

Aus der Klinik für Pferde  
des Fachbereiches Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

Therapeutischer Nutzen der Anwendung einer CpG-ODN/GNP-Inhalationslösung  
zur Behandlung der COB-Erkrankung des Pferdes :

Eine klinische Feldstudie, einschließlich der Erhebung allgemeiner statistischer  
Daten zur COB-Erkrankung in Deutschland anhand eines Fragebogens

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

vorgelegt von  
Beatrice Lehmann  
Tierärztin  
aus München

Berlin 2013  
Journal-Nr.: 3642

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Jürgen Zentek  
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Heidrun Gehlen  
Zweiter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Rudolf Staufenberg  
Dritter Gutachter: Prof. Dr. Karl Heinz Lahrman

*Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):*

horses, field tests, chronic obstructive pulmonary disease,  
dyspnea, disease surveys, immunotherapy, germany

Tag der Promotion: 21.11.2013

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: 978-3-86387-404-9

**Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2013**

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.

Coverbild vorne © zuzule - Fotolia.com

Alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© Mensch und Buch Verlag 2013

Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

[verlag@menschundbuch.de](mailto:verlag@menschundbuch.de) – [www.menschundbuch.de](http://www.menschundbuch.de)

*Meinen Eltern*

*in Liebe und Dankbarkeit*



## INHALTSVERZEICHNIS

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG .....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>LITERATURÜBERSICHT.....</b>	<b>3</b>
2.1	CHRONISCH OBSTRUKTIVE BROCHITIS DES PFERDES.....	3
2.1.1	<i>Begriffsdefinitionen .....</i>	3
2.1.1.1	Chronisch obstruktive Brochitis bzw. Recurrent Airway Obstruction .....	3
2.1.1.2	Summer Pasture-Associated Obstructive Pulmonary Disease.....	4
2.1.1.3	Inflammatory Airway Disease.....	5
2.1.2	<i>Epidemiologische Untersuchungen.....</i>	6
2.1.3	<i>Bisher durchgeführte Fragebogenstudien zur COB-Erkrankung des Pferdes .....</i>	6
2.1.4	<i>Pathologie der COB.....</i>	7
2.1.4.1	Erblichkeit der COB-Erkrankung.....	7
2.1.4.2	Pathomechanismen der COB.....	8
2.1.4.3	Komponenten der Entzündungsreaktion.....	10
2.1.4.3.1	Allergische Reaktion .....	10
2.1.4.3.2	T-Zellreaktion.....	11
2.1.4.3.3	Reaktionen der neutrophilen Granulozyten .....	11
2.1.4.3.4	Aktivierung von Transkriptionsfaktoren.....	12
2.1.4.3.5	Oxidativer Stress.....	12
2.1.5	<i>Diagnostik der COB.....</i>	13
2.1.5.1	Klinische Diagnostik .....	13
2.1.5.2	Arterielle Blutgasanalyse.....	14
2.1.5.3	Interpleuraldruckmessung .....	15
2.1.5.4	Histamin-Inhalations-Provokationstest.....	17
2.1.5.5	Röntgendiagnostik.....	17
2.1.5.6	Bronchoskopie.....	17
2.1.6	<i>Therapie der COB.....</i>	19
2.1.6.1	Konventionelle Therapie .....	19
2.1.6.1.1	Haltungsoptimierung .....	19
2.1.6.1.2	Medikamentöse Therapie.....	19
2.1.6.1.3	Hyperinfusionstherapie.....	21
2.1.6.1.4	Inhalationstherapie.....	22
2.1.6.2	Alternative Therapien.....	22

2.2	CYTOSIN-PHOSPHAT-GUANIN-OLIGODEOXYNUKLEOTIDE	23
2.2.1	<i>Struktur der Cytosin-Phosphat-Guanin-Oligodeoxynukleotide</i>	23
2.2.2	<i>Wirkungsmechanismus der CPG-Motive</i>	24
2.2.3	<i>CPG Klassen</i>	25
2.2.4	<i>In vitro Einsatz von CpG-ODN beim Pferd</i>	26
2.2.5	<i>In vivo Einsatz von CpG-ODN beim Pferd</i>	27
2.3	GELANTINENANOPARTIKEL (GNP)	29
2.3.1	<i>Nanopartikuläre Transportsysteme</i>	29
2.3.2	<i>Struktur und Wirkungsweise von Gelatinenanopartikeln</i>	29
2.3.3	<i>In vivo Einsatz von Gelatinenanopartikeln beim Pferd</i>	31
<b>3</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN</b>	<b>32</b>
3.1	MATERIAL UND METHODEN DER FRAGEBOGENSTUDIE	32
3.1.1	<i>Studiendesign und Ziel</i>	32
3.1.2	<i>Entwicklung und inhaltliche Gestaltung der Fragebogenhomepage</i>	32
3.1.2.1	Erster Abschnitt: Allgemeine Angaben zum Pferd	33
3.1.2.2	Zweiter Abschnitt: Erstmaliges Auftreten von chronisch obstruktiver Bronchitis	33
3.1.2.3	Dritter Abschnitt: Management der COB-Patienten	33
3.1.2.4	Vierter Abschnitt: Verlauf der COB-Erkrankung	34
3.1.2.5	Fünfter Abschnitt: Nutzung und Leistungsfähigkeit des Pferdes	34
3.1.2.6	Sechster Abschnitt: Ankauf und Verkauf	34
3.1.2.7	Siebter Abschnitt: Teilnahme am praktischen Teil der Studie	34
3.1.3	<i>Datengewinnung</i>	35
3.1.3.1	Überprüfung der Verständlichkeit und Vollständigkeit des Fragebogens	35
3.1.3.2	Patientengewinnung für die praktische Studie und Bekanntmachung der Fragebogenhomepage	35
3.1.3.3	Verwendung der Microsoft-Outlook® Software zur automatischen Beantwortung von Email-Anfragen	35
3.1.3.4	Zeitlicher Rahmen der Umfrage und angestrebte Datenmenge	36
3.1.4	<i>Statistische Analysen</i>	36
3.2	MATERIAL UND METHODE DER IN VIVO STUDIE	36
3.2.1	<i>Studiendesign und Ziel</i>	36
3.2.2	<i>Patientengut</i>	37
3.2.3	<i>Anamnese und klinische Eingangsuntersuchung</i>	38
3.2.4	<i>Spezielle Untersuchung des Atmungsapparates</i>	39
3.2.5	<i>Weiterführende Untersuchungen</i>	39
3.2.5.1	Interpleuraldruckmessung	39

3.2.5.2	Arterielle Blutgasanalyse.....	42
3.2.5.3	Endoskopische Untersuchung.....	42
3.2.5.4	Zytologie des TBS.....	44
3.2.6	<i>Patientenscoring und statistische Analysen</i> .....	45
3.2.7	<i>Herstellung der Inhalationslösungen</i> .....	46
3.2.7.1	Herstellung der GNP .....	46
3.2.7.2	Herstellung der CpG-ODN/GNP-Inhalationslösung .....	47
3.2.7.3	Herstellung der Placebo-Inhalationslösung .....	47
3.2.8	<i>Inhalationsprotokoll</i> .....	47
3.2.9	<i>Nachuntersuchungsprotokoll</i> .....	48
3.2.10	<i>Monitoring der Patienten während der Inhalationstherapie</i> .....	49
3.2.10.1	Klinische Allgemeinuntersuchung und Temperaturkontrolle.....	49
3.2.10.2	Leukozyten und Fibrinogenmessung.....	49
3.2.10.3	Studienabbruchskriterien.....	50
3.2.11	<i>Statistische Analysen</i> .....	50
3.2.11.1	Ermittelte Durchschnittswerte für die Studienpopulation der praktischen Studie.....	50
3.2.11.2	Verwendung von relativen Einheiten für die statistische Auswertung .....	50
3.2.11.3	Durchgeführte statistische Analysen .....	51
<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE</b> .....	<b>52</b>
4.1	ERGEBNISSE DER FRAGEBOGENSTUDIE.....	52
4.1.1	<i>Resonanz auf die Fragebogenaktion</i> .....	52
4.1.2	<i>Allgemeine Angaben zum Pferd</i> .....	52
4.1.2.1	Durchschnittliches Alter und Rasseverteilung der Studienpopulation der Umfrage.....	52
4.1.2.2	Haltungsformen während der Aufzucht.....	53
4.1.2.3	Impfregime vor Auftreten der Erkrankung.....	54
4.1.2.4	Impfregime nach Auftreten der Erkrankung.....	55
4.1.2.5	Exazerbation durch Impfungen .....	55
4.1.2.6	Entwurmungsregime.....	55
4.1.2.7	Familiäre Häufung der COB-Erkrankung .....	55
4.1.2.8	Dauer und Art der Bewegungsmöglichkeiten des Pferdes .....	56
4.1.3	<i>Erstmaliges Auftreten von chronisch obstruktiver Bronchitis</i> .....	56
4.1.3.1	Alter beim erstmaligen Auftreten der COB-Erkrankung.....	56
4.1.3.2	Nutzungseinschränkung beim erstmaligen Auftreten der COB-Erkrankung .....	57
4.1.3.3	Dauer des Hustens beim erstmaligen Auftreten .....	57
4.1.3.4	Vorliegen einer Infektionskrankheit.....	57
4.1.3.5	Art der Diagnosestellung durch den Tierarzt.....	57
4.1.3.6	Auslösende Faktoren für Exazerbationen.....	58

4.1.3.7	Art der Therapie durch den Haustierarzt .....	59
4.1.3.8	Auftreten unerwünschter Nebenwirkungen .....	59
4.1.3.9	Zufriedenheit der Pferdebesitzer mit der tierärztlichen Betreuung.....	60
4.1.4	<i>Management der COB-Patienten</i> .....	60
4.1.4.1	Veränderungen der Haltungsbedingungen nach Diagnosestellung .....	60
4.1.4.2	Beibehaltung der Haltungsoptimierung .....	61
4.1.4.3	Exazerbationen zu bestimmten Jahreszeiten.....	61
4.1.4.4	Anzahl und Häufigkeit von Krankheitsrückfällen .....	61
4.1.4.5	Höhe der entstandenen Mehrkosten .....	62
4.1.5	<i>Verlauf der COB-Erkrankung</i> .....	62
4.1.5.1	Krankheitssymptome beim erstmaligen Auftreten der COB-Erkrankung und im Rahmen von Exazerbationen.....	62
4.1.5.2	Therapieform mit der besten Langzeitwirkung .....	64
4.1.5.3	Medikamentöse Dauertherapie .....	64
4.1.5.4	Durchführung einer Hyperinfusionstherapie bei Therapieresistenz bzw. Veränderung des therapeutischen Vorgehens.....	64
4.1.5.5	Anwendung alternativer Therapieverfahren .....	64
4.1.5.6	Vergleich des Therapieerfolges von schulmedizinischen und alternativen Therapien.....	65
4.1.5.7	Ausprägung von Krankheitssymptomen im Verlauf der Krankheit .....	65
4.1.5.8	Tod bzw. Euthanasie des Pferdes aufgrund der COB-Erkrankung.....	65
4.1.6	<i>Nutzung und Leistung</i> .....	65
4.1.6.1	Verwendungszweck und turniersportliche Leitungsklasse vor und nach dem Auftreten der COB-Erkrankung .....	65
4.1.6.2	Zusammenhang zwischen veränderter Nutzung und COB-Erkrankung.....	69
4.1.6.3	Vorkommen und Dauer von erneuten Krankheitsschüben .....	69
4.1.6.4	Entwicklung der Leistungsfähigkeit des Pferdes.....	70
4.1.6.5	Turniererfolge vor und nach Auftreten der Lungenerkrankung.....	70
4.1.7	<i>Ankauf und Verkauf</i> .....	71
4.1.7.1	Durchführung einer Ankaufsuntersuchung inklusive endoskopischer Untersuchung.....	71
4.1.7.2	Erhebung von Lungenbefunden im Rahmen der AKU .....	71
4.1.7.3	Zustandekommen des Kaufvertrages nach erfolgter AKU .....	72
4.1.7.4	COB-Erkrankung als Verkaufshindernis .....	72
4.1.7.5	Erneuter Erwerb eines COB-kranken Pferdes .....	72
4.1.8	<i>Teilnahme an der praktischen Studie</i> .....	72
4.2	<b>ERGEBNISSE DER IN VIVO STUDIE</b> .....	73
4.2.1	<i>Allgemeine Angaben zur Studienpopulation</i> .....	73
4.2.1.1	Durchschnittliche Werte der Patienten in Bezug auf Alter, Rasse, Geschlecht, Gewicht und Größe.....	73



4.2.1.2	Hypertrophie der schiefen Bauchmuskulatur .....	73
4.2.1.3	Vergrößerung der Lungenfeldes .....	73
4.2.2	<i>Einfluss der Inhalationstherapie auf klinische Parameter</i> .....	74
4.2.2.1	Ruheatemfrequenz .....	74
4.2.2.2	Atemtyp .....	75
4.2.2.3	Nasenausfluss .....	77
4.2.2.4	Lungenauskultation .....	78
4.2.2.5	Analytik arterieller Blutgasmessungen .....	79
4.2.2.6	Interpleuraldruckmessung .....	80
4.2.2.7	Endoskopiebefunde .....	81
4.2.2.7.1	Sekretmenge .....	81
4.2.2.7.2	Sekretviskosität .....	82
4.2.2.7.3	Bifurcatio tracheae .....	83
4.2.2.8	Prozentualer Anteil der Neutrophilen .....	85
4.2.2.9	Körpertemperatur, Leukozytenzahl und Fibrinogenwert .....	86
<b>5</b>	<b>DISKUSSION</b> .....	<b>87</b>
5.1	DISKUSSION DER METHODEN DES FRAGEBOGENS .....	87
5.1.1	<i>Resonanz auf die Fragebogenaktion</i> .....	87
5.1.2	<i>Akzeptanz und Verständlichkeit</i> .....	87
5.1.3	<i>Inhaltliche Gestaltung der Fragebogenhomepage</i> .....	88
5.1.4	<i>Fähigkeit der Pferdebesitzer zur korrekten Beurteilung des Gesundheitszustandes ihres Pferdes</i> .....	88
5.1.5	<i>Teilnahme an der praktischen Studie</i> .....	89
5.2	DISKUSSION DER ERGEBNISSE DER FRAGEBOGENSTUDIE ...	90
5.2.1	<i>Diskussion der allgemeine Angaben zum Pferd</i> .....	90
5.2.1.1	Einfluss von Rasse, Geschlecht, Alter und genetischen Faktoren .....	90
5.2.1.2	Haltungsform während der Aufzucht .....	92
5.2.1.3	Impfregime und Auftreten von Impfreaktionen .....	93
5.2.1.4	Entwurmungsregime .....	94
5.2.1.5	Dauer und Art der Bewegungsmöglichkeit .....	95
5.2.2	<i>Diskussion der von den Tierärzten durchgeführten Diagnostik und Therapie der COB-Erkrankung</i> .....	96
5.2.2.1	Art der Diagnosestellung durch den behandelnden Tierarzt .....	96
5.2.2.2	Art, Umfang und Beibehaltung der haltungsoptimierenden Maßnahmen und Notwendigkeit einer Dauermedikation .....	98
5.2.2.3	Art der durchgeführten schulmedizinischen Therapie und Bewertung des Therapieerfolges .....	99

5.2.2.4	Auftreten von und Art der gezeigten unerwünschten Nebenwirkungen.....	103
5.2.2.5	Durchführung und Erfolg alternativer Therapieverfahren.....	103
5.2.2.6	Zufriedenheit der Pferdebesitzer mit der Betreuung durch ihren Tierarzt...	104
5.2.3	<i>COB-Exazerbationen</i> .....	106
5.2.3.1	Auftreten von Exazerbationen.....	106
5.2.3.2	Auslösende Faktoren für Exazerbationen bzw. für eine Zunahme der Krankheitssymptome.....	107
5.2.3.3	Jahreszeitliche Häufungen von COB-Exazerbationen.....	108
5.2.3.4	Krankheitssymptome im Rahmen von Exazerbationen.....	110
5.2.4	<i>Veränderungen der Nutzbarkeit und der Leistungsfähigkeit von COB- Patienten</i> .....	114
5.2.4.1	Veränderungen in der Nutzungsart der Pferde .....	114
5.2.4.2	Nutzbarkeit der COB-kranken Pferde im Turniersport .....	115
5.2.4.3	Turniererfolge vor und nach dem Auftreten der COB-Erkrankung.....	116
5.2.4.4	Zusammenhang zwischen veränderter Nutzungsart bzw. veränderter Leistungsfähigkeit der Pferde und der COB-Erkrankung.....	116
5.2.5	<i>Ankauf und Verkauf</i> .....	118
5.2.5.1	Durchführung von Ankaufuntersuchungen.....	118
5.2.5.2	Die COB-Erkrankung als Verkaufshindernis .....	119
5.2.5.3	Wiederholter Erwerb eines COB-kranken Pferdes.....	119
5.3	<b>DISKUSSION DER METHODEN DER PRAKTISCHEN STUDIE</b> .....	120
5.3.1	<i>Studiendesign</i> .....	120
5.3.2	<i>Einteilung der Patienten in Abhängigkeit des Schweregrades ihrer Erkrankung</i> .....	120
5.3.3	<i>Diskussion des angewendeten statistischen Verfahrens</i> .....	121
5.3.4	<i>Einteilung der Patienten in Placebo- oder Verumgruppe und verwendetes Scoringsystem</i> .....	121
5.3.5	<i>Diskussion der gewählten Applikationsart und des verwendeten Inhalationsprotokolls</i> .....	122
5.3.6	<i>Diskussion der praktischen Durchführbarkeit der CpG-ODN/GNP Inhalationstherapie im Rahmen einer Feldstudie</i> .....	123
5.4	<b>DISKUSSION DER ERGEBNISSE DER PRAKTISCHEN STUDIE</b> ..	124
5.4.1	<i>Diskussion der Verträglichkeit der CpG-ODN/GNP-Inhalationslösung</i> ..	124
5.4.2	<i>Diskussion der Wirkung der CpG-ODN/GNP-Inhalationslösung auf die erhobenen Auskultationsbefunde</i> .....	124

5.4.3	<i>Diskussion der Wirkung der CpG-ODN/GNP-Inhalationslösung auf die Atmung</i> .....	125
5.4.3.1	Atemfrequenz und Sauerstoffpartialdruck.....	125
5.4.3.2	Atemtyp und Interpleuraldruck .....	127
5.4.4	<i>Diskussion der Wirkung der CpG-ODN/GNP-Inhalationslösung auf die Entzündungsreaktion</i> .....	128
5.4.4.1	Endoskopisch ermittelter Umfang der Bifurcatio tracheae.....	128
5.4.4.2	Prozentualer Anteil der neutrophilen Granulozyten im TBS.....	130
5.4.5	<i>Diskussion der Wirkung der CpG-ODN/GNP-Inhalationslösung auf Hyper- und Dyskrinie</i> .....	131
5.4.5.1	Nasenausfluss .....	131
5.4.5.2	Endoskopisch ermittelte Sekretmenge.....	131
5.4.5.3	Endoskopisch ermittelte Sekretviskosität .....	133
5.4.6	<i>Ausblick</i> .....	134
<b>6</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b> .....	<b>135</b>
<b>7</b>	<b>SUMMARY</b> .....	<b>141</b>
<b>8</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b> .....	<b>146</b>
<b>9</b>	<b>ANHANG</b> .....	<b>176</b>
9.1	ANZEIGENTEXT .....	176
9.2	FRAGEBOGENHOMEPAGE (IN MICROSOFT WORD FORMAT KONVERTIERT).....	177
9.3	BESITZERINFORMATIONSBLETT .....	194
9.4	SCHEMA FÜR DAS PATIENTENSCORING .....	198
9.5	PATIENTENSCORING .....	200
9.6	STUDIENABBRUCKSKRITERIEN.....	202
9.7	ABBILDUNGSVERZEICHNIS .....	206
9.8	ERHOBENE KÖRPERTEMPERATUR, LEUKOZYTEN- UND FIBRINOGENWERTE .....	209
9.9	DANKSAGUNG .....	212
9.10	SELBSTSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG .....	213

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

<b>AaDO<sub>2</sub></b>	Arterioalveoläre Sauerstoffdifferenz
<b>Abb.</b>	Abbildung
<b>APC</b>	Antigen-Präsentierenden-Zellen
<b>AP-1</b>	Aktivator-Protein-1
<b>BAL</b>	Bronchoalveoläre Lavage
<b>CD</b>	Cluster of Differentiation (Unterscheidungsgruppen)
<b>COB</b>	Chronisch obstruktive Bronchitis
<b>COPD</b>	Chronic obstructive pulmonary disease (Chronisch obstruktive Lungenerkrankung)
<b>CpG</b>	Cytosin-Phosphat-Guanosin
<b>CpG-ODN</b>	Cytosin-Phosphat-Guanosin-Oligodeoxynukleotide
<b>CpG-ODN/GNP-</b>	Cytosin-Phosphat-Guanosin-Oligodeoxynukleotide-
<b>Inhalationslösung</b>	Gelantinenanopartikel- Inhalationslösung
<b>EP</b>	Europäisches Patent
<b>et al.</b>	et alii (und andere)
<b>ggr</b>	geringgradig
<b>GNP</b>	Gelantinenanopartikel
<b>hgr</b>	hochgradig
<b>HPW</b>	highly purified water (Reinstwasser)
<b>IAD</b>	Inflammatory Airway Disease
<b>IFN</b>	Interferon
<b>Ig</b>	Immunglobulin
<b>IL</b>	Interleukin
<b>kg</b>	Kilogramm Körpermasse
<b>mgr</b>	mittelgradig
<b>MHC</b>	major histocompatibility complex (Hauptgewebeverträglichkeitskomplex)
<b>mmHg</b>	mm Quecksilbersäule
<b>n</b>	Anzahl (n-fach)
<b>NF-κB</b>	Nuklear-Faktor-Kappa-B

---

<b>ODN</b>	Oligodeoxynukleotid
<b>P</b>	Signifikanzniveau
<b>PAMP</b>	Pathogen-associated-molekular-pattern (Erkennungsmuster für Pathogene)
<b>pCO<sub>2</sub></b>	Kohlendioxidpartialdruck
<b>PDC</b>	plasmazytoiden dendritischen Zellen
<b>pO<sub>2</sub></b>	Sauerstoffpartialdruck
<b>RAO</b>	Recurrent Airway Obstruction
<b>S.D.</b>	Standard Deviation (Standardabweichung)
<b>S.E.</b>	Standard Error (Standardfehler)
<b>SP-RAO</b>	Summer-Pasture-Associated-RAO
<b>TBS</b>	Tracheobronchialsekret
<b>Th</b>	T-Helferzelle
<b>TLR</b>	Toll-like Receptor
<b>µg</b>	Mikrogramm



## **1 Einleitung**

Allergische Erkrankungen kommen bei Menschen weltweit vor und Asthma ist in nahezu 25% aller Fälle die Ursache für die Vorstellung von Patienten zur Notfallbehandlung in Krankenhäusern in den USA (FONSECA und KLINE, 2009). Gemäß der Hygiene-Hypothese senkt der Kontakt zu Bakterien, Viren und Parasiten in früher Kindheit das Risiko, an Allergien und Asthma zu erkranken (STRACHAN, 1989). Die Inzidenz allergischer Erkrankungen wird sich daher vermutlich sogar noch weiter erhöhen, da die Hygienestandards weltweit ständig verbessert werden. Folglich besteht in der Humanmedizin großer Forschungsbedarf in Bezug auf effektive Therapieverfahren gegen allergische Erkrankungen. Einer der neusten therapeutischen Ansätze ist die Anwendung von immunstimulatorischer DNA in Form von Cytosin-Phosphat-Guanin-Oligodeoxynukleotiden (CpG-ODN). Die CpG-ODN imitieren die Anwesenheit von mikrobieller DNA und aktivieren sowohl die angeborene Immunantwort als auch die spezielle zelluläre und humorale Immunantwort in zwei Phasen (FLAMINIO et al., 2007). Diese Therapieform wurde aufgrund ihrer vielversprechenden Ergebnisse in ersten humanmedizinischen Studien auch zum Gegenstand tiermedizinischer Forschungsprojekte (SESTER et al., 2000; HULLMANN, 2006; LOPEZ et al., 2006; KLIER et al., 2012).

Die chronisch obstruktive Bronchitis (COB) des Pferdes ist der Asthmaerkrankung des Menschen in ihrer Pathologie sehr ähnlich (LECLERE et al., 2011). Sie beruht, genauso wie die Asthmaerkrankung, auf dem Zusammenspiel bestimmter genetischer und umweltassoziiertes Faktoren (EWART und ROBINSON, 2007) und tritt auch bei betroffenen Pferden nur nach Allergenkontakt auf. Die drei wichtigsten Pathomechanismen, die das klinische Bild der COB-Erkrankung beim Pferd hervorrufen, sind Bronchospasmus, Dyskrinie und Schleimhautschwellung (KAUP et al., 1990b; FEY, 2006).

Die Behandlung der COB-Erkrankung des Pferdes mit CpG-ODN könnte, analog zum Einsatz in der Asthmatherapie beim Menschen, einen neuartigen und vielversprechenden therapeutischen Ansatz darstellen.

Die Wirkung von CpG-ODN bei großen Säugetieren ist weniger stark ausgeprägt, als aufgrund von Versuchen mit Nagetieren angenommen (MUTWIRI et al., 2004). Dies macht die Zuhilfenahme eines Transportsystems notwendig, welches die CpG-ODN vor einem vorzeitigen Abbau durch körpereigene Nukleasen schützt und zu einer Wirkungsverstärkung in den Zielzellen führt. Gelantinenanopartikel (GNP) wurden beim Pferd bereits mehrfach erfolgreich als ein derartiges Transportsystem eingesetzt. Hierbei wurde eine Inhalationslösung verwendet, die CpG-ODN gebunden an GNP enthielt (KLIER, 2011; KLIER et al., 2012).

Ziel der Studie war es, die praktische Durchführbarkeit sowie die Wirksamkeit und Verträglichkeit einer CpG-ODN/GNP-Inhalationslösung im Rahmen einer Feldstudie und unter Verwendung einer Placebogruppe nachzuweisen.

Darüber hinaus wurden studienbegleitend Daten über die COB-Erkrankung des Pferdes in Deutschland erhoben, um ein noch besseres Verständnis für diese Erkrankung zu erlangen.



## 2 Literaturübersicht

### 2.1 CHRONISCH OBSTRUKTIVE BROCHITIS DES PFERDES

#### 2.1.1 Begriffsdefinitionen

##### 2.1.1.1 Chronisch obstruktive Brochitis bzw. Recurrent Airway Obstruction

Die aus der Humanmedizin übernommene Krankheitsbezeichnung „Chronic Obstructive Pulmonary Disease“ (COPD) des Pferdes (SASSE, 1971) wurde im Jahr 2001 auf Beschluss der internationalen Arbeitsgemeinschaft der unteren Atemwegserkrankungen des Pferdes im englischen Sprachraum durch den Terminus „Recurrent Airway Obstruction“ (RAO) oder „Heaves“ ersetzt (ROBINSON, 2001a). Diese Änderung wurde durch ein besseres Verständnis der zugrundeliegenden Pathologie der Erkrankung notwendig, da die beim Pferd auftretende Erkrankung im Gegensatz zur humanen COPD ein reversibler Prozess ist (FEY, 2006). Die humane COPD ist durch eine nicht vollständig reversible Limitierung des Atemflussvolumens gekennzeichnet und steht in Verbindung mit einer abnormen, entzündlichen Antwort des Lungengewebes auf schädliche Partikel oder Gase (FEY, 2005). Laut der Definition der internationalen Arbeitsgemeinschaft liegt eine RAO nur dann vor, wenn unter anderem die nachfolgenden Kriterien erfüllt sind (ROBINSON, 2001a):

- Die durch den Staubkontakt hervorgerufene Atemwegsobstruktion lässt sich beheben, indem das Pferd Bronchodilatoren erhält und in einer möglichst staubfreien Umgebung untergebracht wird.
- Eine Verschlimmerung der Symptomatik ist durch das Aufschütteln verschimmelten Heus provozierbar.
- Während einer derartigen Exazerbation liegt eine maximale Interpleuraldruckdifferenz von ( $\Delta P_{pl_{max}}$ )  $>15\text{cm H}_2\text{O}$  bei betroffenen Pferden vor, beziehungsweise die Verschlimmerung der Krankheitssymptome ist durch die Anwendung eines anderen, klinisch evidenten Scoringsystems belegbar.
- Der Anteil an neutrophilen Granulozyten in der BAL-Zytologie betroffener Pferde liegt bei mindestens 25%.

Die im deutschsprachigen Raum verwendete Bezeichnung chronisch obstruktive Bronchitis (COB) gibt sowohl die Dauer der Erkrankung als auch ihre Lokalisation exakter wieder als der Terminus „Recurrent Airway Obstruction“ (FEY, 2006). Da zu Beginn einer COB-Erkrankung vor allem die drüsen- und knorpelfreien Bronchioli betroffen sind, ist die Bezeichnung Bronchiolitis in Hinblick auf die zugrundeliegende Pathologie der exaktere Begriff (KAUP et al., 1990b). Im Verlauf der Erkrankung und zum Zeitpunkt der Diagnosestellung ist jedoch in den meisten Fällen bereits eine Ausbreitung der Erkrankung auf die gesamte Lunge erfolgt, weshalb der Begriff „Bronchitis“ ebenfalls zu rechtfertigen ist (FEY, 2006). Für die Diagnosestellung einer COB-Erkrankung müssen nicht alle der zur Diagnosestellung einer RAO-Erkrankung geforderten Kriterien erfüllt werden. Die Begriffe COB und RAO bezeichnen zwar dieselbe Erkrankung, aufgrund ihrer unterschiedlichen Definitionen sind sie aber nicht synonym anwendbar (OHNESORGE, 2009).

#### 2.1.1.2 Summer Pasture-Associated Obstructive Pulmonary Disease

Bei der „Summer Pasture-Associated Obstructive Pulmonary Disease“ handelt es sich um die „Weideform“ der klassischen RAO-Erkrankung, weshalb sie auch als „Summer Pasture-Associated Recurrent Airway Obstruction“ (SP-RAO) bezeichnet wird (COUËTIL et al., 2007). Manche Pferde entwickeln erst bei mehr als zwölfstündigem Weidegang Krankheitssymptome, in vielen Fällen ist aber bereits ein kürzerer Weideaufenthalt symptomauslösend (SEAHORN und BEADLE, 1993). In seltenen Fällen leiden Pferde gleichzeitig unter der stallassoziierten und der weideassoziierten Form der RAO-Erkrankung (COSTA et al., 2008). Das Krankheitsbild wurde erstmals im Jahr 1983 beschrieben und tritt beim erwachsenen Pferd vor allem in Amerika in den Bundesstaaten Florida, Georgia, Louisiana und Mississippi, aber auch in England und Irland auf. Starke Hitze, erhöhte Luftfeuchtigkeit, Pilzsporen und Gräserpollen scheinen Triggerfaktoren für Krankheitsausbrüche zu sein. Im jahreszeitlichen Verlauf treten 50% der Krankheitsausbrüche im Juni auf (COSTA et al., 2006). An SP-RAO erkrankte Pferde zeigen bei entsprechenden Witterungsverhältnissen und gleichzeitigem Kontakt zu Gras Krankheitssymptome wie Nasenausfluss, Husten, verminderte Leitungsfähigkeit, bis hin zu einer erschwerten Expirationsphase

und Gewichtsverlust. Die Clearancefunktion der Lunge betroffener Pferde ist vermindert, weshalb die Pferde, zusätzlich zur Vermeidung von Graskontakt in den Sommermonaten, immer in einer staubarmen Umgebung gehalten werden sollten (COSTA et al., 2008).

### 2.1.1.3 Inflammatory Airway Disease

Zum jetzigen Zeitpunkt herrscht Unklarheit darüber, ob es sich bei der „inflammatory airway disease“ (IAD) um ein eigenständiges Krankheitsbild handelt, oder ob diese lediglich als eine Vorstufe einer späteren RAO anzusehen ist (MAZAN, 2010). Das „ACVIM Consensus Statement“ aus dem Jahr 2007 enthält Kriterien, die die Abgrenzung einer IAD von einer RAO-Erkrankung ermöglichen sollen (COUËTIL et al., 2007). Hiernach liegt eine IAD vor, wenn bei einem Pferd verminderte Leitungsfähigkeit, Husten und eine nicht septische Entzündungsreaktion in der BAL-Zytologie nachzuweisen sind (COUËTIL et al., 2007). Ein anderes Expertengremium forderte das Vorliegen von mehr als 2% Mastzellen, mehr als 5% neutrophilen Granulozyten oder mehr als 1% eosinophilen Granulozyten in der BAL-Zytologie, wobei der Nachweis einer erhöhten Menge von Tracheobronchialsekrets nicht zwingend erforderlich ist (ROBINSON, 2003). Die Ursachen für eine IAD-Erkrankung sind noch unbekannt, im Gegensatz zur RAO tritt die Krankheit aber nur vorübergehend auf (LAVOIE et al., 2011). Als Ausschlusskriterien für eine Diagnosestellung gelten das Vorliegen einer akuten Infektion oder eine forcierte Atmung in Ruhe (ROBINSON, 2003). Die Prävalenz der Krankheit beträgt 55% bei zweijährigen Galopprennpferden im Training (CHAPMAN et al., 2000) und bis zu 70% bei aufgestellten Sportpferden (GERBER et al., 2010). Da aber die Diagnose einer geringgradigen IAD aufgrund der milden Symptomatik oftmals unterbleibt, ist anzunehmen, dass die Prävalenz der Krankheit unterschätzt wird (ALLEN und FRANKLIN, 2007). Eine IAD-Erkrankung vermindert zwar nachweislich die Leistungsfähigkeit von Rennpferden, nicht jedoch die von Sportpferden (GERBER et al., 2010). In Abgrenzung zur RAO-Erkrankung kann eine IAD bei Pferden jeden Alters auftreten, sie führt jedoch nur zu einer geringen Leistungsverminderung von Freizeit- und Sportpferden, da die auftretende

Atemwegsobstruktion nur geringgradig ist. Des Weiteren treten bei einer IAD-Erkrankung nicht die für eine RAO-Erkrankung typischen Schübe auf (COUËTIL, 2002). Ein Provokationstest mit schimmeligem Heu führt bei Pferden, die unter einer RAO-Erkrankung leiden, zu forcierter Atemtätigkeit, bei an IAD erkrankten Pferden nur zu einer Verschlimmerung der Hustensymptomatik und zum Anstieg der neutrophilen Granulozyten in der BAL-Zytologie (COUËTIL et al., 2007).

### *2.1.2 Epidemiologische Untersuchungen*

Die COB-Erkrankung gehört mit einer Inzidenz von bis zu 50% aller in Boxen aufgestellten Pferde zu den häufigsten Erkrankungen des Respirationstraktes beim Pferd (BRACHER et al., 1991; RUSH und MAIR, 2004). Ein vermehrtes Auftreten der Erkrankung bei Pferden der nördlichen Hemisphäre lässt sich mit dem kälteren Klima, feuchteren Sommermonaten und einer dadurch bedingten häufigeren Aufstallung der Pferde in Boxenhaltung begründen (MCPHERSON und THOMSON, 1983). Andere Autoren geben eine Erkrankungshäufigkeit von 37% aller Pferde in der Schweiz (WINDER et al., 1991) bzw. von 12% aller Pferde im Norden der USA an (LARSON und BUSCH, 1985). Im Jahr 1987 mussten 9,6% der Pferde in der Schweiz aufgrund einer respiratorischen Erkrankung geschlachtet werden, wobei die COB-Erkrankung hierbei mit einem Anteil von 63,3% die häufigste aller zugrundeliegenden Erkrankungen darstellte (WINDER und VONFELLENBERG, 1987).

### *2.1.3 Bisher durchgeführte Fragebogenstudien zur COB-Erkrankung des Pferdes*

Die Epidemiologie der COB-Erkrankung in Großbritannien wurde mit Hilfe eines „Risikofragebogens“ (risk-screening questionnaire, RSQ) erforscht. Unter Verwendung des RSQ konnten COB-krankte Pferde ohne klinische Untersuchung, ausschließlich basierend auf den Angaben der Pferdebesitzer, mit einer Sensitivität von 83% und einer Spezifität von 85% identifiziert werden (HOTCHKISS et al., 2006). Anhand des zuvor validierten RSQ wurde in einer

Folgestudie eine vierzehnprozentige Prävalenz für die RAO in der Pferdepopulation in Großbritannien ermittelt (HOTCHKISS et al., 2007). Als mögliche Risikofaktoren für eine spätere RAO-Erkrankung wurden zunehmendes Alter der Pferde, der Kontakt zu Heu in jungen Jahren und eine Atemwegsinfektion im Alter von bis zu fünf Jahren festgestellt. Das Risiko für Pferde, an COB zu erkranken, lässt sich laut dieser Studie durch die Ermöglichung eines täglichen Koppelganges von 15 Stunden Dauer oder mehr reduzieren (HOTCHKISS et al., 2007).

Eine eindeutige Identifizierung des RAO-Phenotypes anhand des „HOARSI-Indexes“ wurde von der Universität Bern realisiert (LAUMEN et al., 2010). Der Term „HOARSI“ leitet sich hierbei von „Horse Owner Assessed Respiratory Signs Index“ ab. Zur Klassifizierung der Pferde in Grad 1- 4 wurden eine klinische Untersuchung, eine arterielle Blutgasanalyse, ein Scoring der Menge des Tracheobronchialsekrets, einschließlich dessen zytologischer Untersuchung, eine BAL-Spülprobe und ein Methacholinprovokationstest durchgeführt. Die mittels Fragebogen als HOARSI-Grad 3-4 klassifizierten Pferde zeigten, sofern sie sich gerade im Stadium der Exazerbation befanden, immer Zeichen einer RAO-Erkrankung und waren durch den HOARSI-Fragebogen zuvor richtigerweise als erkrankt identifiziert worden (LAUMEN et al., 2010). Mit abnehmender Bedeutung wurden das Geschlecht, das Alter und die Fütterung von Heu als Risikofaktoren eingestuft. In Übereinstimmung mit den Untersuchungen von Hotchkiss aus dem Jahr 2007 korrelierten das Alter der untersuchten Pferde und das Fütterungsregime mit dem Risiko einer künftigen COB-Erkrankung, aber in dieser Studie konnte kein Zusammenhang mit der Dauer des ermöglichten Weideganges nachgewiesen werden (LAUMEN et al., 2010).

#### 2.1.4 Pathologie der COB

##### 2.1.4.1 Erbllichkeit der COB-Erkrankung

Seit langem wird, analog zur Asthma-Erkrankung des Menschen (MARSH et al., 1993), eine erbliche Komponente der COB-Erkrankung vermutet. Das klinische Bild der COB ist immer das Ergebnis aus einem Zusammenspiel von genetischen und umweltassoziierten Faktoren (ROBINSON, 2001a). In der Vergangenheit

konnten Pferdefamilien mit einer hohen Prävalenz für die Krankheit identifiziert werden (SCHÄPFER, 1939; GERBER, 1989). Es ist nachgewiesen, dass Pferde, bei denen beide Elterntiere an COB leiden, ein höheres Erkrankungsrisiko aufweisen, als Pferde mit nur einem erkrankten Elternteil oder mit gesunden Eltern. Mittels Segregationsanalyse wurde festgestellt, dass ein oder mehrere Gene („major genes“) an der Ausprägung des Phänotyps der Krankheit beteiligt sind, die zugrundeliegenden Gene aber von Familie zu Familie verschieden sind (MARTI et al., 1991). Unter Zuhilfenahme des HOARSI-Fragebogens (Kapitel 2.1.3, S.7) wurde in einer Familie ein autosomal-rezessiver Erbgang, in einer anderen ein autosomal-dominanter Erbgang identifiziert (GERBER et al., 2009). Des Weiteren konnte in einer Familie ein Zusammenhang zwischen dem Vorkommen des auf dem Chromosom 13 gelegenen IL-4 Rezeptor Gen  $\alpha$  (IL-4R $\alpha$ ) und einer Erkrankung der Pferde (HOARSI-Grade 2-4) nachgewiesen werden (JOST et al., 2007).

Für eine erbliche Komponente der COB spricht außerdem, dass an COB erkrankte Pferde einer Familie mit hoher Krankheitsprävalenz deutlich weniger Wurmeier ausscheiden als unter denselben Haltungsbedingungen untergebrachte Weidegenossen ohne COB-Erkrankung (NEUHAUS et al., 2010). Im Sinne der klassischen Hygienehypothese lässt sich eine IgE-medierte, überschießende Antwort des Immunsystems auf Allergene über den Th2-Weg auf eine mangelnde Aktivierung des Immunsystems durch Parasiten und Bakterien in Kindheit und Jugend (durch eine übertriebene Hygiene) zurückführen (BRAUNFAHRLÄNDER, 2009). In Abweichung von dieser Hypothese wäre eine andere mögliche Erklärung für dieses Phänomen, dass dieselben genetischen Determinanten, die eine hohe Resistenz gegen Wurmbefall gewährleisten, auch zur Entstehung allergischer Erkrankungen beitragen (BARNES et al., 2005).

#### 2.1.4.2 Pathomechanismen der COB

Die COB als umweltassoziierte Erkrankung tritt auch bei betroffenen Pferden nur auf, wenn diese in Kontakt mit auslösenden Allergenen kommen. Eine Exazerbation lässt sich durch ein spezielles Gemisch aus Schimmelpilzen, Futtermilben, Endotoxinen und anorganischen Anteilen auslösen (PIRIE et al., 2002). Die drei wichtigsten Pathomechanismen, die das phänotypische, klinische

Bild der COB verursachen, sind Bronchospasmus, Dyskrie und Schleimhautschwellung (KAUP et al., 1990b; FEY, 2006).

Die übermäßige Bereitschaft der kleinen Bronchien zur Kontraktion (Hyperreagibilität) lässt sich mit dem Histamin-Inhalations-Provokations-Test (Kapitel 2.1.5.4, S.17) nachweisen. Die Hyperreagibilität kann sich nur auf bestimmte, spezifische Allergene beschränken oder aber auch von unspezifischer Natur sein (KLEIN und DEEGEN, 1986). Sie beruht auf Entzündungsmediatoren, die von intraepithelial vorkommenden Mastzellen produziert werden. Es ist erwiesen, dass der Grad der Hyperreagibilität und der nachgewiesene Mastzellgehalt in den Atemwegen signifikant korrelieren (HOFFMAN et al., 1998). Aufgrund der chronischen Überbelastung der glatten Muskulatur (durch die Bronchokonstriktion) kommt es zu einer Hypertrophie der Muskelschicht, die zur irreversiblen Einengung des Atemwegslumens beiträgt (KAUP et al., 1990a).

Die physiologische Zusammensetzung des Sekretes, bestehend aus einer epithelnahen, serösen und einer dieser aufgelagerten, mukösen Schicht ist bei der COB-Erkrankung verändert (FEY, 2006). Durch einen fokalen Verlust von Zilien und die Umwandlung von Clarazellen zu Becherzellen kommt es infolge der veränderten Epithelzusammensetzung zu einer vermehrten Produktion eines Bronchialsekretes mit erhöhter Viskosität (Hyper- und Dyskrie) (TURGUT und SASSE, 1989; KAUP et al., 1990b; DIXON, 1992). Die erhöhte Viskosität des Sekretes durch vermehrte muköse Anteile führt über eine Schädigung des respiratorischen Flimmerepithels zu einer verminderten Atemwegsclearance (FEY, 2006). Unter der Atemwegsclearance versteht man den Selbstreinigungsprozess der Lunge durch Abtransport der mukösen Sekretanteile und enthaltener Partikel über die Bewegung der Flimmerhärchen des Atemwegsepithels nach oral (FEY, 2006). Bei Pferden mit COB ist die Menge des durch diesen Prozess abtransportierten Sekretes signifikant vermindert (TURGUT und SASSE, 1989; KAUP et al., 1990b; DIXON, 1992).

Bei der COB ist die Schwellung der Schleimhäute im Bereich der Atemwege auf eine Ödembildung und eine Gewebsproliferation im Bereich des Atemwegsepithels zurückzuführen (TURGUT und SASSE, 1989). Diese Epithelzellproliferation (airway remodelling) trägt zur irreversiblen Lumeneinengung der Bronchioli bei (FEY, 2006).

Die überschießende Entzündungsreaktion, mit der betroffene Pferde auf die Inhalation von Stäuben aus verschimmelten Heu oder auf bestimmte Bestandteile in Stäuben reagieren, gilt als der zentrale pathologische Mechanismus der COB, welcher daher auch Gegenstand der aktuellen Forschung ist (FEY, 2006). Eine Auswahl der wichtigsten immunologischen und biochemischen Prozesse, die diese Entzündungsreaktion verursachen, soll im folgenden Kapitel erläutert werden.

### 2.1.4.3 Komponenten der Entzündungsreaktion

#### 2.1.4.3.1 Allergische Reaktion

Nach dem Kontakt mit einem Allergen gibt es vier verschiedene allergische Reaktionen (Typ-I – Typ-IV), mit denen das Immunsystem reagieren kann. Im Falle der COB wird von manchen Autoren eine anaphylaktoide oder Typ-I Reaktion (EDER et al., 2000; TAHON et al., 2009; MORÁN et al., 2010), von anderen eine Typ-III Reaktion (FRANCHINI et al., 2000; ROBINSON, 2001a), oder auch eine Kombination aus verzögerter oder Typ-IV Reaktion und Typ-I Reaktion (HOROHOV et al., 2009) angenommen. Die Typ-I Reaktion, auch als Soforttyp-Reaktion bezeichnet, wird über Immunglobulin E (IgE) und IgE-vermittelte Mediatorfreisetzung gesteuert. Man unterscheidet hierbei eine „Früh- und eine Spätphase“ der Typ-I Reaktion. Beim humanem Asthma sind in der Frühphase (innerhalb von wenigen Minuten) erhöhte IgE Spiegel in der BAL und im Serum messbar, bei der COB-Erkrankung des Pferdes hingegen ist eine derartige Frühphase nicht nachweisbar (LAVOIE, 2009). Die Reaktionen der Spätphase können erst Stunden nach dem Allergenkontakt eintreten. Sie äußern sich beim Pferd durch eine Anhäufung von Neutrophilen in den Atemwegen (siehe Kapitel 2.1.4.3.3, S.12) und durch Atemwegsobstruktion (LAVOIE, 2009). Eine Autorin propagiert eine Immunreaktion vom verzögerten Typ, aber ohne die sonst übliche Beteiligung von IgE an der allergischen Reaktion, als immunologischen Mechanismus der COB (WAGNER, 2009).



#### 2.1.4.3.2 T-Zellreaktion

Die T-Helferzellen, die in Th1-Zellen und Th2-Zellen differenziert werden, beeinflussen das entzündliche Geschehen in der Lunge über ihre Zytokinproduktion (CORDEAU et al., 2004; KLINE und KRIEG, 2008). Die Th1-Zellen leisten durch die Produktion von Interferon- $\gamma$  und anderer Zytokine einen wichtigen Beitrag zu zellmedierten, immunologischen Prozessen im Falle von bakteriellen und viralen Infektionskrankheiten (KLINE und KRIEG, 2008). Die Th2-Zellen medieren über Interleukin-4 und Interleukin-5 allergische Entzündungsreaktionen (ROMAGNANI, 1994) und spielen eine wichtige Rolle bei der Abwehr extrazellulärer Parasiten mittels antigenpräsentierenden Zellen (LUNN und HOROHOV, 2004). In Bezug auf die COB herrscht Uneinigkeit zwischen den Autoren, ob die pathologischen Mechanismen der Erkrankung über den Th1- oder den Th2-Weg gesteuert werden. In Abhängigkeit vom jeweiligen Untersuchungsverfahren und Krankheitsstadium lassen sich bei der COB unterschiedliche Mediatoren und Interleukinklassen nachweisen:

- Für eine Steuerung über den Th1-Weg (mit einem sekundären Influx von Neutrophilen) spricht gemäß einer Studie der nur unvollständige Zusammenhang zwischen den gemessenen IgE-Spiegeln und dem Auftreten von Krankheitssymptomen (EDER et al., 2000) sowie ein messbarer Anstieg von Interferon  $\gamma$  und eine fehlende Beteiligung von Interleukin 4 und 5 laut einer Studie (GIGUÈRE et al., 2002).

- Für den Th2-Weg sprechen die Beteiligung von Mastzellen (die IgE mediert degranulieren) und der Nachweis der Beteiligung der Interleukine 4 und 5 am Krankheitsgeschehen laut anderer Studien (LAVOIE et al., 2001; BOWLES et al., 2002).

#### 2.1.4.3.3 Reaktionen der neutrophilen Granulozyten

Eine Anhäufung von Neutrophilen in den Atemwegsgeweben (Neutrophilen-Influx) ist bereits 6-8 Stunden nach Allergenkontakt nachweisbar (FAIRBAIRN et al., 1993b; ROBINSON, 2001b). Dieses Phänomen wird als Hinweis dafür

gesehen, dass es sich bei der zugrundeliegenden Immunreaktion um eine Typ-III Reaktion handelt, die über die Bildung von Antigen-Antikörper-Komplexen mit anschließender Aktivierung der Komplementkaskade immer zu einer starken Entzündungsreaktion führt. Möglicherweise wird dieser Prozess von IL-8 mediiert, da dieses Interleukin in erhöhter Konzentration sowohl in BAL-Spülproben als auch in bronchoalveolären Zellen bei erkrankten Pferden nachweisbar ist (FRANCHINI et al., 2000; AINSWORTH et al., 2003).

#### 2.1.4.3.4 Aktivierung von Transkriptionsfaktoren

Die durch eine Hypersensivität hervorgerufene Entzündung wird immer von einer überschießenden Expression von Genen erzeugt, die für Entzündungsreaktionen codieren (ROBINSON, 2001a). In Tiermodellen zur Erforschung von Lungenerkrankungen spielen Nuklear-Faktor-Kappa-B (NF- $\kappa$ B) und das Aktivator-Protein-1 (AP-1) in Bezug auf die Entzündungsreaktion eine zentrale Rolle (YAMASHITA et al., 2007). Bei an Asthma erkrankten Menschen ist eine erhöhte Expression von NF- $\kappa$ B und AP-1 in den Atemwegen nachgewiesen worden (HART et al., 1998). Analog konnte eine erhöhte Expression von NF- $\kappa$ B in den Atemwegen von an COB erkrankten Pferden nach Kontakt zu schimmeligem Heu festgestellt werden (BUREAU et al., 2000). Dauert dieser Kontakt länger an, führt dies beim Pferd zu einer Abnahme der Expression von AP-1 (COUËTIL et al., 2006).

#### 2.1.4.3.5 Oxidativer Stress

Unter oxidativem Stress versteht man eine Stoffwechsellage, bei der es zur Bildung reaktiver Sauerstoffverbindungen in einem Ausmaß kommt, welches die antioxidativen Kapazitäten des Organismus überfordert (WOOD et al., 2003). Möglicherweise trägt oxidativer Stress zur Aktivierung der Transkriptionsfaktoren NF- $\kappa$ B und AP-1 in bronchialen Epithelzellen, Alveolarmakrophagen, Neutrophilen und Mastzellen bei, wodurch es zu einer Aktivierung von proinflammatorischen Zytokinen und Zytokinen vom Th2-Typ kommt (FROSSI et al., 2003). Bei Pferden, die an COB leiden, wurde generell eine verminderte antioxidative Kapazität in den Lungengeweben nachgewiesen (DEATON et al.,

2005). Im Falle einer Exazerbation steigen Marker für oxidativen Stress (wie die Glutathion-Oxidase) im „pulmonary epithelial lining fluid“ signifikant an (ROBINSON, 2001a), wobei dieser Anstieg ebenfalls signifikant mit einem Anstieg der Neutrophilen in der BALF korreliert (ART et al., 1999).

### 2.1.5 Diagnostik der COB

#### 2.1.5.1 Klinische Diagnostik

Die Diagnose der COB ist immer eine „Ausschlussdiagnose“, weshalb zunächst das Vorliegen einer akuten Infektion ausgeschlossen werden muss (FEY, 2006). Für die Diagnosestellung wird das Bestehen von Krankheitssymptomen über einen Zeitraum von mindestens sechs Wochen oder von über drei Monaten, bei vorausgegangenem infektiösen Geschehen, gefordert (EHMANN, 2011). Eine milde COB äußert sich durch Husten, der meist in Verbindung mit Training oder Fütterung auftritt, Nasenausfluss, verminderte Leistungsfähigkeit und verlängerte Erholungszeiten. Das Initialstadium der Krankheit wird anhand der klinischen Untersuchung nur selten identifiziert (NAYLOR et al., 1992; ROBINSON, 2001a). Im weiter fortgeschrittenen Krankheitsstadium treten eine erhöhte Atemfrequenz, geblähte Nüstern in Ruhe, Ruhedyspnoe, eine deutlich abdominal verstärkte Atmung, Gewichtsverlust, massive Leistungsinsuffizienz und in manchen Fällen eine Hypertrophie der schrägen Bauchmuskulatur („Dampfrinne“) auf (ROBINSON, 2001a; AINSWORTH, 2010). Durch manuelle Kompression der Trachea ist bei COB-Patienten in der Regel Husten auslösbar und bei der Lungenauskultation sind häufig in- und expiratorische Atemgeräusche hörbar (RUSH und MAIR, 2004; HOTCHKISS et al., 2006). Die bei der Lungenauskultation erhobenen Befunde wie Pfeifen, Giemen und Rasseln sind oftmals nur während der akuten Exazerbation und nur in den kranioventralen Lungenbereichen hörbar (RUSH und MAIR, 2004) und dürfen in ihrer Relevanz nicht überbewertet werden, da sie bei schwer erkrankten Pferden häufig in ihrer Ausprägung hinter den Erwartungen der Untersucher zurückbleiben (NAYLOR et al., 1992). Mit Hilfe der Lungenperkussion lässt sich eine Vergrößerung des physiologischen Lungenfeldes mit geringem apparativen Aufwand nachweisen. Ursächlich für ein vergrößertes Lungenfeld können ein erhöhter Luftgehalt im

Thorax (Pneumothorax) oder ein erhöhter Luftgehalt der Lunge (Lungenemphysem) sein (SALOMON et al., 2005). Bei an COB erkrankten Pferden entsteht das Lungenemphysem durch das sogenannte „air-trapping-Phänomen“ (ROBINSON, 2001a). Hierbei lösen inhalierte Substanzen aufgrund der Hyperreagibilität der kleinen Bronchien eine Obstruktion des Bronchiolus beim Ausatmen aus und dieser schließt sich ventilartig, so dass die eingeatmete Luft nicht mehr entweichen kann. Dies führt zu einer Überblähung der kaudal der Obstruktion liegenden, kaudoventralen Alveolen (FEY, 2006). Als weiterführende diagnostische Maßnahmen können eine Blutgasanalyse, eine Ösophagusdruckmessung, ein Histamin-Inhalations-Provokations-Test und eine Bronchoskopie durchgeführt werden.

#### 2.1.5.2 Arterielle Blutgasanalyse

Mit der arteriellen Blutgasanalyse lassen sich Störungen des pulmonalen Gasaustausches in Ruhe und nach Belastung des Pferdes nachweisen. Als physiologische Werte gelten ein Sauerstoffpartialdruck ( $pO_2$ ) von  $100 \pm 5$  mmHg und ein Kohlenstoffdioxidpartialdruck ( $pCO_2$ ) von  $40 \pm 5$  mmHg. Aus diesen Werten lässt sich die alveolo-arterielle Sauerstoffpartialdruckdifferenz ( $AaDO_2$ ) als ein Parameter zur Beurteilung des Schweregrades einer Lungenerkrankung errechnen:

$$AaDO_2 = PAO_2 - pO_2$$

$$PAO_2 = (PB - 47 \text{ Torr}) \times 0,295 - pCO_2$$

$$PB = \text{aktueller Barometerdruck in Torr (1 Torr = 1 mmHg; 1 Torr = 133,3 Pa)}$$

#### Einteilung der COB in Schweregrade anhand des $AaDO_2$ (GRABNER, 2005):

- Latent: < 10 mmHg
- Geringgradig: 10-15 mmHg
- Mittelgradig: 15-25 mmHg
- Hochgradig: > 25 mmHg

Die Messung sollte immer am unsedierten Pferd vorgenommen werden, da eine Sedation zur mangelnden Synchronisation von laryngealen Bewegungen und Atemmanövern sowohl bei gesunden als auch bei an COB erkrankten Pferden führt und es somit zu einer Funktionsbeeinträchtigung der oberen Atemwege kommt (REITEMEYER et al., 1986). Wenn der  $pO_2$  unter Werte von 95 mmHg sinkt, liegt eine Partialinsuffizienz und bei Werten unter 80 mmHg eine Hypoxämie vor (FEY, 2006). Erst infolge schwerwiegender Funktionsstörungen kommt es auch zum Anstieg des  $pCO_2$  (Hyperkapnie), da die Diffusibilität des Kohlenstoffdioxides etwa zwanzigfach besser ist als die des Sauerstoffes (DEEGEN, 1983). Beim gleichzeitigen Vorliegen einer arteriellen Hypoxämie und einer Hyperkapnie spricht man von einer Globalinsuffizienz (FEY, 2006).

### 2.1.5.3 Interpleuraldruckmessung

Der interpleurale Druck ist definiert als die Differenz von atmosphärischem Druck ( $P_{atm}$ ) und der Elastizität der Lunge ( $P_{el}$ ) (SPÖRRI und LEEMANN, 1964):

$$P_{PL} = P_{atm} - P_{el}$$

Der Nutzen der Interpleuraldruckmessung als Untersuchungsverfahren besteht darin, dass die gemessenen maximalen interpleuralen Druckdifferenzen zwischen dem niedrigsten inspiratorischen und dem höchsten expiratorischen Druck bei Pferden mit COB-Erkrankung größer sind als die bei lungengesunden Pferden gemessenen maximalen Druckdifferenzen (SPÖRRI und LEEMANN, 1964; SASSE, 1971; MCPHERSON et al., 1978; DEEGEN und KLEIN, 1987). Bei unter COB leidenden Pferden muss für eine effektive Inspiration die aktive Thoraxweitung verstärkt werden, genauso wie für eine effektive Expiration die aktive Kompression der schrägen Bauchmuskulatur benötigt wird, wodurch die erhöhten interpleuralen Druckdifferenzen bedingt werden (DEEGEN und KLEIN, 1987). Die direkte Interpleuraldruckmessung (SASSE, 1971) wurde inzwischen wegen der hohen Risiken für die Patienten durch die weniger invasive, indirekte Interpleuraldruckmessung mittels Ösophagusballonsonde ersetzt (BOERMA et al., 1985; DEEGEN und KLEIN, 1987). Die durch Thoraxpunktion direkt gemessenen Werte unterscheiden sich nachweislich nur minimal von den im

thorakalen Abschnitt des Ösophagus mittels Ballonsonde gemessenen Werten (BOERMA et al., 1985). Bei der Durchführung dieser Untersuchung muss auf eine Sedation der Patienten mit  $\alpha_2$ -Agonisten verzichtet werden, da diese eine bronchodilatatorische Wirkung (durch präsynaptische Blockade der Acetylcholinfreisetzung) an parasymphatischen Nerven haben und somit eine Verfälschung der Messergebnisse bewirken (BROADSTONE et al., 1992). Zusätzlich könnte die Anwendung einer Sedation unter Verwendung von  $\alpha_2$ -Agonisten die gemessenen Interpleuraldruckwerte beeinflussen, indem diese eine Relaxation der Ösophaguskulatur erzeugen (GREEN, 1992). Jegliche Aufregung der Patienten bei der Untersuchung ist zu vermeiden, da gestresste Pferde eine wesentlich höhere Atemfrequenz haben, die ebenfalls Einfluss auf die Messwerte nehmen kann. Ein erhöhter Interpleuraldruck ist nicht nur auf einen erhöhten Atemwegswiderstand zurückzuführen, sondern spiegelt auch eine Veränderung in der Atemtechnik der an COB erkrankten Pferde wieder. Die Obstruktion der Bronchioli soll hierbei durch eine insgesamt verkürzte Inspirationsdauer und ein besonders am Ende der Inspiration stark erhöhtes Atemflussvolumen kompensiert werden (GREEN, 1992). Somit eignet sich die Interpleuraldruckmessung gut für eine Einschätzung des Schweregrades der COB-Erkrankung, da sie Veränderungen in den Atemflussvolumina aufzeigt, die wiederum mit einer zunehmenden Beeinträchtigung des Gasaustausches gleichzusetzen sind (ROBINSON et al., 1999). In der Vergangenheit wurde das Vorliegen eines Interpleuraldruckes von  $\geq 6\text{mmHg}$  (entsprechend  $8\text{cm H}_2\text{O}$ ) in Verbindung mit einem  $\text{pO}_2$  von  $\leq 82\text{mmHg}$  bereits als ausreichend für die Diagnosestellung einer COB-Erkrankung angesehen (MCPHERSON et al., 1978). Auch eine Einteilung von Patienten in unterschiedliche Schweregrade ist anhand des gemessenen Interpleuraldruckes durchführbar. Hierbei gelten Pferde mit einem Interpleuraldruck von  $3\text{-}7\text{cm H}_2\text{O}$  als geringgradig, von  $6\text{-}15\text{cm H}_2\text{O}$  als mittelgradig und von  $10\text{-}40\text{cm H}_2\text{O}$  als hochgradig erkrankt (DEEGEN und KLEIN, 1987). Für Pferde in Exazerbation wird heute von den Experten der internationalen Arbeitsgemeinschaft der unteren Atemwegserkrankungen ein Wert von  $> 15\text{cm H}_2\text{O}$  gefordert (ROBINSON, 2001a). Eine an der veterinärmedizinischen Fakultät der Justus-Liebig-Universität Gießen durchgeführte Studie zeigte, dass sich ab einem Interpleuraldruck von über  $15\text{cm}$

H<sub>2</sub>O auch andere klinische, endoskopische und blutgasanalytische Befunde signifikant verschlechtern (FEY, 2005).

#### 2.1.5.4 Histamin-Inhalations-Provokationstest

Durch Anwendung einer Inhalationslösung mit zunehmendem Histamingehalt lässt sich die Atemwegsreagibilität des Pferdes anhand der (durch die Histamininhalation bewirkten) Abnahme der dynamischen Lungencompliance messen (HOFFMAN et al., 1999; MAZAN et al., 1999). Eine Veränderung der Lungencompliance ist bei gesunden Pferden nicht zu provozieren, aber bei Pferden mit milder COB in 25% der Fälle und bei Pferden mit schwerer COB in 100% der Fälle nachweisbar (KLEIN und DEEGEN, 1986).

#### 2.1.5.5 Röntgendiagnostik

Es gibt keine für eine COB-Erkrankung pathognomischen Röntgenzeichen, jedoch korreliert der Schweregrad der Erkrankung mit den röntgenologisch feststellbaren Veränderungen (KIS et al., 2001). Im Falle einer COB-Erkrankung dient die Anfertigung von Röntgenbildern hauptsächlich dem Ausschluss möglicher Differentialdiagnosen (ROBINSON, 2001a). Als hinweisend für eine COB-Erkrankung gelten eine diffuse, die ganze Lunge betreffende interstitielle Verschattung, das Fehlen einer den Lungenhilus betreffenden Opazität, eine Verdickung der Bronchienwände und eine Überblähung der Lunge, welche eine Abflachung oder Konkavität des Diaphragmas erzeugt, vor allem wenn diese Befunde in Kombination bei einem Patienten auftreten (LEKEUX et al., 2004).

#### 2.1.5.6 Bronchoskopie

Im Rahmen der Diagnostik von Lungenerkrankungen sollte immer auch eine bronchoskopische Untersuchung durchgeführt werden (FEY, 2006). Nur anhand der zytologischen Ergebnisse von gewonnenen Tracheobronchialsekret (TBS)- und Broncho-Alveoläre-Lavage (BAL)- Proben lässt sich eine gezielte Therapie einleiten und eine prognostische Aussage treffen (MAY und GEHLEN, 2009). Es existieren verschiedene Befundschemata, bei denen die Menge des Sekretes,

dessen Viskosität und der Umfang der Bifurcatio tracheae berücksichtigt werden (OHNESORGE et al., 1998b; RUSH und MAIR, 2004; FEY, 2006; MAY und GEHLEN, 2009). Die Sekretmenge gilt hierbei als der Parameter, bei dem die höchste Übereinstimmung zwischen verschiedenen Untersuchern erzielt werden kann (GERBER et al., 2004). Die Entnahme von TBS kann über einen Katheter durch den Arbeitskanal des Endoskops oder transtracheal erfolgen (WAGNER, 1996).

Die Gewinnung von BAL kann ebenfalls über den Arbeitskanal des Endoskops oder über einen speziellen BAL-Katheter erfolgen. Hierfür werden 50 ml einer sterilen, körperwarmen Kochsalzlösung pro 100kg instilliert und sofort rückgewonnen (MAY und GEHLEN, 2009). Die TBS-Probe dient hierbei als eine Poolprobe zur Untersuchung der gesamten Lunge, die BAL-Probe zur Untersuchung eines peripheren Lungenabschnittes (MAY und GEHLEN, 2009). Auch in Hinblick auf die physiologischerweise vorkommenden Zellpopulationen unterscheiden sich die beiden Proben deutlich (MAY und GEHLEN, 2009). Bei an COB erkrankten Pferden sind eine vermehrte Schleimansammlung (DERKSEN et al., 1989) und ein prozentualer Anteil von > 25% Neutrophilen im TBS zu finden (MAY und GEHLEN, 2009; AINSWORTH und CHEETHAM, 2010). Ein Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein von > 20% Neutrophilen in der TBS-Zytologie und den klinischen Symptomen einer Atemwegserkrankung bei Pferden konnte nachgewiesen werden (MALIKIDES et al., 2003). Manche Autoren propagieren darüber hinaus eine Korrelation des prozentualen Anteils der Neutrophilen im TBS und dem Schweregrad der COB-Erkrankung (VRINS et al., 1991; FRANCHINI et al., 1998; LAVOIE et al., 2001). Weitere zytologische Befunde im TBS, die das Vorliegen einer COB vermuten lassen, sind schaumige Makrophagen, Curschmann Spiralen und Charcot-Leyden Kristalle (MAY und GEHLEN, 2009). Als mögliche Befunde der BAL-Zytologie bei Vorliegen einer chronischen Atemwegserkrankung gelten eine absolute Zellzahlerhöhung und ein Anstieg der Neutrophilen auf über 25% der Gesamtzellzahl (COUETIL et al., 2001; ROBINSON, 2001a; DEBRUE et al., 2005). Eine Untersuchung an der Universität Gießen zeigte jedoch, dass bei hochgradig COB-kranken Pferden ( $\Delta P_{pl_{max}} > 15 \text{ cm H}_2\text{O}$ ) der Gehalt an Neutrophilen in der BAL mit 14,2 % deutlich unter diesen Werten lag (FEY, 2005). Für die Diagnosestellung einer IAD-Erkrankung ist hingegen bereits das



Vorliegen von mehr als 5% Neutrophilen in der BAL ausreichend (siehe Kapitel 2.1.1.3, Seite 5).

### 2.1.6 Therapie der COB

#### 2.1.6.1 Konventionelle Therapie

##### 2.1.6.1.1 Haltungsoptimierung

Am Anfang eines jeden Therapieversuches muss eine Optimierung der Haltungsbedingungen der betroffenen Pferde stehen. Eine staubfreie und allergenarme Fütterung und Unterbringung wird nach wie vor als wichtigster Faktor für einen Therapieerfolg angesehen (MCGORUM et al., 1993b; VANDENPUT et al., 1998a; COUËTIL et al., 2005). Wenn in einem Stalltrakt mit vier Boxen alleine die Haltungsbedingungen in der Box des erkrankten Pferdes verändert werden, verbessert dies dessen Lungenfunktion innerhalb von drei Tagen (JACKSON et al., 2000). Durch eine Umstellung des Pferdes auf Sägespäne und die ausschließliche Fütterung von Pellets lässt sich die Staubbelastung auf nur noch 3% der unter normalen Haltungsbedingungen messbaren Staubbelastung senken (WOODS et al., 1993). Jedoch ist bereits eine wenige Minuten dauernde Heuexposition der Pferde ausreichend, um eine über Tage bestehende Hustenperiode auszulösen (FAIRBAIRN et al., 1993a).

##### 2.1.6.1.2 Medikamentöse Therapie

Für eine systemische Behandlung stehen verschiedene Medikamente zur Verfügung (NIEDERMAIER und GEHLEN, 2009). Ein mögliches therapeutisches Vorgehen stellt ein dreistufiger Behandlungsplan dar, bei welchem die Maßnahmen der nächsten Stufe erst ergriffen werden, wenn die durchgeführten Maßnahmen innerhalb von 14 Tagen nicht den gewünschten therapeutischen Erfolg erzielt haben (FEY und OHNESORGE, 2009). Als erste Stufe gelten die Haltungsoptimierung sowie die Anwendung von  $\beta_2$ -Sympathomimetika und Sekretolytika. Die Dosierungsempfehlung für das  $\beta_2$ -Sympathomimetikum Clenbuterol, das eine Bronchospasmodolyse über Rezeptoren in den Muskelzellen der Atemwege erzeugt, liegt im deutschsprachigen Raum bei

0,8µg/kg zweimal täglich „per os“ (p.o.) über zehn bis zwanzig Tage (EHMANN, 2011). Hierbei ist zu beachten, dass es bei einer Anwendung von über vier Wochen zu einer Abnahme der  $\beta_2$ -Rezeptoren (down regulation) kommen kann (DURHAM, 2001). Sekretolytika erhöhen die wässrige Sekretion des Bronchialepithels und fördern dadurch eine Sekretablösung von den Wänden der Atemwege. Für die Anwendung beim Pferd zugelassen ist der Wirkstoff Dembrexin, der in einer Dosierung von 0,3mg/kg zweimal täglich p.o. verabreicht werden sollte sowie der Wirkstoff Acetylcystein in einer Dosierung von 10mg/kg zweimal täglich per os (FEY, 2006). Erst ab Stufe zwei wird ein Einsatz von Glukokortikoiden empfohlen, ab Stufe drei die Hyperinfusionstherapie (siehe Kapitel 2.1.6.3, S.22) und weitere Maßnahmen, die nur ein Therapienotstand nach §56a des Arzneimittelgesetzes rechtfertigt (FEY und OHNESORGE, 2009).

Glukokortikoide inaktivieren NF- $\kappa$ B, reduzieren die Produktion proinflammatorischer Eikosanoide und vermindern die Abnahme der Anzahl von  $\beta_2$ -Rezeptoren (ABRAHAM et al., 2002). Die intravenöse Verabreichung von Dexamethason (0,1mg/kg) verbessert die Lungenfunktion innerhalb von 3 Tagen drastisch. Bereits nach sieben Tagen Therapie ist kein Unterschied mehr in der Lungenfunktion feststellbar, verglichen mit der Lungenfunktion der entsprechenden Pferde während reiner Weidehaltung (ROBINSON et al., 2002). In der Langzeittherapie wird die Verwendung von Prednisolon (kein für Pferde zugelassenes Präparat auf dem deutschen Markt) in einer Dosierung von 0,5-2mg/kg per os über sechs bis acht Wochen empfohlen. Sobald die Krankheitssymptome unter Kontrolle gebracht worden sind, sollte eine progressive Dosisreduktion erfolgen (FEY und OHNESORGE, 2009). Eine Therapie über diese lange Zeitdauer ist erforderlich, damit eine Unterbrechung der chronischen Entzündungsprozesse in den Lungengewebe erreicht wird (AINSWORTH und CHEETHAM, 2010). Um das Risiko des Auftretens unerwünschter Nebenwirkungen der Kortikosteroidtherapie, wie beispielsweise eine Suppression der Nebennierenrindenfunktion oder das Auftreten einer Hufreheerkrankung zu minimieren, sollte langfristig eine Glukokortikoidgabe nur an jedem zweiten Tag durchgeführt werden.

In den USA stützt sich die Therapie der COB-Erkrankung auf die „drei Säulen“ Haltungsoptimierung, Kortikosteroide und Bronchodilatoren (ROBINSON, 2001b). Es werden dort bis zu vierfach höhere Dosen Clenbuterol (bis zu 3,2

µg/kg p.o.) verwendet als die in Deutschland gebräuchliche Dosierung, da in klinischen Studien in den USA gezeigt werden konnte, dass nur 25% aller Pferde auf die in Deutschland gebräuchliche Dosis ansprechen (DURHAM, 2001). Die Dosiserhöhung auf die Maximaldosis sollte hierbei schrittweise, jeweils um 0,8µg/kg alle drei Tage erfolgen, bis zum Eintritt der gewünschten Wirkung. In den USA existiert darüber hinaus eine Zulassung für ein intravenös zu verabreichendes Clenbuterolpräparat zur Behandlung der RAO-Erkrankung. Zu den Vorteilen einer intravenösen (i.v.) Clenbuterolanwendung zählt, dass neben dem bronchodilatatorische Effekt auch eine antiinflammatorische Wirkung auftritt, die auf einer erhöhten Expression von IL-6 und einer verminderten Expression proinflammatorischer Zytokine beruht (ROBINSON, 2001a; LAAN et al., 2006). Von einer Anwendung der Hyperinfusionstherapie wird in Amerika mangels Wirksamkeitsnachweis bzw. wegen des Auftretens von Nebenwirkungen abgesehen (ROBINSON, 2001b; JEAN et al., 2004).

#### 2.1.6.1.3 Hyperinfusionstherapie

Als Indikation für eine Hyperinfusionstherapie gelten (bei gesicherter COB-Diagnose) das Vorhandensein einer großen Menge stark viskösen Sekretes und das mangelhafte Ansprechen auf sonstige therapeutische Maßnahmen. Die Kontraindikationen für diese Therapie sind das Vorliegen einer Herz- oder Niereninsuffizienz, eine Verlegung von mehr als einem Drittel des Tracheallumens mit Sekret oder eine hochgradige Dyspnoe (FEY und OHNESORGE, 2009). Der Wirkmechanismus der Hyperinfusionstherapie ist die Erzeugung einer Hypervolämie, die zu einem Absinken des osmotischen Druckes und einer pulmonalen Hypertonie führt, infolgedessen es zum passivem Übertritt von Flüssigkeit in die Alveolen (alveoläres Ödem) kommt (FEY, 2006). Mittels mukoziliärer Clearance wird die in die Alveolen abgeschiedene Flüssigkeit nach kranial abtransportiert und bewirkt so eine Lösung des zähflüssigen Schleimes aus den Atemwegen. Es wird 0,9% Kochsalzlösung in der Dosierung 67ml/kg verwendet. Die Kochsalzlösung kann entweder als intravenöse Infusion (bis zu 10 Liter pro h) oder intragastral per Nasenschlundsonde verabreicht werden (FEY und OHNESORGE, 2009).

#### 2.1.6.1.4 Inhalationstherapie

Die inhalative Verabreichung von Medikamenten ermöglicht aufgrund der lokalen Wirkung eine erfolgreiche Therapie der COB bei gleichzeitiger Dosisreduktion, wodurch sich das Risiko für das Auftreten unerwünschter Nebenwirkungen minimieren lässt (NIEDERMAIER und GEHLEN, 2009). Um eine Wirkung in den tiefen Atemwegen entfalten zu können, müssen die zur Inhalation verwendeten Partikel eine Größe von 1-5 $\mu$ m aufweisen, da kleinere Partikel (<0,5  $\mu$ m) wieder ausgeatmet werden und größere (>5 $\mu$ m) sich bereits in den oberen Atemwegen niederschlagen. Bei den zum Einsatz kommenden Inhalationssystemen unterscheidet man Vernebler zur Feuchtinhalation wie beispielsweise Düsen- und Ultraschallvernebler, Dosieraerosole und Trockenpulverinhalatoren (NIEDERMAIER und GEHLEN, 2009). Da für die Anwendung beim Pferd keine Inhalationslösungen zugelassen sind, müssen umgewidmete, humanmedizinische Präparate verwendet werden (FEY und OHNESORGE, 2009). Als Therapeutika bei der COB werden Glukokortikoide,  $\beta_2$ -Sympathomimetika und präventiv Mastzellstabilisatoren verwendet (THOMSON und MCPHERSON, 1981). Bei einer bestehenden Therapieresistenz gegenüber systemisch verabreichten  $\beta_2$ -Sympathomimetika führt die inhalative Anwendung von diesen oftmals zu einer Verbesserung der klinischen Symptomatik (DURHAM, 2001).

#### 2.1.6.2 Alternative Therapien

Es wurden bereits wissenschaftliche Studien zum Nachweis der Wirksamkeit von Akupunkturbehandlung bei COB durchgeführt. Eine amerikanische Studie kommt zu dem Ergebnis, dass durch eine einzelne Akupunkturbehandlung zwar ein Effekt erzielt werden kann, sich aber ein gleichwertiger Effekt durch den bloßen Umgang mit den Patienten („handling“) erzielen lässt (WILSON et al., 2004). In einer anderen Studie wurde die Wirkung von Laserakupunkturbehandlungen (vier Anwendungen innerhalb von sieben Tagen) mit der Wirkung einer Kombinationstherapie verschiedener herkömmlicher Arzneimittel (Dexamethason intramuskulär, oraler Clenbuterolgabe und orale Dembrexingabe) verglichen. Durch die Laserakupunkturbehandlung ließen sich laut dieser Studie

gleichwertige Therapieerfolge erzielen wie innerhalb der Vergleichsgruppe mit einer herkömmlichen, medikamentösen Therapie. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass durch die Laserakupunkturbehandlung in Bezug auf die klinischen Befunde sogar ein statistisch signifikanter, stärkerer Behandlungseffekt eintrat, als durch die Anwendung der Arzneimitteltherapie (REITZ, 2006).

## 2.2 CYTOSIN-PHOSPHAT-GUANIN-OLIGODEOXYNUKLEOTIDE

### 2.2.1 *Struktur der Cytosin-Phosphat-Guanin-Oligodeoxynukleotide*

Man spricht von einer DNA-Sequenz oder auch einem DNA-Motiv, sobald eine bestimmte Abfolge von Basen im Genom wiederholt vorkommt und dieser Basenabfolge eine biologische Bedeutung beigemessen wird. Ein CpG-Motiv besteht immer aus sechs Basen einzelsträngiger DNA-Sequenzen, die hierbei in verschiedenen Anordnungen vorkommen können (HARTMANN et al., 2000). Die Gemeinsamkeit der CpG-Motive besteht in einem zentral gelegenen Cytosin-Phosphat-Guanosin-Dinukleotid, welches von jeweils zwei speziesspezifisch unterschiedlichen Nukleinsäuren flankiert wird (KRIEG et al., 1995; WEINER, 2000). Die stärkste immunogene Wirkung weist beim Pferd, genauso wie beim Menschen, Affen und Hund, die Sequenz 5'-G-T-C-G-T-T-3' auf (HARTMANN et al., 2000; BAUER et al., 2001; RANKIN et al., 2001). Das angeborene Immunsystem kann körpereigene von körperfremden Zellen nur unter Zuhilfenahme der Erkennung spezifischer molekularer Muster unterscheiden, die im Englischen als pathogen-associated-molecular-patterns (PAMP) bezeichnet werden (HAAS et al., 2008). Dieses Erkennungsmuster basiert im Falle der CpG-Motive auf einer fehlenden Metylierung des C5-Atoms des Cytosins (BOHLE, 2002). Bei Säugetieren kommen CpG-Motive an sich viel seltener vor als im Genom von Prokaryonten (CpG-Suppression in eukaryontischer DNA) und in 70% der Fälle sind die Motive dann metyliert (KRIEG et al., 1995). Im Sinne eines PAMP induziert unmetylierte, prokaryotische DNA immer eine starke, Th-1 assoziierte Immunantwort, da der Organismus bei Erkennung dieses Musters von einem Kontakt zu Bakterien, Viren oder Parasiten ausgeht (WEINER, 2000; BOHLE, 2002). Einige intrazellulär vorkommende Pathogene haben jedoch einen

sehr niedrigen CpG-Gehalt. Dies ist als eine evolutionsbiologische Adaptation dieser Organismen zu werten, um eine Induktion der auf einer CpG-Erkennung basierenden Immunantwort zu vermeiden (KARLIN et al., 1994). Bei künstlich hergestellten CpG-Motiven wird das natürlicherweise vorkommende Phosphodiestergrundgerüst mindestens teilweise durch ein Phosphothioester-Grundgerüst ersetzt, um den vorzeitigen Abbau durch ubiquitär vorkommende Nukleasen zu verhindern (HAAS et al., 2008; FONSECA und KLINE, 2009). Darüber hinaus sorgt diese Modifikation für eine schnellere Aufnahme in Makrophagen und eine stärkere Induktion der Immunantwort (SESTER et al., 2000; KANDIMALLA et al., 2002).

### 2.2.2 Wirkungsmechanismus der CPG-Motive

Für die Erkennung eines PAMP werden immer auch bestimmte Rezeptoren benötigt, die sogenannten „pattern recognition receptors“ (HEMMI et al., 2000; KRIEG, 2002). Im Falle der CpG-Motive konnte als zugehöriger Rezeptor der „Toll-like-receptor-9“ (TLR-9) identifiziert werden, der fast ausschließlich intrazellulär vorkommt und nur DNA-Strukturen erkennt (HEMMI et al., 2000; VOLLMER und KRIEG, 2009). Der Name „Toll-like“ leitet sich vom bereits früher entdeckten „Toll-Rezeptor“ ab, der erstmals bei der Fruchtfliege *Drosophila* gefunden wurde, als ein Rezeptor der an unspezifischen Abwehrmechanismen beteiligt ist (LEMAITRE et al., 1996). Synthetisch hergestellte CpG-ODN imitieren den Effekt bakterieller DNA und lösen eine Immunantwort aus, die auf eine Bekämpfung der mikrobiellen Infektion ausgerichtet ist (BOHLE, 2002). Die Antwort des Immunsystems erfolgt in zwei Phasen. Zunächst erfolgt eine Aktivierung von B-Lymphozyten (auch als B-Zellen bezeichnet) und plasmazytoiden dendritischen Zellen (PDC) über die TLR-9 Rezeptoren. Die PDC sind Zellen, die auf die Erkennung von Viren und Bakterien spezialisiert sind (SIEGAL et al., 1999). Die Aktivierung durch CpG-Motive bewirkt in B-Zellen und PDC die Produktion von Zytokinen, Interferonen und Chemokinen und eine erhöhte Apoptoseresistenz (KRIEG, 2002). Bei gleichzeitigem Antigenkontakt produzieren B-Zellen nach CpG-Stimulation vermehrt antigenspezifische Antikörper (KRIEG et al., 1995). Die PDC-Zellen

reifen zu Antigen-präsentierenden-Zellen (APC) heran und produzieren große Mengen von Typ-1 Interferon (KRUG et al., 2001). Die gebildeten Zytokine und Chemokine induzieren sekundäre Effekte, wie eine Aktivierung der Monozyten und der natürlichen Killerzellen (NK-Zellen). Außerdem erfolgt eine vermehrte Expression von Fc-Rezeptoren auf Effektorzellen, die als Membranrezeptoren für Immunglobuline fungieren, wodurch die antikörperabhängige Zytotoxizität der Effektorzellen erhöht wird (KRIEG, 2002). Durch die Reifung der PDC und die Aktivierung des angeborenen Immunsystems über die TLR-9 Rezeptoren kommt es im zweiten Schritt zu einer Verstärkung der Mechanismen des erworbenen Immunsystems. Das Interleukin-12, das die Produktion von IFN- $\gamma$  und die Entwicklung von Th1-Zellen steuert, nimmt hierbei eine Schlüsselrolle ein (KLINMAN et al., 1996). Die Weiterentwicklung ungeprägter CD 4<sup>+</sup>-T-Helferzellen zu spezialisierten Th1-Lymphozyten erfolgt IL-12 vermittelt. Es konnte nachgewiesen werden, dass durch Stimulation mit CpG-Motiven die normalerweise verminderte IL-12 Konzentration in Blutzellen von Atopikern (Menschen mit einer erhöhten Neigung für allergische Erkrankungen) auf dasselbe Niveau angehoben wird wie in den Blutzellen gesunder Patienten (BOHLE, 2002). Durch die Verwendung von CpG-ODN wird demnach sowohl die angeborene Immunantwort als auch die spezielle zelluläre und humorale Immunantwort in zwei Phasen aktiviert (FLAMINIO et al., 2007).

### 2.2.3 CPG Klassen

Es werden aufgrund ihrer unterschiedlichen immunstimulatorischen Effekte drei CpG-Klassen unterschieden (KRIEG, 2002; KLINMAN, 2004).

Bei der A-Klasse besteht das Grundgerüst hauptsächlich aus Phosphothioestern, es werden vor allem NK-Zellen aktiviert und die Bildung von IFN- $\alpha$  durch PDC induziert (KRUG et al., 2001).

Die B-Klasse aktiviert vor allem PDC und fördert deren Ausreifung. Die CpG-ODN der B-Klasse haben eine schwache Wirkung auf NK-Zellen, aber eine stark stimulierende Wirkung auf B-Zellen und induzieren die Bildung von IL-6 und IgM durch diese (KLINMAN, 2004).

Die CpG-ODN der C-Klasse vereinen die Wirkungen der anderen beiden Klassen in sich und stimulieren B-Zellen und PDC gleichermaßen (VOLLMER und KRIEG, 2009).

#### 2.2.4 *In vitro Einsatz von CpG-ODN beim Pferd*

Eine gesteigerte Sekretion von IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , IL-6 und IL-12 durch equine Leukozyten konnte in einer Studie durch den Einsatz von CpG-ODN hervorgerufen werden. Wie hoch die induzierten Zytokinspiegel anstiegen und welches Zytokin bevorzugt produziert wurde, war abhängig vom verwendeten CpG-Motiv und der Art und Weise des jeweiligen Grundgerüsts der CpG-Motive (WATTRANG et al., 2005).

Bei der Stimulation mononukleärer Zellen des peripheren Blutes von Fohlen mit B-Klasse CpG-ODN ließ sich eine Expression von IFN- $\gamma$ -, IL-6-, und IL-12-mRNA stimulieren. Diese war in ihrem Umfang genauso groß oder größer als die durch CpG-Stimulation erzielbare Expression bei adulten Pferden. Die Autoren schlossen daraus, dass die Anwendung von CpG-Motiven bei Fohlen als Immunmodulator oder als potentiell Impfstoffadjuvans in Impfstoffen sinnvoll sein könnte, um bakterielle Infektionen wie beispielsweise eine durch *Rhodococcus equi* verursachte Pneumonie zu vermeiden (LIU et al., 2008).

Eine weitere Studie befasste sich mit der Wirkung von CpG-ODN auf die APC von Fohlen und adulten Pferden (FLAMINIO et al., 2007). Es konnte gezeigt werden, dass beim adulten Pferd die IL-12 und IFN- $\alpha$  mRNA-Expression in dendritischen Zellen durch CpG-ODN induziert werden konnte, dies in Makrophagen aber nicht möglich war. Bis zu einem Alter von drei Monaten ließen sich die APC von Fohlen nicht durch CpG-ODN zu einer erhöhten Zytokinausschüttung stimulieren. Die Expression von TLR-9 und NF- $\kappa$ B war aber vergleichbar mit der von adulten Pferden. Es ließ sich in Makrophagen und dendritischen Zellen von Fohlen keine spezifische Reifung und Zytokinexpression durch die CpG-Therapie erzeugen. Es ist aber hervorzuheben, dass beim Fohlen laut dieser Untersuchung mit und ohne CpG-Therapie eine altersabhängige Begrenzung in der Expression von major-histocompatibility-complex (MHC)



Klasse-II Molekülen in Makrophagen und dendritischen Zellen vorliegt (FLAMINIO et al., 2007).

Die CpG-ODN Sequenz, die am besten eine Veränderung der Immunantwort hin zum Th1-Weg bei equinen bronchoalveolären Zellen erzeugt, wurde bereits in einer in vitro Studie identifiziert (KLIER, 2011). Mittels der gefundenen Sequenz sollte in einer anschließenden in vivo Studie die Wirksamkeit dieser Sequenz gekoppelt an Gelantinenanopartikel (GNP) als immunologisch wirksames, inhalatives Therapeutikum bei der Behandlung der COB des Pferdes untersucht werden. Es wurde hierzu die immunologische Wirksamkeit sechs unterschiedlicher CpG-ODN Sequenzen verglichen, durch welche auch alle drei der existierenden CpG-Klassen repräsentiert waren. Eine erhöhte IL-10 und IFN- $\gamma$  Konzentration bei gesunden Pferden konnte für equine BAL-Zellen nach Stimulation mit jeder der sechs untersuchten ODN-Sequenzen nachgewiesen werden. Bei gesunden Pferden blieben die gemessenen IL-4 Spiegel nach Stimulation unterhalb der bei an COB erkrankten Pferden gemessenen Werte. Vom Autor wurden diese Befunde als ein Hinweis dafür gedeutet, dass CpG-ODN die Produktion von Th2-Zytokinen herunterreguliert (Th1-Shift) (KLIER, 2011).

### 2.2.5 *In vivo Einsatz von CpG-ODN beim Pferd*

CpG-ODN sind in vivo beim Pferd bereits als Impfstoffadjuvans verwendet worden (LOPEZ et al., 2006). Hierbei wurde einem kommerziell erhältlichen Totimpfstoff gegen das equine Influenzavirus (Encevac TC4, Firma Intervet) eine 30% Emulsion von CpG-ODN als Adjuvans beigefügt. Zwölf Wochen nach Abschluss der Grundimmunisierung wurden ungeimpfte, als Kontrollgruppe fungierende Pferde, die nur eine Kochsalzlösung injiziert bekommen hatten, herkömmlich geimpfte Pferde und Pferde, die mit CpG-Adjuvans geimpft wurden, einem Infektionsversuch mit lebenden Viren unterzogen. Nach Anwendung von CpG-ODN als Adjuvans war eine höhere Antikörperproduktion gegen das Virus nachweisbar als bei der Anwendung des Impfstoffes alleine. Die erhöhte Antikörpermenge spiegelte sich aber nicht in den klinischen Ergebnissen wieder, da geimpfte Pferde zwar signifikant besser gegen eine Infektion geschützt waren als die Pferde der Kontrollgruppe, die Unterschiede innerhalb der beiden

geimpften Pferdegruppen (mit und ohne CpG-Adjuvans) aber nicht signifikant waren (LOPEZ et al., 2006).

Bei der Verwendung eines formalininaktivierten, intranasal applizierten *Rhodococcus equi* Impfstoffes mit CpG-Adjuvans konnte in Bezug auf die Morbidität kein statistisch signifikanter Unterschied festgestellt werden zwischen Fohlen, die herkömmlich oder mit CpG-Adjuvans geimpft worden waren und Fohlen, die nur eine Placebolösung erhalten hatten. Jedoch erkrankten in der Kontrollgruppe 61,1 %, in der herkömmlich geimpften Gruppe 58,3% und in der mit CpG-Adjuvans geimpften Gruppe nur 36,1 % der Fohlen, was als eine deutliche Tendenz dafür zu werten ist, dass bei Fohlen während der ersten drei Lebenswochen unter Verwendung von CpG-ODN als Adjuvans ein schützende Immunität gegen *Rhodococcus equi* aufgebaut werden kann (HULLMANN, 2006). In Folgearbeiten wurde die Wirksamkeit des Impfstoffes mit CpG-Adjuvans nach Verabreichung von nur einem Zehntel der ursprünglich verwendeten Dosis (MÜLLER-ALANDER, 2008) und unter Verwendung von unterschiedlich langen Impfprotokollen (DITTRICH, 2008) untersucht. Jedoch ließen sich auch in diesen Studien keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf die Erkrankungshäufigkeit, das Erkrankungsalter und die Symptomausprägung nachweisen (DITTRICH, 2008; MÜLLER-ALANDER, 2008).

Sehr vielversprechende Ergebnisse konnten in einer Studie erzielt werden, bei der an COB erkrankte Pferde mit CpG-ODN, die an Gelatinenanoartikel gekoppelt waren, inhaliert wurden. Die fünfmalige, inhalative Anwendung im Abstand von zwei Tagen senkte die Ruheatemfrequenz der Patienten in den physiologischen Bereich ( $< 16$  Atemzüge/Minute), erhöhte den gemessenen Sauerstoffpartialdruck auf einen durchschnittlichen Wert von 95mmHg, senkte die festgestellte Menge an TBS und reduzierte den Anteil der neutrophilen Granulozyten im Tbs um durchschnittlich 30% (KLIER et al., 2012).

## 2.3 GELANTINENANOPARTIKEL (GNP)

### 2.3.1 Nanopartikuläre Transportsysteme

Bei der Durchführung erster klinischer Studien mit CpG-ODN zeigte sich, dass deren Wirkung bei Menschen und Großtieren nicht so ausgeprägt war, wie anhand der in präklinischen Studien mit Mäusen erzielten Ergebnisse vermutet worden war (MUTWIRI et al., 2009). Aufgrund dessen ergab sich Forschungsbedarf im Hinblick auf eine mögliche Wirkungsverstärkung beim Einsatz von synthetischen CpG-ODN als Therapeutikum beim Menschen und bei großen Säugetieren. Hierfür wurden verschiedene nanopartikuläre Transportsysteme untersucht, mit deren Hilfe sich CpG-ODN zu den Zielzellen transportieren lassen und die darüber hinaus eine Wirkungsverstärkung durch eine verbesserte Aufnahme in die Zielzellen und einen Schutz vor frühzeitigem Abbau durch körpereigene Nukleasen gewährleisten (ZWIOREK et al., 2008). Zu diesem Zweck wurden nanopartikuläre Trägersysteme etabliert, bei denen Nanopartikel verschiedenen Ursprungs mit CpG-ODN beladen wurden. Neben den Gelatinenanopartikeln (ZWIOREK et al., 2004; BOURQUIN et al., 2008; ZWIOREK et al., 2008) kamen bereits Lipidnanopartikel (WILSON et al., 2009) und modifizierte, mit einem biotinierten, epidermalen Wachstumsfaktor behandelte Nanopartikel (TSENG et al., 2008) mit guten Erfolgen zum Einsatz.

### 2.3.2 Struktur und Wirkungsweise von Gelatinenanopartikeln

Ein mögliches Protokoll bei der Herstellung von Gelatinenanopartikeln ist die zweiphasige Desolvation (COESTER et al., 2000). Ein Verfahren, das von Zwioerek noch weiter modifiziert wurde (ZWIOREK et al., 2008). Die GNP werden hierbei aus Gelatine Typ-A hergestellt, die aus Schweinehaut extrahiert wird. Eine Beladung der GNP mit CpG-ODN ist aufgrund elektrostatischer Wechselwirkungen möglich, da die CpG-ODN negativ geladen sind und bei den GNP auf der Partikeloberfläche eine pH-unabhängige, positive Ladung durch Anheftung einer quaternären Stickstoffgruppe (durch kovalente Bindung von Cholemin) erzeugt wird. Durch dieses Verfahren wird eine Ablösung der CpG-ODN von den GNP während des Transports zu den Zielzellen verhindert

(ZWIOREK et al., 2004). Als optimale Beladungsmenge für die GNP werden 5% CpG-ODN angesehen, da die GNP bei Beladung mit größeren Mengen instabil werden und eine Tendenz zur Aggregation aufweisen. Dieses Verhalten beruht wahrscheinlich auf der Tatsache, dass eine übermäßige Beladung mit CpG-ODN zu einer Neutralisierung der Ladungen an der Oberfläche der GNP führt, die eine mögliche Aggregation der Partikel begünstigen (ZWIOREK et al., 2008). Ein entscheidender Beweggrund, der für den Einsatz von GNP als Trägersystem für CpG-ODN spricht, ist die Tatsache, dass die GNP immunologisch inert sind. Bei der alleinigen Anwendung von GNP, *in vitro* und *in vivo*, wird keinerlei immunologische Wirkung im Sinne von messbaren AK-Spiegeln gegen die Gelatine (als Matrix des Trägersystems) bei den Patienten hervorgerufen. Die Stimulation einer spezifischen AK-Bildung ist der limitierende Faktor für den mehrmaligen Einsatz eines Stoffes als Trägersystem. Daher ist auch eine wiederholte Anwendung von GNP bei Patienten möglich, anders als beispielsweise beim Freudschen Adjuvans, gegen welches AK gebildet werden. Auch die Induktion einer Zytokinproduktion lässt sich von unbeladenen GNP nicht auslösen (ZWIOREK et al., 2008). In mehreren Untersuchungen konnte die gute Verträglichkeit von GNP und ihre Effektivität als Trägersystem nachgewiesen werden (BOURQUIN et al., 2008; TSENG et al., 2008; ZWIOREK et al., 2008). Die Phagozytose wurde als hauptsächlicher Aufnahmemechanismus für CpG-ODN/GNP in die Zielzellen identifiziert (FONSECA und KLINE, 2009; VOLLMER und KRIEG, 2009). Durch *in vitro* Versuche konnte gezeigt werden, dass nach zwölfstündiger Inkubation von murinen myelotischen dendritischen Zellen und kationischen, GNP gebundenen CpG-ODN (CpG-ODN/GNP) 68% der dendritischen Zellen CpG-ODN/GNP aufgenommen hatten. Im Gegensatz dazu kam es bei Verwendung von unbeladenen, nicht kationischen GNP nur zu einer Aufnahmerate von 33% in die Zielzellen (ZWIOREK et al., 2008). Diese Beobachtungen bestätigen die Ergebnisse früherer Untersuchungen, dass dendritische Zellen und Makrophagen bevorzugt kationische Partikel (verglichen mit neutral oder negativ geladenen Partikeln) phagozytieren (ROSER et al., 1998; THIELE et al., 2001) und die Phagozytose den hauptsächlichen Aufnahmemechanismus in die Zielzellen darstellt (FONSECA und KLINE, 2009; VOLLMER und KRIEG, 2009). In Bezug auf die Wirkungsverstärkung ließ sich durch die Verwendung von CpG-ODN/GNP eine doppelt bis dreimal so hohe

Zytokinproduktion hervorrufen als bei der Verwendung von ungebundenen CpG-ODN (ZWIOREK et al., 2008).

### *2.3.3 In vivo Einsatz von Gelatinenanoartikeln beim Pferd*

Bei der erstmaligen inhalativen Anwendung von CpG-ODN/GNP beim Pferd konnte bestätigt werden, dass diese Arzneimittelformulierung bei gesunden und bei an COB erkrankten Pferden eine gute lokale und systemische Verträglichkeit aufweist und die alleinige Verabreichung von GNP keinerlei immunologischen Wirkungen hervorruft (KLIER et al., 2012).

### 3 Material und Methoden

#### 3.1 MATERIAL UND METHODEN DER FRAGEBOGENSTUDIE

##### 3.1.1 Studiendesign und Ziel

Im Rahmen einer Feldstudie sollte die Wirksamkeit und therapeutische Sicherheit der inhalativen Anwendung von CpG-ODN/GNP bei an COB erkrankten Pferden nachgewiesen werden. Aus der Fragestellung, wie eine erste Vorauswahl und ausführliche Anamneseerhebung bei den in Frage kommenden Patienten am besten zu bewerkstelligen sei, entstand in Zusammenarbeit mit der Rechnerbetriebsgruppe der tiermedizinischen Fakultät der LMU München die Idee der Erstellung einer Homepage (Anhang 9.2, S.182). Während der Erstellung der Homepage wurde diese in Weiterentwicklung des ursprünglichen Vorhabens derart programmiert, dass zusätzlich zur reinen Anamneseerhebung die Möglichkeit bestand, studienbegleitend weitere, allgemeinere Daten über die COB-Erkrankung von Pferden in Deutschland zu erheben. Die ermittelten Daten sollten Aufschluss geben über mögliche Krankheitsverläufe der COB, über eine etwaige Symptomvarianz im Verlauf der Krankheit, über die Entwicklung der Leistungsfähigkeit der Pferde sowie über die Art der durchgeführten Diagnosestellung und der durchgeführten Therapie durch die behandelnden Tierärzte.

##### 3.1.2 Entwicklung und inhaltliche Gestaltung der Fragebogenhomepage

Die Erstellung der Fragebogenhomepage erfolgte unter Zuhilfenahme des LimeSurvey® Programms (Version 1.87-Build 8518). Es bestand darüber hinaus die Möglichkeit, eine Papierform des Fragebogens zu bearbeiten, sofern dies von den Pferdebesitzern gegenüber der Onlineversion bevorzugt wurde. Der ausgedruckte Fragebogen wurde den Pferdebesitzern hierfür postalisch zugestellt. Der Fragebogen war in sieben verschiedene Themenbereiche unterteilt, die im Folgenden kurz näher erläutert werden sollen:

### 3.1.2.1 Erster Abschnitt: Allgemeine Angaben zum Pferd

In dieser Rubrik wurden allgemeine Daten des Pferdes wie Alter, Rasse und Geschlecht erfasst, sowie die Haltungsbedingungen des Pferdes bei seiner Aufzucht. Außerdem wurde der Impf- und Entwurmungsstatus des Pferdes erfragt und ob ein gehäuftes Vorkommen der COB-Erkrankung in der Familie des Pferdes bekannt sei. Abschließend wurden Fragen zur Nutzung des Pferdes gestellt und ob mit dem Pferd vor Auftreten der Erkrankung Turnierfolge erzielt werden konnten.

### 3.1.2.2 Zweiter Abschnitt: Erstmaliges Auftreten von chronisch obstruktiver Bronchitis

Dieser Fragebogenabschnitt befasste sich mit dem Alter des Pferdes und mit der Dauer der Nutzungseinschränkung beim erstmaligen Auftreten der Krankheit. Es wurde außerdem um Nennung möglicher auslösender Faktoren für Krankheitsausbrüche und die dabei gezeigten Krankheitssymptome gebeten. Hierfür wurden elf mögliche Faktoren zur Auswahl angegeben und es bestand darüber hinaus die Möglichkeit, nicht aufgeführte Faktoren zu ergänzen. Außerdem wurde die Frage geklärt, ob die Pferdebesitzer mit der Betreuung und durchgeführten Therapie durch ihren jeweiligen Haustierarzt zufrieden waren.

### 3.1.2.3 Dritter Abschnitt: Management der COB-Patienten

Dieser Abschnitt befasste sich mit den Fragestellungen, welche Maßnahmen zur Haltungsoptimierung des Pferdes ergriffen wurden, wie lange diese Maßnahmen beibehalten wurden, wie oft das Pferd seit der Diagnosestellung Krankheitsrückfälle erlitt und in welchem Rahmen sich die Kosten für die Haltungsoptimierung und Therapie eines COB-Pferdes bewegen.

#### 3.1.2.4 Vierter Abschnitt: Verlauf der COB-Erkrankung

Es wurde erfragt, ob sich die gezeigten Krankheitssymptome im Verlauf der Krankheit verändert haben, welche therapeutischen Maßnahmen nach Ansicht der Pferdebesitzer die beste Wirkung erzielten, ob das Pferd unter einer Dauermedikation stand oder steht, wie der Krankheitsverlauf in seiner Gesamtheit von den Pferdebesitzern beurteilt wird und ob das Pferd aufgrund der COB-Erkrankung euthanasiert werden musste.

#### 3.1.2.5 Fünfter Abschnitt: Nutzung und Leistungsfähigkeit des Pferdes

Innerhalb dieses Abschnittes des Fragebogens sollte die Fragestellung geklärt werden, ob und wie schwerwiegend sich die Leistungsfähigkeit des Pferdes im Verlauf der Krankheit verändert hat und ob es trotz der COB-Erkrankung des Pferdes noch möglich war, mit diesem Turniererfolge zu erzielen.

#### 3.1.2.6 Sechster Abschnitt: Ankauf und Verkauf

Es wurde erfragt, ob beim Erwerb des Pferdes eine Ankaufsuntersuchung und im Rahmen dieser eine Endoskopie durchgeführt worden ist und ob bereits beim Kauf des Pferdes Hinweise auf eine respiratorische Erkrankung bestanden. Des Weiteren wurde geklärt, ob die vorliegende COB-Erkrankung für einen angestrebten Weiterverkauf ein Hindernis darstellte und ob und unter welchen Voraussetzungen die Pferdebesitzer erneut ein unter COB leidendes Pferd käuflich erwerben würden.

#### 3.1.2.7 Siebter Abschnitt: Teilnahme am praktischen Teil der Studie

Der letzte Abschnitt des Fragebogens klärte, ob die Pferdebesitzer mit ihrem Pferd an der praktischen Studie teilnehmen möchten, ob das jeweilige Pferd in der letzten Zeit unter medikamentöser Behandlung stand oder aktuell steht und bot die Möglichkeit für zusätzliche Anmerkungen der Pferdebesitzer.



### 3.1.3 Datengewinnung

#### 3.1.3.1 Überprüfung der Verständlichkeit und Vollständigkeit des Fragebogens

Der Fragebogen wurde zunächst in Papierform fünf Pferdehaltern vorgelegt, die im Besitz von an COB-erkrankten Pferden sind oder waren, um die Verständlichkeit des Fragebogens für Laien und das Vorhandensein aller benötigten Antwortmöglichkeiten zu überprüfen. Erst nach Beendigung dieses Testlaufes wurde die Fragebogenhomepage online gestellt.

#### 3.1.3.2 Patientengewinnung für die praktische Studie und Bekanntmachung der Fragebogenhomepage

Im Großraum München wurden in Reitställen Anzeigen (Anhang 9.1, S.181) ausgehängt, um Besitzer von an COB erkrankten Pferden auf die Studie aufmerksam zu machen. Außerdem wurden in verschiedenen Pferdezeitschriften und auf deren Onlinepräsenzen Hinweise auf die praktische Studie und die zugehörige Fragebogenhomepage gegeben. Zusätzlich wurden alle Fachtierärzte für Pferde in Bayern und alle Mitglieder der Gesellschaft für Pferdemedizin per Email über die Fragebogenhomepage und die praktische Studie informiert und darum gebeten, ihr Klientel auf die Studie aufmerksam zu machen.

#### 3.1.3.3 Verwendung der Microsoft-Outlook® Software zur automatischen Beantwortung von Email-Anfragen

Zur Beantwortung der E-Mail-Anfragen interessierter Pferdebesitzer wurde die „Automatische-Antwort-Funktion“ des Microsoft Outlook® Programms (Microsoft Exchange Server, Version 2010) verwendet. Sobald eine E-Mail an die verwendete E-Mail-Adresse einging, wurde automatisch eine E-Mail mit dem Link zur Fragebogenhomepage übermittelt. Durch dieses Vorgehen wurde sichergestellt, dass jede Anfrage unverzüglich beantwortet wurde.

#### 3.1.3.4 Zeitlicher Rahmen der Umfrage und angestrebte Datenmenge

Der zeitliche Rahmen der Datenerhebung wurde auf die Dauer von drei Monaten festgelegt und es wurde eine Mindestanzahl von hundert vollständig ausgefüllten Fragebögen angestrebt.

#### 3.1.4 Statistische Analysen

Die erhobenen Daten wurden rein deskriptiv unter Zuhilfenahme des SPSS-Programms (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA; Version 19) ausgewertet. Mehrfachantworten waren bei den meisten Fragen möglich (Multiple-choice-Fragebogen), weshalb die ermittelten Ergebnisse zum Teil mehr als 100% ergaben.

### 3.2 MATERIAL UND METHODE DER IN VIVO STUDIE

#### 3.2.1 Studiendesign und Ziel

Anhand der Ergebnisse des in vivo Teils der Studie sollte gezeigt werden, dass die Verwendung einer Inhalationslösung mit CpG-ODN/GNP im Rahmen einer Feldstudie sowohl praktisch durchführbar als auch wirksam und gut verträglich ist.

Die Studie wurde doppelt verblindet, prospektiv randomisiert und placebokontrolliert durchgeführt. Es wurden hierfür vier Gruppen gebildet, wobei Gruppe 1 (n=8) aus gering- und mittelgradig an COB erkrankten Pferden und Gruppe 2 (n=8) aus hochgradig an COB erkrankten Pferden bestand. Zusätzlich diente eine Gruppe 3 (n=4) aus gering- bis mittelgradig erkrankten Patienten und eine Gruppe 4 (n=4) aus hochgradig erkrankten Patienten als Placebogruppe.

Die Patienten der Gruppen 1 und 2 erhielten folglich das Verum-, die Patienten der Gruppe 3 und 4 das Placebo-Präparat. Nachdem der Schweregrad der Erkrankung des jeweiligen Patienten anhand eines Scoringsystems ermittelt worden war (DEEGEN und KLEIN, 1987; GERBER et al., 2004; KLIER, 2011), erfolgte eine Zuteilung zur „Verum- oder Placebogruppe“ per Losverfahren.

Das Losverfahren wurde von Mitarbeitern der Pferdeklunik durchgeführt.

Insgesamt wurden bei jedem Pferd fünf Inhalationsbehandlungen (siehe Kapitel 3.2.8, S.48) und zwei Nachuntersuchungen (siehe Kapitel 3.2.9, S.49) durchgeführt.

Ein Einschlusskriterium für die Anwendung des Präparates im Heimatstall der Pferde war, dass die Erreichbarkeit der Ställe innerhalb eines Zeitraums von maximal 90 Minuten nach Herstellung der Inhalationslösung im Labor der Medizinischen Kleintierklinik der LMU München gewährleistet werden konnte. Durch den Verbrauch der CpG-ODN/GNP-Inhalationslösungen innerhalb von weniger als zwei Stunden nach ihrer Herstellung sollte dem Risiko einer Aggregatbildung, das im Zusammenhang mit der Verwendung von Cytosin-Phosphat-Guanin-Oligodeoxynukleotiden der Klasse A beschrieben ist, Rechnung getragen werden (KERKMANN et al., 2005). Neben der Erreichbarkeit war ein weiteres Einschlusskriterium für eine Teilnahme an der praktischen Studie, dass die Patienten seit mindestens 6 Wochen Symptome einer COB-Erkrankung zeigten, innerhalb der letzten sechs Monaten nicht mit Cortisonpräparaten behandelt worden waren und dass innerhalb der letzten zwei Monate auch keine sonstigen Therapien zur Behandlung der COB-Erkrankung bei den Pferden durchgeführt worden waren.

### *3.2.2 Patientengut*

Es wurden insgesamt 24 Pferde in die klinische Studie aufgenommen, deren Besitzer sich in Eigeninitiative über die Fragebogenhomepage beworben hatten oder die von ihren Haustierärzten überwiesen worden waren. Die Pferdebesitzer wurden anhand eines Besitzerinformationsblattes (Anhang 9.3, S.199), zusätzlich zur mündlichen Aufklärung, schriftlich über die Studie informiert. Vier Pferde (die nicht innerhalb von 90 Minuten erreicht werden konnten) wurden stationär in der Pferdeklunik der LMU München behandelt, wobei dieselben Haltungsbedingungen und dasselbe Bewegungsprogramm beibehalten wurden wie in den Heimatställen der Pferde.

Die durchgeführte Feldstudie zur Überprüfung der Wirksamkeit der CpG-ODN/GNP-Inhalationslösung als Therapeutikum zur Behandlung der COB-Erkrankung des Pferdes war im Vorfeld von der Regierung von Oberbayern als Tierversuch genehmigt worden (Gz. 55.2-1-54-2532-31-10).

### 3.2.3 *Anamnese und klinische Eingangsuntersuchung*

Detaillierte, anamnestische Daten zu jedem Pferd waren bereits im Vorfeld mit der Fragebogenhomepage erhoben worden (Anhang 9.2, S.182). Sofern die Auswertung des Fragebogens das Vorliegen einer COB-Erkrankung beim entsprechenden Patienten vermuten lies, wurde ein Termin für eine erste Untersuchung vereinbart, da eine auf der Auswertung des Fragebogens beruhende Diagnosestellung im Rahmen dieser Studie nicht angestrebt wurde. Zur Diagnosestellung wurde beim ersten Besuch der Pferde eine schematisierte, klinische Eingangsuntersuchung (Erstuntersuchung, U1) (Anhang 9.4, S.203) durchgeführt. Des Weiteren wurden von jedem Pferd Blutproben für ein großes Blutbild und die Bestimmung der Fibrinogen- und Leukozytenwerte abgenommen (Anhang 9.8, S.215). Alle Blutproben wurden aus der V. jugularis externa nach gründlicher Desinfektion der Haut mit Septoderm Hautdesinfektionsmittel (Dr. Schumacher GmbH) entnommen. Die V. jugularis wurde hierfür im mittleren Drittel durch Druck mit dem Finger gestaut und mit einer sterilen Einmalkanüle (BD Microlance 3, 18 G 2'', 1,2) punktiert. Das Blut wurde in EDTA-, Serum- und Fibrinogenblutröhrchen überführt. Die Fibrinogenproben wurden im Anschluss vor Ort abzentrifugiert und bis zur Messung gefroren aufbewahrt. Die Auswertung der Blutproben für das große Blutbild erfolgte im Labor der Kleintierklinik der LMU München, die Auswertung der Fibrinogenproben im IDEXX VetMed Labor in Ludwigsburg. Anhand dieses Vorgehens sollte vor Beginn der Inhalationstherapie das eventuelle Vorliegen einer akuten Erkrankung ausgeschlossen werden, da dies ein Ausschlusskriterium für eine Teilnahme an der Studie darstellte.

### 3.2.4 Spezielle Untersuchung des Atmungsapparates

Bei der speziellen Untersuchung des Atmungsapparates im Rahmen der Eingangsuntersuchung wurde überprüft, ob Husten auslösbar war. Hierzu wurde mit Daumen und Mittelfinger mäßig starker Druck auf den ersten Trachealring ausgeübt. Die Lungenauskultation wurde auf beiden Thoraxseiten im kraniodorsalen, kranioventralen und kaudodorsalen Lungenbereich durchgeführt. Dabei wurde auf pathologische Atemgeräusche und Nebengeräusche geachtet. Des Weiteren wurde überprüft, ob Nasenausfluss vorhanden war und von welcher Beschaffenheit dieser war. Außerdem wurden die Atemfrequenz, der Atemtyp sowie das etwaige Vorhandensein einer Hypertrophie der schiefen Bauchmuskulatur dokumentiert. Im Anschluss erfolgte eine Hammer-Plessimeter Perkussion der Lunge. Hierbei wurde das Lungenfeld bis zur Schalldämpfung von dorsal nach ventral perkutiert und die Größe des individuellen Lungenfeldes bestimmt.

### 3.2.5 Weiterführende Untersuchungen

#### 3.2.5.1 Interpleuraldruckmessung

Die Messung des Interpleuraldruckes erfolgte indirekt mittels Ösophagusballonsonde unter Verwendung eines Venti-Graphen® (Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Ingelheim, Abb.1). Das verwendete Gerät bestand aus einem Druckwandler mit Leuchtdiodenanzeige und einem Schreibwerk, welches Druckkurven bei 2 mm oder 10 mm Papiervorschub pro Sekunde aufzeichnen konnte. Es bestand weiterhin die Möglichkeit zwischen drei verschiedenen Empfindlichkeitsstufen zu wählen, die über die Eich Taste des Gerätes festgelegt wurden. Eine Druckdifferenz von 2 cm H<sub>2</sub>O wird vom Gerät, je nach gewählter Empfindlichkeitsstufe, als Zeigerausschlag von 2,5 mm, 10 mm, oder 20 mm wiedergegeben.

Es wurde für die Messungen die Empfindlichkeitsstufe eins (Messbereich  $\leq 70$  cm H<sub>2</sub>O) gewählt, da im Rahmen der Studie auch hochgradig erkrankte Pferde untersucht werden sollten und zu erwarten war, dass deren Interpleuraldruckwerte eher in höheren Messbereichen liegen würden.



**Abb.1: Durchführung der Interpleuraldruckmessung bei einem COB-kranken Patienten.**

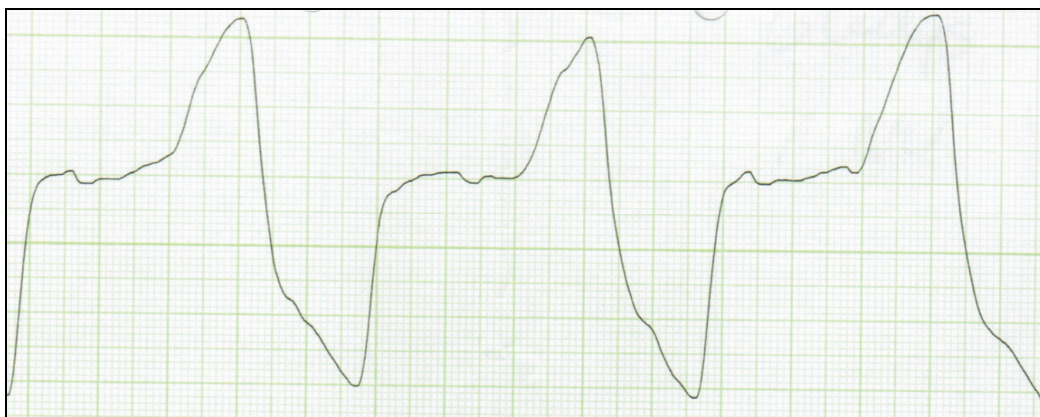
Die Länge der verwendeten Ösophagussonde beträgt 170 cm und ihr Außendurchmesser 13 mm, womit sie wesentlich dünner war als die üblicherweise zum Einsatz kommenden Nasenschlundsonden. Bei der Verwendung einer Ösophagussonde wird das Kehlkopfvolumen deshalb kaum eingengt (DEEGEN und KLEIN, 1987). Um die korrekte Lage der Sonde für die anschließende Untersuchung zu ermitteln, wurde diese zunächst im Verlauf des ventralen Nasenganges und des Ösophagus seitlich an das Pferd gehalten, so dass die Sondenspitze im Bereich der Herzbasis zu liegen kam. Nach der Bestimmung der korrekten Lage der Sonde wurde diese gleitfähig gemacht und (entsprechend der Technik beim Schieben einer Nasenschlundsonde) bis zur zuvor ermittelten Lage vorgeschoben. Nach ihrer Platzierung im Ösophagus wurde die Sonde über einen dünnlumigen Innenschlauch von 5 cm Länge mit dem Messgerät verbunden. Nach dem Anschließen der Sonde an das Gerät konnte der günstigste Druckmessbereich anhand der Leuchtdiodenanzeige (Abb. 2) ausgewählt werden.



**Abb. 2: Auswahl des günstigsten Druckmessbereiches anhand der Leuchtdiodenanzeige.**

Zur Auswertung des Interpleuraldruckes wurde dieser über zehn Minuten bei einem Papiervorschub von 2 mm pro Sekunde aufgezeichnet. Für die Festlegung des Interpleuraldruckes wurden zehn Atemzüge bei ruhiger und gleichmäßiger Atmung der Patienten unter Zuhilfenahme einer Schablone ausgewertet und anschließend der Mittelwert aus diesen Ergebnissen errechnet.

Im Anschluss wurden noch Druckkurven mit einem Papiervorschub von 10 mm pro Sekunde aufgezeichnet, um anhand dieser eine eventuell vorliegende, biphasische Expiration nachweisen zu können, die für COB-Patienten typisch ist (Abb. 3) (DEEGEN und KLEIN, 1987).



**Abb. 3: Nachweis der biphasische Expiration eines hochgradig an COB erkrankten Pferdes mittels Venti-Graphen® bei einem Papiervorschub von 10mm pro Sekunde.**

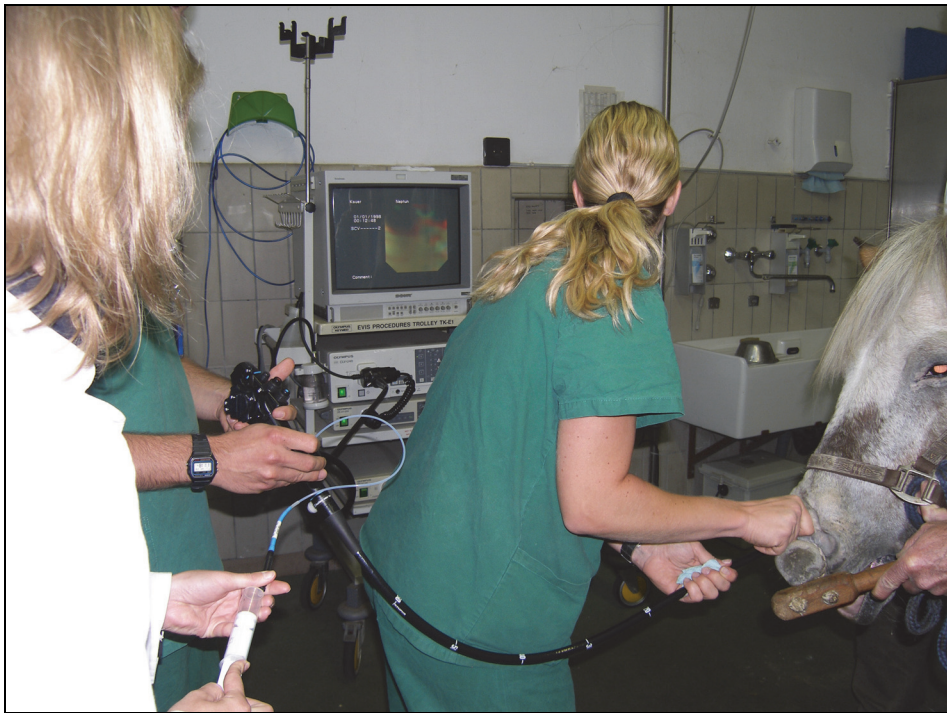
### 3.2.5.2 Arterielle Blutgasanalyse

Zur Bestimmung der arteriellen Blutgaswerte wurde mittels einer kleinumigen Kanüle (20G) Blut durch Punktion der rechtsseitigen Arteria carotis communis gewonnen. Die Punktion erfolgte hierbei circa eine handbreit proximal des Brusteinganges mit Stichrichtung auf den gegenüberliegenden Tuber coxae. Das Blut wurde blasenfrei in heparinisierte Blutröhrchen abgenommen und innerhalb von einer Minute im bereits messbereiten, mobilen Blutgasanalysegerät (IRMA TruPoint®, Blood Analysis System, Keller Medical GmbH, Bad Soden) ausgewertet.

### 3.2.5.3 Endoskopische Untersuchung

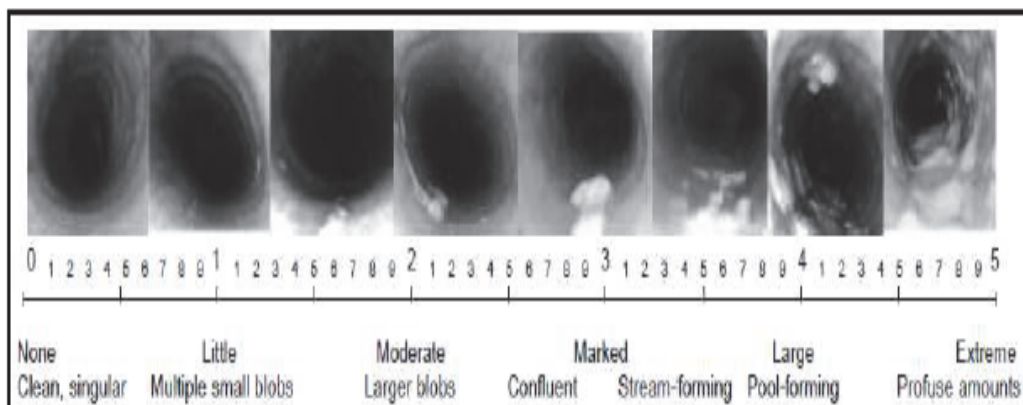
Für die endoskopische Untersuchung wurden die Patienten mittels einer i.v. Injektion von Detomidin (0,01 mg/kg) (Albrecht GmbH, Aulendorf, Deutschland) und Butorphanol (0,01mg/kg) (Fort Doge Veterinär GmbH, Würselen, Deutschland) in die Vena jugularis externa sediert. Das flexible Videoendoskop (Olympus Evis CF Typ 230 L, Olympus Europa GmbH, Hamburg, Deutschland) wurde in den ventralen Nasengang eingeführt und in die Trachea vorgeschoben. Die Entnahme von TBS erfolgte während des Vorschiebens des Endoskops über einen sterilen TBS-Katheter, um das Risiko einer Kontamination der Probe durch iatrogen in die Trachea eingebrachte Futterpartikel oder Speichel zu minimieren (Abb. 4) (MAY und GEHLEN, 2009).





**Abb. 4: Endoskopische Entnahme von TBS über den TBS-Katheter.**

Anschließend wurden die Beschaffenheit der Bifurcatio tracheae, die Menge des TBS und die Viskosität des TBS beurteilt. Die Bewertung der TBS-Befunde erfolgte immer durch denselben Untersucher und in Anlehnung an ein geringgradig modifiziertes, etabliertes Scoringssystem (Abb. 5) (GERBER et al., 2004):



**Abb. 5: TBS-Scoring anhand der Menge und der Lokalisation von Mucus im Tracheallumen (Gerber et al., 2004).**

a) Sekretmenge

0 = Kein Sekret, nur vereinzelt Sekret

1 = Kaum Sekret, mehrere kleine Sekretherde

2 = Mäßig Sekret, größere Sekretherde

3 = Deutlich Sekret, zusammenfließende Sekretherde bzw. zusammenhängende Sekretstraße

4 = Große Sekretmenge, Bildung von Sekretseen

5 = Extreme Sekretmenge, Übermäßige Ausbreitung des Sekretes

b) Sekretviskosität (modifiziert nach Gerber et al., 2004)

0 = Kein Sekret (Keine Beurteilung der Viskosität möglich)

1 = Sehr flüssig

2 = Flüssig

3 = Mittlere Konsistenz

4 = Zäh

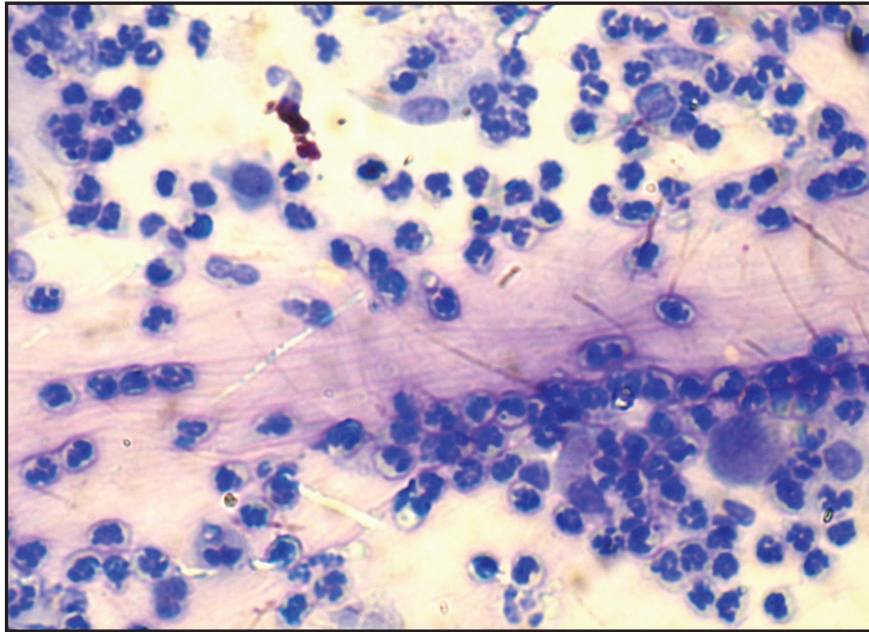
5 = Sehr zäh

Die Sekretviskosität wurde im ventralen Teil der Trachea bewertet, da Untersuchungen ergeben haben, dass die Viskosität im dorsalen Teil der Trachea zweimal höher ist als im ventralen Teil (GERBER et al., 2004).

#### 3.2.5.4 Zytologie des TBS

Das entnommene TBS wurde sofort nach Beendigung der endoskopischen Untersuchung in möglichst kleinen Portionen flammenförmig auf Objektträgern ausgestrichen und vor der Weiterverarbeitung mindestens 30 Minuten luftgetrocknet (MAY und GEHLEN, 2009). Anschließend wurden die Präparate mittels Diff-Quick® Färbung (Medion diagnostics, Dündingen, Schweiz) angefärbt und der prozentuale Anteil der neutrophilen Granulozyten an der Gesamtzellzahl des TBS ermittelt (Abb.6). Hierfür wurden durch mäanderförmiges Ablesen der Objektträger 200 Zellen bei 500-facher Vergrößerung unter Zuhilfenahme einer Ölimmersion gemustert, ausgezählt und

anschließend die Anzahl der neutrophilen Granulozyten, der Lymphozyten und der Makrophagen zueinander ins Verhältnis gesetzt (MAY und GEHLEN, 2009).



**Abb. 6: Mit Diffquickfärbung angefärbtes TBS eines mittelgradig COB-kranken Patienten.** Zu sehen sind überwiegende polymorphkernige neutrophile Granulozyten und die sich rosa anfärbenden Mucucusbestandteile (Mit freundlicher Genehmigung von Dr. med. vet. J. Klier).

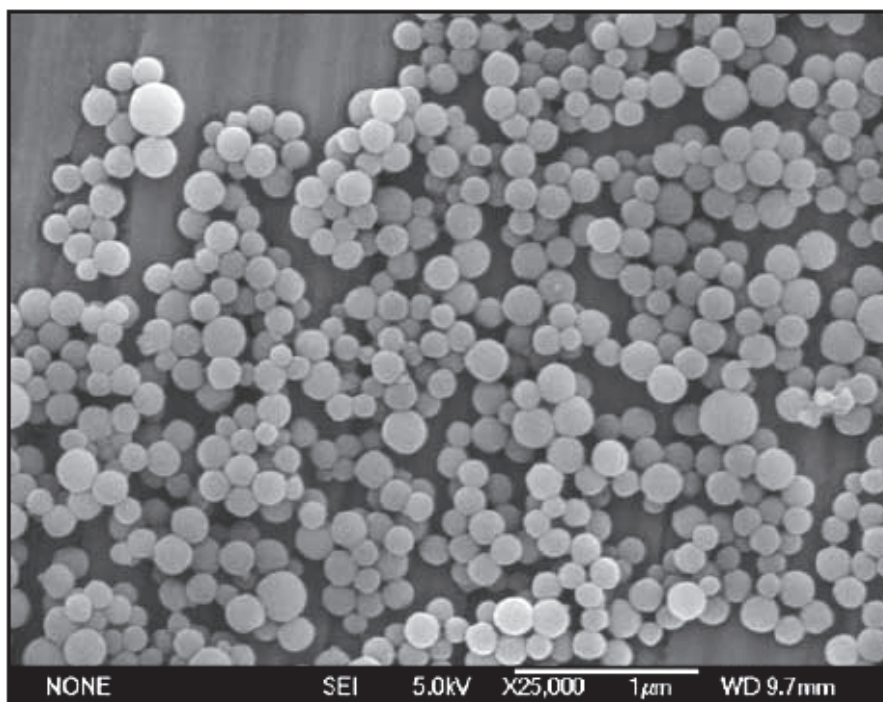
### 3.2.6 Patientenscoring und statistische Analysen

Der Schweregrad der COB-Erkrankung wurde für jeden Patienten anhand eines Scoringsystems (Anhang 9.4, S.203) festgelegt. Für die Bewertung des Schweregrades der COB-Erkrankung bei den Patienten wurden Ergebnisse der klinischen Untersuchung wie die Auslösbarkeit von Husten, das Vorhandensein von Nasenausfluss, die Atemfrequenz und der Atemtyp in Ruhe, das Vorhandensein einer „Dampfrinne“, die Auskultationsbefunde in Ruhe und die Größe des Lungenfeldes berücksichtigt. Außerdem wurden für das Scoring der Patienten die Ergebnisse der Blutgasanalyse, der Interpleuraldruckmessung, der endoskopischen Untersuchung (Beschaffenheit der Bifurcatio tracheae, Menge und Viskosität des TBS) und die Ergebnisse der TBS-Zytologie verwendet. Jedem Untersuchungsergebnis wurde hierfür ein Punktwert zugeordnet, um eine semiquantitative Auswertung dieser zum Teil nicht direkt messbaren Befunde vornehmen zu können.

### 3.2.7 Herstellung der Inhalationslösungen

#### 3.2.7.1 Herstellung der GNP

Die Herstellung der GNP (Abb.7) erfolgte entsprechend des von Coester und Mitarbeitern etablierten Herstellungsprotokolls (COESTER et al., 2000) und wurde von der technischen Assistentin Frau Alice Hirschmann und dem Pharmakologen Herrn Sebastian Ertel im Labor des Lehrstuhls von Professor Doktor Winter (Fakultät für Chemie und Pharmazie, Ludwig-Maximilians-Universität München) durchgeführt.



**Abb. 7: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme von Gelantinenanopartikeln (Mit freundlicher Genehmigung von Dr. pharm. S. Fuchs).**

Die Gewinnung der GNP erfolgte unter Verwendung von Glutaraldehyd (25%), Aceton und eines 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid (EDC) Katalysators (Sigma, Taufkirchen, Deutschland). Der pH-Wert der Dispersion (2 mg/ml) wurde mit 60 mg Cholamin und 72 mg EDC auf 4,7 eingestellt. Es folgte eine Inkubation der Dispersion bei Raumtemperatur unter konstantem Schütteln (500/Minute) für die Dauer von 30 Minuten. Im Anschluss wurden die Partikel zweimal mit 18000g zentrifugiert und unter sterilen Bedingungen gefiltert. Zuletzt wurde die Konzentration der Partikel mit der Mettler Toledo UMX2 Mikrowaage (Mettler, Greifensee, Schweiz) gravimetrisch bestimmt.

### 3.2.7.2 Herstellung der CpG-ODN/GNP-Inhalationslösung

Die Herstellung der Inhalationslösung erfolgte unter sterilen Kautelen unter dem Abzug einer sterilen Werkbank (Hepa, Kiel, Deutschland) im Labor der medizinischen Kleintierklinik der LMU München. Aufgrund der vielversprechenden Ergebnisse von *in vitro* Versuchen und ersten *in vivo* Anwendungen beim Pferd (KLIER et al., 2012), wurde die einzelsträngige A-Klasse 2216 CpG-ODN verwendet, die von der Firma Biomers GmbH (Ulm, Deutschland) bezogen wurde. Die gelieferten ODN lagen als Lyophilisat vor und wurden mit „Highly Purified Water“ (HPW) auf eine Arbeitskonzentration von 1 mg/ml verdünnt und anschließend bei -80° Celsius gelagert. Für die inhalative Verabreichung wurde pro Inhalation 0,18 mg CpG-ODN verwendet, die an 3,75 mg GNP gebunden und in 2,5 ml HPW gelöst waren. Die fertige Dispersion wies eine Konzentration von 1,5 mg/ml GNP und 0,075 mg/ml CpG-ODN auf. Somit war das Ziel einer 5 % Beladungskonzentration erreicht, welche in Bezug auf die Aufrechterhaltung der kolloidalen Stabilität als optimal angesehen wird (ZWIOREK et al., 2008). Der Ansatz wurde anschließend für 30 Minuten bei 22° Celsius und einer Umdrehungszahl von 300/Minute im Thermomixer (Eppendorf, Hamburg, Deutschland) inkubiert.

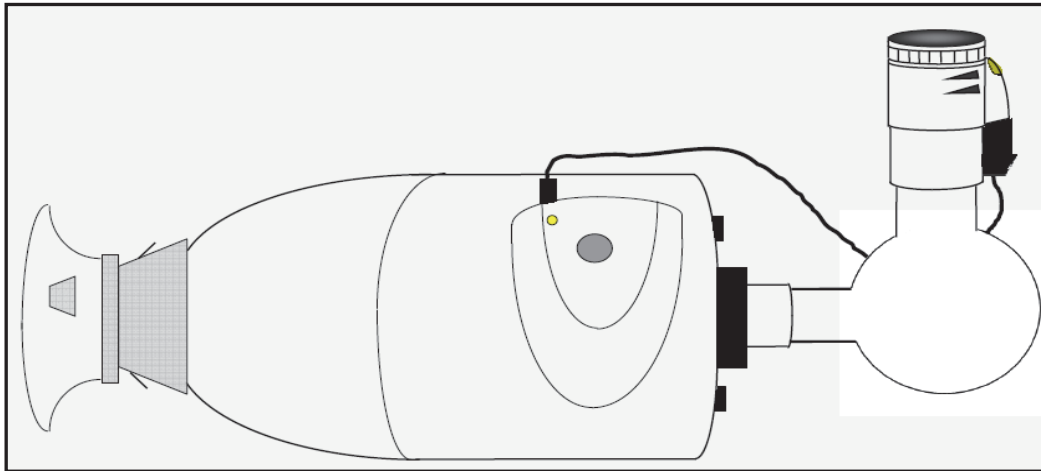
### 3.2.7.3 Herstellung der Placebo-Inhalationslösung

Bei den Pferden, die durch Losverfahren der Placebogruppe zugeteilt worden waren, wurde als Inhalationslösung ausschließlich HPW und GNP verwendet. Der bei den Patienten der Verumgruppe verwendete Anteil von 0,18mg CpG-ODN pro Inhalat wurde bei der Herstellung der Inhalationslösung für die Anwendung innerhalb der Placebogruppe vollständig durch HPW ersetzt.

### 3.2.8 Inhalationsprotokoll

Die Inhalationstherapie bei den Patienten erfolgte unter Verwendung eines patentierten Inhalationssystems (Patentnummer: EP 10002266), bestehend aus dem „Equine Haler“ (Equine Health Care Aps, Hoersholm, Dänemark) und dem

„AeroNeb Go Mash Vibrator“ (Aerogen, Galway, Irland) (Abb. 8).



**Abb. 8: Patentiertes Inhalationssystem (Patentnummer: EP 10002266), welches aus dem „Equine Haler“ und dem „AeroNeb Go Mash Vibrator“ besteht, die über einen zweihalsigen Rundkolben im 90° Winkel miteinander verbunden sind. (Mit freundlicher Genehmigung von Dr. J. Klier).**

Da das Inhalationssystem batteriebetrieben arbeitete, konnte die Inhalationsbehandlung an jedem beliebigen Ort (Box, Stallgasse, Koppel) durchgeführt werden. Es wurden pro Patient insgesamt fünf Inhalationsbehandlungen (Tag 1,3,5,7 und 9) mit jeweils einem Tag Pause zwischen den Behandlungen durchgeführt. Die Dauer der Inhalationsbehandlung war abhängig von der individuellen Atemfrequenz und Atemtiefe der Pferde. Es kam als Inhalat entweder die CpG-ODN/GNP-Inhalationslösung (Verumgruppe, n=16) oder die Lösung, die nur GNP und HPW enthielt (Placebogruppe, n=8), zum Einsatz.

### 3.2.9 Nachuntersuchungsprotokoll

Bei den beiden Nachuntersuchungen wurden die Untersuchungen im selben Umfang durchgeführt wie bei der Erstuntersuchung geschildert.

Die erste Nachuntersuchung (NU I) erfolgte einen Tag (Tag 10), die zweite Nachuntersuchung (NU II) 28 Tage nach der letztmaligen Inhalationsbehandlung. Da die Höhe des Atemwegswiderstandes bei COB-kranken Pferden einer

circadianen Rhythmik unterliegt (STADLER und DEEGEN, 1986) wurde darauf geachtet, dass die Nachuntersuchungen immer zur selben Uhrzeit durchgeführt wurden wie die Erstuntersuchung.

### *3.2.10 Monitoring der Patienten während der Inhalationstherapie*

#### *3.2.10.1 Klinische Allgemeinuntersuchung und Temperaturkontrolle*

Vor jeder Inhalationsbehandlung erfolgten eine klinische Allgemeinuntersuchung und eine Temperaturkontrolle. An den Tagen zwischen den Inhalationsbehandlungen wurde die Körpertemperatur (Anhang 9.8, S.215) von den Pferdebesitzern gemessen. Die Pferdebesitzer waren zuvor über die physiologischen Körpertemperaturwerte beim Pferd aufgeklärt und angewiesen worden, bei von der Norm abweichenden Werten umgehend mit der Klinik Kontakt aufzunehmen.

#### *3.2.10.2 Leukozyten und Fibrinogenmessung*

Die Leukozytenzahl und die Fibrinogenwerte wurden neben der Eingangsuntersuchung, im Rahmen der dritten Inhalationsbehandlung (Tag 5) und bei beiden Nachuntersuchungen bestimmt. Dadurch sollte während und direkt im Anschluss an die Inhalationstherapie eine zeitnahe Erkennung möglicher systemischer Reaktionen gewährleistet werden. Fibrinogen gilt als ein unspezifischer Entzündungsmarker, der beim Pferd im Rahmen eines entzündlichen Geschehens bereits innerhalb der ersten 48 Stunden um das zwei- bis dreifache ansteigt (MILLS et al., 1997). Die Auswertung der bei der zweiten Nachuntersuchung gewonnenen Blutproben sollte zeigen, dass die Inhalation der Cpg-ODN/GNP Lösung auch in Bezug auf die Langzeitwirkung des Präparates keine negativen Auswirkungen auf das Immunsystem der Patienten hat. Zur Bestimmung des Leukozyten- und des Fibrinogenwertes wurde EDTA- bzw. Citrat-Blut mit Monovetten (Firma Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) entnommen. Das Citratblut wurde vor Ort bei 3000g über zehn Minuten abzentrifugiert (Hesta EBA 20 Zentrifuge, Andreas Hettich GmbH & Co.KG,

Tuttlingen, Deutschland) und eingefroren.

### 3.2.10.3 Studienabbruchskriterien

Als Hauptkriterien für einen Studienabbruch wurden ein Ansteigen der Körpertemperatur, jegliche Blutbildveränderungen, eine Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens oder das Auftreten einer akuten Exazerbation festgelegt. Darüber hinaus wurde ein modifiziertes Schema ("Common terminology criteria for adverse events (VCOG-CTCAE) following chemotherapy or biological antineoplastic therapy in dogs and cats v1. (Anhang 9.6, S.207) der Veterinary cooperative oncology group verwendet (KLIER, 2011).

### 3.2.11 Statistische Analysen

#### 3.2.11.1 Ermittelte Durchschnittswerte für die Studienpopulation der praktischen Studie

Neben den für das Patientenscoring verwendeten Parametern wurden noch das durchschnittliche Alter, Geschlecht, Gewicht und die Größe der Patienten statistisch ausgewertet.

#### 3.2.11.2 Verwendung von relativen Einheiten für die statistische Auswertung

Für die statistische Auswertung derjenigen Parameter, die *nicht direkt messbar* waren, erfolgte eine Auswertung in relativen Einheiten (RU).

Für die Auswertung des gezeigten Atemtyps wurden vier relative Einheiten verwendet. Die Bewertungsskala reichte von 0 RU = "physiologischer, costoabdominaler Atemtyp" bis 4 RU = "hochgradig abdominal verstärkter Atemtyp".

Der gezeigte Nasenausfluss wurde in RU von 0 - 2 bewertet, wobei 0 RU = "kein Nasenausfluss" und 2 RU = "hochgradiger Nasenausfluss" entsprach.



Die Auskultationsbefunde wurden ebenfalls in RU ausgewertet, wobei ein physiologischer Befund dem Wert 0 entsprach und eine akute Exazerbation dem Wert 5.

Auch die Auswertung der endoskopisch festgestellten Sekretmengen erfolgte in RU, in Anlehnung an ein etabliertes Befundschema (GERBER et al., 2004) von 0 - 5, wobei 0 RU = „kein Sekret/nur vereinzelt Sekret“ und 5 RU = „extreme Sekretmenge“ entsprach.

Die Bewertung der Sekretviskosität erfolgte ebenfalls, leicht modifiziert, in Anlehnung an ein etabliertes Scoringsystem (GERBER et al., 2004), in RU von 0 - 5. Hierbei entsprach 0 RU=„kein Sekret, keine Viskosität beurteilbar“ und 5 RU=„sehr zäh“.

Bei der Beurteilung der Bifurcatio tracheae wurden 3 RU verwendet. Hierbei entsprach 0 RU = „physiologisches Aussehen“ und 3 RU = „hochgradig verbreiterte Bifurcatio tracheae“.

Es handelte sich in diesen Fällen (Atemtyp, Nasenausfluss, Sekretmenge, Sekretviskosität und Beurteilung der Bifurcatio tracheae) um subjektive Bewertungen, die durch die Verwendung von Scoringsystemen möglichst objektiv getroffen wurden.

### 3.2.11.3 Durchgeführte statistische Analysen

Die Messreihen der gegenübergestellten Gruppen wurden anhand des gepaarten t-Test durchgeführt. Alle statistischen Analysen wurden mit Hilfe der „Prism Graph Software“ (Version 5.0, GraphPad software Inc., La Jolla, USA) erstellt.  $P < 0,05$  wurde als statistisch signifikant festgesetzt, graphisch dargestellt anhand eines \*,  $P < 0,01$  wurde als statistisch sehr signifikant definiert, graphisch dargestellt als \*\* und  $P < 0,001$  wurde als statistisch hochsignifikant bestimmt, graphisch dargestellt als \*\*\*. Für alle in der praktischen Studie ermittelten Ergebnisse wurden der durchschnittlicher Mittelwert  $\pm$  die Standardabweichung (S.D.) errechnet. Des Weiteren wurden die erhobenen Daten auf Normalverteilung überprüft.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 ERGEBNISSE DER FRAGEBOGENSTUDIE

#### 4.1.1 *Resonanz auf die Fragebogenaktion*

Innerhalb des Studienzeitraumes wurden 266 Fragebögen vollständig beantwortet. Hierbei wünschten lediglich vier Pferdebesitzer eine Bearbeitung des Fragebogens in Papierform.

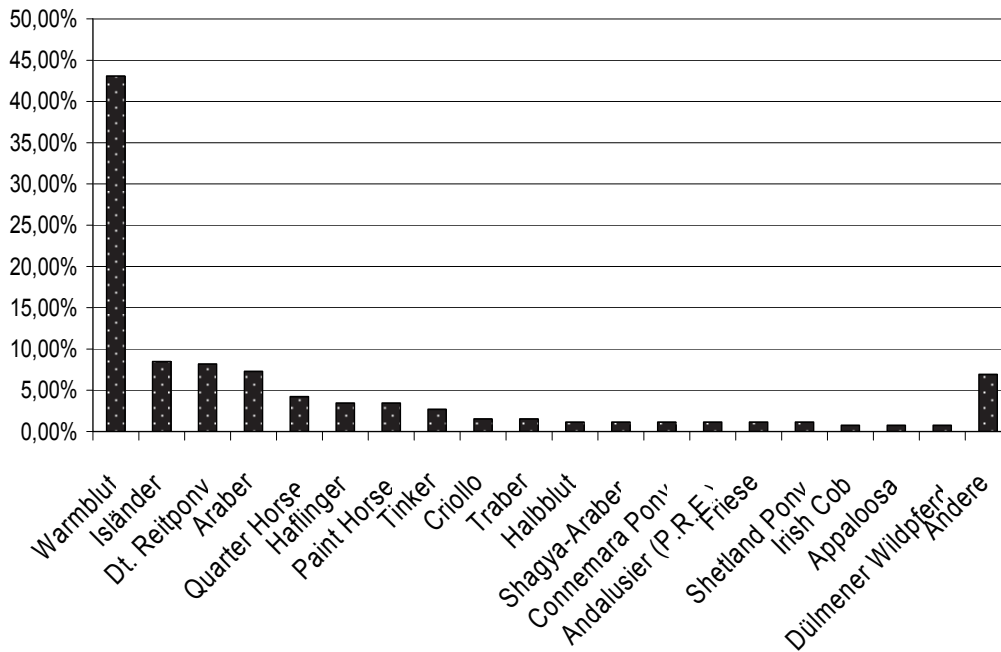
#### 4.1.2 *Allgemeine Angaben zum Pferd*

##### 4.1.2.1 Durchschnittliches Alter und Rasseverteilung der Studienpopulation der Umfrage

Das ermittelte Durchschnittsalter der 266 Patienten betrug 15,8 (SD  $\pm$  5,38) Jahre, wobei der jüngste Patient der Umfrage vier Jahre und der älteste Patient 28 Jahre alt waren.

Es wurde bei 260 der 266 Fragebögen die Rasse des Pferdes angegeben: Der Großteil waren mit 43,08% Warmblüter, gefolgt von 8,46% Isländer, 8,20% deutsche Reitponies, 7,30% Araber, 4,23% Quarter Horses, 3,46% Haflinger, 2,70% Tinker, 1,53% Criollos und 1,53% Traber (Abb. 9). Jeweils mit 1,15% waren die Rassen Halbblut, Shagya-Araber, Conemara-Pony, Andalusier und Friese vertreten, sowie mit jeweils 0,77% (zwei Pferden) die Rassen Irish Cob, Appaloosa und Dülmener Wildpferd (Abb. 9). Zur Gruppe „Andere“ wurden mit jeweils einem Vertreter die Rassen Fjord Pferd, Carmague Pferd, Lusitano, Selle Francaise, New Forrest Pony, Welsh-Partbred, Toripferd, Budjonny, Cruzado Portugues, Dartmoor Pony, Gelderländer, Kaltblut, Merens Pferd, Irish Sport Horse und Catujano zusammengefasst (Abb. 9).

### Rasseverteilung

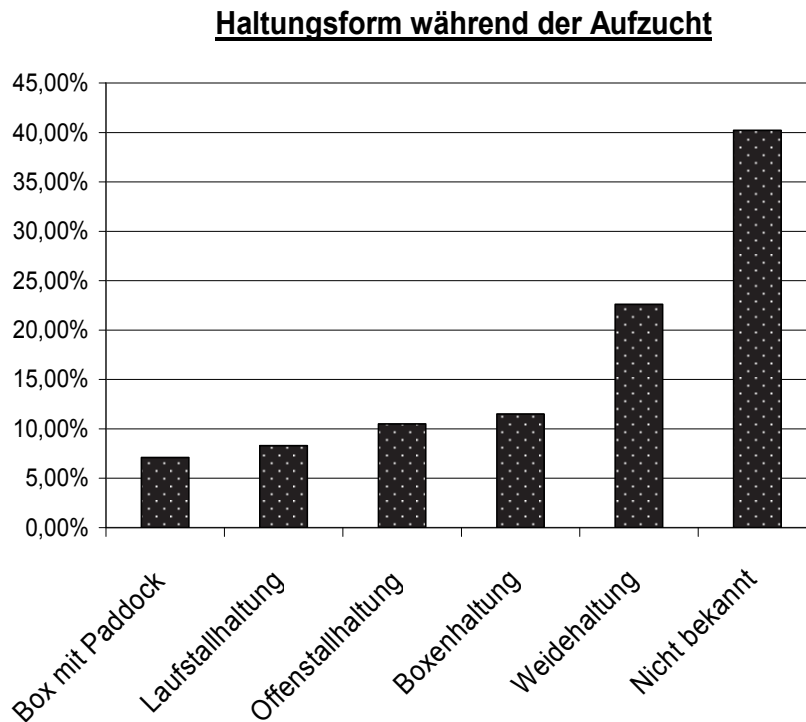


**Abb. 9: Prozentualer Anteil verschiedener Pferderassen an der Studienpopulation der Umfrage.**

Die Geschlechterverteilung innerhalb des Patientengutes der Fragebogenstudie belief sich auf drei Hengste, 108 Stuten und 153 Wallache. Bei zwei Pferden machten die Pferdebesitzer keine Angaben zum Geschlecht ihres Pferdes.

#### 4.1.2.2 Haltungsformen während der Aufzucht

Sofern den Pferdebesitzern die Haltungsform ihres Pferdes bekannt war, wurde als dominierende Haltungsform während der Aufzucht in 22,6% der Fälle eine reine Weidehaltung angegeben. Als zweithäufigste Haltungsform wurde mit 11,5% die Boxenhaltung genannt, gefolgt von der Offenstallhaltung (10,5%), der Laufstallhaltung (8,3%) und der Haltung in einer Paddockbox (7,1%) (Abb. 10). Jedoch war in rund 40% der Fälle (40,2%) den Pferdebesitzern die Haltungsform ihres Pferdes während der Aufzucht unbekannt (Abb. 10).



**Abb. 10: Hauptsächliche Haltungsform der Pferde während der Aufzucht.**

#### 4.1.2.3 Impfreime vor Auftreten der Erkrankung

Laut Angabe der Pferdebesitzer, denen der Impfstatus ihres Pferdes vor Auftreten der Erkrankung bekannt war, bestand bei 39,8% der Pferde ein Impfschutz gegen das equine Herpesvirus und bei 48,7% ein Impfschutz gegen das equine Influenzavirus mit halbjährlichen Wiederholungsimpfungen. In einem Impfintervall von 12 Monaten wurden 25,6% der Pferde gegen das equine Influenzavirus geimpft.

In unregelmäßigeren Abständen wurden 11,8% der Pferde gegen das equine Herpesvirus und 7,6% der Pferde gegen das equine Influenzavirus immunisiert. Bei 48% der Pferde waren keine Impfungen gegen das equine Herpesvirus und bei 17,6% der Pferde keine Impfungen gegen das equine Influenzavirus durchgeführt worden.

#### 4.1.2.4 Impfregime nach Auftreten der Erkrankung

Nach Auftreten der Erkrankung ließen 35,6% der Pferdebesitzer keine Impfungen gegen das equine Influenza- und Herpesvirus mehr bei ihren Pferden durchführen. Bei 32% der Pferde wurden auch weiterhin Schutzimpfungen gegen beide Viruserkrankungen durchgeführt.

Eine alleinige Impfung gegen das Influenzavirus wurde bei 30,8% der Pferde und eine alleinige Impfung gegen das equine Herpesvirus wurde bei zwei Pferden (0,8%) weiterhin durchgeführt.

#### 4.1.2.5 Exazerbation durch Impfungen

Bei der Frage nach einem Zusammenhang zwischen der Durchführung von Schutzimpfungen (gegen das equine Herpes- und Influenzavirus) und dem Auftreten von klinischen Krankheitssymptomen machten 12,8% der Pferdebesitzer keine Angaben, in 22,6% der Fälle ließ sich ein derartiger Zusammenhang herstellen und in 64,7% der Fälle verneinten die Pferdebesitzer einen derartigen Zusammenhang.

#### 4.1.2.6 Entwurmungsregime

Die Frage nach der Art und der Häufigkeit der Durchführung von antiparasitären Behandlungen zeigte, dass 79,4% der Pferde jeweils im Abstand von drei Monaten, 18,7% jeweils im Abstand von sechs Monaten und 5 Pferde (1,9%) überhaupt nicht entwurmt wurden.

#### 4.1.2.7 Familiäre Häufung der COB-Erkrankung

In Bezug auf die Fragestellung der familiären Häufung der COB-Erkrankung erbrachte die Besitzerbefragung das Ergebnis, dass in 81,2% der Fälle die Pferdebesitzer keinerlei Kenntnis über Erkrankungsfälle in der Familie ihres Pferdes besaßen. Sofern derart detaillierte Kenntnisse zur Abstammung des Pferdes vorhanden waren, war in 10% der Fälle mehr als ein Geschwistertier, in 36% der Fälle ein Elterntier und in 54% der Fälle kein verwandtes Tier betroffen.

#### 4.1.2.8 Dauer und Art der Bewegungsmöglichkeiten des Pferdes

Der mediane Wert in Bezug auf die Bewegungsmöglichkeiten der Pferde belief sich im Frühjahr, Sommer und Herbst auf eine Stunde unter dem Reiter und zwölf Stunden freie Bewegungsmöglichkeiten (Weide, Paddock). Während der Wintermonate wurden die Pferde median eine Stunde unter dem Reiter bewegt und hatten acht Stunden die Möglichkeit zur freien Bewegung (Weide, Paddock). Betrachtet man die Minimal- und Maximalwerte, so variiert die Bewegung unter dem Reiter in Frühjahr, Sommer und Herbst zwischen einer halben Stunde und der Dauer von insgesamt vier Stunden. Für die Wintermonate wurden Werte von minimal einer halben Stunde und maximal drei Stunden Bewegung unter dem Reiter angegeben.

In Bezug auf die freien Bewegungsmöglichkeiten variieren die angegebenen Werte im Sommer zwischen der minimalen Dauer von einer Stunde bis hin zur maximalen Dauer von 24 Stunden. Im Winter variiert das Angebot zur freien Bewegung zwischen null und 24 Stunden.

Nur in 9,4% der Fälle wurde die Möglichkeit in Anspruch genommen, die Pferde mittels einer Führanlage zu bewegen.

#### 4.1.3 *Erstmaliges Auftreten von chronisch obstruktiver Bronchitis*

In dieser Fragenrubrik wurden Fragen zum erstmaligen Auftreten der Krankheit gestellt und die Pferdebesitzer gebeten, die Antwortoption „Nicht bekannt“ zu wählen, sofern sie ihr Pferde mit einer bereits bestehenden Lungenerkrankung erworben haben.

##### 4.1.3.1 Alter beim erstmaligen Auftreten der COB-Erkrankung

Für das Alter beim erstmaligen Auftreten von Krankheitssymptomen ergab sich ein Mittelwert von 10,10 (SE = 0,297) Jahren.

#### 4.1.3.2 Nutzungseinschränkung beim erstmaligen Auftreten der COB-Erkrankung

Für die Dauer der Nutzungseinschränkung ergab sich ein Mittelwert von 10,58 Wochen (SE = 1,150).

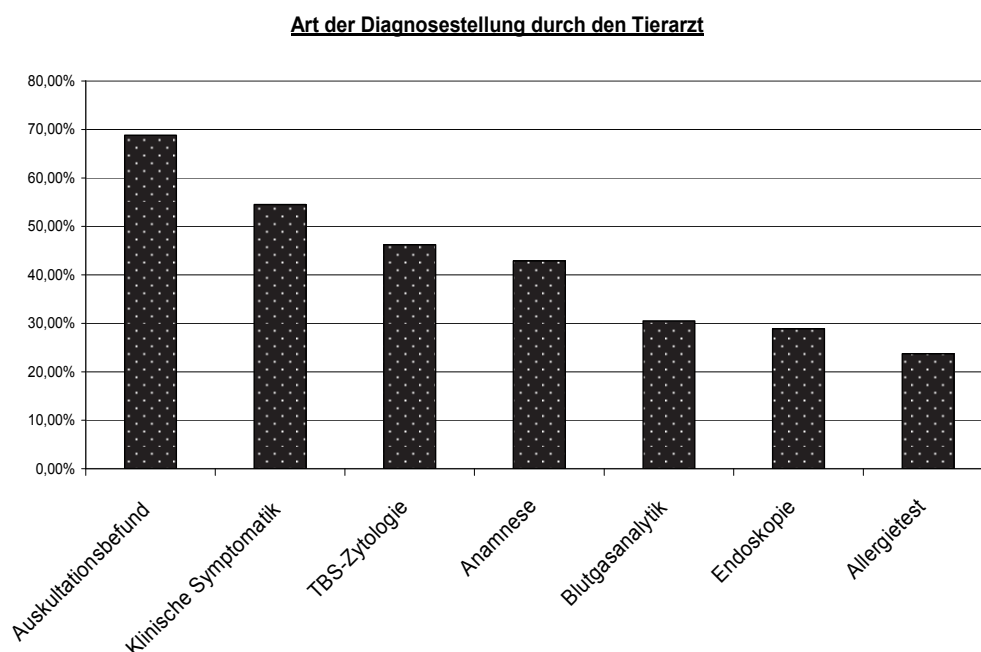
#### 4.1.3.3 Dauer des Hustens beim erstmaligen Auftreten

Zur Dauer des Hustens machten 63,2% der Pferdebesitzer Angaben. Die Pferde litten hiernach beim erstmaligen Auftreten der Krankheit im Durchschnitt über eine Dauer von 7,38 (SE = 0,582) Wochen unter Husten.

#### 4.1.3.4 Vorliegen einer Infektionskrankheit

Beim erstmaligen Auftreten der Krankheit zeigten nur 15,5% der Pferde eine Fiebersymptomatik, 67,4% zeigten kein Fieber und in 17,1% der Fälle konnten die Pferdebesitzer hierzu keinerlei Angaben machen.

#### 4.1.3.5 Art der Diagnosestellung durch den Tierarzt



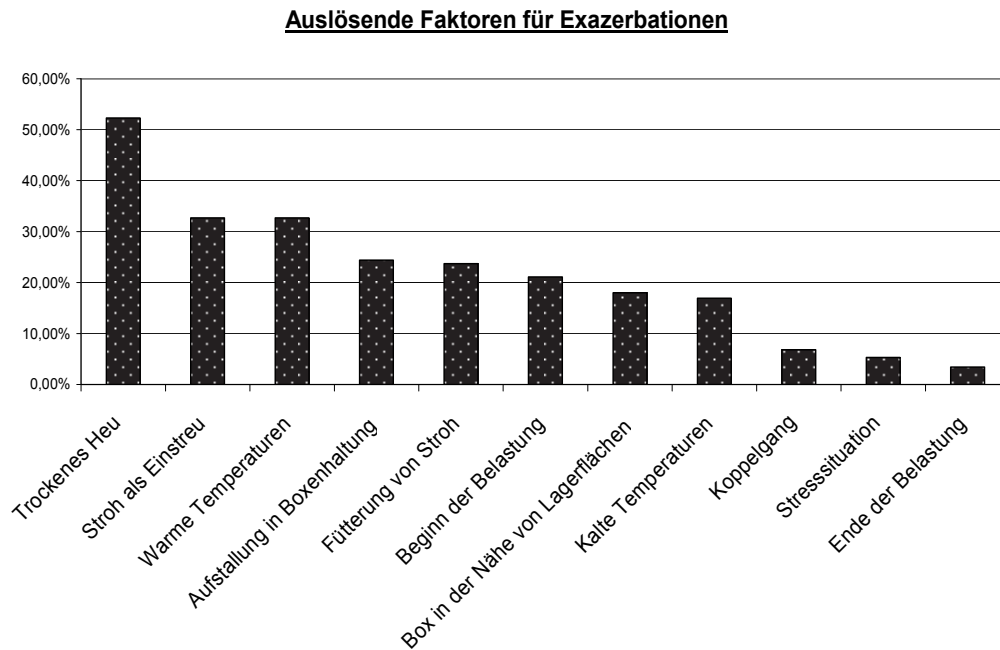
**Abb. 11: Häufigkeit der Durchführung unterschiedlicher diagnostischer Verfahren.**

Am häufigsten wurden von den untersuchenden Tierärzten für die Diagnosestellung der COB-Erkrankung der Auskultationsbefund (68,8%) und die klinischen Symptomatik (54,5%) zugrunde gelegt (Abb. 11). Darüber hinaus wurden das Ergebnis der zytologischen Untersuchung von Tracheobronchialsekret (46,2%) und die Befunde der Anamneseerhebung (42,9%) berücksichtigt (Abb. 11). Eine Analyse der Blutgaswerte wurde in 30,5% der Fälle, eine alleinige endoskopische Untersuchung in 28,9% der Fälle und ein Allergietest in 23,7% der Fälle durchgeführt (Abb. 11).

#### 4.1.3.6 Auslösende Faktoren für Exazerbationen

Bei der Fragestellung, wodurch eine Verschlimmerung der Krankheitssymptome bei den betroffenen Pferden ausgelöst wurde, wurde von den Pferdebesitzern am häufigsten die Fütterung trockenen Heus (52,3%) genannt (Abb.12). Als weitere Auslöser wurden mit abnehmender Häufigkeit die Verwendung von Stroh als Einstreu (32,7%), warme Temperaturen (32,7%), die Aufstallung der Pferde in Boxenhaltung (24,4%), die Fütterung von Stroh (23,7%), der Beginn der Belastung der Pferde (21,1%), eine Unterbringung in der Nähe des Heu- bzw. Strohlagers (18,0%) und kalte Temperaturen (16,9%) genannt. Seltener trat eine Verschlechterung der Krankheitssymptome im Zusammenhang mit Koppelgang (6,8%), einer Turnierteilnahme und anderen Stresssituationen (5,3%) oder am Ende der Belastung der Pferde (3,4%) auf (Abb.12).





**Abb. 12: Prozentualer Anteil unterschiedlicher Faktoren, bei der Auslösung von Krankheitsexazerbationen.**

#### 4.1.3.7 Art der Therapie durch den Haustierarzt

Am häufigsten wurde zur Therapie der COB-Erkrankung von den Tierärzten ein Schleimlöser verschrieben (75,6%), gefolgt von der Therapie mit  $\beta_2$ -Sympatomimetika (62,0%) oder der Verwendung eines Kombinationspräparates aus Schleimlöser und  $\beta_2$ -Sympatomimetikum (48,9%). In 47% der Fälle wurde eine Inhalationstherapie durchgeführt. Des Weiteren wurden steroidalen Antiphlogistika als systemische Therapie angewendet, entweder in Form einer Injektionsbehandlung (44,4%) oder mittels oraler Verabreichung in Tablettenform (24,4%).

#### 4.1.3.8 Auftreten unerwünschter Nebenwirkungen

Es gaben 64,3% der Pferdebesitzer an, dass im Rahmen der COB-Therapie keine Nebenwirkungen bei ihren Pferden aufgetreten sind.

Bei 19,9% der Pferde konnte das Auftreten unerwünschter Nebenwirkungen beobachtet werden und ein Pferdebesitzer (0,4%) gab an, dass ihm über das Auftreten von Nebenwirkungen nichts bekannt sei.

Sofern unerwünschte Nebenwirkungen aufgetreten sind, handelte es sich am häufigsten um vermehrtes Schwitzen (24,4%) und eine Verminderung der Leistungsfähigkeit bzw. ein vermehrtes Vorkommen von Müdigkeit (17,1%). Vermehrtes Schwitzen in Kombination mit Muskelzittern kam bei 12,2% der betroffenen Pferde vor. Genauso häufig (12,2%) wurde eine Verschlechterung des Hautbildes bzw. der Fellqualität beobachtet. Das Auftreten von Koliksymptomen und Rehesymptomatik wurde bei 9,8% der betroffenen Pferde beschrieben. Außerdem kam es laut den Angaben der Pferdebesitzer im Rahmen der Therapie zu Appetitlosigkeit (7,3%) und wildem Verhalten (4,9%) auf. Bei einem Pferd (2,4%) wurde Urtikaria beobachtet.

#### 4.1.3.9 Zufriedenheit der Pferdebesitzer mit der tierärztlichen Betreuung

Es fühlten sich 63,5% der Pferdebesitzer gut betreut durch ihren Tierarzt, 22,2 % waren unzufrieden mit der Betreuung und 14,3% der Pferdebesitzer machten hierzu keinerlei Angaben. Sofern von den Pferdebesitzern Gründe für ihre Unzufriedenheit genannt wurden, waren dies mit abnehmender Häufigkeit das Ausbleiben eines Therapieerfolges (56,4%), eine schlechte Beratung oder ungenügend durchgeführte Diagnostik (25,6%) und die Stellung von Fehldiagnosen (17,9%).

#### 4.1.4 Management der COB-Patienten

Innerhalb des dritten Abschnittes des Fragebogens beantworteten die Pferdebesitzer Fragen zum Handlungsmanagement, zur Häufigkeit von Krankheitsrückfällen und zur Höhe der entstandenen Behandlungskosten.

##### 4.1.4.1 Veränderungen der Haltungsbedingungen nach Diagnosestellung

In Bezug auf die Fütterung wurden 75,2% der Pferde nach Diagnosestellung auf die Fütterung von nassem Heu und 30,5% auf die Fütterung von Silage umgestellt. In 53% der Fälle erfolgte eine Umstellung der verwendeten Einstreu auf die alleinige Verwendung von Sägespänen.

Auf ein Verbringen der Pferde ins Freie während der Kernzeiten im Stall (Ausmisten, Füttern, Reitbetrieb) wurde in 30,5% der Fälle geachtet.

In Bezug auf die Art der Unterbringung wählten die Pferdebesitzer nach Auftreten der COB-Erkrankung in 23,3% der Fälle als Haltungsform eine Außenbox, in 22,2% der Fälle als Haltungsform eine Paddockbox, in 21,4% der Fälle als Haltungsform die Offenstallhaltung und in 22,2% der Fälle die Weidehaltung.

#### 4.1.4.2 Beibehaltung der Haltungsoptimierung

Etwas mehr als die Hälfte der Pferdebesitzer (53,4%) gaben an, dass die Maßnahmen zur Haltungsoptimierung bei Ihren Pferden ununterbrochen bis zum heutigen Zeitpunkt beibehalten wurden. In 14,7% der Fälle wurden nur bestimmte Maßnahmen und in 13,9% der Fälle alle Maßnahmen, diese dafür aber diskontinuierlich, beibehalten. In 5,3% der Fälle wurden die haltungsverbessernden Maßnahmen über Monate, in 3,8% der Fälle über Jahre, in 3,4% der Fälle über Wochen und in 1,5% der Fälle bis zum Abklingen der Krankheitssymptome durchgeführt.

#### 4.1.4.3 Exazerbationen zu bestimmten Jahreszeiten

Bei der Frage, zu welcher Jahreszeit es am häufigsten zu Exazerbationen der COB-Erkrankung kommt, gaben die Pferdebesitzer in 65% der Fälle das Frühjahr, in 43,2% der Fälle den Sommer, in 40,6% der Fälle den Winter und am seltensten den Herbst (36,5%) an.

#### 4.1.4.4 Anzahl und Häufigkeit von Krankheitsrückfällen

Im Durchschnitt erlitten die Pferde rund fünf (5,13, SE=0,452) Rückfälle seit Beginn der COB-Erkrankung, wobei die größte Anzahl an ermittelten Krankheitsrückfällen bei 54 lag. Die durchschnittliche Zeitdauer zwischen diesen Rückfällen betrug rund acht Monate (8,31, SE=0,719).

#### 4.1.4.5 Höhe der entstandenen Mehrkosten

Die entstandenen Mehrkosten für die veränderte Haltung und Therapie der Pferde im Rahmen einer COB-Erkrankung beliefen sich laut Angaben der betroffenen Pferdebesitzer im Durchschnitt auf jährlich 856,71€ (SE = 65,915). Der große Standardfehler des errechneten Mittelwertes beruht auf der Tatsache, dass einigen Pferdebesitzern keinerlei Kosten aufgrund der COB-Erkrankung ihres Pferdes entstanden sind, andere hingegen bis zu 7000€ (Maximalwert) jährlich für eine veränderte Haltung und Therapie ihres Pferdes investiert haben.

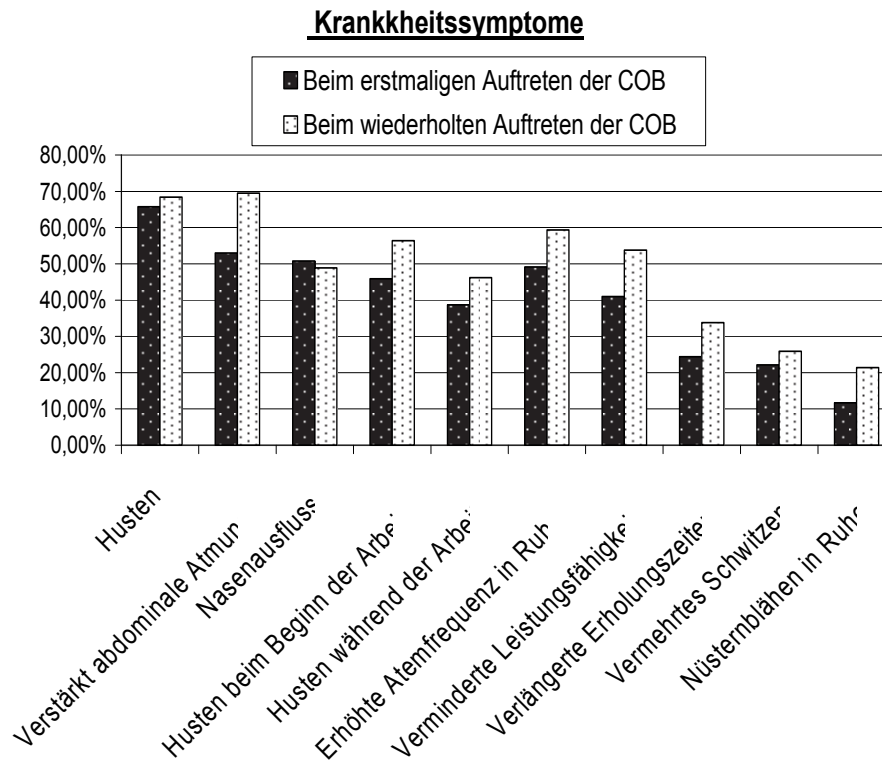
#### 4.1.5 Verlauf der COB-Erkrankung

Im Rahmen des vierten Abschnittes des Fragebogens wurde geklärt, ob sich die von den Pferden gezeigten Krankheitssymptome im Verlauf der Krankheit verändert haben, welche therapeutischen Maßnahmen nach Ansicht der Pferdebesitzer am wirkungsvollsten waren, ob die Pferde unter Dauermedikation stehen, wie der Krankheitsverlauf in seiner Gesamtheit von den Pferdebesitzern beurteilt wird und ob eine Euthanasie des Pferdes aufgrund der COB-Erkrankung notwendig wurde.

##### 4.1.5.1 Krankheitssymptome beim erstmaligen Auftreten der COB-Erkrankung und im Rahmen von Exazerbationen

Die gezeigten Krankheitssymptome beim erstmaligen Auftreten der COB-Erkrankung unterschieden sich in der Häufigkeit ihres Vorkommens von den gezeigten Krankheitssymptomen im Rahmen von Exazerbationen (Abb. 13).

Gemäß den Angaben der Pferdebesitzer zeigten die Pferde beim erstmaligen Auftreten der Krankheit als häufigstes Symptom Husten in Ruhe (65,8%), vermehrte Bauchatmung (53%) und Nasenausfluss (50,8%). Husten zu Beginn des Reitens konnte bei 45,9% der Pferde und während des Reitens bei 38,7% der Pferde festgestellt werden. Eine Erhöhung der Atemfrequenz in Ruhe zeigten 49,2% der Pferde und eine verminderte Leistungsbereitschaft 41% der Pferde. Seltener trat eine verlängerte Erholungszeit (24,4%), vermehrtes Schwitzen (22,2%) und Nüsternblähen in Ruhe (11,7%) auf (Abb. 13).



**Abb. 13: Vergleich der gezeigten Krankheitssymptome beim erstmaligen Auftreten der COB-Erkrankung mit den gezeigten Krankheitssymptomen im Rahmen von Exazerbationen.**

In 6% der Fälle sahen sich die Pferdebesitzer nicht in der Lage Angaben zu den Krankheitssymptomen beim ersten Krankheitsschub machen, obwohl sie zu diesem Zeitpunkt bereits im Besitz des betroffenen Pferdes waren.

Im Rahmen von COB-Exazerbationen zeigten die Pferde als häufigstes Krankheitssymptom in 69,5% der Fälle eine verstärkt abdominale Atmung sowie Husten (68,4%), eine Erhöhung der Atemfrequenz in Ruhe (59,4%) und eine verminderte Leistungsfähigkeit (53,8%). Häufig wurde von den Pferdebesitzern auch nur zu Beginn der Arbeit auftretender Husten (56,4%) und eine verminderte Leistungsfähigkeit (53,8%) beobachtet. Nasenausfluss trat bei Exazerbationen in 48,9% der Fälle und Husten während der Arbeit in 46,2% der Fälle auf. Seltener wurde im Rahmen von Exazerbationen von den Pferdebesitzern über verlängerte Erholungszeiten (33,8%), vermehrtes Schwitzen (25,9%) und Nüsternblähen in Ruhe (21,4%) berichtet.

#### 4.1.5.2 Therapieform mit der besten Langzeitwirkung

Von den meisten Pferdebesitzern (42,9%) wurde eine Kombination aus veränderten Haltungsbedingungen und medikamentöser Therapie als am langfristig wirkungsvollsten beurteilt. Eine bloße Veränderung der Haltungsbedingungen hielten 34,6% für am effektivsten und lediglich 12,8% der Pferdebesitzer erachteten die rein medikamentöse Therapie als Therapieform mit der besten Langzeitwirkung.

#### 4.1.5.3 Medikamentöse Dauertherapie

In 15,1% der Fälle stehen die Pferde unter einer Dauermedikation, in 53,3% der Fälle werden den Pferden hingegen nur beim Wiederauftreten von Krankheitssymptomen Medikamente verabreicht und in 31,7% der Fälle erhalten die Pferde keinerlei Medikamente mehr.

#### 4.1.5.4 Durchführung einer Hyperinfusionstherapie bei Therapieresistenz bzw. Veränderung des therapeutischen Vorgehens

In der überwiegenden Mehrzahl der Fälle (64,3%) wurde bei Therapieresistenz nicht von der bisherigen Therapie abgewichen, lediglich in 35,7% der Fälle wurden weitere therapeutische Maßnahmen ergriffen. In 11,3% der Fälle wurde von den behandelnden Tierärzten bei Therapieresistenz eine Lungenspülung durchgeführt.

#### 4.1.5.5 Anwendung alternativer Therapieverfahren

Am häufigsten kamen im Rahmen alternativer Therapieverfahren Hustenkräuter (69,2%) zum Einsatz. Eine homöopathische Behandlung ihres Pferdes ließen 49,2% der Pferdebesitzer, eine Akupunkturbehandlung 35,7%, eine chiropraktische Behandlung 14,4% und eine Bachblütentherapie 10,2% bei ihrem Pferd durchführen. Nur in 12,8% der Fälle wurden keinerlei alternative Therapieverfahren angewendet.

#### 4.1.5.6 Vergleich des Therapieerfolges von schulmedizinischen und alternativen Therapien

Der Therapieerfolg der alternativen Therapien wurde von 26,7% der Pferdebesitzer als gleichwertig, von 20,3% als schlechter und von 18% als besser als der durch herkömmliche Therapien erzielbare Erfolg bewertet.

#### 4.1.5.7 Ausprägung von Krankheitssymptomen im Verlauf der Krankheit

In Bezug auf die Ausprägung der von ihren Pferden gezeigten Krankheitssymptome gaben 33,5% der Pferdebesitzer an, dass sich diese im Krankheitsverlauf gebessert hätten, 27,5% der Pferdebesitzer beurteilten die Ausprägung der Krankheitssymptome als konstant und 30,8% beobachteten eine Symptomverschlimmerung.

#### 4.1.5.8 Tod bzw. Euthanasie des Pferdes aufgrund der COB-Erkrankung

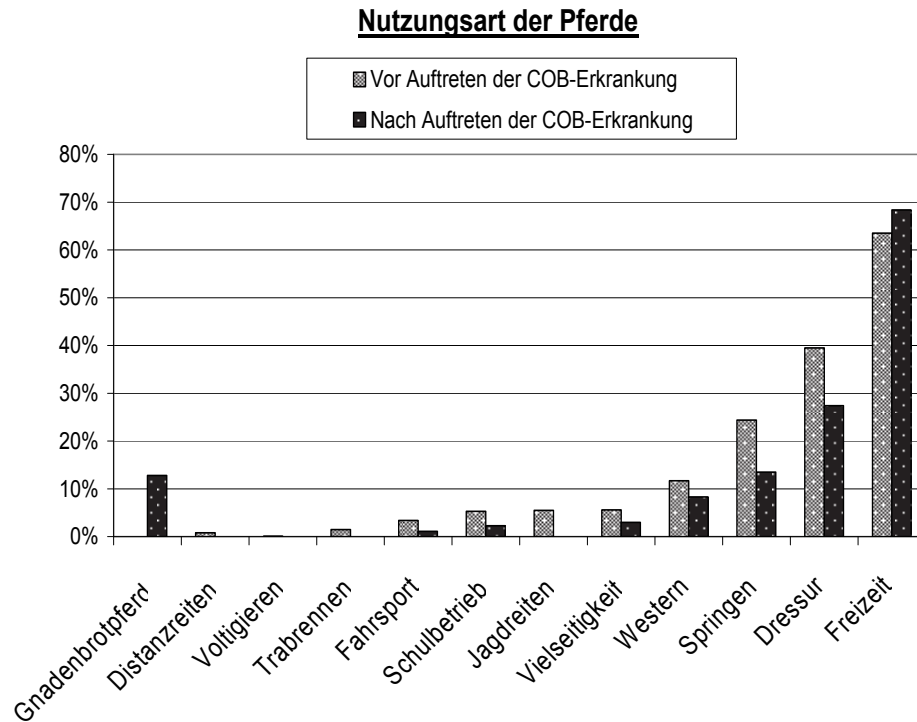
Diese Frage wurde von 261 Pferdebesitzern beantwortet. Nur vier der 261 Pferde (1,5%) sind aufgrund der Lungenerkrankung verstorben bzw. euthanasiert worden. Drei der 261 Pferde (1,1%) verstarben aufgrund einer anderen Erkrankung.

### 4.1.6 *Nutzung und Leistung*

Der fünfte Abschnitt des Fragebogens befasste sich mit der Einsetzbarkeit der betroffenen Pferde als Reitpferd und mit ihrer Leistungsfähigkeit.

#### 4.1.6.1 Verwendungszweck und turniersportliche Leistungsklasse vor und nach dem Auftreten der COB-Erkrankung

Bei den Fragen über den Verwendungszweck des Pferdes wurden die Patientenbesitzer gebeten, die hauptsächliche Nutzungsart ihres Pferdes vor und nach dem Auftreten der COB-Erkrankung anzugeben, wobei aber Mehrfachantworten möglich waren (Abb. 14).



**Abb. 14:** Nutzungsart der Pferde vor und nach dem Auftreten der COB-Erkrankung.

Mit einer Häufigkeit von 63,5% wurde die Mehrheit der Pferde vor Auftreten der Lungenerkrankung als **Freizeitpferd** genutzt, auch nach dem erstmaligen Auftreten der COB-Erkrankung wurde der Großteil der Pferde (68,4%) weiterhin hauptsächlich als Freizeitpferd genutzt.

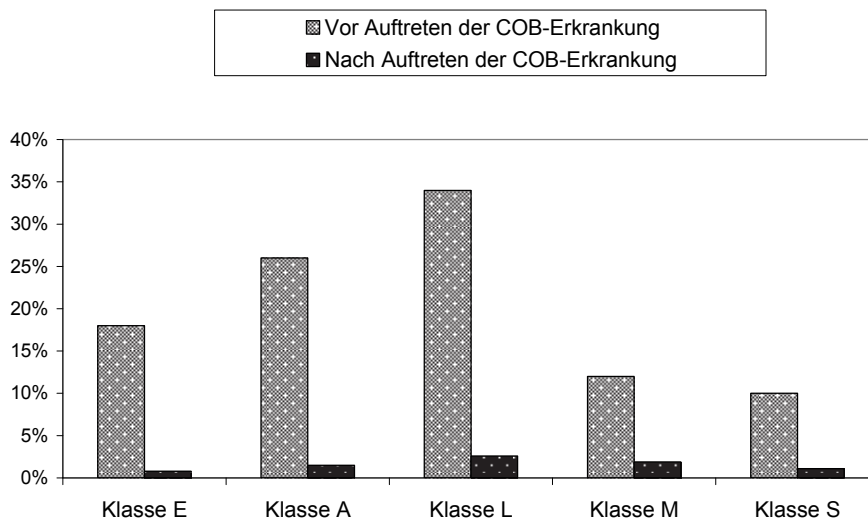
Als **Dressurpferd** wurden vor Auftreten der COB-Erkrankung 39,5% der Pferde eingesetzt, nach dem Auftreten nur noch 27,4% der Pferde.

In Dressurprüfungen gingen vor Auftreten der COB-Erkrankung 18% der Pferde in der Leistungsklasse E, 26% in der Leistungsklasse A, 34% in der Leistungsklasse L, 12% in der Leistungsklasse M und 10% in der Leistungsklasse S an den Start (Abb. 15).

Bei einer Turnierteilnahme an Dressurprüfungen nach Auftreten der COB-Erkrankung gingen zwei Pferde (0,8%) in Leistungsklasse E, 1,5% der Pferde in Leistungsklasse A, 2,6% der Pferde in Leistungsklasse L, 1,9% der Pferde in Leistungsklasse M und 1,1% der Pferde in Leistungsklasse S an den Start.



### Teilnahme an Dressurturnieren folgender Leistungsklassen



**Abb. 15: Leistungsklasse der Dressurprüfungen, in denen die COB-Patienten vor und nach Auftreten der COB-Erkrankung an den Start gingen.**

Als **Springpferd** wurden 24,4% der Pferde vor dem erstmaligen Auftreten der Lungenerkrankung verwendet, nach Auftreten der COB-Erkrankung nur noch 13,50%.

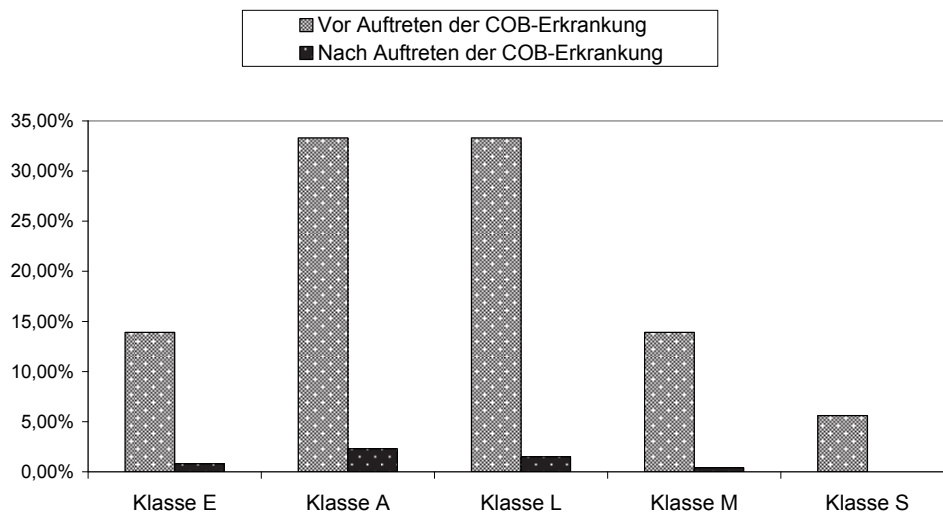
Bei einer Turnierteilnahme an Springprüfungen vor Auftreten der COB-Erkrankung starteten 13,9% der Pferde in der Leistungsklasse E, 33,3% in der Leistungsklasse A, 33,3% in der Leistungsklasse L, 13,9% in der Leistungsklasse M und 5,6% der Pferde in der Leistungsklasse S (Abb. 16).

Nach Auftreten der COB-Erkrankung erfolgten Turnierstarts von zwei Pferden (0,8%) in Leistungsklasse E, von 2,3% der Pferde in Leistungsklasse A, von 1,5% der Pferde in Leistungsklasse L und von einem Pferd (0,4%) in Leistungsklasse M (Abb. 16).

Bei einer Turnierteilnahme an Springprüfungen vor Auftreten der COB-Erkrankung starteten 13,9% der Pferde in der Leistungsklasse E, 33,3% in der Leistungsklasse A, 33,3% in der Leistungsklasse L, 13,9% in der Leistungsklasse M und 5,6% der Pferde in der Leistungsklasse S (Abb. 16).

Nach Auftreten der COB-Erkrankung erfolgten Turnierstarts von zwei Pferden (0,8%) in Leistungsklasse E, von 2,3% der Pferde in Leistungsklasse A, von 1,5% der Pferde in Leistungsklasse L und von einem Pferd (0,4%) in Leistungsklasse M (Abb. 16).

### Teilnahme an Springturnieren folgender Leistungsklassen



**Abb. 16: Leistungsklasse der Springprüfungen in denen die COB-Patienten vor und nach Auftreten der COB-Erkrankung an den Start gingen.**

Als **Gnadenbrotpferd** wurden 12,8% der Pferde nach Auftreten der Lungenerkrankung gehalten, vor Auftreten der Lungenerkrankung gab kein Pferdebesitzer an, sein Pferd werde als Gnadenbrotpferd gehalten.

Als **Westernpferd** wurden vor Auftreten der Lungenerkrankung 11,7% der Pferde eingesetzt, hiervon nahm ein Pferd an Turnieren teil, die der Leistungsklasse E entsprechen. Des Weiteren nahmen 1,5% der turniersportlich genutzten Pferde in der Disziplin Westernreiten an Prüfungen teil, die der Klasse A, 1,1% an Prüfungen die der Klasse L und 2 Pferde an Prüfungen, die der Klasse M entsprechen. Nach Auftreten der COB-Erkrankung nahm die Anzahl der als Westernpferd genutzten Pferde ab und betrug noch 8,3%. Bei Turnierstarts nach Auftreten der Erkrankung nahmen zwei Pferde (0,8%) an Prüfungen der Klasse E, ein Pferd (0,4%) an Prüfungen der Klasse L und 2 Pferde (0,8%) an Prüfungen der Klasse M teil.

Vor dem Auftreten der Lungenerkrankung wurden 11,3% der Pferde zur **Zucht** verwendet, nach dem Auftreten betrug der Anteil der Zuchtpferde noch 2,3%.

Im Ausbildungsstand des „**Anreitens**“ befanden sich 8,6% der Pferde vor Auftreten der Lungenerkrankung, nach deren Auftreten waren es lediglich noch 1,1%.

Als **Vielseitigkeitspferd** kamen 5,6% der Pferde zum Einsatz, wovon zwei Pferde in der Leistungsklasse E und jeweils ein Pferd in der Leistungsklasse A und L auf

Turnieren eingesetzt wurden. Nach dem Auftreten der Lungenerkrankung wurden noch 3% der Pferde im Vielseitigkeitssport eingesetzt, hiervon nahm ein Pferd (0,4%) an Turnierprüfungen der Klasse E und zwei Pferde (0,8%) an Turnierprüfungen der Klasse A teil.

Für das **Jagdreiten** und für den **Einsatz im Schulbetrieb** wurden jeweils 5,3% der Pferde vor dem Beginn der Lungenerkrankung eingesetzt. Nach dem Beginn der Krankheit wurde kein Pferd mehr als Jagdpferd eingesetzt und nur noch 2,3% der Pferde als Schulpferd.

Im **Fahrsport** wurden 3,4% der Pferde eingesetzt, eines dieser Pferde nahm an Turnieren in der schweren Klasse teil. Nach dem Beginn der Lungenerkrankung wurden noch 1,5% der Pferde als Fahrpferd eingesetzt.

Als **Trabrennpferd** waren vor dem erstmaligen Auftreten der COB-Erkrankung 1,5% der Pferde im Einsatz und jeweils zwei Pferde wurden als **Voltigierpferd** und als **Distanzpferd** verwendet.

Vor Auftreten der COB-Erkrankung wurde kein Pferd der an der Umfrage teilnehmenden Pferdebesitzer im **Galopprennsport** eingesetzt.

Nach dem erstmaligen Auftreten der COB-Erkrankung nahm keines der Pferde mehr an Trab- oder Galopprennen teil oder wurde zum Jagdreiten, als Distanz- oder Voltigierpferd verwendet.

#### 4.1.6.2 Zusammenhang zwischen veränderter Nutzung und COB-Erkrankung

Von denjenigen Pferdebesitzern, die diese Frage beantwortet haben, gaben 38,8% an, dass ein Zusammenhang zwischen der veränderten Nutzung ihres Pferdes und der COB-Erkrankung besteht. In 35,8% der Fälle gaben die Pferdebesitzer an, dass die Nutzbarkeit ihres Pferdes unverändert sei und in 25,4% der Fälle gaben die Pferdebesitzer an, dass keinerlei Zusammenhang zwischen der veränderten Nutzung und der Lungenerkrankung ihres Pferdes besteht.

#### 4.1.6.3 Vorkommen und Dauer von erneuten Krankheitsschüben

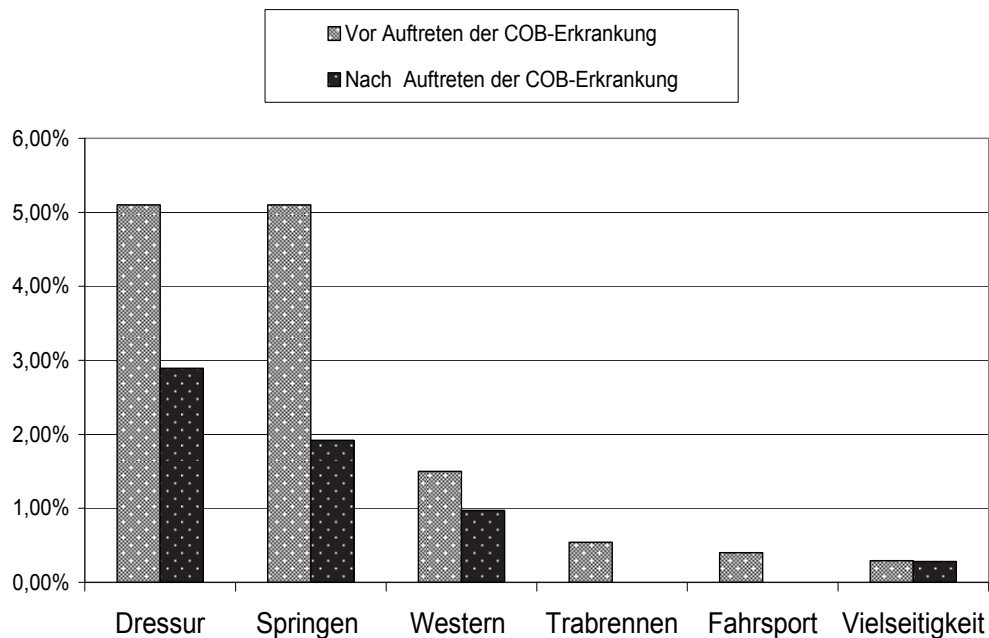
In 69,5% der Fälle kam es zu COB-Exazerbationen, die dabei auftretenden Krankheitssymptome blieben durchschnittlich über acht Wochen (8,42, SE = 0,865) bestehen.

#### 4.1.6.4 Entwicklung der Leistungsfähigkeit des Pferdes

Bei der Fragestellung, in welcher Weise sich die Leistungsfähigkeit des Pferdes im Laufe der Erkrankung entwickelt hat, berichteten 66,5% der Pferdebesitzer über eine Abnahme der Leistungsfähigkeit ihres Pferdes, 26,1% bemerkten keine Veränderung und 7,4% der Pferdebesitzer stellten eine Zunahme der Leistungsfähigkeit bei ihrem Pferd fest.

#### 4.1.6.5 Turniererfolge vor und nach Auftreten der Lungenerkrankung

##### Turniererfolge vor und nach Auftreten der Erkrankung



**Abb. 17: Prozentuale Veränderung der erzielten Turniererfolge in verschiedenen Disziplinen, vor und nach dem Auftreten der COB-Erkrankung.**

Vor dem Auftreten der COB-Erkrankung konnten bei der Teilnahme an Reitsportveranstaltungen mit den Pferden der befragten Besitzer in 36,5% der Fälle Turniererfolge erzielt werden. In anteilig 5,1% der Fälle wurden die Turniererfolge in Dressurprüfungen, ebenso in 5,1% der Fälle in Springprüfungen, in 1,5% in Westernprüfungen, in 0,54% der Fälle im Trabrennsport, in 0,40% der Fälle im Fahrspport und in 0,29% der Fälle im Vielseitigkeitsprüfungen erzielt (Abb. 17).

Nach der Manifestation der Lungenerkrankung konnten in rund einem Viertel der Fälle (25,6%) mit den betroffenen Pferden noch Turnierfolge erzielt werden. Es handelte sich hierbei anteilig in 2,89% der Fälle um Turnierfolge im Dressurreiten, in 1,92% der Fälle um Turnierfolge im Springreiten, in 0,97% der Fälle um Turnierfolge im Westernreiten und in 0,28% der Fälle um Turnierfolge im Vielseitigkeitssport (Abb. 17).

#### 4.1.7 Ankauf und Verkauf

Der sechste Abschnitt des Fragebogens befasste sich mit der Diagnostik von Lungenerkrankungen im Rahmen von Ankaufs- bzw. Verkaufsuntersuchungen bei betroffenen Pferden und deren Einfluss auf das Zustandekommen eines Pferdekaufes bzw. Pferdeverkaufes.

##### 4.1.7.1 Durchführung einer Ankaufsuntersuchung inklusive endoskopischer Untersuchung

Von denjenigen Pferdebesitzern, die diese Frage beantwortet haben, gab über die Hälfte (59,5%) an, dass die Pferde ohne die Durchführung einer Ankaufsuntersuchung erworben worden sind. In 38,5% der Fälle wurde eine Ankaufsuntersuchung (AKU) durchgeführt und in 2% der Fälle antworteten die Pferdebesitzer mit „nicht bekannt“. Eine Endoskopie im Rahmen der AKU wurde nur in 3% der Fälle durchgeführt.

##### 4.1.7.2 Erhebung von Lungenbefunden im Rahmen der AKU

Im Rahmen der Ankaufsuntersuchung wurden bei 90,3% der Pferde keinerlei auffällige Befunde bei der Untersuchung des Atmungsapparates erhoben. Nur in 3,4% der Fälle fielen Abweichungen vom physiologischen Zustand bei der klinischen Untersuchung auf und in 1,9% der Fälle wurden abnorme Befunde erst bei einer endoskopischen Untersuchung festgestellt.

#### 4.1.7.3 Zustandekommen des Kaufvertrages nach erfolgter AKU

Sofern eine AKU durchgeführt wurde, kam es in 96,6% der Fälle im Anschluss an die AKU zu einem Kaufvertragsabschluss. Nur in 3,4% der Fälle wurde aufgrund der Ergebnisse der AKU kein Kaufvertrag abgeschlossen, hierbei waren jedoch in keinem Fall Lungenbefunde ursächlich.

#### 4.1.7.4 COB-Erkrankung als Verkaufshindernis

Der Großteil der Besitzer (91,9%), die zu dieser Frage Angaben gemacht haben, hat noch nie einen Weiterverkauf ihres COB-kranken Pferdes angestrebt. Aufgrund der COB-Erkrankung kam es in 7,3% der Fälle eines angestrebten Weiterverkaufes des Pferdes zu keinem Abschluss des Verkaufsvorhabens und zwei Pferde (0,9%) ließen sich nur mit Gewährung eines Preisnachlasses veräußern.

#### 4.1.7.5 Erneuter Erwerb eines COB-kranken Pferdes

Bei der Frage, ob ein erneuter Erwerb eines an COB-kranken Pferdes für sie vorstellbar sei, schloss der Großteil der befragten Pferdebesitzer (71,4%) dies aus, 21% der Pferdebesitzer waren in dieser Frage unschlüssig („vielleicht“), 6% der Pferdebesitzer würden dies nur bei einer Kaufpreisreduktion in Erwägung ziehen. Lediglich 1,6% der befragten Pferdebesitzer würden erneut ein an COB-erkranktes Pferd ohne Einschränkungen erwerben.

#### 4.1.8 Teilnahme an der praktischen Studie

Eine Teilnahme ihres Pferdes am praktischen Teil der Studie wäre in 92,5% der Fälle von den Pferdebesitzern erwünscht gewesen.

Aus allen 266 Teilnehmern an der Fragebogenstudie wurden 24 Pferde für die praktische Studie ausgewählt. Dies erfolgte unter Berücksichtigung mehrerer zuvor festgelegter Einschlusskriterien (siehe Kapitel 3.2.1, S.36)

## 4.2 ERGEBNISSE DER IN VIVO STUDIE

### 4.2.1 Allgemeine Angaben zur Studienpopulation

#### 4.2.1.1 Durchschnittliche Werte der Patienten in Bezug auf Alter, Rasse, Geschlecht, Gewicht und Größe

Insgesamt nahmen 24 Pferde an der in vivo Studie teil. Das durchschnittliche Alter der Patienten betrug 17,4 Jahre (SD=4,9), ihr durchschnittliches Gewicht 520,4 kg (SD=129,7) und ihre durchschnittliche Größe 158,1cm (SD=16,51). Die Geschlechterverteilung belief sich auf 17 Wallache (70,83%), fünf Stuten (20,83%) und zwei Hengste (0,08%).

In der Studienpopulation stellten Pferde der Rasse Warmblüter über die Hälfte des Patientengutes (54,2%, 13 Pferde) dar, ein Viertel der Patienten waren Isländer (25%, 6 Pferde). Es waren darüber hinaus je zwei Pferde der Rasse Araber (0,08%), sowie der Rasse Haflinger (0,08%) und ein Andalusier (0,04%) vertreten.

#### 4.2.1.2 Hypertrophie der schiefen Bauchmuskulatur

Eine Hypertrophie der schiefen Bauchmuskulatur, umgangssprachlich auch als „Dampfrinne“ bezeichnet, lag bei zwölf Pferden (50%) vor.

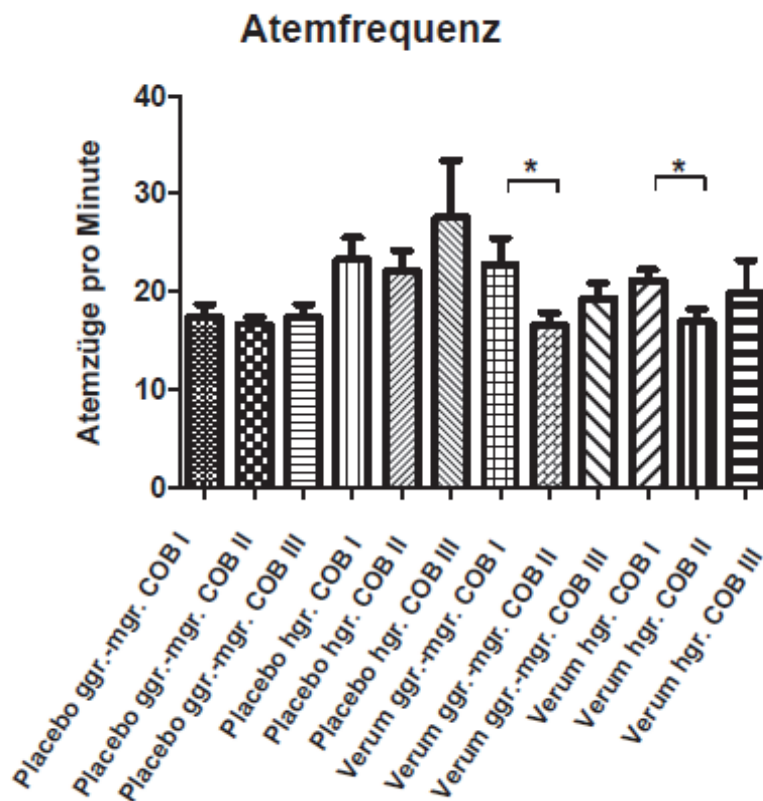
#### 4.2.1.3 Vergrößerung der Lungenfeldes

Ein physiologisches Lungenfeld konnte bei fünf Pferden (20,83%), ein geringgradig vergrößertes Lungenfeld bei neun Pferden (37,50%) und ein deutlich vergrößertes Lungenfeld bei zehn Pferden (41,66%) perkutiert werden.

Die Verteilung der pathologischen Veränderungen auf die jeweiligen Patientengruppen kann dem Anhang 9.5 (S.205) entnommen werden.

## 4.2.2 Einfluss der Inhalationstherapie auf klinische Parameter

### 4.2.2.1 Ruheatemfrequenz



**Abb. 18:** Vergleich der ermittelten, durchschnittlichen Atemfrequenz vor und nach Inhalationstherapie in den verschiedenen Patientengruppen. I = Zeitpunkt der Durchführung der klinischen Eingangsuntersuchung, II = Zeitpunkt der ersten Nachuntersuchung (ein Tag nach der letztmaligen Inhalationsbehandlung), III = Zeitpunkt der zweiten Nachuntersuchung (28 Tage nach der letztmaligen Inhalationsbehandlung).

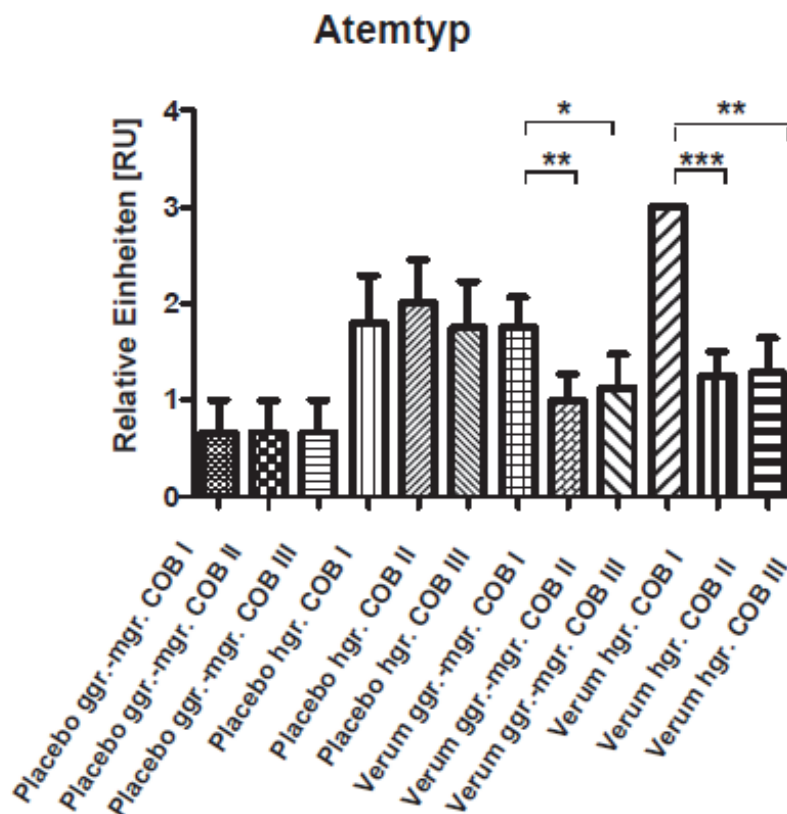
Innerhalb der Placebogruppe konnte, unabhängig vom Schweregrad der COB-Erkrankung, zu keinem Untersuchungszeitpunkt (I - III) eine statistisch signifikante Veränderung der Atemfrequenz festgestellt werden (Abb. 18).

In beiden Verumgruppen wurde dagegen eine signifikante Verbesserung der Ruheatemfrequenz festgestellt (Abb. 18). Bei den gering-mittelgradig erkrankten Pferden nahm die Ruheatemfrequenz von 22,75 ( $\pm 7,48$ ) Atemzüge pro Minute signifikant auf 16,57 ( $\pm 3,41$ ) Atemzüge pro Minute ab ( $p=0,0358$ ).



Bei den hochgradig erkrankten Pferden nahm die Atemfrequenz von 21,14 ( $\pm 2,79$ ) Atemzüge pro Minute auf 16,83 ( $\pm 3,13$ ) Atemzüge pro Minute ab ( $p=0,0429$ ). Ein statistisch signifikanter Langzeiteffekt konnte jedoch auch innerhalb der Verumgruppe nicht nachgewiesen werden (ggr.-mgr. erkrankte Pferde 19,25 ( $\pm 4,53$ ) Atemzüge pro Minute, hgr. erkrankte Pferde 19,86 ( $\pm 8,73$ ) Atemzüge pro Minute, Abb. 18).

#### 4.2.2.2 Atemtyp

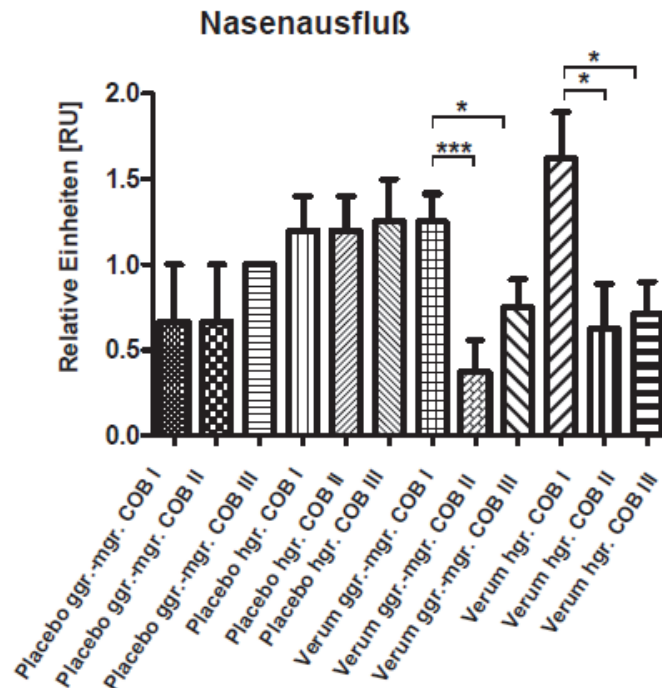


**Abb. 19:** Vergleich des gezeigten Atemtyps vor und nach Inhalationstherapie in den unterschiedlichen Patientengruppen. I = Zeitpunkt der Durchführung der klinischen Eingangsuntersuchung, II = Zeitpunkt der ersten Nachuntersuchung (ein Tag nach der letztmaligen Inhalationsbehandlung), III = Zeitpunkt der zweiten Nachuntersuchung (28 Tage nach der letztmaligen Inhalationsbehandlung).

Innerhalb der Placebogruppe der gering-mittelgradig erkrankten Pferde konnte keine statistisch signifikante Verbesserung des Atemtyps festgestellt werden (Abb. 19).

In der Verumgruppe der gering-mittelgradig erkrankten Pferde wurde jedoch eine hochsignifikante Verbesserung ( $p=0,0025$ ) nach fünfmaliger Inhalation (von 1,75 ( $\pm 0,89$ ) auf 1,0 ( $\pm 0,76$ ) relative Einheiten, Abb. 19) und eine signifikante Verbesserung des Atemtyps ( $p=0,0492$ ) nach vier Wochen nachgewiesen (Anstieg auf 1,13 relative Einheiten ( $\pm 0,99$ ), Abb. 19). In der Verumgruppe der hochgradig erkrankten Pferde verbesserte sich der Atemtyp nach fünf Inhalationen hochsignifikant ( $p=0,0002$ ), von drei relativen Einheiten ( $\pm 0,00$ ) auf 1,25 relative Einheiten ( $\pm 0,71$ ), Abb. 19). Nach vier Wochen konnte immer noch eine sehr signifikante ( $p=0,0031$ ) Verbesserung des Atemtyps nachgewiesen werden, trotz eines leichten Anstiegs des errechneten Mittelwertes der relativen Einheiten (auf 1,29 relative Einheiten ( $\pm 0,95$ ), Abb. 19). Innerhalb der Placebogruppe der hochgradig erkrankten Patienten war dagegen keine signifikante Verbesserung des Atemtyps, weder im Anschluss an die Inhalationen, noch nach vier Wochen nachweisbar (Abb. 19).

## 4.2.2.3 Nasenausfluss



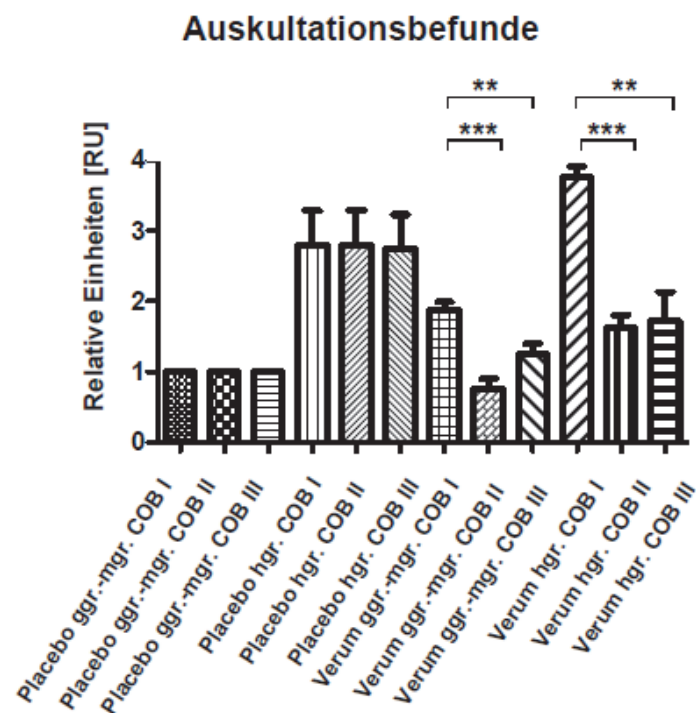
**Abb. 20:** Entwicklung der Menge des gezeigten Nasenausflusses in den verschiedenen Patientengruppen vor und nach Inhalationstherapie. I = Zeitpunkt der Durchführung der klinischen Eingangsuntersuchung, II = Zeitpunkt der ersten Nachuntersuchung (ein Tag nach der letztmaligen Inhalationsbehandlung), III = Zeitpunkt der zweiten Nachuntersuchung (28 Tage nach der letztmaligen Inhalationsbehandlung).

Bei denjenigen Pferden, denen keine CpG-ODN/GNP-Inhalationslösung verabreicht wurde, konnten in Bezug auf den gezeigten Nasenausfluss keine signifikanten Verbesserungen nach fünf Inhalationen bzw. nach vier Wochen ohne weitere Behandlung festgestellt werden (Abb. 20).

Innerhalb der Verumgruppe der gering-mittelgradig erkrankten Pferde trat jedoch eine hochsignifikante Abnahme ( $p=0.0002$ ) des Nasenausflusses nach fünf Inhalationen ein (von  $1,25 (\pm 0,46)$  auf  $0,38 (\pm 0,52)$  relative Einheiten). Nach vier Wochen konnte noch eine signifikante Abnahme ( $p=0.0167$ ) des gezeigten Nasenausflusses (um  $0,75 (\pm 0,46)$  relative Einheiten) innerhalb dieser Patientengruppe, verglichen mit dem Ausgangswert, beobachtet werden (Abb. 20).

Innerhalb der Verumgruppe der hochgradigen COB-Patienten war ein signifikanter Rückgang ( $p=0,0331$ ) des gezeigten Nasenausflusses direkt im Anschluss an die Inhalationsbehandlung festzustellen (von 1,63 ( $\pm 0,74$ ) auf 0,63 ( $\pm 0,74$ ) relative Einheiten, Abb. 20). Diese signifikante Verbesserung ( $p=0,0331$ ) konnte auch noch nach vier Wochen innerhalb der Verumgruppe der hochgradig erkrankten Pferde, trotz eines leichten Anstieges des für die relativen Einheiten errechneten Mittelwertes (auf 0,71 ( $\pm 0,49$ ) relative Einheiten, Abb. 20) nachgewiesen werden.

#### 4.2.2.4 Lungenauskultation



**Abb. 21:** Veränderung der Auskultationsbefunde vor und nach Inhalationstherapie in den unterschiedlichen Patientengruppen. I = Zeitpunkt der Durchführung der klinischen Eingangsuntersuchung, II = Zeitpunkt der ersten Nachuntersuchung (ein Tag nach der letztmaligen Inhalationsbehandlung), III = Zeitpunkt der zweiten Nachuntersuchung (28 Tage nach der letztmaligen Inhalationsbehandlung).

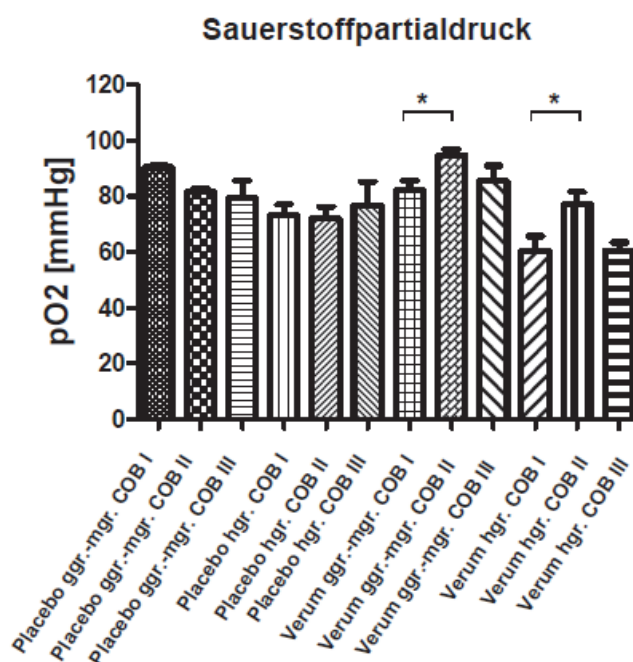
In beiden Placebogruppen (gering-mittelgradig und hochgradig kranke Pferde) zeigten sich keine signifikanten Veränderungen der Auskultationsbefunde direkt nach der Inhalationstherapie sowie bei der zweiten Nachuntersuchung (Abb. 21).

Im Gegensatz dazu waren in beiden Verumgruppen hochsignifikante Verbesserungen ( $p < 0,001$ ) des Auskultationsbefundes direkt im Anschluss an die Inhalationstherapie nachweisbar (Abb. 21).

Bei den gering-mittelgradig erkrankten Patienten kam es im Mittel zur Abnahme um mehr als eine relative Einheit (von 1,88 ( $\pm 0,35$ ) auf 0,75 ( $\pm 0,46$ ) relative Einheiten, Abb. 21).

Bei den hochgradig erkrankten Pferden kam es im Mittel zur Abnahme um mehr als zwei relative Einheiten (von 3,75 ( $\pm 0,46$ ) auf 1,63 ( $\pm 0,52$ ) relative Einheiten, Abb. 21). Darüber hinaus konnten in beiden Verumgruppen ein signifikanter Langzeiteffekt in Bezug auf eine Verbesserung der Auskultationsbefunde nachgewiesen werden (leichter erkrankte Pferde ( $p = 0,0047$ ), hochgradig erkrankte Pferde ( $p = 0,0038$ ), Abb. 21).

#### 4.2.2.5 Analytik arterieller Blutgasmessungen



**Abb. 22:** Veränderung des durchschnittlichen, mittleren Sauerstoffpartialdruckes in den unterschiedlichen Patientengruppen vor und nach Inhalationstherapie. I = Zeitpunkt der Durchführung der klinischen Eingangsuntersuchung, II = Zeitpunkt der ersten Nachuntersuchung (ein Tag nach der letztmaligen Inhalationsbehandlung), III = Zeitpunkt der zweiten Nachuntersuchung (28 Tage nach der letztmaligen Inhalationsbehandlung).

Innerhalb beider Placebogruppen verbesserten sich die Blutgaswerte zu keinem Untersuchungszeitpunkt signifikant (Abb. 22). Innerhalb der Verumgruppen verbesserte sich der  $PO_2$  nach fünf Inhalationen um rund 12 mmHg (von 82,29mmHg ( $\pm 9,05$ ) auf 94,75mmHg ( $\pm 5,97$ )) bei den Pferden mit gering-mittelgradiger COB-Erkrankung ( $p=0,0255$ ) und um 17 mmHg (von 60,57mmHg ( $\pm 13,82$ ) auf 77,13mmHg ( $\pm 12,47$ )) bei den Pferden mit hochgradiger COB-Erkrankung ( $p=0,0198$ ) (Abb. 22). Dies zeigt, dass innerhalb beider Verumgruppen eine statistisch signifikante Verbesserung des  $PO_2$  nach fünf Inhalationen erfolgt ist. Bei der zweiten Nachuntersuchung der Blutgaswerte nach vier Wochen war, verglichen mit den Ausgangswerten, keine statistisch signifikante Verbesserung mehr innerhalb der Verumgruppen festzustellen (Abb. 22).

#### 4.2.2.6 Interpleuraldruckmessung

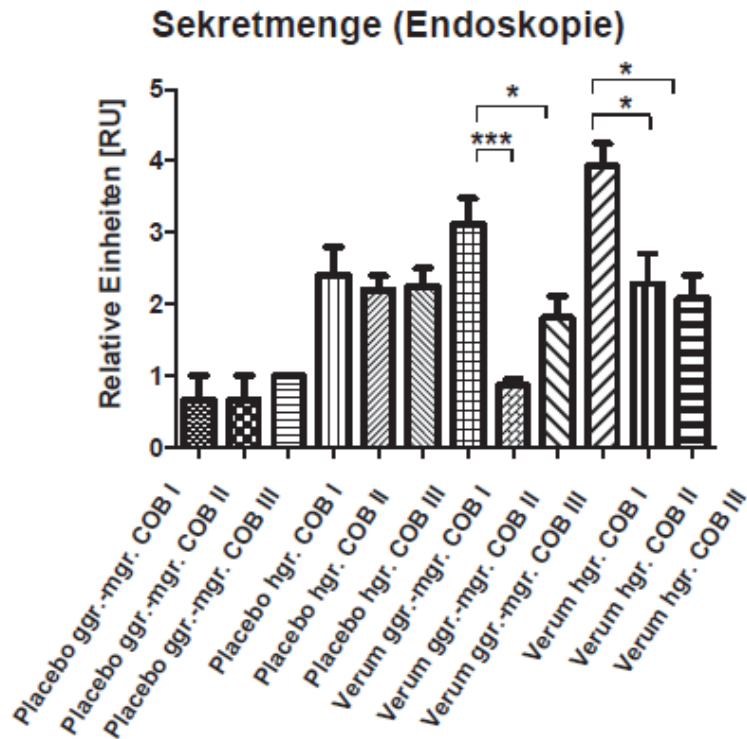
Bei 16 Patienten war eine Interpleuraldruckmessung im Rahmen der Nachuntersuchungen möglich, ohne dass sich die Pferde in einem starken Erregungszustand befanden. Es konnten Lungendruckmessungen bei fünf Pferden der Gruppe 1, sechs Pferden der Gruppe 2, zwei Pferden der Gruppe 3 und drei Pferden der Gruppe 4 durchgeführt werden.

Innerhalb der Placebogruppe konnte keinerlei Abnahme des Interpleuraldruckes festgestellt werden. In der Verumgruppe der gering-mittelgradig COB-kranken Pferde konnte eine positive Tendenz in Bezug auf eine Abnahme des Interpleuraldruckes direkt im Anschluss an die Inhalationsbehandlungen nachgewiesen werden (von 15,40 cm  $H_2O$  ( $\pm 13,95$ ) auf 6,40 cm  $H_2O$  ( $\pm 2,30$ )). In der Verumgruppe der hochgradig COB-kranken Pferde konnte ebenfalls eine Abnahme der gemessenen Interpleuraldrücke im Anschluss an die Inhalationstherapie festgestellt werden (von 38,00 cm  $H_2O$  ( $\pm 24,89$ ) auf 15,33 cm  $H_2O$  ( $\pm 13,05$ )). Die positiven Veränderungen des Interpleuraldruckes innerhalb der Verumgruppen blieben jedoch nicht bis zur zweiten Nachuntersuchung bestehen.

Aufgrund der im Vergleich zu den anderen Parametern reduzierten Patientenzahl und der nur geringen Anzahl von 2 Pferden in Gruppe 3 wurde auf eine weitere statistische Auswertung dieses Parameters verzichtet.

## 4.2.2.7 Endoskopiebefunde

## 4.2.2.7.1 Sekretmenge



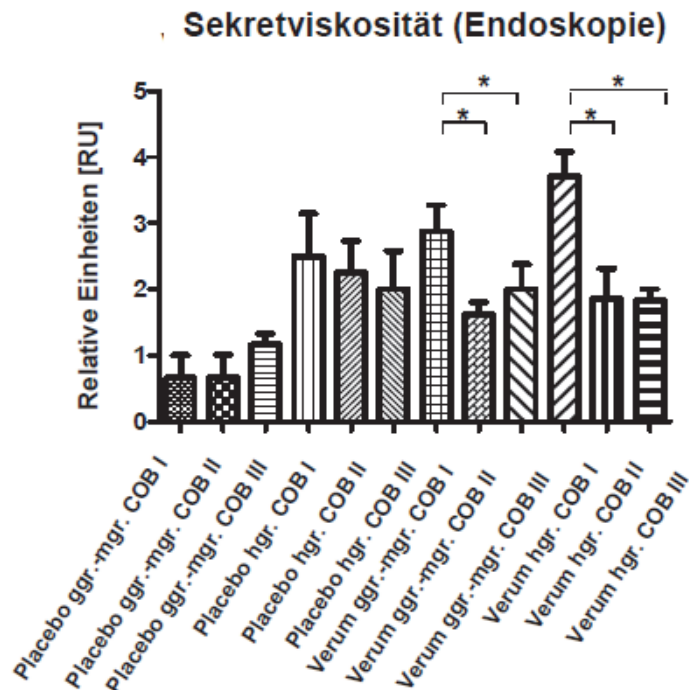
**Abb. 23:** Veränderung der Sekretmenge in den unterschiedlichen Patientengruppen vor und nach der Inhalationstherapie. I = Zeitpunkt der Durchführung der klinischen Eingangsuntersuchung, II = Zeitpunkt der ersten Nachuntersuchung (ein Tag nach der letztmaligen Inhalationsbehandlung), III = Zeitpunkt der zweiten Nachuntersuchung (28 Tage nach der letztmaligen Inhalationsbehandlung).

Bei den Pferden, die nur mit HPW und GNP inhaliert wurden, zeigten sich keine statistisch signifikanten Veränderungen in der Sekretmenge (Abb. 23).

In der Verumgruppe der gering-mittelgradig erkrankten Pferde konnte hingegen ein hochsignifikanter Rückgang der Sekretmenge ( $p=0,0002$ ) um mehr als zwei relative Einheiten bei der NU I ((von 3,13 ( $\pm 0,99$ ) auf 0,88 ( $\pm 0,23$ ) relative Einheiten, Abb. 31) und in der Gruppe der hochgradig erkrankten Pferde ein signifikanter Rückgang ( $p=0,0162$ ) bei der NU I um mehr als 1,5 relative Einheiten (von 3,93 ( $\pm 0,84$ ) auf 2,29 ( $\pm 1,11$ ) relative Einheiten) festgestellt werden (Abb. 23).

In beiden Verumgruppen konnte darüber hinaus eine signifikante Langzeitwirkung über vier Wochen (gering-mittelgradig erkrankte Pferde ( $p=0,0272$ ), hochgradig erkrankte Pferde ( $p=0,0108$ )) nachgewiesen werden. Für die gering-mittelgradig erkrankten Pferde ergab sich, verglichen zum Ausgangswert, noch ein um mehr als eine relative Einheit reduzierter Mittelwert (1,81 ( $\pm 0,84$ ) relative Einheiten). Ebenso verhielt es sich in der Verumgruppe der hochgradig erkrankten Pferde (2,08 ( $\pm 0,80$ ) relative Einheiten, Abb. 23).

#### 4.2.2.7.2 Sekretviskosität



**Abb. 24: Sekretviskosität vor und nach Inhalationstherapie in den verschiedenen Gruppen der unterschiedlich schwer erkrankten COB-Patienten. I = Zeitpunkt der Durchführung der klinischen Eingangsuntersuchung, II = Zeitpunkt der ersten Nachuntersuchung (ein Tag nach der letztmaligen Inhalationsbehandlung), III = Zeitpunkt der zweiten Nachuntersuchung (28 Tage nach der letztmaligen Inhalationsbehandlung).**

Eine statistisch signifikante Abnahme der Sekretviskosität konnte innerhalb der Placebogruppe zu keinem Zeitpunkt festgestellt werden (Abb. 24).

Bei der ersten Nachuntersuchung konnte hingegen in der Verumgruppe der leichter erkrankten COB-Patienten eine hochsignifikante Abnahme ( $p=0,0016$ ) der Sekretviskosität des Tracheobronchialsekrets (Abnahme von 2,88 ( $\pm 1,13$ ) auf



1,63 ( $\pm 0,52$ ) relative Einheiten) nachgewiesen werden (Abb. 24). Auch nach vier Wochen konnte innerhalb dieser Gruppe noch eine signifikante Abnahme ( $p=0,0209$ ) der Sekretviskosität festgestellt werden (2,00 ( $\pm 1,07$ ) relative Einheiten, Abb. 24).

In der Verumgruppe der hochgradig erkrankten Patienten nahm die Viskosität des Tracheobronchialsekrets im Anschluss an die Inhalationstherapie signifikant ( $p=0,0107$ ) ab (von 3,71 ( $\pm 0,95$ ) auf 1,86 ( $\pm 1,21$ ) relative Einheiten, Abb. 24).

Die statistisch signifikante Abnahme der Sekretviskosität innerhalb der Verumgruppe der hochgradig erkrankten Patienten blieb nahezu konstant bestehen bis zur zweiten Nachuntersuchung (1,83 ( $\pm 0,41$ ) relative Einheiten, ( $p=0,0121$ ), Abb. 24).

#### 4.2.2.7.3 Bifurcatio tracheae

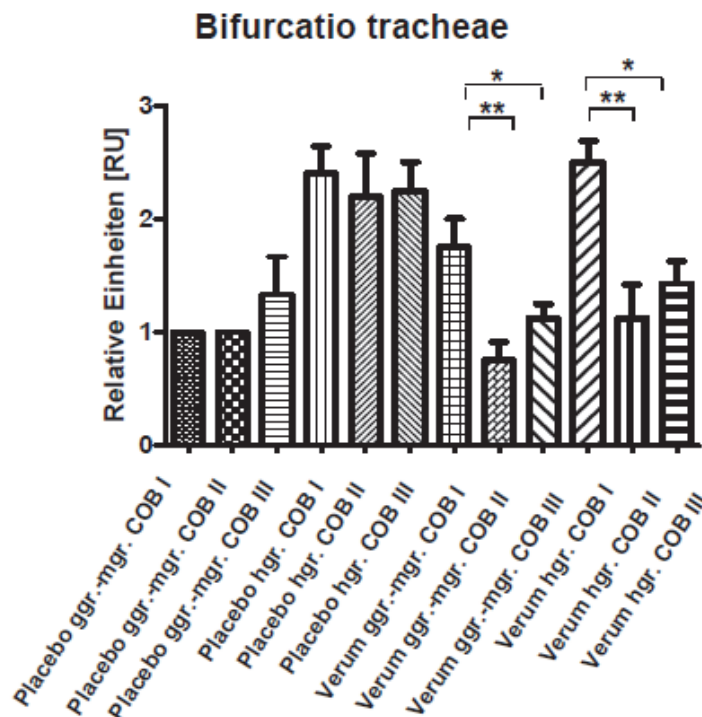


Abb. 25: Umfang der Bifurcatio tracheae vor und nach Inhalationstherapie in den unterschiedlichen Patientengruppen. I = Zeitpunkt der Durchführung der klinischen Eingangsuntersuchung, II = Zeitpunkt der ersten Nachuntersuchung (ein Tag nach der letztmaligen Inhalationsbehandlung), III = Zeitpunkt der zweiten Nachuntersuchung (28 Tage nach der letztmaligen Inhalationsbehandlung).

Ein positives Ansprechen der Breite der Bifurcatio tracheae auf die Inhalationstherapie konnte in beiden Placebogruppen nicht beobachtet werden (Abb. 25).

Bei den leichter erkrankten Pferden konnte eine hochsignifikante Abnahme ( $p=0,0011$ ) der Breite der Bifurcatio tracheae nach fünf Inhalationen festgestellt werden (von 1,75 ( $\pm 0,71$ ) auf 0,75 ( $\pm 0,46$ ) relative Einheiten, Abb. 25). Auch nach vier Wochen war innerhalb dieser Patientengruppe noch ein signifikanter Unterschied ( $p=0,0492$ ), verglichen mit der Erstuntersuchung, sichtbar (1,13 ( $\pm 0,35$ ) relative Einheiten, Abb. 25).

Innerhalb der Patientengruppe mit hochgradiger COB-Symptomatik, die mit der CpG-ODN/GNP-Inhalationslösung behandelt wurden, konnte ebenfalls eine hochsignifikante Verbesserung ( $p=0,0012$ ) der Breite der Bifurcatio tracheae bei der ersten Nachuntersuchung aufgezeigt werden (von 2,50 ( $\pm 0,53$ ) auf 1,13 ( $\pm 0,83$ ) relative Einheiten, Abb. 25). Dieser Effekt wies, genauso wie in der Gruppe der gering-mittelgradig erkrankten Pferde, auch in der Gruppe der hochgradig erkrankten Pferde einen signifikanten ( $p=0,0382$ ) Langzeiteffekt auf (1,49 ( $\pm 0,53$ ) relative Einheiten, Abb. 25).

## 4.2.2.8 Prozentualer Anteil der Neutrophilen

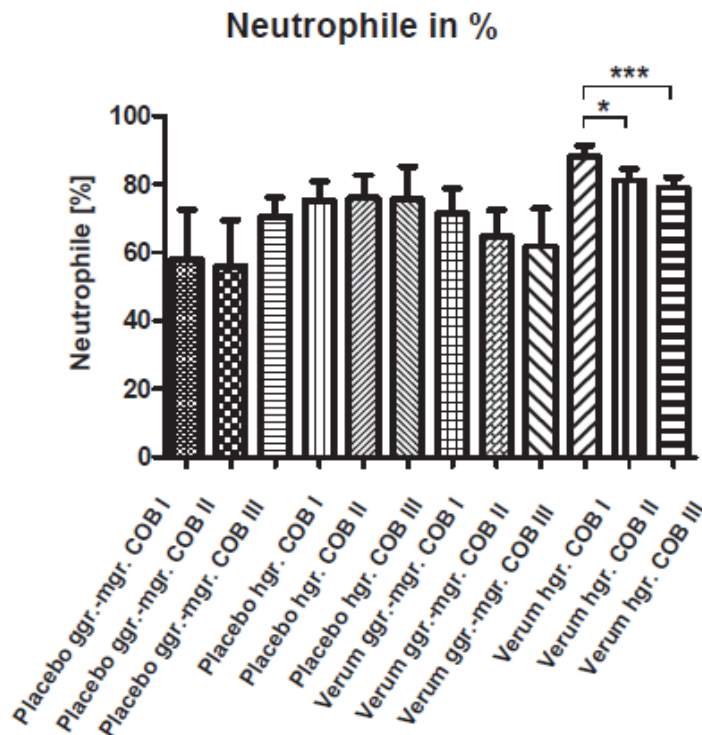


Abb. 26: Entwicklung des prozentualen Anteils der neutrophilen Granulozyten an der Gesamtzellzahl des TBS in den verschiedenen Patientengruppen vor und nach Inhalationstherapie. I = Zeitpunkt der Durchführung der klinischen Eingangsuntersuchung, II = Zeitpunkt der ersten Nachuntersuchung (ein Tag nach der letztmaligen Inhalationsbehandlung), III = Zeitpunkt der zweiten Nachuntersuchung (28 Tage nach der letztmaligen Inhalationsbehandlung).

Der prozentuale Anteil der Neutrophilen im TBS nahm in der Placebogruppe der leichter erkrankten Pferde geringgradig ab (von 58,33% ( $\pm 24,66$ ) auf 56,00% ( $\pm 23,30$ )) nach fünf Inhalationen.

In der Placebogruppe der hochgradig erkrankten Pferde blieb der Anteil der neutrophilen Granulozyten nahezu unverändert (von 75,25% ( $\pm 11,47$ ) auf 76,00% ( $\pm 13,46$ ), Abb. 26).

Innerhalb der Placebogruppe der gering-mittelgradig erkrankten Patienten kam es zwischen der ersten und zweiten Nachuntersuchung zu einem nicht signifikanten Anstieg der Neutrophilen (Abb. 26).

Bei den Patienten der Verumgruppe, die an einer milderer Form der COB-Erkrankung leiden, kam es nach fünf Inhalationsbehandlungen zu einem Rückgang der Neutrophilen (von 71,25% auf 64,75%), der jedoch nicht statistisch signifikant ( $p=0,1132$ ) war (Abb. 26).

Bei den hochgradig erkrankten Patienten der Verumgruppe konnte eine signifikante Abnahme ( $p=0,0382$ ) der Neutrophilen bei der ersten Nachuntersuchung (von 88,14% auf 81,14%) (Abb. 26) und eine hochsignifikante Abnahme ( $p=0,0088$ ) der Neutrophilen bei der zweiten Nachuntersuchung (auf 79.71% ( $\pm 7.27$ )) festgestellt werden (Abb. 26).

#### 4.2.2.9 Körpertemperatur, Leukozytenzahl und Fibrinogenwert

Bei keinem der Pferde konnte zu irgendeinem Zeitpunkt der Therapie (Temperaturkontrolle durch die Pferdebesitzer, erste und zweite Nachuntersuchung) eine unphysiologische Körpertemperatur festgestellt werden (Anhang 9.8, S.215). Ebenso konnte bei keinem der Untersuchungstermine (Tag 3 der Inhalationstherapie, erste und zweite Nachuntersuchung) eine Leukopenie oder Leukozytose oder ein Fibrinogenwert außerhalb des Normbereiches festgestellt werden (Anhang 9.8, S.215).

## 5 Diskussion

### 5.1 DISKUSSION DER METHODEN DES FRAGEBOGENS

#### 5.1.1 *Resonanz auf die Fragebogenaktion*

Die Resonanz auf die Fragebogenaktion übertraf mit 266 vollständig ausgefüllten Fragebögen das vorher festgesetzte Ziel (mindestens 100 ausgefüllte Fragebögen) bei Weitem. Es konnten demnach rund 88 Fragebögen pro Monat akquiriert werden. In einer vergleichbaren Studie mit wesentlich längerer Studiendauer (zehn Jahre), die retrospektiv Risikofaktoren für das Auftreten einer RAO-Erkrankung bei Pferden an amerikanischen Universitäten untersuchte, konnten hingegen lediglich rund 12 Fälle pro Monat ausgewertet werden (COUËTIL und WARD, 2003).

Da die Datenerfassung nur vor und während der Durchführung der praktischen Studie erfolgen sollte, wurde sie auf eine Zeitdauer von drei Monaten begrenzt. Durch dieses Vorgehen wurde dem Umstand Rechnung getragen, dass der Wunsch der Patientenbesitzer, mit ihren Pferden in den praktischen Teil der Studie aufgenommen zu werden, einen starken Anreiz für die vollständige Bearbeitung des Fragebogens darstellte. Das Interesse der Pferdebesitzer an der Studie konnte so genutzt werden, um wesentlich ausführlichere und umfangreichere Daten zur COB-Erkrankung zu erheben, als dies bei einem rein auf die Anamneseerhebung ausgerichteten Fragebogen der Fall gewesen wäre.

Die Durchführung der praktischen Studie erfolgte bewusst im Frühjahr (März bis Mai 2011), da während dieses Zeitraumes bei den meisten COB-kranken Pferden Symptome auftreten (FEY, 2005).

#### 5.1.2 *Akzeptanz und Verständlichkeit*

Der Umstand, dass lediglich vier der 266 Pferdebesitzer eine Bearbeitung des Fragebogens in Papierform wünschten, zeigt die gute Akzeptanz des verwendeten Mediums (Online-Homepage). Die Umfrage in der durchgeführten Form

minimierte Wartezeiten, da die Pferdebesitzer jederzeit und selbstständig online auf die Fragebogenhomepage zugreifen konnten. Vom Angebot bei Unklarheiten telefonisch oder per E-Mail Kontakt aufzunehmen machte keiner der 266 Pferdebesitzer Gebrauch. Dies lässt auf eine gute Verständlichkeit des erarbeiteten Fragebogens auch für den tiermedizinischen Laien schließen.

### *5.1.3 Inhaltliche Gestaltung der Fragebogenhomepage*

Der Focus der letztlich verwendeten Fragebogenhomepage lag nicht, wie in anderen Studien, die „Risikofragebögen“ verwendeten, auf einer bloßen Diagnosestellung der Krankheit (HOTCHKISS et al., 2006). Vielmehr bot die Verwendung des erarbeiteten Fragebogens die Möglichkeit, zusätzlich zur individuellen Anamneseerhebung auch Daten von COB-kranken Pferden zu gewinnen, die im Anschluss aufgrund der Nichterfüllung der festgesetzten Einschlusskriterien (keine Erreichbarkeit des Stalles innerhalb von 90 Minuten bzw. zu kurz zurückliegende medikamentöse Therapie) nicht an der praktischen Studie teilnehmen konnten. Darüber hinaus konnte diese Form des Fragebogens auch von Pferdebesitzern bearbeitet werden, die inzwischen nicht mehr im Besitz des COB-kranken Pferdes waren oder deren Pferd inzwischen verstorben war.

### *5.1.4 Fähigkeit der Pferdebesitzer zur korrekten Beurteilung des Gesundheitszustandes ihres Pferdes*

Bei jeglicher Form der Befragung über in der Vergangenheit liegende Ereignisse kann es zu Falschaussagen aufgrund mangelnder Erinnerung oder persönlicher Voreingenommenheit kommen. In einer Studie mit Vielseitigkeitsreitern konnte gezeigt werden, dass die Richtigkeit der gemachten Angaben über den erzielten Punktestand in der Dressurprüfung mit Zunahme des zeitlichen Abstandes zum Turnier abnahm (MURRAY et al., 2004). Nach Meinung der Autorin stellt jedoch die Erkrankung des eigenen Pferdes insofern einen Sonderfall dar, weil Pferdebesitzer hiervon zum einen stark emotional betroffen sind und zum anderen aufgrund der nun nötigen, intensiveren Pflegemaßnahmen mehr Zeit mit ihrem Pferd verbringen, als üblich.

Mehrere Studien zeigen, dass Pferdebesitzer beim Auftreten von Krankheiten bei ihrem Pferd dessen Gesundheitszustand korrekt bewerten können: Unter Verwendung des HOARSI-Fragebogens, der ausschließlich auf den Ergebnissen von Besitzerbefragungen beruht, lassen sich RAO-krankte Pferde eindeutig von lungengesunden Pferden unterscheiden (LAUMEN et al., 2010). In einer Studie der Universität Michigan konnte darüber hinaus bewiesen werden, dass Pferdebesitzer den Gesundheitsstatus ihres Pferdes bzw. das Ansprechen auf eine durchgeführte Therapie sogar besser bewerten können als ein Tierarzt unter Zuhilfenahme von klinischer Untersuchung, Auskultation, Blutgasanalyse, BAL-Zytologie und Endoskopie (GERBER et al., 2011). Dies verdeutlicht, dass die im Rahmen der Fragebogenstudie durchgeführte Besitzerbefragung möglicherweise sogar dem üblichen Vorgehen in klinischen Studien vorzuziehen sein könnte, da die Bewertung des Gesundheitszustandes der Pferde durch ihre Besitzer aufgrund der Bewertung von Krankheitssymptomen über einen längeren Zeitraum erfolgt und nicht auf einer einzelnen Untersuchung durch einen Tierarzt.

#### *5.1.5 Teilnahme an der praktischen Studie*

Die überwiegende Mehrheit der Pferdebesitzer (92,5%) wünschte eine Teilnahme ihres Pferdes am praktischen Teil der Studie. Dies zeigt, dass der gewählte Ansatz der Verknüpfung einer Onlineumfrage mit dem Angebot der Teilnahme an einer praktischen Studie eine große Motivation für die vollständige Beantwortung des Fragebogens darstellte. In der gewählten Form lässt sich eine ausreichende Menge an Patienten für praktische Studien akquirieren und es können zusätzlich weitere Daten erhoben werden.

## 5.2 DISKUSSION DER ERGEBNISSE DER FRAGEBOGENSTUDIE

### 5.2.1 Diskussion der allgemeine Angaben zum Pferd

#### 5.2.1.1 Einfluss von Rasse, Geschlecht, Alter und genetischen Faktoren

Bisher ließ sich noch keine eindeutige Rasseprädisposition für die COB-Erkrankung nachweisen (BRACHER et al., 1991; DIXON et al., 1995). Laut der selbst ermittelten Ergebnisse handelt es sich beim Großteil der betroffenen Pferde (43,08%) um Warmblüter. Auch eine andere Studie zeigte, dass die Prävalenz für eine RAO-Erkrankung bei deutschen Warmblütern höher ist als bei Lippizanern unter denselben Haltungsbedingungen (MARTI et al., 1991). Möglicherweise beruht dieses Phänomen darauf, dass Warmblüter aus Kreuzzüchtungen von Vollblütern und lokal ansässigen Pferderassen entstanden sind (MARTI et al., 1991) und Vollblüter, verglichen mit Ponyrassen, ein dreimal höheres Erkrankungsrisiko für eine RAO-Erkrankung aufweisen (COUËTIL und WARD, 2003).

In der eigenen Umfrage wurde ein Durchschnittsalter von 15,8 (SD  $\pm$  5,38) Jahren bei den COB-Patienten ermittelt, wobei der jüngste Patient vier und der älteste Patient achtundzwanzig Jahre alt waren. Der ermittelte Altersdurchschnitt ist insofern kritisch zu bewerten, als dass Pferdebesitzer, deren Pferde erst einmalig bzw. weniger ausgeprägt Krankheitssymptome zeigten, weniger gewillt gewesen sein könnten an der Umfrage und an der Durchführung der praktischen Studie teilzunehmen als diejenigen, deren Pferde schon länger erkrankt sind. Vermutlich wird demnach das tatsächliche Durchschnittsalter aller COB-Patienten in Deutschland etwas unter dem ermittelten Wert anzusiedeln sein. Das in der Studie ermittelte Durchschnittsalter beim erstmaligen Auftreten der COB-Erkrankung liegt daher auch mit 10,10 (SD  $\pm$  4,309) Jahren deutlich unter dem ermittelten Durchschnittsalter aller teilnehmenden Patienten der Umfrage. Das in der Umfrage ermittelte Durchschnittsalter zu Beginn der Erkrankung liegt zwischen den in anderen Studien ermittelten, medianen Durchschnittsaltern von neun Jahren (DIXON et al., 1995) bzw. von 11,8 (SD  $\pm$  4,4) Jahren (FEY, 2005). Anhand mehrerer Studien konnte gezeigt werden, dass die Wahrscheinlichkeit des Auftretens einer COB-Erkrankung im Alter zunimmt (DIXON et al., 1995;



RAMSEYER et al., 2007), in einer Studie konnte im Speziellen gezeigt werden, dass Pferde ab dem Alter von sieben Jahren verglichen mit Pferden im Alter von bis zu vier Jahren ein sechs- bis siebenmal höheres Risiko haben an COB zu erkranken (COUËTIL und WARD, 2003).

Umstritten in diesem Zusammenhang ist, ob mit zunehmenden Alter nicht nur das Risiko für das Auftreten einer COB-Erkrankung sondern auch der Schweregrad der Erkrankung zunimmt. Einige Autoren bewerten den Verlauf der COB-Erkrankung als progressiv (MCPHERSON et al., 1979; RAMSEYER et al., 2007), wohingegen andere von einem nicht zwangsläufig progressiven Verlauf der Erkrankung ausgehen (DIXON et al., 1995; FEY, 2005). Laut den eigenen Ergebnissen nimmt die Dauer der Nutzungseinschränkung der Pferde im Rahmen von Exazerbationen leicht ab. Beim erstmaligen Auftreten waren die Reiter in der Nutzung ihres Pferdes für rund elf Wochen ( $10,56 \pm 15,037$ ), im Rahmen von Exazerbationen nur für rund acht Wochen ( $8,42 \pm 11,764$ ) eingeschränkt. Diese Datenlage spricht gegen den progressiven Verlauf der COB-Erkrankung, wohingegen die Abnahme der Leistungsfähigkeit der Pferde in 66% der Fälle (Kap. 1.6.4), die Abnahme der erzielten Turnierfolge (Kap. 1.6.5) und die Zunahme der gezeigten Krankheitssymptome im Rahmen von Exazerbationen (Kap. 1.5.1) deutlich für einen progressiven Krankheitsverlauf sprechen.

In Hinblick auf eine mögliche Geschlechtsprädisposition überwogen in der eigenen Umfrage leicht (59%) die männlichen Tiere. Dies entspricht der Datenlage der meisten anderen Untersuchungen zu dieser Fragestellung, dass es für die COB-Erkrankung keine Geschlechtsprädisposition gibt (MARTI et al., 1991; DIXON et al., 1995; HOTCHKISS et al., 2007) In einer anderen Studie wurde hingegen eine Prädisposition für das weibliche Geschlecht ermittelt (COUËTIL und WARD, 2003).

Neben dem Einfluss von Alter, Rasse und Geschlecht wird auch eine erbliche Komponente der COB-Erkrankung angenommen. Leider konnten 81,2% der Pferdebesitzer in der Umfrage keinerlei Angaben zu mit ihrem Pferd verwandten Tieren machen. Sofern der Gesundheitsstatus verwandter Tiere bekannt war, lag in 54% der Fälle keine Erkrankung vor. In 10% der Fälle war ein Geschwistertier und in 36% der Fälle ein Elterntier betroffen.

Das Erkrankungsrisiko für das Auftreten einer COB-Erkrankung erhöht sich bei einem erkrankten Elterntier, unabhängig ob es sich um die Stute oder den Hengst handelt, um das 3,2-fache und bei zwei betroffenen Elterntieren um das 4,6-fache (MARTI et al., 1991). Der Vererbungsmodus der COB-Erkrankung ist bisher noch nicht vollständig geklärt, es konnte sowohl ein autosomal rezessiver als auch ein autosomal dominanter Vererbungsmodus nachgewiesen werden (GERBER et al., 2009). Eine Beteiligung der Interleukin-4-Rezeptor- $\alpha$ -Kette, gelegen auf dem Chromosom 13, an der Prädisposition für eine COB-Erkrankung konnte in einer betroffenen Familie nachgewiesen werden (JOST et al., 2007). In diesem Zusammenhang muss abschließend betont werden, dass lediglich die Prädisposition für die COB-Erkrankung vererbt wird, nicht die Krankheit an sich. Das Auftreten einer COB-Erkrankung basiert immer auf dem Zusammenspiel einer genetischen Prädisposition und umweltassoziierten Faktoren (MARTI et al., 1991). Durch weitere Forschungen auf diesem Gebiet, beispielsweise die Klärung des genauen Vererbungsmodus der COB-Erkrankung bzw. die Identifizierung beteiligter Gene, böte sich in Zukunft die Möglichkeit, individuelle Vorsorgemaßnahmen bei prädisponierten Pferden zu treffen bzw. nur Pferde in der Zucht einzusetzen, die keine COB-Prädisposition an ihre Nachkommen vererben.

#### 5.2.1.2 Haltungform während der Aufzucht

Es besteht nachweislich ein Zusammenhang zwischen der Art der Unterbringung eines Pferdes in seiner Aufzuchtphase (und der davon abhängigen, individuellen Exposition gegenüber Heustaub) und dem Risiko, im späteren Leben eine COB-Erkrankung zu entwickeln (HOTCHKISS et al., 2007). Diese Erkenntnisse entsprechen Ergebnissen aus der humanmedizinischen Forschung, die eine Beziehung zwischen dem Kontakt mit bestimmten Risikofaktoren in der Kindheit und dem Auftreten einer Asthmaerkrankung im Erwachsenenalter nachwies (SEARS, 1997). Daher ist die hauptsächliche Unterbringung von Fohlen und Jungpferden in Boxenhaltung, wie es laut Angaben der Pferdebesitzer bei 11,3% der Pferde der Fall war, als kritisch zu sehen. Es ist anzunehmen, dass die Anzahl der in der Aufzucht derartig gehaltenen Pferde sogar noch höher liegt, da in rund

40% der Fälle den Pferdebesitzern die Haltungsform ihres Pferdes in der Aufzucht nicht bekannt war.

Die Haltungsoptimierung ist nachweislich immer der wichtigste Baustein der COB-Therapie (MCGORUM et al., 1993b; VANDENPUT et al., 1998b; COUËTIL und WARD, 2003) und allein durch eine reine Weidehaltung lässt sich die Lungenfunktion COB-kranker Pferde innerhalb von drei Tagen verbessern (JACKSON et al., 2000). Im Umkehrschluss sollte auch bei lungengesunden Pferden während der Aufzuchtphase eine reine Boxenhaltung vermieden werden, um dem Auftreten von Lungenerkrankungen im späteren Leben vorzubeugen.

Der Gewährleistung eines optimalen Stallklimas in der Aufzuchtphase muss auch deshalb hohe Priorität eingeräumt werden, um das Auftreten von viralen Atemwegsinfektionen in der Jugend möglichst zu vermeiden, da sich durch diese das Risiko der Ausprägung einer späteren COB-Erkrankung nachweislich erhöht (GERBER, 1973; HOTCHKISS et al., 2007). Gemäß den eigenen Ergebnissen ging der COB-Erkrankung in 15% der Fälle eine Atemwegserkrankung mit Fiebersymptomatik voraus. Eine Studie aus dem Jahr 1995 kam zu dem Ergebnis, dass in nahezu einem Viertel aller Fälle (24,3%), in denen Lungenerkrankungen beim Pferd auftraten, diesen eine infektiöse Lungenerkrankung vorausging (DIXON et al., 1995). Möglicherweise fällt das selbst ermittelte Ergebnis geringer aus, da einerseits milde Atemwegsinfekte mit Fieber von den Pferdebesitzern nicht als solche erkannt worden sein könnten und zum anderen bei sehr lange zurückliegenden Ereignissen das Erinnerungsvermögen der Pferdebesitzer zum Teil beeinträchtigt ist (MURRAY et al., 2004).

### 5.2.1.3 Impfregime und Auftreten von Impfreaktionen

Die Anzahl der Pferde, die keine Schutzimpfungen gegen das equine Herpes- und Influenzavirus mehr erhielten, erhöhte sich nach Diagnosestellung der COB-Erkrankung um 18%. Eine Beendigung der Durchführung von Schutzimpfungen bei COB-kranken Pferden ist in mehrerer Hinsicht als kritisch zu bewerten. Aufgrund der dieser Erkrankung zugrundeliegenden Pathomechanismen sind COB-Patienten vermutlich generell anfälliger für die Manifestation von Atemwegserkrankungen als gesunde Pferde. Ein ausreichender Impfschutz gegen

virale Atemwegsinfekte ist daher als wichtig und sinnvoll anzusehen (AINSWORTH und CHEETHAM, 2010). Außerdem zeigte eine zu diesem Thema durchgeführte Studie, dass COB-krankte Pferde kein höheres Risiko für das Auftreten von Impfreaktionen haben und die Durchführung von Schutzimpfungen keine negativen klinischen und zytologischen Effekte bei COB-kranken Pferden hervorruft (DIXON et al., 1996). Anhand der eigenen Ergebnisse lässt sich diese These ebenfalls bestätigen. Es konnten zwar 12,8% der Pferdebesitzer keine Angaben zum Auftreten von Impfreaktionen bei ihren Pferden machen, die überwiegende Mehrheit der Pferdebesitzer (64,7%) aber gab an, dass kein Zusammenhang zwischen der Durchführung von Impfungen und dem Auftreten von Krankheitssymptomen bei ihren Pferden beobachtet werden konnte. Im Falle der restlichen 22,6% der Pferde, bei denen Krankheitssymptome nach Vaccinationen von den Pferdebesitzern beobachtet wurden, sind verschiedene Ursachen denkbar. Möglicherweise beruhen die gezeigten Krankheitssymptome auf einer veränderten Immunantwort im Bereich des Lungengewebes (TAYLOR, 1989), es wird aber auch die Möglichkeit der Auslösung einer impfinduzierten COB-Exazerbation diskutiert (MAIR, 1988). Hierbei ist zu bedenken, dass die in den achtziger Jahren durchgeführten Studien nicht unter Verwendung der heutzutage üblichen Subunit (ISCOM)-Impfstoffe durchgeführt worden sind. Ob durch die neue Generation der heute verwendeten Impfstoffe die Auslösung einer Exazerbation der COB-Erkrankung möglich ist, muss noch untersucht werden. Womöglich handelt es sich in diesen Fällen aber auch um Fehlinterpretationen der Pferdebesitzer, die gegenüber dem Auftreten möglicher Nebenwirkungen von Impfungen voreingenommen waren und deshalb bereits bestehende Krankheitssymptome bei ihren Pferden als eine Nebenwirkung der Impfung bewerteten.

#### 5.2.1.4 Entwurmungsregime

Bezüglich eines möglichen Zusammenhanges zwischen dem Verwurmungsgrad eines Pferdes und seinem Risiko, eine COB-Erkrankung zu entwickeln, bestehen unterschiedliche Thesen.

Laut der Hygiene-Hypothese (STRACHAN, 1989), die auch anhand neuerer Forschungsergebnisse belegbar ist (MCKAY, 2006), senkt der Kontakt zu Bakterien, Viren und Parasiten in früher Kindheit das Risiko, an Allergien und Asthma zu erkranken. Analog bedeutet dies, dass der Einsatz der heutigen, sehr potenten Anthelminthika und ein verminderter parasitärer Infektionsdruck durch Hygienemaßnahmen dazu führt, dass das Risiko für das Auftreten von COB-Erkrankungen bei Pferden zunimmt (NEUHAUS et al., 2010). Die eigene Umfrage ergab, dass fast 80% (79,4%) der Pferde, unabhängig vom Verwurmungsgrad, alle drei Monate antiparasitär behandelt werden. Folgt man der Hygiene-Hypothese, wäre es möglich, dass die gängige Entwurmungspraxis zu einer Erhöhung der Inzidenz von COB-Erkrankungen in Deutschland geführt haben könnte. Eine routinemäßige Durchführung von Entwurmungen ist auch in Hinblick auf die Ausbildung von Resistenzen als kritisch anzusehen. Ein zeitgemäßes Entwurmungsmanagement sollte daher immer auch die Durchführung von parasitologischen Kotproben beinhalten. Für die Durchführung von Entwurmungen ist die Umsetzung des Konzeptes eines neuen Forschungsprojektes zu empfehlen, welches eine selektive Entwurmung propagiert, bei der ausgehend von der pro Gramm Kot ausgeschiedenen Menge an Wurmeiern individuell auf das Pferd abgestimmt therapiert wird (MENZEL, 2012).

Eine andere, weniger erforschte Theorie aus der humanmedizinischen Forschung geht davon aus, dass dieselben genetischen Determinanten, die an einer Resistenz gegenüber parasitären Infektionen beteiligt sind, ebenso für das Auftreten allergischer Erkrankungen verantwortlich sein könnten (BARNES et al., 2005). Diese Theorie wird auch von einer tiermedizinischen Studie gestützt, die zeigte, dass RAO-kranke Pferde unter denselben Haltungsbedingungen deutlich weniger Wurmeier pro Gramm Kot ausscheiden als ihre lungengesunden Weidegenossen (NEUHAUS et al., 2010).

#### 5.2.1.5 Dauer und Art der Bewegungsmöglichkeit

In Hinblick auf den Zusammenhang zwischen dem Risiko einer COB-Erkrankung und der auf der Weide verbrachten Zeitdauer herrscht Uneinigkeit zwischen

verschiedenen Autoren. Manche Autoren sehen keinen Zusammenhang zwischen der auf der Weide verbrachten Zeitdauer und dem Erkrankungsrisiko (RAMSEYER et al., 2007), andere gehen von einem verminderten Krankheitsrisiko ab einer Weidedauer von über 15 Stunden aus (HOTCHKISS et al., 2007). Laut den eigenen Ergebnissen wird der Wert von 15 Stunden Weidedauer im Frühjahr, Sommer und Herbst nahezu erreicht ( $14,770 \text{ h} \pm 0,5238$ ) und scheint als alleinige Maßnahme nicht ausreichend zu sein, um das Auftreten einer COB-Erkrankung zu verhindern. Diese Ergebnisse bestätigen darüber hinaus die These, dass auch nur kurzzeitiger Staubkontakt eine COB-Exazerbation auslösen kann (DERKSEN et al., 1985; PIRIE et al., 2002).

Sofern im Winter die im Freien verbrachte Zeitdauer 80% überschreitet, soll dies ein erhöhtes Risiko für das Auftreten einer COB-Erkrankung mit sich bringen (ROBINSON et al., 2006).

Die eigenen Ergebnisse (sofern überhaupt Erkenntnisse über die frühere Haltungform bei den betroffenen Pferden vorlagen) zeigen, dass sich durch eine hauptsächliche Weidehaltung im Fohlenalter, die am häufigsten praktiziert wurde, der Ausbruch einer COB-Erkrankung anscheinend nicht verhindern lässt.

### *5.2.2 Diskussion der von den Tierärzten durchgeführten Diagnostik und Therapie der COB-Erkrankung*

#### *5.2.2.1 Art der Diagnosestellung durch den behandelnden Tierarzt*

Das von den Tierärzten am häufigsten verwendete diagnostische Verfahren war mit 68,8% die Auskultation. Als alleiniges diagnostisches Verfahren ist die Auskultation jedoch nicht ausreichend, da die Auskultationsbefunde zum Teil nur während der akuten Exazerbationen verändert sind (RUSH und MAIR, 2004), sich das Initialstadium der Krankheit anhand des Auskultationsbefundes nicht diagnostizieren lässt und gerade in hochgradigen Fällen die Auskultationsbefunde deutlich hinter dem Schweregrad der Erkrankung zurückbleiben (NAYLOR et al., 1992). Klinische Symptome wurden in 54,5% und die Anamneseerhebung in 42,9% der Fälle als diagnostisches Kriterium herangezogen. Da es sich bei der COB-Erkrankung immer um eine Ausschlussdiagnose handelt, ist dieses Vorgehen als unzureichend zu bewerten. Nur anhand einer endoskopischen

Untersuchung inklusive der Entnahme von TBS und dessen zytologischer Untersuchung lässt sich die COB-Erkrankung von infektiösen Atemwegserkrankungen abgrenzen (FEY, 2006). Die endoskopische Entnahme von Tracheobronchialsekret lässt sich auch ambulant gut durchführen und sollte bei der Abklärung jedes potentiellen COB-Patienten durchgeführt werden. Dies ist auch in Hinblick auf die Prognose und Durchführung einer gezielten Therapie unerlässlich (MAY und GEHLEN, 2009). Daher ist es absolut unverständlich, dass in 28,9% der Fälle zwar eine Endoskopie, aber keine Entnahme von TBS von den Tierärzten durchgeführt worden ist. Diesbezüglich sollte unbedingt ein Umdenken seitens der Tierärzteschaft erfolgen, um den neuesten wissenschaftlichen Erkenntnissen Rechnung zu tragen.

Als positiv zu bewerten ist der Umstand, dass in 30,5% der Fälle eine arterielle Blutgasanalyse durchgeführt worden ist. Dieses Untersuchungsverfahren stellt eine sinnvolle Ergänzung zur endoskopischen Untersuchung dar und ermöglicht ebenfalls die Beurteilung des vorliegenden Schweregrades der COB-Erkrankung (GRABNER, 2005).

In 23,7% der Fälle wurde als weiteres diagnostisches Verfahren ein Allergietest durchgeführt. Zum jetzigen Zeitpunkt liegt nach Kenntnis der Autorin noch kein Allergietest vor, anhand dessen eine eindeutige Diagnosestellung erfolgen könnte bzw. anhand dessen sich die für die Krankheitssymptome verantwortlichen Allergene eindeutig identifizieren lassen. Keiner der auf dem Markt befindlichen *in vitro* Allergietests, weder der Allercept<sup>TM</sup>- noch der Cast®-Test, ermöglichen eine Diagnosestellung der RAO-Erkrankung bzw. eine sichere Identifizierung der auslösenden Allergene. Im Cast®-Test zeigten nur 4 der 13 getesteten, RAO-kranken Patienten ein positives Ergebnis und bei der Durchführung des Allercept<sup>TM</sup>-Test reagierten die Kontrollpferde häufiger mit ELISA positiven Reaktionen als die an RAO-erkrankten Pferde (TAHON et al., 2009).

### 5.2.2.2 Art, Umfang und Beibehaltung der haltungsoptimierenden Maßnahmen und Notwendigkeit einer Dauermedikation

Die von den Pferdebesitzern ergriffenen, haltungsverbessernden Maßnahmen sind in ihrer Art alle als richtig und sinnvoll zu bewerten. Als positiv zu bewerten ist darüber hinaus, dass in über der Hälfte der Fälle (53,4%) die Maßnahmen auch ununterbrochen beibehalten wurden. Jedoch muss den Pferdebesitzern von vornherein verdeutlicht werden, dass es auch unter optimalen Haltungsbedingungen in fast der Hälfte aller Fälle zu Krankheitsrückfällen kommt (DIXON et al., 1995), um einem Abweichen vom gewählten Haltungssystem aus Unzufriedenheit über die mangelnde prophylaktische Wirkung in Bezug auf das erneute Auftreten von Exazerbationen vorzubeugen.

Als kritisch zu bewerten ist eine Beibehaltung nur bestimmter Maßnahmen (14,7%), bzw. eine diskontinuierliche Beibehaltung der haltungsverbessernden Maßnahmen (13,9%) oder gar nur eine Beibehaltung der Maßnahmen bis zum Abklingen der Krankheitssymptome (1,5%). Der immensen Bedeutung der Beibehaltung der haltungsverbessernden Maßnahmen sollte daher von jedem behandelnden Tierarzt durch eine detaillierte Erläuterung der der COB-Erkrankung zugrundeliegenden Pathomechanismen und ein ausführliches Beratungsgespräch als Grundstein eines jeden Therapieversuches Rechnung getragen werden.

Vermutlich ist die konsequente Beibehaltung der haltungsverbessernden Maßnahmen als ursächlich dafür anzusehen, dass in 31,7% der Fälle die Patienten ohne medikamentöse Therapie symptomfrei gehalten werden können. In 53,3% der Fälle erhielten die Pferde beim erneuten Auftreten der Symptome Medikamente und nur in 15,1% der Fälle standen die Pferde unter einer Dauermedikation. Eine sofortige Therapie beim Auftreten von Krankheitssymptomen ist empfehlenswert, da die Pferde ansonsten rund 8 Wochen unter Krankheitssymptomen leiden (Kapitel 2.1.6.1). Eine Dauermedikation erscheint in weit fortgeschrittenen Krankheitsstadien, in denen es bereits zu irreversiblen Umbauvorgängen im Bereich des Lungengewebes gekommen ist, gerechtfertigt.



### 5.2.2.3 Art der durchgeführten schulmedizinischen Therapie und Bewertung des Therapieerfolges

Ein langfristiger Therapieerfolg kann bei der Behandlung der COB-Erkrankung nur durch eine Kombination aus medikamentöser Therapie und haltungsverbessernden Maßnahmen erzielt werden (MCGORUM et al., 1993b; VANDENPUT et al., 1998b; COUËTIL und WARD, 2003). Die eigenen Ergebnisse bestätigen diese These, da in 42,9% der Fälle die Kombination von medikamentöser Therapie und Haltungsoptimierung von den Pferdebesitzern als Vorgehen mit dem besten therapeutischen Erfolg bewertet wurde. Darüber hinaus wurde in 34,6% der Fälle eine reine Haltungsoptimierung als bester therapeutischer Ansatz eingestuft. Dieses Ergebnis deckt sich mit dem einer Studie, in welcher gezeigt werden konnte, dass COB-kranke Pferde durch eine reine Haltungsoptimierung innerhalb von vier bis vierundzwanzig Tagen asymptomatisch werden (THOMSON und MCPHERSON, 1984). Lediglich in 12,8% der Fälle wurde eine rein medikamentöse Therapie von den Pferdebesitzern als am wirkungsvollsten angesehen. Möglicherweise handelt es sich aber in diesen Fällen um milde Formen der COB-Erkrankung, da in weiter fortgeschrittenen Krankheitsstadien eine alleinige medikamentöse Therapie selten anspricht (DURHAM, 2001).

Da es sich bei der COB-Erkrankung um eine chronische Krankheit handelt, die zum Teil zu einem immens hohen Leidensdruck bei den betroffenen Pferden und deren Besitzern führt, sollte die Wahl geeigneter Therapieverfahren durch den Pferdepraktiker immer auf Grundlage der „Evidence-Based Veterinary Medicine“ (EBVM) erfolgen. Die Durchführung beweisgestützter Therapieverfahren bietet die größtmögliche Aussicht auf eine erfolgreiche Therapie der jeweiligen Erkrankung. Eine Therapie im Sinne der EBVM stützt sich auf die individuelle Bewertung des Patienten durch den Praktiker (WILLIAMSON und DAVIS, 2007) und gleichzeitig auf die Kenntnis aktueller Forschungsergebnisse, die in qualitativ hochwertigen, sogenannten „Peer-Review-Studien“ gewonnen wurden.

In einer Peer-Review-Studie werden die ermittelten Forschungsergebnisse vor der Publikation von Kollegen, die auf demselben Forschungsgebiet tätig sind, überprüft.

Als qualitativ hochwertig werden nur Studien bewertet, die nach dem Zufallsprinzip, verblindet und unter Zuhilfenahme einer Kontrollgruppe durchgeführt worden sind und deren Einschlusskriterien für die teilnehmenden Patienten eindeutig waren (COUËTIL, 2009). Die medikamentöse Therapie der COB-Erkrankung muss immer in Kombination mit haltungsoptimierenden Maßnahmen durchgeführt werden, da diese langfristig gesehen den größten therapeutischen Effekt bewirken. Die Therapieformen, deren Wirksamkeit zur Behandlung der COB-Erkrankung „EBVM-konform“ belegt ist, sind die Behandlung mit Kortikosteroiden und  $\beta_2$ -Sympatomimetika. Kortikosteroide sind die effektivsten Therapeutika für die Kontrolle klinischer Symptome (WILLIAMSON und DAVIS, 2007; GERBER et al., 2011). Die Anwendung von Kortikosteroiden, die laut den eigenen Ergebnissen in 24,4% der Fälle oral bzw. in 44,4% der Fälle per Injektion erfolgte, ist daher als absolut gerechtfertigtes therapeutisches Vorgehen anzusehen. Eine Verbesserung der Krankheitssymptome tritt bei Kortikosteroidtherapie innerhalb weniger Stunden ein (CORNELISSE et al., 2004), mit dem Erreichen der maximal möglichen, bronchospasmolytischen Wirkung ist frühestens nach sieben Tagen zu rechnen (GIGUÈRE et al., 2002; LAVOIE et al., 2002). Eine nachweisliche Reduktion des IL-8-Spiegels in der BALF lungenkranker Pferde konnte nur durch eine Kombination aus Kortisontherapie und Haltungsoptimierung erzielt werden (GIGUÈRE et al., 2002; DELUCA et al., 2008).

Die Verabreichung von Clenbuterol, die laut den eigenen Ergebnissen in 62% der Fälle bzw. in 48,9% der Fälle in Form eines Kombinationspräparates mit Dembrexin erfolgte, verbessert die klinischen Symptome in rund 75% aller Fälle (ERICHSEN et al., 1994). Neben seiner bronchodilatatorischen Wirkung erhöht Clenbuterol darüber hinaus die Rate der mucoziliären Clearance (KIELY und JENKINS, 1985; TURGUT und SASSE, 1989) und weist bei intravenöser Verabreichung (zur Zeit kein zugelassenes Präparat auf dem deutschen Markt) auch eine antiinflammatorische Komponente auf (LAAN et al., 2006; VAN DEN HOVEN et al., 2006).

Eine Verabreichung von Medikamenten per Inhalationstherapie, welche in fast der Hälfte der Fälle (47%) durchgeführt wurde, bietet als Vorteile das Erreichen einer hohen Medikamentenkonzentration im betroffenen Gewebe, eine deshalb

geringere benötigte Medikamentendosis und einen schnelleren Wirkungseintritt. Die Inhalationstherapie ermöglicht die Verwendung potenterer Wirkstoffe, da das Risiko für das Auftreten von Nebenwirkung bei lokaler Anwendung geringer ist als bei systemischer Anwendung (DURHAM, 2001). Es konnte gezeigt werden, dass die Inhalationstherapie mit Fluticason über eine Zeitdauer von 11 Monaten beim Pferd keine Nebenwirkungen sowie keine nachweisbare Wirkung auf das Immunsystem in Bezug auf die Reaktion gegenüber Pathogenen oder Impfstoffen hervorruft (DAUVILLIER et al., 2011). Forschungsergebnisse aus der Humanmedizin belegen außerdem, dass bei frühzeitigem Therapiebeginn mit einem inhalativen Kortison langfristig geringere Dosen zur Kontrolle der Asthmaerkrankung ausreichend sind (AGERTOFT und PEDERSEN, 1994; SELROOS et al., 2004). Im veterinärmedizinischen Bereich gibt es zu dieser Thematik keine vergleichbaren Untersuchungen, dennoch sollten diese Erkenntnisse aufgrund der ähnlichen Pathophysiologie der Asthma- und der COB-Erkrankung sowohl bei der Wahl der geeigneten Therapie berücksichtigt werden als auch im Rahmen tiermedizinischer Forschungsprojekte überprüft werden.

Die Inhalationstherapie mit kurz- oder langwirkenden  $\beta_2$ -Sympatomimetika führen zu einer signifikanten Abnahme des Atemwegswiderstandes (CAMARGO et al., 2007; BERTIN et al., 2011). Bei vorliegender Therapieresistenz gegenüber systemisch verabreichten  $\beta_2$ -Sympathomimetika lässt sich durch die inhalative Anwendung dieser oftmals eine Verbesserung der klinischen Symptomatik erzielen (DURHAM, 2001).

Die Anwendung von Sekretolytika, die laut den eigenen Ergebnissen in 75,6% der Fälle durchgeführt wurde, ist als alleinige therapeutische Maßnahme als ungenügend anzusehen, da sie weder die im Rahmen der COB-Erkrankung immer vorliegende Entzündungsreaktion, noch die Bronchokonstriktion (WILLIAMSON und DAVIS, 2007) zu verbessern mag. Als begleitende Therapie erscheint die Anwendung von Sekretolytika sinnvoll, da diese die wässrige Sekretion des Bronchialepithels erhöhen und dadurch die Sekretablösung von den Wänden der Atemwege beschleunigen (FEY, 2006).

Darüber hinaus konnte in einer humanmedizinischen Studie nachgewiesen werden, dass die Verabreichung von Sekretolytika das Risiko für das Auftreten von Exazerbationen bei COPD-Patienten senkt (POOLE und BLACK, 2001). Bei der Fragestellung ob sich dieses Phänomen auch auf COB-krankte Pferde übertragen lässt, besteht Forschungsbedarf.

In 18,4% der Fälle wurde die COB-Erkrankung mit einer Hyperinfusionstherapie behandelt. Eine Peer-Review-Studie zu diesem Thema zeigte, dass die intravenöse Verabreichung von 30 Litern 10% Kochsalzlösung die Atemmechanik deutlich verschlechtert und auch bis zu zehn Tage nach der Therapie keine Verbesserung der klinischen Symptomatik bzw. der Lungenfunktion eintritt (JEAN et al., 2004). Durch die Hyperinfusionstherapie wurden bei den gesunden Kontrolltieren Bronchospasmen hervorgerufen und bei den lungenkranken Pferden nahm der Grad des vorliegenden Bronchospasmus noch weiter zu (JEAN et al., 2004). Im Rahmen der intravenösen Hyperinfusionstherapie ist es anekdotisch zu Todesfällen durch Auftreten eines akuten Schockgeschehens gekommen (WEILER und JACH, 1989), bei Durchführung der Hyperinfusionstherapie per Nasenschlundsonde wurde bisher noch nicht über das Auftreten von schweren Nebenwirkungen berichtet (FEY, 2010). In einer an der Universität Gießen durchgeführten Studie konnte gezeigt werden, dass sich bereits nach einwöchiger oraler Therapie mit Kortikosteroiden und  $\beta_2$ -Sympatomimetika dieselben Atemwegsparemeter positiv beeinflussen lassen wie bei oraler medikamentöser Therapie und zusätzlicher Hyperinfusionstherapie bei zehntägiger Therapiedauer (FEY, 2005). In der aktuellen deutschsprachigen Literatur wird von positiven Effekten der Hyperinfusionstherapie als Ergänzung zu Haltungsoptimierung und oraler Therapie mit Kortikosteroiden und  $\beta_2$ -Sympatomimetika berichtet (EHMANN, 2011). Es konnte aber bisher noch nicht der eindeutige Nachweis für den zusätzlichen therapeutischen Effekt der Hyperinfusionstherapie erbracht werden (FEY, 2010). Aufgrund des hohen Nebenwirkungsrisikos und der nicht eindeutig erwiesenen, positiven Wirkung der Hyperinfusionstherapie sollte anderen, neuartigen Therapieverfahren, wie beispielsweise der Inhalationstherapie unter Verwendung moderner Ultraschallvernebler, der Vorzug gegenüber dieser Therapieform gegeben werden.

#### 5.2.2.4 Auftreten von und Art der gezeigten unerwünschten Nebenwirkungen

Im Rahmen der COB-Therapie wurde von den Pferdebesitzern in rund 20 % der Fälle über das Auftreten von unerwünschten Nebenwirkungen berichtet. Obwohl bei der Umfrage explizit nach dem auslösenden Agens gefragt wurde (Anhang 9.2, Frage 25, S.191), gaben die Pferdebesitzer nur die Art der gezeigten Nebenwirkungen aber nicht das verursachende Medikament an. Möglicherweise war die Frage nach der auslösenden Behandlung missverständlich formuliert und es hätte explizit nach dem auslösenden Medikament gefragt werden sollen. Eine wissenschaftliche Aufarbeitung der beschriebenen Nebenwirkungen ist daher im Rahmen dieser Arbeit nicht möglich, da eine mutmaßliche Zuordnung der beschriebenen Nebenwirkungen zu den eingesetzten Therapeutika der Autorin nicht sinnvoll erscheint. Wie bereits mehrfach erwähnt bietet der Einsatz der Inhalationstherapie in Bezug auf unerwünschte Nebenwirkungen deutliche Vorteile gegenüber der herkömmlichen Therapie, da aufgrund der lokalen Wirkung eine Dosisreduktion möglich ist (DURHAM, 2001; NIEDERMAIER und GEHLEN, 2009). Ergänzend ist anzumerken, dass die beschriebenen Nebenwirkungen wie vermehrtes Schwitzen, eine reduzierte Leistungsfähigkeit und reduzierter Appetit auch Symptome der Grunderkrankung darstellen könnten.

#### 5.2.2.5 Durchführung und Erfolg alternativer Therapieverfahren

In Ergänzung zu den schulmedizinischen Therapieverfahren ließ ein Großteil der Pferdebesitzer auch alternative Therapien bei ihren Pferden durchführen, lediglich in 12,8% der Fälle wurde gänzlich auf alternative Therapien verzichtet. Der Großteil der Pferde erhielt ergänzend Hustenkräuter (69,2%), fast die Hälfte der Patienten (49,2%) wurde homöopathisch behandelt, 35,7% der Pferde erhielten eine Akupunkturbehandlung, 14,4% eine chiropraktische Behandlung und 10,2% eine Bachblütentherapie.

Bisher gibt es für keine der alternativen Therapiemethoden Studien, die den Kriterien der EBVM entsprechen. Bezüglich der Wirkung von Hustenkräutern konnte in einer Studie, die an lediglich fünf Pferden durchgeführt wurde, eine positive Wirkung von Thymian und Sumpfdotterblume in 38% der Fälle erzielt werden. Die Compliance der Lunge, der Lungendruck und der

Atemwegswiderstand verbesserten sich signifikant, nicht jedoch der Sauerstoffpartialdruck und die klinische Symptomatik (VAN DEN HOVEN et al., 2003).

Zur Wirksamkeit der Akupunktur im Rahmen der COB-Therapie gibt es unterschiedliche Ergebnisse. Eine an der Universität Gießen durchgeführte Studie zeigte, dass sich durch die Laserakupunktur eine der oralen Arzneitherapie vergleichbare Wirkung erzielen lässt. Es konnte darüber hinaus durch die Laserakupunktur bei den klinischen Parametern sogar ein signifikant stärkerer Behandlungseffekt erzielt werden als bei der oralen Arzneimitteltherapie (REITZ, 2006). Aufgrund des Studienprotokolls entspricht diese Studie jedoch nicht den Kriterien der EBVM. Eine EBVM-konforme Studie kam zu dem Schluss, dass sich die durch eine Akupunkturbehandlung erzielten Verbesserungen des klinischen Bildes ebenso durch ein bloßes Handling der Patienten erzielen lassen (WILSON et al., 2004).

Zur Wirkung einer homöopathischen oder chiropraktischen Therapie bzw. einer Bachblütentherapie zur Behandlung der COB-Erkrankung liegen keine wissenschaftlichen Studien vor. Jedoch bewerteten die Pferdebesitzer den Therapieerfolg alternativer Therapien in 20,3% der Fälle als schlechter, in 26,7% der Fälle als gleichwertig und in 18% der Fälle sogar als besser als den mit einer schulmedizinischen Therapie erzielten Therapieerfolg. Da Pferdebesitzer nachweislich das Ansprechen ihres Pferdes auf therapeutische Maßnahmen besser bewerten können als Tierärzte (GERBER et al., 2011), sollte die positive Bewertung alternativer Therapien durch die Pferdebesitzer als Anreiz dienen, die Wirksamkeit dieser Therapieverfahren in wissenschaftlichen, EBVM-konformen Studien näher zu untersuchen.

#### 5.2.2.6 Zufriedenheit der Pferdebesitzer mit der Betreuung durch ihren Tierarzt

Der Großteil der Pferdebesitzer (63,5%) war mit der Betreuung durch ihren Tierarzt zufrieden. Nur in 22,2% der Fälle waren die Pferdebesitzer unzufrieden bzw. machten in 14,3% der Fälle keine Angaben über ihre Zufriedenheit. Der häufigste Grund für die Unzufriedenheit war in über der Hälfte der Fälle (56,4%) das Ausbleiben eines Therapieerfolges. Die Prognose eines möglichen

Therapieerfolges sollte immer in Abhängigkeit vom bereits vorliegenden Schweregrad der COB-Erkrankung beim jeweiligen Patienten gestellt werden. In diesem Zusammenhang muss seitens der Tierärzteschaft eventuell noch eindeutiger kommuniziert werden, dass es sich bei der COB-Erkrankung um eine chronische, vermutlich progressiv verlaufende Erkrankung handelt. Das Auftreten von Exazerbationen kommt laut den eigenen Ergebnissen bei rund 70% aller COB-Patienten vor und stellt somit leider mehr den Regelfall als eine Ausnahmeerscheinung dar. Dieser Sachverhalt sollte den Pferdebesitzern unbedingt vor Augen geführt werden, damit die für die COB-Erkrankung pathognomischen Krankheitsschübe nicht fälschlicherweise als Therapieversagen bewertet werden. Außerdem muss den Pferdebesitzern unmissverständlich klar gemacht werden, dass nur durch eine konsequente und kontinuierliche Umsetzung der empfohlenen haltungsverbessernden Maßnahmen ein langfristiger Therapieerfolg überhaupt möglich ist (MCGORUM et al., 1993b; VANDENPUT et al., 1998b; COUËTIL und WARD, 2003). Bei Ausbleiben des Therapieerfolges sollten daher zunächst immer die Durchführung und korrekte Umsetzung der haltungsoptimierenden Maßnahmen überprüft werden.

In rund einem Viertel der Fälle (25,6%) waren die Pferdebesitzer aufgrund einer schlechten Beratung bzw. ungenügender Diagnostik und in 17,9% aufgrund der Stellung von Fehldiagnosen unzufrieden mit der Betreuung durch ihren Tierarzt. Es wäre in diesem Zusammenhang wünschenswert, dass die behandelnden Tierärzte COB-kranker Pferde selbstkritisch hinterfragen, ob sie sich immer ausreichend Zeit für die Beratung der Pferdebesitzer nehmen und alle erforderlichen diagnostischen Untersuchungen, sofern sie diese selbst durchführen können, realisiert haben. Möglicherweise wird die Überweisung von COB-Patienten in spezialisierte Pferdekliniken von den Pferdebesitzern positiver aufgenommen als eine nur ungenügend durchgeführte Diagnostik im heimatlichen Stall.

### 5.2.3 COB-Exazerbationen

#### 5.2.3.1 Auftreten von Exazerbationen

Gemäß den Angaben der Pferdebesitzer traten bei ihren Pferde in rund 70% der Fälle Krankheitsschübe auf. Ein ähnliches Ergebnis erzielte auch eine Studie der Universität Cornell aus dem Jahr 2001, die bei 79% aller untersuchten Patienten Exazerbationen nachwies. Um die Diagnose „COB in Exazerbation“ stellen zu können müssen dieselben Kriterien erfüllt sein wie beim erstmaligen Auftreten der Krankheit (ROBINSON, 2001a). Das Auftreten von Exazerbationen im Zusammenhang mit einem nur unzureichend ausgeführten Haltungsmanagement oder bei Wetterumschwüngen ist typisch für die COB-Erkrankung (AINSWORTH, 2010). Laut einer Studie der Universität von Edinburgh treten jedoch auch unter optimalen Haltungsbedingungen bei 47% der COB-kranken Pferde Exazerbationen auf (DIXON et al., 1995).

Beim erstmaligen Auftreten der COB-Erkrankung blieb das Krankheitssymptom Husten über rund sieben Wochen ( $7,38 \pm 0,582$ ) und im Rahmen von Exazerbationen blieben Krankheitssymptome über rund acht Wochen ( $8,42 \pm 0,865$ ) bestehen. Dies zeigt, dass nicht mit einer schnellen Genesung gerechnet werden kann, sobald es zu einem Krankheitsschub gekommen ist. In der Konsequenz bedeutet dies, dass den Pferdebesitzern unmissverständlich klar gemacht werden muss, dass der Vermeidung erneuter Krankheitsschübe oberste Priorität eingeräumt werden muss.

In 30% der Fälle gaben die Pferdebesitzer an, dass bei ihren Pferden keine Exazerbationen aufgetreten seien. Ob es sich bei diesem Teil der Patienten um Pferde handelt, die durch Haltungsverbesserungen symptomfrei geworden sind bzw. deren Krankheitssymptome ausschließlich subklinischer Natur waren oder um Pferde, deren milde Krankheitssymptome von den Pferdebesitzern übersehen wurden, lässt sich nicht eindeutig beantworten.



### 5.2.3.2 Auslösende Faktoren für Exazerbationen bzw. für eine Zunahme der Krankheitssymptome

In über der Hälfte der Fälle (52,3%) wurden Exazerbationen durch den Kontakt zu trockenem Heu ausgelöst, in jeweils 32,7% der Fälle durch die Verwendung von Stroh als Einstreu oder durch warmes Wetter, sowie in 24,4% der Fälle durch die Aufstallung in Boxenhaltung.

Die eigenen Ergebnisse unterstreichen einmal mehr, dass eine staubfreie Unterbringung der COB-Patienten der bedeutendste Faktor für einen Therapieerfolg ist (MCGORUM et al., 1993b; VANDENPUT et al., 1998b; COUËTIL und WARD, 2003). Konsequenterweise sollte daher auch auf die Verabreichung von Futterstroh, welches in 23,7% der Fälle zu Exazerbationen führte, bzw. auf eine Unterbringung in der Nähe von Heulagerflächen, die in 18% der Fälle zu Exazerbationen führte, verzichtet werden. Gemäß einer Studie wird der positive Effekt von haltungsverbessernden Maßnahmen durch Lagerung von Heu und Stroh in unmittelbarer Nähe völlig zu Nichte gemacht (ART et al., 2002). Durch die Verwendung von Sägespänen als alleiniges Einstreumaterial und die ausschließliche Verfütterung von nassem Heu wird der Allergenkontakt deutlich vermindert und die Staubbelastung lässt sich so auf nur noch 3% der in herkömmlichen Haltungssystemen üblichen Staubbelastung reduzieren (WOODS et al., 1993). Durch Einweichen des Heus über einen Zeitraum von 30 Minuten lässt sich die Anzahl alveolengängiger Partikel um 90% verringern (CLEMENTS und PIRIE, 2007). Die von Pferdebesitzern oftmals geäußerte Sorge, dass eine alleinige Veränderung der Haltungsbedingungen ihres Pferdes in einem Stall mit mehreren Strohboxen nicht ausreichend sein könnte, ist nachweislich unbegründet. In einem aus vier Boxen bestehenden Stallabteil lässt sich durch die alleinige Veränderung der Einstreu und des Fütterungsregimes in der Box des COB-kranken Pferdes dessen Lungenfunktion innerhalb von drei Tagen verbessern (JACKSON et al., 2000).

Die Beobachtung der Pferdebesitzer, dass Husten vermehrt zu Beginn (21,1%) bzw. am Ende der Belastung (3,4%) bei ihren Pferden auftrat, ist vermutlich durch die Zunahme der Atemwegsclearance bei Bewegung zu erklären (MAY und GEHLEN, 2009), die zu einem vermehrten Abhusten führt.

Stresssituationen führten seltener zu Exazerbationen (5,3% der Fälle). In den genannten Fällen muss auch in Erwägung gezogen werden, dass die Stresssituation zu einer Schwächung des Immunsystems geführt haben könnte und es sich in diesen Fällen nicht um COB-Exazerbationen handelte, sondern um akute, bakterielle bzw. virale Atemwegsinfekte, für welche COB-Patienten generell ein erhöhtes Risiko aufweisen (AINSWORTH und CHEETHAM, 2010).

### 5.2.3.3 Jahreszeitliche Häufungen von COB-Exazerbationen

Die eigenen Ergebnisse zeigen, dass bei den COB-Patienten Exazerbationen bei warmem Wetter in 32,7% der Fälle und bei kaltem Wetter in nur 16,9% der Fälle auftraten. Dies steht im Einklang damit, dass COB-Schübe am häufigsten im Frühjahr (65% der Fälle) auftreten.

In einer Studie zur Pferdepopulation in Michigan konnte gezeigt werden, dass das Risiko für das Auftreten von Atemwegserkrankungen im Monat Mai sechsfach erhöht ist. Die Autoren führen diese Erhöhung auf einen vermehrten Kontakt zu Infektionserregern zurück, der durch die Teilnahme an Turnieren oder Zuchtschauen bedingt ist (KANEENE et al., 1997). Sowohl beim Menschen (EMPEY et al., 1976) als auch beim Kalb (REINHOLD et al., 2000) konnte nachgewiesen werden, dass im Anschluss an klinisch apparente Atemwegsinfektionen eine lange andauernde, unspezifische Hyperreagibilität der Atemwege auftritt. Möglicherweise führen akute Atemwegsinfekte auch beim Pferd zu einer Zunahme der im Rahmen der COB-Erkrankung bereits bestehenden Atemwegshyperreagibilität (FEY, 2006). Das Ausmaß der Hyperreagibilität der Atemwege lässt sich beim Pferd anhand des Histamin-Inhalations-Provokationstests (Kap. 2.1.5.4, S.17) sicher nachweisen (KLEIN und DEEGEN, 1986). Zur Klärung der Frage, ob das vermehrte Auftreten von COB-Exazerbationen im Frühjahr auf eine vermehrte Atemwegsreagibilität zurückzuführen ist, liegen nach Kenntnis der Autorin keine Untersuchungen vor.

Des Weiteren könnte eine Zunahme der Krankheitssymptome im Frühjahr als Reaktion auf die über mehrere Monate (Winter) andauernde, vermehrte Staubbelastung bzw. auf eine erhöhte Kontamination des Heues mit

Schimmelpilzsporen (durch suboptimale Lagerung des Heus über die Wintermonate) gewertet werden (FEY, 2006).

Da der Großteil der Pferdebesitzer, die an der Umfrage teilgenommen haben, ihr Pferd aufgrund der COB-Erkrankung nur noch als Freizeitpferd nutzt, wäre es darüber hinaus denkbar, dass Krankheitssymptome bereits in den Wintermonaten vermehrt aufgetreten sind, diese von den Pferdebesitzern aber aufgrund der im Winter oftmals verminderten Nutzung (oftmals keine Reithalle vorhanden) nicht wahrgenommen wurden.

Die Zunahme von Krankheitssymptomen im Herbst und Winter lässt sich mit verlängerten Stallaufenthaltszeiten, einer schlechteren Belüftung der Ställe, einer vermehrten Heufütterung und einer verminderten Bewegungsmöglichkeit für die Pferde erklären (GERBER, 1997). Der geringe Prozentsatz der Pferde, deren Krankheitssymptome sich im Herbst verschlimmern, könnte als Hinweis gewertet werden, dass oben genannte Faktoren erst zu Exazerbationen führen, wenn die Pferde diesen über einen längeren Zeitraum ausgesetzt sind. Dieser These widerspricht hingegen der Umstand, dass bei erkrankten Tieren der Lungendruck bereits Minuten nach dem Kontakt zu trockenem Heu ansteigt (FAIRBAIRN et al., 1993a). Möglicherweise ist daher vor allem die bessere Qualität des Heues im Herbst aufgrund geringerer Lagerzeiten ausschlaggebend.

Bei den 43,2% der Pferde, deren Symptome sich im Sommer verschlimmert haben, muss differentialdiagnostisch auch an die SP-RAO gedacht werden. Jedoch wiesen die in Europa an dieser Erkrankung leidenden Pferde, im Gegensatz zu den erkrankten Pferden in Amerika, häufig eine Kombination aus COB und SP-RAO-Erkrankung auf, weshalb sich die alleinige Aufstallung dieser Patienten in Boxenhaltung auch als nicht kurativ erwies (MAIR, 1996). Da warme Temperaturen, unabhängig von der Jahreszeit, fast doppelt so häufig zu Exazerbationen führten als kalte, ist eher von einer erhöhten Belastung der Pferde durch vermehrten Staub- und Pollenkontakt als auslösendes Agens auszugehen als von einer unterschwelligem SP-RAO-Erkrankung. Laut Besitzerangaben reagierten die Pferde bereits im Frühjahr negativ auf warme Temperaturen, zu einer Jahreszeit, in der die Dauer des Weideganges noch nicht sehr lange gewesen sein dürfte.

#### 5.2.3.4 Krankheitssymptome im Rahmen von Exazerbationen

Der Vergleich der gezeigten Krankheitssymptome beim erstmaligen Auftreten der Erkrankung mit der Krankheitssymptomatik beim Auftreten von Exazerbationen zeigt, dass mit Ausnahme des Symptoms Nasenausfluss alle abgefragten Krankheitssymptome im Rahmen von Exazerbationen häufiger auftraten. Anders als in anderen Veröffentlichungen zu diesem Thema (NAYLOR et al., 1992; HOTCHKISS et al., 2007) wurde nicht das Auftreten von Husten als häufigstes Symptom einer COB-Erkrankung ermittelt, sondern eine verstärkt abdominale Atmung. Dieses Krankheitssymptom trat absolut am häufigsten auf (69,5%) und erfuhr den größten Zuwachs in Hinblick auf das Auftreten im Rahmen von Exazerbationen (16,5%). Daher sollten Besitzer von COB-kranken Pferden durch ihre Tierärzte für die Wahrnehmung einer verstärkt abdominalen Atmung bei ihren Pferden sensibilisiert werden, da es sich hierbei laut den eigenen Ergebnissen um das häufigste Symptom beim Auftreten von Exazerbationen handelt. Nur eine frühzeitige Erkennung von Exazerbationen ermöglicht einen schnellstmöglichen Therapiebeginn. Der frühestmögliche Beginn einer Therapie sollte angestrebt werden, um einer irreversible Beeinträchtigung der Lungenelastizität (durch den Ersatz von elastischen Fasern durch fibröses Bindegewebe) vorzubeugen (AINSWORTH und CHEETHAM, 2010).

Das Auftreten einer verstärkt abdominalen Atemtätigkeit ist mit einer Erhöhung der maximalen Interpleuraldruckdifferenz  $\Delta P_{pl_{max}}$  zu erklären (ROBINSON et al., 2000). Bei COB-kranken Pferden kommt es zunächst aufgrund der Atemwegsobstruktion zu einer Zunahme des Atemwegswiderstandes und aufgrund der peripheren Bronchokonstriktion zu einer ungleichmäßigen Ventilation bestimmter Lungenareale. Aufgrund dessen werden für jede Atembewegung größere pleurale Drücke nötig. Dieser Anstieg der pleuralen Drücke resultiert schließlich in einer Erhöhung der maximalen Interpleuraldruckdifferenz  $\Delta P_{pl_{max}}$  (ROBINSON et al., 2000). Während des Fortschreitens der Krankheit nimmt die Obstruktion der peripheren Atemwege durch Sekretablagerungen noch weiter zu, was zu einer weiteren Abnahme der dynamischen Compliance und schließlich zu Hypoxämie führt (NYMAN et al., 1991).

In einer Studie der Großtierklinik der Universität von Michigan konnte nachgewiesen werden, dass, sobald eine verstärkt abdominale Atmung und andere äußere Anzeichen einer Bronchokonstriktion bei der klinischen Untersuchung festgestellt werden können, der mittlere  $\Delta P_{pl_{max}}$  bereits über 20cm H<sub>2</sub>O liegt (ROBINSON et al., 2000). Laut den Kriterien der internationalen Arbeitsgemeinschaft der unteren Atemwegserkrankungen des Pferdes wird für das Vorliegen einer Exazerbation eine  $\Delta P_{pl_{max}}$  von >15 cm H<sub>2</sub>O gefordert (ROBINSON, 2001a). Im Umkehrschluss bedeutet dies, dass die befragten Pferdebesitzer in der Lage waren, das Vorliegen einer Exazerbation bei ihrem Pferd korrekt zu bewerten. Die Angaben der Mehrzahl der Pferdebesitzer (69,5%), es läge eine verstärkt abdominale Atemtätigkeit beim Auftreten von Exazerbationen vor, sind gleichzusetzen mit dem Vorliegen einer  $\Delta P_{pl_{max}}$  von über 20cm H<sub>2</sub>O. Es lag damit bei den Pferden der befragten Pferdebesitzer eine  $\Delta P_{pl_{max}}$  vor, die sogar größer war, als die von den Experten der internationalen Arbeitsgemeinschaft für das Auftreten von Exazerbationen geforderte  $\Delta P_{pl_{max}}$  von >15cm H<sub>2</sub>O. Im Falle der Pferdebesitzer, die keine verstärkt abdominale Atmung bei ihren Pferden im Rahmen von Exazerbationen festgestellt haben, könnte dieses Symptom entweder übersehen worden sein oder tatsächlich nicht vorgelegen haben, da auch beim Fehlen einer äußerlich sichtbaren, verstärkt abdominalen Atmung bereits eine Bronchokonstriktion vorliegen kann (ROBINSON et al., 2000).

Die beiden Krankheitssymptome, die im Rahmen von Exazerbationen neben dem Symptom verstärkt abdominale Atmung den größten Zuwachs erfuhren, sind verminderte Leistungsfähigkeit (12,8%) und Husten beim Beginn der Arbeit (10,5%). Dies ist ein deutlicher Beleg dafür, dass langfristig die Leistungsfähigkeit von COB-Patienten abnimmt (siehe Kapitel 5.2.4.4, S.117). Das Auftreten von Husten in Ruhe stellte neben der verstärkt abdominalen Atmung bereits das häufigste Symptom beim erstmaligen Auftreten der Krankheit dar. Dies erklärt, weshalb die Zunahme dieses Symptoms im Rahmen von Exazerbationen so gering (2,6%) ausfällt. Interessanterweise nimmt aber das Symptom „Husten beim Beginn der Arbeit“ im Rahmen von Exazerbationen deutlich (10,5%) zu. Auch für dieses Krankheitssymptom sollten die Pferdebesitzer daher sensibilisiert werden, um frühestmöglich eine Exazerbation

bei ihrem Pferd zu bemerken. Die Zunahme der Hustenhäufigkeit zu Beginn der Belastung im Rahmen von Exazerbationen könnte auf unterschiedlichen Ursachen beruhen. Der Grad der Hyperreagibilität der Bronchien nimmt im Laufe der Erkrankung zu (TRAUB, 2005), weshalb dann eventuell bereits der vermehrte Staubkontakt zu Beginn der Belastung ausreichend ist, um Husten hervorzurufen. Auch das vermehrte Vorliegen von Tracheobronchialsekret in den Atemwegen könnte eine Erklärung für die Zunahme des Hustens zu Beginn der Belastung sein. Die mukoziliäre Clearance wird durch vermehrte Bewegung (wie beispielsweise unter dem Reiter) gesteigert (MAY und GEHLEN, 2009), was zu einem vermehrten Abhusten von Sekret führt.

Das Vorliegen einer erhöhten Ruheatemfrequenz bei den Patienten nimmt im Rahmen von Exazerbationen ebenfalls stark zu (10,2%). Es ist in diesem Zusammenhang bekannt, dass bei Kleinpferden und Ponies physiologischerweise eine leicht erhöhte Atemfrequenz vorliegt (FEY, 2005). Dies ist jedoch bei der Bewertung des Umfrageergebnisses insofern zu vernachlässigen, als dass die Pferdebesitzer nur angaben, ob sich die Atemfrequenz bei Exazerbationen in Relation zur Atemfrequenz beim erstmaligen Auftreten der Erkrankung erhöht hat. Ursächlich für die Zunahme der Atemfrequenz ist vermutlich die bestehende Hypoxämie, die zusätzlich zur Erhöhung der Atemfrequenz auch zu einer Erhöhung des Atemzeitvolumens führt (ROBINSON et al., 2000). Die Zunahme der Atemfrequenz verursacht eine Verkürzung vor allem der Inspirations-, aber auch der Expirationsphase. Folglich muss nun dasselbe Atemzugvolumen in einer verkürzten Zeitdauer durch die Atemwege transportiert werden, weshalb sich die durchschnittliche Atemflussrate erhöht. Aufgrund der vorliegenden Bronchokonstriktion ist eine Erhöhung der Atemflussrate nur dann möglich, wenn die Atemwege weitgehend offen sind. Dies ist am Ende der Inspirationsphase und zu Beginn der Expirationsphase der Fall (ROBINSON et al., 2000). Aufgrund der nun gesteigerten, maximalen inspiratorischen Atemflussrate, die als pathognomisch für schwere Formen der RAO-Erkrankung angesehen wird (PETSCHKE et al., 1994), erhöht sich die maximale Interpleuraldruckdifferenz noch weiter.

Laut einer Studie der Universität Gießen unterscheiden sich Pferde mit einer mittelgradig erhöhter Atemfrequenz ( $>16$  und  $\leq 24$  Atemzüge pro Minute) auch in

anderen klinischen und endoskopischen Untersuchungsparametern von Pferden mit physiologischer Atemfrequenz, jedoch bestehen keine signifikanten Unterschiede dieser Parameter beim Vergleich mit Pferden mit noch höheren Atemfrequenzen (>24 Atemzüge pro Minute). Es konnte nachgewiesen werden, dass bei den Pferden mit einer Atemfrequenz von über 24 Atemzügen pro Minute auch am häufigsten gleichzeitig eine verminderte Leistungsfähigkeit vorlag (FEY, 2005). Diese Ergebnisse decken sich mit den eigenen Untersuchungsergebnissen, da sie ebenfalls belegen, dass bei Exazerbationen das Auftreten einer verminderten Leistungsfähigkeit und das Auftreten einer Erhöhung der Ruheatemfrequenz in etwa im selben Maße zunehmen.

Einen deutlichen Zuwachs (9,7%) erfuhr auch das Krankheitssymptom „Nüsternblähen in Ruhe“ im Rahmen von Exazerbationen. Das Blähen der Nüstern scheint ein Mechanismus zu sein, durch welchen sich der erhöhte Atemwegswiderstand im Bereich des Tracheobronchialbaumes zumindest im Bereich der oberen Atemwege reduzieren lässt und durch welchen hohe Atemflussraten im Bereich der oberen Atemwege erzielt werden können (ROBINSON et al., 2000).

Sowohl beim Blähen der Nüstern als auch bei der verstärkt abdominalen Atmung handelt es sich um akzessorische Muskeltätigkeit (ROBINSON et al., 2000). In Anlehnung an humanmedizinische Forschungsergebnisse (MCFADDEN et al., 1973; KEREM et al., 1991), ist der Beitrag akzessorischer Muskeln zur Atemtätigkeit immer auch als Beleg für das Vorliegen einer massiven Atemwegsobstruktion zu werten. Folglich können anhand des Schweregrades des Nüsternblähens und anhand der Ausprägung der gezeigten abdominalen Atemtätigkeit immer auch Rückschlüsse auf den Schweregrad der vorliegenden Bronchialobstruktion gezogen werden.

Seltener zeigten die Pferde im Rahmen von Exazerbationen Husten während des Reitens (46,2%), verlängerte Erholungszeiten (33,8%) und vermehrtes Schwitzen (25,9%), jedoch traten alle drei Symptome im Vergleich mit dem ersten Krankheitsschub ebenfalls häufiger auf.

Lediglich das Symptom „Nasenausfluss“ trat im Rahmen von Krankheitsschüben laut Angaben der Pferdebesitzer seltener auf. Eine mögliche Erklärung für diese Bewertung durch die Pferdebesitzer wäre, dass es sich bei den von diesen als ersten COB-Schub gewerteten Krankheitssymptomen eigentlich um Symptome

eines Atemwegsinfektes gehandelt haben könnte und die COB-Erkrankung erst später bei ihren Pferden auftrat. Daher könnte die damals von den Pferden abgesonderte Sekretmenge von den Pferdebesitzern im Verhältnis als umfangreicher bewertet worden sein als bei den im Anschluss aufgetretenen Exazerbationen. Eine andere mögliche Erklärung für dieses Phänomen wäre, dass sich mit dem Fortschreiten der Erkrankung die zugrundeliegenden pathologischen Mechanismen dahingehend verändern, dass die hyperreagible Symptomatik mehr in den Vordergrund rückt und die Sekretproduktion abnimmt. Es konnte in einer Studie der Tierärztlichen Hochschule Hannover gezeigt werden, dass bei der COB-Erkrankung des Pferdes, im Unterschied zur COPD bzw. Asthmaerkrankung des Menschen, nicht zwei voneinander abgrenzbare Formen mit entweder hauptsächlich dyskrinetischer oder hyperreagibler Symptomatik existieren, sondern dass Krankheitssymptome, die auf diesen beiden Pathomechanismen beruhen, immer nebeneinander existieren (TRAUB, 2005). Eine veränderte Ausprägung der jeweiligen Krankheitssymptome aufgrund eines veränderten Anteils der zugrundeliegenden Pathomechanismen erscheint daher denkbar.

#### *5.2.4 Veränderungen der Nutzbarkeit und der Leistungsfähigkeit von COB-Patienten*

##### *5.2.4.1 Veränderungen in der Nutzungsart der Pferde*

Beim Vergleich der Nutzungsart der Pferde vor und nach dem Auftreten der COB-Erkrankung nimmt der Anteil der Gnadenbrotpferde mit einem Anstieg von 0% auf rund 13% am stärksten zu. Damit liegt der Anteil der aufgrund einer COB-Erkrankung als Gnadenbrotpferde gehaltenen Pferde in Deutschland deutlich höher als in einer amerikanischen Studie aus dem Jahr 2001, in der der Anteil der aufgrund einer COB-Erkrankung nicht mehr reiterlich genutzten Pferde bei lediglich 2% lag (AVIZA et al., 2001). Hierbei ist jedoch mit rund 16 Jahren (SD = 5,4) auch das hohe Durchschnittsalter der Patienten, die an der Fragebogenstudie teilgenommen haben, zu bedenken, da die COB-Erkrankung definitionsgemäß erst bei älteren Pferden auftritt (ROBINSON, 2001a). Es liegen für Deutschland keinerlei vergleichbare Daten vor, die zeigen könnten, ob der



Anteil der Gnadenbrotpferde mit COB-Erkrankung größer ist als der Anteil bei gleichaltrigen Pferden ohne COB-Erkrankung.

Nach Auftreten der COB-Erkrankung wurde kein Pferd mehr zum Distanzreiten, Jagdreiten, Voltigieren oder im Trabrennsport eingesetzt. Bei der Bewertung dieses Ergebnisses ist zu berücksichtigen, dass die aufgeführten Disziplinen auch vor Auftreten der Erkrankung eher „Randgruppen“ bei dieser Umfrage darstellten. In Bezug auf die Trabrennpferde hängt dies sicher auch mit der gewählten Art und Weise der Patientenakquirierung zusammen (Aushänge in Reitställen, Anzeigen in Reiterzeitschriften). Nichts desto trotz zeigen diese Ergebnisse dennoch, dass COB-krankte Pferde in Disziplinen, in denen eine sehr gute körperliche Ausdauer des Pferdes benötigt wird, nicht mehr einzusetzen sind.

Der Anteil der sich im Ausbildungsstand des Anreitens befindenden Pferde sank um 7,6%, wobei diese Abnahme sicherlich auch mit dem zunehmenden Alter der Pferde zusammenhängt. Des Weiteren ergab die Umfrage einen leichten Anstieg (4,9%) der als Freizeitpferde genutzten Pferde, der sich mit der gleichzeitigen Abnahme der als reine Sportpferde genutzten Pferde erklären lässt. Der Anteil der als Dressurpferde genutzten Pferde sank um rund 12%, der Anteil der als Springpferde genutzten Pferde um rund 10% und der Anteil der als Westernpferde genutzten Pferde sowie der Anteil der als Vielseitigkeitspferd genutzten Pferde sank jeweils um rund 3%.

#### 5.2.4.2 Nutzbarkeit der COB-kranken Pferde im Turniersport

Bei der Teilnahme an Dressurprüfungen sank der Anteil der Pferde, die in Leistungsklasse S („Schwer“) an den Start gingen, nach dem Auftreten der Lungenerkrankung um 8,9%, in Leistungsklasse M („Mittel“) um 10,1%, in Leistungsklasse L („Leicht“) um 31,4%, in Leistungsklasse A („Anfänger“) um 24,5% und in der Leistungsklasse E („Einsteiger“) um 17,2%.

In Springprüfungen ging nach dem Auftreten der Lungenerkrankung kein Pferd mehr in der Leistungsklasse S an den Start, vor dem Auftreten der Lungenerkrankung starteten noch 5,6% der Pferde in dieser Leistungsklasse. Der Anteil der Pferde, die in Leistungsklasse M an den Start gingen, sank um 13,50%, in Leistungsklasse L sank er um 31,8%, in Leistungsklasse A um 31% und in Leistungsklasse E um 13,10%.

Diese Datenlage zeigt deutlich, dass die Teilnahme von COB-kranken Pferden an Leistungsprüfungen aller Klassen in den Disziplinen Dressur und Springen stark sinkt. Insbesondere in den höheren Leistungsklassen ist hierfür sicherlich die verminderte Leistungsfähigkeit der Pferde ursächlich. Die ebenfalls starke Abnahme von Turnierteilnahmen im „Breitensport“ lässt sich möglicherweise mit den stark eingeschränkten Trainingsmöglichkeiten erklären, da die Pferde bei COB-Exazerbationen nach eigenen Erkenntnissen im Durchschnitt rund 8 Wochen ausfallen und Exazerbationen im Durchschnitt rund alle 8 Monate (SD = 7) auftraten.

#### 5.2.4.3 Turniererfolge vor und nach dem Auftreten der COB-Erkrankung

Betrachtet man alle Disziplinen in ihrer Gesamtheit, so nimmt die Anzahl der Turniererfolge mit COB-kranken Pferden um rund 10% ab. In Dressurprüfungen nahmen die Turniererfolge anteilig um rund 2%, im Springreiten um rund 3%, im Westernreiten um rund 0,5% und in der Vielseitigkeit um 0,01% ab. Durch die stark reduzierte Anzahl an Turnierteilnahmen mit COB-kranken Pferden wird natürlich auch das Erzielen einer Platzierung unwahrscheinlicher. Inwieweit auch eine körperliche Beeinträchtigung lungenkranker Pferde zu einer Abnahme der Turniererfolge beiträgt, lässt sich anhand der Umfrageergebnisse nicht eindeutig bewerten. Zur Klärung dieser Frage wären weitere Untersuchungen unter Einbeziehung von Lungenfunktionsparametern nötig. Die geringe Abnahme der Turniererfolge im Vielseitigkeitssport beruht möglicherweise darauf, dass Pferde, die in ihrer körperlichen Ausdauer durch die COB-Erkrankung stärker eingeschränkt sind, an Vielseitigkeitsprüfungen überhaupt nicht mehr teilnehmen können.

#### 5.2.4.4 Zusammenhang zwischen veränderter Nutzungsart bzw. veränderter Leistungsfähigkeit der Pferde und der COB-Erkrankung

Einen direkten Zusammenhang zwischen einer veränderten Nutzung und der COB-Erkrankung ihres Pferdes sehen 38,8% der Pferdebesitzer als gegeben an, in 35,8% der Fälle bewerten die Pferdebesitzer die Nutzbarkeit ihres Pferdes als unverändert und in 25,4% der Fälle sehen die Pferdebesitzer keinen

Zusammenhang zwischen einer veränderten Nutzung und der Lungenerkrankung ihres Pferdes. Für die objektive Bewertung einer veränderten Nutzung muss diese aber immer auch im Zusammenhang mit der Entwicklung der Leistungsfähigkeit gesehen werden.

Bei der Fragestellung, wie sich die Leistungsfähigkeit ihres Pferdes entwickelt hat, gaben 66,5% der Pferdebesitzer an, dass sich diese verschlechtert habe. Dieses Ergebnis liegt damit deutlich über dem Ergebnis einer vergleichbaren Studie der Universität Cornell, bei der bei 52% der Pferde eine Verminderung der Leistungsfähigkeit ermittelt werden konnte (AVIZA et al., 2001). Es ist zu bedenken, dass zu einer verminderten Leistungsfähigkeit immer auch das zunehmende Alter der Patienten beiträgt, welches im Durchschnitt bei der durchgeführten Studie sowie bei der Studie der Universität Cornell, rund 16 Jahre (15,8, SD = 5,4) betrug.

Die Abnahme der Leistungsfähigkeit bei COB-Patienten spiegelt sich in den eigenen Ergebnissen in Bezug auf eine veränderte Nutzung und in Bezug auf die Abnahme von Turnierfolgen (Kap. 2.1.4.3) eindeutig wieder. Die 26,1% der Fälle, in denen die Pferdebesitzer keine Veränderung der Leistungsfähigkeit wahrgenommen haben bzw. die 35,8% der Fälle, in denen die Pferdebesitzer von einer unveränderten Nutzbarkeit berichten, sind daher kritisch zu sehen. Die von den Pferdebesitzern abgegebene Bewertung über eine uneingeschränkte Nutzbarkeit bzw. Leistungsfähigkeit ihres Pferdes lassen sich kaum mit dem Auftreten von Exazerbationen in rund 70% der Fälle in Einklang bringen. Im Durchschnitt erlitt jedes Pferd alle 8 Monate (8,31, SD = 8,722) einen Krankheitsrückfall, bei welchem die Krankheitssymptome über 8 Wochen (8,42, SE = 0,865) bestehen blieben. Vermutlich ist in diesen Fällen den Pferdebesitzern nicht bewusst, dass sie ihr Pferd nur noch weniger intensiv nutzen können als vor Auftreten der COB-Erkrankung. In rund einem Viertel der Fälle (25,4%) verneinen die Pferdebesitzer einen Zusammenhang zwischen veränderter Nutzung und COB-Erkrankung. Die veränderte Nutzung des Pferdes scheint in diesen Fällen auf anderen Einflüssen als der COB-Erkrankung zu beruhen. In diesem Zusammenhang sind eine Vielzahl von Ursachen denkbar, wie eine weniger intensive Nutzung des Pferdes aus zeitlichen Gründen oder eine bewusste Umorientierung des Pferdebesitzers vom Sport- zum Freizeitreiter.

In den 7,4% der Fälle, bei denen die Pferdebesitzer über eine verbesserte Leistungsfähigkeit ihres Pferdes berichten, handelt es sich vermutlich um milde Formen der COB-Erkrankung. Eine Verbesserung der Leistungsfähigkeit der betroffenen Pferde ist nur im Anfangsstadium der Krankheit vorstellbar, da sowohl anhand der eigenen Ergebnisse als auch anhand der Ergebnisse anderer Forschungsvorhaben (MCPHERSON et al., 1979; RAMSEYER et al., 2007) von einem progressiven Verlauf der COB-Erkrankung ausgegangen werden muss.

### 5.2.5 Ankauf und Verkauf

#### 5.2.5.1 Durchführung von Ankaufsuntersuchungen

Trotz der durch die Schuldrechtsreform deutlich gestärkten rechtlichen Position des Pferdekäufers (RAHN et al., 2010) wurde nur in 38,5% aller Pferdekäufe eine Ankaufsuntersuchung (AKU) durchgeführt. In diesem Zusammenhang sollte den Pferdebesitzern immer verdeutlicht werden, dass die Kosten einer Ankaufsuntersuchung gering sind im Vergleich zu den Kosten, die Ihnen beim Erwerb eines kranken Pferdes entstehen können. In Bezug auf die mögliche Diagnosestellung einer vorliegenden COB-Erkrankung bei einer AKU muss jedoch auf die limitierte Aussagekraft der alleinigen klinischen Untersuchung hingewiesen werden, da geringgradige Formen der Krankheit auf diese Weise nicht festgestellt werden können (DIXON et al., 1995). Bei einer zu diesem Thema durchgeführten Studie wären 11% der Patienten anhand der reinen klinischen Untersuchung nicht als COB-Patienten erfasst worden (FEY, 2003). Daher muss im Rahmen der Ankaufsuntersuchung immer auch die bisherige Haltungsform und Leistungsfähigkeit des Pferdes erfragt und dokumentiert werden. Die Erhebung klinischer Befunde bei der Untersuchung des Atmungsapparates, selbst wenn diese nur in geringgradigen Ausprägungen vorliegen, sollte immer Anlass zur Durchführung weiterführender Untersuchungen geben. Sofern unphysiologische Befunde bei der Untersuchung des Atmungsapparates im Rahmen der AKU festgestellt wurden (3,4%), war dies in über der Hälfte der Fälle (1,9%) nur anhand einer endoskopischen Untersuchung möglich.

#### 5.2.5.2 Die COB-Erkrankung als Verkaufshindernis

Eine Lungenerkrankung war in keinem Fall ursächlich für das Nichtzustandekommen des Kaufvertrages. Hierfür waren in 3,4% der Fälle andere Gründe als Lungenerkrankungen ursächlich. Im Einvernehmen mit anderen Untersuchungen zu diesem Thema (FEY, 2003), basiert diese Datenlage vermutlich auf der Tatsache, dass eine vorliegende COB-Erkrankung im Rahmen einer AKU häufig nicht diagnostiziert wird.

Ein Weiterverkauf des COB-kranken Pferdes wurde vom Großteil der Pferdebesitzer (91,9%) nicht angestrebt. Sofern jedoch das Vorliegen einer COB-Erkrankung bekannt war, stellte diese in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle (88% der Fälle), in denen der Verkauf des Pferdes angestrebt wurde, ein Ausschlusskriterium für einen Verkauf dar bzw. konnten zwei Pferde (13%) nur unter Gewährung eines Preisnachlasses veräußert werden.

#### 5.2.5.3 Wiederholter Erwerb eines COB-kranken Pferdes

Ein Großteil der Pferdebesitzer (71,4%) schließt einen erneuten Erwerb eines COB-kranken Pferdes aus. Neben der finanziellen Mehrbelastung - die zusätzlichen jährlichen Mehrkosten belaufen sich laut den eigenen Ergebnissen auf durchschnittlich 856,71€ (SE = 65,915) - trägt zu dieser Einstellung sicherlich auch die emotionale Belastung der Pferdebesitzer durch ein chronisch krankes Pferd bei. Auch die Einschränkung in der Nutzung des Pferdes spielt hierbei bestimmt eine Rolle. Trotz all dieser Negativfaktoren würden 21% der Pferdebesitzer den erneuten Erwerb eines COB-kranken Pferdes in Erwägung ziehen, 6% würden ihre Entscheidung kaufpreisabhängig treffen und 1,6% der Pferdebesitzer würden erneut ein COB-krankes Pferd ohne Einschränkungen erwerben. Ein Pferdebesitzer, dessen Pferd nur milde Formen der COB-Erkrankung zeigte, wird wahrscheinlich eher dem erneuten Kauf eines COB-Patienten zustimmen als Pferdebesitzer, deren Pferd hoch- oder höchstgradige Formen der COB zeigte oder deren Pferd aufgrund der Erkrankung euthanasiert werden musste.

### 5.3 DISKUSION DER METHODEN DER PRAKTISCHEN STUDIE

#### 5.3.1 Studiendesign

Das gewählte Studiendesign ermöglichte eine Überprüfung der Wirksamkeit der CpG-ODN/GNP-Inhalationslösung ohne Veränderung der Haltungsumwelt und während der gewohnten Nutzung der Pferde durch ihre Besitzer. Es sollte anhand dieses Vorgehens der Nachweis erbracht werden, dass sich die von der Anwendung des Medikaments erhofften Verbesserungen der klinischen Symptomatik nur aufgrund der Inhalationstherapie eingestellt haben und nicht aufgrund einer bloßen Änderung der Haltungsbedingungen oder eines veränderten Bewegungsprogramms. Erst nach Abschluss der Datenerhebung für die Studie wurden den Pferdebesitzern Verbesserungsvorschläge in Bezug auf das Haltungsmanagement ihrer Pferde unterbreitet.

Die Studie wurde zum Großteil während des Frühjahrs (April bis Juli) durchgeführt, zu einer Jahreszeit, in der es laut eigenen Ergebnissen bei 65% der Pferde zum Auftreten von Exazerbationen kommt. Im Frühjahr ist die Aktivierung des Immunsystems COB-kranker Pferde durch den erhöhten Kontakt zu Staub, Pollen und Infektionserregern sowie den Fellwechsel, besonders groß. Mit der Durchführung der Studie im Frühjahr (nur die zweiten Nachuntersuchungen wurden noch im Juli durchgeführt) war somit gewährleistet, dass mögliche Verbesserungen des klinischen Bildes nicht auf rein jahreszeitlichen Einflüssen beruhten.

Das gewählte Studiendesign (doppelt verblindet, placebokontrolliert und prospektive randomisiert) erfüllte alle Kriterien, die für eine Studie im Sinne der beweisorientierten Tiermedizin (EBVM) gefordert werden .

#### 5.3.2 Einteilung der Patienten in Abhängigkeit des Schweregrades ihrer Erkrankung

Bei einer Erkrankung wie der chronisch-obstruktiven Bronchitis des Pferdes, deren Ausprägung vom Auftreten geringgradiger Symptome bis hin zur akuten Atemnot reicht, ist bei jeglicher Art von Forschungsvorhaben eine Einteilung der Patienten in Abhängigkeit des Schweregrades der Erkrankung unerlässlich.

Gemäß einer Studie der Universität Michigan entspricht die Abnahme um zwei relative Einheiten des klinischen Scores einer Abnahme des Lungenwiderstandes um 12% bei hochgradig an COB erkrankten Pferden. Für eine Abnahme um zwei relative Einheiten des klinischen Scores bei gering-mittelgradig an COB erkrankten Pferden ist eine Abnahme des Lungenwiderstandes um 24% Voraussetzung (ROBINSON et al., 2000). Dies zeigt, dass insbesondere bei der Verwendung klinischer Parameter zur Bewertung eines Therapieverfahrens zur Behandlung der COB-Erkrankung eine objektive Bewertung der Therapie ohne eine Einteilung der Patienten in Gruppen nicht möglich ist (WILLIAMSON und DAVIS, 2007). Die im Rahmen der Studie getroffene Einteilung der Patienten in die Gruppen „gering-mittelgradig erkrankt“ bzw. „hochgradig erkrankt“ war daher nötig und sinnvoll.

### *5.3.3 Diskussion des angewendeten statistischen Verfahrens*

Die erhobenen statistischen Daten sind nicht normalverteilt, da die visuelle Beurteilung im Histogramm meistens leicht schiefe Verteilung ergab. Die Kontrolle nach Kolmogorow-Smirnow-Test ergab aber nur bei einem geringen Teil der Parameter eine signifikante Abweichung von der Normalverteilung. Da der t-Test sehr robust auf leichte Abweichungen von der Normalverteilung reagiert, wurden sowohl der t-Test als auch nicht parametrische Tests (Mann-Whitney-U-Test, Kruskal-Wallis-Test) zum Testen auf Unterschiede eingesetzt.

Hierbei zeigte sich, dass der t-Test durchgehend für alle Parameter eine höhere Teststärke aufwies als die nicht parametrischen Verfahren. Es wurde daher im Rahmen der Arbeit trotz nicht optimaler Normalverteilung der t-Test verwendet.

### *5.3.4 Einteilung der Patienten in Placebo- oder Verumgruppe und verwendetes Scoringssystem*

Aus ethischen Gründen wurde die Anzahl der Patienten in den Placebogruppen geringer gehalten (n=8) als in den Verumgruppen (n=16). Insbesondere in der Gruppe der hochgradig erkrankten Patienten nimmt die Lebensqualität der Pferde

durch die COB-Erkrankung zum Teil stark beeinträchtigende Ausmaße an. Vor diesem Hintergrund wurde die Anzahl der Pferde in der Placebogruppe auf ein Mindestmaß reduziert.

Durch zufällige Effekte waren die Ausgangswerte innerhalb der Verumgruppen bei sieben von zehn untersuchten Parametern bei der Erstuntersuchung schlechter als innerhalb der Placebogruppen. Dies zeigt, dass das verwendete Scoringsystem für die Bildung völlig homogener Patientengruppen ungenügend war. Wie in Unterpunkt 5.3.2 bereits dargelegt, konnte jedoch bei der Erprobung eines neuartigen Therapieverfahrens auf eine Einteilung der Patienten in Schweregrade anhand ihrer klinischen Symptome nicht verzichtet werden. Hierbei ist darüber hinaus hervorzuheben, dass die klinischen Symptome der Patienten innerhalb der Placebogruppe zum Zeitpunkt der Eingangsuntersuchung sicherlich noch ausreichend Raum für den Nachweis möglicher therapeutischer Effekte boten. Auf die Verwendung einer Placebogruppe konnte außerdem nicht gänzlich verzichtet werden, da es sich bei der durchgeführten Studie um die erstmalige Anwendung einer CpG-ODN/GNP-Inhalationslösung als Feldstudie handelte. Zur Wirksamkeit der Medikation unter Verwendung des durchgeführten Therapieprotokolls lagen noch keinerlei Vergleichsdaten vor. Nur durch die Verwendung einer Placebogruppe konnte nachgewiesen werden, dass die wirksame Komponente der CpG-ODN/GNP- Inhalationslösung die CpG-ODN sind und von den GNP keinerlei Eigenwirkung ausgeht. Nur anhand der ermittelten Diskrepanz der erzielten Untersuchungsergebnisse in der Verum- und der Placebogruppe konnte belegt werden, dass die Wirksamkeit der CpG-ODN/GNP-Inhalationslösung nicht bloß auf die positiven Effekte einer Inhalationstherapie mit Wasser („Spüleffekt“) zurückzuführen sind.

#### *5.3.5 Diskussion der gewählten Applikationsart und des verwendeten Inhalationsprotokolls*

Es wurde die inhalative Verabreichung des Medikamentes gewählt, da hierbei ein höherer Wirkspiegel im Lungengewebe erreicht wird als bei einer oralen oder intravenösen Verabreichung (VAUGHN et al., 2006). Es konnte so sichergestellt werden, dass im Bereich der für die Medikamentenwirkung verantwortlichen



Zielzellen (Zellen, die einen TLR-9 Rezeptor aufweisen wie Makrophagen, Epithelzellen, neutrophile Granulozyten) im Lungengewebe der Pferde ein ausreichender Wirkspiegel erreicht wurde. Darüber hinaus minimierte die inhalative Anwendung durch die ermöglichte Dosisreduktion das Risiko für das Auftreten von unerwünschten Nebenwirkungen (NIEDERMAIER und GEHLEN, 2009).

In Anlehnung an die Ergebnisse früherer Studien wurde eine fünfmalige Inhalationsbehandlung als ausreichend angesehen, um die lokale Immunantwort im Bereich des Bronchial- und Lungengewebes zu stimulieren (KLIER, 2011; KLIER et al., 2012).

Die Inhalationsbehandlungen wurden im Abstand von jeweils zwei Tagen durchgeführt, da nachgewiesen werden konnte, dass der vollständige Abbau von CpG-ODN *in vivo* maximal 48 Stunden benötigt (MUTWIRI et al., 2004)

### *5.3.6 Diskussion der praktischen Durchführbarkeit der CpG-ODN/GNP Inhalationstherapie im Rahmen einer Feldstudie*

Das verwendete Inhalationssystem wurde von den Patienten nach kurzer Gewöhnungszeit sehr gut toleriert. Die Inhalationsbehandlungen konnten von der Autorin ohne zusätzliche Hilfsperson durchgeführt werden. Dies zeigt, dass bei entsprechender Unterweisung das Inhalationssystem auch von den Besitzern alleine angewendet werden könnte. Die Inhalationsbehandlungen konnten an jedem beliebigen Ort (Box, Stallgasse, Koppel) durchgeführt werden, da das verwendete Inhalationssystem batteriebetrieben arbeitete.

In Bezug auf die Galenik der verwendeten Inhalationslösung kam es zu keinerlei Problemen. Zu keinem Zeitpunkt trat eine sichtbare Aggregatbildung innerhalb der Inhalationslösungen auf und die Inhalationslösungen konnten problemlos vernebelt werden, ohne dass es zu einem Verstopfen des verwendeten Inhalationssystems kam. Auch dies zeigt, dass es sich um eine Behandlungsmethode handelt, die in der Praxis anwendbar ist.

## 5.4 DISKUSSION DER ERGEBNISSE DER PRAKTISCHEN STUDIE

### 5.4.1 *Diskussion der Verträglichkeit der CpG-ODN/GNP-Inhalationslösung*

Bei keinem der 24 Patienten in der Studienpopulation kam es zum Auftreten unerwünschter Nebenwirkungen oder zum Abbruch der Studie durch Erfüllung eines Studienabbruchkriteriums (Anhang 9.6, S.207).

Ebenso wenig wurde bei einem der Patienten eine Erhöhung der Körpertemperatur oder eine Blutbildveränderung beobachtet. Auch die Überprüfung der Laborwerte während der Inhalationstherapie (Tag 3), zeigte bei keinem der Patienten abnorme Werte. Entsprechend den Ergebnissen einer früheren Studie (Klier et al., 2012) konnte gezeigt werden, dass die verwendete CpG-ODN/GNP-Inhalationslösung und das verwendete Inhalationsprotokoll keinerlei systemische Nebenwirkungen hervorrufen. Dies wurde auch in früher Durch die Überprüfung der Leukozyten- und Fibrinogenwerte nach vier Wochen (NU II), die bei allen Patienten in der Norm lagen, kann auch eine negative langfristige Wirkung der Therapie im Sinne einer Immunsuppression oder einer Entzündungsreaktion ausgeschlossen werden.

Im Rahmen der endoskopischen Untersuchung wurden bei keinem der Patienten Hinweise auf eine lokale Entzündungsreaktion wie Rötungen oder Schwellungen im Bereich der Atemwege festgestellt.

Auch innerhalb der Placebogruppe, in der die Inhalationslösung nur HPW und GNP enthielt, konnten weder lokale noch systemische Nebenwirkungen beobachtet werden. Dies bestätigt die gute Verträglichkeit der GNP, die auch schon in mehreren anderen Studien nachgewiesen wurde (BOURQUIN et al., 2008; TSENG et al., 2008; ZWIOREK et al., 2008).

### 5.4.2 *Diskussion der Wirkung der CpG-ODN/GNP-Inhalationslösung auf die erhobenen Auskultationsbefunde*

In beiden Verumgruppen waren hochsignifikante Verbesserungen des Auskultationsbefundes direkt im Anschluss an die Inhalationstherapie nachweisbar und es konnten in beiden Verumgruppen ein signifikanter

Langzeiteffekt in Bezug auf eine Verbesserung der Auskultationsbefunde nachgewiesen werden.

Die ermittelten Ergebnisse geben einen ersten Hinweis auf die gute Wirksamkeit des angewendeten Therapieprotokolls und das Erzielen eines Langzeiteffekts durch nur fünf Inhalationsbehandlungen. Die bei einer Auskultation erhobenen Befunde müssen jedoch immer zusätzlich durch andere diagnostische Untersuchungsverfahren abgesichert werden, da Auskultationsbefunde zum Teil nur während der akuten Exazerbationen verändert sein können (RUSH und MAIR, 2004) und vor allem in hochgradigen Fällen deutlich hinter dem Schweregrad der Erkrankung zurückbleiben können (NAYLOR et al., 1992).

#### 5.4.3 *Diskussion der Wirkung der CpG-ODN/GNP-Inhalationslösung auf die Atmung*

##### 5.4.3.1 Atemfrequenz und Sauerstoffpartialdruck

Es ist erwiesen, dass bei Kleinpferden und Ponies physiologischerweise eine leicht erhöhte Atemfrequenz vorliegt. Bei Großpferden spricht eine Erhöhung der Atemfrequenz hingegen immer für das Vorliegen einer Partialinsuffizienz bzw. Hypoxie (FEY, 2005). Das Ausmaß der Hypoxie kann als Indikator für das Ausmaß der Störung des pulmonalen Gasaustausches angesehen werden (ROBINSON et al., 2000).

Diese These wird auch durch die eigenen Untersuchungsergebnisse gestützt. Sobald es zu einer Abnahme der festgestellten durchschnittlichen Atemfrequenz bei den Patienten kam, wurde gleichzeitig immer auch ein Anstieg des durchschnittlichen Sauerstoffpartialdruckes festgestellt.

Innerhalb der Placebogruppe konnte zu keinem Zeitpunkt eine signifikante Reduktion der Atemfrequenz festgestellt werden. Durch die fünfmalige Inhalationsbehandlung mit der CpG-ODN/GNP-Inhalationslösung kam es in beiden Verumgruppen hingegen zu einer signifikanten Abnahme der Atemfrequenz ( $P=0,0358$ ) bei den gering-mittelgradig erkrankten Pferden, ( $P=0,0429$ ) bei den hochgradig erkrankten Pferden). Dies zeigt, dass der Grad der vorliegenden Hypoxie durch die Inhalationsbehandlung deutlich gemindert wurde. Mit einer durchschnittlichen Atemfrequenz von 16,83 ( $\pm 3,13$ ) Atemzüge pro

Minute lag die Atemfrequenz innerhalb der Verumgruppe mit hochgradiger COB-Symptomatik fast im physiologischen Bereich (8 bis 16 Atemzüge pro Minute). Es ist davon auszugehen, dass bei hochgradig erkrankten COB-Patienten bereits Gewebsproliferationen im Bereich des Atemwegsepithels erfolgt sind (TURGUT und SASSE, 1989), aufgrund derer es zu einer irreversiblen Lumeneinengung der Bronchioli kommt (FEY, 2006). Angesichts der im Bereich des Lungengewebes erfolgten Umbauvorgänge und der daraus resultierenden, permanenten Störung des Gasaustausches bei hochgradigen COB-Patienten ist vermutlich in diesen Fällen die Wiedererlangung einer vollkommen physiologischen Atemfrequenz gar nicht mehr möglich.

Die Tatsache, dass die durchschnittliche Atemfrequenz in der Verumgruppe der gering-mittelgradig erkrankten Pferde mit 22,75 ( $\pm 7,48$ ) Atemzüge pro Minute etwas über der durchschnittlichen Atemfrequenz der hochgradig erkrankten Patienten (21,14 ( $\pm 2,79$ ) Atemzüge pro Minute) lag, lässt sich mit der Rasseverteilung innerhalb der Patientengruppen erklären. In der Verumgruppe der hochgradig erkrankten Pferde befand sich nur ein Haflinger, in der Gruppe der gering-mittelgradig erkrankten Pferde befanden sich vier Isländer. Es ist daher anzunehmen, dass die etwas höhere, durchschnittliche Atemfrequenz in der Verumgruppe der leichter erkrankten Pferden auf die bei Kleinpferden physiologischerweise vorliegende, leicht erhöhte Atemfrequenz zurückzuführen ist.

Der Verbesserung der ermittelten Ruheatemfrequenzen entsprechend, stieg der Sauerstoffpartialdruck in beiden Verumgruppen nach fünfmaliger Inhalationsbehandlung statistisch signifikant an (bei den Pferden mit gering-mittelgradiger COB-Erkrankung ( $P=0,0255$ ), bei den Pferden mit hochgradiger COB-Erkrankung ( $P=0,0198$ )).

Ein positiver Langzeiteffekt über vier Wochen konnte weder für die durchschnittliche Atemfrequenz noch für die ermittelten Sauerstoffpartialdrücke innerhalb der Verumgruppen gezeigt werden. Ob sich ein derartiger Effekt durch eine Erhöhung der verwendeten Dosis oder ein Inhalationsprotokoll mit mehr als fünf Inhalationen hervorrufen lässt, muss in weiteren Studien geklärt werden.

#### 5.4.3.2 Atemtyp und Interpleuraldruck

Das Auftreten einer verstärkt abdominalen Atemtätigkeit bei einem COB-kranken Pferd ist ein Zeichen für das Vorliegen einer erhöhten maximalen Interpleuraldruckdifferenz. Die im Rahmen einer COB-Erkrankung vorliegende Bronchokonstriktion führt zu einer gestörten Ventilation, aus der eine Zunahme der pleuralen Drücke und schließlich ein Anstieg der maximalen Interpleuraldruckdifferenz resultiert (ROBINSON et al., 2000). Die sehr signifikante Verbesserung des Atemtyps ( $P=0,0025$ ) bei den gering-mittelgradig betroffenen Pferden und die hochsignifikante Verbesserung ( $P=0,0002$ ) des Atemtyps bei den hochgradig erkrankten Pferden der Verumgruppe bei der ersten Nachuntersuchung ist somit gleichzusetzen mit einer entsprechenden Abnahme des Grades der vorliegenden Bronchokonstriktion. Folglich konnte einer der drei hauptsächlichen Pathomechanismen (Bronchospasmus, Dyskrie und Schleimhautschwellung), die das klinische Bild der COB-Erkrankung hervorrufen, höchst erfolgreich therapiert werden. Insbesondere die hochsignifikante Verbesserung des Atemtyps bei den hochgradig erkrankten Patienten innerhalb des sehr kurzen Zeitraumes von zehn Tagen ist ein außergewöhnlich guter Therapieerfolg. Im Vergleich dazu tritt die maximale bronchospasmolytische Wirkung bei der Therapie mit Kortikosteroiden erst nach einer Woche oder nach einer noch längeren Zeitdauer (bei täglicher Medikamentengabe und einem damit verbundenen, höheren Risiko für das Auftreten von Nebenwirkungen) ein (GIGUÈRE et al., 2002; LAVOIE et al., 2002; LECLERE et al., 2010).

Darüber hinaus konnte ein signifikanter Langzeiteffekt ( $P=0.0492$ ) bei den gering-mittelgradig kranken Patienten bzw. ein sehr signifikanter Langzeiteffekt ( $P=0,0031$ ) bei den hochgradig erkrankten Patienten in Bezug auf den gezeigten Atemtyp (und somit auch auf den Grad des vorliegenden Bronchospasmus) festgestellt werden. Nach Kenntnisstand der Autorin sind derartige Langzeiteffekte *ohne* eine gleichzeitige Verbesserung der Haltungsbedingungen bisher noch mit keinem Therapieverfahren erzielt worden.

Innerhalb der Placebogruppe konnte dagegen bei keiner der Nachuntersuchungen eine positive Veränderung des Atemtyps oder des Interpleuraldruckes

nachgewiesen werden.

Die für einen Teil des Patientengutes vorliegenden Ergebnisse der indirekten Interpleuraldruckmessung zeigen eine tendenzielle Abnahme des Interpleuraldruckes in beiden Verumgruppen, wobei anhand dieses Messverfahrens keine Langzeitwirkung der Inhalationstherapie nachgewiesen werden konnte. Hierbei ist zu bedenken, dass die Interpleuraldruckmessung nur bei einem Teil des Patientengutes durchgeführt werden konnte und die erhobenen Daten somit nicht die Situation in der gesamten Studienpopulation widerspiegeln.

Der für die gering-mittelgradig erkrankten Patienten erhobene mittlere Interpleuraldruckwert von 15,40 cm H<sub>2</sub>O ( $\pm 13,95$ ) zeigt, dass diese Patientengruppe vor Behandlungsbeginn im Mittel eines der Kriterien für das Vorliegen einer akuten Exazerbation ( $\Delta P_{pl_{max}} > 15 \text{ cm H}_2\text{O}$ ) erfüllte.

Der festgestellte mittlere Interpleuraldruck von 38,00 cm H<sub>2</sub>O ( $\pm 24,89$ ) in der Gruppe der hochgradig erkrankten Pferde zeigt, dass die  $\Delta P_{pl_{max}}$  und somit das Ausmaß der vorliegenden Bronchokonstriktion in dieser Patientengruppe höchstgradig ausgeprägt war. Umso bemerkenswerter ist der Umstand, dass auch bei dieser Patientengruppe mit einer nur fünfmaligen Anwendung der CpG-ODN/GNP-Inhalationslösung eine deutliche Besserung der vorliegenden Bronchokonstriktion ( $\Delta P_{pl_{max}} 15,33 \text{ cm H}_2\text{O} (\pm 13,05)$ ) erzielt werden konnte.

#### 5.4.4 *Diskussion der Wirkung der CpG-ODN/GNP-Inhalationslösung auf die Entzündungsreaktion*

##### 5.4.4.1 Endoskopisch ermittelter Umfang der Bifurcatio tracheae

Der endoskopisch ermittelte Umfang des Trachealseptums wird routinemäßig als diagnostisches Kriterium im Rahmen einer Bronchoskopie verwendet. Es wird angenommen, dass ein Zusammenhang zwischen einer Umfangsvermehrung des Trachealseptums und dem Vorliegen einer entzündlichen Erkrankung im Bereich der tiefen Atemwege besteht (OHNESORGE et al., 1998a; ANON, 2002).

In der Placebogruppe wurden im Rahmen der Studie keine Veränderungen des Umfangs der Bifurcatio tracheae wahrgenommen.

Bei den leichter erkrankten Pferden der Verumgruppe konnte eine hochsignifikante Abnahme ( $P=0,0011$ ) der Breite nach fünf Inhalationen festgestellt werden und auch nach vier Wochen war innerhalb dieser Patientengruppe noch ein signifikanter Unterschied ( $P=0,0492$ ) sichtbar.

Bei den hochgradigen COB-Patienten der Verumgruppe konnte ebenfalls eine hochsignifikante Verbesserung ( $P=0,0012$ ) der Breite der Bifurcatio tracheae bei der ersten Nachuntersuchung ermittelt werden und auch in dieser Gruppe lag ein signifikanter ( $P=0,0382$ ) Langzeiteffekt vor.

Eine neuere Studie zeigte jedoch, dass die festgestellte Breite der Bifurcatio tracheae nicht mit anderen klinischen, endoskopischen und zytologischen Untersuchungsverfahren bei der Diagnosestellung einer RAO-Erkrankung korreliert (KOCH et al., 2007). Laut dieser Studie unterscheidet sich die Breite der Bifurcatio tracheae bei RAO-Patienten in Exazerbation und Remission nicht signifikant von der Breite der Bifurcatio tracheae bei gleichaltrigen, gesunden Pferden. Es wurde darüber hinaus festgestellt, dass eine altersbedingte Zunahme der Bifurcatio tracheae bei Pferden  $\geq 10$  Jahren vorliegt (KOCH et al., 2007).

Die eigenen Ergebnisse sind daher kritisch zu bewerten, in Bezug auf ihre Aussagekraft über den vorliegenden Grad einer Entzündungsreaktion der Atemwege. Es bleibt aber anzumerken, dass es sich in der eigenen Studie um Verlaufsuntersuchungen handelte, die die intraindividuelle Entwicklungen der Dicke des Trachealseptums im Rahmen eines Krankheitsverlaufes dokumentierte.

Weitere Studien sollten klären, ob sich die Bewertung des Umfangs der Bifurcatio tracheae (unter Berücksichtigung der altersbedingten Unterschiede) nicht doch als Untersuchungsparameter für Verlaufsuntersuchungen beim jeweiligen Patienten eignet. Weitere Studien zu diesem Thema erscheinen auch deshalb als gerechtfertigt, weil eine exzellente Übereinstimmung bei ein- und demselben Untersucher und eine befriedigende Übereinstimmung zwischen verschiedenen Untersuchern bei der Bewertung dieses Parameters nachgewiesen werden konnte (KOCH et al., 2007). Dies ist eine wichtige Voraussetzung, um einen Untersuchungsparameter überhaupt sinnvoll bei einer klinischen Untersuchung oder für Forschungszwecke einsetzen zu können.

#### 5.4.4.2 Prozentualer Anteil der neutrophilen Granulozyten im TBS

Bei COB-kranken Pferden kommt es bereits nach sechs bis acht Stunden nach einem Allergenkontakt zu dem für diese Erkrankung pathognomischen Neutrophilen-Influx in das Atemwegsgewebe (FAIRBAIRN et al., 1993b; ROBINSON, 2001b). Der Grad der Neutrophilie korreliert hierbei mit dem Schweregrad der COB-Erkrankung beim jeweiligen Patienten (VRINS et al., 1991; FRANCHINI et al., 1998; LAVOIE et al., 2001).

Laut den eigenen Ergebnissen, nahm in der Placebogruppe der leichter erkrankten Patienten der Anteil der neutrophilen Granulozyten im TBS geringgradig ab (von 58,33% ( $\pm 24,66$ ) auf 56,00% ( $\pm 23,30$ )). Diese leichte Abnahme beruht möglicherweise auf äußeren Veränderungen, die zu einer geringeren Allergenbelastung der Tiere geführt haben könnten. Die in der Studie ermittelten, relativ hohen Durchschnittswerte für den prozentualen Anteil von Neutrophilen im TBS vor Therapiebeginn decken sich mit den Ergebnissen früherer Studien (MCGORUM et al., 1993b; ROBINSON et al., 2003).

Die eigenen Ergebnisse zeigen, dass im Einzelfall der Zusammenhang zwischen dem Schweregrad des gezeigten klinischen Bildes (vor allem des Atemtyps, der Atemfrequenz und der Sekretmenge) und dem prozentualen Anteil von neutrophilen Granulozyten nicht immer völlig korrelieren. Auch eine andere Autorin kommt zu diesem Schluss, da sie in ihrer Studie ebenfalls nur eine schwache Korrelation zwischen dem prozentualen Anteil von neutrophilen Granulozyten im TBS und der maximalen Interpleuraldruckdifferenz, der Sekretmenge und der gezeigten Hustensymptomatik ermittelte (FEY, 2005).

Die eigenen Ergebnisse bestätigen außerdem die These, dass der Grad der vorliegenden Bronchokonstriktion und der Grad der vorliegenden Neutrophilie als zwei von einander unabhängige pathologische Phänomene angesehen werden müssen (DERKSEN, 1993).

In weiteren Studien sollte geklärt werden, ob der positive Effekt der CpG-ODN/GNP-Inhalationslösung auf den Grad der Neutrophilie durch wiederholte Inhalationen über einen längeren Zeitraum („Booster-Effekt“) bzw. durch die Kombination mit haltungsverbessernden Maßnahmen noch weiter vergrößert werden kann.



#### 5.4.5 *Diskussion der Wirkung der CpG-ODN/GNP-Inhalationslösung auf Hyper- und Dyskrinie*

##### 5.4.5.1 Nasenausfluss

Innerhalb der Verumgruppe der gering-mittelgradig erkrankten Pferde trat eine hochsignifikante Abnahme des Nasenausflusses nach fünf Inhalationen ein.

Nach vier Wochen konnte noch eine signifikante Abnahme beobachtet werden.

Innerhalb der Verumgruppe der hochgradigen COB-Patienten war ein signifikanter Rückgang des gezeigten Nasenausflusses direkt im Anschluss an die Inhalationsbehandlung festzustellen, der bis zur NU II bestehen blieb.

Der Nasenausfluss ist ein äußerlich sichtbares Anzeichen der vermehrten Sekretproduktion des Atemwegsepithels. Diese beruht bei COB-kranken Pferden auf einer veränderten Epithelzusammensetzung (KAUP et al., 1990b).

Die ermittelten Signifikanzen für den reduzierten Nasenausfluss in beiden Verumgruppen stimmen vollständig mit den ermittelten Signifikanzen für die endoskopisch bestimmte Sekretmenge in diesen Patientengruppen überein. Dies zeigt, dass das für den Nasenausfluss verwendete, eigene Scoringsystem ähnlich verlässliche Ergebnisse erzielt wie ein etabliertes Scoringsystem der endoskopisch ermittelten Sekretmenge (GERBER et al., 2004). Die ermittelten Ergebnisse könnten ein Anreiz dafür sein, das oben beschriebene Scoringsystem auch in der täglichen Praxis für die Bewertung des Nasenausflusses bei Verlaufsuntersuchungen zu verwenden.

##### 5.4.5.2 Endoskopisch ermittelte Sekretmenge

In der Placebogruppe konnte keine Veränderung der endoskopisch ermittelten Sekretmenge festgestellt werden. Dies ist der Beweis dafür, dass die in der Verumgruppe erzielte Reduktion der ermittelten Sekretmenge nicht auf die bloße Wirkung einer Inhalationstherapie zurückzuführen ist.

Die endoskopisch ermittelte Menge an Tracheobronchialsekret ist ein Parameter, für den eine hervorragende Übereinstimmung in der Bewertung bei ein- und

demselben Untersucher und zwischen verschiedenen Untersuchern nachgewiesen werden konnte (geringe „Untersuchervarianz“) (GERBER et al., 2004). Sie eignet sich daher sehr gut als Untersuchungsparameter für die klinische Untersuchung oder für Forschungsvorhaben. Im Rahmen der eigenen Studie wurden die Sekretmengen immer von demselben Untersucher bewertet, um untersucherbedingte Messunterschiede zu minimieren. Das Vorkommen einer erhöhten Sekretmenge in der Trachea äußert sich äußerlich durch Husten (ROBINSON et al., 2003) und wurde auch im Zusammenhang mit einer reduzierten Rennleistung bei Vollblutpferden beschrieben (MACNAMARA et al., 1990).

In der Verumgruppe der leichter erkrankten Pferde konnte ein hochsignifikanter Rückgang der Sekretmenge und in der Gruppe der hochgradig erkrankten Pferde ein signifikanter Rückgang bei der ersten Nachuntersuchung diagnostiziert werden. In beiden Verumgruppen konnte darüber hinaus eine signifikante Langzeitwirkung über vier Wochen nachgewiesen werden.

Die deutliche Abnahme der Sekretmenge nach Therapie mit der CpG-ODN/GNP-Inhalationslösung führte auch zu einer Reduktion der für die Patienten oft quälenden Hustensymptomatik über den Zeitraum von vier Wochen. Darüber hinaus ist davon auszugehen, dass die Reduktion der Sekretmenge in den Atemwegen auch zu einer erhöhten körperlichen Leistungsfähigkeit bei den COB-Patienten führt.

Möglicherweise beruht die erhöhte Sekretmenge in den Atemwegen von COB-Patienten auch auf dem Vorliegen der neutrophilen Entzündungsreaktion in den Atemwegen, die zu einer gesteigerten Produktion von Mucinen führt (FISCHER und VOYNOW, 2000; GERBER et al., 2003). Die signifikante Abnahme der Sekretmenge nach Inhalation der CpG-ODN/GNP-Inhalationslösung, die über vier Wochen anhielt, kann also auch als ein Hinweis auf eine langfristige, antientzündliche Wirkung des Medikamentes aufgefasst werden.

#### 5.4.5.3 Endoskopisch ermittelte Sekretviskosität

Im Gegensatz zur endoskopisch bestimmten Sekretmenge weist die endoskopisch bestimmte Sekretviskosität eine hohe Varianz bei ein- und demselben und verschiedenen Untersuchern auf (GERBER et al., 2004). In der eigenen Studie wurde, entsprechend der Sekretmenge, die Bewertung immer von demselben Untersucher vorgenommen. Außerdem wurde die Sekretviskosität immer im ventralen Teil der Trachea beurteilt, da sie sich im dorsalen und ventralen Teil deutlich unterscheidet (GERBER et al., 2004). Anhand dieses Vorgehens sollte die Varianz bei den Untersuchungsbefunden so gering wie möglich gehalten werden. In einer placebokontrollierten Studie konnten durch endoskopische Bestimmung der Sekretviskosität die Patienten korrekt der Placebogruppe, bzw. der Gruppe, die Acetylcystein erhalten hatte, zugeordnet werden (KELLER et al., 2001). Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass Ergebnisse von Lungenfunktionsmessungen mit Ergebnissen der endoskopischen Bestimmung der Sekretviskosität korrelieren (HERHOLZ et al., 2002). Daher scheint die Verwendung der endoskopisch bestimmten Sekretviskosität als Untersuchungsparameter, in Ergänzung zu anderen Untersuchungsergebnissen, dennoch gerechtfertigt. Es ist anzunehmen, dass bei einer geringeren Sekretviskosität auch ein erleichterter Abtransport des Sekretes durch mucoziliäre Clearance möglich ist. Eine Erhöhung der mucoziliären Clearancerate ist vor allem bei COB-kranken Pferd in Stallhaltung anzustreben, da bei diesen täglich 540ml TBS (im Vergleich zu 120ml TBS bei einem gesunden Pferd) abtransportiert werden müssen (GERBER et al., 2004).

Darüber hinaus konnte in einer humanmedizinischen placebokontrollierten Studie gezeigt werden, dass es bei Vorliegen einer geringeren Sekretviskosität seltener zu Exazerbationen bei Patienten mit COPD kommt (POOLE und BLACK, 2001).

Ob sich dieses Phänomen auch auf COB-kranken Pferde übertragen lässt, ist jedoch bisher unerforscht.

Die hochsignifikante Abnahme der Sekretviskosität in der Gruppe der gering- bis mittelgradig erkrankten Patienten bzw. die signifikante Abnahme der Sekretviskosität in der Gruppe der hochgradigen Patienten nach nur fünfmaliger Inhalationstherapie spricht für die sehr gute Wirksamkeit der verwendeten CpG-

ODN/GNP-Inhalationslösung, da im Vergleich für eine Reduktion der Sekretviskosität durch orale Gabe von Acetylcystein mindestens eine Therapiedauer von 14 Tagen notwendig ist (KELLER et al., 2001).

#### 5.4.6 Ausblick

Die eigenen Ergebnisse zeigen, dass die inhalative Behandlung von COB-Patienten mit einer CpG-ODN/GNP-Inhalationslösung als Feldstudie sowohl praktisch durchführbar als auch wirksam und gut verträglich ist.

Innerhalb der Verumgruppen konnten zum Teil hochsignifikante Verbesserungen der Krankheitssymptomatik erzielt werden und bei über der Hälfte (70%) der in dieser Studie angewendeten Untersuchungsparameter, konnte ein Langzeiteffekt für die Wirkung der CpG-ODN/GNP-Inhalationslösung nachgewiesen werden. Die Nutzung von Medikamenten, die einen Langzeiteffekt aufweisen, kann im Falle der COB-Erkrankung zum Teil sogar tierschutzrelevant sein, da der Leidensdruck bei hochgradig erkrankten Patienten extrem groß ist.

Auch unter finanziellen Aspekten und unter dem Gesichtspunkt des Auftretens von unerwünschten Nebenwirkungen hat ein inhalatives Therapieverfahren, das einen Langzeiteffekt hervorruft, große Vorteile gegenüber der bisherigen systemischen Dauertherapie.

In weiteren Studien sollte daher erforscht werden, ob sich die erzielten positiven Wirkungen durch eine erhöhte Dosis, ein verändertes Inhalationsregime bzw. durch die Durchführung zusätzlicher, einzelner Inhalationen in längeren zeitlichen Abständen („Booster“) noch vergrößern lassen.

Der zugrundeliegende immunologische Mechanismus (Th1-Shift) sollte in weiteren Studien noch genauer erforscht werden, um eventuell eine Verstärkung oder Verlängerung der therapeutischen Effekte forcieren zu können.

Die kombinierte Anwendung einer CpG-ODN/GNP-Inhalationslösung mit der spezifischen Immuntherapie (SIT) wäre denkbar (BOHLE, 2002; SENTI et al., 2009) und sollte in zukünftigen Arbeiten ebenfalls untersucht werden.

## 6 Zusammenfassung

Beatrice Lehmann

### Therapeutischer Nutzen der Anwendung einer CpG-ODN/GNP-Inhalationslösung zur Behandlung der COB-Erkrankung des Pferdes : Eine klinische Feldstudie

Die chronisch obstruktive Bronchitis (COB) ist die in der nördlichen Hemisphäre am häufigsten auftretende Atemwegserkrankung des Pferdes. Sie beruht auf dem Zusammenspiel bestimmter genetischer und umweltassoziierter Faktoren und tritt daher auch bei betroffenen Pferden nur nach Allergenkontakt auf. In Bezug auf ihre Pathologie ist die COB-Erkrankung des Pferdes daher mit der humanen Asthmaerkrankung vergleichbar.

Die COB führt in hochgradigen Fällen zu einem enormen Leidensdruck bei den betroffenen Patienten und stellt auch für die Pferdebesitzer eine außerordentlich große emotionale sowie finanzielle Belastung dar. Der weiteren Erforschung der Ätiologie, Pathologie und langfristiger Therapiemöglichkeiten dieser Erkrankung sollte daher oberste Priorität eingeräumt werden.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, zum einen unter Zuhilfenahme einer Fragebogenhomepage allgemeine Daten zur COB-Erkrankung in Deutschland zu erheben und Patienten für die im Anschluss durchgeführte, klinische Feldstudie zu akquirieren. Zum anderen wurde in einer doppelt verblindeten, prospektiv randomisierten und placebokontrollierten Feldstudie die Wirksamkeit und Verträglichkeit einer inhalativen Verabreichung von Cytosin-Phosphat-Guanin-Oligodeoxynukleotiden (CpG-ODN), gebunden an ein nanopartikuläres Trägersystem als ein neues Therapieverfahren zu Behandlung der COB-Erkrankung des Pferdes überprüft.

Die Fragebogenhomepage wurde in Kooperation mit der Rechnerbetriebsgruppe der LMU München unter Verwendung des LimeSurvey®-Programmes erstellt. Mit Hilfe der Homepage wurden Daten über das erstmalige Auftreten der COB-Erkrankung, über unterschiedliche Verlaufsformen, über eine etwaige Symptomvarianz, über die Entwicklung der Leistungsfähigkeit des jeweiligen Patienten, über den An- und Verkauf COB-kranker Pferde und über die Art der

durchgeführten Diagnosestellung und Therapie seitens der behandelnden Tierärzte erhoben. Insgesamt konnten 266 vollständig ausgefüllte Fragebögen ausgewertet werden. Die Analyse der Fragebögen zeigte, dass das Durchschnittsalter für das erstmalige Auftreten der COB-Erkrankung in Deutschland 10,10 Jahre (SE = 0,297) betrug und in 70% der Fälle Krankheitsexazerbationen auftraten, bei denen die Krankheitssymptome über rund acht Wochen bestehen blieben.

Der Kontakt zu trockenem Heu wurde in über der Hälfte der Fälle (52,3%) als Auslöser für eine Krankheitsexazerbation ermittelt. Der anhand des Umfrageergebnisses errechnete zeitliche Abstand zwischen zwei Krankheitsexazerbationen betrug im Durchschnitt acht Monate.

Anhand der eigenen Untersuchungen konnte belegt werden, dass sowohl die Anzahl als auch das Ausmaß der auftretenden Krankheitssymptome im Laufe der Erkrankung deutlich zunahm. Den größten Zuwachs im Rahmen von Exazerbationen der COB-Erkrankung erfuhren hierbei die Krankheitssymptome „verstärkt abdominale Atmung“ (Anstieg um 16,5%), „verminderte Leistungsfähigkeit“ (Anstieg um 12,8%) und „Husten zu Beginn der Belastung“ (Anstieg um 10,5%).

In über der Hälfte der Fälle (65%) nahm die Leistungsfähigkeit der Pferde laut Angaben der Besitzer deutlich ab. Sofern es nach dem Auftreten der COB-Erkrankung überhaupt noch zu einer Teilnahme an reitsportlichen Wettbewerben kam, wurde eine Abnahme der erzielten Turnierfolge um rund zehn Prozent festgestellt. Als durchschnittliche jährliche Mehrkosten für die Pferdebesitzer aufgrund der COB-Erkrankung ihres Pferdes wurde ein Betrag von 856 € (SE = 65,9) ermittelt. Vermutlich führten all die festgestellten negativen Faktoren in ihrer Gesamtheit dazu, dass in 71,4% der Fälle ein erneuter Erwerb eines COB-kranken Pferdes von den Pferdebesitzern kategorisch abgelehnt wurde.

Die Ergebnisse der Umfrage zeigten einerseits, dass das gewählte Medium von den Pferdebesitzern gut angenommen wurde und sich mit Hilfe einer Fragebogenhomepage sehr leicht studienbegleitend Daten zu tiermedizinischen Fragestellungen erheben ließen. Die Erstellung einer Homepage, anhand derer sich der Erfolg eines Therapieverfahrens belegen lässt oder die zur Diagnosestellung von Krankheiten dient, könnte eine sinnvolle

Weiterentwicklung der in dieser Arbeit verwendeten Fragebogenhomepage darstellen.

Zusammenfassend lässt sich als Ergebnis der eigenen Umfrage festhalten, dass es sich bei der COB-Erkrankung des Pferdes in Deutschland um eine chronisch-progressive Erkrankung handelt, bei welcher im Rahmen von Exazerbationen über einen Zeitraum von zwei Monaten Krankheitssymptome in zum Teil höchstgradiger Ausprägung bei den betroffenen Patienten bestehen bleiben. Der Erforschung von Therapiemöglichkeiten, die eine langfristige Besserung dieser Symptome bei COB-kranken Pferden bewirken, sollte daher oberste Priorität eingeräumt werden.

Die im Rahmen des zweiten Teils dieser Arbeit verwendete CpG-ODN-Inhalationslösung stellt einen neuen und vielversprechenden therapeutischen Ansatz mit möglicherweise langfristiger Wirkung zur Behandlung der COB-Erkrankung des Pferdes dar. Durch die Verwendung der CpG-ODN/GNP Inhalationslösung sollte ein immunmodulatorischer Effekt („Th1-Shift“) bei den Patienten im Feldversuch induziert werden. Dieser Effekt wurde bereits in vorangegangenen in vitro und tierexperimentellen in vivo Studien nachgewiesen. Da die Wirkung von CpG-ODN auf große Säugetiere weniger stark ausgeprägt ist (als vergleichsweise bei Nagetieren), wurden Gelantinenanopartikel (GNP) als Transportsystem für die CpG-ODN verwendet. Diese schützten die CpG-ODN vor einem vorzeitigen Abbau durch körpereigene Nukleasen und führten zu einer Wirkungsverstärkung in den Zielzellen.

In die klinische Feldstudie wurden insgesamt 24 Pferde aufgenommen, deren Besitzer sich über die Fragebogenhomepage um eine Aufnahme ihres Pferdes in die Studie beworben hatten oder die von ihren Haustierärzten überwiesen worden waren. Bei jedem der Patienten wurde zunächst anhand eines etablierten Scoringsystems der momentane Schweregrad der Erkrankung („gering - mittelgradig“ bzw. „hochgradig“) ermittelt. Unter Berücksichtigung des zuvor erhobenen „Krankheitsscores“ erfolgte eine Zuteilung zur Verum- oder Placebogruppe per Losverfahren. Die Placebogruppe bestand aus jeweils vier gering-mittelgradig und vier hochgradig erkrankten Patienten, die Verumgruppe aus jeweils acht gering-mittelgradig und acht hochgradig erkrankten Patienten.

Die Patienten beider Gruppen wurden fünfmal (im Abstand von jeweils zwei Tagen) inhaliert, wobei die Patienten der Verumgruppe die CpG-ODN/GNP-Inhalationslösung (0,18mg CpG-ODN gebunden an 3,75mg GNP, gelöst in 2,5ml hochgereinigtem Wasser) verabreicht bekamen. Die Patienten der Placebogruppe wurden nur mit hochgereinigtem Wasser und GNP inhaliert, wobei der Anteil der CpG-ODN in der Inhalationslösung vollständig durch hochgereinigtes Wasser ersetzt wurde.

Nach Abschluss der Inhalationstherapie wurde eine erste und zweite Nachuntersuchung (jeweils einen Tag nach der letzten Inhalationsbehandlung und nach vier Wochen) durchgeführt, um mögliche Therapieerfolge sowohl direkt im Anschluss an die Behandlung als auch mit größerem zeitlichem Abstand nachweisen zu können.

Ziel der praktischen Studie war es, die positive Wirkung der verwendeten Inhalationslösung anhand unterschiedlicher klinischer Parameter (Ruheatemfrequenz, Atemtyp, Nasenausfluss, Befunde der Lungenauskultation, arterielle Blutgasanalytik, Interpleuraldruckmessung) sowie anhand endoskopisch bestimmbarer Parameter (Sekretmenge, Sekretviskosität, Beurteilung der Bifurcatio tracheae) und anhand einer zytologischen Untersuchung des Tracheobronchialsekrets nachzuweisen.

Bei keinem der Patienten konnten während oder nach der Inhalationstherapie lokale oder systemische Unverträglichkeiten festgestellt werden, was für die gute Verträglichkeit der verwendeten Dosis und des verwendeten Inhalationsprotokolls sprach.

Innerhalb der beiden Placebogruppen (gering-mittelgradig und hochgradig erkrankte Patienten) konnten für keinen der untersuchten Parameter signifikante Verbesserungen aufgezeigt werden. Darüber hinaus belegten die Ergebnisse innerhalb der Placebogruppen jedoch, dass auch die alleinige inhalative Anwendung von GNP beim Pferd gut verträglich war.

In beiden Verumgruppen kam es hingegen nach fünfmaliger Inhalation mit der CpG-ODN/GNP-Inhalationslösung zu einer signifikanten Verbesserung der Atemfrequenz und des Sauerstoffpartialdruckes.



Die durchschnittliche endoskopisch ermittelte Menge an Tracheobronchialsekret nahm in der Gruppe der gering-mittelgradig erkrankten Pferde nach fünf Inhalationen hochsignifikant ab, zusätzlich konnte auch ein signifikanter Langzeiteffekt für diese Reduktion belegt werden. In der Gruppe der hochgradigen COB-Patienten kam es zu einer signifikanten Abnahme der Sekretmenge, die ebenfalls über vier Wochen anhielt.

Der gezeigte Atemtyp war bei der ersten Nachuntersuchung in der Verumgruppe der gering-mittelgradig erkrankten Pferde sehr signifikant und in der Verumgruppe der hochgradig erkrankten Patienten hochsignifikant verbessert, und in beiden Verumgruppen ließ sich ein signifikanter Langzeiteffekt dieses Befundes nachweisen.

Deutliche Hinweise für das Vorliegen einer hypoxischen Stoffwechsellage stellen sowohl die Erhöhung der Atemfrequenz als auch die Abnahme des arteriell gemessenen Sauerstoffpartialdruckes dar. Die synchrone Verbesserung beider Untersuchungsparameter zeigte folglich, dass sich die bei COB-Patienten vorliegende Störung des pulmonalen Gasaustausches durch nur fünfmalige Inhalation mit der CpG-ODN/GNP-Inhalationslösung signifikant verbesserte.

Es ist darüber hinaus davon auszugehen, dass durch die Reduktion der Sekretmenge in den Atemwegen die für die Patienten oft quälende Hustensymptomatik deutlich und langfristig gemindert werden konnte.

Der zu Therapiebeginn festgestellte, unphysiologische Atemtyp war Zeichen einer erhöhten maximalen Interpleuraldruckdifferenz ( $\Delta P_{pl_{max}}$ ), die auf die bei COB-Patienten immer vorliegende Bronchokonstriktion zurückzuführen war. Die Verbesserung des von den Patienten gezeigten Atemtypes war demnach auch als Hinweis für eine Abnahme der vorliegenden Bronchokonstriktion zu werten. Somit konnte durch nur fünfmalige Verwendung der CpG-ODN/GNP-Inhalationslösung einer der drei hauptsächlichen Pathomechanismen der COB-Erkrankung höchst erfolgreich und mit Ausprägung eines Langzeiteffektes therapiert werden. Entsprechende Langzeiteffekte sind (nach Kenntnisstand der Autorin) bisher ohne eine gleichzeitige Verbesserung der Haltungsbedingungen mit keinem anderen Therapieverfahren erzielt worden.

Abschließend ist daher festzuhalten, dass die vorliegende Studie den Nachweis für die Durchführbarkeit einer Inhalationstherapie mit CpG-ODN/GNP-Inhalationslösungen unter Feldbedingungen und deren gute therapeutische Wirksamkeit erbringt. Besonders ist hierbei hervorzuheben, dass mit dem durchgeführten Therapieprotokoll ein positiver Langzeiteffekt bei sieben der zehn untersuchten Parameter (Atemtyp, Nasenausfluss, Auskultationsbefund, Sekretmenge, Sekretviskosität, Aussehen der Bifurcatio tracheae und Anzahl der neutrophilen Granulozyten an der Gesamtzellzahl des TBS bei hochgradig erkrankten Patienten) erzielt werden konnte.

Daher sollte der immunologische Mechanismus („Th1-Shift“), auf dem die therapeutische Wirkung der verwendeten Inhalationslösung beruht, in zukünftigen Studien noch genauer erforscht werden, um eine Verstärkung oder Verlängerung der therapeutischen Effekte forcieren zu können.

Die Anwendung einer CpG-ODN/GNP-Inhalationslösung in Kombination mit der spezifischen Immuntherapie (SIT) könnte zu einer weiteren Verstärkung der positiven Wirkungen führen und sollte daher in zukünftigen Arbeiten untersucht werden.

## 7 Summary

Beatrice Lehmann

Therapeutic Gain of the Use of a CpG-ODN/GNP-Inhalation Solution for Treatment of RAO in the horse: A clinical field study, including the collection of common statistical data about RAO in Germany

Recurrent airway obstruction (RAO) is the most frequently occurring respiratory disease of horses in the northern hemisphere. It is based on the interaction of certain genetic and environment-associated factors and, therefore, occurs in affected horses only after contact with allergens. As for its pathology, RAO of the horse is comparable to asthma in humans.

In serious cases, RAO leads to an enormous psychological strain for the affected patients and also constitutes an extraordinarily great emotional and financial burden for the horse owners. Thus, highest priority should be given to the further investigation of etiology, pathology and long-term therapeutic possibilities.

The purpose of the present study was, on the one hand, to collect general data about RAO in Germany with the aid of a questionnaire homepage and to acquire patients for the clinical field study performed subsequently. On the other hand, the effectiveness and tolerance of an inhalative administration of cytosine-phosphate-guanine-oligodeoxynucleotides (CpG-ODN), bonded to a nanoparticle carrier system (Gelatin Nanoparticles, GNP), was tested in a double-blinded, prospectively randomized and placebo-controlled field study as a new therapeutic procedure for treatment of RAO in the horse.

The questionnaire homepage was developed in cooperation with the computer operation group of the LMU Munich using the LimeSurvey® program. With help of the homepage, data was collected regarding the first occurrence of RAO, various courses of the disease, possible variation of symptoms, the development of each patient's performance, the purchase and sale of RAO -affected horses, and the type of diagnosis and therapy carried out by the treating veterinarians. In total, 266 completely filled out questionnaires could be evaluated. Analysis of the questionnaires showed that the mean age for first occurrence of RAO in Germany

was 10.10 years (SE = 0.297), and that exacerbation of the disease occurred in 70% of cases. In these cases, the symptoms of the disease continued for about eight weeks.

The contact to dry hay was determined to be the trigger for exacerbation of the disease in over half of all cases (52.3%). The temporal interval between two exacerbations, calculated on the basis of the survey's result, averaged 8 months.

By means of our own analysis, it could be proven that the number as well as the extent of the occurring symptoms of the disease clearly increased over the course of the disease. The symptoms "enforced abdominal breathing" (increase by 16.5%), "reduced performance" (increase by 12.8%) and "coughing at beginning of riding" (increase by 10.5%) showed the greatest increase in the context of exacerbations of RAO.

In over half of the cases (65%), the horses' performance clearly decreased according to information from the owners. Provided that a participation in horse shows took place at all after the occurrence of RAO, a decrease of achieved success of about ten percent was observed. An amount of 856 € (SE = 65,9) was calculated as average annual additional costs for the horse owners as a result of their horse's RAO. Presumably, all of these ascertained negative factors as a whole led to the result that in 71.4% of cases a new purchase of a RAO-affected horse was categorically rejected by the horse owners.

The results of the questionnaire showed that the chosen medium was accepted well by the horse owners and that, by using a questionnaire homepage, it was very easy to collect study-related data regarding veterinarian questions. The creation of a homepage with which the success of a therapeutic method can be proven or which helps for diagnosis of diseases could represent a meaningful further development of the questionnaire homepage used in this study.

In summary, the result of our own survey shows that RAO of the horse in Germany is a chronic progressive disease, in which in case of exacerbations symptoms of the disease in partially severe form remain in the affected patients over a period of two months. The investigation of therapeutic options which result in a long-term improvement of these symptoms in RAO-affected horses should therefore be granted highest priority.

The CpG-ODN/GNP inhalation solution, used within the scope of the second part of this study, represents a new and promising therapeutic approach with possible long-term effect for treatment of RAO in horses. By use of the CpG-ODN/GNP inhalation solution, an immunomodulatory effect (“Th1-Shift”) was supposed to be induced in the patients in the field study. This effect had already been proven in previous in-vitro and animal-experimental in-vivo studies. Since the effect of CpG-ODN is less pronounced in large mammals (than as, e.g., in rodents), gelatin nanoparticles were used as carrier system for the CpG-ODN. These protected the CpG-ODN against a premature decomposition through the body’s nucleases and led to an enhancement of the effect in the target cells.

A total of 24 horses were admitted to the clinical field study, whose owners had applied for acceptance of their horse to the study through the questionnaire homepage or who were referred by their general veterinarian practitioners. In each patient the current severity of the disease (“mild-moderate” or “severe”) was initially determined on the basis of an established scoring system. In consideration of the previously determined “disease score”, an allocation to the verum group or the placebo group was carried out by lot procedure. The placebo group consisted of 4 mildly to moderately affected patients and 4 severely affected patients; likewise, the verum group consisted of 8 mildly to moderately affected patients and 8 severely affected patients.

The patients of both groups were inhaled five times (at intervals of two days each), whereas the patients of the verum group were administered the CpG-ODN/GNP inhalation solution (0.18mg CpG-ODN bound to 3.75mg GNP, dissolved in 2.5ml highly purified water). The patients of the placebo group were inhaled only with highly purified water and GNP, whereby the share of CpG-ODN in the inhalation solution was completely replaced by highly purified water.

After completion of the inhalation therapy, first and second follow-up examinations were performed (in each case one day after the last inhalation treatment and again after four weeks) to be able to prove possible therapeutic results directly following the treatment as well as after a greater temporal interval.

The goal of the practical study was to prove the positive effect of the used inhalation solution based on various clinical parameters (respiratory rate at rest,

breathing type, nasal discharge, results of the auscultation of the airways, arterial blood gas analysis, measurement of intrapleural pressure) as well as endoscopically determinable parameters (amount of secretion, viscosity of secretion, assessment of the tracheal bifurcation) and a cytological examination of tracheobronchial secretion.

No local or systemic intolerance could be detected in any of the patients during or after the inhalation therapy, which speaks for good tolerance of the used dose rate and the used inhalation protocol.

Within both placebo groups (mild-moderate and severely affected patients), no significant improvements could be shown for any of the examined parameters. Above all, the results within the placebo groups prove the good tolerance of the solely inhalative application of GNP in the horse.

In both verum groups, however, after five inhalations with the CpG-ODN/GNP inhalation solution, a significant improvement of respiratory rate and oxygen partial pressure could be observed.

The average endoscopically determined amount of tracheobronchial secretion decreased significantly in the group of mildly to moderately affected horses after five inhalations. Also, a significant long-term effect could be proven for this reduction. In the group of severely affected patients, a significant decrease in the amount of secretion could be observed, that also lasted over a period of four weeks.

At the first follow-up examination, the apparent breathing type in the verum group of mildly to moderately affected horses was very significantly improved and in the verum group of severely affected horses highly significantly improved. In both verum groups, a significant long-term effect of this finding could be proven.

Clear indications for the existence of a hypoxic metabolic situation are the increased respiratory breathing rate as well as the decrease in the arterially evaluated oxygen partial pressure. Hence, the synchronic improvement of both examined parameters showed that, with only five inhalations with the CpG-ODN/GNP inhalation solution, the existing dysfunction of pulmonary gas exchange in RAO patients was significantly improved.

In addition, one can assume that, through the reduction of the amount of secretion in the airways, the often excruciating coughing symptoms could be reduced clearly and on a long-term basis.

The unphysiological breathing type, detected at the beginning of therapy, was a sign for increased maximum tidal volume difference ( $\Delta P_{pl_{max}}$ ) that is attributed to the bronchoconstriction which always exists in RAO patients. The improvement in the breathing type shown by the patients could, therefore, also be seen as evidence for a decrease of the existing bronchoconstriction. Consequently, one of the three main pathomechanisms of RAO could be treated most successfully and with development of a long-term effect through a mere five-time application of the CpG-ODN/GNP inhalation solution. Equivalent long-term effects have not been achieved to date (to the author's knowledge) with any other therapeutic method without a simultaneous change in housing condition.

In closing, it should be noted that the present study provides proof of the practicability of inhalation therapy with CpG-ODN/GNP inhalation solutions under field conditions and their therapeutic effectiveness. In particular, it should be emphasized that in the therapeutic protocol carried out here a positive long-term effect could be achieved in seven of the ten examined parameters (breathing type, nasal discharge, results of the auscultation, amount of secretion, viscosity of secretion, appearance of the tracheal bifurcation and the number of neutrophil granulocytes in the total cell count of the tracheobronchial secretion in severely-affected patients).

Therefore, the immunologic mechanism ("Th1-shift"), on which the therapeutic effect of the used inhalation solution is based, should be investigated more precisely in future studies to be able to accelerate an enhancement or extension of the therapeutic effects.

The application of a CpG-ODN/GNP inhalation solution in combination with the specific immunotherapy (SIT) could lead to a further enhancement of the positive effects and should be investigated in future studies.

## 8 Literaturverzeichnis

ABRAHAM, G., BRODDE, O. E. & UNGEMACH, F. R. 2002. Regulation of equine lymphocyte  $\beta$ -adrenoceptors under the influence of clenbuterol and dexamethasone. *Equine Veterinary Journal*, 34, 587-593.

AGERTOFT, L. & PEDERSEN, S. 1994. Effects of long-term treatment with an inhaled corticosteroid on growth and pulmonary function in asthmatic children. *Respiratory Medicine*, 88, 373-381.

AINSWORTH, D. M. 2010. Review of Recurrent Airway Obstruction (RAO, Heaves): Diagnosis and Treatment options. *Proceedings of the American Association of Equine Practitioners-Focus Meeting, Focus on Upper and Lower Respiratory Diseases*.

AINSWORTH, D. M. & CHEETHAM, J. 2010. Recurrent Airway Obstruction. In: REED, S. M., BAYLY, W. M. & SELTON, D. C. (Herausgeber) *Equine Internal Medicine (Dritte Auflage)*. St. Louis: Saunders Elsevier.

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. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 96, 83-91.

ALLEN, K. & FRANKLIN, S. 2007. RAO and IAD: respiratory disease in horses revisited. *In Practice*, 29, 76-85.

ANON 2002. International Workshop on Inflammatory Airway Disease: Defining the Syndrom. *International Workshop on Inflammatory Airway Disease*. Boston: Equine Veterinary Education.



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 Veterinary Journal*, 31, 397-401.

ART, T., MC GORUM, B. C. & LEKEUX, P. 2002. *Environmental control of respiratory disease*. [Online]. New York: International Veterinary Information Service; Verfügbar unter: [http://www.ivis.org/special\\_books/lekeux/art2/ivis.pdf](http://www.ivis.org/special_books/lekeux/art2/ivis.pdf) [Zuletzt aufgerufen am 20. März 2002].

AVIZA, G. A., AINSWORTH, D. M., EICKER, S. W., SANTIAGO, M. A., DIVERS, T. J. & PERKINS, G. A. 2001. Outcome of horses diagnosed with and treated for heaves (recurrent airway obstruction). *Equine Veterinary Education*, 13, 243-246.

BARNES, K. C., GRANT, A. V. & GAO, P. 2005. A review of the genetic epidemiology of resistance to parasitic disease and atopic asthma: common variants for common phenotypes? *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*, 5, 379-385.

BAUER, S., KIRSCHNING, C. J., HACKER, H., REDECKE, V., HAUSMANN, S., AKIRA, S., WAGNER, H. & LIPFORD, G. B. 2001. Human TLR9 confers responsiveness to bacterial DNA via species-specific CpG motif recognition. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, 98, 9237-42.

BERTIN, F. R., IVESTER, K. M. & COUËTIL, L. L. 2011. Comparative efficacy of inhaled albuterol between two hand-held delivery devices in horses with recurrent airway obstruction. *Equine Veterinary Journal*, 43, 393-398.

BOERMA, S., MEEUS, P. & SASSE, H. H. 1985. Intrathoracic pressure in the Horse. Correlation between intrapleural and esophageal pressures. In: DEEGEN, E. & BEADLE, R. (Herausgeber) *Lung Function and Respiratory Diseases in the Horse, Int. Symposium*. Hannover: Hippatrika Verlagsgesellschaft.

BOHLE, B. 2002. CpG motifs as possible adjuvants for the treatment of allergic diseases. *International Archives of Allergy and Immunology*, 129, 198-203.

BOURQUIN, C., ANZ, D., ZWIOREK, K., LANZ, A.-L., FUCHS, S., WEIGEL, S., WURZENBERGER, C., VON DER BORCH, P., GOLIC, M., MODER, S., WINTER, G., COESTER, C. & ENDRES, S. 2008. Targeting CpG Oligonucleotides to the Lymph Node by Nanoparticles Elicits Efficient Antitumoral Immunity. *The Journal of Immunology*, 181, 2990-2998.

BOWLES, K. S., BEADLE, R. E., MOUCH, S., POURCIAU, S. S., LITTLEFIELD-CHABAUD, M. A., LE BLANC, C., MISTRIC, L., FERMAGLICH, D. & HOROHOV, D. W. 2002. A novel model for equine recurrent airway obstruction. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 87, 385-389.

BRACHER, V., VON FELLEBERG, 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 Veterinary Journal*, 23, 136-141.

BRAUN-FAHRLÄNDER, C. 2009. Role of environment in asthma, endotoxin and other factors. In: TESSIER, C. & GERBER, V. (Herausgeber), *4th world equine airways symposium (WEAS)*. Bern: Pabst Science Publishers.

BROADSTONE, R. V., GRAY, P. R., ROBINSON, N. E. & DERKSEN, F. J. 1992. Effects of xylazine on airway function in ponies with recurrent airway-obstruction. *American Journal of Veterinary Research*, 53, 1813-1817.

BUREAU, F., BONIZZI, G., KIRSCHVINK, N., DELHALLE, S., DESMECHT, D., MERVILLE, M., BOURS, V. & LEKEUX, P. 2000. Correlation between Nuclear Factor-kappa B Activity in Bronchial Brushing Samples and Lung Dysfunction in an Animal Model of Asthma. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*

161, 1314-1321.

CAMARGO, F. C., ROBINSON, N. E., BERNEY, C., EBERHART, S., BAKER, S., DETOLVE, P., DERKSEN, F. J., LEHNER, A. F., HUGHES, C. & TOBIN, T. 2007. Trimetoquinol: bronchodilator effects in horses with heaves following aerosolised and oral administration. *Equine Veterinary Journal*, 39, 215-220.

CHAPMAN, P., GREEN, C. & MAIN, J. 2000. Retrospective Studie of the relationship between age, inflammation and the isolation of bacteria from the lower respiratory tract of thoroughbred horses. *Veterinary Record*, 146, 91.

CLEMENTS, J. M. & PIRIE, R. S. 2007. Respirable dust concentrations in equine stables. Part 2: The benefits of soaking hay and optimising the environment in a neighbouring stable. *Research in Veterinary Science*, 83, 263-268.

COESTER, C. J., LANGER, K., VON BRIESEN, H. & KREUTER, J. 2000. Gelatin nanoparticles by two step desolvation a new preparation method, surface modifications and cell uptake. *Journal of Microencapsulation*, 17, 187-193.

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. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 97, 87-96.

CORNELISSE, C. J., ROBINSON, N. E., BERNEY, C. E. A., KOBE, C. A., BORUTA, D. T. & DERKSEN, F. J. 2004. Efficacy of oral and intravenous dexamethasone in horses with recurrent airway obstruction. *Equine Veterinary Journal*, 36, 426-430.

COSTA, L. R. R., JOHNSON, J., BAUR, M. & BEADLE, R. E. 2006. Temporal clinical exacerbation of summer pasture-associated recurrent airway obstruction and relationship with climate and aeroallergens in horses. *American Journal of Veterinary Research*, 67.

- COSTA, L. R. R., JOHNSON, J. R. & SWIDERSK, C. H. 2008. *Managing Summer Pasture-Associated Obstructive Pulmonary Disease, an "Asthma-like" Disease of Horses* [Online]. Lexington: American Association of Equine Practitioners; Verfügbar unter:  
[http://www.aaep.org/health\\_articles\\_view.php?print\\_friendly=true&id=320](http://www.aaep.org/health_articles_view.php?print_friendly=true&id=320)  
[Zuletzt aufgerufen am 14.09. 2011].
- COUËTIL, L. 2002. IAD: Cough, Poor Performance, Mucus in the Airways - What is so Important About That? *Proceedings of the Annual Convention of the AAEP 2002*.
- COUËTIL, L. 2009. Critical Evaluation of Treatment Efficacy for RAO and IAD. In: TESSIER, C. & GERBER, V. (Herausgeber), *4th world equine airways symposium (WEAS)*. Bern: Pabst Science Publishers.
- COUËTIL, L., HOFFMAN, A. M., HODGSON, J., BUECHNER-MAXWELL, V., VIEL, L., WOOD, J. L. N. & LAVOIE, J. P. 2007. Inflammatory Airway Disease of Horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 21, 356-361.
- COUËTIL, L. L., ART, T., DE MOFFARTS, B., BECKER, M., MELOTTE, D., JASPAR, F., BUREAU, F. & LEKEUX, P. 2006. DNA binding activity of transcription factors in bronchial cells of horses with recurrent airway obstruction. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 113, 11-20.
- COUËTIL, 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. *American Journal of Veterinary Research*, 66, 1665-1674.
- COUËTIL, 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. *American*

*Journal of Veterinary Research*, 62, 538-46.

COUËTIL, L. L. & WARD, M. P. 2003. Analysis of risk factors for recurrent airway obstruction in North American horses: 1,444 cases (1990–1999). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 223, 1645-1650.

DAUVILLIER, J., FELIPPE, M. J. B., 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. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25, 549-557.

DEATON, C. M., MARLIN, D. J., SMITH, N. C., ROBERTS, C. A., HARRIS, P. A., SCHROTER, R. C. & KELLY, F. J. 2005. Antioxidant and inflammatory responses of healthy horses and horses affected by recurrent airway obstruction to inhaled ozone. *Equine Veterinary Journal*, 37, 243-249.

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. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 105, 25-31.

DEEGEN, E. 1983. Beurteilung von Blutgasparametern des arteriellen Blutes bei Pferden mit respiratorischen und metabolischen Störungen. *Pferdeheilkunde Collegium Veterinarium*, 128-132.

DEEGEN, E. & KLEIN, H.-J. 1987. Interpleural Pressure Measurement and Bronchial Spasmolysis Tests in the Horse Performed with a Transportable Esophageal Pressure Measuring Instrument. *Pferdeheilkunde*, 3, 213-221.

DELUCA, L., ERB, H. N., YOUNG, J. C., PERKINS, G. A. & AINSWORTH, D. M. 2008. The effect of adding oral dexamethasone to feed alterations on the airway cell inflammatory gene expression in stabled horses affected with recurrent airway obstruction. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 22, 427-435.

DERKSEN, F. J. 1993. Chronic obstructive pulmonary disease (heaves) as an inflammatory condition. *Equine Veterinary Journal*, 25, 257-258.

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 Veterinary Journal*, 21, 23-26.

DERKSEN, F. J., ROBINSON, N. E., ARMSTRONG, P. J., STICK, J. A. & SLOCOMBE, R. F. 1985. Airway reactivity in ponies with recurrent airway obstruction (heaves). *Journal of Applied Physiology*, 58, 598-604.

DITTRICH, N. 2008. *Prophylaxe der Rhodococcus equi-Pneumonie bei Fohlendurch Vakzination mit Rhodococcus equi-Impfstoff und Adjuvans CpG X: Vergleich eines kurzen und langen Impfprotokolls*. Inaugural – Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover.

DIXON, P. M. 1992. RESPIRATORY MUCOCILIARY CLEARANCE IN THE HORSE IN HEALTH AND DISEASE, AND ITS PHARMACEUTICAL MODIFICATION. *Veterinary Record*, 131, 229-235.

DIXON, P. M., MCGORUM, B. C., MARLEY, C., HALLIWELL, R. E. W., MATTHEWS, A. G. & MORRIS, J. R. 1996. Effects of equine influenza and tetanus vaccination on pulmonary function in normal and chronic obstructive pulmonary disease affected horses. *Equine Veterinary Journal*, 28, 157-160.

DIXON, P. M., RAILTON, D. I. & MCGORUM, B. C. 1995. Equine pulmonary disease: a case control study of 300 referred cases. Part 2: Details of animals and of historical and clinical findings. *Equine Veterinary Journal*, 27, 422-427.

DURHAM, A. 2001. Update on therapeutics for obstructive pulmonary diseases in horses. *In Practice*, 23, 474-481.

EDER, C., CRAMERI, R., MAYER, C., EICHER, R., STRAUB, R., GERBER, H., LAZARY, S. & MARTI, E. 2000. Allergen-specific IgE levels against crude mould and storage mite extracts and recombinant mould allergens in sera from horses affected with chronic bronchitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 73, 241-253.

EHMANN, C., FEY, K.; 2011. Therapie chronisch entzündlicher Atemwegserkrankungen beim Pferd. *Der Praktische Tierarzt, Supplement für die ATF-annerkante Fortbildung*, 92, 16-26.

EMPEY, D. W., LAITINEN, L. A., JACOBS, L., GOLD, W. M. & NADEL, J. A. 1976. Mechanisms of bronchial hyperreactivity in normal subjects after upper respiratory tract infection. *The American review of respiratory disease*, 113, 131-139.

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 Veterinary Journal*, 26, 331-336.

EWART, S. L. & ROBINSON, N. E. 2007. Genes and respiratory disease: a first step on a long journey. *Equine Veterinary Journal*, 39, 270-274.

FAIRBAIRN, S. M., LEES, P., PAGE, C. P. & CUNNINGHAM, F. M. 1993a. Duration of antigen-induced hyperresponsiveness in horses with allergic respiratory disease and possible links with early airway obstruction. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 16, 469-476.

FAIRBAIRN, S. M., PAGE, C. P., LEES, P. & CUNNINGHAM, F. M. 1993b. Early neutrophil but not eosinophil or platelet recruitment to the lungs of allergic horses following antigen exposure. *Clinical & Experimental Allergy*, 23, 821-828.

FEY, K. 2003. Die tiefen Atemwege des Pferdes im Rahmen der Kaufuntersuchung - gibt es Befunde ohne besondere klinische Beeinträchtigung? *Der Praktische Tierarzt*, 84:8, 596-602.

FEY, K. 2005. *Der klinische Nutzen zytologischer Untersuchungen von bronchoalveolärer Lavageflüssigkeit bei der Differenzierung chronischer Bronchitiden des Pferdes*. Habilitationsschrift, Justus-Liebig-Universität.

FEY, K. 2006. Chronisch obstruktive Bronchi(oli)tis. In: DIETZ, O. & HUSKAMP, B. (Herausgeber) *Handbuch Pferdepraxis (dritte Auflage)*. Stuttgart: Enke Verlag.

FEY, K. 2010. Die hoch dosierte Gabe von 0,9%iger Kochsalzlösung zur Sekretolyse bei Pferden mit chronisch obstruktiver Bronchitis – eine Übersicht. *Pferdeheilkunde*, 26, 162-166.

FEY, K. & OHNESORGE, B. 2009. Alles Routine oder doch Herausforderung? Diagnostik und Therapie chronischer Atemwegserkrankungen. *Vortragsheft, Fortbildungsveranstaltung*. Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH.

FISCHER, B. & VOYNOW, J. 2000. Neutrophil Elastase Induces MUC5AC Messenger RNA Expression by an Oxidant-Dependent Mechanism. *CHEST Journal*, 117, 317S-320S.

FLAMINIO, M. J. B. F., BORGES, A. S., NYDAM, D. V., HOROHOV, D. W., HECKER, R. & MATYCHAK, M. B. 2007. The effect of CpG-ODN on antigen presenting cells of the foal. *Journal of immune based therapies and vaccines*, 5, 1.

FONSECA, D. E. & KLINE, J. N. 2009. Use of CpG oligonucleotides in treatment of asthma and allergic disease. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 61, 256-262.



FRANCHINI, M., GILL, U., VON FELLEBERG, 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. *American Journal of Veterinary Research*, 61, 1369-74.

FRANCHINI, M., GILLI, U., AKENS, M. K., FELLEBERG, R. V. & BRACHER, V. 1998. The role of neutrophil chemotactic cytokines in the pathogenesis of equine chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 66, 53-65.

FROSSI, B., DE CARLI, M., DANIEL, K. C., RIVERA, J. & PUCILLO, C. 2003. Oxidative stress stimulates IL-4 and IL-6 production in mast cells by an APE/Ref-1-dependent pathway. *European Journal of Immunology*, 33, 2168-2177.

GERBER, H. 1973. Chronic Pulmonary Disease in the Horse. *Equine Veterinary Journal*, 5, 26-33.

GERBER, H. 1989. Sir Frederick Hobday Memorial Lecture. The genetic basis of some equine diseases. *Equine Veterinary Journal*, 21, 244-248.

GERBER, H. 1997. Krankheiten der unteren Luftwege. In: Wintzer, H.-J. (Herausgeber) *Krankheiten des Pferdes (dritte Auflage)*. Berlin: Paul Parey Verlag.

GERBER, V., BALERI, D., KLUKOWSKA-ROTZLER, J., SWINBURNE, J. E. & DOLF, G. 2009. Mixed Inheritance of Equine Recurrent Airway Obstruction. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 23, 626-630.

GERBER, V., ROBINSON, N. E., LUETHI, S., MARTI, E., WAMPFLER, B. & STRAUB, R. 2010. Airway inflammation and mucus in two age groups of asymptomatic well-performing sport horses. *Equine Veterinary Journal* 35, 491-495.

GERBER, V., ROBINSON, N. E., VENTA, P. 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 Veterinary Journal*, 35, 252-257.

GERBER, V., SCHOTT II, H. C. & ROBINSON, N. E. 2011. Owner assessment in judging the efficacy of airway disease treatment. *Equine Veterinary Journal*, 43, 153-158.

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 Veterinary Journal*, 36, 576-582.

GIGUÈRE, 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. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 85, 147-158.

GRABNER, A. 2005. Spezielle Untersuchungen beim Pferd  
*In: KRAFT, W. & DÜRR, U. (Herausgeber) Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin (Sechste Auflage)*. Stuttgart: Verlag Schattauer.

GREEN, E. M. 1992. Esophageal Obstruction *In: ROBINSON, N. E. (Herausgeber) Current Therapy in Equine Medicine (dritte Auflage)*. Philadelphia: W.B. Saunders.

HAAS, T., METZGER, J., SCHMITZ, F., HEIT, A., MUELLER, T., LATZ, E. & WAGNER, H. 2008. The DNA sugar backbone 2 ' deoxyribose determines toll-like receptor 9 activation. *Immunity*, 28, 315-323.

HART, LORRAINE A., KRISHNAN, VIJAYA L., ADCOCK, IAN M., BARNES, PETER J. & CHUNG, K. F. 1998. Activation and Localization of Transcription Factor, Nuclear Factor-kappa B, in Asthma. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 158, 1585-1592.

HARTMANN, G., WEERATNA, R. D., BALLAS, Z. K., PAYETTE, P., BLACKWELL, S., SUPARTO, I., RASMUSSEN, W. L., WALDSCHMIDT, M., SAJUTHI, D., PURCELL, R. H., DAVIS, H. L. & KRIEG, A. M. 2000. Delineation of a CpG Phosphorothioate Oligodeoxynucleotide for Activating Primate Immune Responses In Vitro and In Vivo. *The Journal of Immunology*, 164, 1617-1624.

HEMMI, H., T. , KAISHO, O., TAKEUCHI, S., SATO, H., SANJO, K., HOSHINO, T., HORIUCHI, H., TOMIZAWA, K. & AKIRA, T. A. S. 2000. Small anti-viral compounds activate immune cells via the TLR7 MyD88-dependent signaling pathway. *Nature Immunology*, 3, 196-200.

HERHOLZ, C., STRAUB, R., GERBER, V., WAMPFLER, B., LÜTHI, S., IMHOF, A., MOENS, Y. & BUSATO, A. 2002. Relationship Between Clinical Signs and Pulmonary Function Estimated by the Single Breath Diagram for CO<sub>2</sub> (SBD-CO<sub>2</sub>) in Horses with Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *The Veterinary Journal*, 163, 187-195.

HOFFMAN, A. M., COUETIL, L. L. & MILLER, C. J. 1999. Airway responses to histamine aerosol in clinically normal foals. *American Journal of Veterinary Research*, 60, 965-968.

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. *American Journal of Veterinary Research*, 59, 176-181.

- HOROHOV, D. W., MILLS, W. R. & GLUCK, M. 2009. *Specific and Innate Immunity in the Lung as it Relates to Equine RAO* [Online]. Ithaca: Veterinary Information Service. Verfügbar unter:  
<http://www.ivis.org/proceedings/weas/2009/Horohov.pdf> [Zuletzt aufgerufen am 14.09. 2011].
- HOTCHKISS, J. W., REID, S. W. & CHRISTLEY, R. 2006. Construction and validation of a risk-screening questionnaire for the investigation of recurrent airway obstruction in epidemiological studies of horse populations in Great Britain. *Preventive Veterinary Medicine*, 75, 8-21.
- 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 Veterinary Journal*, 39, 301-308.
- HULLMANN, A. G. 2006. *Prophylaxe der Rhodococcus equi-Pneumonie bei Fohlen durch Vakzination mit Rhodococcus equi-Impfstoff und Adjuvans CpG XXXX*. Inaugural-Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover.
- 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 Veterinary Journal*, 32, 432-438.
- JEAN, D., VRINS, A. & LAVOIE, J. P. 2004. Respiratory and metabolic effects of massive administration of isotonic saline solution in heaves-affected and control horses. *Equine Veterinary Journal*, 36, 628-633.
- 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 Veterinary Journal*, 39, 236-241.

KANDIMALLA, E. R., BHAGAT, L., YU, D., CONG, Y., TANG, J. & AGRAWAL, S. 2002. Conjugation of Ligands at the 5'-End of CpG DNA Affects Immunostimulatory Activity. *Bioconjugate Chemistry*, 13, 966-974.

KANEENE, J. B., ROSS, W. A. & MILLER, R. 1997. The Michigan equine monitoring system. II. Frequencies and impact of selected health problems. *Preventive Veterinary Medicine*, 29, 277-292.

KARLIN, S., DOERFLER, W. & CARDON, L. R. 1994. Why is CpG suppressed in the genomes of virtually all small eukaryotic viruses but not in those of large eukaryotic viruses? *Journal of Virology*, 68, 2889-2897.

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 Veterinary Journal*, 22, 349-355.

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 Veterinary Journal*, 22, 343-348.

KELLER, H., FAULSTICH, M., ELKER, M., GRELL, M., WUSCHKO, S. & REHDERS, J. H. 2001. Klinische Studie zur Wirksamkeit und Verträglichkeit von N-Acetylcystein bei der Behandlung der COB/COPD des Pferdes, *Praktischer Tierarzt*, 82, 108-117.

KEREM, E., CANNY, G., REISMAN, J., BENTUR, L., LEVISON, H., TIBSHIRANI, R. & SCHUH, S. 1991. Clinical-Physiologic Correlations in Acute Asthma of Childhood. *Pediatrics*, 87, 481-486.

KERKMANN, M., COSTA, L. T., RICHTER, C., ROTHENFUSSER, S., BATTIANY, J., HORNUNG, V., JOHNSON, J., ENGLERT, S., KETTERER, T., HECKL, W., THALHAMMER, S., ENDRES, S. & HARTMANN, G. 2005.

Spontaneous Formation of Nucleic Acid-based Nanoparticles Is Responsible for High Interferon- $\alpha$  Induction by CpG-A in Plasmacytoid Dendritic Cells. *Journal of Biological Chemistry*, 280, 8086-8093.

KIELY, R. G. & JENKINS, W. L. 1985. The effect of clenbuterol chloride on the mucociliary transport rate in horses with a clinical diagnosis of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *In: Proceedings of the American College of Veterinary Internal Medicine*, San Diego, Californien, USA, 146.

KIS, Z., BAKOS, Z. & FENYVES, B. 2001. Diagnostic value of thoracic radiography in lower respiratory diseases of horses. *Magyar Allatorvosok Lapja*, 123, 195-202.

KLEIN, H. J. & DEEGEN, E. 1986. Histamine inhalation provocation test: Method to identify nonspecific reactivity in equids. *American Journal of Veterinary Research*, 47, 1796-1800.

KLIER, J. 2011. *Neuer Therapieansatz zur Behandlung der COB des Pferdes durch Immunstimulation von BAL-Zellen mit verschiedenen CpG-Klassen*  
Inaugural-Dissertation, Ludwigs-Maximilians-Universität München.

KLIER, J., FUCHS, S., MAY, A., SCHILLINGER, U., PLANK, C., WINTER, G., GEHLEN, H. & COESTER, C. 2012. A Nebulized Gelatin Nanoparticle-Based CpG Formulation is Effective in Immunotherapy of Allergic Horses. *Pharmaceutical Research*, 29, 1650-1657.

KLINE, J. N. & KRIEG, A. M. 2008. Toll-Like Receptor 9 Activation with CpG Oligodeoxynucleotides for Asthma Therapy. *Drug News & Perspectives*, 21, 434-439.

KLINMAN, D. M. 2004. Immunotherapeutic uses of CpG oligodeoxynucleotides. *Nature Reviews Immunology*, 4, 249-259.

KLINMAN, D. M., YI, A. K., BEAUCAGE, S. L., CONOVER, J. & KRIEG, A. M. 1996. CpG motifs present in bacteria DNA rapidly induce lymphocytes to secrete interleukin 6, interleukin 12, and interferon gamma. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93, 2879-83.

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 Veterinary Journal*, 39, 107-112.

KRIEG, A. M. 2002. CPG MOTIFS IN BACTERIAL DNA AND THEIR IMMUNE EFFECTS. *Annual Review of Immunology*, 20, 709-760.

KRIEG, A. M., YI, A. K., MATSON, S., WALDSCHMIDT, T. J., BISHOP, G. A., TEASDALE, R., KORETZKY, G. A. & KLINMAN, D. M. 1995. CpG motifs in bacterial DNA trigger direct B-cell activation. *Nature*, 374, 546-9.

KRUG, A., ROTHENFUSSER, S., HORNUNG, V., JAHRSDÖRFER, B., BLACKWELL, S., BALLAS, Z. K., ENDRES, S., KRIEG, A. M. & HARTMANN, G. 2001. Identification of CpG oligonucleotide sequences with high induction of IFN- $\alpha/\beta$  in plasmacytoid dendritic cells. *European Journal of Immunology*, 31, 2154-2163.

LAAN, T. T. J. M., BULL, S., PIRIE, R. S. & FINK-GREMMELS, J. 2006. The anti-inflammatory effects of IV administered clenbuterol in horses with recurrent airway obstruction. *The Veterinary Journal*, 171, 429-437.

LARSON, V. L. & BUSCH, R. H. 1985. EQUINE TRACHEO-BRONCHIAL LAVAGE - COMPARISON OF LAVAGE CYTOLOGIC AND PULMONARY HISTOPATHOLOGIC FINDINGS. *American Journal of Veterinary Research*, 46, 144-146.

LAUMEN, E., DOHERR, M. G. & GERBER, V. 2010. Relationship of horse owner assessed respiratory signs index to characteristics of recurrent airway obstruction in two Warmblood families. *Equine Veterinary Journal*, 42, 142-148.

LAVOIE, J.-P., MAGHNII, 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. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 164, 1410-1413.

LAVOIE, J. P. 2009. *Heaves in Horses: Allergy Or Non Specific Response To Environmental Antigens?* [Online]. Ithaca: International Veterinary Information Service. Verfügbar unter: <http://www.ivis.org/proceedings/geneva/2009/4.pdf> [Zuletzt aufgerufen am 14.09. 2011].

LAVOIE, J. P., CESARINI, C., LAVOIE-LAMOUREUX, A., MORAN, K., LUTZ, S., PICANDET, V., JEAN, D. & MARCOUX, M. 2011. Bronchoalveolar Lavage Fluid Cytology and Cytokine Messenger Ribonucleic Acid Expression of Racehorses with Exercise Intolerance and Lower Airway Inflammation. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25, 322-329.

LAVOIE, J. P., LÉGUILLETTE, R., PASLOSKE, K., CHARETTE, L., SAWYER, N., GUAY, D., MURPHY, T. & HICKEY, G. J. 2002. Comparison of effects of dexamethasone and the leukotriene D4 receptor antagonist L-708,738 on lung function and airway cytologic findings in horses with recurrent airway obstruction. *American Journal of Veterinary Research*, 63, 579-585.

LECLERE, M., LAVOIE-LAMOUREUX, A. & LAVOIE, J.-P. 2011. Heaves, an asthma-like disease of horses. *Respirology*, 16, 1027-1046.

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*



*Veterinary Journal*, 42, 316-321.

LEKEUX, P., SANDE, R. D. & TUCKER, R. L. 2004. *Radiology of the equine lungs and thorax* [Online]. Ithaca: International Veterinary Information Service.

Verfügbar unter:

[http://www.ivis.org/special\\_books/Lekeux/tucker/chapter\\_frm.asp?LA=1](http://www.ivis.org/special_books/Lekeux/tucker/chapter_frm.asp?LA=1) [Zuletzt aufgerufen am 16.09. 2011].

LEMAITRE, B., NICOLAS, E., MICHAUT, L., REICHHART, J. M. & HOFFMANN, J. A. 1996. The dorsoventral regulatory gene cassette *spatzle/Toll/cactus* controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults. *Cell*, 86, 973-983.

LIU, T., NERREN, J., MURRELL, J., JUILLARD, V., EL GARCH, H., MARTENS, R. & COHEN, N. 2008. CpG-induced stimulation of cytokine expression by peripheral blood mononuclear cells of foals and their dams. *Journal of Equine Veterinary Science*, 28, 419-426.

LOPEZ, A. M., HECKER, R., MUTWIRI, G., LITTEL-VAN DEN HURK, S. V., BABIUK, L. A. & TOWNSEND, H. G. G. 2006. Formulation with CpG ODN enhances antibody responses to an equine influenza virus vaccine. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 114, 103-110.

LUNN, P. & HOROHOV, D. W. 2004. The equine immune system. In: REED, S. M., BAYLY, W. M. & SELLON, D. C. (Herausgeber): *Equine internal medicine (dritte Auflage)*. St. Louis: Saunders Elsevier.

MACNAMARA, B., BAUER, S. & IAFE, J. 1990. Endoscopic evaluation of exercise-induced pulmonary hemorrhage and chronic obstructive pulmonary disease in association with poor performance in racing Standardbreds. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 196, 443-445.

MAIR, T. S. 1988. Adverse Reactions to Equine Vaccinations - A Preliminary Survey. *Veterinary Record*, 122, 396-396.

MAIR, T. S. 1996. Obstructive pulmonary disease in 18 horses at summer pasture. *Veterinary Record*, 138, 89-91.

MALIKIDES, N., HUGHES, K. J., HODGSON, D. R. & HODGSON, J. L. 2003. Comparison of tracheal aspirates and bronchoalveolar lavage in racehorses 2. Evaluation of the diagnostic significance of neutrophil percentage. *Australian Veterinary Journal*, 81, 685-687.

MARSH, D. G., LOCKHART, A. & HOLGATE, S. T. (Herausgeber) 1993. *The Genetics of Asthma*, Oxford: Blackwell Scientific Publication.

MARTI, E., GERBER, H., ESSICH, G., OULEHLA, J. & LAZARY, S. 1991. The genetic basis of equine allergic diseases 1. Chronic hypersensitivity bronchitis. *Equine Veterinary Journal*, 23, 457-460.

MAY, A. & GEHLEN, H. 2009. Durchführung, Analyse und Aussagekraft von Tracheobronchialsekret (TBS) und Bronchoalveolärer Lavage (BAL) bei Pferden mit Lungenerkrankungen. *Pferdeheilkunde*, 25, 310-320.

MAZAN, M. R. 2010. Inflammatory Airway Disease in the Horse. *Proceedings of the AAEP-Focus Meeting, Focus on Upper and Lower Respiratory Disease*, Salt Lake City, USA, 100-106.

MAZAN, M. R., HOFFMAN, A. M. & MANJEROVIC, N. 1999. Comparison of forced oscillation with the conventional method for histamine bronchoprovocation testing in horses. *American Journal of Veterinary Research*, 60, 174-180.

MCFADDEN, E. R., KISER, R. & DEGROOT, W. J. 1973. Acute Bronchial Asthma. *New England Journal of Medicine*, 288, 221-225.

MCGORUM, B. C., DIXON, P. M. & HALLIWELL, R. E. W. 1993b. Responses of horses affected with chronic obstructive pulmonary disease to inhalation challenges with mould antigens. *Equine Veterinary Journal*, 25, 261-267.

MCKAY, D. M. 2006. The beneficial helminth parasite? *Parasitology*, 132, 1-12.

MCPHERSON, E. A., LAWSON, G. H. K., MURPHY, J. R., NICHOLSON, J. M., BREEZE, R. G. & PIRIE, H. M. 1979. Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD): Factors influencing the occurrence. *Equine Veterinary Journal*, 11, 167-171.

MCPHERSON, E. A., LAWSON, G. H. K., 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 Veterinary Journal*, 10, 47-53.

MCPHERSON, E. A. & THOMSON, J. R. 1983. Chronic obstructive pulmonary disease in the horse 1: Nature of the disease. *Equine Veterinary Journal*, 15, 203-206.

MENZEL, M. 2012. *Selektive Entwurmung* [Online]. Verfügbar unter: <http://www.selektive-entwurmung.com/index.html> [Zuletzt aufgerufen am 21.06.2012].

MILLS, P. C., NG, J. C., KRAMER, H. & AUER, D. E. 1997. Stress response to chronic inflammation in the horse. *Equine Veterinary Journal*, 29, 483-486.

MORÁN, G., BURGOS, R., ARAYA, O. & FOLCH, H. 2010. In vitro bioassay to detect reaginic antibodies from the serum of horses affected with Recurrent Airway Obstruction. *Veterinary Research Communications*, 34, 91-99.

MÜLLER-ALANDER, E. 2008. *Prophylaxe der Rhodococcus equi-Pneumonie bei Fohlendurch Vakzination mit einem Rhodococcus equi-Totimpfstoff mit einem unterschiedlich dosierten CpG-Adjuvans*. Inaugural-Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover.

MURRAY, J. K., SINGER, E. R., MORGAN, K. L., PROUDMAN, C. J. & FRENCH, N. P. 2004. Memory decay and performance-related information bias in the reporting of scores by event riders. *Preventive Veterinary Medicine*, 63, 173-182.

MUTWIRI, G., LITTEL-VAN DEN HURK, S. V. D. & BABIUK, L. A. 2009. Approaches to enhancing immune responses stimulated by CpG oligodeoxynucleotides. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 61, 226-232.

MUTWIRI, G. K., NICHANI, A. K., BABIUK, S. & BABIUK, L. A. 2004. Strategies for enhancing the immunostimulatory effects of CpG oligodeoxynucleotides. *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society*, 97, 1-17.

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. *Canadian Veterinary Journal-Revue Veterinaire Canadienne*, 33, 591-598.

NEUHAUS, S., BRUENDLER, P., FREY, C. F., GOTTSTEIN, B., DOHERR, M. G. & GERBER, V. 2010. Increased Parasite Resistance and Recurrent Airway Obstruction in Horses of a High-Prevalence Family. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 24, 407-413.

NIEDERMAIER, G. & GEHLEN, H. 2009. Möglichkeiten der Inhalationstherapie zur Behandlung der chronisch obstruktiven Bronchitis des Pferdes. *Pferdeheilkunde*, 4, 327-332.

NYMAN, G., LINDBERG, R., WECKNER, D., BJÖRK, M., KVART, C., PERSSON, S. G. B., GUSTAFSSON, H. & HEDENSTIERNA, G. 1991. Pulmonary gas exchange correlated to clinical signs and lung pathology in horses with chronic bronchiolitis. *Equine Veterinary Journal*, 23, 253-260.

OHNESORGE, B. (ed.) 2009. *RAO/COB/COPD: Definition und Erstuntersuchung, auch unter forensischen Gesichtspunkten*, Nürnberg: bpt Akademie GmbH.

OHNESORGE, B., TRÖTSCHHEL, C. & DEEGEN, E. 1998a. Bestimmung von Totraum und expiratorischem Mischvolumen zur Diagnostik chronischer Lungenerkrankungen beim Pferd. *Pferdeheilkunde*, 14, 450-455.

OHNESORGE, B., TRÖTSCHHEL, C. & DEEGEN, E. 1998b. Diagnostic value of capnography in horses with RAO. *Proceedings 5th World Equine Veterinary Association Congress*, 65-69.

PETSCHKE, V. M., DERKSEN, F. J. & ROBINSON, N. E. 1994. TIDAL BREATHING FLOW-VOLUME LOOPS IN HORSES WITH RECURRENT AIRWAY-OBSTRUCTION (HEAVES). *American Journal of Veterinary Research*, 55, 885-891.

PIRIE, R. S., DIXON, P. M. & MCGORUM, B. C. 2002. Evaluation of nebulised hay dust suspensions (HDS) for the diagnosis and investigation of heaves. 3: Effect of fractionation of HDS. *Equine Veterinary Journal*, 34, 343-347.

POOLE, P. J. & BLACK, P. N. 2001. Oral mucolytic drugs for exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease: systematic review. *British Medical Journal (Clinical research ed.)*, 322, 1271-1274.

RAHN, A., FELLNER, F. & BRÜCKNER, S. (Herausgeber) 2010. *Pferdekauf heute*, Warendorf: FN Verlag der Deutschen Reiterlichen Vereinigung GmbH.

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. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 21, 149-156.

RANKIN, R., PONTAROLLO, R., IOANNOU, X., KRIEG, A. M., HECKER, R., BABIUK, L. A. & VAN DRUNEN LITTEL-VAN DEN HURK, S. 2001. CpG Motif Identification for Veterinary and Laboratory Species Demonstrates That Sequence Recognition Is Highly Conserved. *Antisense and Nucleic Acid Drug Development*, 11, 333-340.

REINHOLD, P., BECHER, G. & ROTHE, M. 2000. Evaluation of the measurement of leukotriene B4 concentrations in exhaled condensate as a noninvasive method for assessing mediators of inflammation in the lungs of calves. *American Journal of Veterinary Research*, 61, 742-749.

REITEMEYER, H., KLEIN, H. J. & DEEGEN, E. 1986. The effect of sedatives on lung function in horses. *Acta veterinaria Scandinavica. Supplementum*, 82, 111-20.

REITZ, A. 2006. Vergleich therapeutischer Effekte von Laserakupunktur und medikamenteller Therapie bei der COB (RAO) des Pferdes. Inaugural-Dissertation, Gießen.

ROBINSON, N. E. 2001a. International Workshop on Equine Chronic Airway Disease Michigan State University 16–18 June 2000. *Equine Veterinary Journal*, 33, 5-19.

ROBINSON, N. E. 2001b. *Recurrent Airway Obstruction (Heaves)* [Online]. Ithaca: International Veterinary information Service. Verfügbar unter: [http://www.ivis.org/special\\_books/Lekeux/robinson/chapter\\_frm.asp?LA=1](http://www.ivis.org/special_books/Lekeux/robinson/chapter_frm.asp?LA=1) [Zuletzt aufgerufen am 14.09. 2011].

ROBINSON, N. E. 2003. Inflammatory airway disease: defining the syndrome. Conclusions of the Havemeyer Workshop. *Equine Veterinary Education*, 15, 61-63.

ROBINSON, N. E., BERNEY, C., EBERHART, S., DEFEIJTER-RUPP, H. L., JEFCOAT, A. M., CORNELISSE, C. J., GERBER, V. M. & DERKSEN, F. J. 2003. Coughing, mucus accumulation, airway obstruction, and airway inflammation in control horses and horses affected with recurrent airway obstruction. *American Journal of Veterinary Research*, 64, 550-557.

ROBINSON, N. E., DERKSEN, F. J., OLSZEWSKI, M., BERNEY, C., BOEHLER, D., MATSON, C. & HAKALA, J. 1999. Determinants of the maximal change in pleural pressure during tidal breathing in COPD-affected horses. *Veterinary Journal*, 157, 160-165.

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 Veterinary Journal*, 34, 17-22.

ROBINSON, N. E., KARMAUS, W., HOLCOMBE, S. J., CARR, E. A. & DERKSEN, F. J. 2006. Airway inflammation in Michigan pleasure horses: prevalence and risk factors. *Equine Veterinary Journal*, 38, 293-299.

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 Veterinary Journal*, 32, 393-400.

ROMAGNANI, S. 1994. Lymphokine Production by Human T Cells in Disease States. *Annual Review of Immunology*, 12, 227-257.

ROSER, M., FISCHER, D. & KISSEL, T. 1998. Surface-modified biodegradable albumin nano- and microspheres. II: effect of surface charges on in vitro

phagocytosis and biodistribution in rats. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 46, 255-263.

RUSH, B. & MAIR, T. S. (Herausgeber) 2004. *Equine Respiratory Diseases (zweite Auflage)*, Oxford: Blackwell Verlag.

SALOMON, F.-V., GEYER, H. & GILLE, U. (Herausgeber) 2005. *Anatomie für die Tiermedizin*, Stuttgart: Enke-Verlag.

SASSE, H. H. L. 1971. *Some Pulmonary Function Tests in Horses. An Aid to Early Diagnosis of Chronic Obstructive Pulmonary Disease (heaves) in Horses*. PhD Thesis, University of Utrecht, The Netherlands.

SCHÄPFER, W. 1939. Untersuchungen über die Erbllichkeit und das Wesen des Lungendampfes beim Pferd. *Tierärztliche Rundschau*, 45, 595-601.

SEAHORN, T. L. & BEADLE, R. E. 1993. Summer pasture-associated obstructive pulmonary disease in horses: 21 cases (1983-1991). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 202, 779-782.

SEARS, M. R. 1997. Epidemiology of childhood asthma. *The Lancet*, 350, 1015-1020.

SELROOS, O., LÖFROOS, A. B., PIETINALHO, A. & RISKA, H. 2004. Asthma control and steroid doses 5 years after early or delayed introduction of inhaled corticosteroids in asthma: a real-life study. *Respiratory Medicine*, 98, 254-262.

SENTI, G., JOHANSEN, P., HAUG, S., BULL, C., GOTTSCHALLER, C., MULLER, P., PFISTER, T., MAURER, P., BACHMANN, M. F., GRAF, N. & KUNDIG, T. M. 2009. Use of A-type CpG oligodeoxynucleotides as an adjuvant in allergen-specific immunotherapy in humans: a phase I/IIa clinical trial. *Clinical*



and *Experimental Allergy*, 39, 562-570.

SESTER, D. P., NAIK, S., BEASLEY, S. J., HUME, D. A. & STACEY, K. J. 2000. Phosphorothioate Backbone Modification Modulates Macrophage Activation by CpG DNA. *The Journal of Immunology*, 165, 4165-4173.

SIEGAL, F. P., KADOWAKI, N., SHODELL, M., FITZGERALD-BOCARSLY, P. A., SHAH, K., HO, S., ANTONENKO, S. & LIU, Y.-J. 1999. The Nature of the Principal Type 1 Interferon-Producing Cells in Human Blood. *Science*, 284, 1835-1837.

SPÖRRI, H. & LEEMANN, W. 1964. Zur Untersuchung der Lungenmechanik bei Großtieren. *Schweizer Archiv Für Tierheilkunde*, 106, 699-714.

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 Veterinary Journal*, 18, 171-178.

STRACHAN, D. P. 1989. Hay fever, hygiene, and household size. *British Medical Journal*, 299, 1259-60.

TAHON, L., BASELGIA, S., GERBER, V., DOHERR, M. G., STRAUB, R., ROBINSON, N. E. & MARTI, E. 2009. In vitro allergy tests compared to intradermal testing in horses with recurrent airway obstruction. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 127, 85-93.

TAYLOR, F. G. R. 1989. Speculations on the cause of adverse reactions to equine influenza vaccination. *Equine Veterinary Education*, 1, 77-81.

THIELE, L., ROTHEN-RUTISHAUSER, B., JILEK, S., WUNDERLI-ALLENSPACH, H., MERKLE, H. P. & WALTER, E. 2001. Evaluation of particle uptake in human blood monocyte-derived cells in vitro. Does

phagocytosis activity of dendritic cells measure up with macrophages? *Journal of Controlled Release*, 76, 59-71.

THOMSON, J. R. & MCPHERSON, E. A. 1981. Prophylactic effects of sodium cromoglycate on chronic obstructive pulmonary disease in the horse. *Equine Veterinary Journal*, 13, 243-246.

THOMSON, J. R. & MCPHERSON, E. A. 1984. Effects of environmental control on pulmonary function of horses affected with chronic obstructive pulmonary disease. *Equine Veterinary Journal*, 16, 35-38.

TRAUB, P. M. 2005. *Klinische und immunologische Untersuchungen zur Ausprägung der Chronisch Obstruktiven Bronchitits*. Inaugural-Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover.

TSENG, C.-L., WU, S. Y.-H., WANG, W.-H., PENG, C.-L., LIN, F.-H., LIN, C.-C., YOUNG, T.-H. & SHIEH, M.-J. 2008. Targeting efficiency and biodistribution of biotinylated-EGF-conjugated gelatin nanoparticles administered via aerosol delivery in nude mice with lung cancer. *Biomaterials*, 29, 3014-3022.

TURGUT, K. & SASSE, H. H. L. 1989. Influence of clenbuterol on mucociliary transport in healthy horses and horses with chronic obstructive pulmonary disease. *Veterinary Record*, 125, 526-530.

VAN DEN HOVEN, R., DUVIGNEAU, J., HARTL, R. & GEMEINER, M. 2006. Clenbuterol Affects the Expression of Messenger RNA for Interleukin 10 in Peripheral Leukocytes from Horses Challenged Intrabronchially with Lipopolysaccharides. *Veterinary Research Communications*, 30, 921-928.

VAN DEN HOVEN, R., ZAPPE, H., ZITTERL-EGLESEER, K., JUGL, M. & FRANZ, C. 2003. Study of the effect of Bronchipret on the lung function of five Austrian saddle horses suffering recurrent airway obstruction (heaves). *Veterinary Record*, 152, 555-557.

VANDENPUT, S., DUVIVIER, D. H., VOTION, D., ART, T. & LEKEUX, P. 1998a. Environmental control to maintain stabled COPD horses in clinical remission: effects on pulmonary function. *Equine Veterinary Journal*, 30, 93-96.

VANDENPUT, S., VOTION, D., DUVIVIER, D. H., VAN ERCK, E., ANCIAUX, N., ART, T. & LEKEUX, P. 1998b. Effect of a set stabled environmental control on pulmonary function and airway reactivity of COPD affected horses. *Veterinary Journal*, 155, 189-195.

VAUGHN, J. M., MCCONVILLE, J. T., BURGESS, D., PETERS, J. I., JOHNSTON, K. P., TALBERT, R. L. & WILLIAMS III, R. O. 2006. Single dose and multiple dose studies of itraconazole nanoparticles. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 63, 95-102.

VOLLMER, J. & KRIEG, A. M. 2009. Immunotherapeutic applications of CpG oligodeoxynucleotide TLR9 agonists. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 61, 195-204.

VRINS, A., DOUCET, M. & NUNEZ-OCHOA, L. 1991. A Retrospective Study of Bronchoalveolar Lavage Cytology in Horses with Clinical Findings of Small Airway Disease. *Journal of Veterinary Medicine Series A*, 38, 472-479.

WAGNER, B. 2009. IgE in horses: Occurrence in health and disease. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 132, 21-30.

WAGNER, B. A. 1996. In: Smith, B.P. (Herausgeber): *Large Animal Internal Medicine*. St. Louis: Mosby, 550-565.

WATTRANG, E., BERG, M. & MAGNUSSON, M. 2005. Immunostimulatory DNA activates production of type I interferons and interleukin-6 in equine peripheral blood mononuclear cells in vitro. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 107, 265-279.

WEILER, H. & JACH, T. 1989. NaCl-Hyperinfusionstherapie mit tödlichem Ausgang beim Pferd. *Pferdeheilkunde*, 5, 217-222.

WEINER, G. J. 2000. The immunobiology and clinical potential of immunostimulatory CpG oligodeoxynucleotides. *Journal of Leukocyte Biology*, 68, 455-463.

WILLIAMSON, K. K. & DAVIS, M. S. 2007. Evidence-based respiratory medicine in horses. *Veterinary Clinics of North America-Equine Practice*, 23, 215-+.

WILSON, D. V., LANKENAU, C., BERNEY, C. E., PERONI, D. L., MULLINEAUX, D. R. & ROBINSON, N. E. 2004. The effects of a single acupuncture treatment in horses with severe recurrent airway obstruction. *Equine Veterinary Journal*, 36, 489-494.

WILSON, K. D., DE JONG, S. D. & TAM, Y. K. 2009. Lipid-based delivery of CpG oligonucleotides enhances immunotherapeutic efficacy. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 61, 233-242.

WINDER, N. C., GRUNIG, G., HERMANN, M. & VONFELLENBERG, R. 1991. Comparison of bronchoalveolar lavage and respiratory secretion cytologie in horses with histologically diagnosed pulmonary-disease. *Schweizer Archiv Für Tierheilkunde*, 133, 123-130.

WINDER, N. C. & VONFELLENBERG, R. 1987. Chronic small airway disease in horses slaughtered in Switzerland. *Schweizer Archiv Für Tierheilkunde*, 129, 585-593.

WOOD, L. G., GIBSON, P. G. & GARG, M. L. 2003. Biomarkers of lipid peroxidation, airway inflammation and asthma. *European Respiratory Journal*, 21, 177-186.

WOODS, P. S. A., 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 Veterinary Journal*, 25, 208-213.

YAMASHITA, M., ONODERA, A. & NAKAYAMA, T. 2007. Immune Mechanisms of Allergic Airway Disease: Regulation by Transcription Factors. *Critical Reviews In Immunology*, 27, 539-546.

ZWIOREK, K., BOURQUIN, C., BATTIANY, J., WINTER, G., ENDRES, S., HARTMANN, G. & COESTER, C. 2008. Delivery by cationic gelatin nanoparticles strongly increases the immunostimulatory effects of CpG oligonucleotides. *Pharmaceutical Research*, 25, 551-562.

ZWIOREK, K., KLOECKER, K., WAGNER, E. & COESTER, C. 2004. Gelatin nanoparticles as a new and simple gene delivery system. *Journal of pharmacy & pharmaceutical sciences*, 7, 22-38.

## 9 Anhang

### 9.1 ANZEIGENTEXT

**Studie zu Ursachen und Verlauf  
der chronisch obstruktiven Bronchitis (COB)  
beim Pferd und Anwendung eines neuen Therapieverfahrens**



Leidet Ihr Pferd unter chronischem Husten oder Dämpfigkeit?

Gesucht werden chronisch lungenkranke Pferde für die Anwendung eines neuen Therapieverfahrens und eine Untersuchung der Ursachen und des Verlaufs der Erkrankung im Rahmen einer wissenschaftlichen Studie an der LMU München.

**Die Therapie Ihres Pferdes erfolgt völlig kostenfrei.**

Durch die Teilnahme an der Studie tragen Sie und Ihr Pferd dazu bei, mögliche Ursachen und Krankheitsverläufe bei der chronisch obstruktiven Bronchitis des Pferdes genauer analysieren zu können und dadurch zukünftig das Management und die Therapie dieser Krankheit bei betroffenen Pferden zu optimieren.

**Für eine mögliche Studienteilnahme Ihres Pferdes senden sie bitte eine Email an [lungenstudie-pferd@vetmed.uni-muenchen.de](mailto:lungenstudie-pferd@vetmed.uni-muenchen.de), Sie erhalten dann automatisch den Link zum Onlinefragebogen!**

An der Fragebogenaktion können auch Pferdebesitzer teilnehmen, die inzwischen nicht mehr im Besitz des erkrankten Pferdes sind bzw. deren lungenkrankes Pferd inzwischen verstorben ist.

Falls Sie lieber eine ausgedruckte Version bearbeiten möchten, bitte ich um kurze Mitteilung Ihrer Postanschrift an dieselbe Emailadresse.

**Bitte machen Sie auch Freunde und Bekannte mit lungenkranken Pferden auf diese Anzeige aufmerksam!**

[lungenstudie-pferd@vetmed.uni-muenchen.de](mailto:lungenstudie-pferd@vetmed.uni-muenchen.de)

[lungenstudie-pferd@vetmed.uni-muenchen.de](mailto:lungenstudie-pferd@vetmed.uni-muenchen.de)

[lungenstudie-pferd@vetmed.uni-muenchen.de](mailto:lungenstudie-pferd@vetmed.uni-muenchen.de)

[lungenstudie-pferd@vetmed.uni-muenchen.de](mailto:lungenstudie-pferd@vetmed.uni-muenchen.de)

## 9.2 FRAGEBOGENHOMEPAGE (in Microsoft Word Format konvertiert)

**Studie zu Ursachen und Verlauf der chronisch obstruktiven Bronchitis (COB) beim Pferd und Anwendung eines neuen Therapieverfahrens**

Lieber Pferdebesitzer, liebe Pferdebesitzerin,  
vielen Dank für Ihr Interesse an unserer Studie!

Gesucht werden chronisch lungenkranke Pferde für die Anwendung eines neuen Therapieverfahrens und eine Untersuchung der Ursachen und des Verlaufs der Erkrankung im Rahmen einer wissenschaftlichen Studie an der Pferdeklunik der LMU München.

**Die Therapie Ihres Pferdes erfolgt völlig kostenfrei.**

Durch die Teilnahme an der Studie tragen Sie und Ihr Pferd dazu bei, mögliche Ursachen und Krankheitsverläufe bei der chronisch obstruktiven Bronchitis des Pferdes genauer analysieren zu können und dadurch zukünftig das Management und die Therapie dieser Krankheit bei betroffenen Pferden zu optimieren.

An der Fragebogenaktion können auch Pferdebesitzer teilnehmen, die inzwischen nicht mehr im Besitz des erkrankten Pferdes sind bzw. deren lungenkrankes Pferd inzwischen verstorben ist.

**Bitte machen Sie auch Freunde und Bekannte mit lungenkranken Pferden auf diese Studie aufmerksam!**

Der benötigte Zeitaufwand für das Ausfüllen des Fragebogens beträgt maximal zehn Minuten!

**Allgemeine Angaben zum Pferd**

1. Name und Anschrift des Pferdebesitzers:

---

---

---

2. Telefonnummer:

---

3. Emailadresse:

---

4. Name und Telefonnummer des Haustierarztes:

---

---

5. Signalment des Pferdes

- Name: \_\_\_\_\_
- Alter: \_\_\_\_\_
- Rasse: \_\_\_\_\_
- Farbe: \_\_\_\_\_
- Geschlecht: \_\_\_\_\_

6. Seit wann befindet sich das Pferd in Ihrem Besitz?

\_\_\_\_\_  
Bitte mit Angabe des Monats und des Jahres, zum Beispiel: 10/1993



7. Ist Ihnen bekannt, wie Ihr Pferd hauptsächlich während seiner Aufzucht gehalten wurde?

(Bitte wählen Sie nur eine der folgenden Antworten aus)

- Boxenhaltung
- Box mit Paddock
- Laufstallhaltung
- Offenstallhaltung
- Weidehaltung
- Nicht bekannt

8. Bestand bei Ihrem Pferd vor dem Auftreten der Lungenerkrankung ein Impfschutz gegen das equine Herpesvirus?

(Bitte wählen Sie nur eine der folgenden Antworten aus)

- Ja, das Pferd wurde im Abstand von 6 Monaten gegen das equine Herpesvirus geimpft
- Ja, aber das Pferd wurde nur unregelmäßig geimpft (größere zeitliche Abstände als 6 Monate)
- Nein
- Nicht bekannt

9. Bestand bei Ihrem Pferd vor dem Auftreten der Lungenerkrankung ein Impfschutz gegen das Influenzavirus?

(Bitte wählen Sie nur eine der folgenden Antworten aus)

- Ja, es wurden Impfungen im Abstand von 6 Monaten durchgeführt
- Ja, es wurden Impfungen im Abstand von 12 Monaten durchgeführt
- Ja, aber das Pferd wurde nur unregelmäßig geimpft
- Nein
- Nicht bekannt

10. Ist ihr Pferd nach Auftreten der Lungenerkrankung regelmäßig geimpft worden?

(Bitte wählen Sie nur eine der folgenden Antworten aus)

- Ja, gegen Influenza
- Ja, gegen Herpes
- Ja, gegen Influenza und Herpes
- Nein
- Nicht bekannt

11. Haben Sie einen Zusammenhang zwischen der Durchführung von Impfungen und dem Auftreten von Krankheitssymptomen bei Ihrem Pferd feststellen können?

- Ja
- Nein

Falls Sie einen Zusammenhang erkennen konnten, schildern Sie diesen bitte:

---



---



---

12. Wird Ihr Pferd regelmäßig entwurmt?

(Falls Sie ein anderes Entwurmungsschema verwenden, schildern Sie dieses bitte unter "Sonstiges")

- Ja, alle 3 Monate
- Nein
- Sonstiges:

---



---

13. Ist Ihnen bekannt, ob Geschwister Ihres Pferdes bzw. seine Elterntiere ebenfalls an COB leiden?

(Bitte wählen Sie nur eine der folgenden Antworten aus)

- Ja, ein Elterntier
- Ja, beide Elterntiere
- Ja, mehrere Geschwistertiere
- Nein, keine Krankheitsfälle unter verwandten Pferden
- Nicht bekannt

Bitte mit Angabe des Geschlechtes „männlich, weiblich, Wallach“ des bzw. der betroffenen Tiere: \_\_\_\_\_

14. Wie viel Bewegungsmöglichkeit hat Ihr Pferd durchschnittlich pro Tag?

(Bitte Angabe der ungefähren durchschnittlichen Zeitdauer in Stunden)

- \_\_\_\_\_ Stunden unter dem Reiter im Frühling/Sommer/Herbst
- \_\_\_\_\_ Stunden freie Bewegung im Frühling/Sommer/Herbst (Weide, Paddock)

- \_\_\_\_\_ Stunden unter dem Reiter im Winter
- \_\_\_\_\_ Stunden freie Bewegung im Winter (Weide, Paddock)
- Sonstiges (zum Beispiel Laufband, Führenanlage):

---



---



---

**15. Welchen Verwendungszweck hatte Ihr Pferd vor dem Auftreten der Lungenerkrankung?**

(Bitte geben Sie die hauptsächliche Nutzungsart und bei Turnierpferden die Leistungsklasse an)

- Zucht
- Anreiten
- Dressur
- Springen
- Vielseitigkeit
- Freizeit
- Westernreiten
- Fahrsport
- Schulbetrieb
- Trabrennen
- Galopprennen
- Distanzreiten
- Jagdreiten
- Voltigieren
- Gnadenbrotpferd
- Sonstiges
- Nicht bekannt

• Leistungsklasse(n): \_\_\_\_\_

**16. Haben Sie mit Ihrem Pferd bzw. Ihr Pferd mit einem evtl. Vorbesitzer vor Auftreten der Lungenerkrankung Turniererfolge erzielt?**

- Wenn ja, in welcher Disziplin?  
\_\_\_\_\_
- Wenn ja, bis zu welcher Leistungsklasse?  
\_\_\_\_\_
- Nein
- Nicht bekannt

**Erstmaliges Auftreten von chronisch obstruktiver Bronchitis bei Ihrem Pferd**

*(Mit „erstmalig“ ist der erste Krankheitsschub gemeint, den das Pferd jemals erlitten hat. Falls Sie das Pferd bereits mit dieser Erkrankung erworben haben sollten, wählen Sie bitte die Antwortoption "Nicht bekannt")*

17. Wie alt war Ihr Pferd beim erstmaligen Auftreten der Krankheit?

- Beim erstmaligen Auftreten der Krankheit war mein Pferd \_\_\_\_\_
- Mir ist nicht bekannt, in welchem Alter die Krankheit bei meinem Pferd aufgetreten ist
- Nicht bekannt

18. Wie lange waren Sie beim erstmaligen Auftreten der Krankheit in der Nutzung Ihres Pferdes eingeschränkt?

*(Bitte mit Angabe der Zeitdauer in Wochen bzw. "Nicht bekannt")*

\_\_\_\_\_

19. Welche Krankheitssymptome hat Ihr Pferd beim erstmaligen Auftreten der Krankheit gezeigt?

*(Bitte wählen Sie alle zutreffenden Antworten aus)*

- Nasenausfluss
- Husten
- Husten beim Beginn der Arbeit
- Husten während der Arbeit
- Verminderte Leistungsfähigkeit
- Vermehrtes Schwitzen
- Längere Erholungszeit nach Belastung
- Erhöhung der Atemfrequenz
- Nüsternflattern in Ruhe
- Verstärkte Bauchatmung ("Pumpen")
- Nicht bekannt
- Sonstiges: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

20. Über welchen Zeitraum litt Ihr Pferd beim erstmaligen Auftreten unter Husten?

(Bitte Angabe der Zeitdauer in Wochen bzw. "Nicht bekannt")

21. Konnte Ihr Haustierarzt beim erstmaligen Auftreten der Krankheit zu Beginn eine Atemwegsinfektion mit Fieber diagnostizieren?

- Ja
- Nein
- Nicht bekannt

22. Wie wurde die Krankheit „Chronisch obstruktive Bronchitis“ bzw. „Dämpfigkeit“ bei Ihrem Pferd durch Ihren Tierarzt diagnostiziert?

(Bitte wählen Sie alle zutreffenden Antworten aus)

- Anhand der von Ihnen geschilderten Krankheitsvorgeschichte
- Anhand von bestimmten Krankheitssymptomen („klinische Untersuchung“)

Durch das Abhören der Lunge mit einem Stethoskop



- Durch eine endoskopische Untersuchung



(„Endoskopie“)

- Durch eine endoskopische Untersuchung inklusive der Entnahme einer Schleimprobe, die anschließend im Labor untersucht wurde
- Anhand einer Blutgasanalyse
- Anhand eines Allergietests
- Nicht bekannt
- Sonstiges: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

23. Stand das Auftreten oder eine Verschlimmerung von Krankheitssymptomen mit einer der folgenden Situationen im Zusammenhang?

(Bitte wählen Sie alle zutreffenden Antworten aus)

- Koppelgang
- Aufstallung in Boxenhaltung
- Fütterung von trockenem Heu
- Fütterung von Stroh
- Beginn der Belastung
- Ende der Belastung
- Box in der Nähe des Heu- bzw. Strohlagers
- Stroh als Einstreu
- Kaltes Wetter
- Warmes Wetter
- Turnierteilnahme oder andere Stresssituationen
- Keine davon
- Sonstiges: \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

24. Welche therapeutischen Maßnahmen wurden bei Ihrem Pferd durch Ihren Haustierarzt durchgeführt? (*Mehrfachnennungen sind möglich*)

- Bitte kreuzen Sie zuerst die Art des Medikamentes an und sofern Sie sich noch daran erinnern auch das verwendete Präparat:

-  Abgabe eines Schleimlöser

(Beispiele für Schleimlöser: -  „Equimucin“

-  „Sputolysin“)



-  Abgabe eines Bronchienweitstellers ( Beispiel: -  „Ventipulmin Gel bzw.  Granulat“)

- Abgabe eines Kombinationspräparates ( Schleimlöser und Bronchienweitzer) ( Beispiel für Kombinationspräparat: -  „Venti Plus“ )



- Injektion eines Entzündungshemmers:

- Wenn ja,

- >  in die **Vene**
- >  in die **Muskulatur**
- >  Nicht bekannt

- Abgabe von Tabletten (*Bitte sofern bekannt, mit **Angabe des Produktnamens** bzw.*

*Wirkstoffes:*) \_\_\_\_\_

- Inhalationstherapie:

- Wenn ja,

-> mit welchem Wirkstoff wurde inhaliert:

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

bzw.  Wirkstoff ist nicht bekannt

- > welche Art von Inhalator wurde verwendet:
- Flüssigkeitsvernebler
  - Inhalationsmaske
  - Nicht bekannt

- Hyperinfusionstherapie („Lungenspülung“)

-  Sonstiges: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

- Nicht bekannt

25. Sind im Rahmen der Therapie schon einmal unerwünschte Nebenwirkungen bei Ihrem Pferd aufgetreten?

- Ja
- Nein
- Nicht bekannt

Falls "ja", schildern Sie bitte die Art der Nebenwirkungen und die Behandlung, die diese verursacht hat:

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

26. Waren Sie mit der Betreuung Ihres Pferdes durch Ihre Tierärztin / Ihren Tierarzt und der durchgeführten Therapie zufrieden?

- Ja
- Nein

Falls "Nein", schildern Sie bitte kurz ihre Gründe:

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

### **Management der COB-Erkrankung**

27. Welche Veränderung in Bezug auf die Haltung wurde nach Diagnosestellung veranlasst?

Bitte wählen Sie alle zutreffenden Antworten aus:

- Fütterung von nassem Heu
- Fütterung von Silage
- Sägespäne als Einstreu
- Verbringen ins Freie während "Kernzeiten" im Stall (Ausmisten, Füttern, Reitbetrieb)
- Außenbox
- Paddockbox
- Offenstallhaltung
- Weidehaltung
- Sonstiges: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_



(Bitte geben Sie die Art der verwendeten Sägespäne: Einzeln verpackte Sägespäne, evtl. mit Angabe des Produktnamens, Sägespäne aus dem Sägewerk, sowie eventuell oben nicht aufgeführte Handlungsveränderungen unter dem Punkt "Sonstiges" an)

28. Wie lange wurden die veränderten Handlungsbedingungen beibehalten?

- Bis zum Abklingen der Krankheitssymptome
- Über einen Zeitraum von mehreren Wochen
- Über einen Zeitraum von mehreren Monaten
- Über einen Zeitraum von mehreren Jahren
- Bis heute, aber mit Unterbrechungen
- Bis heute, aber nur bestimmte Maßnahmen
- Ununterbrochen bis heute

Falls nur bestimmte Maßnahmen ununterbrochen beibehalten wurden, schildern Sie diese bitte: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

29. Zu welcher Jahreszeit sind die Krankheitssymptome bei ihrem Pferd am schlimmsten?

(Mehrfachnennungen sind möglich)

- Frühjahr
- Sommer
- Herbst
- Winter

30. Wie oft erlitt Ihr Pferd seit Diagnosestellung einen Krankheitsrückfall, dessen Symptome so schlimm waren, dass ein Tierarzt hinzugezogen werden musste?

(Falls dies nie der Fall war, wählen Sie bitte die Zahlenangabe null)

31. Wenn Krankheitsrückfälle aufgetreten sind, in welchen zeitlichen Abständen traten diese auf?

\_\_\_\_\_

32. Beziffern Sie bitte die ungefähren jährlichen Mehrkosten in Euro, die Ihnen durch die COB-Erkrankung Ihres Pferdes (beispielsweise durch Tierarztkosten, Kosten für veränderte Haltung und ähnliches, OHNE die Kosten der Diagnosestellung und Therapie beim erstmaligen Auftreten der Krankheit) entstanden sind?
- 

**Verlauf der COB-Erkrankung**

33. Welche Krankheitssymptome hat Ihr Pferd beim wiederholten Auftreten der Krankheit gezeigt?

(Bitte wählen Sie alle zutreffenden Antworten aus)

- Nasenausfluss
- Husten
- Husten beim Beginn der Arbeit
- Husten während der Arbeit
- Verminderte Leistungsfähigkeit
- Vermehrtes Schwitzen
- Längere Erholungszeit nach Belastung
- Erhöhung der Atemfrequenz
- Nüsternflattern in Ruhe
- Verstärkte Bauchatmung ("Pumpen")
- Sonstiges:

---

---

---

---

34. Welche therapeutische Maßnahme hatte Ihrer Meinung nach langfristig den positivsten Effekt?

(Bitte wählen Sie alle zutreffenden Antworten aus)

- Veränderung der Haltungsbedingungen
- Therapie mit Medikamenten
- Kombination aus veränderter Haltung und medikamentöser Therapie
- Sonstiges:

---

---

---

35. Bekommt Ihr Pferd weiterhin Medikamente?

- Ja, immer
- Ja, aber nur beim Wiederauftreten von Krankheitssymptomen
- Nein

Falls „ja“, bitte mit Angabe des Präparatnamens und der Dosierung des jeweiligen Medikaments, sofern Ihnen diese bekannt sein sollte:

---

---

---

36. Wurden beim wiederholten Auftreten der Krankheit, im Vergleich zum erstmaligen Auftreten, andere therapeutische Maßnahmen von Ihrem Tierarzt ergriffen?

Bitte wählen Sie alle zutreffenden Antworten aus:

- Ja, eine Hyperinfusionstherapie ("Lungenspülung")
  - Nein
  - Sonstiges : \_\_\_\_\_
- 
- 

37. Haben Sie bei Ihrem Pferd auch "alternative Therapiemethoden" durchführen lassen?

Bitte wählen Sie alle zutreffenden Antworten aus:

- Akupunktur
- Chiropraktische Behandlung
- Homöopathie
- Bachblütentherapie
- Hustenkräuter
- Nein
- Sonstiges: \_\_\_\_\_

38. Wie würden Sie den Erfolg der "alternativen Therapien" im Vergleich zur schulmedizinischen Therapie bewerten?

Bitte wählen Sie alle zutreffenden Antworten aus:

- Es wurden keine alternativen Therapien bei meinem Pferd durchgeführt
- Der Therapieerfolg war schlechter als bei der schulmedizinischen Therapie
- Der Therapieerfolg war vergleichbar
- Der Therapieerfolg war besser als bei der schulmedizinischen Therapie
- Sonstiges: \_\_\_\_\_

39. Wie würden Sie den Verlauf der Krankheit bei Ihrem Pferd beschreiben?

Bitte wählen Sie alle zutreffenden Antworten aus:

- Die Krankheitssymptome haben sich mit der Zeit verbessert
- Die Krankheitssymptome sind gleichgeblieben
- Die Krankheitssymptome haben sich mit der Zeit verschlechtert
- Sonstiges: \_\_\_\_\_

40. Ist Ihr Pferd inzwischen verstorben oder musste euthanasiert werden?

- Ja, aufgrund der Lungenerkrankung
- Ja, aufgrund einer anderen Erkrankung
- Nein

Falls Ihr Pferd aus einem anderen Grund verstorben sein sollte bzw. euthanasiert werden musste, nennen Sie diesen bitte: \_\_\_\_\_

### **Nutzung und Leistung**

41. Wie nutzen sie Ihr Pferd heute?

(Bitte geben Sie die hauptsächliche Nutzungsart und bei Turnierpferden die Leistungsklasse an)

- Zucht

- Anreiten
- Dressur
- Springen
- Vielseitigkeit
- Freizeit
- Westernreiten
- Fahrsport
- Schulbetrieb
- Trabrennen
- Galopprennen
- Distanzreiten
- Jagdreiten
- Voltigieren
- Gnadenbrotpferd
- Sonstiges
- Nicht bekannt
- Leistungsklasse(n): \_\_\_\_\_

42. Falls sich die Nutzung verändert haben sollte, steht dies im Zusammenhang mit der COB-Erkrankung?

- Ja
- Nein
- Nutzung ist unverändert

43. Wie lange waren sie bei einem bzw. mehreren Krankheitsrückfällen durchschnittlich in der Nutzung Ihres Pferdes eingeschränkt?

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

(Bitte geben Sie die Häufigkeit der Krankheitsrückfälle seit dem erstmaligen Auftreten der Krankheit an und die durchschnittliche Zeitdauer in Wochen, in denen Sie in der Nutzung Ihres Pferdes eingeschränkt waren.

Wenn keine Krankheitsrückfälle aufgetreten sind, fügen sie bitte "Keine" in das Textfeld ein)

44. Wie würden Sie die heutige Leistungsfähigkeit Ihres Pferdes beurteilen, im Vergleich zur Leistungsfähigkeit vor Auftreten der Lungenerkrankung?

- Die Leistungsfähigkeit hat sich verbessert
- Die Leistungsfähigkeit ist unverändert
- Die Leistungsfähigkeit hat sich verschlechtert
- Sonstiges: \_\_\_\_\_

45. Haben Sie mit Ihrem Pferd bzw. Ihr Pferd mit einem evtl. Vorbesitzer nach Auftreten der Lungenerkrankung noch Turnierfolge erzielt?

- Wenn ja, in welcher Disziplin?  
\_\_\_\_\_
- Wenn ja, bis zu welcher Leistungsklasse?  
\_\_\_\_\_
- Nein
- Nicht bekannt

### **Ankauf und Verkauf**

46. Wurde beim Erwerb Ihres Pferdes eine Ankaufsuntersuchung durchgeführt?

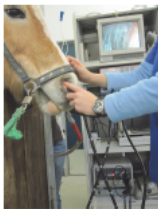
(Falls "Nein bzw. Nicht bekannt", klicken sie bitte bei den nachfolgenden drei Fragen "keine Antwort" an)

- Ja
- Nein
- Nicht bekannt

47. Wurde im Rahmen der Ankaufsuntersuchung auch eine endoskopische Untersuchung der Atemwege durchgeführt?

Bitte wählen Sie nur eine der folgenden Antworten aus:

- Ja
- Nein



Endoskopie

48. Wurden bei der Ankaufsuntersuchung und/oder der endoskopischen Untersuchung „Lungenbefunde“ erhoben bzw. eine Beeinträchtigung des Atmungsapparates oder eine verminderte Leistungsfähigkeit des Pferdes festgestellt?

Bitte wählen Sie nur eine der folgenden Antworten aus:

- Ja, bei der Ankaufsuntersuchung
- Ja, bei der endoskopischen Untersuchung
- Nein

49. Hat Ihnen Ihre Tierärztin / Ihr Tierarzt vom Erwerb des Pferdes abgeraten?

(Bitte wählen Sie nur eine der folgenden Antworten aus)

- Ja, aufgrund von Lungenbefunden
- Ja, aufgrund anderer Befunde
- Nein

50. Stellte die COB-Erkrankung Ihres Pferdes bei einem angestrebten Weiterverkauf ein Hindernis da?

(Bitte wählen Sie nur eine der folgenden Antworten aus)

- Das Pferd sollte noch nie verkauft werden
- Das Pferd wurde ohne Probleme verkauft
- Das Pferd wurde mit Preisnachlass verkauft
- Das Pferd ließ sich aufgrund der COB-Erkrankung nicht weiterverkaufen

51. Würden Sie nach Ihren bisherigen Erfahrungen wieder ein Pferd erwerben, das an COB leidet?

(Bitte wählen Sie nur eine der folgenden Antworten aus)

- Ja
- Vielleicht
- Kaufpreisabhängig
- Nein

### **Teilnahme an der praktischen Studie**

52. Hätten Sie Interesse, mit Ihrem Pferd am praktischen Teil der Studie teilzunehmen?

- Ja
- Nein

53. Wann hat ihr Pferd zum letzten Mal Medikamente erhalten und um welche Präparate hat es sich dabei gehandelt?

---

54. Gibt es abschließend sonst noch etwas, das Sie mir mitteilen möchten?

---

---

---



---

---

---

---

## 9.3 BESITZERINFORMATIONSBLETT

	LUDWIG- MAXIMILIANS- UNIVERSITÄT MÜNCHEN	TIERÄRZTLICHE FAKULTÄT DER LMU ZENTRUM FÜR KLINISCHE TIERMEDIZIN  KLINIK FÜR PFERDE ABTEILUNG FÜR INNERE MEDIZIN PROF. DR. HEIDRUN GEHLEN, DIPL. ECEIM	
<p><b>Informationsblatt und Einverständniserklärung des Pferdebesitzers zur inhalativen Anwendung immun-stimulatorischer Oligodeoxynucleotide (ODN) mit Gelatinenpartikeln zur Therapie von Pferden mit chronisch obstruktiver Bronchitis</b></p>			
<p>Sehr geehrte Pferdebesitzerin, sehr geehrter Pferdebesitzer,</p>			
<p>Ihnen wurde angeboten, mit Ihrem Pferd an einer klinischen Forschungsstudie teilzunehmen.</p>			
<p><b>Beschreibung der Studie</b></p>			
<p>Die chronisch obstruktive Bronchitis des Pferdes wird als eine überwiegend allergische Überempfindlichkeit des Immunsystems auf Staubpartikel, Schimmelpilzsporen und andere Allergene angesehen. Die zurzeit etablierte Therapiemethode der COB des Pferdes ist der Einsatz von Bronchodilatoren, Schleimlösern und Kortikosteroiden. Die medikamentöse Behandlung kann aber nur eine vorübergehende Verbesserung der Symptome erreichen. Das Hauptaugenmerk sollte immer auf einer Verbesserung der Haltungsbedingungen hinsichtlich einer Vermeidung von Kontakt zu Stroh und staubigem Heu und der Umstellung der Haltung zur Offenstallhaltung bzw. einer überwiegenden Weidehaltung liegen.</p>			
<p>Ziel dieser neuen Studie ist es, ein bereits in der Humanmedizin erfolgreich eingesetztes Verfahren bei Allergien nun auch beim Pferd auf seine Effektivität, auch im Vergleich zu einem bereits etablierten inhalativen Verfahren, zu testen. Es handelt sich dabei um einzelsträngige kurze DNA-Abschnitte (Oligodeoxynucleotide) mit immunmodulatorischer Wirkung. Diese ODN verursachen eine Veränderung der Immunantwort (Th2/Th1-Switch) auf Allergene, was zu einer Abschwächung der allergischen Symptomatik führt. In einer Vorstudie mit gesunden und gering- bis mittelgradig erkrankten Pferden konnte die gute Verträglichkeit des Medikamentes und eine deutliche Verbesserung der klinischen Symptomatik bei allergischen Atemwegserkrankungen nachgewiesen werden. Die Oligodeoxynucleotide kommen ebenfalls bereits beim Menschen mit Heuschnupfen erfolgreich zum Einsatz.</p>			
<p>Durch Bindung an Gelatinenpartikel wird deren Wirkung verstärkt, wobei die verwendeten Nanopartikel alleine keinerlei Einfluss auf die Immunantwort nehmen. Die verwendeten Nanopartikel und Oligodeoxynucleotide werden synthetisch hergestellt und wurden in zahlreichen in vitro-Versuchen und präklinischen Studien auf ihre Verträglichkeit hin untersucht.</p>			
Equine Clinic Veterinärstr. 13 80539 Munich Germany	LMU München Leopoldstr. 3/1 80802 München	Bayerische Landesbank München Kto. 24 868 BLZ 700 500 00 UST-IdNr. DE 811 205 325	



**Praktische Durchführung**

Zur Erhebung des aktuellen Lungenstatus erfolgt eine klinische, laborchemische, endoskopische und zytologische Untersuchung. Eine Bronchoalveoläre Lavage erlaubt via ELISA ein Zytokinprofil zu erheben und gibt Einblick in das zytologische Bild der Lunge.

Die in vivo-Studie schließt eine fünfmalige Inhalation im Anstand von jeweils zwei Tagen mittels „Equine Haler“ und eines Verneblers ein. Während dieser Zeit sollte eine regelmäßige Temperaturkontrolle erfolgen.

Es erfolgt eine Nachkontrolle des Lungenstatus wie oben bereits beschrieben am ersten Tag nach Abschluss der Inhalationen und 4 Wochen nach der letzten Inhalation.

**Nebenwirkungen**

Als Reaktion auf die Inhalation kann es in seltenen Fällen zu vorübergehendem vermehrtem Nasenausfluss und leicht erhöhter Temperatur kommen.

**Ziel der Studie**

Ziel der vorliegenden Studie ist es, die inhalative Wirkung spezifischer immunmodulatorischer ODN bei Pferden mit COB im Vergleich zu einer bereits etablierten, inhalativen Therapie zu testen. Aufgrund ihrer allergievermeidenden Wirkung sind spezielle Oligodeoxynucleotide besonders vielversprechend im Einsatz gegen allergische Erkrankungen wie die chronisch obstruktive Bronchitis des Pferdes.

**Vertraulichkeit**

Die gewonnenen Daten werden vertraulich behandelt. Es werden keine persönlichen Daten von Patienten und Besitzern veröffentlicht.

**Kosten**

Die anfallenden Kosten für die Lungenuntersuchungen und die sechsmalige inhalative Anwendung der Oligodeoxynucleotide werden nicht berechnet.

### **Einverständniserklärung des Pferdebesitzers zur Teilnahme an einer klinischen Forschungsstudie nach vorheriger Aufklärung**

1. Ich erkläre mich damit einverstanden, dass mein Pferd in die oben aufgeführte Studie der Pferdeklunik der LMU München aufgenommen wird.
2. Ich bestätige hiermit, dass ich Eigentümer (bzw. bevollmächtigter Vertreter des Eigentümers) des teilnehmenden Pferdes bin.
3. Der Tierarzt hat mir den Ablauf der Studie und das einzusetzende Präparat erklärt. Der Tierarzt hat alle meine Fragen bezüglich der Studie beantwortet.
4. Ich habe den Tierarzt nach bestem Wissen über alle Medikamente aufgeklärt, die meinem Pferd während der letzten 2 Monate verabreicht worden sind. Ich verpflichte mich, meinem Pferd während der Studie keine anderen Medikamente ohne vorherige Absprache mit dem Tierarzt zu verabreichen.
5. Ich lasse mein Pferd freiwillig an dieser Studie teilnehmen und bin mit seiner Behandlung einverstanden.
6. Ich bin einverstanden mit dem Tierarzt so zusammenzuarbeiten, dass die Studie nach dem Prüfplan durchgeführt werden kann. Ich weiß, dass es mir freisteht, die Studie jederzeit abzubrechen. Ich werde den Tierarzt sofort informieren, sollte ich beschließen, mein Pferd nicht weiter an der Studie teilnehmen zu lassen.
7. Ich bin einverstanden, mein Pferd dem Tierarzt zu den vereinbarten Untersuchungstagen vorzustellen. Ich werde den Tierarzt so früh wie möglich informieren, sollte ich an einem der festgelegten Untersuchungstage mein Pferd nicht vorstellen können.
8. Für etwaige, durch die Studie dem Pferd entstehende Schäden, vereinbaren die Parteien einen umfassenden Haftungsausschluss. Hiervon ausgenommen ist die Haftung für Schäden aus der Verletzung des Lebens, des Körpers oder der Gesundheit, die auf einer mindestens fahrlässigen Pflichtverletzung der Hochschule, ihres gesetzlichen Vertreters oder Erfüllungsgehilfen beruht sowie für sonstige Schäden, die durch eine mindestens grob fahrlässige Pflichtverletzung der Hochschule, ihres gesetzlichen Vertreters oder Erfüllungsgehilfen entstanden sind.
9. Sollte eine Vereinbarung dieses Vertrages unwirksam sein, bleiben die übrigen dennoch bestehen.  
Mit der Unterschrift erklärt der Pferdeeigentümer, die Vereinbarung gelesen und verstanden zu haben, sowie einverstanden zu sein.

<b>Name des Pferdes</b>
-------------------------

Equine Clinic  
Veterinärstr. 13  
80539 Munich  
Germany

LMU München  
Leopoldstr. 3/1  
80802 München

Bayerische Landesbank München  
Kto. 24 868 BLZ 700 500 00  
UST-IdNr. DE 811 205 325



## 9.4 SCHEMA FÜR DAS PATIENTENSCORING

**Schema zur Einteilung der Patienten in COB-Schweregrade**

(nach Deegen und Klein, 1987; Gerber et al., 2004; Klier, 2011:)

<u>1. Spezielle Untersuchung</u>		Punkte:
- Husten auslösbar:	ja nein	1 0
- Nasenausfluss:	ggr. serös mittelgr. sero-mucös hochgr. mucös	1 2 3
- Atemfrequenz in Ruhe:	≤ 16 16-20 ≥ 20	0 1 2
- Atemtyp:	costoabdominal geringgr. abdominal verstärkt deutlich abdominal verstärkt Nüsternblähen in Ruhe	0 1 2 3
- Dampf Rinne:	nein ja	0 3
- Atemgeräusch:	inspiratorisch: - geringgr. - mittelgr. - hochgradig - höchstgradig	1 2 3 4
- Lungenfeld:	physiologisch geringgr. vergrößert deutlich vergrößert	0 1 3
<u>2. Blutchemie</u>		
Tag und Uhrzeit der Bestimmung		_____ 2011, _____ Uhr
- Arterielle Blutgase:	pO <sub>2</sub> : ≤ 105 mmHg ≤ 95 mmHg ≤ 85 mmHg ≤ 75 mmHg	0 1 2 3

pCO <sub>2</sub> : < 45mmHg	0
≥ 45mmHg	3

### 3. Interpleuraldruckmessung

Interpleuraldruck ≤ 3 cm H <sub>2</sub> O	0
Interpleuraldruck >3-7 cm H <sub>2</sub> O	1
Interpleuraldruck ≥7-15cm H <sub>2</sub> O	2
Interpleuraldruck ≥15cm H <sub>2</sub> O	3

### 4. Endoskopische Untersuchung

- Bifurcatio tracheae:	scharf begrenzt	0
	geringgr. verdickt	1
	deutlich verdickt	2
- Trachealsekretmenge:	none, clean, singular TBS	0
	little, multiple small blobs	1
	moderate large blobs	2
	marked, confluent / stream-forming	3
	large, pool-forming	4
	extreme, profuse amounts	5
- Trachealsekretviskosität:	very fluid	1
	fluid	2
	intermediate	3
	viscous	4
	very viscous	5

### 4. Zytologische Untersuchung

- Neutrophile Granulozyt.:	ggr. (< 30%)	0
	mgr. (30-50%)	3
	hgr. (> 50%)	4

### Einteilung nach Punktesystem in 4 Schweregrade:

<b>gesund</b>	<b>0-3</b>
<b>geringgr. COB</b>	<b>4-15</b>
<b>mittelgr. COB</b>	<b>16-25</b>
<b>hochgr. COB</b>	<b>≥ 26</b>

## 9.5 PATIENTENSCORING

<b>Placebogruppe</b>	<b>Patient 1</b>	<b>Patient 2</b>	<b>Patient 3</b>	<b>Patient 4</b>	<b>Patient 5</b>	<b>Patient 6</b>	<b>Patient 7</b>	<b>Patient 8</b>
Husten auslösbar	0	0	1	0	1	1	1	1
Nasenausfluss	1	0	1	1	1	1	1	2
Atemfrequenz	1	1	1	1	2	2	2	2
Atemtyp	0	1	1	1	1	1	3	3
Dampfrinne	0	0	0	0	3	3	3	3
Atemgeräusch	1	1	1	2	2	2	4	4
Lungenfeld	0	0	1	1	3	3	1	3
pO2 in Ruhe	1	1	1	3	1	3	3	3
PCO2 in Ruhe	3	3	0	3	3	0	0	3
Interpleuraldruck	0	0	2	3	2	3	3	3
Bifurcatio tracheae	1	1	1	2	2	2	3	3
Sekretmenge	0	1	1	2	2	2	2	4
Sekretviskosität	0	1	1	1	1	2	3	4
Neutrophile	4	3	4	4	3	4	4	4
<b>Punktwert</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>16</b>	<b>25</b>	<b>27</b>	<b>29</b>	<b>33</b>	<b>42</b>
<b>Schweregrad</b>	<b>ggr</b>	<b>ggr</b>	<b>mgr</b>	<b>mgr</b>	<b>hgr</b>	<b>hgr</b>	<b>hgr</b>	<b>hgr</b>
<b>Verumgruppe ggr.-mgr.</b>	<b>Patient 9</b>	<b>Patient 10</b>	<b>Patient 11</b>	<b>Patient 12</b>	<b>Patient 13</b>	<b>Patient 14</b>	<b>Patient 15</b>	<b>Patient 16</b>
Husten auslösbar	0	0	0	0	1	0	0	0
Nasenausfluss	1	1	1	1	1	1	2	2
Atemfrequenz	2	0	1	0	1	1	1	1
Atemtyp	0	3	3	1	1	2	0	2
Dampfrinne	0	0	0	3	0	0	3	0
Atemgeräusch	2	2	2	2	2	2	2	2
Lungenfeld	0	1	1	1	0	0	1	1
pO2 in Ruhe	1	1	1	2	2	2	1	3
PCO2 in Ruhe	0	0	0	0	0	3	3	0
Interpleuraldruck	0	2	1	0	2	2	0	1
Bifurcatio tracheae	1	2	2	1	1	3	2	2
Sekretmenge	0	2	2	0	3	3	3	3
Sekretviskosität	1	1	1	4	2	2	3	4
Neutrophile	4	0	0	0	4	4	4	4
<b>Punktwert</b>	<b>12</b>	<b>15</b>	<b>15</b>	<b>15</b>	<b>20</b>	<b>25</b>	<b>25</b>	<b>25</b>
<b>Schweregrad</b>	<b>ggr</b>	<b>ggr</b>	<b>ggr</b>	<b>ggr</b>	<b>mgr</b>	<b>mgr</b>	<b>mgr</b>	<b>mgr</b>



## 9.6 STUDIENABBRUCKSKRITERIEN

Alopezie	Ggr. Ausdünnung des Haarkleids (Injektionsstelle)	Ggr. generalisierte Ausdünnung des Haarkleids	Generalisierter Haarverlust	-	-
Erythem	Auf bestimmte Region beschränkt	Generalisiert, aber erst bei genauer Untersuchung sichtbar	Generalisiert, leicht sichtbar bei Untersuchung	-	-
Hyperpigmentation	Ggr. oder lokalisiert	Ausgeprägt oder generalisiert			
Hypopigmentation	Ggr. oder lokalisiert	Ausgeprägt oder generalisiert			
Reaktionen an der Injektionsstelle	Schmerz/ Juckreiz/ Erythem	Schmerz oder Schwellung mit Entzündung oder Phlebitis	Ulzeration oder Nekrose, die chirurgische Intervention erfordert	Ulzeration/ Nekrose, die chirurgische Intervention erfordert und die täglichen Lebensfunktionen einschränkt	-
Photosensitivität	Schmerzloses Erythem	Schmerzhafes Erythem	Erythem mit Schuppenbildung	Lebensbedrohlich	Tod
Juckreiz	Mild oder lokalisiert	Intensiv oder großflächig auftretend	Intensiv, großflächig auftretend mit Einschränkung der tägl. Lebensfunktionen	-	-
Ausschlag: Schuppenbildung	Papeln/Pusteln oder Erythem ohne weitere Symptome	Papeln/Pusteln oder Erythem mit Juckreiz oder weiteren Symptomen, lokalisierte Schuppenbildung oder weitere Läsionen, < 50% der Körperoberfläche betreffend	Erhebliche, generalisierte Hautrötungen oder Papeln/Pusteln oder vesikuläre Veränderungen; Schuppenbildung, > 50% der Körperoberfläche betreffend	Generalisiert exfoliative, ulzerative oder bullöse Dermatitis	Tod



Ausschlag: Akne	Keine Behandlung angezeigt	Behandlung angezeigt	Begleitet von Schmerz, Ulzeration oder Schuppenbildung		
Ausschlag: Erythema multiforme	-	Stellenweise, nicht generalisierte Erhöhungen	Erheblich, generalisierter Ausschlag o. schmerzhafte Stomatitis, i.v. Substitution, Zusatzfütterung angezeigt	Lebensbedro hlich	Tod
Urtikaria	-	Vorüber- gehend	Behandlung für < 24 h angezeigt	Behandlung für > 24 h angezeigt	
Hautablösung	Dezente Hautablösung, nur bei genauer Untersuchung bemerkbar	Hautablösung leicht bemerkbar, aber keine klumpige Exfoliation ggr. Krusten- bildung	Hautablösung leicht bemerkbar, mit Exfoliation bei der Untersuchung	-	-
Weitere	mild	moderat	erheblich	lebensbedroh lich	Tod

#### Konstitutionelle Auswirkungen

	1	2	3	4	5
Lethargie	Milde Lethargie	Gering ausgeprägte Lethargie mit leichter Einschränkung der täglichen Aktivitäten	Ausübung der täglichen Aktivitäten ernsthaft eingeschränkt	Hilfe zur Ausübung der täglichen Aktivitäten nötig, Zwangsfütterung	Tod
Fieber (wenn keine Neutropenie; physiologisch Pferd: 37,0-38,0)	Erhöhung der Normal- temperatur < 5°C	Erhöhung der Normaltemper- atur > 5-8 °C	Erhöhung der Normaltemperatu- r >8-10 °C	Erhöhung der Normaltemp- eratur >10 °C	Tod
Hypothermie	--	36,0- 33 ° C	33-30 ° C	< 30 ° C oder lebensbedro hliche Konsequenz en	Tod
Gewichtsverlust	5-10% des Ausgangs- gewichts, keine Intervention	10-20% des Ausgangs- gewichts, Zu- satzfütterung	>20 % des Ausgangs- gewichtes	-	Tod

	angezeigt	angezeigt			
Andere	mild	moderat	erheblich	lebensbedrohlich	Tod

#### Auswirkungen auf Muskeln / Weichteilgewebe

	1	2	3	4	5
Arthritis (nicht-septisch)	Ggr. Schmerz mit Entzündung oder Gelenkschwellung, ohne Funktionsbeeinträchtigung	Moderate Schmerzen, mit Entzündung oder gelenkschwellung, mit funktionsbeeinträchtigung, aber ohne Beeinträchtigung der täglichen Lebensfunktionen	Erhebliche Schmerzen mit Entzündung oder Gelenkschwellung, Beeinträchtigung der tägl. Lebensfunktionen	Lebensbedrohliche Einschränkungen	-
Extremitäten (Lahmheit)	Lahmheit nur dem erfahrenen Beobachter auffallend	Bewegungseinschränkung d. Gliedmaße, kann sich aber über weitere Strecken fortbewegen	Erhebliche Lahmheit (4/5)	Lahmheit (5/5)	-
Muskelschwäche (generalisiert-lokalisiert)	asymptomatisch, Schwäche bei klin. US auffallend	Symptomatische Muskelschwäche, ohne Beeinträchtigung der tägl. Lebensfunktionen	Symptomatische Muskelschwäche, Beeinträchtigung der tägl. Lebensfunktionen	Lebensbedrohliche Einschränkungen	Tod
Myositis	Ggr. Schmerz, ohne Funktionsbeeinträchtigung	Funktionsbeeinträchtigende Schmerzen, keine Beeinträchtigung der täglichen Lebensfunktionen	Schmerzen mit Beeinträchtigung der täglichen Lebensfunktionen		Tod
Weichteilnekrose	-	Lokale Wundbehandlung medizinische	Operatives Débridement oder weitere invasive Intervention	Lebensbedrohlich, notfallmäßige,	Tod

		Intervention angezeigt	indiziert	invasive Intervention indiziert	
Weitere	mild	moderat	erheblich	lebensbedrohlich	Tod

**Reaktionen ab der Stufe 1 werden als Unverträglichkeit gewertet**

## 9.7 ABBILDUNGSVERZEICHNIS

- Abbildung 1: Durchführung der Interpleuraldruckmessung bei einem COB-kranken Patienten (S.40).
- Abbildung 2: Auswahl des günstigsten Druckmessbereiches anhand der Leuchtdiodenanzeige (S.41).
- Abbildung 3: Nachweis der biphasische Expiration eines hochgradig an COB erkrankten Pferdes mittels Venti-Graphen® bei einem Papiervorschub von 10mm pro Sekunde (S.41).
- Abbildung 4: Endoskopische Entnahme von TBS über den TBS-Katheter (S.43).
- Abbildung 5: TBS-Scoring anhand der Menge und der Lokalisation von Mucus im Tracheallumen (Gerber et al., 2004) (S.43).
- Abbildung 6: Mit Diffquickfärbung angefärbtes TBS eines mittelgradig COB-kranken Patienten. Zu sehen sind überwiegende polymorphkernige neutrophile Granulozyten und die sich rosa anfärbenden Mucucsbestandteile(Mit freundlicher Genehmigung von Dr. med. vet. J. Klier) (S.45).
- Abbildung 7: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme von Gelantinenanopartikeln (Mit freundlicher Genehmigung von Dr. pharm. S. Fuchs) (S.45)
- Abbildung 8: Patentiertes Inhalationssystems (Patentnummer: EP 10002266) (Mit freundlicher Genehmigung von Dr. J. Klier) (S.47).
- Abbildung 9: Prozentualer Anteil verschiedener Pferderassen an der Studienpopulation der Umfrage (S.53)
- Abbildung 10: Hauptsächliche Haltungsform der Pferde während der Aufzucht (S.54)

- Abbildung 11: Häufigkeit der Durchführung unterschiedlicher diagnostischer Verfahren (S.58).
- Abbildung 12: Prozentualer Anteil unterschiedlicher Faktoren, bei der Auslösung von Krankheitsexazerbationen (S.59).
- Abbildung 13: Vergleich der gezeigten Krankheitssymptome beim erstmaligen Auftreten der COB-Erkrankung mit den gezeigten Krankheitssymptomen im Rahmen von Exazerbationen (S.63)
- Abbildung 14: Nutzungsart der Pferde vor und nach dem Auftreten der COB-Erkrankung (S.66)
- Abbildung 15: Leistungsklasse der Dressurprüfungen in denen die Pferde vor und nach dem Auftreten der COB-Erkrankung an den Start gingen (S.67)
- Abbildung 16: Leistungsklasse der Springprüfungen in denen die Pferde vor und nach dem Auftreten der COB-Erkrankung an den Start gingen (S.68)
- Abbildung 17: Prozentuale Veränderung der erzielten Turnierfolge in den verschiedenen Disziplinen vor und nach dem Auftreten der COB-Erkrankung (S.70)
- Abbildung 18: Vergleich der ermittelten, durchschnittlichen Atemfrequenz vor und nach Inhalationstherapie in den verschiedenen Patientengruppen (S.75)
- Abbildung 19: Vergleich des gezeigten Atemtyps vor und nach Inhalationstherapie in den unterschiedlichen Patientengruppen (S.76).

- Abbildung 20: Entwicklung der Menge des gezeigten Nasenausflusses in den verschiedenen Patientengruppen vor und nach Inhalationstherapie (S.79).
- Abbildung 21: Veränderung der Auskultationsbefunde vor und nach Inhalationstherapie in den unterschiedlichen Patientengruppen (S.80).
- Abbildung 22: Veränderung des durchschnittlichen, mittleren Sauerstoffpartialdruckes in den unterschiedlichen Patientengruppen vor und nach Inhalationstherapie (S.82).
- Abbildung 23: Veränderung der Sekretmenge in den unterschiedlichen Patientengruppen vor und nach der Inhalationstherapie (S.84)
- Abbildung 24: Sekretviskosität vor und nach Inhalationstherapie in den verschieden Gruppen der unterschiedlich schwer erkrankten COB-Patienten (S.85).
- Abbildung 25: Umfang der Bifurcatio tracheae vor und nach Inhalationstherapie in den unterschiedlichen Patientengruppen (S.86).
- Abbildung 26: Entwicklung des prozentualen Anteils der neutrophilen Granulozyten an der Gesamtzellzahl des TBS in den verschiedenen Patientengruppen vor und nach Inhalationstherapie (S.88)

9.8 ERHOBENE KÖRPERTEMPERATUR, LEUKOZYTEN- UND  
FIBRINOGENWERTE

<u>Patient</u>	<u>Temperatur (°C)</u>	<u>Leukozyten (G/l)</u>	<u>Fibrinogen (mg/ml)</u>
<u>Patient 1</u>			
Tag 3	37,5	9,9	247
I. Nachuntersuchung	37,3	7,5	150
II. Nachuntersuchung	36,5	9,2	165
<u>Patient 2</u>			
Tag 3	36,8	6,9	155
I. Nachuntersuchung	37,3	7,7	170
II. Nachuntersuchung	37,5	7,8	165
<u>Patient 3</u>			
Tag 3	37,3	9,8	151
I. Nachuntersuchung	37,5	8,9	168
II. Nachuntersuchung	36,7	7,5	185
<u>Patient 4</u>			
Tag 3	37,8	7,5	203
I. Nachuntersuchung	37,5	8	160
II. Nachuntersuchung	37,3	7,8	180
<u>Patient 5</u>			
Tag 3	37,2	7,8	228
I. Nachuntersuchung	36,8	7,5	243
II. Nachuntersuchung	37,3	9,8	252
<u>Patient 6</u>			
Tag 3	37,3	8,9	200
I. Nachuntersuchung	36,8	9,5	250
II. Nachuntersuchung	37,2	7,5	185
<u>Patient 7</u>			
Tag 3	36,8	8,8	168
I. Nachuntersuchung	37,2	9,1	213
II. Nachuntersuchung	37,5	8,2	176
<u>Patient 8</u>			
Tag 3	37,7	9,5	180
I. Nachuntersuchung	37,5	7	153
II. Nachuntersuchung	37,8	6,1	176

Patient 9

Tag 3	37,9	8	162
I. Nachuntersuchung	37,6	6,5	215
II.Nachuntersuchung	37,8	7,2	180

Patient 10

Tag 3	37,8	5,3	154
I. Nachuntersuchung	37,6	6,5	170
II.Nachuntersuchung	37,5	6,8	188

Patient 11

Tag 3	37,9	5,9	161
I. Nachuntersuchung	37,6	6,9	180
II.Nachuntersuchung	37,8	7,2	210

Patient 12

Tag 3	36,8	7,5	150
I. Nachuntersuchung	37,2	7,8	185
II.Nachuntersuchung	37,3	7,6	221

Patient 13

Tag 3	37,5	7,6	168
I. Nachuntersuchung	37,8	6,5	159
II.Nachuntersuchung	37,3	8	174

Patient 14

Tag 3	37,5	5,3	163
I. Nachuntersuchung	37,7	7,6	177
II.Nachuntersuchung	37,8	5,9	180

Patient 15

Tag 3	37,4	5,4	174
I. Nachuntersuchung	37,6	6,6	168
II.Nachuntersuchung	37,5	5,8	151

Patient 16

Tag 3	37,8	7,4	158
I. Nachuntersuchung	37,5	9,4	184
II.Nachuntersuchung	37,7	8,5	178

Patient 17

Tag 3	37,3	7,5	165
I. Nachuntersuchung	37,3	8,3	172
II.Nachuntersuchung	36,8	7,8	220



Patient 18

Tag 3	37,8	7,4	238
I. Nachuntersuchung	36,8	7,6	271
II.Nachuntersuchung	36,9	7,3	240

Patient 19

Tag 3	37,2	8,3	182
I. Nachuntersuchung	36,8	7,8	175
II.Nachuntersuchung	37,4	7,9	195

Patient 20

Tag 3	37,4	7,8	160
I. Nachuntersuchung	37,7	8	170
II.Nachuntersuchung	37,8	7,3	177

Patient 21

Tag 3	37,3	5,8	204
I. Nachuntersuchung	36,9	9,8	281
II.Nachuntersuchung	36,8	7,5	153

Patient 22

Tag 3	36,9	8,9	175
I. Nachuntersuchung	36,8	9,4	190
II.Nachuntersuchung	37,2	7,3	185

Patient 23

Tag 3	37,3	7,8	163
I. Nachuntersuchung	37,5	7,5	178
II.Nachuntersuchung	37,5	6,6	175

Patient 24

Tag 3	37,3	7,3	183
I. Nachuntersuchung	37,5	7,8	165
II.Nachuntersuchung	37,2	7,5	154

## 9.9 DANKSAGUNG

Mein besonderer Dank gilt meiner Doktormutter Frau Professor Heidrun Gehlen für die Überlassung des interessanten Themas, die hervorragende Betreuung und die großzügige Bereitstellung der finanziellen Mittel. Die Durchführung einer Feldstudie wäre ohne Ihre tatkräftige Unterstützung und Ihre stets optimistische Herangehensweise niemals möglich gewesen.

Herrn PD Dr. Sven Reese möchte ich vielmals dafür danken, dass er mich bei der statistischen Auswertung der erhobenen Daten so gut unterstützt hat.

Außerdem danke ich Frau Dr. Karin Weber von der medizinischen Kleintierklinik der LMU sehr herzlich für die Möglichkeit, ihr Labor und die benötigten Gerätschaften eigenverantwortlich nutzen zu dürfen.

Mein großer Dank gilt darüber hinaus Alice Hirschmann und Sebastian Ertel, die in zum Teil nächtlicher Arbeit die große Anzahl an benötigten Gelatinenanopartikeln hergestellt haben.

Ich danke Frau Kathy Barske für die Hilfe bei der Übersetzung des Summary's und Frau Dr. Johanna Leitenbacher für die professionelle Hilfe bei der Formatierung dieser Arbeit. Besonders hervorheben möchte ich an dieser Stelle auch die unermüdliche, tatkräftige und geduldige Unterstützung durch meinen Betreuer Herrn Dr. John Klier und durch den Pharmakologen Herrn Dr. Sebastian Fuchs. Beide haben mir so manche Schwierigkeiten aus dem Weg geräumt, sich immer Zeit für mich genommen und an den Erfolg dieses Projektes geglaubt. Ohne deren Hilfe hätte ich diese Studie niemals zu Ende führen können! Sie haben mir gezeigt, dass Forschung Spaß machen kann und dass es sich immer lohnt, neue Wege zu beschreiten.

Abschließend möchte ich meinen Freunden und besonders meinen Eltern dafür danken, dass sie mich über die gesamte Zeitdauer der Erstellung dieser Dissertation so unermüdlich unterstützt haben.

9.10 SELBSTSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt habe.  
Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in  
Anspruch genommen habe.

München, den 05.03.2013

B. Lehmann