-Menge im Zuge der Therapie. Die Pferde Nr. 38 und 42 zeigten interessanterweise auch eine Erhöhung des PMN-Anteils.

An dieser Stelle ist noch eine Auffälligkeit zu nennen, die aus der Einzelanalyse hervorging. So fiel bei der Betrachtung der Fälle im Einzelnen auf, dass die zwei Pferde (Nr. 38 und Nr. 42), bei denen in der BALF der Zweituntersuchung schon ohne Proteinanreicherung D-Dimer-Konzentrationen gemessen werden konnten, auch die Fälle waren, bei denen die

III Ergebnisse

zytologische Auswertung der Lavageflüssigkeit einen Anstieg der neutrophilen Granulozyten nach Therapie ergab.

Tab. 19: Übersicht über die D-Dimer-Konzentrationen (in mg/l) in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit bei den Patienten mit „COB in Exazerbation“ (n=8) im Vergleich vor und nach Therapie.

		D-Dimere (mg/l)	Veränderung der D-Dimer-Konzentration durch die Therapie	Anreicherungs-faktor	
Fall Nr.	31	vor	<0,04	—	4,6
		nach	<0,04		4,7
	37	Vor	0,12	↓	6,2
		Nach	0,04		4,7
	38	Vor	0,2	↑	-
		Nach	0,21		-
	42	Vor	0,18	↑	6,4
		Nach	0,27		-
	43	Vor	0,07	↑	5,2
		Nach	0,1		4,8
	45	Vor	0,06	↓	8,9
		Nach	<0,05		3,5
	54	Vor	0,08	↓	13,2
		Nach	0,05		9
	57	Vor	0,08	↓	5,7
		Nach	0,07		4,9

Bei der Hälfte der Tiere (n=4) verringerte sich die D-Dimer-Konzentration in der BALF im Zuge der Therapie und in einem Fall blieb sie unverändert. Da hier jedoch die Konzentrationen jeweils unter der Nachweisgrenze (<0,04 mg/l) lagen ist über die Werteveränderung keine definitive Aussage zu treffen.

3 Diskussion

3.1 Ziele der Studie

Das wesentliche Ziel der vorliegenden Studie bestand darin, erstmalig Informationen über die fibrinolytische Aktivität im Alveolarraum von Pferden mit chronischen Lungenerkrankungen zu gewinnen.

Angaben aus der veterinärmedizinischen Literatur lieferten Hinweise darauf, dass eine, in der Humanmedizin bereits bekannte, alveoläre Hämostas-Dysbalance auch beim Pferd eine Rolle in der Pathogenese respiratorischer Erkrankungen spielt.

Anhand von Fibrinogen, D-Dimeren, PAI-1 und u-PA sollte eine Charakterisierung der Fibrinolyse in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit stattfinden.

Zusätzlich sollte überprüft werden, ob und inwieweit sich die Konzentrationen genannter Faktoren im Rahmen einer inhalativen Glukokortikoidtherapie mit kombinierter Haltungsoptimierung verändern.

Begleitend sollte zudem das Verhalten von Serum-Amyloid-A, als sensitives Akute-Phase-Protein, in der bronchoalveolären Lavage bei verschiedenen Pneumopathien sowie ebenfalls im Rahmen einer therapeutischen Intervention untersucht werden.

3.2 Probandengut / Patientenkollektiv

Das dieser Studie zugrunde liegende Patientenkollektiv war bezüglich der Rasse und damit einhergehend auch bezüglich Größe und Gewicht relativ heterogen. Dies war dadurch bedingt, dass zunächst alle Tiere, die zur Lungendiagnostik in der Klinik vorgestellt wurden, in das Untersuchungsschema dieser Arbeit aufgenommen wurden. Eine Vorauswahl durch beispielsweise einen Fragenbogen, der neben Erkrankungsgrad auch Rasse und Alter erfasst hätte, fand nicht statt. Vorteil hiervon war, dass die für die Statistik sehr bedeutende Zufälligkeit der Stichproben, sprich der Probanden, in hohem Maße gegeben war. Zwar hätte man auch von den vorgestellten Patienten nur die Warmblutpferde in die Studie einschließen und Ponies sowie andere Rassen ausschließen können und damit eine Homogenität bei gleichzeitiger Zufälligkeit herbeigeführt, jedoch wurde darauf verzichtet und, ebenfalls in Hinblick auf die statistische Auswertung, zugunsten einer größeren Fallzahl entschieden. So hätte eine Rasseselektion eine deutliche Minderung der Stichprobenanzahl mit sich gebracht. Darüber hinaus wurde in Anlehnung an wissenschaftliche Erkenntnisse der Einfluss der Rasse auf die Studienergebnisse eher als gering betrachtet. So wurde in der Arbeit von Fey (2005) herausgestellt, dass die Rasse keinen signifikanten Einfluss auf besonders relevante Parameter wie beispielsweise auf die Lungenfunktion (hier ausgedrückt in paO_2 , $A-aDO_2$, Atemwegswiderstand und $\Delta P_{p,max}$) oder auch auf das Zellbild der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit hat. Insbesondere die analogen Verhältnisse in der

Zytologie lassen vermuten, dass die Pathomechanismen der Erkrankung über die verschiedenen Rassen hinweg im Wesentlichen übereinstimmen und somit der Einfluss des Pferdetyps auch in Bezug auf die in dieser Studie gemessenen Faktoren in der BALF (SAA, Fibrinogen, D-Dimere) zu vernachlässigen ist. Definitiv kann dies jedoch nicht ganz ausgeschlossen werden und sollte bei der Bewertung bzw. weiteren Verwendung der Ergebnisse grundsätzlich mit bedacht werden.

Im Gegensatz zu den erkrankten Tieren fand in Bezug auf die gesunden Kontrolltiere eine Vorauswahl statt, die vor allem auf dem Alter der Tiere und auf den Ergebnissen einer ersten klinischen Untersuchung basierte. Eine Selektion nach Rasse war jedoch auch hier nicht möglich, da für die Kontrollgruppe hauptsächlich klinikeigene Tiere verwendet wurden und diese überwiegend Kleinpferde und Ponies darstellten. Eine Rekrutierung derselben Anzahl an gesunden Probanden aus einem externen Pool war aufgrund der zum Teil recht invasiven Verfahren im Untersuchungsprotokoll nicht umsetzbar.

Da das Alter ein Auswahlgrund für die gesunden Kontrolltiere darstellte (bevorzugt wurden junge Tiere ≤ 7 Jahren (Couetil and Ward 2003)), ist der in dieser Arbeit festgestellte signifikante Altersunterschied zwischen lungengesunden und lungenkranken Pferden nicht zufällig und somit nicht repräsentativ. Die erhaltenen Altersverteilungen in den Erkrankungsgruppen hingegen sind als zufällig anzusehen und lassen eine weitergehende Interpretation zu. So zeigt die vorliegende Arbeit mit einem erfassten durchschnittlichen Alter von 17 (± 5) Jahren und einem Minimum von 10 Jahren in der Gruppe „COB in Exazerbation“, dass diese Erkrankung vor allem ältere Pferde betrifft, was im Konsens mit bisherigen wissenschaftlichen Erhebungen steht (McPherson, Lawson et al. 1979b; Dixon, Railton et al. 1995b; Couetil and Ward 2003). Die Tatsache, dass das durchschnittliche Alter der Gruppe 3, in der sich ja ebenfalls an COB erkrankte Pferde befanden, mit 13 (± 4) Jahren geringfügig, aber dennoch signifikant ($p=0,037$) unter dem der Gruppe 2 lag, lässt sich unter anderem dadurch erklären, dass hier zusätzlich Patienten mit IAD aufgenommen wurden und diese Erkrankung vor allem jüngere Pferde betrifft (Couetil, Hoffman et al. 2007), was Einfluss auf den Altersdurchschnitt gehabt haben dürfte.

3.3 Einschlusskriterien / Gruppeneinteilung / Diagnosestellung

Für die Formulierung der jeweiligen Einschlusskriterien zur Diagnosestellung wurde sich an den in der Literatur vorhandenen Definitionen orientiert (Dieckmann, Klein et al. 1990; Robinson 2001; Couetil, Hoffman et al. 2007), um so eine standardisierte Gruppeneinteilung zu erhalten.

In der Gruppe der gesunden Kontrolltiere durften die erhobenen Befunde keinerlei Auffälligkeiten aufweisen. Eine Ausnahme hiervon bildeten die Auswertungen der Röntgenbefunde. Diese Ausnahme wurde gemacht, da die unterschiedlichsten Faktoren Einfluss auf das Röntgenbild haben und dadurch die Befunde dieser Untersuchung mitunter

III Diskussion

sehr variabel sein können und nicht immer mit dem Gesundheitsstatus des Tieres korrelieren. Die beeinflussenden Faktoren können zum einen technischer Natur sein (Leistung der Röntgenanlage, Über- /oder Unterbelichtung, Bewegungsartefakte) und zum anderen in individuellen Eigenschaften des Patienten (Alter, Größe, Thoraxumfang, Körperfett, Atemfrequenz) begründet sein (Gehlen, Niedermaier et al. 2009; Tilley, Sales Luis et al. 2012). Eine hohe Fettmasse beispielsweise kann dazu führen, dass das Lungengewebe insgesamt verstärkt verdichtet erscheint und das Bild somit fälschlicherweise zu schlecht in Bezug auf die interstitielle Zeichnung beurteilt wird. Dies könnte auch der Grund für die Beurteilung der interstitiellen Zeichnung mit dem Grad 2 (mittelgradiger Befund) bei den ansonsten klinisch lungengesund und in die Gruppe der Kontrolltiere mit eingeschlossenen Pferde Nr. 59 und 65 gewesen sein. Bei beiden Pferden handelte es sich um Kleinpferde der Rasse „Tarpan“ mit einem adipösen Ernährungszustand. Durch die verblindete Beurteilung der Bilder konnte dieser Aspekt (erhöhte Fettmasse) bei der Schweregradeinteilung nicht berücksichtigt werden, was sonst wahrscheinlich zu einer Aufwertung, sprich Bewertung mit geringerem Schweregrad, geführt hätte. Neben dem Ernährungszustand hatte auch der Atemtyp vermehrt Einfluss auf die Qualität des Röntgenbildes. So zeigten einige Patienten eine durch Dyspnoe oder Aufregung bedingte hohe Atemfrequenz oder wiesen eine sedationsbedingte unregelmäßige Atmung mit stoßweiser Expiration auf. In Verbindung mit der relativ langen Belichtungszeit war es daher vereinzelt schwierig bis unmöglich, zuverlässig Bewegungsartefakte zu vermeiden und ein Bild in maximaler Inspiration zu erstellen. Aufgrund dieser Variabilitäten wurde die Röntgendiagnose bei der Auswahl der gesunden Kontrolltiere außen vor gelassen.

Die Zusammenfassung der beiden Krankheitsausprägungen „IAD“ und „COB in Remission“ zu einer gemeinsamen Gruppe erfolgte deshalb, da eine definitive Unterscheidung dieser beiden aufgrund fehlender Exposition mit schimmeligem Heu („natural challenge test“) nicht sicher möglich war, und es demnach höchstwahrscheinlich so oder so zu einer Vermischung krankheitsspezifischer Ergebnisse gekommen wäre, die dann jedoch entsprechend falsch dargestellt und interpretiert worden wären. Die schwierige Differenzierung liegt zum einen an der breiten Überschneidung zwischen den Symptomen wie auch den diagnostischen Befunden beider Erkrankungen und zum anderen in dem bisher wenig detailliertem Wissen über die IAD und damit dem Fehlen von Definitionskriterien, die eine korrekte und sichere Abgrenzung zu Pferden mit COB in Remission in jedem Fall möglich gemacht hätten (Couetil, Hoffman et al. 2007; Pirie 2014).

3.4 Diskussion der Ergebnisse der Untersuchungen

3.4.1 Diskussion der Ergebnisse der allgemeinen und speziellen klinischen Untersuchung

Um die Vergleichbarkeit der protokollierten Befunde der klinischen Untersuchung zu wahren, wurden diese immer von denselben drei Untersuchern durchgeführt, wobei im Vorfeld einheitliche Beschreibungen besprochen und festgelegt wurden. Auch die Vermeidung von der Aufnahme sehr subjektiver Messgrößen trug dazu bei. Ein gutes Beispiel liefert hierfür der Punkt „Auskultation“ im modifizierten klinischen Score nach Ohnesorge (1998). So wird dort lediglich ein definitiv zu erkennendes Rasseln, Knistern oder Giemen in die Beurteilung mit eingeschlossen, während eine verschärfte Atmung – ein individuell sehr verschieden interpretierbarer Befund – außen vor gelassen wurde.

Zwei Besonderheiten, die sich aus der klinischen Untersuchung ergaben, seien im Folgenden herausgestellt und erläutert. Eine Auffälligkeit war die mittlere innere Körpertemperatur von 37,6 ($\pm 0,4$) °C der Tiere aus Gruppe 5. Bei Patienten, die an akuten respiratorischen Infektionen erkrankt sind, werden gelegentlich erhöhte Temperaturen (> 38 °C) erwartet. Der Grund für das Fehlen einer solchen Beobachtung ist in den vorliegenden Fällen darin begründet, dass die Tiere zum einen zum Zeitpunkt der bronchoalveolären Lavage noch keine Temperaturerhöhung bzw. einen subfebrilen Krankheitsverlauf zeigten und zum anderen, dass sich durch die Mittelung der Werte von den drei Untersuchungstagen in Kombination mit einer antipyretischen Therapie kurzzeitige Temperaturanstiege im Endergebnis nicht widerspiegelten.

Diese Relativierung der Werte durch die Mittelung der Ergebnisse aus den drei Untersuchungstagen hatte auch Einfluss auf andere Befunde. So zeigten 2 Patienten (Nr. 17 und 18) aus der Gruppe „COB in Exazerbation“ im Durchschnitt keine erhebliche Ruhedyspnoe. Aus der Einzelanalyse ging jedoch eine schwere Dyspnoe an Tag eins hervor, was unter Berücksichtigung aller weiteren Befunde trotzdem zu einer Zuordnung dieser beiden Pferde in die entsprechende Gruppe führt. So fanden sich, neben der Dyspnoe an Tag 1, zusätzlich prozentuale Anteile an PMN in der BALF von 48 % (Nr.17) und 74 % (Nr. 18), veränderte arterielle Blutgase ($A-aDO_2 > 7$ mmHg) sowie deutliche als mittelgradig einzustufende Endoskopiebefunde.

3.4.2 Diskussion der Ergebnisse der weiterführenden Untersuchungen

3.4.2.1 Diskussion der Ergebnisse der venösen und arteriellen Blutuntersuchung

Die durchweg physiologischen Werte der venösen Blutuntersuchung bestätigen die Angaben aus der Literatur, dass die COB bzw. chronische Lungenerkrankungen im Allgemeinen nicht mit sich widerspiegelnden systemischen Veränderungen einhergehen und dass das entzündliche Geschehen weitestgehend lokal begrenzt ist (Lavoie-Lamoureux, Leclere et al. 2012; Pirie 2014).

Für die Werte des arteriellen Sauerstoffpartialdruckes der lungengesunden Kontrolltiere fiel auf, dass diese sich zum Teil geringfügig unter dem Referenzwert von 95 mmHg bewegten. Da jedoch die alveolo-arterielle Sauerstoffpartialdruckdifferenz bei all diesen Tieren im physiologischen Bereich lag und diese Messgröße als der unabhängigere und damit aussagekräftigere Parameter anzusehen ist (Grabner and Fey 2013), wurde die A-aDO₂ bei der Diagnosestellung stärker gewichtet und einzelne Probanden trotz leicht erniedrigter Sauerstoff-Werte in die Gruppe der gesunden Kontrolltiere eingeordnet.

3.4.2.2 Diskussion der Ergebnisse der Interpleuraldruckmessung

Die Tatsache, dass ein signifikanter Unterschied in der gemessenen maximalen interpleuralen Druckdifferenz zwischen gesunden und chronisch kranken Tieren festgestellt werden konnte, lässt darauf schließen, dass sich chronische Erkrankungsprozesse verstärkt auf die Lungenfunktion auswirken und steht im Konsens mit bisherigen wissenschaftlichen Erkenntnissen, wobei der Gewebeumbau im Zuge chronischer oder rezidivierender Entzündungen hier ebenso zu nennen ist wie die transiente Funktionseinschränkung durch beispielsweise Mukosaschwellung und Bronchospasmus (Setlakwe, Leclere et al. 2009). Dass sich beim paarweisen Einzelvergleich allerdings nur ein signifikanter Unterschied zwischen den gesunden Tieren und denen mit COB in Exazerbation ergab und nicht etwa auch zwischen gesunden und jenen in Remission oder mit interstitieller Pneumopathie, könnte darin begründet sein, dass die hier durchgeführte Lungenfunktionsmessung ein Verfahren mit relativ geringer Sensitivität darstellt (Pirie 2013). Um auch schon geringgradige Funktionsstörungen bei Tieren in Remission oder mit IAD aufzudecken, bedarf es empfindlicherer Verfahren wie der Kapnographie oder Impulsoszillometrie (Herholz, Gerber et al. 2003; Richard, Fortier et al. 2009). Zudem konnte beobachtet werden, dass keines der Tiere in Exazerbation die von Robinson (2001) genannte charakteristische $\Delta P_{pl,max}$ von ≥ 15 cmH₂O aufwies und der höchste gemessene Wert lediglich bei 11 cmH₂O lag. Auch dies spricht dafür, dass die hier verwendete Methode mit dem VentiGraph unter den genannten Bedingungen nicht sehr sensitiv und die Aufdeckung eventueller persistierender Lungenfunktionsstörungen bei Tieren in Remission dadurch erschwert war. Hinzu kommt, dass die Interpleuraldruckmessung nicht bei allen Probanden durchgeführt werden konnte,

was eine vergleichsweise geringe Fallzahl zur Folge hatte und mitunter eine Abschwächung möglicher Signifikanzen sowie der Aufdeckung von Extremwerten zur Folge gehabt haben könnte. Aber auch in der Arbeit von Dixon, Railton et al. (1995c), in der 270 an chronischer Bronchitis erkrankte Pferde untersucht wurden, konnten bei nur 48% der Tiere maximale interpleurale Druckdifferenzen von > 6 cm H₂O festgestellt werden, wobei sich davon auch die meisten nur knapp oberhalb dieses Wertes bewegten, was wiederum mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit im Einklang steht.

3.4.2.3 Diskussion der Ergebnisse der Belastungsuntersuchung

Ein Proband aus der Gruppe der gesunden Kontrolltiere wies eine geringgradig verzögerte Wiederberuhigungszeit auf. Dies wurde in diesem Fall jedoch vernachlässigt und führte nicht zum Ausschluss des Tieres aus dieser Gruppe, da das Pferd insgesamt sehr nervös war und aufgrund vieler Geräusche in der Umgebung über den gesamten Untersuchungszeitraum hinweg ein relativ hohes Maß an Aufregung zeigte und dabei vermehrtes, zum Teil hochfrequentes Schnauben eine repräsentative Auszählung der Atemfrequenz erschwerte bzw. diese dadurch fälschlicherweise über einen längeren Zeitraum erhöht war. Da dieser Patient weder Husten, vermehrtes Schwitzen noch andere Auffälligkeiten in der Belastung zeigte und auch ansonsten in der klinischen wie auch weiterführenden Untersuchung ohne besondere Befunde blieb, wurde die länger erhöhte Atemfrequenz auf eben genanntes Verhalten zurückgeführt.

Aus der Gruppe 4 („interstitielle Pneumopathie“) war bei 3 von 8 Probanden, bei denen die Belastungsuntersuchung durchgeführt wurde, die Wiederberuhigungszeit innerhalb der Norm, obwohl – wie bei allen Patienten dieser Gruppe – vorberichtlich eine Leistungseinschränkung vorlag. Alle drei Pferde (Nr. 3, 24 und 40) wurden bis zum Zeitpunkt der Untersuchungen noch regelmäßig geritten und befanden sich in einem Trainingszustand, für den das in dieser Studie verwendete Belastungsprotokoll wahrscheinlich zu minimal war, als dass sich die im Training auffälligen Leistungseinschränkungen hier widergespiegelt hätten.

In Bezug auf das gesamte Patientenkollektiv führte eine allgemeine Heterogenität im Trainingszustand der Probanden, die sich aus der unterschiedlichen Nutzung (Freizeit, Turnier, krankheitsbedingte Trainingspause) ergab, zudem insgesamt zu einer herabgesetzten Vergleichbarkeit dieser Untersuchung.

3.4.2.4 Diskussion der Ergebnisse der endoskopischen Untersuchung

Das in dieser Arbeit dokumentierte endoskopische Bild steht im Einklang mit den Beschreibungen aus der Literatur (Dixon, Railton et al. 1995c; Koblinger, Nicol et al. 2011). So finden sich die gravierendsten Befunde bei den Tieren mit „COB in Exazerbation“, während bei Pferden mit der Diagnose „IAD/COB in Remission“ und „interstitielle

Pneumopathie“ durchschnittlich geringere Befunde dokumentiert wurden und das endoskopische Bild dabei insgesamt größere Variationen aufwies.

Die bereits im Ergebnissteil aufgeführte Beobachtung in der endoskopischen Untersuchung bei dem Pferd Nr. 35 (sehr scharfe Carina trotz höchstgradiger klinischer sowie diagnostischer Befunde, lang andauernde Erkrankung und ein fortgeschrittenes Alter von 15 Jahren) deckt sich mit den Erkenntnissen von Koch, Straub et al. (2007), die herausstellten, dass die Beurteilung der Carinaschwellung wenig sensitiv ist und der Schweregrad der Erkrankung nicht zwangsläufig mit einer entsprechenden Verdickung dieser anatomischen Struktur einhergeht.

3.4.2.5 Diskussion der Ergebnisse der bronchoalveolären Lavage

Die bronchoalveoläre Lavage wurde mit der „blinden“ Methode durchgeführt. Dies wurde jedoch nicht als Nachteil erachtet, da sich das hier angewandte Verfahren nicht nur in Bezug auf die Durchführbarkeit, sondern auch bezüglich des Nutzens zur Diagnosestellung als ebenfalls sehr geeignet erwiesen hat (Wehrli, Feige et al. 2000). Auch war es für diese Studie unerheblich, aus welcher Lokalisation bzw. welchem Bronchus die entnommene BALF-Probe stammte, da es sich bei den zugrunde liegenden Erkrankungen um diffus auf das gesamte Lungengewebe verteilte Geschehen handelte und hierbei bewiesenermaßen die Flüssigkeit aus jedem beliebigen Bronchialsegment repräsentativ ist (Sweeney, Rossier et al. 1992; McGorum, Dixon et al. 1993f; Jean, Vrins et al. 2011). Damit ist auch die fehlende Kontrolle über die Lokalisation der Beprobung durch das „blinde“ Verfahren für die vorliegende Arbeit nicht als Nachteil anzusehen.

Grundsätzlich ist die Durchführung einer bronchoalveolären Lavage bei Patienten mit akuter/subakuter Pneumonie kontraindiziert, da die Gefahr besteht, pathogene Erreger in tiefere und noch nicht betroffene Lungenabschnitte zu spülen und der Körper zudem einer zusätzlichen Belastung ausgesetzt wird. In diesem Fall wurde diese Untersuchung allerdings trotzdem vorgenommen, da bei Vorstellung der Tiere noch kein Verdacht auf ein akutes Geschehen bestand, da sich weder Fieber, Mattigkeit noch sonstige Anzeichen für eine akute Infektion zeigten und die Symptome vorrangig denen einer chronischen Erkrankung glichen. Erst der zytologische Nachweis intrazellulärer Bakterien und der anschließend durchgeführte positive Mikrobiologie-Befund aus der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit erbrachten die Diagnose der akuten bis subakuten bakteriellen Infektion. Auch die geringe Gruppengröße ist so zu erklären.

Insgesamt konnte kein wesentlicher Unterschied in den durchschnittlichen Rückgewinnraten der Diagnosegruppen festgestellt werden und auch in der Gruppe der gesunden Kontrolltiere wurden Mengen an wiedergewonnener Flüssigkeit dokumentiert, die deutlich unter dem physiologisch zu erwartenden Minimum von 40% lagen (Robinson 2001). Diese erheblichen Variationen und Abweichungen von der Literatur lassen sich damit erklären, dass ein sicherer Sitz des BAL-Katheters nicht endoskopisch kontrolliert werden konnte und es somit

häufiger zum frühzeitigen Verlust des Unterdrucks durch beispielsweise Verlust der Bronchusblockade durch vermehrtes Husten der Probanden kam. In Bezug auf den diagnostischen Wert und die Befundinterpretation ist jedoch auch dies, ebenso wie die Zufälligkeit des beprobten Lungensegments, nicht als Nachteil anzusehen, da auch die Menge wiedergewonnener Lavageflüssigkeit bekanntermaßen ohne relevante Auswirkungen auf das zytologische Ergebnis bleibt (Pickles, Pirie et al. 2002a).

3.4.2.5.1 Diskussion der Ergebnisse der zytologischen Untersuchung

Die Ergebnisse der zytologischen Auswertung stimmen zwar mit den Angaben aus der Literatur überein (Robinson 2001; Robinson 2003; Couetil, Hoffman et al. 2007), jedoch ist anzumerken, dass es sich hierbei, insbesondere in Bezug auf die Zellprozentanteile der Makrophagen und neutrophilen Granulozyten, nicht um rein zufällige Daten handelte, da Teile des Zellbilds Definitionskriterien für bestimmte Diagnosestellungen darstellten (z.B. > 25% Neutrophile für den Einschluss in Gruppe 2).

In Bezug auf die Mastzellen fiel auf, dass sich auch in der gesunden Kontrollgruppe Prozentzahlen über dem Referenzwert von < 2% befanden (Robinson 2003). So lagen zweimal geringgradig erhöhte Werte von 2,2 und 2,6 % und einmal eine deutlich erhöhte Zahl von 8% vor. Diese Fälle wurden trotzdem in der Gruppe 1 belassen, da sich ansonsten keinerlei klinische oder anderweitig diagnostische Auffälligkeiten ergaben und auch in der Literatur Angaben über hohe Mastzellprozentanteile bei lungengesunden Tieren vorhanden sind. Dixon, Railton et al. (1995c) beispielsweise wiesen als Median 5,3% (0,7-13%) Mastzellen für ihre 30 Tiere zählende Kontrollgruppe aus. Die sehr umfassenden diagnostischen Verfahren, die dieser Fall-Kontroll-Studie zugrunde lagen, lassen zudem mit ziemlicher Sicherheit sagen, dass es sich hierbei tatsächlich um lungengesunde Tiere handelte.

3.4.2.6 Diskussion der Ergebnisse der röntgenologischen Untersuchung

Einhergehend damit, dass der Schweregrad des Röntgenbildes Einschlusskriterium für die Zuordnung zur Gruppe 4 „interstitielle Pneumopathie“ war, lag hier bei 100% der Fälle eine mittelgradig interstitielle Lungenzeichnung vor. Da der Röntgenbefund für diese Diagnosestellung essentiell war, wurden die Bilder zunächst immer unmittelbar ausgewertet. In die statistischen Berechnungen flossen schließlich jedoch nur die Ergebnisse aus der verblindeten Bildbeurteilung mit ein, wodurch diese durchaus als repräsentativ zu betrachten sind und weitergehende Interpretationen zulassen. Aus dem zum Teil signifikant unterschiedlichen Anteil an den verschiedenen Schweregraden bronchialer und interstitieller Lungenzeichnung in den einzelnen Diagnosegruppen zeigt sich, dass die Beurteilung von Röntgenbildern durchaus ergänzende Informationen über den Krankheitsstaus des Tieres liefern kann, was sich mit den Ergebnissen von Tilley, Sales Luis et al. (2012) deckt.

3.4.3 Diskussion der Ergebnisse des klinischen Scores

Für die Einteilung des Schweregrades der Erkrankung wurde in dieser Arbeit ein modifizierter Score nach Ohnesorge (Ohnesorge, Trötschel et al. 1998) angewandt, da dieser eine weitestgehend objektive und standardisierte Beurteilung ermöglicht und auch auf dem „International Workshop on Equine Chronic Airway Disease“ in 2000 (Robinson 2001) für die Ermittlung des sogenannten „heaves-phenotype“ genannt wurde. Allerdings ist dieser Score nur für die Schweregradeinteilung im Rahmen einer COB-Erkrankung gedacht und nicht für andere Lungenerkrankungen wie die interstitielle Pneumopathie validiert. Der überwiegende Teil der Kriterien aus diesem Score, für die es hohe Punktzahlen gibt, wie beispielsweise der Anteil an neutrophilen Granulozyten, massive endoskopische Befunde oder abnorme Atemgeräusche im Sinne von Rasseln, Knistern oder Giemen, spielen bei interstitiellen Pneumopathien eher eine untergeordnete bis gar keine Rolle. Für diese Erkrankung aussagekräftigere Kriterien wie Leistungsminderung und Grad der interstitiellen Lungenzeichnungen tauchen in dem Score hingegen gar nicht auf. Aus diesem Grund werden mit hoher Wahrscheinlichkeit auch schwerwiegende Formen dieser Erkrankung mit diesem Schema nicht erfasst, was auch die vorliegenden Ergebnisse dieser Studie erklärt. So wurde der überwiegende Anteil der Pferde mit diagnostizierter interstitieller Pneumopathie nach Ohnesorge als „gesund“ eingestuft, obwohl krankheitsspezifische klinische und diagnostische Befunde einen höheren Schweregrad vermuten ließen. Trotz dieser Tatsache wurde der Score per se zunächst bei allen Patienten angewandt, da er alle drei Untersuchungstage mit einschloss und zu Beginn nie bekannt war, um welche respiratorische Erkrankung es sich handelte. Zudem gibt es nach bisherigen Erkenntnissen kein vergleichbares validiertes System für die Schweregradeinteilung interstitieller Pneumopathien, auf das in der vorliegenden Arbeit hätte zurückgegriffen werden können.

3.5 Diskussion des Studiendesigns und der Ergebnisse der Inhalationstherapie

Die Ergebnisse, die sich auf die 10-tägige Budesonid Inhalation beziehen, sind aus den im Folgenden erläuterten Gründen als kritisch zu betrachten und daher nur unter besonderem Vorbehalt zu interpretieren.

Zunächst ist hier das Studiendesign zu nennen. Grundsätzlich gilt in der Humanmedizin ein doppelblind, randomisiert und (Placebo-)kontrolliert durchgeführtes Studiendesign (Kabisch, Ruckes et al. 2011) als Goldstandard für Therapiestudien mit Absicht auf Wirksamkeitsprüfung, was jedoch in der Pferdemedizin in dieser Vollständigkeit häufig schwer herbeizuführende Bedingungen sind (Holmes and Ramey 2007). In der vorliegenden Arbeit wurden die Therapiegruppen nur nach der Diagnose („COB in Exazerbation“ oder „IAD/COB in Remission“) eingeteilt. Therapiert wurden alle Tiere mit dem gleichen Therapeutikum und nach demselben Schema. Zwar diente die Datenerhebung in diesem Fall nicht vorrangig dazu, den ja bereits bewiesenen (Kampmann 2001) positiven Effekt des

III Diskussion

Budesonid-Inhalats auf die chronisch obstruktive Bronchitis zu ermitteln, sondern vorrangig, um herauszufinden, ob und inwieweit sich die analysierten Parameter in der BALF verändern, jedoch wäre auch für diese Fragestellung ein Vorgehen unter gerade genannten Bedingungen von Vorteil gewesen. Gerade im Zusammenhang mit der hier vorliegenden geringen Stichprobenanzahl hätte es einer Placebo-Gruppe bedurft, um sicher sagen zu können, dass beobachtete Veränderungen in den Parametern nicht rein zufällig, sondern medikamentös bedingt sind. Darüber hinaus fand die Therapie aller Patienten, unabhängig von den Konditionen im Heimatstall, unter staubarmen Haltungsbedingungen (nasses Heu, Späne) statt, um den Einfluss der Haltungsfaktoren gering zu halten. Dadurch lässt sich keine Aussage darüber treffen, ob die hier dokumentierten klinischen Verbesserungen primär durch das Glukokortikoid oder vor allem auch durch die Abwesenheit krankheitsauslösender Faktoren hervorgerufen wurden. Denn es ist bekannt, dass die Umweltbedingungen eine wesentliche Rolle in der Therapie der COB spielen und zusätzliche pharmakologische Maßnahmen, insbesondere in Bezug auf klinische Veränderungen, teils nur wenig oder zuweilen sogar keine zusätzlichen Verbesserungen bewirken (Jackson, Berney et al. 2000; Couetil, Chilcoat et al. 2005). Demnach wäre für die Fragestellung, welchen Einfluss ein inhalativ verabreichtes Glukokortikoid, in dem Fall Budesonid, auf die hier untersuchten Parameter in der BALF hat, die Hinzunahme einer Placebo-Gruppe oder zumindest einer Gruppe von Pferden, die bereits beim Besitzer zuverlässig staubarm gehalten wurde, nötig gewesen.

Ein weiterer Punkt für die Minderung der Qualität der wissenschaftlichen Aussagekraft in Bezug auf die Ergebnisse aus der Therapie-Studie stellen die schon angesprochenen relativ niedrigen Fallzahlen, insbesondere die der einzelnen Diagnosegruppen, dar. Zwar liegen vielen veröffentlichten Therapiestudien ebenso geringe oder gar niedrigere Fallzahlen zugrunde, was diesen Kritikpunkt jedoch keineswegs rechtfertigt bzw. relativiert. Ein großes Problem grundsätzlich und auch in der vorliegende Arbeit stellt hierbei jedoch die Rekrutierung von Probanden dar. So ist es sehr schwierig, die Zustimmung der Besitzer zu erhalten, ein erkranktes Pferd mit Indikation für ein therapeutisches Eingreifen über einen längeren Zeitraum lediglich mit einem Placebo-Präparat zu therapieren und eine Verbesserung der Erkrankung und damit auch des Wohlbefindens des einzelnen Tieres potentiell herauszuzögern. In dem hier vorliegenden Fall handelte es sich außerdem um einen relativ langen Therapie-Zeitraum von 10 Tagen, über den die Probanden in der Klinik bleiben mussten, um gleichwertige Rahmenbedingungen und vor allem auch eine regelmäßig und korrekt durchgeführte Inhalation zu gewährleisten. Diese Tatsache machte es zusätzlich schwierig, Patienten für dieses Studienprotokoll zu gewinnen.

Die geringen Fallzahlen mindern nicht nur die Wahrscheinlichkeit, deutliche Veränderungen aufzufinden, sondern schwächen natürlich auch grundsätzlich die Teststärke der statistischen Tests. Dies bietet eine Erklärung, warum signifikante Ergebnisse häufig ausblieben, obwohl zuweilen ein Trend zu erkennen war, der vermuten lässt, dass bei einer größeren Stichprobenzahl in einigen Fällen Signifikanzen zu sehen gewesen wären. Darüber hinaus belegen hochsignifikante Veränderungen im Schweregrad der Erkrankung und den

III Diskussion

endoskopischen Befunden sowie signifikante Verbesserungen der Gasaustauschfähigkeit der Lunge (ausgedrückt durch die Werte der arteriellen Blutgasanalyse) eine positive Wirkung der durchgeführten Therapie, wenngleich nicht sicher ist, ob diese primär auf die Wirkung des Budesonids zurück zu führen sind oder überwiegend durch die Haltungsoptimierung oder durch die Kombination von beidem verursacht wurden.

Speziell bei der vergleichenden Betrachtung des Anteils der neutrophilen Granulozyten an der Gesamtzellzahl vor und nach Therapie ist die eigentlich zu erwartende, hier jedoch fehlende, statistische Signifikanz zu klären. Während bei den Einzelanalysen in fast allen Fällen eine zum Teil sehr deutliche Minderung des Neutrophilen-Anteils nach erfolgter Therapie festgestellt werden konnte, gab es daneben drei Ausreißer, deren Extremwerte vor allem unter Berücksichtigung der geringen Fallzahl erheblichen Einfluss auf das statistische Ergebnis hatten. So zeigte sich, wie im Ergebnissteil bereits ausführlich beschrieben, bei drei Pferden in der Kontrolluntersuchung eine Erhöhung der neutrophilen Granulozyten an der Gesamtzellzahl, die bei einem Tier mit einer Steigerung um rund 42% sogar sehr deutlich ausfiel. Allerdings ging dies in allen drei Fällen nicht mit einer klinischen Verschlechterung einher. Zwei von den Patienten zeigten sogar eine Verbesserung der Symptome. Eine eindeutige Erklärung für diese beobachtete PMN-Erhöhung lässt sich nicht finden, jedoch ist bekannt, dass eine Verbesserung in der Lungenfunktion durch eine Glukokortikoidtherapie auch ohne eine Reduktion der neutrophilen Granulozyten erreicht werden kann (Couetil, Art et al. 2006). Darüber hinaus hatte sich bei allen diesen drei Probanden gezeigt, dass sich trotz fehlender signifikanter Veränderungen im Hinblick auf die einzelnen Zellprozentanteile das Zellbild dennoch verändert hatte. So waren bei genannten Fällen in den zytologischen Präparaten der Zweituntersuchung überwiegend sehr stark hypersegmentierte neutrophile Granulozyten sowie viele Kernpyknosen zu finden. Dieses Vorkommen massenhafter, überalterter Zellen ist ein einige Tage nach Beginn einer Glukokortikoidtherapie häufig zu beobachtender Zytologiebefund, da dieses Medikament unter anderem zu einer verzögerten Zellapoptose führt (Meagher, Cousin et al. 1996). Daneben lässt der gleichzeitig sehr geringe Anteil intakter Zellen darauf schließen, dass hier kein erneutes Aufflammen der Entzündung stattgefunden hatte.

Um jedoch bei den Fällen, die dieses Phänomen im Zellbild aufwiesen, eine verlässliche Aussage über den Therapieerfolg treffen zu können, wäre eine zweite, spätere Nachkontrolle bzw. grundsätzlich eine erste Kontrolle zu einem späteren Zeitpunkt sinnvoll gewesen.

Zusätzlich zu der zumindest in den meisten Fällen beobachteten Reduzierung der neutrophilen Granulozyten, die (unter besagtem Vorbehalt) als Ausdruck der positiven Effektwirkung des Kortikosteroids auf die Entzündungsmechanismen in der Lunge angesehen werden kann, kam es auch zu einer sogar signifikanten ($p=0,016$) Veränderung in der Zahl der Mastzellen. Dabei verringerte sich deren Anteil an der Gesamtzellzahl bei fast allen Patienten im Zuge der Budesonid-Therapie, was mit Beobachtungen aus der Humanmedizin im Rahmen der Asthma-Therapie im Einklang steht (Takeyama, Kondo et al. 2014).

III Diskussion

Bei der Auswertung der Konzentrationen der in der bronchoalveolären Lavage bestimmten Parameter SAA, Fibrinogen und D-Dimere ließen sich keine signifikanten Unterschiede im Vergleich vor und nach Therapie feststellen. Dabei ist auch an dieser Stelle die Problematik der geringen Fallzahl zu nennen, die es erschwerte, geringe Veränderungen statistisch zu erfassen. So zeigen sich beispielsweise grafisch wie auch zahlenmäßig Tendenzen zu einer Abnahme der Fibrinogenkonzentration nach erfolgter Therapie, die bei einer größeren Stichprobenzahl eventuell signifikant gewesen wären. Insbesondere in der Gruppe der Pferde mit „IAD/COB in Remission“ wird dies deutlich. Anhand der grafischen Darstellung im Boxplot (Abb. 30, S. 133) ist hier zu erkennen, dass sich die Spannweite in der Kontrolluntersuchung insgesamt verkleinert und deutlich nach unten verschoben hat und der Median zudem außerhalb des Interquartilbereichs der Erstuntersuchung lag, was in der Regel einen Hinweis auf statistische Signifikanz bedeutet. Damit ist zwar die Wahrscheinlichkeit, dass die hier durchgeführte Therapie zu einer Abnahme der Fibrinogenkonzentration in der BALF führt, gegeben, die Aussagekraft dieser Hypothese jedoch trotzdem fraglich, da aufgrund der niedrigen Fallzahl die Zufälligkeit der Beobachtung nicht sicher ausgeschlossen werden kann. Die Tatsache, dass sich über alle Messungen der gesamten Studie hinweg (sprich auch bei den nicht der Therapie-Gruppe angehörigen Probanden) zum Teil große Spannweiten in der Fibrinogenkonzentration zeigten, verstärkt die Annahme eines Zufallsbefundes. Andererseits ist bekannt, dass eine Glukokortikoidtherapie direkt oder indirekt zu einer Minderung der Plasmaexsudation in das Atemwegslumen führt (van der Velden 1998), was wiederum dafür sprechen würde, dass die hier beobachteten Konzentrationsminderungen als reell anzusehen sind, da so nur noch geringere Mengen des Moleküls in den Alveolarraum gelangen können (s. hierzu auch K. III, Abschnitt 3.6.3 „Diskussion der Ergebnisse der Bestimmung von Fibrinogen“).

Ebenso wie für das Fibrinogen ist auch für die D-Dimere eine Tendenz hin zur Konzentrationsminderung in Antwort auf die Glukokortikoidtherapie sichtbar. So kam es immerhin bei der Hälfte der Tiere zu einer Reduzierung der D-Dimer Menge in der BALF und der Median verschob sich insgesamt von 0,08 mg/l auf 0,06 mg/l, was auch hier die Vermutung nahe legt, dass größere Fallzahlen eventuell signifikante Ergebnisse herbeigeführt hätten. Die Beobachtungen aus der Studie von Brims, Chauhan et al. (2009) würden eine mögliche Erklärung für die D-Dimer Reduktion liefern. So stellten sie in ihrer Arbeit eine herabgesetzte pulmonale Fibrinolyse durch inhalative Glukokortikoidtherapie bei Asthmatikern heraus, die im Zusammenhang mit PAI-1 Erhöhungen stand. Dass dieses Phänomen auch auf die Patienten mit „COB in Exazerbation“ zutrifft, bleibt jedoch rein hypothetisch und müsste in jedem Fall weiter untersucht werden.

Bei der Betrachtung der Veränderungen in den Serum-Amyloid-A-Konzentrationen im Rahmen der Therapie lassen sich so gut wie keine Tendenzen ausmachen. Zwar scheint es grafisch so, als würde es eher zu einer Erhöhung kommen, allerdings erweist sich dies bei genauer Betrachtung als mehr oder weniger hinfällig. So findet ein Anstieg der SAA-Konzentration tatsächlich nur bei insgesamt 4 von 12 Probanden (3 von 8 aus Gruppe 2 und 1 von 4 aus Gruppe 3) und damit bei deutlich weniger als der Hälfte der Tiere statt. Daraus

lassen sich eigentlich keine Vermutungen aufstellen, ob diese individuellen Erhöhungen in einem kausalen Zusammenhang mit der therapeutischen Intervention stehen, oder ob es sich hierbei um reine Zufallsbefunde handelt. Für letzteres spricht die Tatsache, dass sich die vier gemessenen SAA-Konzentrationen nach Therapie immer noch in dem Wertebereich bewegen, der auch für das gesamte Patientenkollektiv dieser Studie ermittelt wurde und überdies auch bei gesunden Kontrolltieren auftrat. Da es sich bei SAA, um ein sehr schnell reagierendes Akute-Phase-Protein mit einer relativ geringen Halbwertszeit handelt (Jacobsen and Andersen 2007), würde man signifikante Konzentrationsveränderungen hierbei ohnehin vor allem bei sehr akut exazerbierten Probanden erwarten. Hingegen sind messbare Veränderungen bei subklinisch und chronisch kranken Tieren sowie Patienten, die sich schon über einen längeren Zeitraum im Stadium der Exazerbation befinden eher unwahrscheinlich und demnach auch eine messbare Veränderung der Konzentration im Rahmen einer Therapie bei solchen Fällen fraglich.

Abschließend bleibt zu sagen, dass die hier aufgezeigten Ergebnisse aus der Therapie-Studie aus genannten Gründen nur mit Einschränkungen zu beurteilen sind und es weiterführender Studie mit höheren Fallzahlen und dem Einschluss einer Placebo-Gruppe bedarf, um die aufgezeigten Tendenzen zu überprüfen.

3.6 Diskussion der Ergebnisse der Laboranalysen

3.6.1 Auswahl der Parameter zur Charakterisierung der Fibrinolyse

Die vorliegende Arbeit wurde vor dem Hintergrund angefertigt, die fibrinolytische Aktivität in bronchoalveolärer Lavageflüssigkeit zu charakterisieren. Spezifische Komponenten des fibrinolytischen Systems sind auf Seiten der Aktivierung t-PA und u-PA und auf Seiten der Hemmung unter anderem die verschiedenen Plasminogeninhibitoren (1 und 2) und das α_2 -Antiplasmin sowie die aus der Fibrinolyse hervorgehenden Abbauprodukte – die D-Dimere (s. hierzu auch Kapitel II, Abschnitt 2 „Das Hämostasesystem“). Um eine konkrete Aussage treffen zu können, ob eine Aktivierung oder Hemmung des Systems vorliegt, bedarf es der Zusammennahme mehrerer dieser Faktoren. So würde beispielsweise ein Nachweis erhöhter D-Dimer Konzentrationen bei alleiniger Bestimmung dieser zunächst eine erhöhte fibrinolytische Aktivität vermuten lassen. Jedoch wäre es in diesem Fall auch denkbar, dass als Folge einer massiv erhöhten Gerinnung und damit einer massiven Fibrinbildung der Fibrinumsatz zwar insgesamt gesteigert, die fibrinolytische Aktivität jedoch trotzdem gehemmt ist und im Verhältnis zur bestehenden Hyperkoagulation zu gering ausfällt (Günther, Mosavi et al. 2000a). Demzufolge ist es also nur möglich, eine definitive Aussage über die tatsächliche Hemmung oder Aktivierung der Fibrinolyse zu treffen, wenn man die spezifischen Regulatoren des fibrinolytischen Systems mit in die Analysen einschließt. Aus diesem Grund sollten in der vorliegenden Arbeit ursprünglich neben den D-Dimeren auch u-PA und PAI-1 mit zur Charakterisierung der fibrinolytischen Aktivität herangezogen werden. Die Auswahl von Urokinase statt t-PA als Aktivator und PAI-1 statt beispielsweise PAI-2 oder

alpha-2-Antiplasmin als Inhibitor geschah dabei in Anlehnung an humanmedizinische Erkenntnisse. So wurde hier, wie in Kapitel II, Abschnitt 3 bereits näher dargelegt, durch zahlreiche Studien gezeigt, dass die Fibrinolyse in der Lunge vor allem durch u-PA und PAI-1 gesteuert wird und eine Verschiebung in der Aktivität dieser Faktoren maßgeblich an pathologischen Veränderungen bei verschiedenen respiratorischen Erkrankungen beteiligt ist (Idell 2003; Cho, Ryu et al. 2004; Shetty, Padijnayayveetil et al. 2008). Da bereits für die Regulation der Gerinnung gezeigt werden konnte, dass diese bei Mensch und Pferd auch in der Lunge auf den gleichen Mechanismen beruht – nämlich der TF-FVII-Aktivierung (Chapman, Stahl et al. 1988; Grünig, Hermann et al. 1988) – war es als sehr wahrscheinlich anzusehen, dass dies auch für die Fibrinolyse der Fall ist. Diese Annahme wurde darüber hinaus auch noch dadurch unterstützt, dass für das vaskulären System bereits bekannt ist, dass nicht nur der Ablauf der Gerinnung, sondern auch der der Fibrinolyse unter den Säugetierspezies inklusive dem Menschen im Wesentlichen übereinstimmt und die gleichen regulatorischen Faktoren wirken (Meyers, Menard et al. 1987; Collatos, Barton et al. 1994).

3.6.2 Auswahl der laboranalytischen Nachweisverfahren

Während man aus oben angeführten Gründen bei dem grundsätzlichen Mechanismus der Fibrinolyse und den beteiligten Komponenten mit hoher Wahrscheinlichkeit von einer Übereinstimmung zwischen Mensch und Pferd ausgehen konnte, war es bezüglich der spezifischen pathologischen Veränderungen der Faktoren und den zu erwartenden Konzentrationen schwieriger, entsprechende Vorhersagen zu treffen. Denn neben den vielen Übereinstimmungen, was die grundsätzlichen Veränderungen der Faktoraktivitäten bei verschiedensten Erkrankungen wie beispielsweise bei Endotoxämie (Collatos, Barton et al. 1994) oder bei septischer Arthritis (Ribera, Monreal et al. 2011) betrifft, wurden zum Teil auch Unterschiede zwischen Mensch und Pferd festgestellt, die dabei überwiegend in den gemessenen absoluten Werten lagen. So wiesen Mensch und Pferd bei verschiedenen Arthropathien zwar übereinstimmend erhöhte D-Dimer Konzentrationen in der Synovia auf, jedoch war beim Pferd in bestimmten Fällen die Menge der D-Dimere im Gelenk verglichen mit der im Plasma um ein Vielfaches größer als beim Menschen (Ribera, Monreal et al. 2013). Auch scheint beispielsweise die Basalkonzentration von D-Dimeren im Plasma beim Pferd über der des Menschen zu liegen (Stokol, Erb et al. 2005), was ebenfalls Hinweise darauf gibt, dass speziesspezifische Faktorkonzentrationen bestehen. Und da in der BALF beim Pferd nach aktuellem Kenntnisstand eine Bestimmung genannter Parameter noch nicht stattgefunden hatte, lagen für die vorliegende Studie keine spezifischen Anhaltspunkte für zu erwartende Konzentrationen vor.

Zusätzlich zu dieser Unsicherheit bestand bei der Auswahl der zu verwendenden Tests die Problematik, dass es – außer für SAA und Fibrinogen – zum Zeitpunkt unserer Analysen keine validierten oder wiederholt verlässlich geprüften und auf dem Markt verfügbaren Assays für die Bestimmung der verschiedenen Faktoren beim Pferd gab.

III Diskussion

Unter all diesen Gesichtspunkten wurden der Auswahl geeigneter Messmethoden für die einzelnen Parameter folgende Fragen zugrunde gelegt:

- 1) Gibt es für die einzelnen Parameter bereits beim Pferd angewandte eventuell sogar schon validierte Tests?
- 2) Sind die in Erwägung gezogenen Tests kompatibel mit der speziellen Probenmatrix?
- 3) Welche Konzentrationen der einzelnen Faktoren sind in der BALF zu erwarten und welche testspezifische Nachweisgrenze ist für die Wiederfindung der einzelnen Faktoren nötig?

Aufgrund der Tatsache, dass aus oben genanntem Grund wenig bis gar keine Aussagen über zu erwartende Konzentrationen in der BALF der Probanden getroffen werden konnten, sollte grundsätzlich dem Analyseverfahren mit der größten Sensitivität der Vorzug gewährt werden, wodurch ein Nachweis mittels ELISA immer an erster Stelle der Überlegungen stand. Da allerdings gleichzeitig die Funktionalität der Tests für die Spezies Pferd von großer Bedeutung für die letztendliche Aussagekraft der Ergebnisse ist, wurde im Zweifel dennoch zugunsten eines weniger sensitiven, dafür jedoch für das Pferd validierten oder zumindest häufig angewandten Testsystems entschieden.

Für SAA und Fibrinogen gestaltete sich die Wahl relativ einfach, da beide Parameter in der Routinediagnostik beim Pferd eingesetzt werden und etablierte, von spezifischen Laboren regelmäßig angewandte Tests vorhanden sind. So konnte für die Bestimmung von SAA mit dem ELISA „Phase“™ Serum Amyloid A Assay (SAA) – Multispecies von Tridelta Development Ltd. auf einen validierten und häufig eingesetzten Test mit hoher Sensitivität zurückgegriffen werden (Pollock, Prendergast et al. 2005; Lavoie-Lamoureux, Leclere et al. 2012).

Auch die Fibrinogenbestimmung wurde in einem externen Labor durchgeführt, da eine Messung im hauseigenen Labor durch koagulometrisch-mechanische Erfassung nach Clauss mithilfe der Häkchenmethode ohne Erfolg blieb. Grund hierfür könnte die mit einer Nachweisgrenze von 0,9 g/l zu geringe Sensitivität dieser Methode sein. Die Messung in dem Referenzlabor erfolgte hingegen auf einem automatischen Analysegerät, was die Fibrinbildung photometrisch erfasst und somit den Nachweis geringerer Mengen möglich macht. Die mit dieser Methode erhaltenen sehr niedrigen Fibrinogenkonzentrationen mit einem Höchstwert von lediglich 0,0195 g/l (s. Tab. 10, S. 111) unterstützen die These, dass ein klassisches Häkchenkoagulometer keine ausreichende Sensitivität für den Nachweis des Moleküls in der BALF besitzt.

Für die Analyse der D-Dimere fiel die Wahl aus verschiedenen Gründen auf den Innovance® D-Dimer der Firma Siemens Healthcare Diagnostics GmbH. Auf die Bestimmung mittels des bevorzugten ELISA-Verfahrens wurde hier verzichtet, da der einzige in der Literatur beim Pferd bereits verwendete ELISA (Monreal, Angles et al. 1995; Weiss, Monreal et al. 1996; Monreal, Angles et al. 2000) zum Zeitpunkt der Analysen nicht mehr auf dem Markt war und sich der einzige mit equinen Antikörpern versehene aktuell angebotene Assay (ELISA D2D,

III Diskussion

Usco Life Science Inc./Cloud-Clone Corp.) nach eigener Testung als nicht funktionstüchtig und qualitativ unzureichend herausstellte. Hier konnten weder Nachweise in den Proben erbracht werden, noch lieferte der vom Hersteller bereitgestellte Standard ein zufriedenstellendes Ergebnis. Da in der aktuellen Literatur ausschließlich quantitative Bestimmungsmethoden wie Latexagglutinationstests und immunturbidimetrische Tests mit Latexpartikelverstärkung angewandt werden, wurde von einer Messung mittels nicht-validiertem humanen ELISA abgesehen und auf ein Verfahren zurückgegriffen, das sich in der Pferdemedizin bereits als funktionstüchtig erwiesen hat. Der hier am häufigsten eingesetzte Test – der quantitative immunturbidimetrische Latexagglutinations Test „Miniquant®“ (Armengou, Monreal et al. 2008; Cesarini, Monreal et al. 2010; Ribera, Monreal et al. 2013) – und auch sein semiquantitatives Pendant „Minutex®“ (Goehring, Soboll Hussey et al. 2013) wurden inzwischen jedoch vom Markt genommen und standen daher zum Zeitpunkt der Analysen ebenfalls nicht mehr zur Verfügung. Als Alternative hierzu wurde dann schließlich der genannte „Innovance® D-Dimer“ gewählt, da dieser nicht nur auf dem gleichen Nachweisverfahren wie der Miniquant® basiert (immunturbidimetrisch mit Latexpartikelverstärkung), sondern darüber hinaus auch den bereits beim Miniquant® und auch Minutex® eingesetzten monoklonalen Antikörper „8D3“ verwendet, wodurch eine vergleichbare Kreuzreaktivität und damit Funktionalität des Innovance® D-Dimer für equine Proben als wahrscheinlich erachtet wurde. Ein weiteres Argument für die Verwendung dieses Assays war die, im Vergleich zu einigen anderen kommerziell erhältlichen quantitativen Tests, noch verhältnismäßig geringe Nachweisgrenze.

Die Wahl eines geeigneten Analysesystems für die Bestimmung von PAI-1 gestaltete sich als relativ schwierig, da dieser spezifische Faktor im Gegensatz zu den D-Dimeren bisher selten zur Charakterisierung der Fibrinolyse herangezogen wurde, was vor allem in dem Fehlen geeigneter Nachweisverfahren begründet ist (Collatos, Barton et al. 1994). Wie bei allen anderen Parametern wäre auch hier ein ELISA die bevorzugte Messmethode gewesen, musste jedoch am Ende aus den im Folgenden genannten Gründen verworfen werden. Der einzige in der veterinärmedizinischen Literatur verwendete ELISA (Delgado, Monreal et al. 2009a) war zwar noch auf dem Markt erhältlich, allerdings bestanden Zweifel an einer verlässlichen Kreuzreaktivität, da mit diesem funktionellen humanspezifischen Test (Active human PAI-1 activity assay, Molecular Innovations) bei nur 23,1% der gesunden und 34,3% der kranken Tiere eine PAI-1 Aktivität in der hier untersuchten Peritonealflüssigkeit nachgewiesen werden konnte. Zunächst blieb noch die Frage offen, ob nicht das Untersuchungsmedium mit dem fehlenden Nachweis zusammenhing, da auch mit einem anderen Test in Peritonealflüssigkeit ebenfalls nur bei etwa 35% gesunder Tiere ein PAI-1-Nachweis gelang, während hier im Plasma eine Wiederfindung von 100% vorlag (Collatos, Barton et al. 1994; Collatos, Barton et al. 1995a). Bei Delgado, Monreal et al. (2009a) fehlten jedoch entsprechende Vergleichsmessungen im Plasma, um hierüber eine konkrete Aussage treffen zu können. Trotz dieser möglichen Erklärung für den unzureichenden PAI-1-Nachweis wurde schließlich von vornherein von einem Gebrauch des Assays abgesehen. So lieferten von der Vertreiberfirma (Tech Support Stago BNL) durchgeführte Untersuchungen

III Diskussion

keine aussagekräftigen Ergebnisse, die eine Verwendung gerechtfertigt hätten. Dabei konnte weder eine Kreuzreaktivität von Pferdeplasma mit dem verwendeten humanen ELISA bestätigt werden, noch war es möglich, den entsprechenden Test adäquat mit Ratten-Antikörpern zu modifizieren (Persönliche Mitteilung, Jean-Marie Mouveroux, April 2013). Wie schon für die D-Dimere wurde dann auch für den PAI-1 Nachweis zunächst auf den einzigen aktuell verfügbaren pferdespezifischen ELISA (Horse Plasminogen activator inhibitor 1 (SERPINE1) ELISA Kit, Cusabio Biotech Co., Ltd.) zurückgegriffen. Aber auch in diesem Fall stellte sich eine unzureichende Qualität des Testsystems heraus, die eine Verwendung trotz der Spezifität nicht rechtfertigte. So gab es zahlreiche technische Probleme bei der Durchführung, wie beispielsweise eine sehr starke Adhäsivität einzelner Reagenzien, was sich unter anderem in stark voneinander abweichenden Doppelwerten in den Proben wie auch in den Werten des vom Hersteller mitgelieferten Standards widerspiegelte. Letzterer zeigte zudem einen Verlauf der optischen Dichte, der eine adäquate Auswertung der Ergebnisse schwierig gemacht hätte.

Da gerade für diesen – die Fibrinolyse im Wesentlichen beeinflussenden und in der Humanmedizin mit diversen pathogenetischen Vorgängen bei respiratorischen Erkrankungen verknüpften – Parameter ein quantitativer Nachweis mittels ELISA besonders wünschenswert gewesen wäre, wurden noch zwei weitere Assays getestet. Aber auch hier blieb der Nachweis beide Male ohne Erfolg. Dabei zeigten sich bei dem speziesspezifischen ELISA der Firma Genorise Scientific, Inc. (Nori® Equine Serpin E1/PAI-1 ELISA Kit) ebenfalls technische Schwierigkeiten. So blieb hier bei der ersten Durchführung, bei den Proben und auch beim Standard, ein Farbumschlag vollständig aus. Die anschließend vorgenommene Prüfung entscheidender testspezifischer Reagenzien ließ vermuten, dass das Problem an einer zu hohen Verdünnung des sogenannten „Detection Antibody“ liegen könnte. Nach Übermittlung entsprechender Ergebnisse an den Hersteller, wurde uns ein Test-Kit bereitgestellt, bei dem die Verdünnungsstufe des Reagenz heruntermgesetzt war. Diese technische Modifikation erbrachte allerdings nur eine minimale Änderung in dem Testresultat. So zeigte sich diesmal immerhin bei dem höchsten Standard und vereinzelt auch bei Proben ein Farbumschlag. Dieser war jedoch so gering das die optische Dichte lediglich im untersten Messbereich lag und keine Auswertung zuließ.

Bei dem humanen Test (Quantikine® ELISA, Human Serpin E1/PAI-1, R&D Systems®, Inc.) geschah die Durchführung des ELISAs diesmal zwar ohne technische Schwierigkeiten und der Standard des Herstellers zeigte gute Ergebnisse, was auf eine ausreichende Testqualität schließen ließ, allerdings konnte weder in den BALF-Proben noch in zusätzlich hinzugefügten Plasmaproben von gesunden Pferden und Pferden mit Kolik eine PAI-1 Konzentration gemessen werden. Mit der Hinzunahme der Plasmaproben wurde weitestgehend ausgeschlossen, dass die Wiederfindungsschwierigkeiten durch fehlende PAI-1 Mengen in der BALF zustande kamen, da im Plasma bei gesunden wie kranken Tieren in jedem Fall Konzentrationen nachweisbar sein sollten (Collatos, Barton et al. 1994). Dadurch lag die Vermutung nahe, dass der in diesem Test verwendete Antikörper keinerlei Kreuzreaktivität mit dem equinen Antigen aufweist. Da die Übereinstimmung in den

III Diskussion

Aminosäuresequenzen des PAI-1 Moleküls zwischen Mensch und Pferd nur bei 86% liegt und auch mit anderen Spezies die Homologie 88% nicht übersteigt (uniprot.org) und somit – wie gesehen – eine relativ große Unsicherheit bezüglich der Antikörper-Antigen-Bindung besteht, wurde schließlich von der Testung weiterer ELISA-Systeme abgesehen.

Auf Messungen des ursprünglich ebenfalls angesetzten Parameters u-PA wurde am Ende gänzlich verzichtet, da über diesen Faktor keinerlei Angaben in der Pferdemedizin vorliegen und ähnliche Probleme wie mit der PAI-1 Bestimmung zu erwarten waren.

Die genannten Schwierigkeiten bei der Wahl eines geeigneten Tests zur Bestimmung spezifischer Regulatoren der Fibrinolyse zeigen, dass es für weitere eingehende Studien bezüglich der Charakterisierung der fibrinolytischen Aktivität in bronchoalveolärer Lavageflüssigkeit, aber auch in anderen Organsystemen beim Pferd zunächst der Findung und Validierung oder gar der Entwicklung geeigneter Nachweisverfahren bedarf.

3.6.3 Diskussion der Ergebnisse der Bestimmung von Fibrinogen

Grundsätzlich bieten die vorliegenden Ergebnisse der Fibrinogenbestimmung in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit weiterführende bzw. ergänzende Erkenntnisse zu bereits bestehenden Forschungsergebnissen. So wurden dieses Molekül und seine Derivate beim chronisch lungenkranken Pferd bereits im Tracheobronchialsekret sowie histologisch im Lungengewebe nachgewiesen (Van den Ingh 1985; Winder, Grünig et al. 1990). Mit dieser Arbeit konnte nun gezeigt werden, dass ein Nachweis auch in bronchoalveolärer Lavageflüssigkeit möglich ist und darüber hinaus die Befunde tendenziell mit bisher gemachten Beobachtungen zu dem Verhalten dieses Moleküls bei chronischer Bronchitis übereinstimmen, worauf im Folgenden näher eingegangen wird.

Die erhöhte Nachweisbarkeit des Fibrinogenmoleküls in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit bei chronisch lungenkranken im Gegensatz zu lungengesunden Pferden (84% gegenüber 60% Nachweisbarkeit), die sich im Einzelvergleich „Gesund“ gegen „COB in Exazerbation“ sogar als signifikant ($p=0,03$) erwies, gibt Hinweise auf im Zuge der hier vorliegenden Erkrankungen auftretenden Permeabilitätsveränderungen von Kapillarendothel und Alveolarepithel in der Alveolarregion, die mit einer Plasmaexsudation und damit einem Übertritt von verschiedenen Proteinen aus dem vaskulären System in die Lungenbläschen einhergehen. In der Literatur sind einheitliche Angaben beim Mensch wie auch beim Pferd vorhanden, die dieses Phänomen beschreiben bzw. gleiche Rückschlüsse aus beispielsweise histologischen Fibrinogennachweisen im Lungeninterstitium und Bronchiolarlumina ziehen (Van den Ingh 1985; Winder, Grünig et al. 1990; Goldie and Pedersen 1995; Günther, Mosavi et al. 2000a; Wygrecka, Jablonska et al. 2008; Brims, Chauhan et al. 2010). Die daher aufgestellte These, dass das in dieser Arbeit vorgefundene erhöhte Fibrinogenvorkommen ebenfalls durch pathologisch erhöhte Durchlässigkeit der Lungengefäße stammt, wird zudem dadurch unterstützt, dass bei Patienten im akuten Exazerbationsstadium sowie bei denen mit akuter/subakuter Pneumonie, also bei

III Diskussion

Krankheitsstadien in denen besonders mit verstärkten Permeabilitätsveränderungen zu rechnen ist, die Fibrinogennachweisbarkeit mit jeweils 94% und 100% am größten war, wengleich natürlich für letztere Erkrankungsgruppe zu bedenken ist, dass die drei Tiere keine repräsentative Stichprobenanzahl darstellen. Dennoch fiel auf, dass das Fibrinogen in dieser Gruppe nicht nur konstant nachweisbar war, sondern zudem einheitlich Konzentrationen im oberen Bereich gemessen wurden, was dafür spricht, dass es sich hier nicht nur um einen Zufallsbefund handelte, sondern das Fibrinogenvorkommen in einem kausalen Zusammenhang mit dem Pathomechanismus der akut entzündlichen Erkrankung steht. Dafür spricht auch, dass entsprechendes für die akute Pneumonie beim Menschen bereits belegt wurde (Günther, Mosavi et al. 2000a). Das Patientenkollektiv der interstitiellen Lungenerkrankungen wies zwar eine ähnliche Nachweisbarkeit (73%) von Fibrinogen wie Gruppe 3 auf, jedoch zeigte sich hier der von allen Erkrankungsgruppen niedrigste Median (0,0036 g/l) und eine deutlich geringere Spannweite. Eine mögliche Erklärung für diese Beobachtung könnte die Tatsache sein, dass bei den interstitiellen Pneumopathien die akut entzündlich exsudative Phase bereits abgeschlossen ist und das Symptombild vor allem Resultat chronisch manifestierter Umbauten (Fibrosierungen) im Lungengewebe darstellt. Diese Aussage bleibt jedoch zu überprüfen, vor allem auch, weil die genaue Erkrankungsdauer der Patienten zum Teil nur schwer zu ermitteln war und nicht sicher zu sagen ist, welche Stadien der interstitiellen Pneumopathie vorlagen. Im besten Fall hätte man hierfür histologische Schnitte hinzuziehen müssen.

Neben der Extravasation des Fibrinogens durch Permeabilitätsveränderungen könnte auch eine lokale Produktion durch Lungenepithelzellen, namentlich den Pneumozyten Typ II, zu einem vermehrten Fibrinogenvorkommen bei insbesondere akut erkrankten Tieren geführt haben. Wie Haidaris (1997) herausfanden, wird diese extrahepatische Synthese unter anderem durch einen entzündungsmediator-vermittelten Stimulus hervorgerufen. Und gerade während eines akuten Exazerbationsschubs liegt ein stark entzündlicher Prozess mit vermehrter Ausschüttung proinflammatorischer Faktoren vor, was zu solch einer zellvermittelten-Expression führen könnte.

Die, wengleich auch eher schwache ($r_s=0,377$), positive Korrelation der Fibrinogenkonzentration mit dem Anteil an neutrophilen Granulozyten in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit gibt Hinweise auf eine Beteiligung dieses Moleküls an pathologischen Prozessen vor allem im Rahmen der COB-Erkrankung, da die PMN hier eine zentrale Schlüsselposition einnehmen und eine Erhöhung derselben Ursache wie auch Folge verschiedener Entzündungsmechanismen ist (Franchini, Gilli et al. 1998; Joubert, Cordeau et al. 2011). Auch Winder, Grünig et al. (1990) konnten bereits feststellen, dass Sekrete aus dem Respirationstrakt mit hohem Neutrophilen-Anteil signifikant mehr lösliche Fibrinogenderivate aufwiesen, was mit den hiesigen Beobachtungen übereinstimmt. Weitere Erkenntnisse aus der Literatur bieten zudem Anhaltspunkte für eine denkbare Theorie, inwiefern ein direkter kausaler Zusammenhang zwischen dem Fibrinogen und den neutrophilen Granulozyten bestehen könnte. So ist bekannt, dass das Fibrinogenmolekül durch Bindung an mononukleäre Phagozyten zu einer Aktivierung von

III Diskussion

Transkriptionsfaktoren, unter anderem von NF- κ B führt (Sitrin, Pan et al. 1998). Der NF- κ B ist erwiesenermaßen bei der chronisch obstruktiven Bronchitis des Pferdes um ein Vielfaches erhöht und geht mit einer vermehrten ICAM-1 Expression auf alveolären Epithelzellen einher, was wiederum entscheidenden Einfluss auf die Leukozytenadhäsion im Rahmen der Leukodiapedese hat (Bureau, Bonizzi et al. 2000). Hieraus ließe sich nun der Rückschluss ziehen, dass erhöhte Fibrinogenkonzentrationen im Lungengewebe bzw. den Lumina im akut entzündlichen Stadium der COB (sei es durch Extravasation oder vermehrte lokale Expression) zu erhöhter NF- κ B-Aktivität mit folgender gesteigerter ICAM-1-Expression und daraus resultierender verstärkter Leukodiapedese führen, was dann wiederum einen Anstieg an neutrophilen Granulozyten in den Lumina des Respirationstraktes begünstigt oder potenziert. Winder, Grünig et al. (1990) fanden außerdem bei immunhistologischen Untersuchungen bei Pferden mit chronischen Erkrankungen der kleinen Atemwege Makrophagen in der Lunge vor, die sich Fibrinogen/Fibrin-positiv färbten und zudem bei schwer erkrankten Tieren häufiger auftraten, was die gerade beschriebene These zusätzlich unterstützt, da damit die Bindung von Fibrinogen an mononukleäre Phagozyten (hier Alveolarmakrophagen) in jedem Fall bewiesen ist. Interessanterweise stellten Grünig, Witschi et al. (1991b) bei Ihren Forschungen zur pulmonalen Migration von neutrophilen Granulozyten bei Pferden mit chronischer Bronchitis eine deutlich positive Korrelation ($r_s=0,468$, $p<0,002$) zwischen migrierten Neutrophilen und ermittelter prokoagulatorischer Aktivität in unter anderem bronchoalveolärer Lavageflüssigkeit fest, konnten sich diesen Zusammenhang jedoch nicht erklären (Grünig, Witschi et al. 1991b). Wenn man nun davon ausgehen würde, dass der eben genannte Mechanismus so stattfindet und dass bei erhöhten Mengen an Fibrinogen, dem Grundbaustein des Fibrins, auch eine verstärkte Gerinnung stattfindet und im Zuge dessen die prokoagulatorische Aktivität im alveolären Milieu gesteigert ist, hätte man eine Verbindung aller Beobachtungen hergestellt. Demnach wäre die von Grünig, Witschi et al. (1991b) gefundene Korrelation nur Ausdruck einer erhöhten Fibrinogenkonzentration, die eine Migration von neutrophilen Granulozyten durch indirekte Stimulierung der Leukodiapedese ebenso wie eine verstärkte PCA bewirkt. Diese Zusammenhänge bleiben jedoch rein theoretische Überlegungen und müssten in weiterführenden Studien genauer untersucht werden. Grundsätzlich sollte auch schon der in dieser Studie vorgefundene Zusammenhang zwischen der Fibrinogenkonzentration und dem Gehalt an neutrophilen Granulozyten auf Kausalität überprüft werden. Denn es bestünde hier ebenfalls die Möglichkeit, dass die beiden Faktoren in keiner direkten Abhängigkeit zueinander stehen und die parallele Erhöhung bei beiden zwar zum Beispiel mit dem Grad der Entzündung bzw. dem Vorliegen einer Erkrankung an sich einhergeht, jedoch durch individuelle Pathomechanismen ausgelöst wird und kein direkter gegenseitiger Einfluss besteht. Hierfür würde die beobachtete Clusterbildung der Korrelationspunkte in bestimmten Wertebereichen entsprechend den einzelnen Diagnosegruppen (Abb. 20, S. 114) sprechen. So finden sich die Punkte gesunder Kontrolltiere gesammelt eher in unteren Bereichen, während sich die der Gruppe „COB in Exazerbation“ überwiegend in oberen Abschnitten aufhalten. Die

III Diskussion

Berechnungen der logistischen Regression für die kategorisierte Fibrinogenkonzentration unter Hinzunahme des Neutrophilen-Anteils sowie den Diagnosegruppen zeigte jedoch, dass erstere einen tendenziell größeren Einfluss auf die zwei Kategorien hat als die Diagnose. Diese Beobachtung sowie die statistische Signifikanz der Korrelation ($p=0,004$) erhöhen die Wahrscheinlichkeit eines kausalen Zusammenhangs zwischen der Fibrinogenkonzentration und dem Anteil an neutrophilen Granulozyten in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit.

Neben der positiven Korrelation mit den neutrophilen Granulozyten zeigte sich auch noch ein negativer Zusammenhang zwischen der Fibrinogenkonzentration und dem prozentualen Lymphozytenanteil. Dieser fiel mit $r_s=-0,286$ ($p=0,03$) sehr schwach aus, weshalb die Bedeutung dieser Beobachtung fraglich ist. Eine mögliche Erklärung des Zusammenhangs liefert jedoch die Arbeit von Grünig, Winder et al. (1991c), in der sie herausstellten, dass eine Verstärkung von Lungenmakrophagen assoziierter prokoagulatorischer Aktivität durch Lymphozyten-Stimulation hervorgerufen werden kann. Wenn man diesen Ansatz verfolgt und eine verstärkte Gerinnungsaktivität bei erhöhter Lymphozytenzahl annimmt, könnte dies in einer vermehrten Fibrinbildung mit gesteigertem Fibrinogenverbrauch resultieren und damit den Zusammenhang von wenig Fibrinogen und vielen Lymphozyten erklären. Allerdings bleibt dies eine eher vage These, da nicht nur die bereits genannte Schwäche der Korrelation, sondern auch eine weitere Beobachtung einen realen Zusammenhang dieser beiden Parameter fraglich macht. So zeigte sich auch eine stark negative Abhängigkeit zwischen den Lymphozyten und den neutrophilen Granulozyten ($r_s=-0,262$; $<0,001$; Ergebnisse nicht dargestellt) sowie den Makrophagen ($r_s=-0,0782$; $p<0,001$; Ergebnisse nicht dargestellt), was den logischen Ausgleich verschiedener Zellanteile widerspiegelt. Bei sinkenden PMN kommt es natürlich zu einem entsprechenden Anstieg der anderen Zelltypen und umgekehrt. Demnach ist es als wahrscheinlich anzusehen, dass diese sehr schwach ausfallende Korrelation zwischen Fibrinogen und Lymphozyten lediglich eine Begleiterscheinung genannter Verhältnisse darstellt.

Abschließend bleibt zu sagen, dass die vorliegenden Ergebnisse dieser Arbeit von der Fibrinogenbestimmung in der bronchoalveolären Lavage stark darauf hindeuten, dass ein vermehrtes Aufkommen dieses Moleküls nicht nur Ausdruck verstärkter entzündlich bedingter Permeabilitätsveränderungen im Lungenkompartiment ist, sondern auch in einem weiteren Zusammenhang mit pathogenetischen Prozessen bei respiratorischen Erkrankungen, insbesondere der „COB in Exazerbation“, steht. Jedoch liegen über alle Gruppen hinweg große Spannweiten in der Fibrinogenkonzentration mit sich teilweise überlappenden Interquartilbereichen sowie fehlende signifikante Unterschiede im direkten Wertevergleich vor, wenngleich eine deutlich rechtsschiefe Verteilung der Gruppe 1 mit signifikant geringerer Nachweisbarkeit gegenüber Gruppe 2 vorherrscht. Dies gibt Anlass dazu, die Ergebnisse und Interpretationen trotz ihrer Plausibilität durchaus kritisch zu betrachten und unterstreicht die Notwendigkeit weiterführender Studien. Ein wesentliches Kriterium, um die hier aufgezeigten Tendenzen auf Signifikanz zu prüfen, stellt dabei sicherlich die Erhöhung der Stichprobenanzahl dar.

3.6.4 Diskussion der Ergebnisse der Bestimmung von D-Dimeren

Aufgrund des aufwendigen und sehr kostspieligen Verfahrens der Proteinanreicherung wurden nicht alle Proben dieser Prozedur unterzogen, sondern nur ausgewählte Fälle verwendet, wodurch die Ergebnisse der D-Dimer-Messungen nur eingeschränkt interpretierbar sind. Dennoch geben die vorliegenden Beobachtungen unter Berücksichtigung wissenschaftlicher Erkenntnisse Hinweise auf mögliche Zusammenhänge und lassen durchaus in Ansätzen die Aufstellung von Hypothesen zu.

Die Tatsache, dass allein in den Diagnosegruppen „COB in Exazerbation“ und „akute/subakute Pneumonie“ D-Dimere bereits ohne Anreicherungsverfahren nachweisbar waren, bot Anhaltspunkte dafür, dass auch in anderen Proben aus Gruppe 2 und 5 erhöhte Mengen dieses Abbauproduktes zu finden sein könnten, während dies insbesondere für die Gruppe der gesunden Kontrolltiere als fraglich erschien. Um diesen Gedanken zunächst zu überprüfen, wurde eine Proteinanreicherung zur verbesserten Nachweisbarkeit an fünf zufällig ausgewählten Fällen getestet, von denen zwei Tiere der Gruppe „COB in Exazerbation“ und drei der Gruppe der gesunden Kontrolltiere angehörten. Die erneuten Analysen blieben bei den lungengesunden Tieren auch nach der Anreicherung ohne Ergebnis, sprich es waren trotz geringerer Nachweisgrenze wieder keine D-Dimere zu finden, während hingegen in den Proben der Tiere aus Gruppe 2 nun in beiden Fällen definierte Konzentrationen des Moleküls gemessen werden konnten. Diese Beobachtung sowie die Tatsache, dass so gut wie auch alle anderen im Anschluss gemessenen Proben der exazerbierten Tiere messbare Konzentrationen aufwiesen, untermauern die These, dass das Dimer nur bei bestimmten Krankheitszuständen in höheren Mengen auftritt und im gesunden Lungenmilieu so gut wie nicht vorhanden ist. Angaben aus humanmedizinischer Literatur liefern weitere Anhaltspunkte hierfür. So wurden bei respiratorischen Erkrankungen wie dem der equinen COB sehr ähnlichen Asthma, dem ARDS oder auch bei Pneumonien ebenfalls erhöhte D-Dimer-Konzentrationen in Flüssigkeiten des Respirationstraktes (Sputum und BALF) gefunden (Günther, Mosavi et al. 2000a; Brims, Chauhan et al. 2010). Günther, Mosavi et al. (2000a) stellten dabei in Lavageflüssigkeit Konzentrationen von $25 \pm 7,5$ ng/ml für die Kontrollgruppe, 740 ± 128 ng/ml für beatmete Probanden mit Pneumonie und 1250 ± 268 ng/ml für eine Gruppe von ARDS-Patienten fest. Auf die in der vorliegenden Arbeit verwendete Einheit von mg/l umgerechnet ergibt dies Konzentrationen von 0,025, 0,74 und 1,25 mg/l und überschneidet sich damit weitestgehend mit dem Wertebereich, der auch für das Pferd in der vorliegenden Arbeit erfasst werden konnte (0,04-1,37 mg/l). Dies lässt darauf schließen, dass ähnliche Verhältnisse bei diesen beiden Spezies vorherrschen und die in dieser Studie gefundenen D-Dimer-Konzentrationen in der Gruppe 2 reelle pathologische Veränderungen widerspiegeln und keine Zufallsbefunde darstellen. Zusätzlich legt die Konzentrationsüberschneidung jedoch auch die Vermutung nahe, dass beim Pferd möglicherweise tendenziell höhere D-Dimer-Mengen in der BALF gefunden werden können als bei Menschen, denn die in der Humanstudie auftretenden Krankheitsbilder, insbesondere das ARDS, sind sehr schwere entzündliche Geschehen, die stärkere pathologische

III Diskussion

Veränderungen in der Alveolarregion vermuten lassen, als es bei der COB in Exazerbation oder bei den hier aufgetretenen Pneumonie-Patienten der Fall ist. Diese Beobachtung würde auch zu den Erkenntnissen von Stokol, Erb et al. (2005) und Ribera, Monreal et al. (2013) passen, die zum einen höhere Basalkonzentrationen im Plasma wie auch höhere D-Dimer-Spiegel in Synovia verglichen mit Angaben aus der Humanmedizin feststellen konnten. Wenn man dennoch von grundsätzlich ähnlichen Verhältnissen zwischen Mensch und Pferd ausgeht, unterstützen die Ergebnisse von Günther, Mosavi et al. (2000a) nicht nur die These erhöhter D-Dimere bei COB in Exzerbation, sondern auch die, dass bei lungengesunden Pferden keine oder nur sehr geringe Konzentrationen dieses Abbauproduktes in der bronchoalveolären Lavage vorliegen. So gaben die Autoren gleichfalls für ihre gesunde Kontrollgruppe eine sehr niedrige durchschnittliche Konzentration von 0,025 mg/l an, was deutlich unter der, selbst mit Proteinanreicherung erreichten, Nachweisgrenze (<0,04 mg/l) der vorliegenden Arbeit liegt. Damit lässt sich der fehlende Nachweis bei gesunden Probanden in dieser Studie als plausibel erachten und stellt das Argument der Zufallsbeobachtung in den Hintergrund.

Im Gegensatz dazu können für Pferde mit IAD bzw. COB in Remission oder mit interstitieller Pneumopathie kaum Aussagen getroffen werden, da bei den Proben dieser Tiere eine Anreicherung gar nicht erst versucht wurde. Trotzdem liegt zumindest die Vermutung nahe, dass extrem hohe D-Dimer-Konzentrationen wie sie „nativ“ bei den exazerbierten Tieren und denen mit Pneumonie gemessen wurden, bei den anderen beiden Krankheitsausprägungen nicht auftreten, da mit n=14 für Gruppe 3 und n=11 für Gruppe 4 vergleichbare Stichprobenzahlen und damit auch eine vergleichbare Wahrscheinlichkeit für das Auffinden solcher Fälle gegeben war. Diese These unterstützen erneut Erkenntnisse aus der Humanmedizin, nach denen bei Probanden mit interstitiellen Pneumopathien (EAA, IPF, SARK) zwar ebenfalls deutlich erhöhte D-Dimer-Konzentrationen in der BALF gemessen werden konnten, diese jedoch durchweg niedriger ausfielen als bei anderen akuten und schwer entzündlichen Erkrankungsbildern (Günther, Mosavi et al. 2000b). Somit scheint es als wahrscheinlich, dass nach Proteinanreicherung auch in den Diagnosegruppen 3 und 4 D-Dimere hätten nachgewiesen werden können. Um hierüber jedoch eine verlässliche Aussagen treffen zu können bedarf es weiterführender Untersuchungen mit Analysen angereicherter Proben dieser beiden Gruppen. Auch in Bezug auf die lungengesunden Pferde wäre eine Erhöhung der ausgewerteten Stichprobenanzahl notwendig, um die aufgestellte Hypothese zu bestätigen.

Die Ergebnisse der Zusammenhangsanalyse, aus der eine deutlich positive Korrelation ($r_s=0,511$; $p=0,03$) zwischen der D-Dimer Konzentration in der BALF und der Atemfrequenz ersichtlich war, geben zudem Hinweis darauf, dass dieses Molekül nicht nur per se bei Krankheitszuständen vermehrt bzw. überhaupt erst auftritt, sondern darüber hinaus auch noch ein Zusammenhang zwischen der Menge an gebildeten D-Dimeren und dem Schweregrad der Erkrankung bzw. ihrer klinischen Ausprägung besteht. Diese These wird zusätzlich durch die Tatsache untermauert, dass der höchste gemessene Wert (0,33 mg/l) bei dem Patienten ermittelt wurde, der die schwerste beobachtete Ausprägung eines akuten

III Diskussion

Exazerbationsstadiums mit höchstgradiger Dyspnoe aufwies. Der im mittleren Bereich liegende Korrelationskoeffizient spricht sehr für einen direkten gegenseitigen Einfluss dieser beiden Parameter, wobei ein unabhängiger Faktor, der beide in die gleiche Richtung treibt, nicht ganz ausgeschlossen werden kann. Eine mögliche Erklärung für einen kausalen Zusammenhang zwischen erhöhten D-Dimeren und Atemzügen pro Minute erschließt sich auch hier wieder aus human- sowie zusätzlich aus veterinärmedizinischen Forschungsergebnissen. Grundlage für die folgende Erklärung ist allerdings die Annahme, dass die hier vorgefundene Erhöhung der D-Dimere als spezifisches Abbauprodukt eine erhöhte Gerinnung und damit Fibrinbildung repräsentiert (s. hierzu Kapitel II, Abschnitt 2.2.1.1.1 und Abschnitt 2.2.1.1.2). In der Humanmedizin konnte ein direkter hemmender Einfluss des Fibrins und seiner Derivate auf das für die Lungenfunktion essentielle Surfactant nachgewiesen werden, der zum einen mit dem Einschluss dieses Oberflächenfaktors in die Fibrinmatrix erklärt wird und zum anderen mit der Wechselwirkung zwischen Fibrinogen, Fibrin-Monomeren und anderen Proteinen (Seeger, Stohr et al. 1985; Seeger, Elssner et al. 1993). Die Dysfunktion des Surfactants wird dabei unter anderem durch Veränderung seiner Grundbausteine, den Phospholipiden, hervorgerufen. Und auch bei Pferden mit chronischer Bronchitis ist bekannt, dass es im Zuge der Erkrankung zu einer gestörten Surfactantfunktion kommt, die ebenfalls aus einer veränderten Phospholipidzusammensetzung resultiert (Jahn and Deegen 1985; Christmann, Welles et al. 2008), was durchaus die Vermutung nahe legt, dass es auch hier zu der in der Humanmedizin beschriebenen Wechselwirkung kommt. Demnach könnte man davon ausgehen, dass das (vermutlich) gebildete Fibrin und seine Derivate auch bei Pferden mit „COB in Exazerbation“ zu einer Surfactant-Inhibierung führen, folgend der Gasaustausch in der Lunge vermindert ist und es dadurch wiederum zu der in der vorliegenden Arbeit beobachteten Steigerung der Atemfrequenz kommt. Diese Hypothese gilt es allerdings durch weiterführende Studien zu überprüfen, da auch andere Gründe zu einer veränderten Zusammensetzung des Oberflächenfaktors führen können. So nennen die Autoren selbst beispielsweise die Freisetzung unreifen Surfactants aus proliferierten Pneumozyten Typ II als mögliche Ursache der vorliegenden Dysfunktion (Jahn and Deegen 1985). Ein weiterer Punkt der zunächst einmal gegen diese Erklärung eines kausalen Zusammenhangs zwischen erhöhten D-Dimeren und erhöhter Atemfrequenz spricht, ist die Tatsache, dass ähnliche Korrelationen mit dem paO_2 und der $A-aDO_2$ fehlen. Beide Parameter sind mehr als die Atemfrequenz direkte Indikatoren für die Gasaustauschfähigkeit der Lunge, weshalb man eigentlich einen analogen Zusammenhang zwischen ebendiesen und den D-Dimeren vermuten würde, sofern man denn davon ausgeht, dass eine Fibrinbildung vorliegt, die wiederum durch Inhibierung der Surfactantfunktion die Gasaustauschfähigkeit der Lunge reduziert. Allerdings fiel bei der Auswertung der Daten dieser Studie auf, dass die Veränderungen in den einzelnen Diagnosegruppen wie auch die errechneten Signifikanzen im Unterschiedsvergleich für die Atemfrequenz wesentlich deutlicher ausfielen als für die Parameter der Blutgasanalyse. Dies würde dafür sprechen, dass dadurch auch nur für den stärker veränderten Parameter „Atemfrequenz“ ein Zusammenhang ermittelt werden konnte. Wenn man sich zudem von den Ergebnissen der

Korrelationsanalysen die tendenziellen Richtungen anschaut, ergeben sich weitere Hinweise für eine Bestätigung der Hypothese. So ist zwar wie gesagt für paO_2 wie auch für A-aDO_2 kein signifikanter Zusammenhang erkennbar, jedoch zeigen die Zahlen mit $r_s=-0,183$ und $r_s=0,126$, dass grundsätzlich vermehrte D-Dimere mit geringerem paO_2 und höherem A-aDO_2 vergesellschaftet sind, was wiederum mit den Vermutungen zu bestehenden Gasaustauschstörungen im Konsens steht.

Die hier aufgezeigten aus der Datenauswertung der vorliegenden Studie hervorgehenden Beobachtungen im Zusammenhang mit den genannten Erkenntnissen aus der Humanmedizin sowie der Tatsache, dass D-Dimere bei anderen entzündlichen Erkrankungsprozessen beim Pferd, wie beispielsweise bei Darmerkrankungen oder Arthropathien (Cesarini, Monreal et al. 2010; Dunkel, Chan et al. 2010; Ribera, Monreal et al. 2011; Ribera, Monreal et al. 2013), erwiesenermaßen eine wesentliche Rolle spielen, deuten stark darauf hin, dass diese spezifischen Abbauprodukte auch an entzündlichen Vorgängen im Respirationstrakt beteiligt bzw. Folge dessen sind. Durch die eingeschränkten Analysen der vorliegenden Arbeit ist diese Aussage allerdings nur unter Vorbehalt zu treffen und es bedarf weiterführender Untersuchungen für eine definitive Bestätigung dieser Hypothese. Dabei wäre ein wesentlicher unabdingbarer Aspekt zur weiteren Bearbeitung der Fragestellung das Heranziehen von sensitiveren Analyseverfahren, im Idealfall eines ELISAs, was in unserem Fall aus in Abschnitt 3.6.1 „Auswahl der Parameter zur Charakterisierung der Fibrinolyse“ weiter ausgeführten Gründen leider nicht möglich war.

3.6.5 Diskussion der Ergebnisse der Fibrinogen- und D-Dimer-Bestimmung im Kontext der Gerinnung und Fibrinolyse

Mit dem Fibrinogen und den D-Dimeren liegen in dieser Arbeit zwei wichtige Faktoren der Gerinnung und Fibrinolyse vor – das Fibrinogen als Grundbaustein des Fibrinnetzwerkes und die D-Dimere als spezifische Abbauprodukte der plasminvermittelten Fibrinolyse von quervernetztem also durch Thrombineinwirkung entstandenem Fibrin. Ob und inwieweit entsprechende Mechanismen des Hämostasesystems vermindert oder verstärkt ablaufen, lässt sich allerdings durch das Fehlen spezifischer Parameter nicht definitiv sagen. Dennoch lassen sich aus den hier vorliegenden Ergebnissen sowie bestehenden wissenschaftlichen Erkenntnissen einige Vermutungen anstellen. Zunächst kann man einmal davon ausgehen, dass im Alveolarraum der kranken Probanden dieser Studie, insbesondere bei denen mit der Diagnose „COB in Exazerbation“ und (unter genanntem Vorbehalt) auch bei denen mit akuter/subakuter Pneumonie, Gerinnungsprozesse bis hin zu Fibrinbildung ablaufen. Denn grundsätzlich ziehen auch im Respirationstrakt wie in allen anderen Geweben im Rahmen inflammatorischer Prozesse entstehende Endothel- und Epithelschädigungen physiologischerweise Heilungs- und Reparaturmechanismen mit einhergehender Fibrinbildung nach sich (Van den Ingh 1985; Günther, Mosavi et al. 2000a; Wygrecka, Jablonska et al. 2008). Wie bereits beschrieben, sprechen die per se vermehrte

III Diskussion

Nachweisbarkeit von Fibrinogen sowie die gleichzeitig höheren Konzentrationen dieses Moleküls bei den lungenkranken Tieren dafür, dass auch bei den Patienten dieser Studie entsprechende Permeabilitätsveränderungen im Lungenkompartiment mit folgendem Übertritt von Plasmaproteinen und Ablauf von natürlichen Reparaturmechanismen vorliegen. Untermuert wird diese These durch die Tatsache, dass in den beiden Gruppen, in denen die schwerwiegendsten entzündlich bedingten Permeabilitätsveränderungen bzw. Gewebsschädigungen vermutet werden können („COB in Exazerbation“ und „akute/subakute Pneumonie“), neben tendenziell höheren Fibrinogenkonzentrationen auch relativ hohe bzw. überhaupt messbare D-Dimer-Konzentrationen gefunden wurden und dieses Abbauprodukt ja bekanntlich nur aus einer vollständig, das heißt bis zum Endpunkt der Quervernetzung ablaufenden Fibrinbildung entstehen kann.

Zusätzlich geben Fakten aus der Literatur Anhaltspunkte, dass eine Gerinnung bzw. Fibrinbildung bei Pferden mit „COB in Exazerbation“ nicht nur per se stattfindet, sondern zudem verstärkt abläuft. So konnte zum einen bereits eine grundsätzlich erhöhte Gerinnungsaktivität im Respirationstrakt festgestellt und zum anderen auch eine Fibrinbildung durch histologisch zu sehende Fibrinablagerungen und daraus resultierende Fibrosierungen im Lungeninterstitium bei Pferden mit chronischer Bronchitis nachgewiesen werden (Winder, Grünig et al. 1990; Kaup, Drommer et al. 1990b). Letzteres deutet weiter darauf hin, dass die Fibrinolyse bei genannter Erkrankung nicht ausreichend abläuft oder sogar gehemmt ist, wodurch kein adäquater Fibrinabbau mehr stattfinden kann und es zu den genannten histologisch sichtbaren Folgeerscheinungen, den Fibrosen, kommt. Diese Annahme würde dafür sprechen, dass die in der vorliegenden Arbeit beobachteten D-Dimere in Gruppe 2 und 5 primär Ausdruck einer erhöhten Gerinnungsaktivität als einer verstärkt ablaufenden Fibrinolyse sind. Untermuert wird diese These dadurch, dass ebendiese Verhältnisse (erhöhte Gerinnung bei verminderter Fibrinolyse) bei respiratorischen Erkrankungen des Menschen erwiesenermaßen so vorliegen (Nakstad, Lyberg et al. 1990; Günther, Mosavi et al. 2000a; Akinnusi and El Solh 2007; Wygrecka, Jablonska et al. 2008; Brims, Chauhan et al. 2010). Bei Patienten mit schwerem Asthma beispielsweise wurden im Expektorat ebenfalls erhöhte Fibrinogen- und D-Dimer-Konzentrationen gemessen (Brims, Chauhan et al. 2010). Durch die gleichzeitig ermittelte Erhöhung von PAI-1 und TAFI konnte hier das vermehrte D-Dimer-Aufkommen eindeutig einer erhöhten Gerinnungsaktivität zugeordnet und die Fibrinolyse als gehemmt angesehen werden. Die anderen hier beispielhaft aufgeführten Arbeiten kamen mit gleichen oder ähnlichen Faktorbestimmungen zu derselben Schlussfolgerung. Wenn man die Vergleichbarkeit grundlegender pathologischer Prozesse im Respirationstrakt bei Pferd und Mensch voraussetzt (Leclere, Lavoie-Lamoureux et al. 2011a), gibt es ein weiteres Indiz aus der humanmedizinischen Literatur, was darauf hindeutet, dass die fibrinolytische Aktivität auch beim Pferd wahrscheinlich gehemmt ist. So wird bei asthmatischen Erkrankungen des Menschen die Gentranskription von PAI-1 – einem wesentlichen Fibrinolyse-Inhibitor – durch verschiedene Entzündungsmediatoren, wie beispielweise IL-1 β und TNF- α initiiert (Cho, Ryu et al. 2004). Beide Zytokine sind auch am pulmonalen Entzündungsprozess der COB des Pferdes

beteiligt (Giguere, Viel et al. 2002; Laan, Bull et al. 2006a) und stellen somit theoretisch gleichermaßen auch bei Equiden potentielle Regulatoren der PAI-1 Expression und damit der Fibrinolyse dar.

Aus all diesen hier dargestellten Gründen ist es als sehr wahrscheinlich anzusehen, dass die in der Humanmedizin bekannten Verschiebungen im Hämostasegleichgewicht im alveolären Kompartiment auch bei respiratorischen Erkrankungen des Pferdes, insbesondere bei der „COB in Exazerbation“, zu finden und die in dieser Arbeit beobachteten D-Dimer-Vorkommen vor allem Ausdruck erhöhter Gerinnungsaktivität sind. Die Vermutung liegt nahe, dass die physiologischerweise auf eine Fibrinbildung folgende Fibrinolyse dabei verhältnismäßig zu gering abläuft oder wahrscheinlich sogar gehemmt ist.

Trotz der vielen Indizien, die für die Richtigkeit dieser Hypothese sprechen, hätte es der Bestimmung spezifischer in die Regulationsmechanismen der hämostatischen Kaskaden eingreifender Faktoren benötigt, um eine definitive Aussage hierüber treffen zu können, was aus genannten Gründen jedoch nicht möglich war. Ob die beobachteten D-Dimere nun also tatsächlich vor allem Ausdruck einer verstärkt ablaufender Gerinnung oder aber einer erhöhten fibrinolytischen Aktivität sind, bleibt somit, ebenso wie die Vermutung, dass dieses Abbauprodukt bei lungengesunden Pferden im Respirationstrakt kaum auftritt (s.o.), letztendlich fraglich.

3.6.6 Diskussion der Ergebnisse der Bestimmung von Serum-Amyloid-A

Das Serum-Amyloid-A steht in keinem direkten Zusammenhang mit Gerinnung und Fibrinolyse, wurde jedoch trotzdem begleitend in dieser Arbeit mit aufgenommen, da es gemeinsam mit dem Fibrinogen zu den Akute-Phase-Proteinen gehört und in der Regel einen deutlich schnelleren Anstieg zeigt als dieses und auch als viele andere und dadurch als ein sehr sensibler Entzündungsmarker angesehen wird (Pollock, Prendergast et al. 2005; Jacobsen and Andersen 2007; Lavoie-Lamoureux, Leclere et al. 2012). Zudem liegen in der Humanmedizin (Tierversuchsforschung und Klinik) Erkenntnisse über die Beteiligung von SAA an Entzündungsreaktionen in der Lunge bei Asthma und COPD mit einhergehenden Erhöhungen im Sputum vor (Ozseker, Buyukozturk et al. 2006; Ather, Ckless et al. 2011; Anthony, Seow et al. 2013; Moran, Carcamo et al. 2013), was die Vermutung nahe legt, dass dies auch bei der chronisch obstruktiven Bronchitis beim Pferd der Fall sein könnte. Dafür sprechen auch die Ergebnisse aus der Arbeit von Lavoie-Lamoureux, Leclere et al. (2012), die aufzeigen konnten, dass das Serum-Amyloid-A im Zuge einer Exazerbation beim COB-Pferd systemisch erhöht ist. Eine Bestimmung dieses Entzündungsmarkers in Flüssigkeiten des Respirationstraktes hat allerdings nach bisherigem Kenntnisstand noch nicht stattgefunden.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit aus der SAA-Bestimmung in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit bei lungengesunden und –kranken Pferden liefern allerdings keine Anhaltspunkte für eine lokale Beteiligung dieses Akute-Phase-Proteins am stattfindenden

III Diskussion

Pathomechanismus in der chronischen Erkrankungsphase, da zum überwiegenden Teil (~60-80%) ein Nachweis gar nicht möglich war und ansonsten auch nur sehr geringe Unterschiede in den Konzentrationen der einzelnen Diagnosegruppen festgestellt werden konnten. Dabei blieb nicht nur die Aufdeckung statistischer Signifikanzen aus, sondern es ließen sich darüber hinaus auch keinerlei Tendenzen ausmachen. Der Grund für die fehlende Nachweisbarkeit sowie die ausbleibenden Unterschiede in den SAA-Konzentrationen zwischen den einzelnen Gruppen bleibt hier weitestgehend unklar. Mit dem ELISA als Testsystem war in diesem Fall zumindest eine ausreichende Sensitivität gesichert. Grundsätzlich würde man vermuten, dass im Zuge der Plasmaexsudation auch SAA-Moleküle in den Alveolarraum übertreten und somit bei bestimmten Erkrankungsprozessen vermehrt nachweisbar sind. Allerdings kommt es teilweise auch vor, dass dieses Akute-Phase-Protein bereits im Plasma unter der laboranalytischen Nachweisgrenze liegt, sprich nicht gemessen werden kann (Lavoie-Lamoureux, Leclere et al. 2012). In solch einem Fall wäre natürlich auch kein Anstieg in der Lavageflüssigkeit zu erwarten, bei der ja zudem noch ein hoher Verdünnungseffekt mit eingerechnet werden muss. Da jedoch in dieser Arbeit keine parallele Bestimmung im Plasma stattgefunden hat, lässt sich hier nicht sagen, ob der fehlende SAA-Nachweis in der BALF mit sehr niedrigen Konzentrationen im Blut gekoppelt war. Zudem konnten Lavoie-Lamoureux, Leclere et al. (2012) bei Pferden mit COB in Exazerbation sehr hohe SAA-Konzentrationen im Plasma messen ($15,75 \pm 31,51 \mu\text{g/ml}$), was der Hypothese von per se niedrigen Konzentrationen wieder gegenüberstehen würde. Allerdings ist auch anzumerken, dass die Messungen dort lediglich vor einem provozierten Antigenkontakt sowie an Tag 7 und Tag 30 danach stattgefunden haben und an Tag 0 noch sehr niedrige bis gar keine SAA-Mengen nachgewiesen werden konnten. In welchem Bereich sich die SAA-Konzentrationen im Plasma in der Zeit zwischen Tag 0 und Tag 7 bewegten, lässt sich also nicht sagen. Somit wäre es durchaus denkbar, dass beispielsweise an Tag 3 die Konzentrationen im Plasma bei einer akuten Exazerbation noch unverändert sind und sich das SAA bei den Pferden der vorliegenden Studie, die zu einem sehr frühen Zeitpunkt eines akuten Exazerbationsschubes in der Klinik vorgestellt wurden, noch gar nicht im Alveolarraum wiederfinden konnte. Für die Patienten, die sich vorrangig in der chronischen Erkrankungsphase befanden, wäre es hingegen eher denkbar, dass ein eventuell angestiegenes SAA bereits wieder abgesunken ist und sich aus diesem Grund hier dem Nachweis entzieht.

Darüber hinaus darf man die Verknüpfung von alveolärem SAA mit der Plasmakonzentration nicht als alleinige Erklärung heranziehen, da, wie schon für das Fibrinogen, auch für dieses Protein eine lokale Synthese im Lungengewebe denkbar wäre, die zu einer systemisch unabhängigen SAA-Menge im Alveolarraum führen würde. In der Humanmedizin konnte eine, primär durch Epithelzellen herbeigeführte, lokale Expression von SAA-mRNA in Bronchien und Lungenparenchym bereits bewiesen werden (Urieli-Shoval, Cohen et al. 1998; Lopez-Campos, Calero et al. 2013). Ob dies allerdings auch für das Pferd zutrifft, lässt sich sehr schwer sagen, da, anders als beim Fibrinogen, für das SAA bisher keine Arbeiten vorhanden sind, die auf solch eine lokale Produktion hindeuten.

Ob nun also das Serum-Amyloid-A bei respiratorischen Erkrankungen an lokalen pathologischen Vorgängen in der Lunge beim Pferd beteiligt ist, lässt sich mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit nicht sicher sagen. Zwar deutet es darauf hin, dass die SAA-Konzentrationen in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit in keinem Zusammenhang mit den verschiedenen Lungenerkrankungen stehen, ganz ausschließen lässt sich dies aber nicht. Ein wichtiger Aspekt, den es bei der Überprüfung dieser These zu beachten gilt, ist, Probanden zum Vergleich heranzuziehen, die sich zeitlich in exakt dem gleichen Stadium der Erkrankung befinden. Zusätzlich wären mehrere aufeinanderfolgende Messungen sinnvoll, um Variationen im Anstieg bzw. überhaupt einen Anstieg feststellen zu können und gegebenenfalls Zeitpunkt-spezifische Konzentrationsmuster zu erkennen.

3.7 Schlussfolgerung und Ausblick

In der vorliegenden Arbeit wurden erstmalig Fibrinogen-, D-Dimer- und SAA-Konzentrationen in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit von chronisch lungenkranken Pferden sowie gesunden Kontrolltieren nachgewiesen.

Die sehr umfangreichen klinischen und weiterführenden Untersuchungen halfen dabei, eine bestmögliche Einordnung der zufällig erhaltenen Probanden in definierte Diagnosegruppen vorzunehmen und dadurch eine Vermischung von krankheitsspezifischen Ergebnissen und folgend einhergehenden Verfälschungen statistischer Resultate weitestgehend zu vermeiden. Eine Ausnahme hiervon bildete aus bereits genannten Gründen die zusammengefasste Gruppe „IAD/COB in Remission“. Da beide Erkrankungen spezifische Eigenschaften bezüglich Ätiologie und Pathogenese besitzen, bildet diese Erkrankungsgruppe eine unsichere Variable, was bei der Interpretation der Ergebnisse zu berücksichtigen ist.

Durch mangelnde Verfügbarkeit validierter oder überhaupt funktionierender Testverfahren für spezifische Fibrinolyse-Parameter beim Pferd gelang die Ausarbeitung der gesetzten Ziele in dieser Arbeit nur zum Teil. Dennoch liefern die vorliegenden Beobachtungen neue verwertbare Erkenntnisse für die Grundlagenforschung bei chronischen Lungenerkrankungen des Pferdes, insbesondere bei der COB in Exazerbation. Die Hinzunahme bereits bestehender Erkenntnisse aus human- sowie auch veterinärmedizinischer Literatur ermöglichte es zudem, die doch deutlich sichtbaren Tendenzen zu interpretieren und deren Repräsentativität sowie Plausibilität zu untermauern. Grundsätzlich geben die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit Hinweise darauf, dass, wie in der Humanmedizin bereits bewiesen, auch beim Pferd Veränderungen im alveolären Hämostasegleichgewicht bei respiratorischen Erkrankungen bestehen. Durch die Fibrinogenmessungen konnten Indizien für die bereits bekannten Permeabilitätsveränderungen in der Lunge bei entzündlichen Erkrankungen gewonnen und durch die Korrelation mit dem Anteil neutrophilen Granulozyten auch ein weiterführender pathogenetischer Zusammenhang erschlossen werden. Durch Hinzunahme der D-Dimere

III Diskussion

als hochspezifisches Fibrinabbauprodukt war es zudem möglich, Hinweise auf eine erkrankungsbedingte verstärkte Fibrinbildung (als natürlicher Heilungs-/Reparaturmechanismus) zu gewinnen und damit die Erkenntnisse über erhöhte prokoagulatorische Aktivitäten in Lungensekreten sowie histologisch sichtbare Fibrin-/Fibrinogenablagerungen und Fibrosen im Lungengewebe chronisch kranker Tiere zu ergänzen. Durch die relativ deutliche Korrelation zwischen den D-Dimeren und der Atemfrequenz zeigte sich wie schon für das Fibrinogen auch für diesen Parameter ein direkter pathogenetischer Zusammenhang bei entsprechenden Erkrankungen.

Während durch die vorliegende Arbeit somit weitestgehend festgestellt werden konnte, dass bei entzündlichen Erkrankungen des Respirationstraktes, insbesondere bei der „COB in Exazerbation“, Veränderungen des hämostatischen Milieus mit Tendenz zur Fibrinbildung vorliegen, bleiben die genauen Hintergründe, Mechanismen und Einflussfaktoren hierzu noch weiter zu erforschen. Dabei gilt es insbesondere für die zum Teil nur eingeschränkt oder aufgrund der geringen Stichprobenzahl nur unter Vorbehalt zu beurteilenden Diagnosegruppen „IAD/COB in Remission“ und „akute/subakute Pneumonie“ die in dieser Arbeit sichtbaren Tendenzen auf ihre statistische Signifikanz zu überprüfen. Sollten in Zukunft neue Erkenntnisse bzw. Marker vorliegen, die eine Unterscheidung zwischen Pferden mit IAD und solchen in Remission einer COB sicher möglich machen, wäre eine Trennung dieser Erkrankungen dabei in jedem Fall sinnvoll. Für ergänzende bzw. überprüfende Untersuchungen zu der Erkrankung „interstitielle Pneumopathie“ sollte zudem überlegt werden, eine Lungenbiopsie zur Diagnosesicherung heranzuziehen.

Zudem müssten die in dieser Studie festgestellten, sehr wahrscheinlich kausalen, Zusammenhänge zwischen dem Fibrinogen, den D-Dimeren und den pathologischen Prozessen bei verschiedenen Erkrankungen eingehender untersucht werden. Die Zusammenführung der vorliegenden Ergebnisse mit Erkenntnissen aus der Literatur bieten hierfür verschiedene Anhaltspunkte. So wären weiterführende Untersuchungen zum Beispiel in Bezug auf den pathogenetischen Zusammenhang zwischen Fibrinogenvorkommen, NF- κ B, ICAM-1 und der Leukodiapedese, zwischen dem Auftreten von D-Dimeren und Veränderungen im Surfactant sowie zwischen Lymphozyten und Fibrinogen denkbar.

Darüber hinaus bietet die vorliegende Arbeit auch Anhaltspunkte, den Ansatz bezüglich Veränderungen in der fibrinolytischen Aktivität weiter zu verfolgen. Die verschiedenen D-Dimer-Konzentrationen geben in jedem Fall Hinweise, dass fibrinolytische Prozesse stattfinden, lassen jedoch wie bereits erläutert keine verlässliche Aussage treffen, ob diese vermindert oder verstärkt ablaufen. Um hierüber allerdings aussagekräftige Informationen erhalten zu können, würde es zunächst der Entwicklung oder Auffindung von für das Pferd und das entsprechende Analysemedium BALF geeigneten und auf die spezifischen fibrinolytischen Regulatoren abzielenden Testverfahren bedürfen. Dann wäre eine direkte vergleichende Gegenüberstellung der Aktivität von Gerinnung und Fibrinolyse innerhalb einer Studie sicherlich sinnvoll.

Speziell für die D-Dimere wäre es weiter interessant herauszufinden, ob diese sich, wie bei anderen Organsystemen bzw. bei anderen Erkrankungen (Kolik, Septikämie, Arthropathie)

III Diskussion

der Fall, auch bei chronischen Lungenerkrankungen als diagnostische Marker eignen. Dies wäre insbesondere im Hinblick auf die grundsätzlich erschwerte Differenzierung zwischen Pferden mit IAD und solchen mit COB in Remission sowie die häufig schwierig zu stellende Diagnose „interstitielle Peumopathie“ hilfreich. Ebenso wäre es mithilfe von Langzeitstudien interessant herauszufinden, ob verschiedene D-Dimer Konzentrationen prognostische Aussagen zulassen.

Auch das Fibrinogen könnte in Bezug auf diese Fragestellungen ein potentiell brauchbarer Marker sein. Der in dieser Arbeit aufgezeigte signifikante Unterschied in der Nachweisbarkeit des Fibrinogens zwischen Gruppe 1 und 2, aus dem hervorging, dass bei Konzentrationen von $>0,0005$ g/l sich die Wahrscheinlichkeit für den Patienten die Diagnose „COB in Exazerbation“ statt den Status „gesund“ zu erhalten um das 11-fache erhöht, gibt Hinweise auf solch einen Nutzen als Marker, bleibt jedoch in dem Fall weitestgehend ohne klinische Relevanz, da dieses akute Erkrankungsstadium in den meisten Fällen sicher erkannt und erst recht vom lungengesunden Patienten abgegrenzt werden kann.

Die tendenziellen Verbesserungen der Fibrinogen- und D-Dimer-Konzentrationen nach 10-tägiger Budesonid-Inhalation mit Haltungsoptimierung geben Hinweise darauf, dass eine therapeutische Intervention an diesem Punkt durchaus Einfluss haben könnte. Diese Hypothese gilt es allerdings mit größeren Stichprobenzahlen und dem Einschluss einer Placebo-Gruppe eingehend zu prüfen.

Im Gegensatz zu den Ergebnissen der Fibrinogen- und D-Dimer-Bestimmung gaben die SAA-Analysen wenig bis keine Anhaltspunkte, um Rückschlüsse zu ziehen und plausible Hypothesen aufzustellen. Ob dieses Protein überhaupt am lokalen Pathomechanismus in der Lunge bei Pferden mit (chronischen) respiratorischen Erkrankungen beteiligt ist, bleibt mehr als fraglich. Um dies herauszufinden, sind in jedem Fall weiterführende Studien nötig. Dabei wäre es sicherlich sinnvoll, eine gleichzeitige Bestimmung im Plasma vorzunehmen und darüber hinaus auch auf eine exakte Benennung des Erkrankungszeitpunktes sowie eine Bestimmung an mehreren aufeinanderfolgenden Tagen vorzunehmen, um einen eventuell verzögerten Anstieg und mögliche zeitabhängige Konzentrationsunterschiede aufzudecken.

Abschließend bleibt zu sagen, dass die Ergebnisse dieser Studie deutliche Hinweise und vereinzelt auch Beweise für hämostatische Veränderungen im Alveolarraum bei respiratorischen Erkrankungen des Pferdes liefern. Dieser Ansatz sollte weiter verfolgt werden, da eine wesentliche Beteiligung von Gerinnung und Fibrinolyse an pathologischen Prozessen in der Lunge als sehr wahrscheinlich angesehen werden kann und sich neue Optionen für therapeutische Interventionen ergeben könnten. Insbesondere die Gedanken an wissentlich irreversible Veränderungen im Lungengewebe betroffener Tiere sowie (möglicherweise damit einhergehende) persistierende Lungenfunktionsstörungen (Setlakwe, Leclere et al. 2009) lassen die Relevanz der Aufschlüsselung hämostatischer (Dys)balancen im Alveolarraum bei chronischen Lungenerkrankungen des Pferdes deutlich werden.

IV Zusammenfassung

Caroline Wirth

Charakterisierung der fibrinolytischen Aktivität in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit beim chronisch lungenkranken Pferd und der Einfluss einer inhalativen Glukokortikoidtherapie

Charakteristisch für chronische Atemwegserkrankungen sind langanhaltende und immer wiederkehrende Entzündungsprozesse im Respirationstrakt – Fibrosierungen des Lungengewebes und damit einhergehende persistierenden Einschränkungen in der Lungenfunktion sind die Folge. In der Humanmedizin konnte bei verschiedenen respiratorischen Erkrankungen (u.a. Asthma) ein prokoagulatorisches und antifibrinolytisches Milieu im Alveolarraum als Ursache progressiver Fibrosierungsprozesse ausgemacht werden. Beobachtungen aus der veterinärmedizinischen Literatur liefern Hinweise darauf, dass auch bei chronischen Lungenerkrankungen des Pferdes eine vergleichbare Hämostase-Dybalance in den Alveolen vorliegen könnte.

Das Ziel dieser Arbeit bestand darin, in einer prospektiv-klinischen Studie unter Einschluss einer gesunden Kontrollgruppe die fibrinolytische Aktivität in bronchoalveolärer Lavageflüssigkeit (BALF) chronisch lungenkranker Pferde zu charakterisieren und einen pathogenetischen Zusammenhang herauszustellen.

Hierfür sollten das Fibrinogen, die D-Dimere sowie Plasminogen-Aktivator-Inhibitor-1 (PAI-1) und Urokinase (u-PA) untersucht werden. Es stellte sich jedoch heraus, dass ein Nachweis von PAI-1 und u-PA mit verlässlicher Aussagekraft nicht möglich war. Zusätzlich zu den hämostatischen Parametern sollte auch das Serum-Amyloid-A in der BALF bestimmt werden. Alle Parameter wurden darüber hinaus auf Veränderungen im Rahmen einer inhalativen Glukokortikoidtherapie mit kombinierter Haltungsoptimierung untersucht.

Für die vorliegende Studie wurden 61 Tiere an der Klinik für Pferde, allgemeine Chirurgie und Radiologie der Freien Universität Berlin stationär aufgenommen und einem dreitägigen Untersuchungsprotokoll unterzogen. Dieses umfasste eine allgemeine und spezielle klinische Untersuchung, eine venöse und arterielle Blutanalyse, eine Belastungsuntersuchung, eine Interpleuraldruckmessung, eine Tracheobronchoskopie mit bronchoalveolärer Lavage inklusive zytologischer Auswertung und eine röntgenologische Untersuchung der Lunge. Auf Grundlage der erhobenen Befunde und in Anlehnung an die in aktueller Literatur festgelegten Definitionskriterien wurden die Probanden in die folgenden fünf Diagnosegruppen eingeteilt: „Gesund“ (Gruppe 1, n=15), „COB in Exazerbation“ (Gruppe 2, n= 18), „IAD/COB in Remission“ (Gruppe 3, n=14), „interstitielle Pneumopathie“ (Gruppe 4, n=11) und „akute/subakute Pneumonie“ (Gruppe 5, n=3).

IV Zusammenfassung

Acht Patienten aus Gruppe 2 sowie vier Pferde aus Gruppe 3 erhielten eine zehntägige Inhalationstherapie mit dem Glukokortikoid Budesonid (3 µg/kg KGW, zweimal täglich) bei gleichzeitig staubarmen Haltungsbedingungen (Späne, nasses Heu), gefolgt von einer Kontrolluntersuchung, die im Wesentlichen dem Protokoll der Erstuntersuchung entsprach.

Die weiterführenden Laboranalysen erfolgten aus dem Überstand der abzentrifugierten BALF. Das Fibrinogen und die D-Dimere wurden auf vollautomatischen Analysegeräten unter Anwendung immunturbidimetrischer Verfahren bestimmt. Für das SAA kam die ELISA-Methode zum Einsatz. Auch PAI-1 und u-PA sollten mit diesem quantitativen Nachweisverfahren bestimmt werden, was sich jedoch als nicht durchführbar erwies.

Für die Fibrinogenkonzentration zeigte sich, dass der Median der lungenkranken Tiere deutlich über dem der gesunden Kontrollgruppe lag. Letztere wies zudem mit rund 60 % die geringste Nachweisbarkeit auf und unterschied sich damit signifikant ($p=0,03$) von der Gruppe 2 („COB in Exazerbation“), bei der in 94 % der Fälle Fibrinogenkonzentrationen gemessen werden konnten. Daraus ergab sich für Patienten mit Konzentrationen über der Nachweisgrenze von 0,001 g/l eine 11mal höhere Wahrscheinlichkeit, die Diagnose „COB in Exazerbation“ zu erhalten, anstatt als gesund eingestuft zu werden ($\text{Exp}(B)=11,33$). Darüber hinaus zeigte sich eine schwach positive Korrelation ($r_s=0,377$; $p=0,004$) zwischen der Fibrinogenmenge und dem prozentualen Anteil neutrophiler Granulozyten in der BALF.

Die D-Dimere konnten allein bei Pferden mit der Diagnose „COB in Exazerbation“ und „akute/subakute Pneumonie“ nachgewiesen werden. Hierbei wurde der Großteil der Messergebnisse erst im Anschluss an ein Proteinanreicherungs-Verfahren erbracht. Es ergab sich ein positiver Zusammenhang ($r_s=0,511$; $p=0,03$) zwischen der D-Dimer-Konzentration und der durchschnittlichen Atemfrequenz der Patienten.

Das Serum-Amyloid-A konnte in deutlich mehr als der Hälfte aller Proben (67,2 %) nicht wiedergefunden werden und es stellte sich für die gesunden wie kranken Tiere ein Median von 0,05 µg/ml heraus.

Die therapeutische Intervention führte zu einer tendenziellen Verringerung insbesondere der Fibrinogen-, aber auch der D-Dimer-Konzentrationen in der BALF. Dieser Unterschied stellte sich als nicht signifikant heraus.

Mangels funktionierender Testverfahren zur Bestimmung spezifischer Fibrinolyse-Parameter konnte nur ein Teil der gesetzten Ziele in dieser Arbeit erreicht werden. Dennoch liefern die vorliegenden Beobachtungen neue Erkenntnisse für die Grundlagenforschung bei chronischen respiratorischen Erkrankungen des Pferdes. Die Ergebnisse bieten deutliche Anhaltspunkte für die Annahme, dass hierbei hämostatische Dysbalancen mit vermehrter Fibrinbildung eine zentrale Rolle im Pathomechanismus spielen. Insbesondere das Wissen über irreversible Veränderungen im Lungengewebe und persistierende Lungenfunktionsstörungen betroffener Tiere geben Anlass, diesen Forschungsansatz zu verfolgen und mögliche Veränderungen in der fibrinolytischen Aktivität in weiterführenden Studien aufzudecken.

V Summary

Caroline Wirth

Characterisation of fibrinolytic activity in bronchoalveolar lavage fluid in horses affected with chronic respiratory disease under the course of an inhalative glucocorticoid therapy

A main characteristic of chronic respiratory disease is the long-lasting and recurring inflammatory process in the small airways – resulting in fibrosis of the alveolar tissue and thus an irreversible loss of respiratory capacity.

In various human respiratory diseases like bronchial asthma a pro-coagulatory and anti-fibrinolytic environment has been shown to cause progressive fibrosis.

Observations from veterinary medicine hint at a comparable misbalance of the hemostasis in chronic airway diseases of the horse.

The goal of this prospective clinical study including a healthy control group was to measure the fibrinolytic activity in the bronchoalveolar lavage fluid (BALF) of horses with chronic pulmonary disease and evaluate a possible pathogenetic association.

Fibrinogen, D-dimers, plasminogen-activator-inhibitor-1 (PAI-1) and urokinase (u-PA) were to be examined in this study. Unfortunately, all tested assays for PAI-1 and u-PA showed unreliable and inconsistent results.

In addition to the hemostatic parameters, serum-amyloid-A in the BALF was determined as an acute-phase protein. Furthermore, all parameters were examined regarding changes to an inhalative therapy with glucocorticoids and low-dust environment.

In this clinical trial 61 horses were presented to the Equine clinic for surgery and radiology of the Freie Universität Berlin under stationary conditions and underwent a three day preparticipation examination including general and specific clinical examinations, venous and arterial blood gas analyses, exercise tests, interpleural pressure measurements, radiography of the thorax, endoscopic and cytologic examinations of BALF.

The subjects were classified as “healthy controls“ (group 1, n=15), “COB in exacerbation“ (group 2, n=18), “IAD/COB in remission“ (group 3, n=14), “interstitial pneumopathy“ (group 4, n=11) and “acute/subacute pneumonia“ (group 5, n=3).

Eight patients from group 2 and four patients from group 3 received a ten day inhalation therapy with the glucocorticoid budesonide (3 µg/kg BDW, bid) and were housed in a low-dust environment. A control examination largely identical to the preparticipation examination followed.

Further laboratory analyses were conducted with the supernatant of the centrifuged BALF. Fibrinogen and D-dimers were determined on a fully-automatic analyzer using the

V Summary

immunoturbidimetric method. SAA was measured by the ELISA method. This quantitative analysis procedure was also intended to be applied for the examination of PAI-1 and u-PA, however, this turned out to not be technically feasible.

The median of fibrinogen in patients with lung diseases was considerably higher than the one in healthy horses. Moreover, the healthy control group showed a significantly ($p=.03$) lower detectability of about 60%, compared to group 2 ("COB in exacerbation"), where fibrinogen concentrations could be measured in 94% of the cases. Thus, cases with a fibrinogen level above the determination limit of 0.001 g/l were eleven times more likely of being diagnosed "COB in exacerbation" than being classified as "healthy" ($\text{Exp}(B)=11.33$). Furthermore, there was a weak positive correlation ($r_s=.377$; $p=.004$) between the fibrinogen content and the percentage of neutrophils in the BALF.

D-dimers could be detected exclusively in patients with the diagnosis "COB in exacerbation" and "acute/subacute pneumonia". The majority of these results could be obtained only subsequent to a protein enrichment procedure. There was a positive correlation ($r_s=.511$; $p=.03$) between the amount of D-dimers and the average respiratory rate.

SAA could not be detected in more than two thirds of the samples (67.2%), while the median was 0.05 $\mu\text{g/ml}$ for both controls and affected horses.

The therapeutic intervention resulted in a partial decrease of specifically the fibrinogen levels, but also the D-Dimer levels in the BALF. However, these differences could not be classified as significant.

Due to a lack of appropriate testing methods to determine specific parameters of fibrinolysis, the aims of the presented study could only be reached in part. However, the observations reveal new insights for basic research in chronic respiratory diseases of the horse. The results allow the assumption that a misbalance in hemostasis accompanied by increased fibrin turnover plays a key role in the pathomechanism of equine pulmonary disease. Particularly with regard to irreversible alterations of lung tissue and persistent pulmonary function impairment, this research approach should be further pursued to reveal possible changes in fibrinolytic activity.

VI Literaturverzeichnis

- Abraham, G.; Brodde, O. E.; Ungemach, F. R. (2002):
Regulation of equine lymphocyte beta-adrenoceptors under the influence of clenbuterol and dexamethasone.
Equine Vet J. 34(6), 587-93.
- Ainsworth, D. M. (2010):
Review of Recurrent Airway Obstruction (RAO, Heaves): Diagnosis and Treatment Options. Focus on Upper and Lower Respiratory Diseases-AAEP Focus Meeting, Salt Lake City, UT, USA, IVIS.
- Ainsworth, D. M.; Grunig, G.; Matychak, M. B.; Young, J.; Wagner, B.; Erb, H. N.; Antczak, D. F. (2003):
Recurrent airway obstruction (RAO) in horses is characterized by IFN-gamma and IL-8 production in bronchoalveolar lavage cells.
Vet Immunol Immunopathol. 96(1-2), 83-91.
- Ainsworth, D. M.; Hackett, R. P. (2004):
Chapter 7 - Disorders of the Respiratory System.
In: Equine Internal Medicine (2nd Edition). / Hrsg. S. M. Reed, W. M. Bayly and D. C. Sellon. - St. Louis, Missouri: Saunders. - ISBN:0-7216-9777-1. S. 289-353.
- Ainsworth, D. M.; Wagner, B.; Franchini, M.; Grunig, G.; Erb, H. N.; Tan, J. Y. (2006):
Time-dependent alterations in gene expression of interleukin-8 in the bronchial epithelium of horses with recurrent airway obstruction.
Am J Vet Res. 67(4), 669-77.
- Akinnusi, M. E.; El Solh, A. A. (2007):
The role of coagulation in pulmonary pathology.
Inflamm Allergy Drug Targets. 6(4), 201-9.
- Allen, B. V.; Kold, S. E. (1988):
Fibrinogen response to surgical tissue trauma in the horse.
Equine Vet J. 20(6), 441-3.
- Allen, K. J.; Tremaine, W. H.; Franklin, S. H. (2006):
Prevalence of inflammatory airway disease in national hunt horses referred for investigation of poor athletic performance.
Equine Vet J Suppl(36), 529-34.
- Ammann, V. J.; Vrins, A. A.; Lavoie, J. P. (1998):
Effects of inhaled beclomethasone dipropionate on respiratory function in horses with chronic obstructive pulmonary disease (COPD).
Equine Vet J. 30(2), 152-7.
- Anneck, K.; Schmitt, M.; Euler, U.; Zerm, M.; Paepke, D.; Paepke, S.; von Minckwitz, G.; Thomssen, C.; Harbeck, N. (2008):
uPA and PAI-1 in breast cancer: review of their clinical utility and current validation in the prospective NNBC-3 trial.
Adv Clin Chem. 45, 31-45.

VI Literaturverzeichnis

Anthony, D.; Seow, H. J.; Uddin, M.; Thompson, M.; Dousha, L.; Vlahos, R.; Irving, L. B.; Levy, B. D.; Anderson, G. P.; Bozinovski, S. (2013):
Serum amyloid A promotes lung neutrophilia by increasing IL-17A levels in the mucosa and gammadelta T cells.

Am J Respir Crit Care Med. 188(2), 179-86.

Armengou, L.; Monreal, L.; Tarancon, I.; Navarro, M.; Rios, J.; Segura, D. (2008):

Plasma D-dimer concentration in sick newborn foals.

J Vet Intern Med. 22(2), 411-7.

Art, T.; Kirschvink, N.; Smith, N.; Lekeux, P. (1999):

Indices of oxidative stress in blood and pulmonary epithelium lining fluid in horses suffering from recurrent airway obstruction.

Equine Vet J. 31(5), 397-401.

Aso, Y. (2007):

Plasminogen activator inhibitor (PAI)-1 in vascular inflammation and thrombosis.

Front Biosci. 12, 2957-66.

Ather, J. L.; Ckless, K.; Martin, R.; Foley, K. L.; Suratt, B. T.; Boyson, J. E.; Fitzgerald, K. A.; Flavell, R. A.; Eisenbarth, S. C.; Poynter, M. E. (2011):

Serum amyloid A activates the NLRP3 inflammasome and promotes Th17 allergic asthma in mice.

J Immunol. 187(1), 64-73.

Babu, K. S.; Woodcock, D. A.; Smith, S. E.; Staniforth, J. N.; Holgate, S. T.; Conway, J. H. (2003):

Inhaled synthetic surfactant abolishes the early allergen-induced response in asthma.

Eur Respir J. 21(6), 1046-9.

Bachofen, M.; Weibel, E. R. (1982):

Structural alterations of lung parenchyma in the adult respiratory distress syndrome.

Clin Chest Med. 3(1), 35-56.

Barnes, P. J.; Boschetto, P.; Rogers, D. F.; Belvisi, M.; Roberts, N.; Chung, K. F.; Evans, T. W. (1990):

Effects of treatment on airway microvascular leakage.

Eur Respir J Suppl. 12, 663s-670s; discussion 670s-671s.

Barton, M. H.; Morris, D. D.; Crowe, N.; Collatos, C.; Prasse, K. W. (1995):

Hemostatic indices in healthy foals from birth to one month of age.

J Vet Diagn Invest. 7(3), 380-5.

Barton, M. H.; Morris, D. D.; Norton, N.; Prasse, K. W. (1998):

Hemostatic and fibrinolytic indices in neonatal foals with presumed septicemia.

J Vet Intern Med. 12(1), 26-35.

Bastarache, J. A.; Wang, L.; Geiser, T.; Wang, Z.; Albertine, K. H.; Matthay, M. A.; Ware, L. B. (2007):

The alveolar epithelium can initiate the extrinsic coagulation cascade through expression of tissue factor.

Thorax. 62(7), 608-16.

Baumer, W.; Herrling, G. M.; Feige, K. (2013):

Pharmacokinetics and thrombolytic effects of the recombinant tissue-type plasminogen activator in horses.

BMC Vet Res. 9(1), 158.

- Beech, J. (1991):
Chronic obstructive pulmonary disease.
Vet Clin North Am Equine Pract. 7(1), 79-91.
- Bertozzi, P.; Astedt, B.; Zenzius, L.; Lynch, K.; LeMaire, F.; Zapol, W.; Chapman, H. A., Jr. (1990):
Depressed bronchoalveolar urokinase activity in patients with adult respiratory distress syndrome.
N Engl J Med. 322(13), 890-7.
- Boffa, M. B.; Koschinsky, M. L. (2007):
Curiouser and curiouser: recent advances in measurement of thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) and in understanding its molecular genetics, gene regulation, and biological roles.
Clin Biochem. 40(7), 431-42.
- Booth, N. A.; Simpson, A. J.; Croll, A.; Bennett, B.; MacGregor, I. R. (1988):
Plasminogen activator inhibitor (PAI-1) in plasma and platelets.
Br J Haematol. 70(3), 327-33.
- Borensztajn, K.; Stiekema, J.; Nijmeijer, S.; Reitsma, P. H.; Peppelenbosch, M. P.; Spek, C. A. (2008):
Factor Xa stimulates proinflammatory and profibrotic responses in fibroblasts via protease-activated receptor-2 activation.
Am J Pathol. 172(2), 309-20.
- Bouma, B. N.; Meijers, J. C. (2003):
Thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI, plasma procarboxypeptidase B, procarboxypeptidase R, procarboxypeptidase U).
J Thromb Haemost. 1(7), 1566-74.
- Boutet, P.; Heath, F.; Archer, J.; Villiers, E. (2009):
Comparison of quantitative immunoturbidimetric and semiquantitative latex-agglutination assays for D-dimer measurement in canine plasma.
Vet Clin Pathol. 38(1), 78-82.
- Bowles, K. S.; Beadle, R. E.; Mouch, S.; Pourciau, S. S.; Littlefield-Chabaud, M. A.; Le Blanc, C.; Mistic, L.; Fermaglich, D.; Horohov, D. W. (2002):
A novel model for equine recurrent airway obstruction.
Vet Immunol Immunopathol. 87(3-4), 385-9.
- Bracher, V.; von Fellenberg, R.; Winder, C. N.; Gruenig, G.; Hermann, M.; Kraehenmann, A. (1991):
An investigation of the incidence of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in random populations of Swiss horses.
Equine Vet J. 23(2), 136-41.
- Bradding, P.; Walls, A. F.; Holgate, S. T. (2006):
The role of the mast cell in the pathophysiology of asthma.
J Allergy Clin Immunol. 117(6), 1277-84.
- Brimms, F. J.; Chauhan, A. J.; Higgins, B.; Shute, J. K. (2009):
Coagulation factors in the airways in moderate and severe asthma and the effect of inhaled steroids.
Thorax. 64(12), 1037-43.

VI Literaturverzeichnis

- Brims, F. J.; Chauhan, A. J.; Higgins, B.; Shute, J. K. (2010):
Up-regulation of the extrinsic coagulation pathway in acute asthma--a case study.
J Asthma. 47(6), 695-8.
- Brogan, T. D.; Ryley, H. C.; Neale, L.; Yassa, J. (1975):
Soluble proteins of bronchopulmonary secretions from patients with cystic fibrosis, asthma,
and bronchitis.
Thorax. 30(1), 72-9.
- Brogren, H.; Karlsson, L.; Andersson, M.; Wang, L.; Erlinge, D.; Jern, S. (2004):
Platelets synthesize large amounts of active plasminogen activator inhibitor 1.
Blood. 104(13), 3943-8.
- Brooks, M. B. (2008):
Equine coagulopathies.
Vet Clin North Am Equine Pract. 24(2), 335-55, vi.
- Buckova, D.; Izakovicova Holla, L.; Vacha, J. (2002):
Polymorphism 4G/5G in the plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene is associated with
IgE-mediated allergic diseases and asthma in the Czech population.
Allergy. 57(5), 446-8.
- Buergelt, C. D.; Hines, S. A.; Cantor, G.; Stirk, A.; Wilson, J. H. (1986):
A retrospective study of proliferative interstitial lung disease of horses in Florida.
Vet Pathol. 23(6), 750-6.
- Bureau, F.; Bonizzi, G.; Kirschvink, N.; Delhalle, S.; Desmecht, D.; Merville, M. P.; Bours, V.;
Lekeux, P. (2000):
Correlation between nuclear factor-kappaB activity in bronchial brushing samples and lung
dysfunction in an animal model of asthma.
Am J Respir Crit Care Med. 161(4 Pt 1), 1314-21.
- Burkhardt, A. (1989):
Alveolitis and collapse in the pathogenesis of pulmonary fibrosis.
Am Rev Respir Dis. 140(2), 513-24.
- Cesarini, C.; Monreal, L.; Armengou, L.; Delgado, M. A.; Rios, J.; Jose-Cunilleras, E. (2010):
Association of admission plasma D-dimer concentration with diagnosis and outcome in
horses with colic.
J Vet Intern Med. 24(6), 1490-7.
- Chambers, R. C. (2008):
Procoagulant signalling mechanisms in lung inflammation and fibrosis: novel opportunities for
pharmacological intervention?
Br J Pharmacol. 153 Suppl 1, 367-78.
- Chapman, H. A.; Allen, C. L.; Stone, O. L. (1986):
Abnormalities in pathways of alveolar fibrin turnover among patients with interstitial lung
disease.
Am Rev Respir Dis. 133(3), 437-43.
- Chapman, H. A.; Bertozzi, P.; Sailor, L. Z.; Nusrat, A. R. (1990):
Alveolar macrophage urokinase receptors localize enzyme activity to the cell surface.
Am J Physiol. 259(6 Pt 1), L432-8.

VI Literaturverzeichnis

- Chapman, H. A., Jr.; Allen, C. L.; Stone, O. L.; Fair, D. S. (1985):
Human alveolar macrophages synthesize factor VII in vitro. Possible role in interstitial lung disease.
J Clin Invest. 75(6), 2030-7.
- Chapman, H. A.; Stahl, M.; Allen, C. L.; Yee, R.; Fair, D. S. (1988):
Regulation of the procoagulant activity within the bronchoalveolar compartment of normal human lung.
Am Rev Respir Dis. 137(6), 1417-25.
- Cho, S. H.; Hall, I. P.; Wheatley, A.; Dewar, J.; Abraha, D.; Del Mundo, J.; Lee, H.; Oh, C. K. (2001):
Possible role of the 4G/5G polymorphism of the plasminogen activator inhibitor 1 gene in the development of asthma.
J Allergy Clin Immunol. 108(2), 212-4.
- Cho, S. H.; Ryu, C. H.; Oh, C. K. (2004):
Plasminogen activator inhibitor-1 in the pathogenesis of asthma.
Exp Biol Med (Maywood). 229(2), 138-46.
- Cho, S. H.; Tam, S. W.; Demissie-Sanders, S.; Filler, S. A.; Oh, C. K. (2000):
Production of plasminogen activator inhibitor-1 by human mast cells and its possible role in asthma.
J Immunol. 165(6), 3154-61.
- Christmann, U.; Welles, E. G.; Waldrige, B. M.; Schumacher, J.; Grier, B. L.; Hite, R. D. (2008):
Abnormalities in lung surfactant in horses clinically affected with recurrent airway obstruction (RAO).
J Vet Intern Med. 22(6), 1452-5.
- Chu, E. K.; Cheng, J.; Foley, J. S.; Mecham, B. H.; Owen, C. A.; Haley, K. J.; Mariani, T. J.; Kohane, I. S.; Tschumperlin, D. J.; Drazen, J. M. (2006):
Induction of the plasminogen activator system by mechanical stimulation of human bronchial epithelial cells.
Am J Respir Cell Mol Biol. 35(6), 628-38.
- Ciano, P. S.; Colvin, R. B.; Dvorak, A. M.; McDonagh, J.; Dvorak, H. F. (1986):
Macrophage migration in fibrin gel matrices.
Lab Invest. 54(1), 62-70.
- Clark-Price, S. C.; Cox, J. H.; Bartoe, J. T.; Davis, E. G. (2004):
Use of dapsone in the treatment of Pneumocystis carinii pneumonia in a foal.
J Am Vet Med Assoc. 224(3), 407-10, 371.
- Clarke, A. F.; Madelin, T. (1987):
Technique for assessing respiratory health hazards from hay and other source materials.
Equine Vet J. 19(5), 442-7.
- Clements, J. M.; Pirie, R. S. (2007a):
Respirable dust concentrations in equine stables. Part 1: validation of equipment and effect of various management systems.
Res Vet Sci. 83(2), 256-62.
- Clements, J. M.; Pirie, R. S. (2007b):
Respirable dust concentrations in equine stables. Part 2: the benefits of soaking hay and optimising the environment in a neighbouring stable.
Res Vet Sci. 83(2), 263-8.

VI Literaturverzeichnis

- Collatos, C.; Barton, M. H.; Moore, J. N. (1995b):
Fibrinolytic activity in plasma from horses with gastrointestinal diseases: changes associated with diagnosis, surgery, and outcome.
J Vet Intern Med. 9(1), 18-23.
- Collatos, C.; Barton, M. H.; Prasse, K. W.; Moore, J. N. (1995a):
Intravascular and peritoneal coagulation and fibrinolysis in horses with acute gastrointestinal tract diseases.
J Am Vet Med Assoc. 207(4), 465-70.
- Collatos, C.; Barton, M. H.; Schleef, R.; Prasse, K. W.; Moore, J. N. (1994):
Regulation of equine fibrinolysis in blood and peritoneal fluid based on a study of colic cases and induced endotoxaemia.
Equine Vet J. 26(6), 474-81.
- Collen, D. (1999):
The plasminogen (fibrinolytic) system.
Thromb Haemost. 82(2), 259-70.
- Cordeau, M. E.; Joubert, P.; Dewachi, O.; Hamid, Q.; Lavoie, J. P. (2004):
IL-4, IL-5 and IFN-gamma mRNA expression in pulmonary lymphocytes in equine heaves.
Vet Immunol Immunopathol. 97(1-2), 87-96.
- Cornelisse, C. J.; Robinson, N. E.; Berney, C. E.; Kobe, C. A.; Boruta, D. T.; Derksen, F. J. (2004):
Efficacy of oral and intravenous dexamethasone in horses with recurrent airway obstruction.
Equine Vet J. 36(5), 426-30.
- Cosmi, L.; Liotta, F.; Maggi, E.; Romagnani, S.; Annunziato, F. (2011):
Th17 cells: new players in asthma pathogenesis.
Allergy. 66(8), 989-98.
- Costa, L. R.; Johnson, J. R.; Baur, M. E.; Beadle, R. E. (2006):
Temporal clinical exacerbation of summer pasture-associated recurrent airway obstruction and relationship with climate and aeroallergens in horses.
Am J Vet Res. 67(9), 1635-42.
- Couetil, L.; Hammer, J.; Miskovic Feutz, M.; Nogradi, N.; Perez-Moreno, C.; Ivester, K. (2012):
Effects of N-butylscopolammonium bromide on lung function in horses with recurrent airway obstruction.
J Vet Intern Med. 26(6), 1433-8.
- Couetil, L. L.; Art, T.; de Moffarts, B.; Becker, M.; Melotte, D.; Jaspar, F.; Bureau, F.; Lekeux, P. (2006):
Effect of beclomethasone dipropionate and dexamethasone isonicotinate on lung function, bronchoalveolar lavage fluid cytology, and transcription factor expression in airways of horses with recurrent airway obstruction.
J Vet Intern Med. 20(2), 399-406.
- Couetil, L. L.; Chilcoat, C. D.; DeNicola, D. B.; Clark, S. P.; Glickman, N. W.; Glickman, L. T. (2005):
Randomized, controlled study of inhaled fluticasone propionate, oral administration of prednisone, and environmental management of horses with recurrent airway obstruction.
Am J Vet Res. 66(10), 1665-74.

VI Literaturverzeichnis

Couetil, L. L.; Hoffman, A. M.; Hodgson, J.; Buechner-Maxwell, V.; Viel, L.; Wood, J. L.; Lavoie, J. P. (2007):
Inflammatory airway disease of horses.
J Vet Intern Med. 21(2), 356-61.

Couetil, L. L.; Rosenthal, F. S.; DeNicola, D. B.; Chilcoat, C. D. (2001):
Clinical signs, evaluation of bronchoalveolar lavage fluid, and assessment of pulmonary function in horses with inflammatory respiratory disease.
Am J Vet Res. 62(4), 538-46.

Couetil, L. L.; Ward, M. P. (2003):
Analysis of risk factors for recurrent airway obstruction in North American horses: 1,444 cases (1990-1999).
J Am Vet Med Assoc. 223(11), 1645-50.

Coughlin, S. R. (2000):
Thrombin signalling and protease-activated receptors.
Nature. 407(6801), 258-64.

Dallap, B. L.; Dolente, B.; Boston, R. (2003):
Coagulation profiles in 27 horses with large colon volvulus.
J Vet Emerg Crit Care. 13(4), 215-225.

Dallap Schaer, B. L.; Epstein, K. (2009):
Coagulopathy of the critically ill equine patient.
J Vet Emerg Crit Care (San Antonio). 19(1), 53-65.

Dauvillier, J.; Felipe, M. J.; Lunn, D. P.; Lavoie-Lamoureux, A.; Leclere, M.; Beauchamp, G.; Lavoie, J. P. (2011):
Effect of long-term fluticasone treatment on immune function in horses with heaves.
J Vet Intern Med. 25(3), 549-57.

Davie, E. W.; Ratnoff, O. D. (1964):
WATERFALL SEQUENCE FOR INTRINSIC BLOOD CLOTTING.
Science. 145(3638), 1310-2.

Dawson, S. J.; Wiman, B.; Hamsten, A.; Green, F.; Humphries, S.; Henney, A. M. (1993):
The two allele sequences of a common polymorphism in the promoter of the plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene respond differently to interleukin-1 in HepG2 cells.
J Biol Chem. 268(15), 10739-45.

de Lagarde, M.; Rodrigues, N.; Chevigny, M.; Beauchamp, G.; Albrecht, B.; Lavoie, J. P. (2014):
N-butylscopolammonium bromide causes fewer side effects than atropine when assessing bronchoconstriction reversibility in horses with heaves.
Equine Vet J.

de Moerloose, P.; De Benedetti, E.; Nicod, L.; Vifian, C.; Reber, G. (1992):
Procoagulant activity in bronchoalveolar fluids: no relationship with tissue factor pathway inhibitor activity.
Thromb Res. 65(4-5), 507-18.

Deaton, C. M.; Deaton, L.; Jose-Cunilleras, E.; Vincent, T. L.; Baird, A. W.; Dacre, K.; Marlin, D. J. (2007):
Early onset airway obstruction in response to organic dust in the horse.
J Appl Physiol. 102(3), 1071-7.

VI Literaturverzeichnis

- Debrue, M.; Hamilton, E.; Joubert, P.; Lajoie-Kadoch, S.; Lavoie, J. P. (2005):
Chronic exacerbation of equine heaves is associated with an increased expression of interleukin-17 mRNA in bronchoalveolar lavage cells.
Vet Immunol Immunopathol. 105(1-2), 25-31.
- Deegen, E.; Stadler, P.; Reinhard, H. J. (1985):
Zirkadiane Rhythmik von Lungenfunktionsparametern bei Pferden mit chronischen Bronchialerkrankungen.
Pferdeheilkunde. 1, 47-54.
- Delgado, M. A.; Monreal, L.; Armengou, L.; Rios, J.; Segura, D. (2009a):
Peritoneal D-dimer concentration for assessing peritoneal fibrinolytic activity in horses with colic.
J Vet Intern Med. 23(4), 882-9.
- Delgado, M. A.; Monreal, L.; Armengou, L.; Segura, D.; Rios, J. (2009b):
Effects of blood contamination on peritoneal D-dimer concentration in horses with colic.
J Vet Intern Med. 23(6), 1232-8.
- Dennler, S.; Itoh, S.; Vivien, D.; ten Dijke, P.; Huet, S.; Gauthier, J. M. (1998):
Direct binding of Smad3 and Smad4 to critical TGF beta-inducible elements in the promoter of human plasminogen activator inhibitor-type 1 gene.
EMBO J. 17(11), 3091-100.
- Derksen, F. J.; Brown, C. M.; Sonea, I.; Darien, B. J.; Robinson, N. E. (1989):
Comparison of transtracheal aspirate and bronchoalveolar lavage cytology in 50 horses with chronic lung disease.
Equine Vet J. 21(1), 23-6.
- Derksen, F. J.; Olszewski, M.; Robinson, N. E.; Berney, C.; Lloyd, J. W.; Hakala, J.; Matson, C.; Ruth, D. (1996):
Use of a hand-held, metered-dose aerosol delivery device to administer pirbuterol acetate to horses with 'heaves'.
Equine Vet J. 28(4), 306-10.
- Derksen, F. J.; Olszewski, M. A.; Robinson, N. E.; Berney, C.; Hakala, J. E.; Matson, C. J.; Ruth, D. T. (1999):
Aerosolized albuterol sulfate used as a bronchodilator in horses with recurrent airway obstruction.
Am J Vet Res. 60(6), 689-93.
- Derksen, F. J.; Robinson, N. E.; Scott, J. S.; Stick, J. A. (1988):
Aerosolized *Micropolyspora faeni* antigen as a cause of pulmonary dysfunction in ponies with recurrent airway obstruction (heaves).
Am J Vet Res. 49(6), 933-8.
- Dewhurst, E.; Cue, S.; Crawford, E.; Papasouliotis, K. (2008):
A retrospective study of canine D-dimer concentrations measured using an immunometric "Point-of-Care" test.
J Small Anim Pract. 49(7), 344-8.
- Di Nisio, M.; Squizzato, A.; Rutjes, A. W.; Buller, H. R.; Zwinderman, A. H.; Bossuyt, P. M. (2007):
Diagnostic accuracy of D-dimer test for exclusion of venous thromboembolism: a systematic review.
J Thromb Haemost. 5(2), 296-304.

- Dias, D. P. M.; De Lacerda Neto, J. C. (2013):
Jugular thrombophlebitis in horses: A review of fibrinolysis, thrombus formation, and clinical management.
Canadian Veterinary Journal. 54(1), 65-71.
- Dieckmann, M.; Klein, H. J.; Deegen, E. (1990):
Chronisch interstitielle Lungenerkrankung beim Pferd - Blutgasanalytische, sekretzytologische und röntgenologische Befunde.
Pferdeheilkunde. 6(4), 155-160.
- Dieckmann, M. P. (1987):
Zur Wirksamkeit von Ambroxolhydrochlorid (Mukovent^o) bei lungenkranken Pferden - klinische, funktionelle und zytologische Untersuchungen-
Hannover, Tierärztl. Hochsch. Hannover, Diss. S. 220
- Dixon, P. M. (1992):
Respiratory mucociliary clearance in the horse in health and disease, and its pharmaceutical modification.
Vet Rec. 131(11), 229-35.
- Dixon, P. M.; Railton, D. I.; McGorum, B. C. (1995a):
Equine pulmonary disease: a case control study of 300 referred cases. Part 1: Examination techniques, diagnostic criteria and diagnoses.
Equine Vet J. 27(6), 416-21.
- Dixon, P. M.; Railton, D. I.; McGorum, B. C. (1995b):
Equine pulmonary disease: a case control study of 300 referred cases. Part 2: Details of animals and of historical and clinical findings.
Equine Vet J. 27(6), 422-7.
- Dixon, P. M.; Railton, D. I.; McGorum, B. C. (1995c):
Equine pulmonary disease: a case control study of 300 referred cases. Part 3: Ancillary diagnostic findings.
Equine Vet J. 27(6), 428-35.
- Doucet, M. Y.; Vrins, A. A.; Ford-Hutchinson, A. W. (1991):
Histamine inhalation challenge in normal horses and in horses with small airway disease.
Can J Vet Res. 55(3), 285-93.
- Dungworth, D. L. (1982):
Interstitial pulmonary disease.
Adv Vet Sci Comp Med. 26, 173-200.
- Dunkel, B.; Chan, D. L.; Boston, R.; Monreal, L. (2010):
Association between hypercoagulability and decreased survival in horses with ischemic or inflammatory gastrointestinal disease.
J Vet Intern Med. 24(6), 1467-74.
- Duvivier, D. H.; Votion, D.; Vandenput, S.; Art, T.; Lekeux, P. (1997):
Airway response of horses with COPD to dry powder inhalation of ipratropium bromide.
Vet J. 154(2), 149-53.
- Duvivier, D. H.; Votion, D.; Vandenput, S.; Lekeux, P. (1997):
Aerosol therapy in the equine species.
Vet J. 154(3), 189-202.

VI Literaturverzeichnis

Eitzman, D. T.; McCoy, R. D.; Zheng, X.; Fay, W. P.; Shen, T.; Ginsburg, D.; Simon, R. H. (1996):

Bleomycin-induced pulmonary fibrosis in transgenic mice that either lack or overexpress the murine plasminogen activator inhibitor-1 gene.

J Clin Invest. 97(1), 232-7.

Elias, J. A.; Zhu, Z.; Chupp, G.; Homer, R. J. (1999):

Airway remodeling in asthma.

J Clin Invest. 104(8), 1001-6.

Engelmann, B.; Luther, T.; Muller, I. (2003):

Intravascular tissue factor pathway--a model for rapid initiation of coagulation within the blood vessel.

Thromb Haemost. 89(1), 3-8.

Erichsen, D. F.; Aviad, A. D.; Schultz, R. H.; Kennedy, T. J. (1994):

Clinical efficacy and safety of clenbuterol HCl when administered to effect in horses with chronic obstructive pulmonary disease (COPD).

Equine Vet J. 26(4), 331-6.

Eriksson, P.; Kallin, B.; van 't Hooft, F. M.; Bavenholm, P.; Hamsten, A. (1995):

Allele-specific increase in basal transcription of the plasminogen-activator inhibitor 1 gene is associated with myocardial infarction.

Proc Natl Acad Sci U S A. 92(6), 1851-5.

Evans, A. G.; Paradis, M. R.; O'Callaghan, M. (1992):

Intradermal testing of horses with chronic obstructive pulmonary disease and recurrent urticaria.

Am J Vet Res. 53(2), 203-8.

Fahy, J. V.; Kim, K. W.; Liu, J.; Boushey, H. A. (1995):

Prominent neutrophilic inflammation in sputum from subjects with asthma exacerbation.

J Allergy Clin Immunol. 95(4), 843-52.

Fairbairn, S. M.; Lees, P.; Page, C. P.; Cunningham, F. M. (1993):

Duration of antigen-induced hyperresponsiveness in horses with allergic respiratory disease and possible links with early airway obstruction.

J Vet Pharmacol Ther. 16(4), 469-76.

Fairbairn, S. M.; Page, C. P.; Lees, P.; Cunningham, F. M. (1993):

Early neutrophil but not eosinophil or platelet recruitment to the lungs of allergic horses following antigen exposure.

Clin Exp Allergy. 23(10), 821-8.

Feige, K.; Kästner, S. B.; Dempfle, C. E.; Balestra, E. (2003):

Changes in coagulation and markers of fibrinolysis in horses undergoing colic surgery.

J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med. 50(1), 30-6.

Fey, K. (2005):

Der klinische Nutzen zytologischer Untersuchungen von bronchoalveolärer Lavageflüssigkeit bei der Differenzierung chronischer Bronchitiden des Pferdes. Habil. -

Gießen: DVG Service GmbH. - ISBN:3-938026-08-1.

Fey, K.; Grabner, A. (2013):

30.2 Zytologie von Tracheobronchialsekret (TBS) und bronchoalveolärer Lavageflüssigkeit (BALF) beim Pferd.

In: Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin (7. Auflage). / Hrsg. A. Moritz. - Stuttgart, Deutschland: Schattauer GmbH. - ISBN:978-3-7945-2737-3. S. 568-581.

- Fey, K.; Ohnesorge, B. (2009):
Alles Routine oder doch Herausforderung? Diagnostik und Therapie chronischer Atemwegserkrankungen beim Pferd.
Vortragsheft, Fortbildungsveranstaltung Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Frühjahr 2009.
- Fowler, W. E.; Erickson, H. P. (1979):
Trinodular structure of fibrinogen. Confirmation by both shadowing and negative stain electron microscopy.
J Mol Biol. 134(2), 241-9.
- Franchini, M.; Gill, U.; von Fellenberg, R.; Bracher, V. D. (2000):
Interleukin-8 concentration and neutrophil chemotactic activity in bronchoalveolar lavage fluid of horses with chronic obstructive pulmonary disease following exposure to hay.
Am J Vet Res. 61(11), 1369-74.
- Franchini, M.; Gilli, U.; Akens, M. K.; Fellenberg, R. V.; Bracher, V. (1998):
The role of neutrophil chemotactic cytokines in the pathogenesis of equine chronic obstructive pulmonary disease (COPD).
Vet Immunol Immunopathol. 66(1), 53-65.
- Fuchs-Buder, T.; de Moerloose, P.; Ricou, B.; Reber, G.; Vifian, C.; Nicod, L.; Romand, J. A.; Suter, P. M. (1996):
Time course of procoagulant activity and D dimer in bronchoalveolar fluid of patients at risk for or with acute respiratory distress syndrome.
Am J Respir Crit Care Med. 153(1), 163-7.
- Gabazza, E. C.; Taguchi, O.; Tamaki, S.; Takeya, H.; Kobayashi, H.; Yasui, H.; Kobayashi, T.; Hataji, O.; Urano, H.; Zhou, H.; Suzuki, K.; Adachi, Y. (1999):
Thrombin in the airways of asthmatic patients.
Lung. 177(4), 253-62.
- Gehlen, H.; Niedermaier, G.; May, A. (2009):
Was bringt die Röntgen- und Ultraschalluntersuchung bei Lungenerkrankungen des Pferdes?
Pferdeheilkunde. 25(4), 288-301.
- Geiger, M. (2010):
27 Komponenten des fibrinolytischen Systems.
In: Hämostaseologie-Grundlagen, Diagnostik, Therapie (2. Auflage). / Hrsg. B. Plötzsch and K. Madlener. - Berlin, Heidelberg, Deutschland: Springer-Verlag GmbH. - ISBN:978-3-642-01543-4. S. 269-278.
- Gerber, H. (1973):
Chronic Pulmonary Disease in the Horse.
Equine Vet J. 5(1), 26-33.
- Gerber, V. (2013):
Lower airway disease. Focus on Recurrent Airway Obstruction. 13th International Congress of the World Equine Veterinary Association WEVA, Budapest, Ungarn, IVIS.
- Gerber, V.; Baleri, D.; Klukowska-Rotzler, J.; Swinburne, J. E.; Dolf, G. (2009):
Mixed inheritance of equine recurrent airway obstruction.
J Vet Intern Med. 23(3), 626-30.

VI Literaturverzeichnis

- Gerber, V.; King, M.; Schneider, D. A.; Robinson, N. E. (2000):
Tracheobronchial mucus viscoelasticity during environmental challenge in horses with recurrent airway obstruction.
Equine Vet J. 32(5), 411-7.
- Gerber, V.; Robinson, N. E.; Venta, R. J.; Rawson, J.; Jefcoat, A. M.; Hotchkiss, J. A. (2003):
Mucin genes in horse airways: MUC5AC, but not MUC2, may play a role in recurrent airway obstruction.
Equine Vet J. 35(3), 252-7.
- Gerber, V.; Straub, R.; Marti, E.; Hauptman, J.; Herholz, C.; King, M.; Imhof, A.; Tahon, L.; Robinson, N. E. (2004):
Endoscopic scoring of mucus quantity and quality: observer and horse variance and relationship to inflammation, mucus viscoelasticity and volume.
Equine Vet J. 36(7), 576-82.
- Gerber, V.; Swinburne, J. E.; Blott, S. C.; Nussbaumer, P.; Ramseyer, A.; Klukowska-Rotzler, J.; Dolf, G.; Marti, E.; Burger, D.; Leeb, T. (2008):
[Genetics of recurrent airway obstruction (RAO)].
Dtsch Tierarztl Wochenschr. 115(7), 271-5.
- Ghosh, A. K.; Vaughan, D. E. (2012):
PAI-1 in tissue fibrosis.
J Cell Physiol. 227(2), 493-507.
- Giguere, S.; Viel, L.; Lee, E.; MacKay, R. J.; Hernandez, J.; Franchini, M. (2002):
Cytokine induction in pulmonary airways of horses with heaves and effect of therapy with inhaled fluticasone propionate.
Vet Immunol Immunopathol. 85(3-4), 147-58.
- Goehring, L. S.; Soboll Hussey, G.; Gomez Diez, M.; Benedict, K.; Maxwell, L. K.; Morley, P. S.; Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan, M. M.; Lunn, D. P. (2013):
Plasma D-Dimer Concentrations during Experimental EHV-1 Infection of Horses.
J Vet Intern Med.
- Goehring, L. S.; Soboll Hussey, G.; Gomez Diez, M.; Benedict, K.; Maxwell, L. K.; Morley, P. S.; Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan, M. M.; Lunn, D. P. (2013):
Plasma D-dimer concentrations during experimental EHV-1 infection of horses.
J Vet Intern Med. 27(6), 1535-42.
- Goldie, R. G.; Pedersen, K. E. (1995):
Mechanisms of increased airway microvascular permeability: role in airway inflammation and obstruction.
Clin Exp Pharmacol Physiol. 22(6-7), 387-96.
- Grabner, A.; Fey, K. (2013):
33 Spezielle Untersuchungen beim Pferd.
In: *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin (7. Auflage).* / Hrsg. A. Moritz. - Stuttgart, Deutschland: Schattauer gmbH. - ISBN:978-3-7945-2737-3. S. 703-723.
- Gray, A. J.; Bishop, J. E.; Reeves, J. T.; Laurent, G. J. (1993):
A alpha and B beta chains of fibrinogen stimulate proliferation of human fibroblasts.
J Cell Sci. 104 (Pt 2), 409-13.
- Gray, A. J.; Bishop, J. E.; Reeves, J. T.; Mecham, R. P.; Laurent, G. J. (1995):
Partially degraded fibrin(ogen) stimulates fibroblast proliferation in vitro.
Am J Respir Cell Mol Biol. 12(6), 684-90.

VI Literaturverzeichnis

Gray, P. R.; Derksen, F. J.; Robinson, N. E.; Carpenter-Deyo, L. J.; Johnson, H. G.; Roth, R. A. (1989):

The role of cyclooxygenase products in the acute airway obstruction and airway hyperreactivity of ponies with heaves.

Am Rev Respir Dis. 140(1), 154-60.

Griffin, A.; Callan, M. B.; Shofer, F. S.; Giger, U. (2003):

Evaluation of a canine D-dimer point-of-care test kit for use in samples obtained from dogs with disseminated intravascular coagulation, thromboembolic disease, and hemorrhage.

Am J Vet Res. 64(12), 1562-9.

Grinnell, F.; Feld, M.; Minter, D. (1980):

Fibroblast adhesion to fibrinogen and fibrin substrata: requirement for cold-insoluble globulin (plasma fibronectin).

Cell. 19(2), 517-25.

Gross, T. J.; Simon, R. H.; Sitrin, R. G. (1990):

Expression of urokinase-type plasminogen activator by rat pulmonary alveolar epithelial cells.

Am J Respir Cell Mol Biol. 3(5), 449-56.

Grünig, G.; Hermann, M.; Winder, C.; Von Fellenberg, R. (1988):

Procoagulant activity in respiratory tract secretions from horses with chronic pulmonary disease.

Am J Vet Res. 49(5), 705-9.

Grünig, G.; Hulliger, C.; Hermann, M.; Winder, C.; von Fellenberg, R. (1990):

Separation of equine bronchopulmonary lavage cells by density gradient centrifugation and expression of procoagulant activity in unpurified cells and cell subpopulations.

Res Vet Sci. 49(1), 39-45.

Grünig, G.; Hulliger, C.; Winder, C.; Hermann, M.; Jungi, T. W.; von Fellenberg, R. (1991a):

Spontaneous and lipopolysaccharide-induced expression of procoagulant activity by equine lung macrophages in comparison with blood monocytes and blood neutrophils.

Vet Immunol Immunopathol. 29(3-4), 295-312.

Grünig, G.; Winder, C.; Hulliger, C.; Witschi, U.; Hermann, M.; Jungi, T. W.; von Fellenberg, R. (1991c):

Expression of procoagulant activity by equine lung macrophages: stimulation by blood lymphocytes.

Res Vet Sci. 51(3), 278-84.

Grünig, G.; Witschi, U.; Winder, C.; Hermann, M.; von Fellenberg, R. (1991b):

Neutrophil migration induced by equine respiratory secretions, bronchoalveolar lavage fluids and culture supernatants of pulmonary lavage cells.

Vet Immunol Immunopathol. 29(3-4), 313-28.

Günther, A.; Lubke, N.; Ermert, M.; Schermuly, R. T.; Weissmann, N.; Breithecker, A.; Markart, P.; Ruppert, C.; Quanz, K.; Ermert, L.; Grimminger, F.; Seeger, W. (2003):

Prevention of bleomycin-induced lung fibrosis by aerosolization of heparin or urokinase in rabbits.

Am J Respir Crit Care Med. 168(11), 1358-65.

Günther, A.; Mosavi, P.; Heinemann, S.; Ruppert, C.; Muth, H.; Markart, P.; Grimminger, F.; Walmrath, D.; Temmesfeld-Wollbruck, B.; Seeger, W. (2000a):

Alveolar fibrin formation caused by enhanced procoagulant and depressed fibrinolytic capacities in severe pneumonia. Comparison with the acute respiratory distress syndrome.

Am J Respir Crit Care Med. 161(2 Pt 1), 454-62.

VI Literaturverzeichnis

Günther, A.; Mosavi, P.; Ruppert, C.; Heinemann, S.; Temmesfeld, B.; Velcovsky, H. G.; Morr, H.; Grimminger, F.; Walmrath, D.; Seeger, W. (2000b):
Enhanced tissue factor pathway activity and fibrin turnover in the alveolar compartment of patients with interstitial lung disease.
Thromb Haemost. 83(6), 853-60.

Haidaris, P. J. (1997):
Induction of fibrinogen biosynthesis and secretion from cultured pulmonary epithelial cells.
Blood. 89(3), 873-82.

Halliwell, R. E.; McGorum, B. C.; Irving, P.; Dixon, P. M. (1993):
Local and systemic antibody production in horses affected with chronic obstructive pulmonary disease.
Vet Immunol Immunopathol. 38(3-4), 201-15.

Hare, J. E.; Viel, L. (1998):
Pulmonary eosinophilia associated with increased airway responsiveness in young racing horses.
J Vet Intern Med. 12(3), 163-70.

Hare, J. E.; Viel, L.; Conlon, P. D.; Marshall, J. S. (1999):
In vitro allergen-induced degranulation of pulmonary mast cells from horses with recurrent airway obstruction (heaves).
Am J Vet Res. 60(7), 841-7.

Hare, J. E.; Viel, L.; O'Byrne, P. M.; Conlon, P. D. (1994):
Effect of sodium cromoglycate on light racehorses with elevated metachromatic cell numbers on bronchoalveolar lavage and reduced exercise tolerance.
J Vet Pharmacol Ther. 17(3), 237-44.

Hasday, J. D.; Bachwich, P. R.; Lynch, J. P., 3rd; Sitrin, R. G. (1988):
Procoagulant and plasminogen activator activities of bronchoalveolar fluid in patients with pulmonary sarcoidosis.
Exp Lung Res. 14(2), 261-78.

Hattori, N.; Degen, J. L.; Sisson, T. H.; Liu, H.; Moore, B. B.; Pandrangi, R. G.; Simon, R. H.; Drew, A. F. (2000):
Bleomycin-induced pulmonary fibrosis in fibrinogen-null mice.
J Clin Invest. 106(11), 1341-1350.

Heidmann, P.; Tornquist, S. J.; Qu, A.; Cebra, C. K. (2005):
Laboratory measures of hemostasis and fibrinolysis after intravenous administration of epsilon-aminocaproic acid in clinically normal horses and ponies.
Am J Vet Res. 66(2), 313-8.

Henrikson, S. L.; Rush, B. R. (2001):
Efficacy of salmeterol xinafoate in horses with recurrent airway obstruction.
J Am Vet Med Assoc. 218(12), 1961-5.

Henry, M. M.; Moore, J. N. (1988):
Endotoxin-induced procoagulant activity in equine peripheral blood monocytes.
Circ Shock. 26(3), 297-309.

Henry, M. M.; Moore, J. N. (1991):
Clinical relevance of monocyte procoagulant activity in horses with colic.
J Am Vet Med Assoc. 198(5), 843-8.

VI Literaturverzeichnis

- Herholz, C. P.; Gerber, V.; Tschudi, P.; Straub, R.; Imhof, A.; Busato, A. (2003):
Use of volumetric capnography to identify pulmonary dysfunction in horses with and without clinically apparent recurrent airway obstruction.
Am J Vet Res. 64(3), 338-45.
- Herszberg, B.; Ramos-Barbon, D.; Tamaoka, M.; Martin, J. G.; Lavoie, J. P. (2006):
Heaves, an asthma-like equine disease, involves airway smooth muscle remodeling.
J Allergy Clin Immunol. 118(2), 382-8.
- Hilton, H.; Pusteria, N. (2009):
Intraleural fibrinolytic therapy in the management of septic pleuropneumonia in a horse.
Veterinary Record. 164(18), 558.
- Hoffman, A. M. (1997):
Inhaled medications and bronchodilator usage in the horse.
Vet Clin North Am Equine Pract. 13(3), 519-30.
- Hoffman, A. M. (2008):
Bronchoalveolar lavage: sampling technique and guidelines for cytologic preparation and interpretation.
Vet Clin North Am Equine Pract. 24(2), 423-35, vii-viii.
- Hoffman, A. M.; Mazan, M. R.; Ellenberg, S. (1998):
Association between bronchoalveolar lavage cytologic features and airway reactivity in horses with a history of exercise intolerance.
Am J Vet Res. 59(2), 176-81.
- Hoffman, M.; Monroe, D. M. (2007):
Coagulation 2006: a modern view of hemostasis.
Hematol Oncol Clin North Am. 21(1), 1-11.
- Hoffman, M.; Monroe, D. M., 3rd (2001):
A cell-based model of hemostasis.
Thromb Haemost. 85(6), 958-65.
- Holgate, S. T. (2008):
Pathogenesis of asthma.
Clin Exp Allergy. 38(6), 872-97.
- Holmdahl, L. (1997):
The role of fibrinolysis in adhesion formation.
Eur J Surg Suppl(577), 24-31.
- Holmes, M. A.; Ramey, D. W. (2007):
An Introduction to Evidence-Based Veterinary Medicine.
Veterinary Clinics of North America: Equine Practice. 23(2), 191-200.
- Horiba, M.; Qutna, N.; Gendapodi, P.; Agrawal, S.; Sapkota, K.; Abel, P.; Townley, R. G. (2011):
Effect of IL-1beta and TNF-alpha vs IL-13 on bronchial hyperresponsiveness, beta2-adrenergic responses and cellularity of bronchial alveolar lavage fluid.
Auton Autacoid Pharmacol. 31(3-4), 37-49.
- Horohov, D. W.; Beadle, R. E.; Mouch, S.; Pourciau, S. S. (2005):
Temporal regulation of cytokine mRNA expression in equine recurrent airway obstruction.
Vet Immunol Immunopathol. 108(1-2), 237-45.

VI Literaturverzeichnis

- Hotchkiss, J. W.; Reid, S. W.; Christley, R. M. (2007):
A survey of horse owners in Great Britain regarding horses in their care. Part 2: Risk factors for recurrent airway obstruction.
Equine Vet J. 39(4), 301-8.
- Hotchkiss, J. W.; Reid, S. W. J.; Christley, R. M. (2007):
A survey of horse owners in Great Britain regarding horses in their care. Part 2: Risk factors for recurrent airway obstruction.
Equine Vet J. 39(4), 301-308.
- Idell, S. (2002):
Endothelium and disordered fibrin turnover in the injured lung: newly recognized pathways.
Crit Care Med. 30(5 Suppl), S274-80.
- Idell, S. (2003):
Coagulation, fibrinolysis, and fibrin deposition in acute lung injury.
Crit Care Med. 31(4 Suppl), S213-20.
- Idell, S.; Gonzalez, K.; Bradford, H.; MacArthur, C. K.; Fein, A. M.; Maunder, R. J.; Garcia, J. G.; Griffith, D. E.; Weiland, J.; Martin, T. R.; et al. (1987b):
Procoagulant activity in bronchoalveolar lavage in the adult respiratory distress syndrome. Contribution of tissue factor associated with factor VII.
Am Rev Respir Dis. 136(6), 1466-74.
- Idell, S.; Gonzalez, K. K.; MacArthur, C. K.; Gillies, C.; Walsh, P. N.; McLarty, J.; Thrall, R. S. (1987a):
Bronchoalveolar lavage procoagulant activity in bleomycin-induced lung injury in marmosets. Characterization and relationship to fibrin deposition and fibrosis.
Am Rev Respir Dis. 136(1), 124-33.
- Idell, S.; James, K. K.; Levin, E. G.; Schwartz, B. S.; Manchanda, N.; Maunder, R. J.; Martin, T. R.; McLarty, J.; Fair, D. S. (1989b):
Local abnormalities in coagulation and fibrinolytic pathways predispose to alveolar fibrin deposition in the adult respiratory distress syndrome.
J Clin Invest. 84(2), 695-705.
- Idell, S.; Koenig, K. B.; Fair, D. S.; Martin, T. R.; McLarty, J.; Maunder, R. J. (1991):
Serial abnormalities of fibrin turnover in evolving adult respiratory distress syndrome.
Am J Physiol. 261(4 Pt 1), L240-8.
- Idell, S.; Peters, J.; James, K. K.; Fair, D. S.; Coalson, J. J. (1989a):
Local abnormalities of coagulation and fibrinolytic pathways that promote alveolar fibrin deposition in the lungs of baboons with diffuse alveolar damage.
J Clin Invest. 84(1), 181-93.
- Idell, S.; Peterson, B. T.; Gonzalez, K. K.; Gray, L. D.; Bach, R.; McLarty, J.; Fair, D. S. (1988):
Local abnormalities of coagulation and fibrinolysis and alveolar fibrin deposition in sheep with oleic acid-induced lung injury.
Am Rev Respir Dis. 138(5), 1282-94.
- Jackson, C. A.; Berney, C.; Jefcoat, A. M.; Robinson, N. E. (2000):
Environment and prednisone interactions in the treatment of recurrent airway obstruction (heaves).
Equine Vet J. 32(5), 432-8.

VI Literaturverzeichnis

- Jacobsen, S.; Andersen, P. H. (2007):
The acute phase protein serum amyloid A (SAA) as a marker of inflammation in horses.
Equine Veterinary Education. 19(1), 38-46.
- Jahn, W.; Deegen, E. (1985):
Veränderungen der Surfactantphospholipid-Zusammensetzung im Tracheobronchialsekret
chronisch lungenkranker Pferde.
Pferdeheilkunde. 1, 155-158.
- Jean, D.; Vrins, A.; Beauchamp, G.; Lavoie, J. P. (2011):
Evaluation of variations in bronchoalveolar lavage fluid in horses with recurrent airway
obstruction.
Am J Vet Res. 72(6), 838-42.
- Jeffery, P. K. (2001):
Remodeling in asthma and chronic obstructive lung disease.
Am J Respir Crit Care Med. 164(10 Pt 2), S28-38.
- Johanson, W. G., Jr.; Holcomb, J. R.; Coalson, J. J. (1982):
Experimental diffuse alveolar damage in baboons.
Am Rev Respir Dis. 126(1), 142-51.
- Johnstone, I. B.; Crane, S. (1986):
Haemostatic abnormalities in horses with colic--their prognostic value.
Equine Vet J. 18(4), 271-4.
- Jost, U.; Klukowska-Rotzler, J.; Dolf, G.; Swinburne, J. E.; Ramseyer, A.; Bugno, M.; Burger,
D.; Blott, S.; Gerber, V. (2007):
A region on equine chromosome 13 is linked to recurrent airway obstruction in horses.
Equine Vet J. 39(3), 236-41.
- Joubert, P.; Cordeau, M. E.; Lavoie, J. P. (2011):
Cytokine mRNA expression of pulmonary macrophages varies with challenge but not with
disease state in horses with heaves or in controls.
Vet Immunol Immunopathol. 142(3-4), 236-42.
- Joubert, P.; Silversides, D. W.; Lavoie, J. P. (2001):
Equine neutrophils express mRNA for tumour necrosis factor-alpha, interleukin (IL)-1beta, IL-
6, IL-8, macrophage-inflammatory-protein-2 but not for IL-4, IL-5 and interferon-gamma.
Equine Vet J. 33(7), 730-3.
- Kabisch, M.; Ruckes, C.; Seibert-Grafe, M.; Blettner, M. (2011):
Randomisierte kontrollierte Studien: Teil 17 der Serie zur Bewertung wissenschaftlicher
Publikationen.
Dtsch Arztebl International. 108(39), 663-8.
- Kampmann, C. O., B.; Venner, M. und Deegen, E. (2001):
Budesonid-Aerosoltherapie und Lungenfunktion bei chronisch lungenkranken Pferden.
Pferdeheilkunde. 17, 155-160.
- Kaup, F. J.; Drommer, W.; Damsch, S.; Deegen, E. (1990b):
Ultrastructural findings in horses with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). II:
Pathomorphological changes of the terminal airways and the alveolar region.
Equine Vet J. 22(5), 349-55.

VI Literaturverzeichnis

- Kaup, F. J.; Drommer, W.; Deegen, E. (1990a):
Ultrastructural findings in horses with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). I: Alterations of the larger conducting airways.
Equine Vet J. 22(5), 343-8.
- King, J. N.; Gerring, E. L. (1988):
Detection of endotoxin in cases of equine colic.
Vet Rec. 123(10), 269-71.
- Kleiber, C.; Grunig, G.; Jungi, T.; Schmucker, N.; Gerber, H.; Davis, W. C.; Straub, R. (1999):
Phenotypic analysis of bronchoalveolar lavage fluid lymphocytes in horses with chronic pulmonary disease.
Zentralbl Veterinarmed A. 46(3), 177-84.
- Klein, H. J.; Deegen, E. (1986):
Histamine inhalation provocation test: method to identify nonspecific airway reactivity in equids.
Am J Vet Res. 47(8), 1796-800.
- Koblinger, K.; Nicol, J.; McDonald, K.; Wasko, A.; Logie, N.; Weiss, M.; Leguillette, R. (2011):
Endoscopic assessment of airway inflammation in horses.
J Vet Intern Med. 25(5), 1118-26.
- Koch, C.; Straub, R.; Ramseyer, A.; Widmer, A.; Robinson, N. E.; Gerber, V. (2007):
Endoscopic scoring of the tracheal septum in horses and its clinical relevance for the evaluation of lower airway health in horses.
Equine Vet J. 39(2), 107-12.
- Koivunen, A. L.; Maisi, P.; Konttinen, Y. T.; Prikk, K.; Sandholm, M. (1997):
Collagenolytic activity and its sensitivity to doxycycline inhibition in tracheal aspirates of horses with chronic obstructive pulmonary disease.
Acta Vet Scand. 38(1), 9-16.
- Koivunen, A. L.; Maisi, P.; Konttinen, Y. T.; Sandholm, M. (1997):
Gelatinolytic activity in tracheal aspirates of horses with chronic obstructive pulmonary disease.
Acta Vet Scand. 38(1), 17-27.
- Kotani, I.; Sato, A.; Hayakawa, H.; Urano, T.; Takada, Y.; Takada, A. (1995):
Increased procoagulant and antifibrinolytic activities in the lungs with idiopathic pulmonary fibrosis.
Thromb Res. 77(6), 493-504.
- Kucharewicz, I.; Kowal, K.; Buczko, W.; Bodzenta-Lukaszyk, A. (2003):
The plasmin system in airway remodeling.
Thromb Res. 112(1-2), 1-7.
- Kurashima, K.; Fujimura, M.; Matsuda, T.; Kobayashi, T. (1997):
Surface activity of sputum from acute asthmatic patients.
Am J Respir Crit Care Med. 155(4), 1254-9.
- Kutasi, O.; Balogh, N.; Lajos, Z.; Nagy, K.; Szenci, O. (2011):
Diagnostic Approaches for the Assessment of Equine Chronic Pulmonary Disorders.
Journal of Equine Veterinary Science. 31(7), 400-410.

VI Literaturverzeichnis

- Laan, T. T.; Bull, S.; Pirie, R.; Fink-Gremmels, J. (2006a):
The role of alveolar macrophages in the pathogenesis of recurrent airway obstruction in horses.
J Vet Intern Med. 20(1), 167-74.
- Laan, T. T.; Bull, S.; Pirie, R. S.; Fink-Gremmels, J. (2006b):
The anti-inflammatory effects of IV administered clenbuterol in horses with recurrent airway obstruction.
Vet J. 171(3), 429-37.
- Laan, T. T.; Bull, S.; van Nieuwstadt, R. A.; Fink-Gremmels, J. (2006c):
The effect of aerosolized and intravenously administered clenbuterol and aerosolized fluticasone propionate on horses challenged with *Aspergillus fumigatus* antigen.
Vet Res Commun. 30(6), 623-35.
- Lapointe, J. M.; Lavoie, J. P.; Vrins, A. A. (1993):
Effects of triamcinolone acetonide on pulmonary function and bronchoalveolar lavage cytologic features in horses with chronic obstructive pulmonary disease.
Am J Vet Res. 54(8), 1310-6.
- Larson, V. L.; Busch, R. H. (1985):
Equine tracheobronchial lavage: comparison of lavage cytologic and pulmonary histopathologic findings.
Am J Vet Res. 46(1), 144-6.
- Lavoie-Lamoureux, A.; Leclere, M.; Lemos, K.; Wagner, B.; Lavoie, J. P. (2012):
Markers of systemic inflammation in horses with heaves.
J Vet Intern Med. 26(6), 1419-26.
- Lavoie, J.-P. (2007):
41 - Recurrent Airway Obstruction (Heaves) and Summer-pasture-associated Obstructive Pulmonary Disease.
In: Equine Respiratory Medicine and Surgery. / Hrsg. C. M. Bruce, M. D. Padraic, N. E. Robinson and J. Schumacher. - Philadelphia, Pennsylvania, USA: Elsevier Ltd. - ISBN:978-0-7020-2759-8. S. 565-589.
- Lavoie, J.-P. (2009):
Heaves in horses : Allergy or non-specific response to environmental antigens? 11th Geneva Congress on Equine Medicine and Surgery, Genf, Schweiz, IVIS.
- Lavoie, J. P.; Maghni, K.; Desnoyers, M.; Taha, R.; Martin, J. G.; Hamid, Q. A. (2001):
Neutrophilic airway inflammation in horses with heaves is characterized by a Th2-type cytokine profile.
Am J Respir Crit Care Med. 164(8 Pt 1), 1410-3.
- Leavell, K. J.; Peterson, M. W.; Gross, T. J. (1996):
The role of fibrin degradation products in neutrophil recruitment to the lung.
Am J Respir Cell Mol Biol. 14(1), 53-60.
- Leclere, M.; Lavoie-Lamoureux, A.; Gelinias-Lymburner, E.; David, F.; Martin, J. G.; Lavoie, J. P. (2011a):
Effect of antigenic exposure on airway smooth muscle remodeling in an equine model of chronic asthma.
Am J Respir Cell Mol Biol. 45(1), 181-7.
- Leclere, M.; Lavoie-Lamoureux, A.; Lavoie, J. P. (2011b):
Heaves, an asthma-like disease of horses.
Respirology. 16(7), 1027-46.

VI Literaturverzeichnis

- Leclere, M.; Lefebvre-Lavoie, J.; Beauchamp, G.; Lavoie, J. P. (2010):
Efficacy of oral prednisolone and dexamethasone in horses with recurrent airway obstruction in the presence of continuous antigen exposure.
Equine Vet J. 42(4), 316-21.
- Lee, S. H.; Eren, M.; Vaughan, D. E.; Schleimer, R. P.; Cho, S. H. (2012):
A Plasminogen Activator Inhibitor-1 Inhibitor Reduces Airway Remodeling in a Murine Model of Chronic Asthma.
Am J Respir Cell Mol Biol. 46(6), 842-6.
- Leguillette, R. (2003):
Recurrent airway obstruction--heaves.
Vet Clin North Am Equine Pract. 19(1), 63-86, vi.
- Lijnen, H. R.; Collen, D. (1995):
Mechanisms of physiological fibrinolysis.
Baillieres Clin Haematol. 8(2), 277-90.
- Liu, R. M. (2008):
Oxidative stress, plasminogen activator inhibitor 1, and lung fibrosis.
Antioxid Redox Signal. 10(2), 303-19.
- Lopez-Campos, J. L.; Calero, C.; Rojano, B.; Lopez-Porras, M.; Saenz-Coronilla, J.; Blanco, A. I.; Sanchez-Lopez, V.; Tobar, D.; Montes-Worboys, A.; Arellano, E. (2013):
C-reactive protein and serum amyloid a overexpression in lung tissues of chronic obstructive pulmonary disease patients: a case-control study.
Int J Med Sci. 10(8), 938-47.
- Lorch, G.; Hillier, A.; Kwochka, K. W.; Saville, W. J.; Kohn, C. W.; Jose-Cunilleras, E. (2001):
Results of intradermal tests in horses without atopy and horses with chronic obstructive pulmonary disease.
Am J Vet Res. 62(3), 389-97.
- Lowell, F. C. (1990):
Observations on heaves. An asthma-like syndrome in the horse. 1964.
Allergy Proc. 11(3), 149-50; discussion 147-8.
- Lugo, J.; Harkema, J. R.; deFeijter-Rupp, H.; Bartner, L.; Boruta, D.; Robinson, N. E. (2006):
Airway inflammation is associated with mucous cell metaplasia and increased intraepithelial stored mucosubstances in horses.
Vet J. 172(2), 293-301.
- Lyberg, T.; Nakstad, B.; Hetland, O.; Boye, N. P. (1990):
Procoagulant (thromboplastin) activity in human bronchoalveolar lavage fluids is derived from alveolar macrophages.
Eur Respir J. 3(1), 61-7.
- Ma, Z.; Jhun, B.; Oh, C. K. (2007):
Upstream stimulating factor-1 mediates the E-box-dependent transcriptional repression of the plasminogen activator inhibitor-1 gene in human mast cells.
FEBS Lett. 581(23), 4485-90.
- Ma, Z.; Paek, D.; Oh, C. K. (2009):
Plasminogen activator inhibitor-1 and asthma: role in the pathogenesis and molecular regulation.
Clin Exp Allergy. 39(8), 1136-44.

Madlener, K.; Pötzsch, B. (2010):

1 Hämostasesystem.

In: Hämostaseologie-Grundlagen, Diagnostik, Therapie (2. Auflage). / Hrsg. B. Pötzsch and K. Madlener. - Berlin, Heidelberg, Deutschland: Springer-Verlag GmbH. - ISBN:978-3-642-01543-4. S. 7-12.

Mair, T. S. (1996):

Obstructive pulmonary disease in 18 horses at summer pasture.

Vet Rec. 138(4), 89-91.

Maquerlot, F.; Galiacy, S.; Malo, M.; Guignabert, C.; Lawrence, D. A.; d'Ortho, M. P.; Barlovatz-Meimon, G. (2006):

Dual role for plasminogen activator inhibitor type 1 as soluble and as matricellular regulator of epithelial alveolar cell wound healing.

Am J Pathol. 169(5), 1624-32.

Markart, P. (1999):

Einfluß der Surfactantapoproteine auf die Inkorporation pulmonalen Surfactants in eine Fibrinmatrix und die Fibrinolyse durch Plasmin.

Gießen, Justus-Liebig-Universität Gießen, Diss. 104 S.

Marti, E.; Gerber, H.; Essich, G.; Oulehla, J.; Lazary, S. (1991):

The genetic basis of equine allergic diseases. 1. Chronic hypersensitivity bronchitis.

Equine Vet J. 23(6), 457-60.

Marti, E.; Horohov, D. W.; Antzak, D. F.; Lazary, S.; Paul Lunn, D. (2003):

Advances in equine immunology: Havemeyer workshop reports from Santa Fe, New Mexico, and Hortobagy, Hungary.

Vet Immunol Immunopathol. 91(3-4), 233-43.

Matthews, A. G.; Hackett, I. J.; Lawton, W. A. (1988):

The mucolytic effect of Sputolysin in horses with respiratory disease.

Vet Rec. 122(5), 106-8.

Mautino, G.; Oliver, N.; Chanez, P.; Bousquet, J.; Capony, F. (1997):

Increased release of matrix metalloproteinase-9 in bronchoalveolar lavage fluid and by alveolar macrophages of asthmatics.

Am J Respir Cell Mol Biol. 17(5), 583-91.

May, A. G., H. (2009):

Durchführung, Analyse und Aussagekraft von Tracheobronchialsekret (TBS) und Bronchoalveolärer Lavage (BAL) bei Pferden mit Lungenerkrankungen.

Pferdeheilkunde. 25(4), 310-320.

Mazan, M. R.; Deveney, E. F.; DeWitt, S.; Bedenice, D.; Hoffman, A. (2004):

Energetic cost of breathing, body composition, and pulmonary function in horses with recurrent airway obstruction.

J Appl Physiol. 97(1), 91-7.

Mazan, M. R.; Hoffman, A. M.; Manjerovic, N. (1999):

Comparison of forced oscillation with the conventional method for histamine bronchoprovocation testing in horses.

Am J Vet Res. 60(2), 174-80.

McDonald, J. A. (1990):

The yin and yang of fibrin in the airways.

N Engl J Med. 322(13), 929-31.

VI Literaturverzeichnis

- McGee, M. P.; Rothberger, H. (1985):
Tissue factor in bronchoalveolar lavage fluids. Evidence for an alveolar macrophage source.
Am Rev Respir Dis. 131(3), 331-6.
- McGorum, B. C.; Dixon, P. M.; Halliwell, R. E. (1993a):
Responses of horses affected with chronic obstructive pulmonary disease to inhalation challenges with mould antigens.
Equine Vet J. 25(4), 261-7.
- McGorum, B. C.; Dixon, P. M.; Halliwell, R. E. (1993b):
Phenotypic analysis of peripheral blood and bronchoalveolar lavage fluid lymphocytes in control and chronic obstructive pulmonary disease affected horses, before and after 'natural (hay and straw) challenges'.
Vet Immunol Immunopathol. 36(3), 207-22.
- McGorum, B. C.; Dixon, P. M.; Halliwell, R. E. W. (1993c):
Quantification of histamine in plasma and pulmonary fluids from horses with chronic obstructive pulmonary disease, before and after 'natural (hay and straw) challenges'.
Vet Immunol Immunopathol. 36(3), 223-237.
- McGorum, B. C.; Dixon, P. M.; Halliwell, R. E. W.; Irving, P. (1993f):
Comparison of cellular and molecular components of bronchoalveolar lavage fluid harvested from different segments of the equine lung.
Res Vet Sci. 55(1), 57-59.
- McGorum, B. C.; Ellison, J.; Cullen, R. T. (1998):
Total and respirable airborne dust endotoxin concentrations in three equine management systems.
Equine Vet J. 30(5), 430-4.
- McIlwraith, C. W. (2005):
Use of synovial fluid and serum biomarkers in equine bone and joint disease: a review.
Equine Vet J. 37(5), 473-82.
- McKiernan, B. C.; Koritz, G. D.; Scott, J. S.; Berney, C.; Robinson, N. E. (1990):
Plasma theophylline concentration and lung function in ponies with recurrent obstructive lung disease.
Equine Vet J. 22(3), 194-7.
- McPherson, E. A.; Lawson, G. H.; Murphy, J. R.; Nicholson, J. M.; Breeze, R. G.; Pirie, H. M. (1979a):
Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in horses: aetiological studies: responses to intradermal and inhalation antigenic challenge.
Equine Vet J. 11(3), 159-66.
- McPherson, E. A.; Lawson, G. H.; Murphy, J. R.; Nicholson, J. M.; Breeze, R. G.; Pirie, H. M. (1979b):
Chronic obstructive pulmonary disease (COPD): factors influencing the occurrence.
Equine Vet J. 11(3), 167-71.
- McPherson, E. A.; Lawson, G. H.; Murphy, J. R.; Nicholson, J. M.; Fraser, J. A.; Breeze, R. G.; Pirie, H. M. (1978):
Chronic obstructive pulmonary disease (COPD): identification of affected horses.
Equine Vet J. 10(1), 47-53.

VI Literaturverzeichnis

- Meagher, L. C.; Cousin, J. M.; Seckl, J. R.; Haslett, C. (1996):
Opposing effects of glucocorticoids on the rate of apoptosis in neutrophilic and eosinophilic granulocytes.
J Immunol. 156(11), 4422-8.
- Meulders, Q.; He, C. J.; Adida, C.; Peraldi, M. N.; Schleuning, W. D.; Sraer, J. D.; Rondeau, E. (1992):
Tumor necrosis factor alpha increases antifibrinolytic activity of cultured human mesangial cells.
Kidney Int. 42(2), 327-34.
- Mevissen, M.; Burgener, I. A. (2010):
Pharmakologie des Atmungsapparates.
In: Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin (3. Auflage). / Hrsg. H.-H. Frey and W. Löscher. - Stuttgart, Deutschland: Enke Verlag. - ISBN:978-3-8304-1079-9. S. 254 - 266.
- Meyers, K. M.; Menard, M.; Wardrop, K. J. (1987):
Equine hemostasis. Description, evaluation, and alteration.
Vet Clin North Am Equine Pract. 3(3), 485-505.
- Mischke, R. (2013):
13 Hämostase.
In: Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin (7. Auflage). / Hrsg. A. Moritz. - Stuttgart, Deutschland: Schattauer GmbH. - ISBN:978-3-7945-2737-3. S. 197-242.
- Miskovic, M.; Couetil, L. L.; Thompson, C. A. (2007):
Lung function and airway cytologic profiles in horses with recurrent airway obstruction maintained in low-dust environments.
J Vet Intern Med. 21(5), 1060-6.
- Molet, S.; Hamid, Q.; Davoine, F.; Nutku, E.; Taha, R.; Page, N.; Olivenstein, R.; Elias, J.; Chakir, J. (2001):
IL-17 is increased in asthmatic airways and induces human bronchial fibroblasts to produce cytokines.
J Allergy Clin Immunol. 108(3), 430-8.
- Mondino, A.; Blasi, F. (2004):
uPA and uPAR in fibrinolysis, immunity and pathology.
Trends Immunol. 25(8), 450-5.
- Monreal, L. (2003):
D-dimer as a new test for the diagnosis of DIC and thromboembolic disease.
J Vet Intern Med. 17(6), 757-9.
- Monreal, L.; Angles, A.; Espada, Y.; Monasterio, J.; Monreal, M. (2000):
Hypercoagulation and hypofibrinolysis in horses with colic and DIC.
Equine Vet J Suppl(32), 19-25.
- Monreal, L.; Angles, A. M.; Monreal, M.; Espada, Y.; Monasterio, J. (1995):
Changes in haemostasis in endurance horses: detection by highly sensitive ELISA-tests.
Equine Vet J. 27(S18), 120-123.
- Monreal, L.; Cesarini, C. (2009):
Coagulopathies in horses with colic.
Vet Clin North Am Equine Pract. 25(2), 247-58.

VI Literaturverzeichnis

- Moore, B. R.; Krakowka, S.; Robertson, J. T.; Cummins, J. M. (1995):
Cytologic evaluation of bronchoalveolar lavage fluid obtained from standardbred racehorses with inflammatory airway disease.
Am J Vet Res. 56(5), 562-7.
- Moore, I.; Horney, B.; Day, K.; Lofstedt, J.; Cribb, A. E. (2004):
Treatment of inflammatory airway disease in young standardbreds with interferon alpha.
Can Vet J. 45(7), 594-601.
- Moran, G.; Carcamo, C.; Concha, M.; Folch, H. (2013):
Expression of the protein serum amyloid A (SAA) in response to *Aspergillus fumigatus* in murine models of allergic airway inflammation.
Rev Iberoam Micol. 2013 Apr 17; [Epub ahead of print].
- Murata, H.; Shimada, N.; Yoshioka, M. (2004):
Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview.
Vet J. 168(1), 28-40.
- Murphy, J. R.; McPherson, E. A.; Lawson, G. H. (1979):
The effects of sodium cromoglycate on antigen inhalation challenge in two horses affected with chronic obstructive pulmonary disease (COPD).
Vet Immunol Immunopathol. 1(1), 89-95.
- Nakstad, B.; Lyberg, T.; Skjonsberg, O. H.; Boye, N. P. (1990):
Local activation of the coagulation and fibrinolysis systems in lung disease.
Thromb Res. 57(6), 827-38.
- Naylor, J. M.; Clark, E. G.; Clayton, H. M. (1992):
Chronic obstructive pulmonary disease: Usefulness of clinical signs, bronchoalveolar lavage, and lung biopsy as diagnostic and prognostic aids.
Can Vet J. 33(9), 591-8.
- Nelson, O. L.; Andreasen, C. (2003):
The utility of plasma D-dimer to identify thromboembolic disease in dogs.
J Vet Intern Med. 17(6), 830-4.
- Nevalainen, M.; Raulo, S. M.; Brazil, T. J.; Pirie, R. S.; Sorsa, T.; McGorum, B. C.; Maisi, P. (2002):
Inhalation of organic dusts and lipopolysaccharide increases gelatinolytic matrix metalloproteinases (MMPs) in the lungs of heaves horses.
Equine Vet J. 34(2), 150-5.
- Nguyen, M. D.; Simpson-Haidaris, P. J. (2000):
Cell type-specific regulation of fibrinogen expression in lung epithelial cells by dexamethasone and interleukin-1beta.
Am J Respir Cell Mol Biol. 22(2), 209-17.
- Niedermaier, G.; Gehlen, H. (2009):
Möglichkeiten der Inhalationstherapie zur Behandlung der chronisch obstruktiven Bronchitis des Pferdes.
Pferdeheilkunde. 25, 327-332.
- Nieuwenhuizen, L.; de Groot, P. G.; Grutters, J. C.; Biesma, D. H. (2009):
A review of pulmonary coagulopathy in acute lung injury, acute respiratory distress syndrome and pneumonia.
Eur J Haematol. 82(6), 413-25.

VI Literaturverzeichnis

Nolen-Walston, R. D.; Harris, M.; Agnew, M. E.; Martin, B. B.; Reef, V. B.; Boston, R. C.; Davidson, E. J. (2013):
Clinical and diagnostic features of inflammatory airway disease subtypes in horses examined because of poor performance: 98 cases (2004-2010).
J Am Vet Med Assoc. 242(8), 1138-45.

Nyman, G.; Bjork, M.; Funkquist, P. (1999):
Gas exchange during exercise in standardbred trotters with mild bronchiolitis.
Equine Vet J Suppl(30), 96-101.

Nyman, G.; Lindberg, R.; Weckner, D.; Bjork, M.; Kwart, C.; Persson, S. G.; Gustafsson, H.; Hedenstierna, G. (1991):
Pulmonary gas exchange correlated to clinical signs and lung pathology in horses with chronic bronchiolitis.
Equine Vet J. 23(4), 253-60.

Oh, C. K.; Ariue, B.; Alban, R. F.; Shaw, B.; Cho, S. H. (2002):
PAI-1 promotes extracellular matrix deposition in the airways of a murine asthma model.
Biochem Biophys Res Commun. 294(5), 1155-60.

Ohnesorge, B.; Trötschel, C.; Deegen, E. (1998):
Bestimmung von Totraum und expiratorischem Mischluftvolumen zur Diagnostik chronischer Lungenerkrankungen beim Pferd.
Pferdeheilkunde. 14(6), 450-455.

Ollivier, V.; Bentolila, S.; Chabbat, J.; Hakim, J.; de Prost, D. (1998):
Tissue factor-dependent vascular endothelial growth factor production by human fibroblasts in response to activated factor VII.
Blood. 91(8), 2698-703.

Olszewski, M. A.; Robinson, N. E.; Zhu, F. X.; Zhang, X. Y.; Tithof, P. K. (1999):
Mediators of anaphylaxis but not activated neutrophils augment cholinergic responses of equine small airways.
Am J Physiol. 276(3 Pt 1), L522-9.

Ozseker, F.; Buyukozturk, S.; Depboylu, B.; Yilmazbayhan, D.; Karayigit, E.; Gelincik, A.; Genc, S.; Colakoglu, B.; Dal, M.; Issever, H. (2006):
Serum amyloid A (SAA) in induced sputum of asthmatics: a new look to an old marker.
Int Immunopharmacol. 6(10), 1569-76.

Pearson, E. G.; Riebold, T. W. (1989):
Comparison of bronchodilators in alleviating clinical signs in horses with chronic obstructive pulmonary disease.
J Am Vet Med Assoc. 194(9), 1287-91.

Peroni, D. L.; Stanley, S.; Kollias-Baker, C.; Robinson, N. E. (2002):
Prednisone per os is likely to have limited efficacy in horses.
Equine Vet J. 34(3), 283-7.

Persson, C. G. (1986):
Role of plasma exudation in asthmatic airways.
Lancet. 2(8516), 1126-9.

Picandet, V.; Leguillette, R.; Lavoie, J. P. (2003):
Comparison of efficacy and tolerability of isoflupredone and dexamethasone in the treatment of horses affected with recurrent airway obstruction ('heaves').
Equine Vet J. 35(4), 419-24.

VI Literaturverzeichnis

- Pickles, K.; Pirie, R. S.; Rhind, S.; Dixon, P. M.; McGorum, B. C. (2002a):
Cytological analysis of equine bronchoalveolar lavage fluid. Part 1: Comparison of sequential and pooled aliquots.
Equine Vet J. 34(3), 288-91.
- Pietra, M.; Cinotti, S.; Ducci, A.; Giunti, M.; Peli, A. (2011):
Time-dependent changes of cytokines mRNA in bronchoalveolar lavage fluid from symptomatic recurrent airway obstruction-affected horses.
Pol J Vet Sci. 14(3), 343-51.
- Pirie, R. S. (2013):
Recurrent airway obstruction: A review.
Equine Vet J.
- Pirie, R. S. (2014):
Recurrent airway obstruction: a review.
Equine Vet J. 46(3), 276-88.
- Pirie, R. S.; Collie, D. D.; Dixon, P. M.; McGorum, B. C. (2003a):
Inhaled endotoxin and organic dust particulates have synergistic proinflammatory effects in equine heaves (organic dust-induced asthma).
Clin Exp Allergy. 33(5), 676-83.
- Pirie, R. S.; Dixon, P. M.; McGorum, B. C. (2003b):
Endotoxin contamination contributes to the pulmonary inflammatory and functional response to *Aspergillus fumigatus* extract inhalation in heaves horses.
Clin Exp Allergy. 33(9), 1289-96.
- Pizzichini, E.; Pizzichini, M. M.; Efthimiadis, A.; Evans, S.; Morris, M. M.; Squillace, D.; Gleich, G. J.; Dolovich, J.; Hargreave, F. E. (1996):
Indices of airway inflammation in induced sputum: reproducibility and validity of cell and fluid-phase measurements.
Am J Respir Crit Care Med. 154(2 Pt 1), 308-17.
- Plendl, H.; Caliebe, A.; Grote, W. (2002):
[Molecular variants of fibrinogen].
Hämostaseologie. 22(2), 36-41.
- Pollock, P. J.; Prendergast, M.; Schumacher, J.; Bellenger, C. R. (2005):
Effects of surgery on the acute phase response in clinically normal and diseased horses.
Vet Rec. 156(17), 538-42.
- Prabhakaran, P.; Ware, L. B.; White, K. E.; Cross, M. T.; Matthay, M. A.; Olman, M. A. (2003):
Elevated levels of plasminogen activator inhibitor-1 in pulmonary edema fluid are associated with mortality in acute lung injury.
Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 285(1), L20-8.
- Prasse, K. W.; Topper, M. J.; Moore, J. N.; Welles, E. G. (1993):
Analysis of hemostasis in horses with colic.
J Am Vet Med Assoc. 203(5), 685-93.
- Preissner, K. T. (2008):
[Physiology of blood coagulation and fibrinolysis: biochemistry].
Hämostaseologie. 28(5), 259-71.

VI Literaturverzeichnis

Ramseyer, A.; Gaillard, C.; Burger, D.; Straub, R.; Jost, U.; Boog, C.; Marti, E.; Gerber, V. (2007):

Effects of genetic and environmental factors on chronic lower airway disease in horses. *J Vet Intern Med.* 21(1), 149-56.

Range, F.; Mundhenk, L.; Gruber, A. D. (2007):

A soluble secreted glycoprotein (eCLCA1) is overexpressed due to goblet cell hyperplasia and metaplasia in horses with recurrent airway obstruction. *Vet Pathol.* 44(6), 901-11.

Raulo, S. M.; Sorsa, T.; Maisi, P. (2006):

In vitro inhibition of matrix metalloproteinase activity in tracheal epithelial lining fluid from horses with recurrent airway obstruction. *Am J Vet Res.* 67(7), 1252-7.

Raulo, S. M.; Sorsa, T.; Tervahartiala, T.; Pirila, E.; Maisi, P. (2001b):

MMP-9 as a marker of inflammation in tracheal epithelial lining fluid (TELF) and in bronchoalveolar fluid (BALF) of COPD horses. *Equine Vet J.* 33(2), 128-36.

Raulo, S. M.; Sorsa, T. A.; Kiili, M. T.; Maisi, P. S. (2001a):

Evaluation of collagenase activity, matrix metalloproteinase-8, and matrix metalloproteinase-13 in horses with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Vet Res.* 62(7), 1142-8.

Rendle, D. I.; Armstrong, S. K.; Hughes, K. J. (2012):

Combination fibrinolytic therapy in the treatment of chronic septic pleuropneumonia in a Thoroughbred gelding. *Aust Vet J.* 90(9), 358-62.

Ribera, T.; Monreal, L.; Armengou, L.; Rios, J.; Prades, M. (2011):

Synovial fluid D-dimer concentration in foals with septic joint disease. *J Vet Intern Med.* 25(5), 1113-7.

Ribera, T.; Monreal, L.; Delgado, M. A.; Rios, J.; Prades, M. (2013):

Synovial fluid D-dimer concentration in horses with osteochondritis dissecans and osteoarthritis. *Vet Comp Orthop Traumatol.* 26(1), 54-60.

Richard, E. A.; Fortier, G. D.; Denoix, J. M.; Art, T.; Lekeux, P. M.; Van Erck, E. (2009):

Influence of subclinical inflammatory airway disease on equine respiratory function evaluated by impulse oscillometry. *Equine Vet J.* 41(4), 384-9.

Rijneveld, A. W.; Weijer, S.; Bresser, P.; Florquin, S.; Vlasuk, G. P.; Rote, W. E.; Spek, C. A.; Reitsma, P. H.; van der Zee, J. S.; Levi, M.; van der Poll, T. (2006):

Local activation of the tissue factor-factor VIIa pathway in patients with pneumonia and the effect of inhibition of this pathway in murine pneumococcal pneumonia. *Crit Care Med.* 34(6), 1725-30.

Robinson, N. E. (2001):

International Workshop on Equine Chronic Airway Disease. Michigan State University 16-18 June 2000. *Equine Vet J.* 33(1), 5-19.

- Robinson, N. E. (2003):
Inflammatory airway disease: defining the syndrome. Conclusions of the Havemeyer Workshop.
Equine Veterinary Education. 15(2), 61-63.
- Robinson, N. E.; Berney, C.; Behan, A.; Derksen, F. J. (2009):
Fluticasone propionate aerosol is more effective for prevention than treatment of recurrent airway obstruction.
J Vet Intern Med. 23(6), 1247-53.
- Robinson, N. E.; Derksen, F. J.; Berney, C.; Goossens, L. (1993):
The airway response of horses with recurrent airway obstruction (heaves) to aerosol administration of ipratropium bromide.
Equine Vet J. 25(4), 299-303.
- Robinson, N. E.; Derksen, F. J.; Olszewski, M. A.; Buechner-Maxwell, V. A. (1996):
The pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease of horses.
British Veterinary Journal. 152(3), 283-306.
- Robinson, N. E.; Jackson, C.; Jefcoat, A.; Berney, C.; Peroni, D.; Derksen, F. J. (2002):
Efficacy of three corticosteroids for the treatment of heaves.
Equine Vet J. 34(1), 17-22.
- Robinson, N. E.; Olszewski, M. A.; Boehler, D.; Berney, C.; Hakala, J.; Matson, C.; Derksen, F. J. (2000):
Relationship between clinical signs and lung function in horses with recurrent airway obstruction (heaves) during a bronchodilator trial.
Equine Vet J. 32(5), 393-400.
- Ruppert, C.; Markart, P.; Wygrecka, M.; Preissner, K. T.; Günther, A. (2008):
Role of coagulation and fibrinolysis in lung and renal fibrosis.
Hämostaseologie. 28(1), 30-36.
- Rush, B. R.; Hoskinson, J. J.; Davis, E. G.; Matson, C. J.; Hakala, J. E. (1999):
Pulmonary distribution of aerosolized technetium Tc 99m pentetate after administration of a single dose of aerosolized albuterol sulfate in horses with recurrent airway obstruction.
Am J Vet Res. 60(6), 764-9.
- Rush, B. R.; Raub, E. S.; Rhoads, W. S.; Flaminio, M. J.; Matson, C. J.; Hakala, J. E.; Gillespie, J. R. (1998):
Pulmonary function in horses with recurrent airway obstruction after aerosol and parenteral administration of beclomethasone dipropionate and dexamethasone, respectively.
Am J Vet Res. 59(8), 1039-43.
- Saksela, O.; Rifkin, D. B. (1988):
Cell-associated plasminogen activation: regulation and physiological functions.
Annu Rev Cell Biol. 4, 93-126.
- Samad, F.; Bergtrom, G.; Amrani, D. L. (1994):
Regulation of plasminogen activation by interleukin-6 in human lung fibroblasts.
Biochim Biophys Acta. 1221(3), 307-14.
- Sandholm, M.; Vidovic, A.; Puotunen-Reinert, A.; Sankari, S.; Nyholm, K.; Rita, H. (1995):
D-dimer improves the prognostic value of combined clinical and laboratory data in equine gastrointestinal colic.
Acta Vet Scand. 36(2), 255-72.

VI Literaturverzeichnis

- Sasse, H. H. L. (1971):
Some Pulmonary Function Tests in Horses: An Aid to an Early Diagnosis of Chronic Obstructive Pulmonary Disease (heaves) in Horses.
Utrecht, State University of Utrecht, PhD Thesis. 230 S.
- Schleef, R. R.; Bevilacqua, M. P.; Sawdey, M.; Gimbrone, M. A., Jr.; Loskutoff, D. J. (1988):
Cytokine activation of vascular endothelium. Effects on tissue-type plasminogen activator and type 1 plasminogen activator inhibitor.
J Biol Chem. 263(12), 5797-803.
- Schneiderman, J.; Loskutoff, D. J. (1991):
Plasminogen activator inhibitors.
Trends Cardiovasc Med. 1(3), 99-102.
- Schouten, M.; MA, V. D. P.; Levi, M.; T, V. D. P.; JS, V. D. Z. (2009):
Early activation of coagulation after allergen challenge in patients with allergic asthma.
J Thromb Haemost. 7(9), 1592-4.
- Schultz, M. J.; Millo, J.; Levi, M.; Hack, C. E.; Weverling, G. J.; Garrard, C. S.; van der Poll, T. (2004):
Local activation of coagulation and inhibition of fibrinolysis in the lung during ventilator associated pneumonia.
Thorax. 59(2), 130-5.
- Schutgens, R. E.; Haas, F. J.; Gerritsen, W. B.; van der Horst, F.; Nieuwenhuis, H. K.; Biesma, D. H. (2003):
The usefulness of five D-dimer assays in the exclusion of deep venous thrombosis.
J Thromb Haemost. 1(5), 976-81.
- Seahorn, T. L.; Beadle, R. E. (1993):
Summer pasture-associated obstructive pulmonary disease in horses: 21 cases (1983-1991).
J Am Vet Med Assoc. 202(5), 779-82.
- Seeger, W.; Elssner, A.; Günther, A.; Kramer, H. J.; Kalinowski, H. O. (1993):
Lung surfactant phospholipids associate with polymerizing fibrin: loss of surface activity.
Am J Respir Cell Mol Biol. 9(2), 213-20.
- Seeger, W.; Stohr, G.; Wolf, H. R.; Neuhof, H. (1985):
Alteration of surfactant function due to protein leakage: special interaction with fibrin monomer.
J Appl Physiol. 58(2), 326-38.
- Semeraro, N.; Biondi, A.; Lorenzet, R.; Locati, D.; Mantovani, A.; Donati, M. B. (1983):
Direct induction of tissue factor synthesis by endotoxin in human macrophages from diverse anatomical sites.
Immunology. 50(4), 529-35.
- Senior, J. M.; Proudman, C. J.; Leuwer, M.; Carter, S. D. (2011):
Plasma endotoxin in horses presented to an equine referral hospital: correlation to selected clinical parameters and outcomes.
Equine Vet J. 43(5), 585-91.
- Setlakwe, E. L.; Leclere, M.; Lavoie, J. (2009):
Sub-Epithelial Fibrosis Is Present in the Peripheral Airways of Heaves-Affected Horses, an Equine Model for Asthma.
Am J Respir Crit Care Med. 179(1), A5058.

VI Literaturverzeichnis

- Shetty, S.; Bdeir, K.; Cines, D. B.; Idell, S. (2003):
Induction of plasminogen activator inhibitor-1 by urokinase in lung epithelial cells.
J Biol Chem. 278(20), 18124-31.
- Shetty, S.; Idell, S. (2000):
Post-transcriptional regulation of urokinase mRNA. Identification of a novel urokinase mRNA-binding protein in human lung epithelial cells in vitro.
J Biol Chem. 275(18), 13771-9.
- Shetty, S.; Idell, S. (2001):
Urokinase induces expression of its own receptor in Beas2B lung epithelial cells.
J Biol Chem. 276(27), 24549-56.
- Shetty, S.; Kumar, A.; Idell, S. (1997):
Posttranscriptional regulation of urokinase receptor mRNA: identification of a novel urokinase receptor mRNA binding protein in human mesothelioma cells.
Mol Cell Biol. 17(3), 1075-83.
- Shetty, S.; Padijnayaveetil, J.; Tucker, T.; Stankowska, D.; Idell, S. (2008):
The fibrinolytic system and the regulation of lung epithelial cell proteolysis, signaling, and cellular viability.
Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 295(6), L967-75.
- Shetty, S.; Pendurthi, U. R.; Halady, P. K.; Azghani, A. O.; Idell, S. (2002):
Urokinase induces its own expression in Beas2B lung epithelial cells.
Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 283(2), L319-28.
- Shetty, S.; Velusamy, T.; Shetty, R. S.; Marudamuthu, A. S.; Shetty, S. K.; Florova, G.; Tucker, T.; Koenig, K.; Shetty, P.; Bhandary, Y. P.; Idell, S. (2010):
Post-transcriptional regulation of plasminogen activator inhibitor type-1 expression in human pleural mesothelial cells.
Am J Respir Cell Mol Biol. 43(3), 358-67.
- Shinagawa, K.; Martin, J. A.; Ploplis, V. A.; Castellino, F. J. (2007):
Coagulation factor Xa modulates airway remodeling in a murine model of asthma.
Am J Respir Crit Care Med. 175(2), 136-43.
- Shinagawa, K.; Ploplis, V. A.; Castellino, F. J. (2009):
A severe deficiency of coagulation factor VIIa results in attenuation of the asthmatic response in mice.
Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 296(5), L763-70.
- Sitrin, R. G.; Brubaker, P. G.; Fantone, J. C. (1987):
Tissue fibrin deposition during acute lung injury in rabbits and its relationship to local expression of procoagulant and fibrinolytic activities.
Am Rev Respir Dis. 135(4), 930-6.
- Sitrin, R. G.; Brubaker, P. G.; Shellito, J. E.; Kaltreider, H. B. (1986):
The distribution of procoagulant and plasminogen activator activities among density fractions of normal rabbit alveolar macrophages.
Am Rev Respir Dis. 133(3), 468-72.
- Sitrin, R. G.; Pan, P. M.; Srikanth, S.; Todd, R. F., 3rd (1998):
Fibrinogen activates NF-kappa B transcription factors in mononuclear phagocytes.
J Immunol. 161(3), 1462-70.

- So, A. K.; Varisco, P. A.; Kemkes-Matthes, B.; Herkenne-Morard, C.; Chobaz-Peclat, V.; Gerster, J. C.; Busso, N. (2003):
Arthritis is linked to local and systemic activation of coagulation and fibrinolysis pathways.
J Thromb Haemost. 1(12), 2510-5.
- Stadler, P.; Deegen, E. (1986):
Diurnal variation of dynamic compliance, resistance and viscous work of breathing in normal horses and horses with lung disorders.
Equine Vet J. 18(3), 171-8.
- Stern-Balestra, E. (2000):
Bestimmung von löslichen Fibrinkomplexen beim Pferd als Möglichkeit zur Diagnostik einer aktivierten Blutgerinnung. Zentralstelle der Studentenschaft.
- Stevens, P. T.; Kicic, A.; Sutanto, E. N.; Knight, D. A.; Stick, S. M. (2008):
Dysregulated repair in asthmatic paediatric airway epithelial cells: the role of plasminogen activator inhibitor-1.
Clin Exp Allergy. 38(12), 1901-10.
- Stokol, T.; Brooks, M. B.; Erb, H. N.; Mauldin, G. E. (2000):
D-dimer concentrations in healthy dogs and dogs with disseminated intravascular coagulation.
Am J Vet Res. 61(4), 393-8.
- Stokol, T.; Erb, H. N.; De Wilde, L.; Tornquist, S. J.; Brooks, M. (2005):
Evaluation of latex agglutination kits for detection of fibrin(ogen) degradation products and D-dimer in healthy horses and horses with severe colic.
Vet Clin Pathol. 34(4), 375-82.
- Suffredini, A. F.; Harpel, P. C.; Parrillo, J. E. (1989):
Promotion and subsequent inhibition of plasminogen activation after administration of intravenous endotoxin to normal subjects.
N Engl J Med. 320(18), 1165-72.
- Swaigood, C. M.; French, E. L.; Noga, C.; Simon, R. H.; Ploplis, V. A. (2000):
The development of bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice deficient for components of the fibrinolytic system.
Am J Pathol. 157(1), 177-87.
- Sweeney, C. R.; Rossier, Y.; Ziemer, E. L.; Lindborg, S. (1992):
Effects of lung site and fluid volume on results of bronchoalveolar lavage fluid analysis in horses.
Am J Vet Res. 53(8), 1376-9.
- Swinburne, J. E.; Bogle, H.; Klukowska-Rotzler, J.; Drogemuller, M.; Leeb, T.; Temperton, E.; Dolf, G.; Gerber, V. (2009):
A whole-genome scan for recurrent airway obstruction in Warmblood sport horses indicates two positional candidate regions.
Mamm Genome. 20(8), 504-15.
- Takeyama, K.; Kondo, M.; Tagaya, E.; Kirishi, S.; Ishii, M.; Ochiai, K.; Isono, K.; Tamaoki, J. (2014):
Budesonide/formoterol maintenance and reliever therapy in moderate-to-severe asthma: effects on eosinophilic airway inflammation.
Allergy Asthma Proc. 35(2), 141-7.

Tanaka, H.; Masuda, T.; Tokuoka, S.; Komai, M.; Nagao, K.; Takahashi, Y.; Nagai, H. (2001):

The effect of allergen-induced airway inflammation on airway remodeling in a murine model of allergic asthma.

Inflamm Res. 50(12), 616-24.

Terada, M.; Kelly, E. A.; Jarjour, N. N. (2004):

Increased thrombin activity after allergen challenge: a potential link to airway remodeling?

Am J Respir Crit Care Med. 169(3), 373-7.

Tesarowski, D. B.; Viel, L.; McDonell, W. N. (1996):

Pulmonary function measurements during repeated environmental challenge of horses with recurrent airway obstruction (heaves).

Am J Vet Res. 57(8), 1214-9.

Tesarowski, D. B.; Viel, L.; McDonell, W. N.; Newhouse, M. T. (1994):

The rapid and effective administration of a beta 2-agonist to horses with heaves using a compact inhalation device and metered-dose inhalers.

Can Vet J. 35(3), 170-3.

Theelen, M. J.; Wilson, W. D.; Edman, J. M.; Magdesian, K. G.; Kass, P. H. (2014):

Temporal trends in prevalence of bacteria isolated from foals with sepsis: 1979-2010.

Equine Vet J. 46(2), 169-73.

Thompson, J. N.; Paterson-Brown, S.; Harbourne, T.; Whawell, S. A.; Kalodiki, E.; Dudley, H. A. (1989):

Reduced human peritoneal plasminogen activating activity: possible mechanism of adhesion formation.

Br J Surg. 76(4), 382-4.

Thomson, J. R.; McPherson, E. A. (1981):

Prophylactic effects of sodium cromoglycate on chronic obstructive pulmonary disease in the horse.

Equine Vet J. 13(4), 243-6.

Thorsen, J.; Willoughby, R. A.; McDonell, W.; Valli, V. E.; Viel, L.; Bignell, W. (1983):

Influenza hemagglutination inhibiting activity in respiratory mucus from horses with chronic obstructive pulmonary disorders (heaves syndrome).

Can J Comp Med. 47(3), 332-5.

Tilley, P.; Sales Luis, J. P.; Branco Ferreira, M. (2012):

Correlation and discriminant analysis between clinical, endoscopic, thoracic X-ray and bronchoalveolar lavage fluid cytology scores, for staging horses with recurrent airway obstruction (RAO).

Res Vet Sci. 93(2), 1006-14.

Tipping, P. G.; Campbell, D. A.; Boyce, N. W.; Holdsworth, S. R. (1988):

Alveolar macrophage procoagulant activity is increased in acute hyperoxic lung injury.

Am J Pathol. 131(2), 206-12.

Turgut, K.; Sasse, H. H. (1989):

Influence of clenbuterol on mucociliary transport in healthy horses and horses with chronic obstructive pulmonary disease.

Vet Rec. 125(21), 526-30.

uniprot.org.

UniProt Knowledgebase (UniProtKB).

Abgerufen am: 07.07.2014, from <http://uniprot.org/uniprot/>.

VI Literaturverzeichnis

- Urieli-Shoval, S.; Cohen, P.; Eisenberg, S.; Matzner, Y. (1998):
Widespread expression of serum amyloid A in histologically normal human tissues.
Predominant localization to the epithelium.
J Histochem Cytochem. 46(12), 1377-84.
- Van den Ingh, T. S. G. A. M. (1985):
Morphologische Aspekte der Bronchitis und Bronchiolitis des Pferdes.
Pferdeheilkunde. 1, 13-15.
- van der Graaf, F.; van den Borne, H.; van der Kolk, M.; de Wild, P. J.; Janssen, G. W.; van Uum, S. H. (2000):
Exclusion of deep venous thrombosis with D-dimer testing--comparison of 13 D-dimer methods in 99 outpatients suspected of deep venous thrombosis using venography as reference standard.
Thromb Haemost. 83(2), 191-8.
- van der Velden, V. H. (1998):
Glucocorticoids: mechanisms of action and anti-inflammatory potential in asthma.
Mediators Inflamm. 7(4), 229-37.
- van Erck, E.; Votion, D.; Art, T.; Lekeux, P. (2004):
Measurement of respiratory function by impulse oscillometry in horses.
Equine Vet J. 36(1), 21-8.
- Votion, D.; Ghafir, Y.; Munsters, K.; Duvivier, D. H.; Art, T.; Lekeux, P. (1997):
Aerosol deposition in equine lungs following ultrasonic nebulisation versus jet aerosol delivery system.
Equine Vet J. 29(5), 388-93.
- Votion, D.; Ghafir, Y.; Vandenput, S.; Duvivier, D. H.; Art, T.; Lekeux, P. (1999):
Analysis of scintigraphical lung images before and after treatment of horses suffering from chronic pulmonary disease.
Vet Rec. 144(9), 232-6.
- Wagers, S. S.; Norton, R. J.; Rinaldi, L. M.; Bates, J. H.; Sobel, B. E.; Irvin, C. G. (2004):
Extravascular fibrin, plasminogen activator, plasminogen activator inhibitors, and airway hyperresponsiveness.
J Clin Invest. 114(1), 104-11.
- Wang, X.; Gjernes, E.; Prydz, H. (2002):
Factor VIIa induces tissue factor-dependent up-regulation of interleukin-8 in a human keratinocyte line.
J Biol Chem. 277(26), 23620-6.
- Ware, L. B.; Bastarache, J. A.; Wang, L. (2005):
Coagulation and fibrinolysis in human acute lung injury--new therapeutic targets?
Keio J Med. 54(3), 142-9.
- Ware, L. B.; Fang, X.; Matthay, M. A. (2003):
Protein C and thrombomodulin in human acute lung injury.
Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 285(3), L514-21.
- Watson, E. D.; Sweeney, C. R.; Steensma, K. A. (1992):
Arachidonate metabolites in bronchoalveolar lavage fluid from horses with and without COPD.
Equine Vet J. 24(5), 379-81.

VI Literaturverzeichnis

- Wehrli, M.; Feige, K.; Franchini, M.; Kästner, S.; Geissbühler, U. (2000):
Untersuchung zur Technik und Aussagekraft einer bronchoalveolären Lavage (BAL),
durchgeführt mit Hilfe eines flexiblen Silikonkatheters ohne endoskopische Kontrolle.
Pferdeheilkunde. 16(4), 373-378.
- Weiss, D. J.; Monreal, L.; Angles, A. M.; Monasterio, J. (1996):
Evaluation of thrombin-antithrombin complexes and fibrin fragment D in carbohydrate-
induced acute laminitis.
Res Vet Sci. 61(2), 157-9.
- Wilsher, S.; Allen, W. R.; Wood, J. L. (2006):
Factors associated with failure of thoroughbred horses to train and race.
Equine Vet J. 38(2), 113-8.
- Winder, N. C.; Grünig, G.; Hermann, M.; von Fellenberg, R. (1990):
Fibrin/fibrinogen in lungs and respiratory secretions of horses with chronic pulmonary
disease.
Am J Vet Res. 51(6), 945-9.
- Winder, N. C.; von Fellenberg, R. (1987):
Chronic small airway disease in horses slaughtered in Switzerland.
Schweiz Arch Tierheilkd. 129(11), 585-93.
- Wolberg, A. S. (2007):
Thrombin generation and fibrin clot structure.
Blood Rev. 21(3), 131-42.
- Woods, P. S.; Robinson, N. E.; Swanson, M. C.; Reed, C. E.; Broadstone, R. V.; Derksen, F.
J. (1993):
Airborne dust and aeroallergen concentration in a horse stable under two different
management systems.
Equine Vet J. 25(3), 208-13.
- Wygrecka, M.; Jablonska, E.; Guenther, A.; Preissner, K. T.; Markart, P. (2008):
Current view on alveolar coagulation and fibrinolysis in acute inflammatory and chronic
interstitial lung diseases.
Thromb Haemost. 99(3), 494-501.
- Yager, D.; Kamm, R. D.; Drazen, J. M. (1995):
Airway wall liquid. Sources and role as an amplifier of bronchoconstriction.
Chest. 107(3 Suppl), 105S-110S.
- Yuda, H.; Adachi, Y.; Taguchi, O.; Gabazza, E. C.; Hataji, O.; Fujimoto, H.; Tamaki, S.;
Nishikubo, K.; Fukudome, K.; D'Alessandro-Gabazza, C. N.; Maruyama, J.; Izumizaki, M.;
Iwase, M.; Homma, I.; Inoue, R.; Kamada, H.; Hayashi, T.; Kasper, M.; Lambrecht, B. N.;
Barnes, P. J.; Suzuki, K. (2004):
Activated protein C inhibits bronchial hyperresponsiveness and Th2 cytokine expression in
mice.
Blood. 103(6), 2196-204.

VII Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Allgemeines Untersuchungsschema.....	70
Tab. 2: Beurteilungsmaßstab für die tracheobronchoskopischen Befunde nach Dieckmann (1987).....	75
Tab. 3: Klinischer Untersuchungsscore modifiziert nach Ohnesorge, Trötschel et al. (1998)79	
Tab. 4: Übersicht über die durchschnittliche Altersverteilung in den Diagnosegruppen	88
Tab. 5: Übersicht über die Anzahl an vergebenen Punkten für die endoskopisch beobachtete Sekretmenge und –viskosität (nach Dieckmann 1987).....	101
Tab. 6: Übersicht über die Häufigkeiten verschiedener Neutrophilen-Anteile an der Gesamtzellzahl in den einzelnen Diagnosegruppen.....	105
Tab. 7: Übersicht über die Häufigkeiten der verschiedenen Ausprägungsstufen bronchialer sowie interstitieller Lungenzeichnung in den einzelnen Diagnosegruppen.....	106
Tab. 8: Übersicht über erreichte Gesamtpunktzahlen im klinischen Score modifiziert nach Ohnesorge (1998) in den jeweiligen Diagnosegruppen.....	108
Tab. 9: Übersicht über die Häufigkeitsverteilung der verschiedenen Schweregrade der Erkrankung (nach Ohnesorge (1998)) in den einzelnen Diagnosegruppen.....	109
Tab. 10: Übersicht über die Fibrinogenkonzentrationen (in g/l) in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit in den einzelnen Diagnosegruppen.....	111
Tab. 11: Übersicht über die Häufigkeitsverteilung der Fibrinogenkonzentrationen von $\leq 0,0005$ g/l bzw. von $>0,0005$ g/l in der BALF in den einzelnen Diagnosegruppen.....	112
Tab. 12: Übersicht über die Konzentrationen an Serum-Amyloid-A (SAA) (in $\mu\text{g/ml}$) in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit in den einzelnen Diagnosegruppen.....	115
Tab. 13: Übersicht über die Häufigkeitsverteilung von SAA-Konzentrationen von $0,005$ $\mu\text{g/ml}$ bzw. von $>0,005$ $\mu\text{g/ml}$ in der BALF in den einzelnen Diagnosegruppen.....	116
Tab. 14: Übersicht über die Anzahl an vergebenen Punkten für die endoskopisch beobachtete Sekretmenge und –viskosität (nach Dieckmann 1987) im Vergleich vor und nach Therapie.....	127

VII Tabellenverzeichnis

Tab. 15: Übersicht über die erreichten Gesamtpunktzahlen im klinischen Score modifiziert nach Ohnesorge (1998) im Vergleich vor und nach Therapie.	130
Tab. 16: Übersicht über die Häufigkeitsverteilung der verschiedenen Schweregrade der Erkrankung (nach Ohnesorge (1998)) im Vergleich vor und nach Therapie.....	131
Tab. 17: Übersicht über die Fibrinogenkonzentrationen (in g/l) in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit im Vergleich vor und nach Therapie.....	133
Tab. 18: Übersicht über die Konzentrationen an Serum-Amyloid-A (in µg/ml) in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit im Vergleich vor und nach Therapie.	134
Tab. 19: Übersicht über die D-Dimer-Konzentrationen (in mg/l) in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit bei den Patienten mit „COB in Exazerbation“ (n=8) im Vergleich vor und nach Therapie.	137
Tab. 20: Übersicht über das Patientenkollektiv. Neben den allgemeinen Patientendaten, wie Alter, Geschlecht, Rasse, Gewicht und Größe, sind auch die, im modifizierten Score nach Ohnesorge (1998), erreichte Gesamtpunktzahl mit entsprechendem Schweregrad sowie die Diagnose zu jedem Pferd aufgeführt. Die Tiere, die den Therapiegruppen zugeordnet wurden sind mit einem X markiert. (Fortsetzungen und Erläuterung der Tabelle auf S. 216 und 217).....	215
Tab. 21: Übersicht über den durchschnittlichen paO ₂ in den Diagnosegruppen.	218
Tab. 22: Übersicht über die durchschnittliche A-aDO ₂ in den Diagnosegruppen.....	218
Tab. 23: Übersicht über die Anteile der verschiedenen Zelltypen an der Gesamtzellzahl (in %) in den einzelnen Diagnosegruppen.	219
Tab. 24: Übersicht über D-Dimer-Konzentrationen in mg/l in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit bei ausgewählten Fällen.....	220
Tab. 25: Übersicht über die durchschnittlich gemessenen Werte aus der arteriellen Blutgasanalyse (paCO ₂ , paO ₂ und A-aDO ₂) im Vergleich vor und nach Therapie.....	221
Tab. 26: Übersicht über die Anteile der verschiedenen Zelltypen (in %) an der Gesamtzellzahl im Vergleich vor und nach Therapie.....	222

VIII Abbildungsverzeichnis

- Abb. 1: Schematische Übersicht über die sekundäre (plasmatische) Hämostase mit ihrem extrinsischen und intrinsischen Gerinnungsweg modifiziert nach Hoffman and Monroe (2007) und Preissner (2008).** Das Ziel der kaskadenartigen Faktoraktivierung ist die Bildung von quervernetztem Fibrin. TF, HMWK (high molecular weight kininogen), PK (Prekallikrein), F VIIIa und F Va fungieren dabei als Kofaktoren und sind Bestandteile der verschiedenen Enzymkomplexe, die eine Aktivierung der Proenzyme (inaktive Gerinnungsfaktoren) bewirken.27
- Abb. 2: Schematische Darstellung des zell-basierten Gerinnungsmodells modifiziert nach Hoffman and Monroe (2007).** Grundlage bilden hier Tissue Factor (TF) exprimierende Zellen (z.B. Endothelzellen, Fibroblasten und Monozyten) sowie ruhende und aktivierte Thrombozyten an denen die verschiedenen Gerinnungsprozesse ablaufen, die im Wesentlichen den klassischen intrinsischen und extrinsischen Kaskaden entsprechen. Die zellgebundenen Vorgänge werden in die drei Phasen Initiation (1), Amplifikation (2) und Propagation (3) unterteilt, an deren Ende der sogenannte finale „Thrombinburst“ steht.29
- Abb. 3: Schematische Darstellung des Fibrinogenmoleküls modifiziert nach Geiger (2010).** Die insgesamt sechs Polypeptidketten, aus denen das Molekül aufgebaut ist, sind über Disulfidbrücken miteinander verknüpft und bilden im Zentrum die sogenannte E-Domäne und an den Außenseiten jeweils eine D-Domäne. Während die E-Domäne die Fibrinopeptide-A und-B (FPA, FPB) enthält, sind an der D-Domäne die Bindungsstellen für den Glykoprotein (GP) IIb/IIIa-Rezeptor sowie für den Faktor XIIIa lokalisiert. Im Zuge der Fibrinbildung werden die Fibrinopeptide A und B durch das Thrombin abgespalten, wodurch neue Bindungsstellen entstehen.....31
- Abb. 4: Schematische Übersicht über das fibrinolytische System als Gegenspieler der Gerinnung modifiziert nach Geiger (2010) und Stokol, Erb et al. (2005).** Fibrin und Plasminogen gehen hier einen Enzymkomplex ein, bei dem das Fibrin als Kofaktor fungiert. t-PA (tissue-type Plasminogenaktivator) und u-PA (Urokinase) haben eine aktivierende und der PAI (Plasminogen-Aktivator-Inhibitor) sowie das α 2-AP (α 2-Antiplasmin) eine inhibierende Rolle. Die hier dargestellten Fibrinabbauprodukte (X-Oligomere und D-Dimere) können ausschließlich aus dem plasmin-vermittelten Abbau von, durch Thrombin- und F XIIIa-Wirkung entstandenem, quervernetztem Fibrin resultieren.33

- Abb. 5: Schematische Darstellung über die Entstehung der D-Dimere modifiziert nach Stokol, Brooks et al. (2000).** Die plasmin-vermittelte Spaltung der quervernetzten Fibrinmoleküle kann ausschließlich zwischen den E- und D-Domänen stattfinden. Die, durch den Faktor XIIIa herbeigeführte, Verbindung der γ -Ketten zwischen den D-Domänen bleibt für das Enzym hingegen unangreifbar. Dadurch entstehen die D-D- und E-Fragmente sowie die höhermolekularen X-Oligomere.35
- Abb. 6: Häufigkeitsverteilung der verschiedenen Gründe für die Vorstellung in der Klinik.** Bei einer Kombination von Symptomen nannten die Besitzer neben den in der Legende bereits namentlich aufgeführten Auffälligkeiten auch noch Nasenausfluss, Gewichtsverlust und eine durchgemachte virale Infektion.89
- Abb. 7: Atemfrequenz in Abhängigkeit von der Diagnosegruppe.** Signifikante Unterschiede zwischen einzelnen Gruppen sind durch die Klammern und mit den entsprechenden p-Werten ausgewiesen.....91
- Abb. 8: Häufigkeitsverteilung der Ausprägung einer Ruhedyspnoe in den einzelnen Diagnosegruppen.** Signifikante Unterschiede zwischen einzelnen Gruppen sind durch die Klammern und mit den entsprechenden p-Werten ausgewiesen.....92
- Abb. 9: Vergleichende Darstellung des arteriellen Sauerstoffpartialdruckes (paO_2) in den verschiedenen Diagnosegruppen.** Die gestrichelten Linien markieren die obere und untere Grenze des Referenzbereichs (95-105 mmHg). Für die Extremwerte (\circ) sind die jeweiligen Messergebnisse angegeben. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind durch die Klammern und mit den entsprechenden p-Werten ausgewiesen.94
- Abb. 10: Vergleichende Darstellung der alveolo-arteriellen Sauerstoffpartialdruckdifferenz ($A-aDO_2$) in den einzelnen Diagnosegruppen.** Die Linien zeigen die in der Legende näher benannten Referenzbereiche an. Für die Extremwerte ($\circ/*$) sind die jeweiligen Messergebnisse angegeben. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind durch die Klammern und mit den entsprechenden p-Werten ausgewiesen.95
- Abb. 11: Verteilung unauffälliger und auffälliger Ergebnisse im Belastungstest in den einzelnen Diagnosegruppen.** Als auffällig galt eine verlängerte Wiederberuhigungszeit von > 15 Minuten. Der Unterschied im Ausgang dieser Untersuchung war zwischen den gesunden Kontrolltieren und den jeweiligen Erkrankungsgruppen (2, 3 und 4) auf dem 0,05-Niveau signifikant (**).....97

- Abb. 12: Maximale interpleurale Druckdifferenz ($\Delta P_{pl,max}$) in den einzelnen Diagnosegruppen.** Werte über 4 cmH₂O zeigen eine Atemwegobstruktion an. Der Unterschied in der gemessenen $\Delta P_{pl,max}$ erwies sich zwischen der gesunden Kontrollgruppe und den Tieren mit „COB in Exazerbation“ als signifikant ($p=0,017$)..... 98
- Abb. 13: Häufigkeitsverteilung des Vorkommens unauffälliger, gering- bis mittelgradiger und hochgradiger Befunde (nach Ohnesorge 1998) in der endoskopischen Untersuchung in den einzelnen Diagnosegruppen.** Signifikante Unterschiede zwischen einzelnen Gruppen sind durch die Klammern und mit entsprechenden p-Werten gekennzeichnet. 100
- Abb. 14: Vergleichende Darstellung der Anteile an Makrophagen, Lymphozyten, eosinophilen Granulozyten und Mastzellen an der Gesamtzellzahl in den einzelnen Diagnosegruppen.** *** höchst signifikanter ($p<0,001$), ** hoch signifikanter ($p=0,001-0,01$), * signifikanter ($p=0,01-0,05$) Unterschied zwischen den einzelnen Gruppen. Die genauen p-Werte sind dem Fließtext zu entnehmen. Für die Extremwerte (\circ /*) sind die jeweiligen Messergebnisse angegeben. 104
- Abb. 15: Vergleichende Darstellung der Anteile von neutrophilen Granulozyten (PMN) an der Gesamtzellzahl in der BALF-Zytologie.** Signifikante Unterschiede zwischen einzelnen Gruppen sind durch die Klammern und mit den entsprechenden p-Werten ausgewiesen. 105
- Abb. 16: Vergleichende Darstellung des Auftretens verschiedener Schweregrade bronchialer und interstitieller Lungenzeichnung in den einzelnen Diagnosegruppen.** Signifikante Unterschiede zwischen einzelne Gruppen sind durch die Klammern und mit den entsprechenden p-Werten ausgewiesen. 1 Gesund, 2 COB in Exazerbation, 3 IAD/COB in Remission, 4 Interstitielle Pneumopathie, 5 Akute/subakute Pneumonie 107
- Abb. 17: Häufigkeitsverteilung verschiedener Erkrankungsgrade in den einzelnen Diagnosegruppen.** Die Einteilung des Schweregrades richtete sich nach der erreichten Gesamtpunktzahl im Gesamtscore. Signifikante Unterschiede zwischen einzelnen Gruppen sind durch die Klammern und mit den entsprechenden p-Werten ausgewiesen. 110
- Abb. 18: Werteverteilung der Fibrinogenkonzentration (in g/l) in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit in den einzelnen Diagnosegruppen.** Es fällt auf, dass in der Gruppe der gesunden Kontrolltiere sich die Konzentrationen überwiegend im unteren Wertebereich bewegen (deutlich rechtsschiefe Verteilung), während in den Gruppen der lungenkranken Tiere sich der Interquartilsabstand vergleichsweise höher absetzt..... 111

- Abb. 19: Vergleichende Darstellung der Häufigkeiten von Fibrinogenkonzentrationen in der BALF von 0,0005 bzw. >0,0005 g/l in den einzelnen Diagnosegruppen.** Es fällt auf, dass in der Gruppe der gesunden Kontrolltiere das Verhältnis zwischen Werten von 0,0005 und >0,0005 g/l ausgeglichener ist, während in den anderen Diagnosegruppen, insbesondere in der Gruppe „COB in Exazerbation“, eine deutliche Tendenz zugunsten Werten von >0,0005 g/l besteht. Der Unterschied zwischen Gruppe 1 und 2 erwies sich als signifikant ($p=0,03$). 113
- Abb. 20: Darstellung des Zusammenhangs zwischen dem prozentualen Anteil an neutrophilen Granulozyten an der Gesamtzellzahl und der ermittelten Fibrinogenkonzentration (in g/l) in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit.** Neben der schwachen Korrelation zwischen beiden Parametern lässt sich auch eine Clusterbildung in bestimmten Wertebereichen entsprechend den einzelnen Diagnosegruppen erkennen. r_s Korrelationskoeffizient nach Spearman..... 114
- Abb. 21: Werteverteilung der Serum-Amyloid-A-Konzentration in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit in den einzelnen Diagnosegruppen.** Neben einzelnen Extremwerten (\circ /*) bewegt sich die SAA-Konzentration überwiegend im unteren Wertebereich mit einer stark rechtschiefen Verteilung in allen Diagnosegruppen. Signifikante Unterschiede in der SAA-Konzentration zwischen den Gruppen blieben aus. 116
- Abb. 22: Konzentration der D-Dimere in mg/l für die einzelnen Pferde (Fallnummer) aus der Gruppe „COB in Exazerbation“.** Der Median und die Spannweite (Minimum und Maximum) für diese Diagnosegruppe sind entsprechend der Legende ausgewiesen.. 118
- Abb. 23: Darstellung des Zusammenhangs zwischen der Atemfrequenz (Atemzüge pro Minute) und der ermittelten D-Dimer-Konzentration (in mg/l) in der Gruppe „COB in Exazerbation“.** Es ist ein deutlich positiver Zusammenhang zwischen den beiden ausgewiesenen Parametern zu erkennen. r_s Korrelationskoeffizient nach Spearman 119
- Abb. 24: Vergleichende Darstellung der Atemfrequenz (Atemzüge pro Minute) innerhalb der einzelnen Diagnosegruppen vor und nach Therapie.** In Gruppe 3 ist eine deutliche Erniedrigung der AF nach Therapie zu erkennen und auch in Gruppe 2 zeigt sich, trotz der großen Spannweite, eine Verschiebung in den unteren Wertebereich. Die Veränderungen blieben ohne statistische Signifikanz. 121
- Abb. 25: Veränderung der arteriellen Sauerstoffpartialdruckdifferenz (paO_2) im Zuge der Arzneimitteltherapie innerhalb der einzelnen Diagnosegruppen.** Die gestrichelten Linien markieren die obere und untere Grenze des Referenzbereichs (95-105 mmHg). Der Unterschied zwischen den Werten vor und denen nach Therapie erwies sich innerhalb der Gruppe 2 als signifikant ($p=0,017$) 123

- Abb. 26: Veränderung der alveolo-atriellen Sauerstoffpartialdruckdifferenz (A-aDO₂) im Zuge der Therapie innerhalb der Diagnosegruppen.** Die Linien geben die in der Legende näher benannten Referenzbereiche an. Für den ausgegeben „Extremwert“ (○) ist der genaue Wert aufgeführt. Für die Gruppe 2 („COB in Exazerabtion“) zeigte sich im Rahmen der Inhalationstherapie eine signifikante Verbesserung (p=0,028) in der A-aDO₂..... 124
- Abb. 27: Häufigkeitsverteilung des Vorkommens unauffälliger, gering- bis mittelgradiger und hochgradiger Befunde (nach Ohnesorge 1998) in der endoskopischen Untersuchung in den einzelnen Diagnosegruppen im Vergleich vor und nach Therapie.** Bei den Tieren mit „COB in Exazerbation“ waren die Veränderungen im endoskopischen Befund statistisch signifikant (0,034). 126
- Abb. 28: Vergleichende Darstellung der Anteile an Makrophagen, Lymphozyten, eosinophilen Granulozyten und Mastzellen an der Gesamtzellzahl in den beiden Diagnosegruppen vor und nach Therapie.** Trotz fehlender rechnerischer Signifikanzen sind grafisch zum Teil deutliche Veränderungen in den Zellanteilen zu sehen. 129
- Abb. 29: Vergleichende Darstellung der Häufigkeitsverteilungen verschiedener Erkrankungsgrade in den einzelnen Diagnosegruppen vor und nach Therapie.** Die Therapie führte bei den Tieren mit „COB in Exazerabtion“ zu einer signifikanten (p=0,02) Veränderung in der Verteilung des Schweregrades der Erkrankung..... 132
- Abb. 30: Vergleichende Darstellung der Fibrinogenkonzentration (in g/l) innerhalb der einzelnen Diagnosegruppen vor und nach Therapie.** Insbesondere in der Gruppe „IAD/COB in Remission“ ist eine Werteverchiebung in untere Bereiche sichtbar. 133
- Abb. 31: Vergleichende Darstellung der SAA-Konzentration (in µg/ml) innerhalb der einzelnen Diagnosegruppen vor und nach Therapie.** Der grafisch sichtbare Unterschied im Vergleich vor und nach Therapie erwies sich statistisch als nicht signifikant. Trotz Erweiterung des Wertebereichs insgesamt lag der Median auch nach Therapie immer noch bei 0,005 µg/l. Die Einzelfallbetrachtung konnte zudem zeigen, dass sich reell nur bei 3 von 8 Pferden aus Gruppe 2 und bei 1 von 4 aus Gruppe drei eine Erhöhung gezeigt hatte. 135
- Abb. 32: Vergleichende Darstellung der D-Dimer-Konzentration (in mg/l) in der BALF vor und nach Therapie für die Patienten (Fall) der Gruppe „COB in Exazerbation“.** 136
- Abb. 33: Dokument zur Protokollierung der Anamnese.**.....223

VIII Abbildungsverzeichnis

- Abb. 34: Dokument zur Protokollierung der allgemeinen und speziellen klinischen Untersuchung sowie der weiterführenden Untersuchungen (Teil 1).** Die Untersuchungsbögen von Tag zwei und drei wichen dabei geringfügig von dem des ersten Untersuchungstages ab.224
- Abb. 35: Dokument zur Protokollierung der allgemeinen und speziellen klinischen Untersuchung sowie der weiterführenden Untersuchungen (Teil 2).**225
- Abb. 36: Dokument zur Protokollierung der allgemeinen und speziellen klinischen Untersuchung sowie der weiterführenden Untersuchungen (Teil 3).**226
- Abb. 37: Dokument zur Protokollierung der allgemeinen und speziellen klinischen Untersuchung sowie der weiterführenden Untersuchungen (Teil 4).**227
- Abb. 38: Dokument zur Protokollierung der Ergebnisse des Belastungstests.**.....228
- Abb. 39: Dokument zur Protokollierung der Ergebnisse aus der zytologischen Untersuchung der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit.**.....229

IX Anhang

1 Allgemeine Übersicht über das Patientenkollektiv

Tab. 20: Übersicht über das Patientenkollektiv. Neben den allgemeinen Patientendaten, wie Alter, Geschlecht, Rasse, Gewicht und Größe, sind auch die, im modifizierten Score nach Ohnesorge (1998), erreichte Gesamtpunktzahl mit entsprechendem Schweregrad sowie die Diagnose zu jedem Pferd aufgeführt. Die Tiere, die den Therapiegruppen zugeordnet wurden sind mit einem X markiert. (Fortsetzungen und Erläuterung der Tabelle auf S. 216 und 217)

Pferd Nr.	Alter (Jahre)	Sex	Rasse	Gewicht (kg)	Größe (cm)	Gesamtpunktzahl (klinischer Score)	Schweregrad der Erkrankung	Diagnose	Therapie
1	11	2	1	596	164	9	3	4	
2	9	2	1	560	170	0	0	1	
3	14	1	3	594	155	1	0	4	
5	15	1	3	488	153	3	1	3	
6	15	2	2	455	138	11	3	2	
7	10	2	3	535	162	3	1	3	
9	4	1	1	600	172	0	0	1	
10	4	1	2	320	140	0	0	1	
11	12	2	1	600	167	5	2	3	
12	13	1	1	500	158	3	1	3	
13	22	2	2	430	142	11	3	2	
15	8	2	1	550	165	1	0	4	
16	17	2	1	590	162	5	2	3	
17	14	2	2	300	148	7	3	2	
18	11	2	1	520	155	6	2	2	
19	12	2	1	500	168	5	2	4	
20	8	1	3	420	154	0	0	1	
21	20	2	2	500	151	9	3	2	

IX Anhang

Fortsetzung Tab. 20: Übersicht über das Patientenkollektiv.

Pferd Nr.	Alter (Jahre)	Sex	Rasse	Gewicht (kg)	Größe (cm)	Gesamtpunktzahl (klinischer Score)	Schweregrad der Erkrankung	Diagnose	Therapie
22	18	2	2	500	149	5	2	4	
23	23	1	3	450	150	6	2	2	
24	8	1	2	250	134	1	0	4	
26	18	1	3	450	150	3	1	5	
28	12	1	1	550	170	4	2	3	X
29	16	2	1	550	165	2	1	3	
31	19	1	3	400	149	6	2	2	X
32	10	2	3	535	162	2	1	3	X
33	8	1	3	450	155	4	2	3	
34	10	2	1	450	161	6	2	2	
35	15	2	1	500	165	14	3	2	
36	12	2	2	450	152	2	1	3	
37	14	1	3	480	152	9	3	2	X
38	21	2	3	450	159	8	3	2	X
39	3	1	1	500	165	0	0	1	
40	16	2	1	550	170	1	0	4	
41	7	2	2	450	149	4	2	3	
42	23	1	3	450	150	7	3	2	X
43	19	2	2	400	139	7	3	2	X
44	10	2	1	650	172	1	0	1	
45	12	2	2	350	148	8	3	2	X
46	1	1	1	400	151	7	3	5	
47	14	2	1	600	166	1	0	3	X

IX Anhang

Fortsetzung Tab. 20: Übersicht über das Patientenkollektiv.

Pferd Nr.	Alter (Jahre)	Sex	Rasse	Gewicht (kg)	Größe (cm)	Gesamtpunktzahl (klinischer Score)	Schweregrad der Erkrankung	Diagnose	Therapie
49	11	1	1	500	166	8	3	2	
50	16	1	3	550	160	1	0	4	
54	22	1	1	550	162	6	2	2	X
55	21	2	2	450	149	4	2	3	X
56	12	1	1	650	170	2	1	4	
57	18	1	1	500	163	8	3	2	X
58	8	1	1	450	155	0	0	1	
59	10	1	2	420	134	1	0	1	
60	6	1	1	600	175	0	0	4	
61	16	2	2	340	137	1	0	1	
62	10	2	2	350	143	0	0	1	
63	9	2	2	270	123	1	0	4	
64	8	2	2	350	136	0	0	1	
65	5	2	2	290	133	1	0	1	
66	5	2	2	360	144	1	0	1	
67	12	2	3	500	151	5	2	3	
68	13	1	2	300	140	0	0	1	
69	11	2	2	470	156	0	0	1	
70	10	2	2	400	147	7	3	2	
71	8	1	3	450	155	4	2	5	

Geschlecht: 1 Stute 2 Wallach

Rasse: 1 Warmblut 2 Kleinpferd oder Pony 3 Sonstige (American Quarter Horse, Friesen, Traber, arabisches Vollblut und Shagya-Araber)

Schweregrad der Erkrankung: 0 gesund 1 geringgradig 2 mittelgradig 3 hochgradig

Diagnose: 1 Gesund 2 COB in Exazerbation 3 IAD/COB in Remission 4 Interstitielle Pneumopathie 5 Akute/subakute Pneumon

2 Datentabellen

Tab. 21: Übersicht über den durchschnittlichen paO_2 in den Diagnosegruppen.

Diagnosegruppe	paO_2 (mmHg)			
	MW \pm SD	Md (Q _{1/3})	Minimum	Maximum
gesund	98,18 \pm 5,84 ^b	-	90,91	112,83
chronisch krank	-	97,07 (91,76/101,05)	57,93	109,39
COB in Exazerbation	90,48 \pm 11,67 ^{ab}	-	57,93	109,39
IAD/COB in Remission	98,79 \pm 3,74 ^a	-	92,33	106,15
interstitielle Pneumopathie	-	100,95 (92,16/102,64)	74,80	104,55
akute/subakute Pneumonie	Die drei Werte waren 90, 91,4 und 98,96 mmHg.			

a Der durchschnittliche paO_2 ist über die Gruppe 2 und 3 signifikant unterschiedlich ($p=0,043$). **b** Der manuelle Einzelvergleich ergab einen signifikanten Unterschied ($p=0,025$) zwischen Gruppe 1 und 2.

Tab. 22: Übersicht über die durchschnittliche $A-aDO_2$ in den Diagnosegruppen.

Diagnosegruppe	$A-aDO_2$ (mmHg)			
	MW \pm SD	Md (Q _{1/3})	Minimum	Maximum
gesund	3,31 \pm 3,01	-	0	9,30
chronisch krank	-	1,16 (0/7,6)	0	27,87
COB in Exazerbation	-	6,96 (0,78/12,82) ^a	0	27,87
IAD/COB in Remission	-	0,4 (0/2,3) ^a	0	6,03
interstitielle Pneumopathie	-	0,44 (0/7,81)	0	24,5
akute/subakute Pneumonie	Die drei Werte waren 3,5, 8,4 und 10,15.			

a Die durchschnittliche $A-aDO_2$ ist über die Gruppe 2 und 3 signifikant unterschiedlich ($p=0,018$).

IX Anhang

Tab. 23: Übersicht über die Anteile der verschiedenen Zelltypen an der Gesamtzellzahl (in %) in den einzelnen Diagnosegruppen.

		Diagnosegruppe				
		1	2	3	4	5
MK (%)	MW±SD	56,5±4,7 ^a	21,6±13,6 ^{a, b}	-	50,8±15,5 ^b	Die Werte waren 22, 58 und 61,7.
	Md (Q_{1/3})	-	-	49,5 (30,7/52,5) ^b	-	
	Min/Max	46,5/64	5,6/47	25/66	15/67	
Lymph (%)	MW±SD	38,1±6,4 ^a	-	-	34,5±11,9	Die Werte waren 8,8, 29,2 und 30,4.
	Md (Q_{1/3})	-	17,6 (6,9/30,2) ^a	30,5 (24,4/38,5)	-	
	Min/Max	27,8/50	3,6/36,2	22/66	22,2/60	
PMN (%)	MW±SD	-	60,1±21,1 ^{a, b}	17,1±7,4 ^{a, b}	-	Die Werte waren 7,1, 10 und 68,6.
	Md (Q_{1/3})	2 (1,2/4,6) ^a	-	-	7,2 (5,8/10) ^b	
	Min/Max	0,5/7,6	27/90,4	3,0/27,8	1,2/24,1	
Eos (%)	MW±SD	-	-	-	0,95±0,92	Die Werte waren 0, 0,2 und 0,2.
	Md (Q_{1/3})	0 (0/0,2)	0 (0/0,5)	0(0/1,3)	-	
	Min/Max	0/0,07	0/1	0/15,5	0/2,5	
Mastz (%)	MW±SD	-	-	3,3±2,6 ^a	5,0±4,3 ^a	Die Werte waren 0,4, 0,8 und 2,5.
	Md (Q_{1/3})	1,6 (1,2/2,6)	1 (0,1/1,6) ^a	-	-	
	Min/Max	0/8	0/4,6	0,2/10	0/15	

Die hochgestellten Buchstaben (**a**, **b** und **c**) und dunkelgrauen Einfärbungen zeigen auf, zwischen welchen Diagnosegruppen signifikante Unterschiede in dem prozentualen Anteil der einzelnen Zelltypen an der Gesamtzellzahl bestanden. Die Bezeichnung beginnt für jede Zellart erneut mit **a**, weshalb die einzelnen Zeilen bezüglich dieser Bezeichnung getrennt voneinander zu betrachten sind. Die einzelnen p-Werte können dem Fließtext entnommen werden. **MK** Makrophagen, **Lymph** Lymphozyten, **PMN** polymorphkernige neutrophile Granulozyten, **Eos** eosinophile Granulozyten, **Mastz** Mastzellen

Tab. 24: Übersicht über D-Dimer-Konzentrationen in mg/l in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit bei ausgewählten Fällen.

Fall Nr.	D-Dimere (mg/l)	Anreicherungsfaktor	Diagnosegruppe
58	<0,07	2,56	1
62	<0,02	9,36	1
66	<0,03	6,25	1
6	0,07	4,7	2
13	0,25	8,8	2
17	0,13	4,7	2
18	0,09	5,7	2
21	0,11	11,5	2
23	0,1	6,7	2
31	<0,04	4,6	2
34	0,28	ohne	2
35	0,33	ohne	2
37	0,12	6,2	2
38	0,2	ohne	2
42	0,18	6,4	2
43	0,07	5,2	2
45	0,06	8,9	2
49	0,04	5,9	2
54	0,08	13,2	2
57	0,08	5,7	2
70	0,1	7,32	2
26	0,2	ohne	5
46	1,37	ohne	5
71	<0,04	4,9	5

Aufgeführt sind hier alle Fälle, in denen eine Proteinanreicherung stattgefunden hat bzw. in denen bereits ohne Anreicherungsverfahren definierte D-Dimer-Konzentrationen gemessen werden konnten.

IX Anhang

Tab. 25: Übersicht über die durchschnittlich gemessenen Werte aus der arteriellen Blutgasanalyse (paCO₂, paO₂ und A-aDO₂) im Vergleich vor und nach Therapie.

		Gesamt (n=12)		„COB in Exazerbation“ (n=8)		„IAD/COB in Remission“ (n=4)	
		Vor	Nach	Vor	Nach	Vor	Nach
paCO ₂ (mmHg)	MW± SD	43,44± 2,86	44,05± 2,85	42,53± 3,06	42,64± 2,35	45,27± 1,22	46,85± 1,02
	Min/ Max	38,46 / 47,57	40,17/ 48,19	38,46/ 47,57	40,17/ 46,84	44,34/ 47,04	45,71/ 48,19
paO ₂ (mmHg)	MW± SD	96,89± 8,25 ^a	103,2± 5,14 ^a	95,75± 9,8 ^b	105,63± 3,86 ^b	99,15± 3,89	98,35± 3,88
	Min/ Max	81,81/ 109,39	94,27/ 110,9	81,81/ 109,39	100,01/ 110,90	95,66/ 103,85	94,27/ 102,37
A-aDO ₂ (mmHg)	MW± SD	-	-	-	-	-	-
	Md (Q _{1/3})	0,5 (0/6,5)	0 (0/5,01)	1,47 (0,02/11,15) ^c	0 (0/0,75) ^c	0 (0/0,87)	1 (0,02/2,37)
	Min/ Max	0/ 18,7	0/ 2,52	0/ 18,7	0/ 1,3	0/ 1,16	0/ 2,52

Der durchschnittlich gemessene paO₂ war im Vergleich vor und nach Therapie **a** insgesamt (p=0,041) sowie **b** allein bei den Tieren mit „COB in Exazerbation“ (p=0,017) signifikant verschieden. **c** In der Gruppe „COB in Exazerbation“ zeigte sich nach Therapie ein signifikanter Unterschied (p=0,028) in der A-aDO₂ verglichen mit den Werten aus der Erstuntersuchung.

IX Anhang

Tab. 26: Übersicht über die Anteile der verschiedenen Zelltypen (in %) an der Gesamtzellzahl im Vergleich vor und nach Therapie.

		Gesamt (n=12)		„COB in Exazerbation“ (n=8)		IAD/COB in Remission (n=4)	
		Vor	Nach	Vor	Nach	Vor	Nach
MK (%)	MW± SD	32,1±18,2	39,6±19,6	24,5±15,3	32,7±12,9	47,5±14,6	53,6±25,2
	Min/Max	8,2/59,8	8,6/73,2	8,2/47	8,6/49,4	27,4/59,8	16,8/73,2
Lymph (%)	MW± SD	26,5±11,3	26,9±9,8	23,7±12,6	28,3±10,3	32±6,1	24,1±9,5
	Min/Max	3,8/40,2	12,2/48,2	3,8/36,2	15,6/48,2	27/40,2	12,2/35,5
PMN (%)	MW± SD	39,2±26,2	32,9±24,2	55,1±20,7	39,1±18,1	17±8,1	-
	Md (Q _{1/3})	-	-	-	-	-	5,2 (1,9/54)
	Min/Max	9,8/87,8	1,75/69,4	27/87,8	14,4/67,8	9,8/27,8	1,75/69,4
Eos (%)	Md (Q _{1/3})	0 (0/0,1)	0 (0/0,1)	0 (0/0,1)	0 (0/0,2)	0 (0/0,6)	In allen 4 Fällen haben die Eos einen Anteil von 0%.
	Min/Max	0/0,7	0/0,2	0/0,6	0/0,2	0/0,7	
Mastz (%)	MW± SD	2±1,8 ^a	0,9±0,9 ^a	1,5±1,6	0,5±0,5	-	1,8±1
	Md (Q _{1/3})	-	-	-	-	3,6 (1,1/4,6)	-
	Min/Max	0/4,6	0/3	0/4,6	0/1	0,6/4,6	0,5/3

In der vergleichenden Betrachtung des Zellbildes vor und nach Therapie zeigte sich rein rechnerisch lediglich für die Anteile der Mastzellen im gesamten Patientenvergleich ein signifikanter Unterschied (0,016). **MK**=Makrophagen, **Lymph**=Lymphozyten, **PMN**=polymorphkernige neutrophile Granulozyten, **Eos**=eosinophile Granulozyten, **Mastz**=Mastzellen

3 Untersuchungsbögen

Anamnese und Signalement

Besitzer:

Name: _____ Vorname: _____

Überweisender Tierarzt:

Name: _____ Vorname: _____

Behandelnder Tierarzt:

Assistent: _____ Supervisor: _____

Pferd:

Name: _____ Rasse: _____

Geschlecht: _____ Alter: _____

Gewicht: _____ Stockmaß: _____

Lebensnummer: _____ Farbe: _____

Abzeichen Kopf: _____

Abzeichen Gln: _____

Vorbericht:

Voruntersuchung / Vorbehandlung:

Abb. 33: Dokument zur Protokollierung der Anamnese.

IX Anhang

	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 60%;">Datum</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Tag</td> <td style="text-align: center;">1</td> </tr> <tr> <td>Fall Nr.</td> <td></td> </tr> </table>	Datum		Tag	1	Fall Nr.	
Datum							
Tag	1						
Fall Nr.							
Allgemeine klinische Untersuchung							
Körperhaltung	physiologisch <input type="checkbox"/> sonstiges:						
Verhalten	ruhig u. aufmerksam <input type="checkbox"/> aufgeregt <input type="checkbox"/> zu ruhig <input type="checkbox"/> apathisch <input type="checkbox"/> sonstiges:						
Ernährungszustand	gut <input type="checkbox"/> zu gut <input type="checkbox"/> adipös <input type="checkbox"/> mäßig <input type="checkbox"/> schlecht <input type="checkbox"/> kachektisch <input type="checkbox"/>						
Entwicklungszustand	dem Alter entsprechend <input type="checkbox"/> sonstiges:						
Pflegezustand	gut <input type="checkbox"/> mäßig <input type="checkbox"/> schlecht <input type="checkbox"/>						
Pulsfrequenz	/min.						
Atemfrequenz	/min.						
Körperinnentemperatur	°C						
Körperoberflächentemperatur	zu den Akren hin abnehmend <input type="checkbox"/> sonstiges:						
Hautturgor	erhalten <input type="checkbox"/> vermindert <input type="checkbox"/>						
Schleimhäute	blassrosa/rosa <input type="checkbox"/> gerötet <input type="checkbox"/> blass <input type="checkbox"/> zyanotisch <input type="checkbox"/> ikterisch <input type="checkbox"/>						
KFZ	<2 sek. <input type="checkbox"/> 2 – 3 sek. <input type="checkbox"/> >3 sek. <input type="checkbox"/>						
Episkleralgefäße	fein gezeichnet <input type="checkbox"/> verwaschen <input type="checkbox"/> injiziert <input type="checkbox"/> nicht sichtbar <input type="checkbox"/>						
Lnn. mandibulares	links: o.b.B. <input type="checkbox"/> vergrößert <input type="checkbox"/> (Größe: x x cm) schmerzhaft <input type="checkbox"/> nicht verschieblich <input type="checkbox"/> derb <input type="checkbox"/> vermehrt warm <input type="checkbox"/>						

Abb. 34: Dokument zur Protokollierung der allgemeinen und speziellen klinischen Untersuchung sowie der weiterführenden Untersuchungen (Teil 1). Die Untersuchungsbögen von Tag zwei und drei wichen dabei geringfügig von dem des ersten Untersuchungstages ab.

IX Anhang

	rechts: o.b.B. <input type="checkbox"/> vergrößert <input type="checkbox"/> (Größe: x x cm) schmerzhaft <input type="checkbox"/> nicht verschieblich <input type="checkbox"/> derb <input type="checkbox"/> vermehrt warm <input type="checkbox"/>
Spezielle Untersuchung des Respirationstrakt	
Atmemyt	costoabdominal <input type="checkbox"/> verstärkt abdominal <input type="checkbox"/> verstärkt costal <input type="checkbox"/> Afteratmung <input type="checkbox"/> Dampfrinne <input type="checkbox"/>
Nüstern	o.b.B. <input type="checkbox"/> gebläht <input type="checkbox"/> Luftstrom: gleichmäßig <input type="checkbox"/> links vermindert <input type="checkbox"/> rechts vermindert <input type="checkbox"/> Sekretrinne <input type="checkbox"/>
Nasenausfluss	o.b.B. <input type="checkbox"/> bds. <input type="checkbox"/> links: ggr. <input type="checkbox"/> mgr. <input type="checkbox"/> hgr. <input type="checkbox"/> serös <input type="checkbox"/> sero – mukös <input type="checkbox"/> mukös purulent <input type="checkbox"/> hämorrhagisch <input type="checkbox"/> mit Futterpartikeln <input type="checkbox"/> rechts: ggr. <input type="checkbox"/> mgr. <input type="checkbox"/> hgr. <input type="checkbox"/> serös <input type="checkbox"/> sero – mukös <input type="checkbox"/> mukös purulent <input type="checkbox"/> hämorrhagisch <input type="checkbox"/> mit Futterpartikeln <input type="checkbox"/>
Husten	spontan <input type="checkbox"/> mehrfach <input type="checkbox"/> auslösbar <input type="checkbox"/> mehrfach <input type="checkbox"/> feucht <input type="checkbox"/> trocken <input type="checkbox"/>
Dyspnoe	in Ruhe <input type="checkbox"/> expiratorisch <input type="checkbox"/> inspiratorisch <input type="checkbox"/> gemischt <input type="checkbox"/>
Stridor	inspiratorisch <input type="checkbox"/> expiratorisch <input type="checkbox"/>
Auskultation Lunge	rechts: links:
Auskultation Trachea	
Auskultation Larynx	
Perkussion des Lungenfeldes	o.b.B. <input type="checkbox"/> > eine handbreit erweitert <input type="checkbox"/> > zwei handbreit erweitert <input type="checkbox"/> gedämpft <input type="checkbox"/>
CO ₂ -Rückatmung:	
Endoskopie:	
Röntgen:	
Diagnose:	
Therapie:	

Abb. 35: Dokument zur Protokollierung der allgemeinen und speziellen klinischen Untersuchung sowie der weiterführenden Untersuchungen (Teil 2).

IX Anhang

	Datum
	Tag 2/3
	Fall Nr.

Allgemeine klinische Untersuchung	
Körperhaltung	physiologisch <input type="checkbox"/> sonstiges:
Verhalten	ruhig u. aufmerksam <input type="checkbox"/> aufgeregte <input type="checkbox"/> zu ruhig <input type="checkbox"/> apathisch <input type="checkbox"/> sonstiges:
Pulsfrequenz	/min.
Atemfrequenz	/min.
Körperinnentemperatur	°C
Schleimhäute	blassrosa/rosa <input type="checkbox"/> gerötet <input type="checkbox"/> blass <input type="checkbox"/> zyanotisch <input type="checkbox"/> ikterisch <input type="checkbox"/>
KFZ	<2 sek. <input type="checkbox"/> 2 – 3 sek. <input type="checkbox"/> >3 sek. <input type="checkbox"/>
Episkleralgefäße	fein gezeichnet <input type="checkbox"/> verwaschen <input type="checkbox"/> injiziert <input type="checkbox"/> nicht sichtbar <input type="checkbox"/>

Spezielle Untersuchung des Respirationstrakt	
Atmementyp	costoabdominal <input type="checkbox"/> verstärkt abdominal <input type="checkbox"/> verstärkt costal <input type="checkbox"/> Afteratmung <input type="checkbox"/> Dampfrinne <input type="checkbox"/>
Nüstern	o.b.B. <input type="checkbox"/> gebläht <input type="checkbox"/> Luftstrom: gleichmäßig <input type="checkbox"/> links vermindert <input type="checkbox"/> rechts vermindert <input type="checkbox"/> Sekretrinne <input type="checkbox"/>

Abb. 36: Dokument zur Protokollierung der allgemeinen und speziellen klinischen Untersuchung sowie der weiterführenden Untersuchungen (Teil 3).

Nasenausfluss	o.b.B. <input type="checkbox"/> bds. <input type="checkbox"/> links: ggr. <input type="checkbox"/> mgr. <input type="checkbox"/> hgr. <input type="checkbox"/> serös <input type="checkbox"/> sero – mukös <input type="checkbox"/> mukös purulent <input type="checkbox"/> hämorrhagisch <input type="checkbox"/> mit Futterpartikeln <input type="checkbox"/> rechts: ggr. <input type="checkbox"/> mgr. <input type="checkbox"/> hgr. <input type="checkbox"/> serös <input type="checkbox"/> sero – mukös <input type="checkbox"/> mukös purulent <input type="checkbox"/> hämorrhagisch <input type="checkbox"/> mit Futterpartikeln <input type="checkbox"/>
Husten	spontan <input type="checkbox"/> mehrfach <input type="checkbox"/> auslösbar <input type="checkbox"/> mehrfach <input type="checkbox"/> feucht <input type="checkbox"/> trocken <input type="checkbox"/>
Dyspnoe	in Ruhe <input type="checkbox"/> expiratorisch <input type="checkbox"/> inspiratorisch <input type="checkbox"/> gemischt <input type="checkbox"/>
Stridor	inspiratorisch <input type="checkbox"/> expiratorisch <input type="checkbox"/>
Auskultation Lunge	rechts: links:
Auskultation Trachea	
Auskultation Larynx	

Abb. 37: Dokument zur Protokollierung der allgemeinen und speziellen klinischen Untersuchung sowie der weiterführenden Untersuchungen (Teil 4).

Datum:

Fall Nr.:

Belastungstest

Zeit (Min)	Herzfrequenz (Schläge/Min.)	Atemfrequenz (Atemzüge/Min.)
Ruhewert		
0		
5		
10		
15		
20		
25		
30		
Bemerkungen		

Laktat vor Belastung: mmol/l

Laktat nach Belastung: mmol/l

Abb. 38: Dokument zur Protokollierung der Ergebnisse des Belastungstests.

Name Pferd: Fall Nr.:

BAL

Instillierte Flüssigkeit: ml
Wiedergewonnene Flüssigkeit: ml

MK					
Lymph					
PMN					
Eos					
Mastz					
Bemerkungen					
Anteil in % an	MK	Lymph	PMN	Eos	Masz
der Gesamtzellzahl					

MK Makrophagen, Lymph Lymphozyten, PMN polymorphkernige neutrophile Granulozyten, Eos eosinophile Granulozyten, Mastz. Mastzellen

Abb. 39: Dokument zur Protokollierung der Ergebnisse aus der zytologischen Untersuchung der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit.

4 Verwendete Materialien

4.1 Geräte

Blutgasanalysegerät	cobas b 123 POC System, Roche Diagnostics Deutschland GmbH, Mannheim, Deutschland
Blutanalysegerät (klinische Chemie)	Reflotron®, Roche Diagnostics Deutschland GmbH, Mannheim, Deutschland
Digitizer	DX-G, Agfa HealthCare GmbH, Bonn, Deutschland
Hämatokritzentrifuge	Haemofuge (Nr. 234497), Heraeus Instruments GmbH, Hanau, Deutschland
Hämatologiesystem	Sysmex poch-100iV Diff, Sysmex Deutschland GmbH, Bornbach, Deutschland
Handrefraktometer	Modell HRM 18 (726000), Eickemeyer – Medizintechnik für Tierärzte KG, Tuttlingen, Deutschland
Inhalationsmaske	SaHoMa®-II Inhalationsmaske, Typ HM-200, NEBU-TEC International med. Produkte Eike Kern GmbH, Elsenfeld, Deutschland
Inhalationsmasken-Zubehör	SaHoMa®-II mobile ultrasonic nebulizer, Typ HM-200; SaHoMa®-II Verneblerkopf, Typ HM-201; SaHoMa®-II Aerosolerzeuger, Typ HM-207, NEBU-TEC International med. Produkte Eike Kern GmbH, Elsenfeld, Deutschland
Mikroskop	Olympus BX41TF, Olympus Corporation, Tokyo, Japan
Mikrotiterplattenlesegerät / Software	Bio-Rad Model 550 Microplate Reader / Microplate Manager Version 5.2, Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA 94547, USA
Röntgengerät	GIERTH RHF200ML, GIERTH X-Ray international GmbH, Riesa, Deutschland
Tischzentrifugen	Rotofix 32/Rotina 420R, Andreas Hettich GmbH & Co. KG, Tuttlingen, Deutschland
Tisch-Kühlzentrifuge	Z326K, HERMLE Labortechnik GmbH, Wehingen, Deutschland
Venti-Graph	Modell PG 100/REC, Boehringer Ingelheim Vetmedia GmbH, Ingelheim, Deutschland
Videoendoskop (2,70 m Länge)	Videomed GmbH, München, Deutschland
vollautomatisches Analysegerät für Gerinnungsparameter	Sysmex® CA-1500 System, Sysmex Corporation, Norderstedt, Deutschland
vollautomatisches Analysegerät	cobas c701 module, Cobas® 8000 modular analyzer, Roche Diagnostics Deutschland GmbH, Mannheim, Deutschland

IX Anhang

Zell-Counter	AC-8, Karl-Hecht GmbH & Co. KG, Sondheim, Deutschland
--------------	--

4.2 Sonstige Verbrauchsmaterialien

BAL-Katheter (3m Länge)	Broncho-Alveolar Lavage Catheter (Silicone), SurgiVet®, Smiths Medical ASD, Inc., St. Paul, MN 55112, USA
Blut Röhrchen	Röhre 10 ml, K3 EDTA, Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland
Einmal-Injektionskanülen	Sterican®, 1,20 x 40 mm BC/SB, 18G x 1 ½"; Sterican®, 0.70 x 30 mm BL/LB, 22G x 1 ¼", B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
Einmalspritzen	BD-A Line™, 3 ml, Becton, Dickinson and Company, Plymouth, UK; Injekt®Solo (2, 10 und 20 ml), Omnifix®Solo, Wund- und Blasenspritze, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
Glas-Kapillarröhrchen (heparinisiert)	Kapillarröhrchen ~200 µl, Roche Diagnostics Deutschland GmbH, Mannheim, Deutschland
Hämatokrit-Kapillaren	Haematokrit-Kapillaren 75 mm / 75 µl, Hirschmann Laborgeräte GmbH & Co. KG, Eberstadt, Deutschland
Kryoröhrchen	neoLab Reaktionsgefäße, graduiert, selbststehend, 1,5 ml, 44x11 mm, neoLab Migge Laborbedarf-Vertriebs GmbH, Heidelberg, Deutschland
Objektträger	Objektträger SuperFrost®, Kanten geschnitten, Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Pipetten	manuelle Eppendorf-Pipetten (verschiedene Volumina), Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland; Einweg-Pasteurpipetten, 3 ml, graduiert, Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Pipetten-Spitzen	ratiolab®Pipettenspitzen (verschiedene Größen), ratiolab GmbH, Dreieich, Deutschland
Zentrifugenröhrchen	Röhre 15 ml, 120x17 mm, PP, Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland
Ultrafiltrationseinheiten	Centrifree®Ultrafiltrationseinheiten, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland

4.3 Reagenzien und Medikamente

Budesonid	Pulmicort® 1,0 mg / 2 ml, Suspension, AstraZeneca GmbH, Wedel, Deutschland
Detomidinhydrochlorid	Cepesedan® RP, 10 mg/ml, CP-Pharma Handelsgesellschaft mbH, Burgdorf, Deutschland
Giemsas Azur-Eosin-Methylenblaulösung für die Mikroskopie	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Levomethadonhydrochlorid + Fenpipramidhydrochlorid	L-Polamivet® 2,5/0,125 mg/ml, Intervet Deutschland GmbH, Unterschleißheim, Deutschland
Lidocainhydrochlorid	Lidocainhydrochlorid 2%, 20,0 mg/ml, belapharm GmbH & Co. KG, Vechta, Deutschland
May-Grünwalds Eosin-Methylenblaulösung modifiziert für die Mikroskopie	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Phosphatgepufferte Salzlösung	BioWhittaker® PBS Phosphate Buffered Saline, Lonza Group Ltd., Verviers, Belgien
Testsubstanz für die automatische Fibrinogenbestimmung	Dako Deutschland GmbH, Hamburg, Deutschland

4.4 Laboranalytische Tests

ELISA Kit für D-Dimere	ELISA D2D (E90506Eq), Uschn Life Science Inc., Wuhan, China
ELISA Kit für PAI-1	Horse Plasminogen activator inhibitor 1 (SERPINE1) ELISA Kit, Cusabio Biotech Co., Ltd., Wuhan, China
	Quantikine® ELISA, Human Serpin E1/PAI-1, R&D Systems®, Inc., Minneapolis, MN 55413, USA
	Nori® Equine Serpin E1/PAI-1 ELISA Kit, Genorise Scientific, Inc., Berwyn, PA 19312, USA
ELISA Kit für SAA	ELISA „Phase“™ Serum Amyloid A Assay (SAA)-Multispecies von Tridelta Development Ltd, Maynooth, County Kildare, Irland
Latexagglutinationstest für D-Dimere	INNOVANCE® D-Dimer Test, Siemens Healthcare Diagnostics GmbH, Eschborn, Deutschland

X Publikationen

Barton, A. K.; Shety, T.; Wirth, C.; Gehlen, H. (2014): Diagnostischer Wert verschiedener Entzündungsmarker bei chronischen Atemwegserkrankungen des Pferdes – eine Übersicht. *Pferdeheilkunde*. 30, 432-443.

Barton, A.-K.; Shety, T.; Wirth, C.; Pelli, A.; Bondzio, A.; Rieger, M.; Einspanier, R.; Gehlen, H. (2014): Einfluss der inhalativen Glukokortikoid-Therapie auf Entzündungsmarker in der bronchoalveolären Lavage von Pferden mit chronischen Lungenerkrankungen. *Eckehard-Deegen-Symposium, Baden-Baden, 23.05.-24.05.2014*.

XI Danksagung

An erster Stelle danke ich Frau Prof. Dr. Heidrun Gehlen für die Bereitstellung dieses sehr interessanten Themas, die Ermöglichung der Studiendurchführung und die freundliche Betreuung während der gesamten Zeit.

Ein ganz besonderer Dank gilt Frau Dr. Ann-Kristin Barton für Ihre kompetente und stetige Unterstützung bei der theoretischen und praktischen Umsetzung dieser Studie. Vor allem danke ich Ihr für das Vertrauen, das sie mir und dem Gelingen des Projektes entgegenbracht hat.

Ein Dank geht an die Mehl-Mülhens-Stiftung für die hilfreiche finanzielle Unterstützung.

Danken möchte ich auch meinen lieben Kolleg(inn)en aus der Pferdeklunik, insbesondere Frau Dr. Judith Winter, Frau Dr. Antonia Ertelt, Frau Dr. Dana Teschner und Herrn Dr. Robert Schmitz, für ihre Unterstützung und Mithilfe bei der Untersuchung der Probanden. Den Mitarbeiter(inne)n der radiologischen Abteilung danke ich, dass sie uns mit den zahlreichen Lungenpatienten immer wieder aufs Neue willkommen geheißen haben.

Ein herzlicher Dank geht an Herrn Prof. Dr. Dr. Ralf Einspanier für die Bereitstellung seiner Arbeitsräume und –mittel. Ebenfalls danke ich den Mitarbeiterinnen des Instituts für Veterinärbiochemie, namentlich Frau Dr. Angelika Bondzio, Frau Petra Schulze und Frau Ulla Scholz, für die fachliche und besonders auch moralische Unterstützung bei der Durchführung der ELISAs.

Herrn Prof. Dr. Jörg R. Aschenbach danke ich ebenfalls für die Bereitstellung von Laborräumen und –mitteln und Frau Dr. Ulrike Lodemann danke ich für Ihre Hilfe im Labor.

Bei Frau Dr. Ruth Klein und Mitarbeiter(inne)n von LABOKLIN sowie Frau Dr. Caren Mutschmann und Mitarbeiter(inne)n vom Synlab Pharmainstitut möchte ich mich für die Kooperation, Beratung und vertrauensvolle Probenbearbeitung bedanken.

Ein großer Dank geht an Herrn Prof. PhD Markus Doherr und insbesondere auch an Frau PD Dr. Roswitha Merle für die Hilfestellung bei der Datenauswertung.

Schließlich möchte ich ganz besonders und von Herzen meiner Familie und meinen Freunden für die Geduld, die nicht nachlassenden Ermutigungen und die beständige Unterstützung in allen Bereichen danken.

XII Selbstständigkeitserklärung

Hiermit bestätige ich, Caroline Wirth, die vorliegende Arbeit mit dem Thema

„Charakterisierung der fibrinolytischen Aktivität in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit beim chronisch lungenkranken Pferd und der Einfluss einer inhalativen Glukokortikoidtherapie“

selbstständig und nur auf Grundlage der angegebenen Quellen und Hilfsmittel angefertigt zu haben.

Berlin, den 12.04.2016

Caroline Michaela Johanna Wirth