

Aus dem Institut für Anatomie, Physiologie und Hygiene der Haustiere
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Eingereicht über das Institut für Immunologie und Molekularbiologie
des Fachbereiches Veterinärmedizin der
Freien Universität Berlin

**Felduntersuchungen zur Ätiologie und Diagnose des Sommerekzems beim
Islandpferd
sowie zur Verlaufskontrolle einer Prophylaxe und Therapie mit
homöopathischen Komplex-Präparaten in Verbindung mit Eigenblut
anhand der funktionellen In-vitro-Tests HRT und CAST.**

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

vorgelegt von
Britta Steidle
Tierärztin
aus Hamburg

Berlin 2009

Journal-Nr.: 3362

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.- Prof. Dr. L. Brunnberg
Erster Gutachter: Univ.- Prof. Dr. M.F.G. Schmidt
Zweiter Gutachter: Univ.- Prof. Dr. H. Enbergs
Dritter Gutachter: Priv.- Doz. Dr. K. Borchers

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

Iceland, horses, skin diseases, summer, eczema, allergy, homoeopathy,
leukotrienes, histamine, analysis, horse breeds

Tag der Promotion: 18.01.2010

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: 978-3-86664-780-0

Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2009

Dissertation, Freie Universität Berlin

D 188

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

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

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

This document is protected by copyright law.

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

alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© **mensch und buch** verlag 2010

choriner str. 85 - 10119 berlin

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

Meinen Eltern

und allen Anderen, die ich liebe.

Blackbird fly, blackbird fly
Into the light of the dark black night

Lennon/McCartney

Inhalt

Abkürzungen	VI
1 Einleitung.....	1
2 Literaturübersicht.....	3
2.1 Das Sommerekzem (SE) – Symptome, Verbreitung und Prävalenz	3
2.1.1 Klinisches Bild.....	3
2.1.2 Zur Genetik des SE.....	5
2.1.3 Verbreitung und Prävalenz des SE	6
2.2 Ätiologie und Pathogenese.....	8
2.2.1 <i>Culicoides spp.</i> als Auslöser des Sommerekzems	8
2.2.2 Pathogenese des Sommerekzems	14
2.2.2.1 Histopathologische Veränderungen in der Haut von Pferden mit SE.....	14
2.2.2.2 In-vitro-Untersuchungen: Aktivität isolierter Leukozyten von Pferden mit SE	17
2.2.2.3 Identifizierung und Klassifizierung von Serumantikörpern bei Pferden mit SE	17
2.2.2.4 Untersuchungen zu potenziellen, SE auslösenden Allergenen	18
2.3 Überblick über die verschiedenen Allergietypen	20
2.4 Mechanismen der Typ-I-Allergie am Beispiel Sommerekzem.....	23
2.4.1 Antigenpräsentation, Hauptinteraktionen von T-Lymphozyten und ihren Leitzytokinen	23
2.4.2 Auslösen der allergischen Reaktion vom Soforttyp	25
2.5 Mechanismus der Typ-IV-Hypersensitivität am Beispiel des Sommerekzems	27
2.6 Ausgewählte Entzündungsparameter beim Pferd	28
2.6.1 C-reaktives Protein (CRP)	29
2.6.2 Haptoglobin (Hp).....	29
2.7 Diagnose des Sommerekzems	30
2.7.1 Intrakutantest	30
2.7.2 In-vitro-Tests	31
2.7.2.1 Nachweis von IgE	32

2.7.2.2	Funktionelle In-vitro-Tests (HRT, CAST).....	33
2.8	Therapeutische Möglichkeiten für das Sommerekzem.....	35
2.8.1	Spezifische Immunotherapie (SIT).....	35
2.8.2	Andere therapeutische Möglichkeiten	37
2.9	Möglichkeiten zur Präventive des Sommerekzems.....	37
2.10	Homöopathische Behandlungsmöglichkeiten bei Allergien	38
2.11	Eigenbluttherapie	39
3	Pferdekontingent, Methoden und Material	41
3.1	Pferdekontingent/Blutproben	41
3.1.1	Untersuchungsgruppe	41
3.1.2	Gruppe von bisher ekzemfreien Pferden (Kontrollgruppe).....	42
3.1.3	Eingangsuntersuchung.....	44
3.2	Homöopathische Präparate, Behandlungsplan und Behandlungsregime	44
3.2.1	Homöopathika.....	44
3.2.2	Behandlungsplan.....	46
3.2.3	Behandlungsregime	47
3.2.4	Untersuchungen zur Klärung einer Ekzemdisposition	48
3.3	Gewinnung und Behandlung der Blutproben sowie Voruntersuchungen.....	48
3.3.1	Vorbereitende Arbeiten und Material.....	48
3.3.1.1	Gewinnung und Transport der Blutproben.....	48
3.3.1.2	Aufbereitung des Blutes zur Testdurchführung CAST und HRT	49
3.3.1.3	Aufbereitung des Blutes zur Serumgewinnung.....	49
3.3.1.4	Herstellung der Differenzialblutbilder	50
3.3.1.5	Herstellung des Allergenextraktes aus <i>Culicoides nubeculosus</i>	50
3.3.1.6	Lösungen und Puffer	51
3.3.1.7	Sonstige Materialien.....	51
3.3.2	Voruntersuchungen.....	52
3.3.2.1	Ermittlung der optimalen Allergenextraktkonzentration	52
3.3.2.2	Untersuchungen zur Ermittlung geeigneter Stimulatoren im CAST und HRT	52
3.3.2.3	Zeitversuch zur Prüfung der Lagerungsfähigkeit des Blutes	53
3.4	Hauptuntersuchungen	53

3.4.1	Erfassung der klinischen Daten zur Beurteilung des klinischen Bildes	54
3.4.2	Cellular Antigen Stimulation Test (CAST)	55
3.4.3	Histamine Release Test (HRT).....	59
3.4.4	Bestimmung des C-reaktiven Proteins und des Haptoglobins im Serum.....	62
3.4.5	Differenzialblutbild.....	62
3.4.6	Erfassung der Mückenexposition	62
3.4.7	Statistische Methoden.....	64
4	Ergebnisse	65
4.1	Ergebnisse der Eingangsuntersuchung.....	66
4.1.1	Ergebnisse der allgemeinen Untersuchung.....	66
4.1.2	Ergebnisse der adspektorischen dermatologischen Untersuchung.....	66
4.1.3	Untersuchung auf Dermatophyten.....	68
4.1.4	Untersuchung auf Ektoparasiten.....	68
4.1.5	Untersuchung auf den Befall mit Endoparasiten	68
4.2	Ergebnisse der Voruntersuchungen	69
4.2.1	Ermittlung der optimalen Allergenextraktkonzentration für den Einsatz im CAST und HRT	69
4.2.2	Ermittlung einer geeigneten Stimulationskontrolle zum Nachweis von Vitalität und Funktionalität der Leukozyten (CAST).....	72
4.2.3	Ermittlung der geeigneten Konzentration von GM-CSF als Primer	74
4.2.4	Ergebnisse zur Überprüfung der Lagerungsfähigkeit des Blutes	76
4.3	Ergebnisse der Hauptuntersuchungen.....	79
4.3.1	Ergebnisse der Prophylaxe-Phase.....	79
4.3.1.1	Untersuchungen zum Zeitpunkt des ersten Auftretens der Erkrankung	79
4.3.1.2	Einfluss der Präventivbehandlung auf das Differenzialblutbild	81
4.3.1.3	Einfluss der Präventivbehandlung auf die Ergebnisse in den funktionellen In-vitro-Tests (HRT, CAST).....	83
4.3.2	Ergebnisse der Untersuchungen zur Klärung einer Ekzemdisposition.....	86
4.3.2.1	Untersuchungsergebnisse im CAST.....	87
4.3.2.2	Untersuchungsergebnisse im HRT.....	88
4.3.2.3	Gehalt an Serum-CRP bei Pferden mit und ohne Disposition für das SE....	89
4.3.2.4	Gehalt an Serum-Haptoglobin bei Pferden mit und ohne Disposition für das SE	90

4.3.3	Ergebnisse der Therapiephase	90
4.3.3.1	Verlauf des Gesamthistamingehaltes der equinen Basophilen Granulozyten	90
4.3.3.2	Verlauf der prozentualen Histaminfreisetzung aus equinen Basophilen Granulozyten nach Stimulation mit einem <i>Culicoides</i> -Ganzkörperextrakt .	94
4.3.3.3	Verlauf der sLT-Freisetzung aus isolierten equinen Basophilen Granulozyten nach Inkubation mit einem <i>Culicoides</i> -Ganzkörperextrakt zu Beginn der Therapie	97
4.3.3.4	Verlauf der Serum-CRP-Konzentration bei Pferden mit SE zu Beginn der Therapie.....	99
4.3.3.5	Verlauf des klinischen Bildes in Bezug auf die betroffene Körperoberfläche bei Pferden mit SE zu Beginn der Therapie.....	100
4.3.3.6	Verlauf des klinischen Bildes in Bezug auf den Juckreiz bei Pferden mit SE zu Beginn der Therapie	103
4.3.4	Ergebnisse der Phase der Therapieunterbrechung.....	104
4.3.4.1	Verlauf des Gesamthistamingehaltes der equinen Basophilen Granulozyten	105
4.3.4.2	Verlauf der Serum-CRP-Konzentration bei Pferden mit SE während der Phase der Therapieunterbrechung im August	107
4.3.4.3	Verlauf des klinischen Bildes in Bezug auf die betroffene Körperoberfläche bei Pferden mit SE während der Phase der Therapieunterbrechung im August	109
4.3.4.4	Verlauf des klinischen Bildes in Bezug auf den Juckreiz bei Pferden mit SE während der Phase der Therapieunterbrechung im August	110
4.3.5	Ergebnisse der im Untersuchungsgebiet durchgeführten Mückenfänge	111
5	Diskussion	116
5.1	Einfluss einer homöopathischen Behandlung als Prophylaxe und Therapie auf das klinische Bild von Pferden mit Disposition für SE.....	116
5.2	Einfluss einer homöopathischen Prophylaxe und Therapie auf die Ergebnisse in den funktionellen In-vitro-Tests HRT und CAST sowie auf das Differenzialblutbild bei Pferden mit Disposition für das SE.....	120
5.3	Untersuchungen zur Eignung der funktionellen In-vitro-Tests CAST und HRT zur Diagnostik und Verlaufskontrolle des SE	123

5.4	Ergebnisse zu den Grundlagen der Pathogenese des SE	125
5.5	Ergebnisse zu den Auslösern des SE im Untersuchungsgebiet.....	131
5.6	Ausblick.....	133
6	Zusammenfassung.....	135
7	Summary	138
8	Zitierte Literatur	141
9	Anhang	156
10	Publikationsverzeichnis	167
11	Danksagung.....	168
12	Selbstständigkeitserklärung	169

Abkürzungen

Abb.	Abbildung
Ä	Ägidienberger
APC	antigenpräsentierende Zelle(n)
APP	Akute Phase Protein
BSA	bovines Serumalbumin
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CaCl ₂	Calziumchlorid
CAST	Cellular Antigen Stimulation Test
CD	Cluster of Differentiation
COB	Chronisch Obstruktive Bronchitis
CRP	C-reaktives Protein
CV	Variationskoeffizient
°C	Grad Celsius
C.	<i>Culicoides</i>
D	Verdünnungsstufe/Potenz
DAB	Deutsches Arzneimittelbuch
DD	doppelt destilliert
Dil.	Dilution
DPBS	Dulbeccos Phosphate Buffered Saline
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ELISA	enzyme linked immunosorbent assay
et al.	et alteri/et alii (und andere)
evtl.	eventuell
Fa.	Firma
fMLP	N-Formyl-Methionyl-Leucyl-Phenylalanin
g	Gramm
g	Gravitation, Erdanziehung, Beschleunigungskraft
ggr.	geringgradig
GM-CSF	Granulocyten-Makrophagen-Koloniestimulierender Faktor
h	Stunde(n)
HAB	Homöopathisches Arzneibuch
HAGCM	HEPES-Albumin-Glukose-Puffer mit CaCl ₂ und MgCl ₂

HEPES	2-[4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl]-ethansulfonsäure
Hp	Haptoglobin
HRT	Histamin Release Test
IFN- γ	Interferon-gamma
Ig	Immunglobulin(e)
IL-1	Interleukin-1
IL-4	Interleukin-4
IL-6	Interleukin-6
IL-10	Interleukin-10
inj.	injectionem
inkl.	inklusive
J	Jahre
Kap.	Kapitel
KCl	Kaliumchlorid
klin.	klinisch
KG	Kontrollgruppe
LZ	Langerhans'sche Zelle(n)
LT	Leukotrien(e)
LTC ₄	Leukotrien C ₄
LTD ₄	Leukotien D ₄
LTE ₄	Leukotrien E ₄
MB	maximale Bindung
MCP-1	Monocyte Chemoattractant Protein-1
MHC	Major Histocompatibility Complex
mRNA	messenger RNA
mg	Milligramm
MgCl ₂	Magnesiumchlorid
Min.	Minuten
ml	Milliliter
M _r	relative Molmasse
MW	Mittelwert
μ g	Mikrogramm
μ l	Mikroliter
n	Anzahl
NF- κ B	Nuclear Faktor kappa-B

nMol	Nanomol
NaCl	Natriumchlorid
NaOH	Natriumhydroxid
nm	Nanometer
o.b.B.	ohne besonderen Befund
o. g.	oben genannt
p.	post (nach)
pg	Pikogramm
PG	Prostaglandine
PAF	Plättchen-aktivierender Faktor
PMA	Phorbol-12-Myristat-13-Acetat
PMSF	Phenylmethylsulfonylfluorid
RIA	Radioimmunoassay
rpm	Umdrehungen pro Minute (rounds per minute)
RT	Raumtemperatur
S	Standard
s.	siehe
SAA	Serum-Amyloid A
s. c.	subkutan
SD	Standardabweichung
SE	Sommerekzem
sLT	Sulfidoleukotriene
sog.	sogenannt
spp.	Subspezies
Tab.	Tabelle
TGF- β 1	transforming growth factor-beta1
UG	Untersuchungsgruppe
us.	usus
vergl.	vergleiche
vet.	veterinarius
Vol.	Volumen
WdT	Wirtschaftsgemeinschaft deutscher Tierärzte
wöch.	wöchentlich
x	mal

1 Einleitung

Das Sommerexzem (SE) des Pferdes, auch als Sommerdermatitis, sweet itch oder summer seasonal recurrent dermatitis (SSRD) bekannt, ist eine nahezu weltweit verbreitete Erkrankung. Die klinischen Erscheinungen sind in Europa meist von Anfang März bis Ende Oktober zu beobachten. Leitsymptom ist ein stark bis extrem ausgeprägter Juckreiz, der die Pferde zum Scheuern bis hin zur Automutilisation veranlasst. Fellverluste und teilweise großflächige nässende Bereiche der Haut bis hin zu tiefergehenden Wunden sind die Folge. Die betroffenen Tiere kommen nicht zur Ruhe und sind häufig während der Krankheitsphase nicht reitbar. Pferde verschiedenster Rassen, unterschiedlichen Alters und Geschlechts sind betroffen, besonders jedoch Kleinpferderassen und hierbei die Isländer. Es besteht eine genetische Disposition für das SE [STROTHMANN 1982, UNKEL 1987, MARTI 1992, LANGE 2004].

Das SE ist als eine Typ-I-Allergie gegenüber bestimmten beißenden Insekten, den *Culicoides* spp. [BAKER und QUINN 1978, BRAVERMANN 1983, QUINN et al. 1983, ANDERSON 1991, 1993, KUROTAKI 1994] charakterisiert. Die Beteiligung einer Typ-IV Reaktion ist wahrscheinlich [KUROTAKI 2002]. In-vitro-Untersuchungen bestätigten das SE als eine IgE-vermittelte Reaktion gegenüber den *Culicoides* spp. [WILSON et al. 2001, WAGNER et al. 2003], wobei die SE auslösenden Allergene noch unbekannt sind [LANGNER 2005].

Obwohl das Sommerexzem bereits um 1840 [LECOQ 1842/1843, Ref. in UNKEL 1985] das erste Mal beschrieben und schon lange genauer untersucht wurde, gibt es bis heute nur wenige therapeutische Ansätze gegen die Erkrankung. In den letzten Jahren wurde die Spezifische Immunotherapie (SIT) in einigen Studien bei Pferden mit SE untersucht [BARBET et al. 1990, ANDERSON et al. 1996]. Da bisher jedoch keine hochreinen Allergene zur Verfügung stehen, waren die Erfolge begrenzt. Aus diesem Grunde kommt bis heute den prophylaktischen Maßnahmen zur Verminderung der Allergenexposition wie z.B. die Optimierung der Haltungsbedingungen, das Aufstallen der Pferde zu den Flugzeiten der *Culicoides* oder das Anlegen von Ekzemerdecken die größte Bedeutung zu.

Eine weitere Schwierigkeit für eine adäquate Behandlung des SE bestand in der bislang problematischen Erstellung der Diagnose. Mit Hilfe von Intrakutantests wurden stark schwankende Ergebnisse erzielt [QUINN et al. 1983, HALLDORSDDOTTIR 1989, KOLM-STARK und WAGNER 2002, LEBIS et al. 2002], und auch die Bestimmung des IgE-Spiegels scheint nicht für eine zuverlässige Diagnostik des SE geeignet zu sein [UNGAR-WARON et al. 1999, WILSON et al. 2001, 2006, WAGNER et al. 2003]. Eine Verbesserung brachte der Einsatz der

funktionellen In-vitro-Tests Histamine-Release-Test (HRT) und Cellular Antigen Stimulation Test (CAST) [KAUL 1998, DE WECK und SANZ 2004, BASELGA et al. 2006].

Aus Gründen der weiten Verbreitung der Erkrankung, des Tierschutzes und nicht zuletzt wegen der wirtschaftlichen Bedeutung sind weitere, vor allem längerfristige kontrollierte Untersuchungen zur Diagnostik und Therapie erforderlich. Für die vorliegende Felduntersuchung wurde ein Prophylaxe- sowie Therapieprogramm mit homöopathischen Komplex-Präparaten in Verbindung mit Eigenblut gewählt. Konkrete Ansatzpunkte hierfür ergaben sich aus positiven Erfahrungen aus der Praxis [DORENKAMP 1997]. Auch Ergebnisse aus klinischen und experimentellen Untersuchungen [MATUSIEWICZ 1995/1996, ENBERGS 1998, MATUSIEWICZ et al. 1999], die sich auf die Behandlung allergischer Erkrankungen sowie die Aktivierung bedeutender Komponenten des Abwehrsystems wie auch Immunmodulierung durch die homöopathischen Komplex-Präparate beziehen [SARWAR und ENBERGS 2001, SCHWAN 2002], waren Basis für die Wahl der Präparate zum Einsatz in Prophylaxe und Therapie.

Die vorliegende Arbeit hat im Einzelnen die Untersuchung folgender Aspekte zum Ziel:

- Überprüfung der Wirksamkeit eines Prophylaxe- und Therapieprogramms mittels ausgewählter homöopathischer Komplex-Präparate in Kombination mit Eigenblut.
- Nutzung und Erprobung der In-vitro-Tests HRT und CAST zur Verlaufskontrolle des Sommerrekzems unter der angewandten Prophylaxe und Therapie.
- Untersuchungen zur Diagnose des SE mittels In-vitro-Tests (HRT, CAST). Dabei sollte auch festgestellt werden, ob die Diagnose einer Disposition für das SE bei symptomfreien Pferden im Winter möglich ist.
- Bestimmung der Entzündungsparameter CRP und Haptoglobin, um weitere Erkenntnisse über die Pathogenese des SE zu erhalten.
- Erfassung der tatsächlichen Allergenexposition sowie der *Culicoides spp.*, welche das SE im Untersuchungsgebiet auslösen, durch Erhebung des Mückenaufkommens an den Standorten der Pferde.

2 Literaturübersicht

2.1 Das Sommerekzem (SE) – Symptome, Verbreitung und Prävalenz

Das Sommerekzem (SE) des Pferdes – auch Sommerdermatitis, sweet itch, queensland itch, summer seasonal recurrent dermatitis oder Kasen – ist eine nahezu weltweit verbreitete Erkrankung, die Pferde beiderlei Geschlechts verschiedenster Rassen und unterschiedlichen Alters betrifft. Die klinischen Erscheinungen werden in Europa meist von ca. Ende März bis Mitte Oktober in Abhängigkeit vom Einsetzen und Dauer der warmen Jahreszeit beobachtet.

2.1.1 Klinisches Bild

Leitsymptom des Sommerekzems ist in der Regel ein stark bis extrem ausgeprägter Juckreiz, der die Pferde zum Scheuern an allen erreichbaren Gegenständen bis hin zur Automutilation veranlasst. Am häufigsten betroffene Körperregionen sind Mähnenkamm und Schweifansatz (Abb. 2.1–2.3, [TOWNLEY et al. 1984, LANGE 2005]). Aber auch Gesicht um die Augenpartie, Stirn, Hüfthöcker, gesamte Kruppe, dorsale Mittellinie und teilweise Rücken- und Halsbereich sowie Bauchnaht und Schlauch bzw. Euter sind häufige Lokalisationen [RIECK 1953, BJÖRNSDOTTIR et al. 2006]. Je nach Überwiegen der betroffenen Hautbereiche wird eine ventrale, dorsale oder generalisierte Form unterschieden [BARBET 1992].

Die mit dem Kopf oder Gliedmaßen erreichbaren Hautbezirke werden vielfach durch Beknabbern oder Treten unter den Bauch bearbeitet. Andere Pferde werden zu intensiver gegenseitiger Fellpflege aufgefordert. Die betroffenen Pferde kommen nicht zur Ruhe und das Allgemeinbefinden ist gestört. Häufig sind die Tiere durch starke Unruhe oder Hautwunden an den erkrankten Stellen während der Krankheitsphase nicht reitbar.

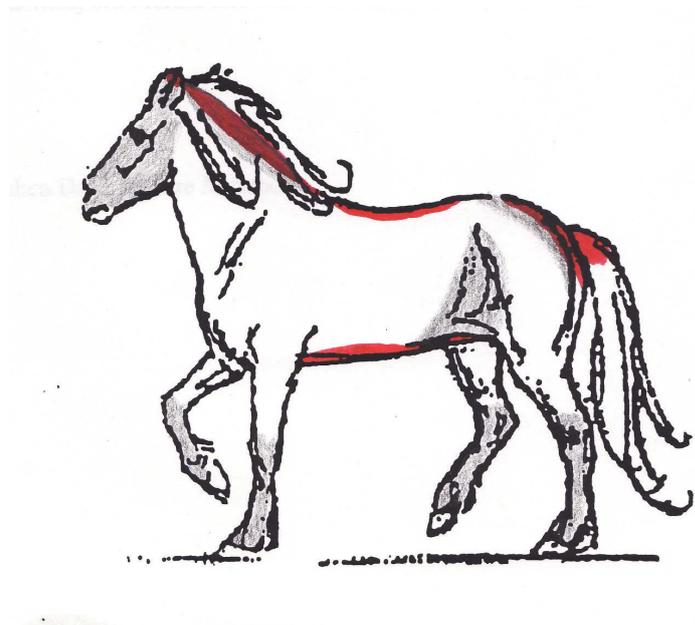


Abb. 2.1: Am häufigsten von den Hautveränderungen bei SE betroffene Körperregionen

Die Pferde zeigen an den erkrankten Stellen verschieden stark ausgeprägte Formen einer Dermatitis. Es kommt zur Verdickung der Haut, Papeln, Pusteln und Ulcera treten auf. Durch den starken Juckreiz wird die Haut bis zur Entwicklung von zunächst oberflächlichen, später und bei stärkerem Krankheitsbild auch tieferen Wunden aufgescheuert. Die Hautbezirke sind blutig-serös nässend (Abb. 2.2), es treten Krustenbildung, Haarbruch und Alopezie auf. Vor allem die Haut des Mähnenkammes und der Schweifrübe ist borkig verdickt, in tiefe Riefen gelegt und oft, je nach Schweregrad, bis zur Haarlosigkeit abgescheuert (Abb. 2.2 u. 2.3, [BJÖRNSDOTTIR 2006, HALLDORSDOTTIR und LARSEN 1991, RIECK 1953]).



Abb. 2.2: Mähnenkamm eines akut an Sommerexzem erkrankten Islandpferdes mit blutig-serös nässenden Hautbezirken



Abb. 2.3: Schweifrübe eines chronisch an Sommerexzem erkrankten Islandpferdes mit charakteristischer Haarlosigkeit und Verdickung der Haut

Während MCCAIG (1975) tiefe Ulcera mit sekundärer bakterieller Infektion beschrieb, fanden BJÖRNSDOTTIR et al. (2006) bei der Untersuchung von 43 Islandpferden zwar Wunden bei 71% der Tiere, jedoch keine Anzeichen für Sekundärinfektionen der betroffenen Bezirke.

Die beschriebenen Veränderungen sowie vor allem der starke Juckreiz gehen mit Beginn der kühleren Witterung zurück. In der Regel heilen die Wunden der betroffenen Pferde in den Wintermonaten vollständig ab, und Mähne und Schweif wachsen wieder nach. Bei chronisch erkrankten Patienten kann es nach mehreren Rezidiven jedoch zu einer starken Verdickung der Haut kommen, die sehr trocken, gefältelt und stellenweise haarlos ist sowie eine Hyperkeratose aufweist [RIECK 1953, BAKER und QUINN 1978].

2.1.2 Zur Genetik des SE

STROTHMANN (1982) beobachtete bei 79 Islandpferden in Island und Deutschland ein familiär gehäuftes Auftreten des Sommerekzems, allerdings ohne Anhaltspunkte für eine geschlechtsgebundene Vererbung. Nach ihr sind mehrere Faktoren unvollständiger Dominanz für das Auftreten des Sommerekzems verantwortlich, ein homozygot dominanter oder rezessiver Erbgang werden von ihr ausgeschlossen. Auch ANDERSON et al. (1988) stellten familiäre Häufungen fest. MARTI et al. (1992) fanden an 302 Schweizer Warmblutpferden eine signifikant höhere Inzidenz des Sommerekzems bei den Nachkommen eines Hengstes im Vergleich zu einer mit diesem Hengst nicht verwandten Kontrollgruppe gleichen Alters am gleichen Gestüt. UNKEL et al. (1987) ermittelten bei in Deutschland lebenden Islandpferden für das Sommerekzem Heritabilitäts-Schätzwerte zwischen $h^2 = 0$ und $h^2 = 0,24$. Sie schlossen einen monogenen Erbgang aus. In einer neueren Studie ermittelten SCHURINK et al. (2009) bei ihrer Untersuchung von 6073 in Holland gehaltenen Shetlandpony-Zuchtstuten eine Heritabilität von $h^2 = 0,24$ für das SE. LANGE (2004) fand bei ihrer Untersuchung von Islandpferden ($n = 490$) in Niedersachsen und Westfalen mit Hilfe des linearen Tiermodells eine Heritabilität für das Auftreten von SE von $h^2 = 0,36 \pm 0,08$. Sie konnte zeigen, dass mit höherem Inzuchtkoeffizienten bei von Island nach Deutschland importierten Pferden die Prävalenz von Sommerekzem abnimmt.

Nach ANDERSON et al. (1988) haben Rasse, Größe, Geschlecht und Farbe der Pferde keinen Einfluss auf die Ausprägung eines Sommerekzems. Während BROSTRØM et al. (1987) und HALLDORSDDOTTIR und LARSEN (1991) ebenfalls keinen signifikanten Zusammenhang des SE mit Geschlecht oder Fellfarbe ermitteln konnten, fanden BRAVERMANN et al. (1983) eine geringere Erkrankungsrate bei Pferden mit hellen Fellfarben. Auch nach LANGE (2004) sind bei in Deutschland gezogenen Islandpferden Fuchse und Schimmel weniger häufig betroffen als Braune, Rappen und Schecken. Stuten und Wallache erkrankten häufiger und schwerer als Hengste.

2.1.3 Verbreitung und Prävalenz des SE

Schon früh wurde eine dem heutigen Sommerekzem gleichende saisonal auftretende Dermatitis beschrieben. Die ersten Berichte über die Erkrankung kamen um 1840 aus Frankreich, 1939 aus Indien [LECOQ 1842/1843, DATTA 1939, beide Ref. in UNKEL 1985]. Einige Jahre später wurde das Sommerekzem in Australien als Queensland itch beschrieben [RIECK 1954]. Auch in England [MCCAIG 1973, MELLOR 1974], Irland [BAKER 1978], Israel [BRAVERMANN et al. 1983], Japan [BAKER 1984], Schweden [BROSTRØM et al. 1987] und zahlreichen anderen Ländern wurde die Erkrankung bis heute bekannt und zeigt eine teilweise hohe Prävalenz.

Tab. 2.1: Übersicht zu Untersuchungen zur Prävalenz des SE bei verschiedenen Pferderassen in verschiedenen Ländern

Land	Pferderasse	n	Prävalenz gesamt [%]	in Island geboren [%]	auf dem Festland geboren [%]	Autor
Großbrit.	diverse Ponyrassen	17641	2,8%			MCCAIG 1973
Israel	diverse	723	21,8%			BRAVERMANN et al. 1983
Schweden	Isländer	441	15%	26,2%	6,7%	BROSTRØM et al. 1987
Kanada	diverse	209	26%			ANDERSON et al. 1988
Norwegen	Isländer	391	17,6%	26,9%	8,2%	HALLDORSOTTIR und LARSEN 1991
Großbrit.	Shire Horse	1088	11,6 %			LITTLEWOOD 1998
Deutschland	Shire Horse	77	37,7%			LITTLEWOOD 1998
Deutschland	Isländer	490	29,8%	71,9%	15,6% in D, 27,3% in F, DK	LANGE 2004, LANGE et al. 2005
Deutschland, Dänemark, Schweden	Isländer	330	34,5%	34,5%		BJÖRNSDOTTIR et al. 2006

Trotz des nahezu weltweiten Vorkommens des Sommerekzems bei Pferden zahlreicher Rassen sind Kleinpferderassen und hierbei die Isländer vornehmlich betroffen (Tab. 2.1).

So beschreiben BROSTRØM et al. 1987 bei einer Untersuchung von 441 Islandpferden in Schweden eine Prävalenz des Sommerekzems bei ca. 15% der Pferde. Zu ähnlichen

Ergebnissen kamen HALLDORSOTTIR und LARSEN 1991, die 391 Islandpferde in Norwegen untersuchten und eine Erkrankungshäufigkeit von 17,6% feststellten. LANGE ermittelte 2004 eine Prävalenz des Sommerekzems von sogar 29,8% bei den 490 von ihr untersuchten Islandpferden in Niedersachsen und Westfalen.

Die Wahrscheinlichkeit für die Pferde, an Sommerekzem zu erkranken, hängt stark von dem Geburtsort der Tiere ab (Tab. 2.1). So sind in Island geborene und von dort importierte Pferde signifikant häufiger betroffen (ca. 26%) als in Schweden oder Norwegen geborene Tiere (6–8%) [BROSTRØM et al. 1987, HALLDORSOTTIR und LARSEN 1991].

LANGE et al. (2005) stellten eine Erkrankungshäufigkeit von 71,9% für aus Island nach Deutschland importierte Pferde fest, für in Deutschland geborene Islandpferde jedoch nur von 15,6%. Dabei ist die Wahrscheinlichkeit für in Island geborene und auf das Festland importierte Pferde an Sommerekzem zu erkranken für die Tiere, die im Alter von 7-15 Jahren importiert werden, am größten (Prävalenz von 96,4% [LANGE et al. 2005]).

Der Schweregrad der Symptome ist bei den Pferden im Alter von < 4 und > 12 Jahren am stärksten ausgeprägt [LANGE 2004]. Aus Island importierte Pferde zeigen einen ähnlichen durchschnittlichen Ekzemgrad wie in Deutschland geborene Islandpferde ($3,5 \pm 2,8$ vs. $3,3 \pm 2,5$ [LANGE 2004]). BROSTRØM et al. (1987) hingegen stellten bei in Island geborenen und nach Schweden importierten Pferden einen signifikant höheren Schweregrad der Erkrankung fest als bei auf dem Festland geborenen Tieren.

Im Mittel tritt die Erkrankung zwischen 2,4 und 4,1 Jahren nach dem Import auf (Tab. 2.2, [BJÖRNSDOTTIR 2006, HALLDORSOTTIR und LARSEN 1991, LANGE 2004]). Pferde, die im Winterhalbjahr importiert werden, erkranken signifikant häufiger als diejenigen, die im Sommerhalbjahr importiert werden [HALLDORSOTTIR und LARSEN 1991].

Tab. 2.2: Zeitraum vom Import der auf Island geborenen Pferde bis zum Auftreten der ersten Symptome von SE (n = untersuchte Pferde, v = Standardabweichung)

Pferderasse	n	Importland	Mittlerer Zeitraum vom Import aus Island bis zum Auftreten des SE im Importland	Autor
Isländer	87	Deutschland	2,5 Jahre; v = 2,3 Jahre	LANGE, 2004
Isländer	49	Deutschland, Dänemark, Schweden	2,4 Jahre; v = 1,8 Jahre	BJÖRNSDOTTIR et al., 2006

Insbesondere Standortfaktoren wie Höhenlage, Windgeschwindigkeit und Feuchtigkeit spielen eine Rolle für die Prävalenz des SE in den unterschiedlichen Regionen. So nimmt die Wahrscheinlichkeit für Pferde, an SE zu erkranken, mit zunehmender Höhenlage ab. An

Standorten mit kühler Witterung und hohen Windgeschwindigkeiten wie z.B. Island oder Spiekeroog tritt das SE nicht auf [MCCAIG 1973, BRAVERMANN et al. 1983, KOBELT 2001].

Außer den Klimafaktoren Temperatur, Feuchtigkeit und Windgeschwindigkeit wirken sich das Vorhandensein von offenen Steh- oder Fließgewässern in der Nähe signifikant auf die Prävalenz des SE aus [BJÖRNSDOTTIR et al. 2006].

In der Robustpferdehaltung sind die Lage der Weiden an Waldrändern oder in windstillen Senken, die Nähe zu Bachläufen sowie das Vorhandensein von feuchten Böden in Paddocks häufig. Auch das Benutzen ungeeigneter Tränkeeinrichtungen wie Badewannen ist weit verbreitet. Hierdurch sind mehrere der oben genannten Klimafaktoren, v.a. Feuchtigkeit und geringe Windgeschwindigkeit gegeben.

2.2 Ätiologie und Pathogenese

2.2.1 *Culicoides* spp. als Auslöser des Sommerekzems

Schon früh wurde vermutet, dass das Sommerekzem der Pferde eine Überempfindlichkeitsreaktion vom Soforttyp auf die Bisse der *Culicoides* spp. sein könnte.

MELLOR (1974) beschrieb *Culicoides pulicaris* als wahrscheinlichen Auslöser des Sommerekzems bei Pferden in England.

Culicoides spp. (Diptera, Familie: Ceratopogonidae) sind zwischen 0,5 und 3 mm große Mücken, die nahezu weltweit vorkommen und deren Gattung ca. 800 Spezies umfasst. Einige der Arten fungieren für bestimmte Viren als Vektoren und übertragen so zum Beispiel Afrikanische Pferdepest oder die Blauzungkrankheit. Die Insekten besitzen speziell adaptierte Teile des Mundes, mit denen sie je nach Art beißen und Blut saugen können (Abb. 2.4a). Einzelne Spezies der *Culicoides* können u.a. anhand charakteristischer Formen und Fleckung der Flügel, die als Typisierungsmerkmal dienen, unterschieden werden (Abb. 2.4b, mit freundlicher Genehmigung von Prof. Mehlhorn). Nur die weiblichen Tiere bestimmter Arten beißen, die anschließende Eiablage erfolgt im Wasser, wo sich auch die Larven entwickeln. Diese sind Wassertiere oder Semi-Wassertiere und durchlaufen ein Puppenstadium, um danach als adulte Mücken – auch Gnitzen genannt – zu schlüpfen. Nach LANGE (2004) entfernen sich die *Culicoides* spp. zur anschließenden Nahrungsaufnahme an ihrem Wirt meist nicht mehr als einige hundert Meter von ihrer Brutstätte. Zur Eiablage eignen sich Steh- und Fließgewässer; auch kleinere stehende Pfützen in feuchten Böden oder ungeeignete Tränkeeinrichtungen wie Badewannen, wie man sie häufig in der Robustpferdehaltung finden kann, bieten ideale Bedingungen.



Abb. 2.4a: *Culicoides nubeculosus* (♀)



Abb. 2.4b: Schematische Darstellung eines Flügels von *C. nubeculosus*

Die *Culicoides spp.* sind in ihrer Aktivität und Verbreitung stark von klimatischen Bedingungen abhängig. Neben der Luft- und Bodenfeuchtigkeit sind bestimmte Mindesttemperaturen sowie vor allem eine geringe Windgeschwindigkeit Voraussetzungen, welche die Culicoiden für ihre Aktivität und Fortpflanzung brauchen.

Für die in Spanien vorkommenden *Culicoides spp.* ermittelten ORTEGA et al. (1999) eine optimale Mindesttemperatur von im Mittel 14 °C sowie eine mittlere optimale Höchsttemperatur von 32 °C. Gnitzen entfalten in Deutschland die höchste Aktivität während der Flugsaison bei geringer Lichtintensität, hoher Luftfeuchtigkeit und Windstille [STROTHMANN 1982], während sich die Aktivität der in Israel heimischen *Culicoides spp.* von einer halben Stunde vor bis nach Sonnenauf- bzw. Sonnenuntergang erstreckt [BRAVERMANN 1988].

In Tabelle 2.3 sind einige klimatische Bedingungen, die für die Aktivität der *Culicoides spp.* in den verschiedenen Ländern Voraussetzungen sind, dargestellt.

Tab. 2.3: Benötigte klimatische Bedingungen für einige *Culicoides spp.* in verschiedenen Ländern

Land	Nachgewiesene Arten	Maximale Aktivität bei	Autor
Deutschland	<i>C. impunctatus</i> , <i>C. obsoletus</i> , <i>C. pectipennis</i> , <i>C. pulicaris</i> , <i>C. punctatus</i> , <i>C. stigma</i>	geringer Lichtintensität, hoher Luftfeuchtigkeit, Windstille	STROTHMANN 1982
Israel	<i>C. puncticollis</i> , <i>C. imicola</i> , <i>C. der schultzei</i> - Gruppe, <i>C. newsteadi</i> , <i>C. catanei</i>	½ Std. vor/nach Sonnenauf- bzw. -untergang	BRAVERMANN 1988

Spanien	<i>C. imicola</i> , <i>C. newsteadi</i> , <i>C. circumscriptus</i> , <i>C. pulicaris</i> , <i>C. punctatus</i> , <i>C. obsoletus</i> , <i>C. agathensis</i> , <i>C. bahrainensis</i> , <i>C. marclei</i> , <i>C. odiatus</i> , <i>C. scoticus</i>	18–38 °C für <i>C. imicola</i> > 12° C für <i>C. newsteadi</i> > 14° C für <i>C. circumscriptus</i> 14–32 °C für die gesamten <i>Culicoides spp.</i>	ORTEGA et al. 1999
---------	---	---	-----------------------

In Island kommen die *Culicoides spp.* aufgrund der raueren klimatischen Bedingungen nicht vor. Wie neuere Untersuchungen von PURSE et al. (2005) jedoch zeigen, findet aufgrund des Klimawandels bereits eine nordwärts gerichtete Expansion von z.B. *C. imicola* statt, die in den letzten Jahren in Europa zu mehreren Ausbrüchen der dort sonst sehr seltenen Blauzungenerkrankung – 800 km weiter nördlich als bisher bekannt – geführt hat. Es ist anzunehmen, dass sich die *Culicoides spp.* aufgrund des zunehmend milderen Klimas sowohl in den weiteren Norden als auch in größere Höhen ausbreiten (WITTMANN et al. 2001). Mehrere Mückenfangstudien über das Lande- und Fressverhalten der verschiedenen *Culicoides*-Arten an Pferden, die Aufschluss über die möglichen Auslöser des Sommerkzems geben sollten, wurden u.a. in Irland, Israel und Florida durchgeführt [TOWNLEY et al. 1984, BRAVERMANN et al. 1988, GREINER et al. 1988, GREINER et al. 1990]. Bei der Untersuchung von 10.178 auf einem Versuchspferd gelandeten Mücken identifizierten TOWNLEY et al. (1984) in Irland 10 verschiedene Arten, von denen 7 Arten Blut saugten. 90,5% dieser *Culicoides* waren *C. obsoletus* und *C. dewulfi*. Die bevorzugten Landungsorte aller Mücken waren die Mähne und die distalen Gliedmaßen, nur wenige flogen Kopf, Brust und ventrale Gebiete an. Folgende 3 *Culicoides*-Arten saugten überwiegend oder sogar ausschließlich an den Prädilektionsstellen für Sommerkzem Blut: *C. punctatus*, *C. nubeculosus* (beide nur in geringer Anzahl) sowie *C. pulicaris*. Die Mehrheit der *Culicoides*-Spezies, die volle Blutmahlzeiten nahm, tat dies im Bereich der Mähne und der distalen Gliedmaßen. Während das erste für eine Blutmahlzeit bevorzugte Hautgebiet sich mit den Prädilektionsstellen für Sommerkzem deckt, fehlen im Bereich der distalen Gliedmaßen in der Regel die Symptome des Sommerkzems.

BRAVERMANN (1988) fand bei seiner Untersuchung von 620 auf einem Versuchspferd in Israel gelandeten *Culicoides* nur *C. puncticollis*, *C. imicola* und *C. der Schulzei* - Gruppe. Während *C. imicola* zu 70% in den für Sommerkzem typischen Bereichen gefunden wurde und nur zu 28% das Abdomen anflieg, fanden sich die beiden anderen Arten zu 95 bzw. fast 100% im Bauchbereich, wo sie auch bissen. Die deutliche Präferenz von *C. imicola* für die am häufigsten von Sommerkzem betroffenen Körperstellen in Zusammenhang mit der Tatsache, dass *C. imicola* im Gegensatz zu den beiden anderen Arten kontinuierlich über die

Saison hinweg vertreten war, führte BRAVERMANN zu der Annahme, dass diese Spezies der wahrscheinliche Auslöser für das Sommerekzem der Pferde in Israel ist.

Während ihrer 2-jährigen Studie in Florida fingen GREINER et al. (1988) 23 Arten von *Culicoides* in Lichtfallen, die sie in der Nähe von Pferden errichtet hatten. Fast 99% der gefangenen Mücken wurden von 6 überwiegend vorkommenden Arten repräsentiert. Der relative Anteil der jeweils überwiegenden Spezies am Gesamtfang variierte in Abhängigkeit von dem Ort, an dem sie gefangen wurden, zusätzlich zeigten die jeweiligen Arten saisonale Schwankungen in ihrer Bestandsgröße. Der Zusammenhang der in den Lichtfallen gefangenen Arten mit der Saisonalität des Auftretens der Hautveränderungen deutete an, dass mehr als eine *Culicoides*-Spezies für das Auslösen des Sommerekzems bei Pferden in Florida verantwortlich ist. GREINER et al. (1988) nahmen aufgrund der Saisonalität an, dass *C. insignis*, *C. stellifer* und *C. venustus* am wahrscheinlichsten als Verursacher des Sommerekzems anzusehen sind. Die Abhängigkeit des Auftretens von Hautläsionen von den auf den Pferden vorkommenden Mücken, deren Bissstellen wie auch der Saisonalität und geographischen Verteilung der *Culicoides*-Arten zeigten GREINER et al. 1990 bei einer Folgestudie, bei der sie 2933 Mücken von Pferden in Florida aspirierten und untersuchten.

Als Auslöser des SE kommen in Deutschland Mücken der Spezies *C. impunctatus*, *C. obsoletus*, *C. pectipennis*, *C. pulicaris*, *C. punctatus* und *C. stigma* in Betracht [STROTHMANN 1982].

Die folgende Tabelle gibt eine Übersicht über Untersuchungen über die in den verschiedenen Ländern vorkommenden Spezies und deren Lande- und Fressverhalten am Pferd.

Tab. 2.4: Überblick über die Art und Anzahl (n) der auf Pferden erfassten *Culicoides* spp., deren Lande- und Fressverhalten in verschiedenen Ländern

Land	n	Ermittelte Arten	Bevorzugte Lande- und Fressplätze	Autor
Irland	10178	10 Arten, 7 Arten haematophag, 90,5% der haematophagen Spezies: <i>C. obsoletus</i> und <i>C. dewulfi</i> .	Mähne (↑) und distale Gliedmaßen; vereinzelt Kopf, Brust, ventrale Gebiete	TOWNLEY et al., 1984
		<i>C. punctatus</i> (↓) u. <i>C. nubiculosus</i> (↓), <i>C. pulicaris</i> (4,7%); (alle haematophag)	Fast ausschließlich an Prädilektionsstellen für SE	
Israel	620	<i>C. imicola</i> (kontinuierlich über die Saison hinweg vertreten, wahrscheinl. Auslöser von SE)	Prädilektionsstellen des SE: 70%, Abdomen: 28%	BRAVERMANN, 1988
		<i>C. puncticollis</i> , <i>C. der Schultzei</i> -Gruppe	Abdomen: 95–100%	

USA, Florida		23 Arten; 99% davon von 6 Arten repräsentiert: <i>C. edeni</i> , <i>C. niger</i> , <i>C. haematopotus</i> , <i>C. insignis</i> , <i>C. stellifer</i> , <i>C.</i> <i>venustus Hoffman</i>	In Lichtfallen in der Nähe von Pferden gefangen, saisonale Schwankungen Aufgrund Saisonalität wahrscheinliche Auslöser von SE	GREINER et al., 1988
-----------------	--	---	---	-------------------------

VAN DER RIJT et al. stellten 2008 bei ihrer Untersuchung über das Anflugverhalten der *Culicoides* auf die Pferde in den Niederlanden fest, dass interessanterweise Pferde ohne Disposition für das SE eine höhere Anzahl *Culicoides spp.* anzogen als Tiere ohne die entsprechende Disposition.

BAKER und QUINN (1978) untersuchten *Culicoides spp.* als möglichen Auslöser für das Sommerexzem bei Pferden. Sie beschrieben histologische Veränderungen in der Haut von Pferden mit SE, die denen einer Überempfindlichkeitsreaktion vom Soforttyp gegenüber dem Speichel blutsaugender Insekten glichen, wie ein subepidermales Ödem, eine Eosinophilie und erweiterte Blutgefäße. Nach einer intradermalen Injektion von *Culicoides*-Ganzkörperextrakt zeigten sich vergleichbare Befunde. Sie applizierten 7 Pferden mit Sommerexzem Extrakte von *Culicoides*, *Stomoxys calcitrans* und *Tabanidae*, wobei alle Tiere auf *Culicoides* eine Sofortreaktion zeigten, 3 der Pferde zusätzlich auf *Stomoxys calcitrans*. Reaktionen vom Sofort- und verzögerten Typ traten nur nach intradermaler Injektion mit *Culicoides*-Extrakt auf. Drei gesunde Ponys zeigten minimale Hautreaktionen nach der intradermalen Injektion der gleichen Extrakte.

Zu ähnlichen Ergebnissen kamen BRAVERMANN et al. (1983), die bei Pferden mit Sommerexzem in Israel Reaktionen vom Soforttyp nach intradermaler Injektion von Extrakten von *Stomoxys calcitrans* und *Culicoides imicola* beobachteten, Reaktionen vom verzögerten Typ jedoch nur bei dem *Culicoides imicola*-Extrakt. Die untersuchten Pferde reagierten ebenfalls sensibel auf Extrakte von *Culicoides circumscriptus*. BRAVERMANN et al. gelang es außerdem, Antikörper gegen die Extrakte der *Culicoides*- und *Stomoxys*-Arten im Serum von gesunden Pferden wie auch von Pferden mit SE im ELISA nachzuweisen.

ANDERSON et al. (1991) untersuchten in Südwest British Columbia bei je 6 Pferden mit bzw. ohne Sommerexzem die Reaktion auf intradermale Injektion von Extrakten mit *Culicoides obsoletus*, der dort am häufigsten vorkommenden Art.

Die an SE erkrankten Pferde entwickelten innerhalb von 20 Minuten nach der Injektion große Schwellungen, ein Hinweis auf eine Reaktion vom Soforttyp (Typ I). Die Schwellungen waren 24 Stunden oder später nach der intradermalen Injektion am deutlichsten ausgeprägt. Dies ließ auf eine zusätzliche Beteiligung einer Reaktion vom verzögerten Typ (Typ IV)

schliessen. Darüber hinaus blieb die Hautreaktion über mehr als 3 Wochen hinaus wahrnehmbar. Die Pferde zeigten zusätzlich Unruhe sowie charakteristische Hautveränderungen an den Injektionsstellen, die den bei SE natürlich vorkommenden Hautläsionen glichen. Gesunde Pferde hingegen entwickelten nur kleine Schwellungen in der Haut, die ihr Maximum bereits nach 2–4 Std. erreicht hatten. Diese Pferde zeigten keinerlei Unruhe und keine weiteren klinischen Symptome.

Aus diesen Befunden in Zusammenhang mit der Tatsache, dass *C. obsoletus* die in British Columbia zahlenmäßig am stärksten vertretene Mücke ist, die Pferde beißt, und die von ihr zur Blutmahlzeit bevorzugten Stellen mit den Prädilektionsstellen des SE identisch sind, schlossen ANDERSON et al., dass *C. obsoletus* der eigentliche Auslöser für das SE der Pferde in British Columbia ist. Bei einer Wiederholung des Tests 2 Jahre später bei 3 der betroffenen Pferde waren die Ergebnisse für 2 der Tiere identisch. Bei dem dritten Pferd fiel die Reaktion stark reduziert aus, was mit dem in der Zwischenzeit starken Rückgang der klinischen Symptome des SE bei diesem Tier korrelierte.

ANDERSON et al. (1993) setzten zusätzlich zu dem Extrakt zweier in British Columbia heimischer Mückenspezies auch den Extrakt von 4 exotischen *Culicoides*-Arten ein. Alle an SE erkrankten Pferde reagierten auf die intradermale Injektion der Extrakte aller *Culicoides*-Arten deutlich positiv, auch der Spezies, mit denen die Pferde vorher nie Kontakt hatten. Die Autoren folgerten daraus, dass das Allergen, welches das Sommerexzem auslöst, in allen eingesetzten Extrakten vorhanden war.

HALLDORSDDOTTIR et al. (1989) registrierten bei ihrer Untersuchung von 23 Islandpferden eine Abhängigkeit der Hautreaktion von der Antigenkonzentration der intradermal injizierten Extrakte.

QUINN et al. (1983) gelang es, die Hautreaktion auf *Culicoides* mit Serum an Sommerexzem erkrankter Pferde auf gesunde Tiere zu übertragen. Damit bestätigten sie, dass es sich bei der Reaktion um eine Überempfindlichkeitsreaktion vom Soforttyp handelte. Das Serum erkrankter Pferde sensibilisierte die Haut der gesunden Pferde gegenüber den Extrakten beißender Mücken und die transferierten Antikörper blieben 72 Stunden oder länger in der Haut der Empfängertiere. Die Antwort auf *Culicoides*-Extrakte war durchweg stärker als die auf entsprechende Extrakte von *Stomoxys*-, *Tabanidae*- und *Culex*-Arten.

2.2.2 Pathogenese des Sommerekzems

Das Sommerekzem des Pferdes ist durch charakteristische histopathologische Hautveränderungen, Reaktionen auf intradermale Injektionen von Allergenextrakten aus *Culicoides spp.* sowie Mückenfangstudien als eine allergische Reaktion auf *Culicoides*-Bisse charakterisiert. Mehrere Autoren untersuchten die Pathogenese tiefergehend.

2.2.2.1 Histopathologische Veränderungen in der Haut von Pferden mit SE

FOSTER et al. (1995a) untersuchten Mediatoren, die bei der Reaktion auf die Mücken-Antigene in der Haut erkrankter Pferde freigesetzt werden. Sie konzentrierten sich dabei auf den Plättchen-aktivierenden Faktor (PAF) und konnten zeigen, dass dieser nach intradermaler Injektion in der Haut erkrankter Pferde im akuten wie auch im abgeklungenen Stadium eine erhöhte Gefäßpermeabilität, ein Ödem sowie eine Akkumulation der neutrophilen und im akuten Krankheitsstadium eosinophilen Granulozyten bewirkt. Diese Beobachtungen zeigten, dass der Effekt von PAF dem des *Culicoides*-Antigens während der akuten Phase der Erkrankung gleicht und demnach eine Rolle bei antigeninduzierten entzündlichen Veränderungen in der Haut allergischer Pferde spielen könnte. Bereits in einer vorhergehenden Untersuchung hatten FOSTER et al. (1992) durch lokale sowie systemische Anwendung des entsprechenden Rezeptorantagonisten WEB 2086 gezeigt, dass die Reaktionen auf PAF beim Pferd über die Aktivierung der PAF-Rezeptoren vermittelt werden. Bei Pferden mit Sommerekzem, denen WEB 2086 i.v. injiziert wurde, beobachteten FOSTER et al. (1995b) nach intradermaler Injektion eines *Culicoides*-Extraktes eine signifikante Reduzierung des Ödems um 73% (1 h p. inj.) bzw. 71% (8 h p. inj.). Die Akkumulation der neutrophilen sowie eosinophilen Granulozyten wurde – auch bei Anwendung eines zweiten Rezeptorantagonisten WEB 2170 – nicht signifikant reduziert. Hierdurch wurde eine Schlüsselrolle von PAF bei der durch *Culicoides*-Antigen hervorgerufenen Ödembildung in der Haut allergischer Pferde, nicht aber bei der entzündungsbedingten Zellakkumulation aufgezeigt. Bei der lokalen Applikation des Histamin-1-Rezeptorantagonisten Chlorpheniramin [FOSTER et al. 1998] zeigte sich, dass dieser die Ödembildung in der Haut an SE erkrankter Pferde nach intradermaler Injektion von *Culicoides*-Ganzkörperextrakten vollständig unterband (1 h p. inj.) bzw. um 63% reduzierte (8 h p. inj.). Ebenso wurde die Akkumulation von eosinophilen und neutrophilen Granulozyten partiell unterbunden. Diese Ergebnisse stellten die Bedeutung des Histamins in der Pathogenese des Sommerekzems in der Ödembildung und der Rekrutierung der eosinophilen und neutrophilen Granulozyten heraus.

MCKELVIE et al. (1999) untersuchten die Lymphozytensubpopulationen im Blutkreislauf wie auch in der Haut von an SE erkrankten Pferden. Dabei zeigte sich, dass die betroffenen Pferde im Vergleich zu gesunden Tieren eine signifikant erhöhte Anzahl von zirkulierenden CD5⁺- und CD4⁺-T-Lymphozyten aufwiesen. In der Haut erkrankter Pferde fanden sich erhöhte Zahlen von CD3⁺-T-Lymphozyten, davon die meisten CD4⁺-, sowie eosinophile Granulozyten. Die Autoren vermuteten, dass T-Lymphozyten, die eine entscheidende Rolle in der Pathogenese allergischer Hauterkrankungen des Menschen spielen, über die Freisetzung von Zytokinen die Akkumulation und Aktivierung der Eosinophilen bewirken, und so zu der Entwicklung der Hautläsionen beim SE des Pferdes beitragen. Im Rahmen dieser Arbeit erfolgte jedoch noch keine Untersuchung oder Identifizierung der entsprechenden Zytokine.

Die intrakutane Injektion von *Culicoides*-Antigenextrakten induziert bei betroffenen Tieren zusätzlich eine weitere Akkumulation von T-Lymphozyten und Eosinophilen in der Haut [MCKELVIE et al. 2001]. Der injizierte *Culicoides*-Extrakt bewirkt zusätzlich eine Proliferation mononukleärer Blutzellen sowohl bei erkrankten als auch bei gesunden Pferden. Die Freisetzung eines hitzelabilen Faktors, der Adhärenz der Eosinophilen bewirkte, wurde ebenfalls nachgewiesen, sodass MCKELVIE et al. (2001) annahmen, dass lösliche, von T-Lymphozyten freigesetzte Proteine die Funktion der eosinophilen Granulozyten in den Bereichen der Hautläsionen an SE erkrankter Pferde beeinflussen.

Bei histopathologischen Untersuchungen von Hautbiopsien an SE erkrankter Pferde bestätigten KUROTAKI et al. (1994) neben dem Nachweis einer Hyperkeratose im Übergangsbereich von Dermis zu Epidermis der betroffenen Bereiche eine erhöhte Anzahl von T-Lymphozyten sowie auch Langerhans'scher Zellen, die zahlreiche Sekretvesikel (Birbeck-Granula) enthielten, ein Ödem der Dermis und eine perivaskuläre Infiltration von Eosinophilen und Mastzellen. Bei weiteren histopathologischen und elektronenmikroskopischen Untersuchungen der Langerhans'schen Zellen (LZ) im Epithel der Haarfollikel sowie dem intradermalen Schweißdrüsenausführungsgang bei Pferden mit SE fanden KUROTAKI et al. (2002) charakteristische Merkmale für Phasen der Aufnahme, Erkennung und Präsentation der Antigene durch die Langerhans'schen Zellen, die eine wichtige Rolle bei Allergien vom verzögerten Typ (Typ IV, zellvermittelt) spielen.

Außerdem lag eine unterschiedliche Verteilung der LZ in betroffenen bzw. nicht betroffenen Hautbereichen, sowie eine unterschiedliche Morphologie und dendritische Aktivität der LZ vor.

Eine Beteiligung der equinen Chemokine Eotaxin und Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) bei equinen allergischen Hauterkrankungen legten Untersuchungen von BENARAFÁ et al. (2000) nahe. Sie wiesen eine frühe Induktion von Eotaxin sowie eine Heraufregulierung

von MCP-1 durch Interleukin-4 (IL-4) in den Fibroblasten der Haut nach. In vitro induziert Eotaxin die Migration und Aktivierung der eosinophilen Granulozyten [BENARAFÄ et al. 2002]. Darüber hinaus war die Expression der mRNA für Eotaxin in kultivierten equinen Fibroblasten der Haut, die IL-4 ausgesetzt wurden, gesteigert. Schließlich war in Hautbiopsien erkrankter Pferde in den betroffenen Bereichen im Vergleich zu klinisch unauffälligen Hautbezirken derselben Tiere die Expression der Eotaxin- und MCP-1-mRNA bei gleichzeitig vorhandener Eosinophilenansammlung erhöht.

KOLM et al. (2006) untersuchten die Expression von IL-1beta mRNA in Hautbiopsien von an SE erkrankten wie auch gesunden Pferden vor und nach intradermaler Injektion eines *Culicoides*-Extraktes. Sie ermittelten keinen signifikanten Unterschied zwischen gesunden und erkrankten Tieren vor der durchgeführten Injektion. Dagegen bewirkte die intrakutane Applikation des Extraktes eine lokale Heraufregulierung von IL-1beta mRNA bei beiden Gruppen, wobei der Anstieg des Spiegels nur bei den an SE erkrankten Pferden signifikant war.

Eine Beteiligung einer IgE-vermittelten Immunreaktion an der Pathogenese des Sommereczems wiesen VAN DER HAEGEN et al. (2001) bei der Untersuchung von Hautbiopsien erkrankter und gesunder Pferde nach. In der Dermis und Epidermis von akut und chronisch an SE erkrankten Pferden befanden sich im Vergleich zu gesunden Tieren eine signifikant erhöhte Anzahl von IgE-Protein-tragenden Zellen und mehr IgE-mRNA-positive Zellen, sowie eine signifikant erhöhte Anzahl von Mastzellen in der Dermis. Interessanterweise waren in keiner der Biopsien chymasepositive Zellen vorhanden. Diese Tatsache bestätigten auch RUFENACHT et al. (2005), die Hautbiopsien von Pferden mit Urticaria, Pempfigus foliaceus, SE sowie von gesunden Pferden untersuchten. In allen mit Toluidinblau gefärbten Biopsien waren keine chymasepositiven Zellen nachzuweisen. Die neutrale Protease Chymase, ein von den Mastzellen präformierter Mediator, übt beim Menschen eine wichtige Kontrollfunktion der Mastzellaktivität aus [LOWMAN et al. 1988], indem durch die Inaktivierung des Histaminliberators Substanz P die weitergehende Mastzelldegranulation limitiert wird [CAUGHEY et al. 1988]. Mit metachromatischer und tryptasespezifischer Färbung wiesen RUFENACHT et al. (2005) signifikant erhöhte Zahlen von Mastzellen in der Subepidermis und Dermis von akut an SE erkrankten Pferden im Vergleich zu gesunden oder Pferden mit Urticaria nach. Dabei waren in der Subepidermis signifikant mehr Zellen zu finden als in der tiefen Dermis.

2.2.2.2 In-vitro-Untersuchungen: Aktivität isolierter Leukozyten von Pferden mit SE

MARTI et al. (1999) untersuchten die In-vitro-Sulfidoleukotrienproduktion equiner Leukozyten des peripheren Blutes. In ihrer Studie inkubierten sie isolierte Leukozyten mit dem Zytokin Concanavalin A sowie verschiedenen Extrakten aus Insekten und einer Mischung aus Gräserpollen. Sie konnten zeigen, dass die Leukozyten an SE erkrankter Pferde nach Inkubation mit dem *Culicoides*-Extrakt ($p < 0,01$) sowie dem *Simulium*-Extrakt ($p < 0,05$) signifikant mehr Sulfidoleukotriene (sLT) als die Leukozyten gesunder Pferde produzierten. Die erhöhte sLT-Produktion blieb auch in der Zeit bestehen, in der die Pferde asymptomatisch waren. Es bestand ebenfalls eine positive Korrelation zwischen sLT-Produktion und Histaminfreisetzung bei den betroffenen Pferden. Die Ergebnisse zeigten, dass in die Pathogenese des SE eine Überempfindlichkeitsreaktion vom Soforttyp involviert ist. Darüber hinaus bietet die Untersuchung der sLT-Produktion aus basophilen Granulozyten die Möglichkeit eines In-vitro-Tests zur Diagnosefindung selbst bei symptomfreien aber sensibilisierten Pferden.

2.2.2.3 Identifizierung und Klassifizierung von Serumantikörpern bei Pferden mit SE

Der Nachweis von equinen IgG- und IgE-Serumantikörpern mit einer Spezifität gegen *Culicoides*-Speicheldrüsen gelang WILSON et al. (2001). Sie entdeckten die Antikörper im Serum sowohl von an Sommerkeczem erkrankten als auch gesunden Pferden, die *Culicoides*-Bissen ausgesetzt waren. Im Gegensatz dazu waren keine Antikörper im Serum von in Island geborenen Islandpferden zu finden, die noch nie Kontakt zu *Culicoides* hatten. IgG-Antikörper gegen die *Culicoides*-Speicheldrüsen waren im Serum von allergischen und gesunden Pferden mit *Culicoides*-Kontakt gleichermaßen vorhanden. IgE-Antikörper wurden dagegen nur im Serum von Pferden mit klinischen Symptomen des SE gefunden, aber nicht bei gesunden Pferden und bei symptomfreien Pferden mit der Anamnese SE. Beim Antikörpernachweis im Western Blot zeigte sich, dass verschiedene Pferde auf eine unterschiedliche Anzahl von Antigenen reagierten.

Der Nachweis von *Culicoides*-Antigenen mit Hilfe des Serums allergischer Pferde ließ die Autoren hoffen, dass hierdurch die Mücken-Allergene in Zukunft weiter isoliert und charakterisiert werden können.

Mit der Entwicklung von monoklonalen anti-equinen IgE-Antikörpern gelang es WAGNER et al. (2003), im ELISA die Konzentrationen des Gesamt-IgEs im Serum zu bestimmen. Sie ermittelten dabei keine signifikanten Unterschiede zwischen erwachsenen Islandpferden mit SE und gesunden Kontrolltieren. Im Serum von Isländerfohlen waren bis zum Alter von 6

Monaten keine IgE-Antikörper nachweisbar. Zu einem anderen Ergebnis kamen WILSON et al. (2006), die mit ihren equin-IgE-spezifischen monoklonalen Antikörpern einen speziell entwickelten ELISA zur Bestimmung von equinem IgE im Serum nutzten. Hierbei zeigten Islandpferde mit Sommereczem einen signifikant höheren Gesamt-IgE-Spiegel als gesunde Kontrolltiere. Im Gegensatz dazu war bei Pferden anderer Rassen kein signifikanter Unterschied im IgE-Spiegel zwischen an SE erkrankten und gesunden Pferden festzustellen. Die IgE-Serumspiegel einer Gruppe nach Deutschland importierter Islandpferde lagen zunächst hoch, um im ersten Jahr nach dem Import abzufallen. Hiernach blieb der IgE-Spiegel im Falle eines nicht erkrankenden Tieres niedrig, während er bei später an SE erkrankten Pferden signifikant anstieg [WILSON et al. 2006]. Diese Ergebnisse bestätigten die bisherige Auffassung, dass es sich bei dem Sommereczem der Pferde um eine Typ-1-Überempfindlichkeitsreaktion gegenüber bestimmten Insektenallergenen handelt. Es konnte jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass es eine unterschiedliche Pathogenese des SE bei Islandpferden im Vergleich zu Pferden anderer Rassen geben könnte.

2.2.2.4 Untersuchungen zu potenziellen, SE auslösenden Allergenen

HELLBERG et al. (2006) untersuchten den Speicheldrüsenextrakt von *Culicoides nubeculosus* auf Anzahl und Molekulargewicht der Proteine, die in der Lage sind, IgE-Antikörper aus dem Serum von Pferden mit SE zu binden. Darüber hinaus charakterisierten sie mit Hilfe von Immunoblots die IgG-Unterklassen in ihrem Reaktionsverhalten diesen Proteinen gegenüber. Die Autoren fanden 5 Proteine mit einem Molekulargewicht zwischen 12 und 75 kDa, die in der Lage waren, IgE von 50% oder mehr der Pferdeseren zu binden. Darüber hinaus waren 5 weitere Proteine, deren Molekulargewicht in dem gleichen Bereich lag, mit geringerem IgE-Bindungsvermögen zu finden. Die Seren von an SE erkrankten Pferden zeigten höchst signifikant mehr IgE- sowie signifikant mehr IgGa-Antikörperbindung an den Speicheldrüsenextrakt als die von gesunden Pferden. Ferner enthielt das Serum erkrankter Pferde IgE-, IgGa- und IgGT-, jedoch keine IgGb-Antikörper gegen eine signifikant höhere Anzahl von Proteinbanden des Speicheldrüsenextraktes als das Serum gesunder Pferde. Im Vergleich wiesen die in Island geborenen Pferde IgE-, IgGa- und IgGT-, jedoch nicht IgGb-Antikörper im Serum gegen signifikant mehr Speicheldrüsenextraktproteine auf als in Europa geborene Pferde. Die Ergebnisse dieser Studie belegen, dass mindestens 10 potenzielle Allergene im *Culicoides*-Speicheldrüsenextrakt enthalten sind, und dass die an SE erkrankten Pferde bei der Untersuchung im Immunoblot eine große Variabilität in ihrem IgE-Bindungsmuster aufzeigen.

Die Reaktivität equiner Serum-Immunglobuline mit den Komponenten eines Ganzkörperextraktes aus *Culicoides nubeculosus* untersuchte LANGNER 2005. Sie setzte affinitätsgereinigtes IgE, IgG1 und IgG4 aus dem Serum von Pferden mit und ohne SE zur Immunpräzipitation von *Culicoides*-Komponenten ein. Die Isotypen detektierten überwiegend Proteine mit relativen Molmassen (M_r) von 15–55 kDa. Hierbei variierte das Bandenmuster in Abhängigkeit von dem eingesetzten Isotyp wie auch dem Allergiestatus des Pferdes. Durch weitere Fraktionierung des Ganzkörperextraktes im flüssigkeitschromatographischen Verfahren gelang es LANGNER, zwei Kandidatenallergene zu isolieren, die sie als Citratsynthase (M_r 46,5 kDa) und Cytochrom C (M_r 14,6 kDa) identifizierte. Während die Citratsynthase in dem von LANGNER eingesetzten funktionellen in-vitro-Test (s. Kap. 2.5.2.2) keine Reaktionsbereitschaft der basophilen Granulozyten induzierte, konnte für das Cytochrom C bei einer Mehrzahl der allergischen Probanden eine Histaminfreisetzung aus den Zellen nachgewiesen werden. Die basophilen Granulozyten der gesunden Pferde reagierten nicht auf das Cytochrom C. Hingegen detektierten die Antikörper-Isotypen IgE, IgG1, IgG4 und IgG5 von Pferden mit und ohne SE beide isolierten Proteine im Immunoblot. Die Ergebnisse LANGNERS zeigen, dass Cytochrom C als ein potenzielles Allergen aus den Gnitzen angesehen werden kann, jedoch noch mindestens ein weiteres Allergen beteiligt sein muss. Des Weiteren machen sie deutlich, dass beim Pferd die Bindung von Proteinen durch Serum-Immunglobuline alleine keinen zuverlässigen Nachweis für eine allergene Potenz darstellt.

WILSON et al. (2008) untersuchten mit Hilfe von 2D-Elektrophorese und Massenspektrometrie einige der am reichlichsten im Speichel von *C. nubeculosus* vertretenen Proteine. Die am häufigsten nachgewiesenen IgE-bindenden Proteine besaßen ein relative Molmasse von 40-50 kDa. Es gelang WILSON et al., ein der Hyaluronidase ähnliches Enzym sowie die Maltase, ein zur Abspaltung von Glukose benötigtes Enzym, sicher zu identifizieren.

Auch LANGNER et al. (2009) untersuchten den Speichel einer *Culicoides*-Spezies auf mögliche Kandidatenallergene. Sie wählten hierfür die in Nordamerika heimische Gnitze *C. sonorensis*. Im Immunoblot entdeckten LANGNER et al. ein Protein mit einer relativen Molmasse von 66 kDa, welches von IgE mehrerer Pferde mit Sommereczem gebunden wurde. Mit Hilfe von Fragmentierung und Massenspektrometrie gelang es ihnen, das Protein als Maltase (Cul s 1) zu identifizieren. Nach Entwicklung einer rekombinanten Cul s 1 (rCul s 1) wurde diese auf die klinische Relevanz mittels Immunoblot, Histamine Release Test (HRT) und Intrakutantest an acht Pferden mit Sommereczem sowie acht gesunden Kontrolltieren untersucht. Sieben der acht Pferde mit SE wiesen im Immunoblot rCul s 1-spezifische IgE

auf, während nur eines der Kontrolltiere IgE gegen dieses Allergen zeigte. Im HRT löste die Stimulation der equinen Basophilen Granulozyten mit rCul s 1 bei sieben der acht Tiere mit SE eine Degranulation der Basophilen aus, während keines der Kontrollpferde eine positive Reaktion zeigte. Im Intrakutantest zeigten sieben der acht Pferde mit SE, die eine positive Reaktion auf eine intradermale Injektion eines Ganzkörperextraktes von *C. sonorensis* aufgewiesen hatten, eine Sofortreaktion auf die Injektion von rCul s 1. Alle Pferde dieser Gruppe zeigten eine späte (4 h) und eines der Tiere eine verzögerte Hautreaktion (24 h) im Intrakutantest unter Einsatz von rCul s 1. Hingegen wies keines der Kontrollpferde eine Sofort- oder verzögerte Reaktion nach intradermaler Injektion von rCul s 1 auf, während mehrere unspezifische späte Hautreaktionen nach der Injektion des Ganzkörperextraktes bei den gesunden Pferden zu beobachten war. LANGNER et al. folgerten aus den Ergebnissen, dass rCul s 1 das erste identifizierte spezifische Allergen aus dem Speichel von *C. sonorensis* ist und dieses an der Verbesserung sowohl der In-vitro- als auch der In-vivo-Diagnostik mitwirken könnte. Darüber hinaus könnte rCul s 1 einen wesentlichen Beitrag zur Entwicklung der Immunotherapie für SE beim Pferd leisten.

2.3 Überblick über die verschiedenen Allergietypen

Der Begriff Allergie umfasst mehrere verschiedene immunologische Krankheiten infolge überschießender Immunreaktionen, die in der Humanmedizin als erstes von COOMBS und GELL (1968) nach ihren pathophysiologischen Merkmalen in vier Typen eingeteilt wurden. Inzwischen wurde diese Klassifizierung auch in der Veterinärmedizin übernommen.

Tab. 2.5: Übersicht über die verschiedenen Allergietypen (Einteilung nach COOMBS und GELL 1968)

Typ	Andere Bezeichnungen	Pathomechanismen
Typ I	Soforttyp	IgE-vermittelt Freisetzung von Entzündungsmediatoren nach vorausgegangenem sensibilisierenden Erstkontakt durch Zweitkontakt mit betreffendem Allergen
Typ II	antikörpervermittelter Typ	Zytotoxischer Typ Nach Bildung von IgG- oder IgM-Antikörpern Zelllyse durch Aktivierung der Komplementkaskade oder Überstimulierung der Zelle
Typ III	Immunkomplextyp	Bildung von Antikörpern gegen lösliche Allergene Durch Bildung von Immunkomplexen Auslösen einer lokalen oder systemischen Entzündungsreaktion
Typ IV	Spät- oder verzögerter Typ	Zellvermittelt Aktivierung von u.a. T _h 1-, T _h 2-Lymphozyten, Makrophagen und eosinophilen Granulozyten

Im Nachfolgenden sollen nur die für das SE relevanten Allergietypen näher beschrieben werden.

Typ I, Soforttyp:

Die Typ-I-Allergie, auch „klassische“ Allergie genannt, stellt eine IgE-vermittelte Reaktion dar, die bereits Sekunden (bis hin zu 40 Minuten) nach Allergenkontakt eintritt. Notwendig für diese Sofortreaktion ist ein vorausgegangener sensibilisierender Erstkontakt mit dem Allergen, bei dem es zur Bildung von IgE-Antikörpern kommt, die an die Zelloberfläche von v.a. Mastzellen und basophilen Granulozyten gebunden werden (Abb. 2.5). Der Zweitkontakt mit dem betreffenden Allergen führt zur Quervernetzung der v.a. an den hochaffinen Fcε-Rezeptoren (FcεRI) gebundenen IgE-Antikörper. Die hierdurch ausgelöste sogenannte Degranulation der Mastzellen und basophilen Granulozyten führt zur Ausschleusung präformierter, in Vesikeln gespeicherter Mediatoren wie Histamin, Proteoglykanen und neutraler Proteasen (Abb. 2.5, Abb. 2.6). Diese Zellmediatoren wirken als Effektormoleküle und lösen eine Kaskade von Entzündungsreaktionen aus, die das klinische Bild der Allergie bestimmen. Die freigesetzten Mediatoren bewirken u.a. die Rekrutierung von basophilen und eosinophilen Granulozyten an den Ort der Degranulation. Über die Aktivierung der Phospholipase A₂ kommt es darüber hinaus zu einer Neusynthese von Mediatoren wie z.B. Prostaglandinen, Thromboxanen und Leukotrienen, welche die Entzündungsreaktion aufrechterhalten (Abb. 2.6). Zusätzlich wird eine Spätreaktion durch eingewanderte inflammatorische Leukozyten hervorgerufen, welche durch die in der Sofortreaktion von Mastzellen freigesetzten Chemokine angelockt werden. Typische beim Menschen nachgewiesene Krankheitsbilder der Typ-I-Allergie sind z.B. allergische Konjunktivitis oder allergische Rhinitis.

Krankheiten des Pferdes, die bis jetzt als Allergien vom Typ I angesehen werden, sind die chronisch obstruktive Bronchitis (COB), das Sommerekzem sowie der anaphylaktische Schock. Auch für die Urticaria konnte gezeigt werden, dass IgE-vermittelte Reaktionen eine Rolle spielen [RUFENACHT et al. 2005].

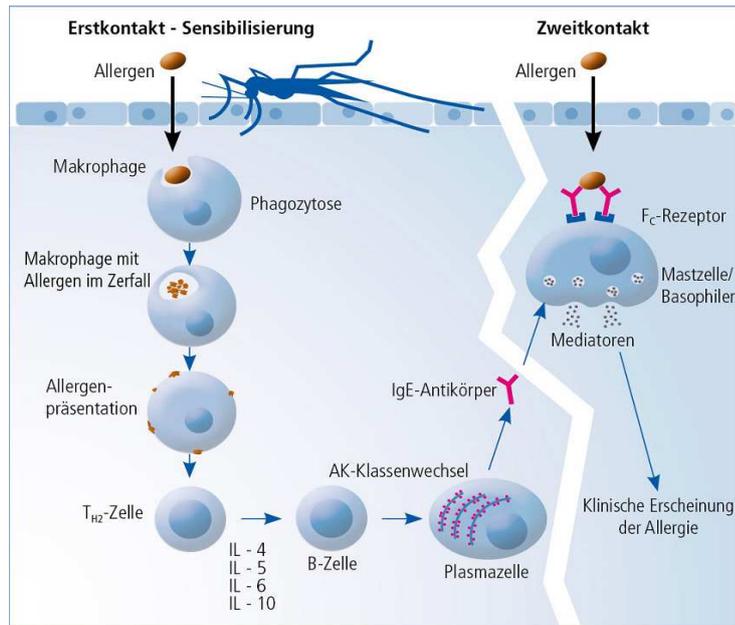


Abb. 2.5: Mechanismen der allergischen Reaktion vom Soforttyp (Typ-I-Allergie)

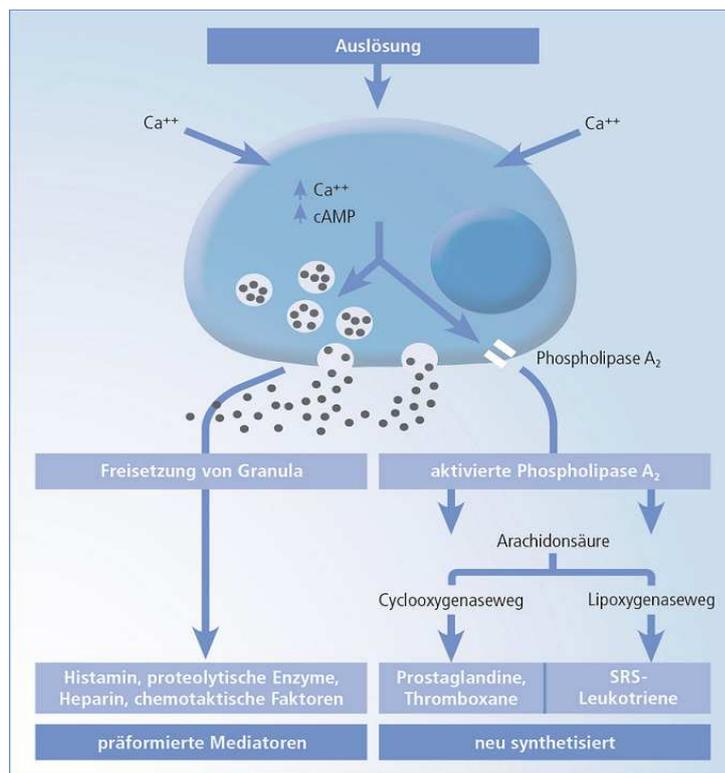


Abb. 2.6: Bei der Typ-I-Allergie freigesetzte präformierte und neu synthetisierte Mediatoren

Typ IV, Spät- oder verzögerter Typ:

Im Gegensatz zu den Allergien vom Typ I–III wird die Hypersensibilitätsreaktion vom Typ IV nicht durch Antikörper vermittelt, sondern ist eine reine zellvermittelte Reaktion. Hierbei spielt die Aktivierung allergenspezifischer T-Lymphozyten (T_{h1}, T_{h2}), Makrophagen sowie eosinophiler Granulozyten eine Rolle. Ein typisches Beispiel hierfür ist die Kontaktdermatitis

oder auch die Tuberkulinreaktion. Hierbei werden antigenspezifische T-Gedächtniszellen gegen die Mykobakterien gebildet, die als Folge eines erneuten Kontaktes mit dem Antigen eine infiltrative Entzündung auslösen. Bei einem zweiten Subtyp der Allergie vom Spättyp kommt es durch Aktivierung zytotoxischer Lymphozyten zu einer Reaktion mit zellgebundenen Antigenen mit nachfolgender Lyse der Zelle.

2.4 Mechanismen der Typ-I-Allergie am Beispiel Sommerekzem

Die Mechanismen der Typ-I-Allergie, die für den Menschen sehr gut erforscht sind, werden bisher – obwohl erst teilweise belegt – für das Pferd übernommen.

Bei der Typ-I-Allergie kommt es bei Erstkontakt mit einem Allergen zu einer symptomlos verlaufenden Phase der Sensibilisierung des Immunsystems. Dabei werden allergenspezifische IgE-Antikörper gegen normalerweise harmlose Antigene gebildet, die erst beim Zweitkontakt mit dem betreffenden Allergen eine allergische Reaktion provozieren.

2.4.1 Antigenpräsentation, Hauptinteraktionen von T-Lymphozyten und ihren Leitzytokinen

Die in den Körper gelangten potenziellen Allergene werden von sogenannten antigenpräsentierenden Zellen (APC) wie Monozyten, Makrophagen und dendritischen Zellen wie z.B. Langerhans'schen Zellen der Haut phagozytiert und von diesen so aktivierten Zellen aufbereitet, indem sie in deren Lysosomen in Peptide aufgespalten werden. In Hautbiopsien von an SE erkrankten Pferden wiesen KUROTAKI et al. (2002) in den erkrankten Bereichen eine deutlich erhöhte Anzahl Langerhans'scher Zellen mit hoher dendritischer Aktivität nach, während in gesunden Bereichen inaktive Zellen ohne aufgenommenes Antigen überwogen.

Mit Hilfe von spezifischen Rezeptoren, den vom Haupthistokompatibilitätskomplex (MHC, Major Histocompatibility Complex) kodierten Klasse-II-Proteinen, werden diese aufbereiteten Peptide dann von den antigenpräsentierenden Zellen auf ihrer Oberfläche den naiven T-Helferzellen präsentiert. Bei der Erkennung der membrangebundenen Antigene wirkt der Corezeptor CD4 zusammen mit dem auf der Oberfläche der T-Helferzellen lokalisierten T-Zell-Rezeptor. So ist bei Pferden mit Sommerekzem die Zahl der zirkulierenden sowie in der Haut lokalisierten CD4⁺-T-Lymphozyten signifikant erhöht [MCKELVIE et al. 1999]. Über eine Reihe von Kostimulationen sowie durch Zytokine wie v.a. Interleukin-2 (IL-2) und Interleukin-4 (IL-4) differenzieren die naiven CD4⁺-T-Lymphozyten zu T_h2-Zellen, die die Immunantwort in eine humoral betonte Richtung lenken. Vor allem durch die Ausschüttung der Zytokine IL-4 von T_h0- und T_h2-Zellen und IL-10 von T_h2-Zellen sowie Makrophagen

wird die Entwicklung von T_H0 -Zellen zu T_H1 -Zellen gehemmt und somit die T_H1 -Immunantwort unterdrückt, wodurch die Initiierung der T_H2 -Antwort verstärkt und die einmal eingeschlagene Richtung der Immunantwort beibehalten wird (Abb. 2.7). Durch die Hemmung des von T_H1 -Zellen sezernierten Zytokins Interferon- γ ($IFN\gamma$) durch IL-4 wird ein negativer Rückkopplungseffekt und somit eine Hemmung der T_H2 -Zellen verhindert, wodurch eine weitere Differenzierung von T_H0 -Zellen zu T_H2 -Zellen verstärkt wird [JANEWAY und TRAVERS 1996, GOULD et al. 2003].

IL-4 sorgt auch für die Aktivierung von B-Zellen, die hierauf proliferieren und zur Bildung spezifischer Antikörper angeregt werden. Unter dem Einfluss u.a. der von den T_H2 -Zellen freigesetzten Zytokine vollziehen die B-Lymphozyten einen Antikörperklassenwechsel von IgM oder IgG₁ zu IgE oder IgG_{2b}, vermehren sich und durchlaufen eine Differenzierung zu Plasmazellen.

Weitere Interaktionen von T_H2 -Zellen und ihren Zytokinen sind die Stimulierung der Mastzellen durch IL-3, IL-4 und IL-10 sowie die Aktivierung der Eosinophilen-Vorstufen durch IL-5, die zur Vermehrung der eosinophilen Granulozyten führt (Abb. 2.7).

Eine Regulation dieses durch Ausschüttung von entsprechenden Zytokinen der jeweiligen T_H -Zellen sich selbst aktivierenden Kreislaufes erfolgt durch regulatorische T-Zellen. Die Herkunft des für die Initiierung der Immunreaktion in Richtung T_H2 entscheidenden Signals IL-4 ist noch nicht bekannt. Nach DASER et al. (1998) sind die antigenpräsentierenden Zellen selbst, regulatorische T-Zellen oder auch Makrophagen mögliche Kandidaten hierfür.

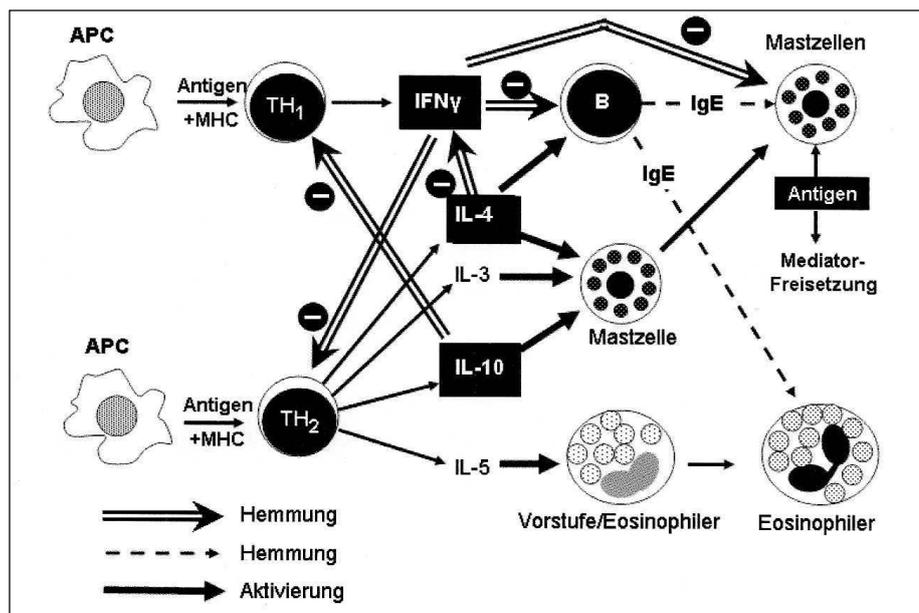


Abb. 2.7: Schematische Darstellung der Hauptinteraktionen von T_H1 - und T_H2 -Zellen mit ihren Leitzytokinen bei allergischen Reaktionen (in Anlehnung an MOSMANN 1991).

2.4.2 Auslösen der allergischen Reaktion vom Soforttyp

Die zu Plasmazellen differenzierten B-Zellen sind nun in der Lage, große Mengen spezifischer IgE-Antikörper zu bilden. Die sezernierten IgE-Antikörper werden an zellgebundene Rezeptoren auf der Oberfläche von den Effektorzellen der allergischen Immunantwort wie Mastzellen, B-Zellen sowie eosinophilen und basophilen Granulozyten gebunden (Abb. 2.5). Sie haben dabei eine hohe Affinität zu ihren Rezeptoren FcεRI (high affinity IgE-receptor) und FcεRII (low affinity IgE-receptor). Dadurch liegt die Mehrzahl der gebildeten Antikörper in an hochaffine Rezeptoren auf der Oberfläche von Mastzellen und basophilen Granulozyten gebundener Form vor. Nur sehr wenige IgE-Antikörper finden sich frei im Serum. Bei Pferden mit SE gibt es eine signifikant erhöhte Anzahl von IgE-Protein-tragenden Zellen in der Dermis und Epidermis. Ebenso ist die Zahl der IgE-mRNA-positiven Zellen in der Dermis wie auch die der Mastzellen in der Dermis und v.a. Epidermis signifikant erhöht [VAN DER HAEGEN 2001, RUFENACHT 2005].

Bei einem erneuten Kontakt des Organismus mit dem Allergen kommt es zur Kreuzvernetzung mehrerer an der Oberfläche von Mastzellen oder basophilen Granulozyten gebundener IgE-Antikörper (Abb. 2.5). Dies führt zur Aktivierung der sensibilisierten Effektorzellen, infolge derer es zur Freisetzung zahlreicher Entzündungsmediatoren und zur Einleitung der allergischen Reaktion kommt. Bei den freigesetzten Mediatoren handelt es sich zum einen um präformierte, in membranumschlossenen Vesikeln gespeicherte Mediatoren wie im Falle der basophilen Granulozyten Histamin, Heparin und Peroxydase, bei den Mastzellen um Proteoglykane (Heparin, Chondroitinsulfat), neutrale Proteasen wie Tryptase und/oder Chymase, biogene Amine wie Histamin, saure Hydrolasen sowie zahlreiche Zytokine (IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-13, Neutrophilen chemotaktischer Faktor [NCF], Tumor-Nekrose-Faktor- α [TNF- α], GM-CSF, MIP-1, Transforming growth factor- β [TGF- β], Interferon- γ [IFN- γ], sowie die Chemokine Eotaxin und RANTES [JANEWAY und TRAVERS 1996]).

Die Freisetzung dieser präformierten Mediatoren findet innerhalb kurzer Zeit nach der durch Kreuzvernetzung der rezeptorgebundenen IgE-Antikörper erfolgten Aktivierung der Mastzellen und basophilen Granulozyten zum Teil durch Verschmelzen der Vesikelmembran mit der Zellmembran (Exozytose), zum Teil durch Ausschleusen intakter Vesikel, statt (Abb. 2.5, Abb. 2.6). Die freigesetzten hochaktiven Substanzen lösen sofort eine lokale Entzündungsreaktion aus. Es kommt u.a. über die Histaminwirkung zur Ausbildung einer Vasodilatation der versorgenden Arteriolen, verbunden mit Hautrötungen, Kontraktion der glatten Muskulatur in den Bronchien, zu einer Erhöhung der Gefäßpermeabilität kleiner

Blutgefäße mit Entstehen eines Ödems sowie in Zusammenwirkung mit anderen chemotaktischen Faktoren zu vermehrter Leukozytenadhäsion, -aktivierung und -chemotaxis [NICOLAI et al. 1999]. Die freigesetzten vasoaktiven Substanzen bewirken neben Rötung und Schwellung der Haut zusätzlich Juckreiz über die Stimulation kutaner Nervenendigungen.

In den Hautveränderungen von an SE erkrankten Pferden findet man eine Erweiterung der Blutgefäße mit Ausprägung von deutlichen Schwellungen und Hautrötungen sowie erhöhte Gefäßpermeabilität und subepidermales Ödem, ebenso eine Akkumulation von neutrophilen wie auch im akuten Krankheitsstadium eosinophiler Granulozyten, verbunden mit einem stark ausgeprägten Juckreiz [BAKER und QUINN 1978, BRAVERMANN et al. 1983, ANDERSON et al. 1991, FOSTER et al. 1995]. Die genannten Veränderungen ließen sich ebenfalls durch intradermale Injektion eines *Culicoides spp.*-Extraktes auslösen. In vitro induziert die Inkubation von isolierten Leukozyten des peripheren Blutes mit dem Allergenextrakt aus *Culicoides spp.* die Freisetzung von Histamin aus basophilen Granulozyten von Pferden mit SE [MARTI et al. 1999].

Neben der Freisetzung der genannten präformierten Mediatoren kommt es durch die Aktivierung der Mastzellen und basophilen Granulozyten auch zur Neusynthese von Entzündungsmediatoren und deren anschließenden Freisetzung. Hierzu gehören die Leukotriene (LT), Prostaglandine (PG) und Plättchen-aktivierender Faktor (PAF). Die Neubildung dieser Mediatoren wird über eine Aktivierung der Phospholipase-A₂ induziert und läuft über den Cyclooxygenase- bzw. Lipoxygenaseweg ab (Abb. 2.6). Isolierte Leukozyten von Pferden, die allergische Reaktionen auf Bisse der *Culicoides spp.* zeigen, produzieren in vitro nach Inkubation mit einem *Culicoides*-Extrakt signifikant mehr Sulfidoleukotriene als die Leukozyten gesunder Pferde [MARTI et al. 1999], wodurch die Neusynthetisierung von Entzündungsmediatoren als Reaktion auf die Mastzellaktivierung deutlich gemacht wird und das SE als IgE-vermittelte Reaktion vom Soforttyp (Typ-I-Allergie) auf *Culicoides*-Allergene charakterisiert wird. Über die Freisetzung der neu gebildeten aktiven Substanzen kommt es zu einer Aufrechterhaltung der eingeleiteten Entzündungsreaktion. Leukotriene bewirken zusätzlich zu den präformierten Mediatoren eine Ausprägung weiterer erhöhter Gefäßpermeabilität und Kontraktion der glatten Muskulatur in den Gefäßen und Bronchien. Es kommt zu einer Interaktion mit in das betroffene Gewebe eingewanderten eosinophilen Granulozyten, die ihrerseits durch Freisetzung zytotoxischer Proteine eine fortgesetzte Produktion von Entzündungsmediatoren wie LT und PG induzieren. Auf diesem Wege aktivieren sich Eosinophile und LT zusammen mit PG, IL-3, IL-5, GM-CSF, die weitere eosinophile Granulozyten in das betroffene Gewebe rekrutieren, gegenseitig, wodurch zusammen mit anderen Interaktionen zwischen den freigesetzten Mediatoren die

eingeleitete Entzündungsreaktion aufrechterhalten wird und das klinische Bild der allergischen Reaktion entsteht.

2.5 Mechanismus der Typ-IV-Hypersensitivität am Beispiel des Sommerekzems

Im Unterschied zur Typ-I-Allergie erfolgt die Sensibilisierung des Immunsystems bei der Typ-IV-Hypersensitivität nicht über die Bildung von IgE-Antikörpern sondern rein zellvermittelt über die Aktivierung Allergen-spezifischer T-Lymphozyten. Auch bei der Typ-IV-Allergie geht eine zur Sensibilisierung führende Primärreaktion mit einem entsprechendem Antigen der zur allergischen Reaktion führenden Effektor- oder Auslösephase bei erneuter Allergenexposition vorweg. Diese tritt in der Regel zwischen 24 und 72 Stunden nach dem Kontakt ein (verzögerte Reaktion) und ist bedingt durch die Gedächtniszellen des Immunsystems. Dabei werden zunächst die in die Epidermis penetrierte und immunogenisierte Allergene von Antigen-präsentierenden Zellen (APC), insbesondere epidermalen Langerhans'sche Zellen (LZ) aufgenommen, zu kleineren Peptiden abgebaut und daraufhin von MHC Klasse-II-Proteinen auf ihrer Oberfläche exprimiert. Bei Untersuchungen von Hautbiopsien an SE erkrankter Pferde bestätigten KUROTAKI et al. (1994) eine erhöhte Anzahl nicht nur von T-Lymphozyten in den betroffenen Bereichen, sondern auch Langerhans'scher Zellen, die zahlreiche Sekretvesikel (Birbeck-Granula) enthielten. Bei weiteren histopathologischen und elektronenmikroskopischen Untersuchungen der LZ im Epithel der Haarfollikel sowie dem intradermalen Schweißdrüsenausführungsgang bei Pferden mit SE fanden KUROTAKI et al. (2002) charakteristische Merkmale für Phasen der Aufnahme, Erkennung und Präsentation der Antigene durch die Langerhans'schen Zellen. Nach Wanderung der antigenbeladenen LZ in die regionären Lymphknoten kommt es dort nach Aktivierung zu einem Reifungsprozess mit nachfolgender Entwicklung zu dendritischen Zellen, die in der Lage sind, ruhende T-Zellen zu stimulieren [SCHULER 1990]. Es kommt so in den Lymphknoten zu einer selektiven Aktivierung antigen-spezifischer naiver T-Zellen. Über die efferenten Lymphgefäße gelangt schließlich eine große Anzahl voraktivierter antigenspezifischer T-Blasten zurück in die Blutzirkulation, die bei einer erneuten epikutanen Applikation des Allergens zum Austritt in die Haut befähigt sind [PICKER et al. 1993]. Dabei erkennen die T-Zellen ihr Allergen, welches ihnen von LZ, dermalen dendritischen Zellen und Makrophagen der Dermis präsentiert wird, über antigenspezifische Rezeptoren und werden aktiviert. Intrathymisch ausgereifte CD4⁺- und CD8⁺-Zellen, die als naive T-Zellen den Thymus verlassen haben und in die sekundären lymphatischen Organe eingewandert sind, erwerben hier durch antigenspezifische Aktivierung ihre Effektorfunktion wie Sekretion von

Zytokinen oder zytotoxische Aktivität. Ein kleiner Teil ($\leq 5\%$ der Effektorzellen) entwickelt sich zu langlebigen T-Gedächtniszellen. Diese $CD4^+$ - T_H1 -Zellen erkennen ebenfalls Fremdantigen, das ihnen in geeigneter Form auf der Oberfläche von professionellen APCs präsentiert wird. Über die T-Zell-Rezeptor-vermittelte Aktivierung kommt es zur proliferativen Expansion der Zellen und schließlich zur Ausschüttung verschiedener Zytokine, u.a. IL-2, IFN- γ , TNF und Lymphotoxin, welche durch die Anregung der Differenzierung von zytotoxischen $CD8^+$ -T-Zellen und natürlichen Killerzellen sowie die Aktivierung von Makrophagen an der Reaktion vom verzögerten Typ wesentlich beteiligt sind. Durch die T-Gedächtniszellen, die über längere Zeit im Körper überleben können und bei erneuter Antigenpräsentation sofort aktiviert werden, ist eine erheblich schnellere Einleitung der Abwehrmechanismen möglich [MÜLLER et al. 2008]. Bei den Effektorzellen des Kontaktekzems, Beispiel einer typischen Typ-IV-Allergie, handelt es sich sowohl um $CD8^+$ -zytotoxische, als auch um $CD4^+$ -T-Helferzellen [GIROLOMONI et al. 2001]. Auch gegenregulatorische $CD4^+$ -T-Lymphozyten werden beschrieben, die durch Sekretion von T_H2 -typischen Zytokinen wie IL-4 und IL-10 eine Verschiebung in der T-Zell-Population zugunsten T_H2 bewirken und somit die Kontaktallergie negativ beeinflussen [MARTIN und SIMON 2001]. Bei ihren Untersuchungen von Lymphozytensubpopulationen im Blutkreislauf wie auch in der Haut von an SE erkrankten Pferden fanden MCKELVIE et al. (1999) bei den betroffenen Pferden eine signifikant erhöhte Anzahl von zirkulierenden $CD5^+$ - und $CD4^+$ -T-Lymphozyten im Vergleich zu gesunden Tieren. Die vorliegenden Zytokinmuster wurden hierbei nicht untersucht. In der Haut erkrankter Pferde fanden sich erhöhte Zahlen von $CD3^+$ -T-Lymphozyten, davon die meisten $CD4^+$ -, sowie Eosinophile Granulozyten. Die Autoren vermuteten, dass auch beim Pferd die T-Lymphozyten eine entscheidende Rolle in der Pathogenese allergischer Hauterkrankungen spielen und über die Freisetzung von Zytokinen, die Akkumulation und Aktivierung der Eosinophilen bewirken, zu der Entwicklung der Hautläsionen beim SE des Pferdes beitragen.

2.6 Ausgewählte Entzündungsparameter beim Pferd

Die hämatologischen Reaktionen bei entzündlichen Prozessen beim Pferd lassen sich wie beim Menschen in zelluläre Reaktionen (Blutsenkungsreaktion, Leukozytenveränderungen) und Reaktionen der Eiweißfraktionen (Albumine, Globuline, Akute-Phase-Proteine [APP]) unterteilen.

Hier sollen die beiden Akute-Phase-Proteine C-reaktives Protein (CRP) und Haptoglobin (Hp) genauer dargestellt werden, da sie im Rahmen dieser Studie bestimmt wurden, um einen

Einblick in den Verlauf von einzelnen hämatologischen Reaktionen bei entzündlichen Prozessen beim Pferd, speziell dem SE, zu bekommen.

2.6.1 C-reaktives Protein (CRP)

Das CRP ist beim Pferd in seinen spezifischen Funktionen bislang kaum untersucht. Seine Synthese erfolgt unter Einfluss von Interleukin-1, TNF- α sowie v.a. IL-6 in der Leber. Im Gegensatz zu Hund, Schwein und Kaninchen stellt das CRP beim Pferd kein sogenanntes Major-Akute-Phase-Protein dar. Major-APPs besitzen einen physiologisch niedrigen Blutspiegel. Sie steigen im Falle einer Entzündung sehr schnell um bis zu dem 100fachen ihres Ausgangswertes an [KENT 1992] und besitzen eine kurze Halbwertszeit. Die Halbwertszeit im Blut beträgt beim equinen CRP 6–8 Stunden [JAIN 1993]. In der Literatur werden die Normwerte für die CRP-Konzentration bei 1 Jahr alten Vollblutpferden mit $7,4 \pm 2,0 \mu\text{g/ml}$ [TAKIGUCHI et al. 1990] angegeben. YAMASHITA et al. (1991) stellten fest, dass bei neugeborenen Vollblutfohlen vor der ersten Aufnahme von Kolostrum kein CRP im Serum nachzuweisen war. Ab einem Alter von 3 Tagen steigt der CRP-Gehalt schnell an, um mit ca. 12 Monaten einen durchschnittlichen Wert von $14 \mu\text{g/ml}$ zu erreichen. Nach einem langsamen Abfall auf $5,4 \mu\text{g/ml}$ im Alter von 4 Jahren liegt der mittlere CRP-Spiegel im Serum bei Pferden > 5 Jahren bei $7\text{--}8 \mu\text{g/ml}$. Nach einer experimentell induzierten sterilen Entzündung steigt das CRP 24 Stunden später an, um nach ca. fünf Tagen seine maximale Konzentration zu erreichen, die hierbei den Normwert um das drei- bis sechsfache übersteigt [YAMASHITA et al. 1991]. Beim Menschen wird in der letzten Zeit verstärkt die Rolle des CRP bei kardiovaskulären Erkrankungen diskutiert. Entsprechende Untersuchungen für das Pferd liegen nicht vor. SCHRÖDL beschrieb 1999 den Wert des CRP für die Erkennung bestehender entzündlicher Prozesse bei den Spezies Hund, Rind und Schwein, wobei mittels der CRP-Konzentration nicht nur eine Aussage über den Schweregrad der Erkrankung, sondern ebenfalls über die Wirkung therapeutischer Maßnahmen getroffen werden konnte. Darüber hinaus spielt das CRP eine Rolle bei immunologischen Prozessen und wirkt im Tierversuch regulierend auf die bei Autoimmunerkrankungen ablaufenden Prozesse [SZALAI et al. 2002, SZALAI 2004]. Die ermittelten regulierenden Effekte waren hierbei u.a. eine Hemmung entzündlicher Zytokine und Chemokine sowie eine Steigerung der Produktion des anti-inflammatorisch hochwirksamen Interleukin-10.

2.6.2 Haptoglobin (Hp)

Das Haptoglobin ist ein weiteres Akute-Phase-Protein, welches unter Einfluss von u.a. IL-6 und IL-1 überwiegend in der Leber synthetisiert wird. Der equine Hp-Spiegel im Blut steigt

nach einer Reaktionszeit von ca. 6–24 Stunden nach Entzündungsreaktion um den 1-bis 5-fachen Wert an, erreicht den Peak nach 2–12 Tagen, um nach 14-50 Tagen den Ausgangswert zu erreichen [KENT 1987, PATTERSON et al. 1988, KENT und GOODALL 1991, TAIRA et al. 1992]. Dabei hat das Geschlecht keinen Einfluss auf die Höhe des Hp-Spiegels [KENT und GOODALL 1991, TAIRA et al. 1992]. Für rassebedingte Unterschiede gibt es bislang nur vage Hinweise. So ermittelten KENT und GOODALL (1991) bei ihrer Untersuchung im Mittel höhere Werte bei Ponys als bei Vielseitigkeitspferden, während die Werte von Vollblütern denen der Ponys ähnelten. GOTHE bestimmte 1998 für klinisch gesunde Vollblutpferde einen Normalwert von 0,55 mg/ml. Auch stellte sie ein Absinken der Haptoglobinwerte ab dem 6. Lebensjahr fest. Dies bestätigte die Ergebnisse von KENT und GOODALL (1991) sowie TAIRA et al. (1992), die eine abnehmende Hp-Konzentration mit zunehmendem Alter der Pferde ermittelten. Zur Verlaufskontrolle postoperativer Phasen, beginnend 2–3 Tage nach dem Eingriff, bietet sich das Hp als moderates APP an, indem es je nach Eingriff und Wundheilungsverlauf steigende oder fallende Tendenzen zeigt [MILLER 2006].

Das Haptoglobin hat neben seiner Funktion als Entzündungsmarker ebenfalls eine Transportfunktion für Hämoglobin. Hierbei bindet es an das bei natürlichem Zerfall der Erythrozyten freiwerdende Hämoglobin und transportiert es in die Leber. Während ein zu hoher Hp-Spiegel meist auf entzündliche Veränderungen schließen lässt, geben dagegen erniedrigte Hp-Gehalte Hinweise auf hämolytische Erkrankungen [THOMAS 2000].

2.7 Diagnose des Sommerekzems

2.7.1 Intrakutantest

Bei einem Intrakutantest handelt es sich um einen In-vivo-Provokationstest zur Feststellung der allergischen Reaktionsbereitschaft eines Patienten auf ein bestimmtes Allergen. Hierbei wird eine geringe Menge eines Allergenextraktes in die Haut des Patienten injiziert. Nach bestimmten Zeitabschnitten wird die Reaktion der Haut auf den injizierten Extrakt in Form von Quaddelbildung, Rötung und Schwellung beurteilt, wobei zusätzlich eine positive Kontrolle (Histaminlösung) wie auch eine Negativkontrolle (physiologische NaCl-Lösung) mitgeführt wird. Da jedoch bis zum heutigen Zeitpunkt die Studien zum Intrakutantest stark variierende, teils gegenteilige Ergebnisse lieferten, Kreuzreaktionen bei groben Allergenpräparationen möglich sind und darüber hinaus die Gefahr der Allergisierung des Patienten gegen das injizierte Antigen besteht, ist der Einsatz der Intrakutantests in der Allergiediagnostik sehr umstritten.

QUINN et al. untersuchten Pferde mit und ohne SE auf ihre Reaktion im Intrakutantest, in dem sie Extrakte von *Culicoides*, *Stomoxys*, *Tabanidae* und *Culex*-Arten einsetzten (1983). Es zeigte sich, dass zwar alle erkrankten Pferde sehr stark auf den *Culicoides*-Extrakt reagierten, jedoch auch drei der sechs gesunden Tiere. Die durch den *Culicoides*-Extrakt hervorgerufenen Reaktionen waren jedoch bei den Pferden mit SE nach 20 bzw. 60 Min. signifikant stärker. Zu vergleichbaren Ergebnisse kamen HALLDORSOTTIR et al. (1989), wobei die Reaktionen auch von der Konzentration des injizierten Antigens abhingen. Dies beobachteten auch KOLM-STARK und WAGNER (2002) an 81 Islandpferden in Österreich mit einem standardisierten Extrakt von *C. variipennis* in den Konzentrationen von 1:50.000, 1:25.000 und 1:10.000. Während bei den beiden niedrigeren Konzentrationen eine Reaktion sowohl bei gesunden Pferden als auch bei Pferden mit SE überwiegend negativ bzw. auch falsch positiv ausfiel, reagierten bei der höheren Konzentration von 1:10.000 eine große Anzahl von gesunden Pferden (24 von 38) wie auch eine mittlere Anzahl von kranken Tieren (13 von 43) positiv. Diese Divergenz zwischen den Ergebnissen des Intrakutantests und den klinischen Befunden, falsch positive und negative Ergebnisse, positive Ergebnisse bei Negativkontrollen und eine mäßige Wiederholbarkeit der Testergebnisse bestätigten LEBIS et al. (2002). MORRIS und LINDBORG (2003) untersuchten die Bedeutung der Antigenkonzentration für eine zuverlässige Diagnose des SEs und empfahlen für *C. nubeculosus* eine Konzentration von 1:10.000 beim Einsatz im Intrakutantest. Sie ermittelten für 9 von 13 untersuchten verschiedenen Allergenextrakte „irritierende“ Konzentrationen, bei denen Reaktionen auch bei gesunden Pferden hervorgerufen werden konnten. Ein anderes Testverfahren praktizierten FERROGLIO et al. (2006) bei ihrer Untersuchung von 18 Pferden mit SE bzw. 23 gesunden Pferden. Sie injizierten den Tieren 0,1 ml eines sterilen *Culicoides*-Extraktes in der Konzentration von 25 µg/µl sowie ebenfalls je 0,1 ml Histamin (1:10.000) als Positiv- und physiologische NaCl-Lösung als Negativkontrolle. Gleichzeitig wurde das Serum der Pferde mittels SDS-PAGE und Western Blot untersucht. Eine Schwellung von mindestens 1 cm bei gleichzeitiger Verdickung der Haut um > 10% nach 24 Stunden ist laut den Autoren als aussagekräftiger Grenzwert zwischen dem positiven Befund SE und einem entsprechenden negativen Ergebnis anzusehen. Sie benannten eine Sensitivität und Spezifität des Intrakutantestes von 100%, selbst bei einer Durchführung im Winter bei symptomfreien Pferden.

2.7.2 In-vitro-Tests

Die In-vitro-Tests haben den großen Vorteil, dass die Allergisierung des Patienten unterbleibt und dass lediglich eine geringe Menge Blut abgenommen werden muss. Mögliche Untersuchungsmethoden sind erstens die Messung des Serum-IgE-Spiegels mittels ELISA

und zweitens funktionelle Tests, welche die Allergiebereitschaft auf der Ebene der Effektorzellen ermitteln. Hierbei wird die Freisetzung präformierter (Histamin) und neu synthetisierter (sLT) Mediatoren durch die mit einem Allergen aktivierten basophilen Granulozyten des Patienten geprüft.

2.7.2.1 Nachweis von IgE

Erst in den letzten Jahren ist es gelungen, monoklonale anti-equine IgE-Antikörper herzustellen, wodurch der spezifische Nachweis von equinem Serum-IgE immunhistologisch, mittels Western Blot oder im ELISA erst möglich wurde. So produzierten WAGNER et al. (2003) monoklonale Antikörper mit einer Spezifität für verschiedene Epitope der schweren Kette des nativen equinen IgE-Moleküls und WILSON et al. (2006) solche mit einer Spezifität für natives equines IgE, von denen sie zwei in einem neu entwickelten ELISA zur Quantifizierung equinen IgEs im Serum einsetzten.

Die Aussagekraft der Bestimmung des Serum-IgE-Spiegels für die Diagnostik von Typ-I-Allergien wird in der Humanmedizin jedoch zunehmend als nicht ausreichend angesehen. Als Gründe hierfür gelten:

1. teilweise fehlender Nachweis allergenspezifischen IgEs trotz ausgeprägter allergischer Symptome,
2. häufige fehlende Korrelation zwischen dem Ausprägungsgrad der klinischen Symptomatik und der Höhe des IgE-Spiegels,
3. die Abhängigkeit des Serum-IgE-Spiegels von der Intensität der Allergenexposition und
4. die Tatsache, dass auch bei Individuen ohne allergische Symptome eine stark variierende IgE-Konzentration im Serum vorhanden sein kann [GEHLHAR et al. 1999, MIMURA et al. 2004].

Inwieweit diese Erkenntnisse vom Menschen auf das Pferd übertragen werden können, ist noch nicht geklärt. Es gibt jedoch Hinweise, dass auch die Bestimmung der equinen IgE-Serumspiegel nicht für eine zuverlässige Diagnostik des Sommerekzems und anderer allergischen Erkrankungen geeignet ist. So fanden UNGAR-WARON et al. (1990) keinen schlüssigen Beweis für einen Zusammenhang zwischen dem Ausprägungsgrad klinischer Symptomatik des SE beim Pferd und einem erhöhten IgE-Spiegel. WILSON et al. (2001) wiesen IgE-Antikörper gegen *Culicoides*-Speicheldrüsenextrakt nur im Serum von Pferden mit klinischen Symptomen des SE nach, nicht jedoch bei Pferden mit Disposition für das SE, die zum Zeitpunkt der Untersuchung symptomfrei waren. 2006 ermittelten WILSON et al. bei 122 adulten Pferden eine mittlere Gesamt-IgE-Konzentration von 23,523 ng/ml, sowie einen

signifikanten Unterschied im Gesamt-IgE-Spiegel zwischen Pferden mit und ohne SE der Rasse Isländer, nicht aber Pferden anderer Rassen mit der gleichen Erkrankung. Dagegen konnten WAGNER et al. 2003 keinen signifikanten Unterschied im Gesamt-IgE-Spiegel im Serum von Islandpferden mit und ohne SE feststellen.

Die Varianz dieser Ergebnisse und die Tatsache, dass IgE nur zu einem geringen Teil frei im Serum und zum überwiegenden Teil an seine Effektorzellen gebunden vorliegt und zusätzlich eine kurze Halbwertszeit aufweist, zeigt, dass die Bestimmung des Serum-IgE-Spiegels bis jetzt keine aussagekräftige diagnostische Möglichkeit ist.

2.7.2.2 Funktionelle In-vitro-Tests (HRT, CAST)

Ein gezielterer diagnostischer Ansatz ist die Untersuchung der Vorgänge auf der Ebene der für die Typ-I-Allergie typischen Effektorzellen (basophile Granulozyten, Mastzellen). Diese Vorgänge sind ein Indikator für die Allergiebereitschaft des Organismus auf bestimmte Allergene. Die isolierten basophilen Granulozyten werden mit einem entsprechenden Allergenextrakt inkubiert. Eine Sensibilisierung durch entsprechende membrangebundene allergenspezifische Antikörper wird über die nachfolgende Freisetzung von Mediatoren (Histamin, Sulfidoleukotriene) qualitativ und quantitativ beurteilt.

Im **Histamine Release Test (HRT)** werden aus dem peripheren Blut eines Probanden isolierte Leukozyten mit dem zu untersuchenden Allergenextrakt inkubiert. Sind auf der Oberfläche der Zellen genügend sensibilisierende Antikörper gebunden, werden mehrere benachbarte, an Fc ϵ -Rezeptoren gebundene allergenspezifische Antikörper vernetzt und nachfolgend präformierte und neu synthetisierte Mediatoren (Histamin, sLT) freigesetzt. Anschließend wird beim HRT das Histamin im Radioimmunoassay (RIA) oder Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) gemessen. Die freigesetzte Menge wird hierbei zu der Menge des Gesamthistamins, das durch Zerstörung der Zellen durch Kochen bestimmt wird, in Relation gesetzt. So kann die prozentuale Histaminfreisetzung ermittelt werden. Dadurch ist eine Aussage über den qualitativen und quantitativen Sensibilisierungsgrad des jeweiligen Probanden gegenüber einem bestimmten Allergen möglich. Nach KAUL (1998) liefert dieser Test zuverlässige Ergebnisse bei der Messung und Quantifizierung der Histaminfreisetzung.

Im **Cellular Antigen Stimulation Test (CAST)** werden aus dem peripheren Blut eines Probanden isolierte Leukozyten zunächst wie beim HRT mit einem entsprechenden Allergenextrakt inkubiert. Dabei wird jedoch hier ihre Bereitschaft getestet, Entzündungsmediatoren, hier Sulfidoleukotriene, neu zu synthetisieren und freizusetzen. Die von den basophilen Granulozyten gebildeten Leukotriene C₄ werden schnell zu LTD₄ und

LTE₄ metabolisiert und der Gesamtgehalt aller freigesetzten sLT und seiner Metaboliten im Anschluss an die Inkubation mit Hilfe eines ELISA bestimmt.

Der CAST wurde als alternativer zellulärer Test zum HRT in den Jahren 1989–1993 entwickelt und ist seit 1993 kommerziell erhältlich (Bühlmann Laboratories, Allschwil, Schweiz). Ein großer Vorteil gegenüber den bis dahin verwandten RIAs und ELISAs mit ihrer hohen Spezifität für nur eine Form der sLT besteht darin, dass der im CAST angewandte monoklonale Antikörper in der Lage ist, LTC₄, LTD₄ und LTE₄ mit gleicher Sensitivität und Spezifität zu messen und so entzündliche Aktivitäten *in vitro* besser zu erfassen [DE WECK et al. 1992, 1993]. Weitere Vorteile des Tests liegen in der Tatsache, dass sLT nur von intakten Zellen produziert wird, sodass es nicht zu falsch positiven Ergebnissen durch zytotoxische Aktivitäten kommen kann. Da im Blut von Pferden genügend zirkulierende Basophile Granulozyten vorhanden sind, kann der in der Humanmedizin entwickelte Test auch zur Diagnose equiner allergischer Reaktionen herangezogen werden [DE WECK 1993]. VAN ROOYEN und ANDERSON untersuchten 2004 den Einfluss verschiedener Testbedingungen auf die Ergebnisse des CAST und zeigten, dass zahlreiche Veränderungen in der Durchführung des Testes ohne Auswirkungen auf die Ergebnisse blieben. So ergab weder die Verwendung anderer als von Bühlmann empfohlenen Blutentnahmeröhrchen, die Bearbeitung der Erythrozyten mit 0,83%igem Ammoniumchlorid statt mit Dextran, eine Erhöhung der Leukozytenkonzentration um das 4-fache bzw. Erniedrigung um das 0,5-fache, noch das Weglassen der Aktivierung der Zellen mit Interleukin-3 eine signifikante Veränderung der Ergebnisse. DE WECK und SANZ (2004) erstellten eine Meta-Analyse mit den Ergebnissen von 37 bestätigten, gut kontrollierten Studien mit insgesamt 1614 Patienten und 1145 Kontrollen und unterstrichen darin den Wert des CAST als diagnostischen Test.

BASELGA et al. (2006) prüften die Eignung des CAST zur Diagnose des überwiegend durch *Culicoides spp.* ausgelösten, IgE-vermittelten SE beim Pferd. Mit Extrakten von *Culicoides nubeculosus* und *Simulium vittatum* untersuchten sie 314 erwachsene Pferde mit und ohne SE. Bei den Pferden mit SE war die sLT-Freisetzung signifikant höher als bei den Pferden ohne SE. Das Ausmaß der klinischen Symptome sowie das Alter der untersuchten Pferde hatte keinen Einfluss auf die Ergebnisse im CAST. Die höchste diagnostische Sensitivität und Spezifität des Testes lag beim Einsatz von *C. nubeculosus*-Extrakten bei 78% bzw. 97%. Einige Pferde reagierten neben den *Culicoides*-Extrakten auch auf die *Simulium*-Präparationen. Insgesamt gesehen hat sich somit der CAST aufgrund seiner hohen Spezifität und guten Sensitivität als brauchbarer Test zur Diagnostizierung allergischer Zustände wie des SEs bei Pferden erwiesen, selbst im Winter bei betroffenen, jedoch symptomfreien Probanden. Die Firma Bühlmann Laboratories AG, Allschwil, Schweiz, bietet seit 2005 den

speziellen Equine CAST unter Einsatz eines homogenisierten und lyophilisierten Ganzkörperextraktes aus *C. nubeculosus* an. Das Labor für klinische Diagnostik GmbH & Co. KG in Bad Kissingen (LABOKLIN) nutzt seit 2006 den Equine CAST 2000 zur Diagnostik von Überempfindlichkeitsreaktionen gegenüber *Culicoides nubeculosus*, *Simulium spp.* sowie *Tabanes* und *Culex*.

In einer neueren Studie wurden von LANGNER et al. (2008) zelluläre und humorale Immunoassays auf ihre Eignung als Bewertungsmethode für das Vorliegen von einer Disposition für SE beim Pferd untersucht. Sie verglichen die Ergebnisse von je neun Pferden mit und ohne Disposition für SE im HRT, im Intrakutantests und in einem ELISA zum Nachweis *Culicoides*-spezifischer IgE und IgG unter Einsatz eines Ganzkörperextraktes sowie Speichels zweier *Culicoides*-Spezies miteinander. Im Intrakutantest zeigten sich bei der Sofort- (30 Min.) und Spätreaktion (4 h) signifikante Unterschiede zwischen den Pferden mit und ohne SE. Die genauesten Ergebnisse ermittelten LANGNER et al. mit Hilfe des HRT, der eine Sensitivität von 100% sowie eine Spezifität von 78% beim Einsatz des Ganzkörperextraktes bzw. von 100% unter Verwendung von Speichel der *Culicoides*-Spezies zeigte. Hingegen wiesen verzögerte Reaktionen (24 h) im Intrakutantest sowie die *Culicoides*-spezifischen Serum-IgE- und -IgG-Spiegel kaum oder keine Unterschiede zwischen allergischen und nichtallergischen Pferden auf. Die Ergebnisse LANGNERS et al. weisen darauf hin, dass Allergietests, die auf der Basis von Effektorzellen wie Mastzellen und Basophilen Granulozyten funktionieren, besser zu einer genauen Diagnostizierung des SE bei Pferden geeignet sind als serologische Analysen mittels ELISA.

2.8 Therapeutische Möglichkeiten für das Sommerekzem

2.8.1 Spezifische Immunotherapie (SIT)

Für die Typ-I-Allergien steht bislang als einziger kausaler Therapieansatz die Spezifische Immunotherapie (SIT), auch Hypo- oder Desensibilisierung genannt, zur Verfügung. Hierbei ist das Ziel, die Wirkung von Allergenen in Form einer überschießenden Immunreaktion auf ein betroffenes Individuum zu reduzieren und wenn möglich abzustellen, sodass eine Verringerung oder sogar ein Verschwinden der allergischen Symptome erreicht wird. Das Prinzip ist dabei, dem Patienten zunächst niedrige, im Verlauf der Therapie ansteigende Dosen, welche die natürliche Exposition auch übersteigen, zu applizieren. In der Regel wird eine Langzeit-SIT durchgeführt, da die Dosis des applizierten Allergens aus Sicherheitsgründen nur langsam gesteigert werden darf. Diese erstreckt sich je nach dem Verlauf der klinischen Symptome über mehrere Jahre. Die Applikation erfolgt überwiegend

subkutan, es kann jedoch auch die Verabreichung über die Schleimhäute der Nase oder des Mundes, hierbei besonders sublingual, erfolgen. Die besten Ergebnisse werden durch die Verabreichung hochgereinigter, nur die allergieauslösenden Anteile enthaltenden Allergene erzielt [WESTRITSCHNIG et al. 2002, WESTRITSCHNIG und VALENTA 2003], während die Verwendung grober Extrakte eine deutlich niedrigere Heilungsrate bzw. sogar eine Verschlechterung der Symptome mit sich brachte.

Die immunologischen Mechanismen, die zur Hyposensibilisierung eines betroffenen Individuums gegenüber einem bestimmten Allergen führen, sind noch nicht endgültig geklärt. Unter anderem konnte unter der SIT ein Anstieg der Zytokine IL-10 und TNF- β beobachtet werden. Beide Zytokine bewirken eine Anergie der T-Zellen, welche sich auch unter der SIT einstellt. Produziert werden sie von regulatorischen T-Zellen, sodass vermutet wird, dass das Verhältnis von T-Effektorzellen zu regulatorischen T-Zellen eine Rolle bei der Reduzierung der klinischen Symptome unter der SIT spielt (SCHMIDT-WEBER und BLASER, 2004). Ein anderer Erklärungsansatz ist die Bildung protektiver IgG1- und IgG4-Antikörper unter der SIT. OHASHI et al. (1997) und GEHLHAR et al. (1999) zeigten, dass ein Anstieg dieser beiden Immunglobuline unter der SIT mit einer Verbesserung der klinischen Symptomatik korrelierte. Hier wurde die Bildung von Immunkomplexen aus IgG und Allergen, die an hemmende Rezeptoren auf den Effektorzellen binden und somit eine Aktivierung der Zellen verhindern, als Ursache für die Verbesserung angesehen.

BARBET et al. (1990) untersuchten die Wirkung einer 6-monatigen Immunotherapie mit einem Ganzkörperextrakt von *Culicoides variipennis* bei 7 Pferden mit SE. Sie ermittelten keinen signifikanten Unterschied zwischen den Pferden der behandelten Gruppe und den 7 Pferden der Kontrollgruppe. Nur jeweils 1 Pferd aus beiden Gruppen zeigte eine Verbesserung der Symptome. Dagegen konnten ANDERSON et al. (1996) bei 10 Pferden mit SE nach Immunotherapie mit einem Ganzkörperextrakt aus *Culicoides spp.* bei 9 der 10 Pferde nach einem Jahr eine Reduzierung der Symptome feststellen. Nach 2-jähriger Therapie waren 3 Tiere frei von klinischen Symptomen, 3 Pferde zeigten eine deutliche, 2 eine geringe Reduzierung der klinischen Symptomatik.

Zur Behandlung des SE des Pferdes mittels SIT stehen bisher nur Ganzkörperextrakte von Mücken zur Verfügung. Daraus resultieren einerseits begrenzte Therapieerfolge, andererseits besteht die Gefahr der Allergisierung des Patienten gegenüber bisher noch nicht allergisierenden Bestandteilen des Extraktes. Bisher ist es noch nicht endgültig gelungen, das oder die Proteine zu identifizieren, welche die allergischen Reaktionen auslösen. Wahrscheinlich handelt es sich um Proteine aus dem Speichel der *Culicoides spp.*, in dem gleich mehrere potenzielle Allergene vorliegen [WILSON et al. 2001, FERROGLIO et al 2006,

HELLBERG et al. 2006]. In neueren Untersuchungen von WILSON et al. (2008) und LANGNER et al. (2009) gelang es den Autoren mittels Massenspektrometrie, die Maltase, ein zur Abspaltung von Glukose benötigtes Enzym, zu isolieren. LANGNER et al. (2009) setzten eine rekombinante Maltase (rCul s 1) im Immunoblot, HRT und Intrakutantest an Pferden mit und ohne SE ein und folgerten aus den Ergebnissen, dass rCul s 1 als erstes identifiziertes Allergen aus dem Speichel von *C. sonorensis* gelten kann. Die Ergebnisse dieser Studien könnten einen wesentlichen Beitrag zur Entwicklung der Immunotherapie für das SE beim Pferd leisten.

2.8.2 Andere therapeutische Möglichkeiten

In der Praxis teilweise verbreitet ist der Einsatz von entzündungshemmenden und immunsuppressiven Kortikosteroiden. Sie werden zur symptomatischen Behandlung allerdings mit zeitlich begrenztem Erfolg eingesetzt. Da jedoch vor allem der wiederholte, langfristige Einsatz, insbesondere hoher Dosen, die Gefahr stark ausgeprägter Nebenwirkungen wie Hufrehe, Wundheilungsstörungen oder Infektanfälligkeit birgt, ist die Kortikoidtherapie als Langzeittherapie nicht geeignet [UNGEMACH in LÖSCHER et al. 1999]. Als Alternativen wurden häufig Therapien mit Ökozon, Allergostop[®] I (Gegensensibilisierung nach Theurer), der Hautpilzvaccine Insol[®] Dermatophyton oder dem Immunmodulator Baypamun[®] (Umstimmung) angewandt, die jedoch keinen zuverlässigen Erfolg aufweisen [BRUENNLEIN 2001, GEIBEN 2003].

2.9 Möglichkeiten zur Präventive des Sommerekzems

Von größter Bedeutung ist in der Praxis das Vermeiden der Allergenexposition, soweit dies unter den vorhandenen Bedingungen möglich ist. Hierzu gehören das Auftragen von Insekten-Repellentien, das Anlegen von Ekzemerdecken, sowie das Aufstallen der Pferde zu den bekannten Flugzeiten der Mücken und die Optimierung der Haltungsbedingungen wie das Beseitigen von Brutmöglichkeiten für die *Culicoides*. BARNARD (1997) untersuchte das quantitative Vorkommen von *Culicoides spp.* inner- und außerhalb von Ställen und offenen Schlafplätzen unter verschiedenen Bedingungen. Er wählte hierfür einen leeren, bzw. normal gereinigten sowie einen stark verschmutzten Stall wie auch einen im Freien gelegenen, an zwei Seiten offenen Schlafplatz und bestimmte das Aufkommen der *Culicoides spp.* mittels Lichtfallen. Dabei wurden die Untersuchungen in Gegenwart bzw. ohne Anwesenheit von Kuh- und Schafherden in der Nähe durchgeführt. Seine Ergebnisse zeigten, dass es eine positive Korrelation zwischen den im Freien und in sauberen Ställen gefangenen weiblichen

Culicoides imicola gab. Die Abwesenheit von Kühen und Schafen reduzierte die Anzahl der gefangenen *Culicoides imicola* in- und außerhalb der Ställe. Der Eintritt der *Culicoides* in den Stall und den im Freien gelegenen Schlafplatz war proportional zu der Größe der Stalleingänge, was auf einen passiven Zugang hindeutet. Auf der anderen Seite konnte eine leicht erhöhte Zahl der in den Stall gelangten weiblichen *C. imicola* bei Anwesenheit von Pferden wie auch beim Vorkommen von für stark verschmutzte Ställe typischen Gerüchen festgestellt werden. Für die Praxis ergibt sich daraus, dass es außer der Reinhaltung der Ställe sinnvoll ist, zusätzlich Maßnahmen zu treffen, die den passiven Zugang der Insekten zu den Stallungen reduzieren. Hierzu gehören neben dem Schließen der Türen und Fenster bei starkem Gnitzenflug auch das Anbringen von Kunststoffstreifen im Eingangsbereich und von feinmaschigem Insektengitter an den Fenstern.

2.10 Homöopathische Behandlungsmöglichkeiten bei Allergien

Bei der Anwendung von Homöopathika – auch beim Einsatzgebiet der allergischen Erkrankungen – wird die umstimmende Wirkung auf das Immunsystem genutzt. So ist das homöopathische Kombinationsmittel Engystol® ad us. vet. in der Lage, die Immunantwort weg von der für allergische Reaktionen typischen T_h2-Zell-Antwort hin zur T_h1-Immunantwort zu modulieren [ENBERGS und VERDROSS 2005, Abb. 2.7].

Aus der Humanmedizin liegen eine Reihe von Studien über die nachgewiesene Wirksamkeit homöopathischer Präparate bei der Therapie allergischer Erkrankungen vor. So zeigte MATUSIEWICZ 1995 bei ihrer Untersuchung über die Wirksamkeit des homöopathischen Kombinationsmittels Engystol®-N bei Bronchialasthma unter kortikoidabhängiger Therapie eine deutliche Verbesserung der mit Engystol®-N behandelten Gruppe gegenüber der Placebogruppe. Auch konnten MATUSIEWICZ et al. 1999 nachweisen, dass die Behandlung mit Engystol®-N einen kortikoidsparenden Effekt und Vorteile hinsichtlich der Nebenwirkungen dieser Arzneimittel bewirkte. Die diesen Beobachtungen zugrunde liegenden Abläufe auf zellulärer Ebene untersuchten ENBERGS und VERDROSS (2005). Sie stellten eine signifikante Steigerung der Anzahl von IFN- γ produzierenden T-Lymphozyten in Blutproben von Humanblutspendern unter der In-vitro-Behandlung mit Engystol® ad us. vet. fest. Interferon- γ ist ein Typ-II-Interferon, welches von Individuen mit Allergiedisposition deutlich weniger exprimiert wird als von Individuen ohne Disposition für allergische Reaktionen. Es wird von verschiedenen T-Lymphozyten produziert und fungiert als Schlüsselzytokin bei immunologischen Prozessen [KIRCHNER 1986, DIJKMANS und BILIAU 1988, YOUNG und HARDY 1990, DE METZ et al. 1999, ENBERGS 2005]. So besitzt es neben zahlreichen

aktivierenden Eigenschaften auf die Zellen des Immunsystems, die eine Schlüsselrolle bei Steuerungs- und Effektorfunktionen einnehmen (z.B. CD4⁺-, CD8⁺-T-Zellen), auch hemmende Eigenschaften (Abb. 2.7). Hierbei wirkt es stark antagonistisch zu den T_H2-Zellen, die unter dem Einfluss von IL-4 aus naiven CD4⁺-T-Lymphozyten entstehen und über ihre Zytokinproduktion die Immunantwort in eine humorale Richtung lenken sowie die T_H1-Immunantwort über Rückkopplungseffekte unterdrücken (s. Kap. 2.4). Bei allergischen Reaktionen, bei denen ein Übergewicht der T_H2-Zellaktivitäten im Immunsystem des Individuums vorliegt, können so die regulatorischen Funktionen des unter Engystol[®] ad us. vet. vermehrt exprimierten IFN- γ zur Reduzierung der klinischen Symptome führen [ENBERGS und VERDROSS 2005].

Für das homöopathische Kombinationsmittel Traumeel[®] ist eine antiinflammatorische Wirkung nachgewiesen [LYSS et al. 1997]. Dieser Effekt wird u.a. durch den Inhaltstoff Arnica (Helenalin) erzielt, der eine selektive Hemmung der Aktivität des Transkriptionsfaktors Nuclear Factor - kappa B bewirkt. Darüber hinaus hemmt die Behandlung von Patienten mit allergischem Asthma mittels Traumeel[®] signifikant die Fähigkeit der Granulozyten, Peroxidradikale zu bilden – ein Vorgang, der einen Teil des Entzündungsvorgangs darstellt – , steigert die mangelhafte Granulozytenwanderung und bewirkt ein signifikantes Absenken des für allergische Patienten typischen hohen IgE-Spiegels [MATUSIEWICZ 1996]. Bei In-vitro-Untersuchungen an Humanblut wurden nach der Therapie mit Traumeel[®] eine lymphozytenaktivierende Wirkung sowie – noch deutlicher ausgeprägt – eine starke und dosisabhängige Stimulation der Phagozytoseaktivität von Granulozyten festgestellt [ENBERGS 1998].

Über den Einsatz von Homöopathika beim SE des Pferdes berichtete RÜSBÜLDT (2001), dass es dabei, wie auch durch Eigenblutbehandlungen oder Bioresonanztherapie sowie die Behandlung mit biologisch aktiven Peptiden, zu keiner zuverlässigen Reduzierung des Krankheitsbildes kommt.

Dagegen wurde in eigenen Untersuchungen an 34 Islandpferden mit SE eine deutliche Verbesserung der Symptome durch die wöchentliche kombinierte Behandlung mit dem homöopathischen Kombinationsmittel Traumeel[®] ad us. vet. und Eigenblut sowie zusätzlicher Gabe von Carduus und Coenzyme compositum beobachtet, wobei starke individuelle Unterschiede im Ansprechen auf die Therapie bestanden [STEIDLE und ENBERGS 2003].

2.11 Eigenbluttherapie

Bei der Eigenbluttherapie steht der Gedanke im Vordergrund, dass bei jeder Krankheit natürliche Heilungsvorgänge unabdingbar sind und durch gezielte „Reiztherapie“

Heilungsprozesse beschleunigt werden können [KREBS 1999]. Ein solcher Reiz wird durch das bei der Eigenbluttherapie injizierte Blut gesetzt und hierdurch eine Veränderung der Reaktionslage im Organismus ausgelöst. Nach außen sichtbar wird dies durch eine verstärkte Bildung histiozytärer Zellen. So steigt die Anzahl der Monozyten im Anschluss an eine Injektion von 40 ml Eigenblut von 5 auf 22% an. Es wird eine Stimulierung der unspezifischen wie auch der spezifischen Abwehr bewirkt [SCHÜRER-WALDHEIM, VORSCHÜTZ und LÖHR, in KREBS 1999].

Es werden mehrere Formen der Eigenbluttherapie unterschieden:

1. mit Vollblut
 - unbehandelt, in Ursubstanz
 - modifizierte Form
2. mit Blutbestandteilen nach verschiedenen Modifikationen

Am weitesten verbreitet ist die einfache oder „native“ Eigenbluttherapie mit Vollblut. Ziel ist hier die oben genannte Reiz- oder Umstimmungstherapie. Bei der modifizierten Form, zu der auch die Auto-Sanguis-Stufentherapie nach Reckeweg gehört, wird durch verschiedene Verfahren wie Potenzierung, Lyse, Oxidation oder Zusätze von Immunmodulatoren eine Dynamisierung der nativen Eigenbluttherapie und somit eine Wirkungsverstärkung erreicht [THALLER 2000].

Die Einsatzgebiete der Eigenbluttherapie sind vielfältig. Hierunter fallen allgemeine Rekonvaleszenzförderung, chronische Schmerzzustände (analgetische Wirkung) und Entzündungen (antiphlogistische Wirkung).

Alleinige Eigenblutbehandlungen wie auch der Einsatz homöopathischer Kombinationsmittel zusammen mit Eigenblut zeigen auch positive Effekte bei der Therapie von akuten und chronischen allergischen Erkrankungen. So berichtete DORENKAMP (1997) über gute Behandlungserfolge mit Traumeel® ad us. vet. vermischt mit Eigenblut und zusätzlicher Gabe von Carduus und Coenzyme compositum beim Sommerkeiz des Pferdes. In eigenen Untersuchungen konnten die Leitsymptome des SE Juckreiz und Hautveränderungen durch die Therapie mit Traumeel® ad us. vet. in Kombination mit Eigenblut sowie zusätzlicher Gabe von Carduus und Coenzyme compositum signifikant reduziert werden [STEIDLE und ENBERGS 2003].

Die Auto-Sanguis-Stufentherapie zeigt positive Wirkungen bei idiopathischem und allergisch bedingtem Juckreiz, bei chronischen Hautveränderungen sowie allergisch bedingten Erkrankungen [GRATZ 1981 und 1993].

3 Pferdekontingent, Methoden und Material

3.1 Pferdekontingent/Blutproben

3.1.1 Untersuchungsgruppe

Die Untersuchungsgruppe bestand aus 34 Pferden (32 Islandpferde, 2 Ägidienberger), davon 14 Stuten, 18 Wallache und 2 Hengste im Alter von 8–27 Jahren. Das Durchschnittsalter betrug 15,5 Jahre. Laut Anamnese hatten alle Pferde eine Disposition für das Sommerekzem. Der Zeitpunkt des ersten Auftretens des Ekzems lag zwischen 2 und 14 Jahren zurück, im Mittel mindestens 5,2 Jahre (Tab. 3.1).

Tab. 3.1: Übersicht zu Pferden mit einer Disposition für Sommerekzem (Untersuchungsgruppe, n = 34).

Nr.	Geburtsort	Geschlecht	Fellfarbe	Alter	Ekzem seit	Gestüt/ Pensionsstall A - E
1	Island	Wallach	Fuchs	17	> 4 J	A Gangpferdezen- trum, 120 Höhenmeter 5 Schulpferde 5 Privatpferde 2 Zuchtstuten
2	Island	Wallach	Braun	20	14 J	
3	Island	Wallach	Windfarben	16	> 6 J	
4	Island	Stute	Rappe	14	> 5 J	
5	Deutschland	Wallach	Braun	26	> 12 J	
6	Island	Stute	Rappe	8	4 J	
7	Deutschland	Wallach	Fuchs	8	6 J	
8	Island	Stute	Rappschecke	17	> 5 J	
9	Deutschland	Stute (Ä)	Rappe	8	4 J	
10	Island	Wallach	Schimmel	22	> 6 J	
11	Island	Wallach	Fuchs	15	> 6 J	
12	Island	Stute	Rappe	15	> 7 J	
13	Island	Wallach	Fuchsschecke	10	3 J	B Pensionsstall, Alfter 125 Höhenmeter 2 Schulpferde 7 Privatpferde
14	Island	Wallach	Fuchs	13	2 J	
15	Island	Wallach	Rappe	9	2 J	
16	Island	Wallach	Mausfalbe	15	9 J	
17	Island	Stute	Rappe	11	> 6 J	
18	Island	Hengst	Fuchs	12	2 J	
19	Island	Wallach	Fuchs	13	> 2 J	
20	Island	Wallach	Rappe	24	> 9 J	
21	Island	Wallach	Falbe	22	6 J	

Nr.	Geburtsort	Geschlecht	Fellfarbe	Alter	Ekzem seit	Gestüt/ Pensionsstall A - E
23	Deutschland	Stute	Isabell	17	5 J	C Gestüt, 113 Höhenmeter 2 Privatpferde 1 Zuchtstute
24	Island	Wallach	Rappe	16	> 2 J	
27	Deutschland	Stute	Fuchs	8	5 J	
28	Island	Hengst	Rappe	27	10 J	D Gangpferde- Zentrum, 285 Höhenmeter 2 Schulpferde 1 Privatpferd 4 Zuchtstuten 1 Zuchthengst
30	Island	Wallach	Fuchs	11	3 J	
31	Island	Stute	Braun	15	6 J	
33	Deutschland	Stute (Ä)	Rappe	8	3 J	
34	Island	Stute	Falbe	15	4 J	
35	Island	Wallach	Braun	28	11 J	
36	Island	Wallach	Fuchs	17	3 J	
37	Island	Stute	Rappe	22	9 J	E Privatstall, Bonn-Duisdorf 64 Höhenmeter 2 Privatpferde
38	Deutschland	Stute	Rappe	8	5 J	
39	Deutschland	Stute	Falbe	16	6 J	

„>“: Pferde wurden bereits mit Ekzem übernommen.

Die Pferde dieser Gruppe standen im Raum Bonn und Umgebung, 23 von ihnen auf 3 größere Gestüte verteilt (12/8/3), jeweils 9 und 2 in einem privaten Pensionsstall. Sie wurden über den gesamten Zeitraum der Untersuchung hinweg robust, das heißt ganztägig auf der Weide verbunden mit einem Offenstall gehalten. Diese Bedingungen wurden während des Studienverlaufes nicht verändert. Zucht- bzw. Geburtsort der Pferde war in 8 Fällen Deutschland, in 26 Fällen Island mit anschließendem Import nach Deutschland.

3.1.2 Gruppe von bisher ekzemfreien Pferden (Kontrollgruppe)

Alle Pferde dieser Gruppe hatten bis zum Zeitpunkt des Beginns der Studie niemals Symptome des Sommerekzems gezeigt und wurden daher als „ekzemfrei“ und ohne Disposition für das Sommerekzem eingestuft. Sie dienten als Kontrollgruppe (Tab. 3.2). Diese Gruppe bestand aus 18 Pferden (12 Islandpferde, 6 Ägidienberger), davon 8 Stuten, 9 Wallache und 1 Hengst im Alter von 2–24 Jahren. Das Durchschnittsalter lag bei 9,8 Jahren.

Tab. 3.2: Pferde, die nach dem Vorbericht bisher frei von Symptomen des Sommerekzems waren (Kontrollgruppe, n = 18)

Nr.	Geburtsort	Geschlecht	Fellfarbe	Alter	Gestüt/ Pensionsstall A - D; F
46	Deutschland	Stute (Ä)	Rappe	7	A 120 Höhenmeter 3 Schulpferde 9 Privatpferde 1 Zuchthengst
47	Deutschland	Stute (Ä)	Fuchs	11	
48	Deutschland	Stute (Ä)	Braun	9	
49	Deutschland	Wallach	Rappe	12	
50	Deutschland	Wallach	Fuchs	6	
51	Deutschland	Stute (Ä)	Fuchs	11	
52	Deutschland	Stute (Ä)	Rappe	7	
53	Deutschland	Stute (Ä)	Rappe	7	
54	Deutschland	Wallach	Rappe	7	
55	Deutschland	Wallach	Rappe	17	
56	Deutschland	Hengst	Rappe	8	
60	Deutschland	Wallach	Fuchs	24	
61	Deutschland	Wallach	Isabel	8	
40	Island	Wallach	Fuchs	11	B 125 Höhenmeter 1 Privatpferd
25	Deutschland	Stute	Braun	2	C
26	Deutschland	Stute	Windfarb- Schecke	2	113 Höhenmeter 2 Privatpferde
35a	Island	Wallach	Braun	24	D 285 Höhenmeter 1 Privatpferd
62	Deutschland	Wallach	Rappe	4	F, Privathaltung Erftstadt 104 Höhenmeter 1 Privatpferd

Der Standort der Pferde war ebenfalls der Raum Bonn und Umgebung, in einem Fall Erftstadt. 16 von ihnen wurden auf 3 Gestüten gehalten (13/2/1), 2 jeweils in einem privaten Pensionsstall. Alle Pferde der Kontrollgruppe standen über den gesamten Zeitraum der Untersuchung hinweg in Robusthaltung mit ganztägiger Weidehaltung mit Offenstall sowie ohne Veränderung der Umweltbedingungen. Zucht- bzw. Geburtsort der Pferde war in 16 Fällen Deutschland, in 2 Fällen Island mit späterem Import nach Deutschland.

3.1.3 Eingangsuntersuchung

Alle 52 in die Untersuchung aufgenommenen Pferde wurden vor Beginn der Studie einer Eingangsuntersuchung unterzogen. Dabei wurden der allgemeine Gesundheitszustand und der Befall mit Endoparasiten überprüft sowie eine spezielle dermatologische Untersuchung inklusive Erfassung des Befalls mit Dermatophyten und Ektoparasiten durchgeführt.

1. Allgemeine Untersuchung: Beurteilung des Herz-Kreislauf-Systems, des Atmungsapparates sowie Erfassung der rektalen Körpertemperatur.
2. Spezielle dermatologische Untersuchung: Beurteilung des Haarkleides mit Deck- und Langhaar sowie der Qualität der Haut mit Schwerpunkt der Prüfung von Länge, Dichte und Geschlossenheit des Deck- und Langhaares sowie Unversehrtheit und Elastizität bzw. eventuell vorhandene Rötung, Verdickung, Schuppen- oder Krustenbildung oder auch nässende Stellen der Haut.
3. Untersuchung auf Dermatophyten mittels des Mycodetect-Tests (Fa. WdT). Die Proben wurden hierbei bei allen Pferden gleich an standardisierten Stellen entnommen (Übergang Mähnenkamm/Halsbereich, Kopfbereich) sowie zusätzlich in Bereichen, die verdächtige Veränderungen aufwiesen (an Randbezirken von stark schuppenden Bereichen/Arealen mit Fellverlust).
4. Nachweis von Ektoparasiten mittels Entnahme eines Tesafilmpräparates sowie eines Hautgeschabsels an standardisierten Bereichen (Übergang Mähnenkamm/Halsseite, Kopfbereich) mit anschließender mikroskopischer Beurteilung.
5. Entnahme einer Kotprobe (rektal) und Untersuchung auf Endoparasiten (Flotationsverfahren).

Die Untersuchung auf Dermatophyten ergab einen positiven Befund bei 28% der Pferde. Die betroffenen Tiere wurden äußerlich durch Waschungen mit Imaverol (Fa. Janssen) behandelt. Die Kotuntersuchung ergab einen gering- bis hochgradigen Befall mit großen und kleinen *Strongyliden*, *Parascaris equorum* und *Oxyuris equi* bei 52,8% der Pferde. Es wurde bei allen Pferden eine Wurmkur mit Fenbendazol (Panacur® Paste ad us. vet., oral) durchgeführt.

3.2 Homöopathische Präparate, Behandlungsplan und Behandlungsregime

3.2.1 Homöopathika

Es wurden Homöopathika der Fa. Biologische Heilmittel Heel GmbH, Baden-Baden, Deutschland, eingesetzt. Die Herstellung jedes Inhaltsstoffes über Ausziehung des Rohstoffes mit Alkohol sowie nachfolgender Verdünnung mit Wasser für Injektionszwecke bzw. NaCl erfolgte jeweils nach den Rezepten des Homöopathischen Arzneibuches (HAB).

- Engystol® ad us. vet. (5 ml Ampullen)

Zusammensetzung:

Vincetoxicum hirundinaria Dil. D6, Vincetoxicum hirundinaria Dil. D10, Vincetoxicum hirundinaria Dil D30 je 0,03 ml, Vincetoxicum e cinere Dil. D30 (HAB, Vorschrift 8a) 0,005 ml, Sulfur Dil. D10, Sulfur Dil. D4 je 0,015 ml. Die Bestandteile 1–5 werden über die letzten 2 Stufen gemäß HAB, Vorschrift 40a gemeinsam potenziert. Sonstige Bestandteile: Isotonische Natriumchloridlösung.

- Carduus compositum ad us. vet. (5 ml Ampullen)

Zusammensetzung:

Silybum marianum Dil. D1 0,0025 ml, Chelidonium Dil. D3 0,005 ml, China Dil. D2 0,005 ml, Colecyntis (HAB 1934) Dil. D5 (HAB, Vorschrift 4a) 0,015 ml, Lycopodium clavatum Dil. D2 0,005 ml, Nux moschata Dil. D3 0,005 ml, Veratrum (HAB 1934) Dil. D5 (HAB, Vorschrift 4a) 0,01 ml, Phosphorus Dil. D5 0,0025 ml. Sonstige Bestandteile: Isotonische Natriumchloridlösung.

- Coenzyme compositum (5 ml Ampullen)

Zusammensetzung:

Acidum ascorbicum Dil. D6, Natrium riboflavinum phosphoricum Dil. D6, Thiaminum hydrochloricum Dil. D6, Pyridoxinum hydrochloricum Dil. D6, Nicotinamidum Dil. D6, Acidum cis-aconium Dil. D8 je 0,05 g (HAB, Vorschrift 5a), Acidum citricum Dil. D8 0,05 g, Acidum fumaricum Dil. D8, Acidum α -ketoglutaricum Dil. D8, Acidum malicum Dil. D8, Acidum succinicum Dil. D8 je 0,05 g (HAB, Vorschrift 5a), Barium oxalsuccinicum Dil. D10 (HAB, Vorschrift 8a) 0,05 g, Natrium pyruvicum Dil. D8, Cysteinum Dil. D6 je 0,05 g (HAB, Vorschrift 5a), Pulsatilla pratensis Dil. D6 0,05 g, Hepar sulfuris Dil. D10 HAB, Vorschrift 8a) 0,05 g, Sulfur Dil. 10 0,05 g, Adenosinum triphosphoricum Dil. D10, Nadidum Dil. D8, Coenzym A Dil. D8 je 0,05 g (HAB, Vorschrift 5a), Beta vulgaris ssp. vulgaris var. conditiva e radice Dil. D4 (HAB, Vorschrift 2a) 0,05 g, Natrium diethyloxalaceticum Dil. D6 aquos, Manganum phosphoricum Dil. D6 aquos, Magnesium oroticum Dil. D6 aquos, Cerium oxalicum Dil. D8 aquos, Acidum alpha-liponicum Dil. D6 aquos je 0,05 g (HAB, Vorschrift 8b). Die Bestandteile 1–21 sowie 22–26 werden jeweils über die letzten 2 Stufen gemäß HAB, Vorschrift 40a gemeinsam potenziert. Sonstige Bestandteile: Natriumchlorid, Wasser für Injektionszwecke.

- Traumeel® ad us. vet. (5 ml Ampullen)

Zusammensetzung:

Achillea millefolium Dil. D5 0,5 ml, Aconitum napellus Dil. D4 0,3 ml, Aristolochia clematidis Dil. D11 0,25 ml, Arnica montana Dil. D4 0,5 ml, Atropa belladonna Dil. D4 0,5

ml, *Bellis perennis* Dil. D4 0,25 ml, *Calendula officinalis* Dil. D4 0,5 ml, *Echinacea* Dil. D4 0,125 ml, *Echinacea purpurea e planta tota* Dil. D4 (HAB, Vorschrift 3a) 0,125 ml, *Hamamelis virginiana* Dil. D3 0,05 ml, *Hypericum perforatum* Dil. D4 0,15 ml, *Chamomilla recutita* Dil. D5 0,5 ml, *Symphytum officinale e radice* Dil. D8 (HAB, Vorschrift 2a) 0,5 ml, *Hepar sulfuris* Dil. D6 aquos 0,5 ml, *Mercurius solubilis Hahnemanni* Dil. D8 aquos 0,25 ml.
Sonstiger Bestandteil: Natriumchlorid

- Traumeel-S-Salbe

Zusammensetzung:

Arnica Dil. D3 1,5 g, *Calendula* Dil. O, *Hamamelis* Dil. O jeweils 0,45 g, *Echinacea purpurea* Dil. O, *Chamomilla* Dil. O jeweils 0,15 g, *Symphytum* Dil. D4, *Bellis perennis* Dil. O jeweils 0,1 g, *Hypericum* Dil. D6, *Millefolium* Dil. O jeweils 0,09 g, *Aconitum* Dil. D1, *Belladonna* Dil. D1 jeweils 0,05 g, *Mercurius solubilis Hahnemanni* Dil. D6 0,04 g, *Hepar sulfuris* Dil. D6 0,025 g. Sonstige Bestandteile: Wasserhaltige, hydrophile Salbe DAB enthält: Cetylstearylalkohol (Typ A), Emulgierender; Paraffin, Dickflüssiges; Vaseline, Weißes; Ethanol 96%; Wasser, Gereinigtes. Konserviert mit 12,5 Vol.-% Alkohol.

- Eigenblut

Zur Eigenblutbehandlung wurden aus der Vena jugularis je 5 ml Blut entnommen. Im Anschluss an die Entnahme wurde das Blut mit den homöopathischen Kombinationsmitteln Engystol[®] ad us. vet. (Prophylaxephase) bzw. Traumeel[®] ad us. vet. (Therapiephase) in einer sterilen 10-ml-Spritze vorsichtig vermischt und subkutan an der Halsseite reinjiziert.

3.2.2 Behandlungsplan

Die Behandlung verlief über den Zeitraum von März bis Oktober 2000 in folgenden vier Phasen:

1. Prophylaxephase (März–individuell April/Mai/Juni)
2. Therapiephase (individuell April/Mai/Juni–August)
3. Phase der Therapieunterbrechung (August–September)
4. Phase der erneuten Therapieaufnahme (September)

Über den gesamten Zeitraum der Studie wurde allen 34 Pferden der Untersuchungsgruppe vorab jeglicher Behandlung 1 mal wöchentlich Blut für die anschließend durchgeführten Laboruntersuchungen entnommen.

3.2.3 Behandlungsregime

Die Pferde mit Ekzemdisposition wurden randomisiert zu jeweils 17 einer Placebo- bzw. Verumgruppe zugeteilt. Die Besitzer der Pferde wurden über die jeweilige Gruppenzugehörigkeit der Pferde nicht informiert.

Behandlung in der Prophylaxephase:

Die Prophylaxephase dauerte von Ende März bis zu dem Zeitpunkt des ersten Auftretens von Symptomen des Sommerekzems (April–Juni). Die Pferde wurden wie folgt 2 mal pro Woche therapiert:

Tab. 3.3: Übersicht zur Behandlung der Pferde mit Ekzemdisposition in der Prophylaxephase

Behandlung	Verumgruppe (n = 17)	Placebogruppe (n = 17)
1. Behandlung z.B. Montag	5 ml Engystol [®] ad us. vet. + 5 ml Eigenblut vermischt s.c.; + 5 ml Carduus compositum + 5 ml Coenzyme compositum s.c.	10 ml sterile physiol. NaCl s.c.; 10 ml sterile physiol. NaCl s.c.
2. Behandlung z.B. Donnerstag	5 ml Carduus compositum + 5 ml Coenzyme compositum s.c.	10 ml sterile physiol. NaCl s.c.

Behandlung in der Therapiephase:

Vom Zeitpunkt des ersten Auftretens von Symptomen des Sommerekzems wurde bei dem jeweils betroffenen Pferd aus ethischen Gründen die Prophylaxe abgebrochen und zwar sowohl bei den Pferden in der Verum- als auch bei denen der Placebogruppe. Damit wurden sukzessive alle Pferde in die Therapiephase überführt.

Die Pferde wurden in der Therapiephase 2 mal wöchentlich wie folgt behandelt:

Tab. 3.4: Schema zur Therapie der Pferde mit Sommerexzem

Behandlungsintervall	Therapie
1. Behandlung z. B. Montag	5 ml Traumeel [®] ad us. vet. + 5 ml Eigenblut vermischt s.c. + 5 ml Carduus compositum + 5 ml Coenzyme compositum s.c.
2. Behandlung z. B. Donnerstag	5 ml Carduus compositum + 5 ml Coenzyme compositum s.c.

Zusätzlich wurden eventuell aufgetretene Hautläsionen mit Traumeel-S-Salbe lokal versorgt.

Die Therapiephase wurde bis August unverändert fortgeführt.

Phase der Therapieunterbrechung (August) und anschließender erneuter Aufnahme der Therapie (September):

Um die Nachhaltigkeit der Therapie zu überprüfen, wurde die Therapie im August unterbrochen. Nach Wiederauftreten der Symptome des Sommerkzems wurde bei jedem Pferd eine zweite Therapiephase wie oben beschrieben zeitlich individuell eingeleitet, um die Wirkung und die Wiederholbarkeit der Therapie zu überprüfen. Diese zweite Therapiephase wurde bis zum Ende der Studie im Oktober fortgeführt.

3.2.4 Untersuchungen zur Klärung einer Ekzemdisposition

Bei einer Untersuchung im Winter sollte geprüft werden, ob mit Hilfe der angewandten Laboruntersuchungen trotz unauffälligen klinischen Bildes Unterschiede zwischen Pferden mit und ohne Disposition für das Sommerkzem aufgedeckt werden können.

Dazu wurde je 7 Pferden der Untersuchungs- und der Kontrollgruppe 34 ml Blut entnommen und im CAST, HRT sowie auf die Entzündungsproteine CRP und Haptoglobin untersucht. Der Zeitpunkt wurde bewusst gewählt, um Symptomfreiheit der 7 Pferde der Untersuchungsgruppe zu gewährleisten.

3.3 Gewinnung und Behandlung der Blutproben sowie Voruntersuchungen

3.3.1 Vorbereitende Arbeiten und Material

3.3.1.1 Gewinnung und Transport der Blutproben

Allen 34 Pferden wurde während des Untersuchungszeitraumes von März bis Oktober 1 mal wöchentlich vorab jeglicher Behandlung Blut entnommen. Die Blutentnahme erfolgte über Venenpunktion mit anschließender Aspiration aus der Vena jugularis.

1. Jeweils 3 Röhrchen à 9 ml Kalium-EDTA (3 x S-Monovette[®] 9 ml KE, SARSTEDT)
 - zur Isolierung der Leukozyten mit späterer Untersuchung im HRT und CAST
 - zur Anfertigung eines Differenzialblutbildes
2. Jeweils 1 Röhrchen à 7,5 ml zur Serumgewinnung (1 x S-Monovette[®] 7,5 ml Z-Gel, SARSTEDT)
 - zur späteren Messung verschiedener Entzündungsparameter

Die Röhrchen wurden nach vorsichtigem Schwenken in einer Styropor-Transportbox 1–6 Std. bei 18–28 °C gelagert und zum Labor transportiert.

3.3.1.2 Aufbereitung des Blutes zur Testdurchführung CAST und HRT

Isolierung der equinen Leukozyten

Die Isolierung der equinen Leukozyten aus peripherem Blut erfolgte aus EDTA-antikoagulierte Blut der Pferde der Untersuchungs- und Kontrollgruppe. In den Entnahmeröhrchen war EDTA in einer Konzentration von ~ 1,6 mg EDTA/ml Blut vorgelegt. Die Isolierung wurde bei Raumtemperatur vorgenommen und erfolgte standardisiert an der sterilen Werkbank nach folgendem Arbeitsschema:

1. Sedimentation (1 x g) 30 min bei Raumtemperatur (RT, 20–30 °C) in den Blutentnahmeröhrchen (je Pferd 3 Röhrchen à 9 ml)
2. Abnahme der oberen leukozytenreichen Plasmaphase mittels Pipette und Transferierung in 2 Polypropylen-Röhrchen
3. Auffüllung beider Röhrchen mit jeweils 7 ml HAGCM-Puffer
4. 1. Waschung durch 15 minütiges Zentrifugieren bei 130 x g und RT, ohne Bremse. Verwerfen des thrombozytenreichen Überstandes und Resuspension der Zellpellets mit jeweils 3 ml HAGCM-Puffer.
5. 2. Waschung durch 15 minütiges Zentrifugieren bei 130 x g und RT, ohne Bremse. Verwerfen des thrombozytenreichen Überstandes und Resuspension der Zellpellets mit je 5 ml HAGCM-Puffer.

Aus dem so aufbereiteten EDTA-Blut ergaben sich je Pferd 2 Röhrchen à 5 ml fertige Zellsuspension.

Bestimmung der Zellzahl

Die Anzahl der Leukozyten in der wie oben beschrieben hergestellten Zellsuspension wurde nach Anfärben der Zellen mit Trypanblau mittels Neubauer-Zählkammer lichtmikroskopisch bestimmt. Die Zellen innerhalb von zwei Quadraten wurden gezählt und anschließend die Leukozytenkonzentration der Zellsuspension berechnet.

Die Auszählung der Leukozyten von 15 Pferden nach Zellisolierung aus 27 ml Blut mit anschließender Resuspension in 2 ml HAGCM erbrachte eine durchschnittliche Zellzahl von $6,18 \times 10^7$ Zellen/ml $\pm 1,42 \times 10^7$. Es wurde eine weitere entsprechende Verdünnung mit HAGCM durchgeführt, durch die eine Leukozytendichte von mindestens 20×10^6 /ml für den späteren Einsatz in den Versuchen gewährleistet war.

3.3.1.3 Aufbereitung des Blutes zur Serumgewinnung

Zur Serumgewinnung wurden für die Blutentnahme Röhrchen der Art S-Monovette® 7,5 ml Z-Gel verwendet, die mit einem Gerinnungsaktivator enthaltenden Gel beschichtet waren. Die

Blutentnahme erfolgte ebenfalls durch Punktion der Vena jugularis mit anschließender Aspiration. Das entnommene Blut wurde nach dem Transport in das Labor bei 3000 x g und RT 15 min zentrifugiert. Das gewonnene Serum wurde abpipettiert, aliquotiert und bis zur Bestimmung der Entzündungsparameter CRP und Haptoglobin bei -20 °C gelagert.

3.3.1.4 Herstellung der Differenzialblutbilder

Von dem EDTA-antikoagulierten Blut wurden jeweils 2 Tropfen Blut eines jeden Pferdes entnommen und hiernach je Pferd auf entfetteten Objektträgern 2 Blutausstriche angefertigt. Die Ausstriche wurden luftgetrocknet und zur Anfertigung eines Differenzialblutbildes verschickt (Firma Biocontrol, Labor für veterinärmedizinische Untersuchungen, Mainz, Dr. Spranz).

3.3.1.5 Herstellung des Allergenextraktes aus *Culicoides nubeculosus*

Zur späteren Stimulation der isolierten Leukozyten in den Labortests HRT und CAST wurde ein Ganzkörperextrakt aus *Culicoides nubeculosus* hergestellt. Hierzu wurden im Labor gezüchtete, gefriergetrocknete *Culicoides* (Herkunft: Dr. Philipp Mellor, Pirbright Laboratories, Institute for Animal Health, Surrey, England) in eigener Arbeit mikroskopisch nach Geschlechtern getrennt und ca. 2000 weibliche Gnitzen (= ca. 1 g) isoliert. Der Transport von England nach Deutschland erfolgte auf Trockeneis in einer Styropor-Transportbox. Im Labor des Instituts für Anatomie, Physiologie und Hygiene der Haustiere der Universität Bonn wurden die gefrorenen Insekten auf Eis mit Mörser und Pistill unter Zugabe von 1000 µl Dulbeccos PBS (DPBS) zerkleinert. Der Extrakt wurde 5 min bei 14.000 x g und 4 °C zentrifugiert und der Überstand abgenommen. Dieses Verfahren wurde zweimal wiederholt. Mit Hilfe eines ELISA-Mikrotiterplattenreaders (TitertekPlus) wurde die Proteinkonzentration des hergestellten Extraktes gegen einen Proteinstandard bei 690 nm gemessen. Die ermittelte Proteinkonzentration lag bei 3,944 mg/ml. Nach Ermitteln des Verdünnungsfaktors von 78,88 für das Erreichen einer Konzentration von 50 µg/ml wurde eine Vorratslösung mit einer Konzentration von 10 µg/ml durch Auflösen von 350 µl *Culicoides*-Extrakt in 27,608 ml HACM-Puffer hergestellt. Der Extrakt wurde steril filtriert (Einmalfilter, Schleicher & Schuell, 0,45 µm), aliquotiert und bis zum Gebrauch bei -80 °C gelagert. Die später eingesetzten Konzentrationen in den Tests CAST und HRT waren 1,25 µg/ml, 2,5 µg/ml und 5 µg/ml. Sie wurden durch Titration erreicht.

3.3.1.6 Lösungen und Puffer

HAGCM-Puffer	HEPES-Albumin-Glukose-Puffer, pH = 7,4
DPBS	sterile phosphatgepufferte Natriumchloridlösung, Dulbeccos Modifikation, Sigma (D-8537)

3.3.1.7 Sonstige Materialien

HEPES	Sigma (H-3784)
Fructose	Sigma (F-3510)
BSA	Sigma (A-4503)
KCl	Merck (Art. 4938)
CaCl ₂	Merck (Art. 2382)
NaOH	Merck (Art. 5588)
MgCl ₂	Fluka (63069)
Ionomycin	Sigma (IO634)
GM-CSF	Sigma (G5035)
S-Monovette [®] 9 ml KE	SARSTEDT AG & Co., Nümbrecht
S-Monovette [®] 7,5 ml Z-Gel	SARSTEDT AG & Co., Nümbrecht
Monovette-Kanüle 20G x 1½ "	
TW, 0,9 x 38 mm	SARSTEDT AG & Co., Nümbrecht
Mycodetect	Fa. WdT
Bodenphotoelektor	Fa. ecoTech, Bonn
Lufttektor	Fa. ecoTech, Bonn
Kühlzentrifuge	Megafuge 1.0 R, Heraeus Instruments, Hanau
Spektralphotometer	Titertek Plus MS2 Reader für 96-well-Mikrotiterplatten, ICN, Eschwege
Werkbank steril	Gelaire [®] TC A 72, Flow Laboratories, Meckenheim (Rheinland)
Inkubator	Inkubator IR 1500, ICN, Flow, Meckenheim (Rhld.)
Einmalfilter, steril	Schleicher & Schuell FP 030/2, 0,45µm
Zählkammer	Neubauer Improved [®] , Brand, Wertheim

3.3.2 Voruntersuchungen

3.3.2.1 Ermittlung der optimalen Allergenextraktkonzentration

Um die optimale Konzentration des in den Labortests Cellular Antigen Stimulation Test (CAST) und Histamine Release Test (HRT) eingesetzten Allergenextraktes zu ermitteln, wurde dieser unter Herstellung einer Verdünnungsreihe durch Titration mit HAGCM-Puffer auf verschiedene Konzentrationen eingestellt (0,1 µg/ml, 0,5 µg/ml, 1 µg/ml, 1,25 µg/ml, 2,5 µg/ml und 5 µg/ml, 10 µg/ml) und die Vorversuche durchgeführt. Die ermittelte sLT-Freisetzungsrates wurde um die basale Leukotrienkonzentration korrigiert. sLT-Freisetzungsrates von > 200 pg/ml wurden als positiv für das jeweils getestete Allergen gewertet. Anhand der Ergebnisse wurden die Konzentrationen von 1,25 µg/ml, 2,5 µg/ml und 5 µg/ml zur späteren Testdurchführung gewählt.

3.3.2.2 Untersuchungen zur Ermittlung geeigneter Stimulatoren im CAST und HRT

1. Stimulationskontrollen zum Nachweis von Vitalität und Funktionalität der Leukozyten

Zur Ermittlung einer geeigneten Stimulationskontrolle zum Nachweis von Vitalität und Funktionalität der im CAST und HRT verwandten Leukozyten wurden in Vorversuchen der Phorbol-12-Myristat-13-Acetat (PMA), das chemotaktische Peptid N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine (fMLP) und das Calcium-Ionophor Ionomycin in verschiedenen Konzentrationen eingesetzt. Bei vorhandener Lebens- und Funktionsfähigkeit der Zellen war im CAST ein erhöhter sLT-Wert zu erwarten, der um die basale Leukotrienfreisetzung (Hintergrund) korrigiert wurde.

Anhand der ermittelten Ergebnisse wurde Ionomycin in den Konzentrationen von 0,1 µg/ml sowie 0,05 µg/ml als Kontrolle für die Stimulation der Leukozyten ausgewählt. Das Ionomycin-Calcium-Salz (Sigma) wurde in DMSO (1 mg/ml) gelöst. Anschließend wurde durch Verdünnung mit HAGCM im Verhältnis 1:1 eine Stammlösung mit einer Konzentration von 500 µg/ml hergestellt. Diese Stammlösung wurde bei 4 °C und dunkel gelagert. Für die Versuchsdurchführung wurde die Ionomycin-Lösung durch Titration mit HAGCM auf die o.g. Konzentrationen eingestellt.

Die Ergebnisse zum Einsatz der verschiedenen Substanzen in den Vorversuchen sind im Einzelnen in Kap. 4.2.2, Abb. 4.5–4.8 graphisch dargestellt.

2. Unspezifische Stimulatoren als Primer im CAST und HRT

Bestimmte Substanzen (sog. Primer) besitzen eine stimulierende Wirkung auf die Zellaktivität. Diese Eigenschaft wird bei der Durchführung von In-vitro-Tests genutzt, um eine höhere Reaktivität der Zellen zu erreichen, und wird durch Präinkubation der Primer mit den isolierten Zellen vor der eigentlichen Versuchsdurchführung erreicht. Zur Stimulation der isolierten Leukozyten vor den im Anschluss durchgeführten Labortests CAST und HRT wurde in den Vorversuchen als unspezifischer Stimulator der Granulozyten-Makrophagen-Koloniestimulierende Faktor (GM-CSF) in verschiedenen Konzentrationen eingesetzt. Anhand der ermittelten Ergebnisse wurde GM-CSF 10 nmol/l mit einer 10-minütigen Inkubationszeit für den späteren Einsatz in CAST und HRT ausgewählt.

Die Ergebnisse zum Einsatz von GM-CSF in verschiedenen Konzentrationen in den Vorversuchen sind im Einzelnen in Kap. 4.2.3, Abb. 4.9 u. 4.10 graphisch dargestellt.

3.3.2.3 Zeitversuch zur Prüfung der Lagerungsfähigkeit des Blutes

Dieser Versuch wurde durchgeführt, um festzustellen, welchen Einfluss die Lagerungsdauer des Blutes nach erfolgter Entnahme auf die Ergebnisse der später durchgeführten Labortests Cellular Antigen Stimulation Test (CAST) und Histamine Release Test (HRT) hat. Das in die S-Monovette[®] 9 ml KE entnommene Blut wurde bei RT gelagert. In dem Entnahmeröhrchen war als Antikoagulans Kalium-EDTA in einer Konzentration von ~ 1,6 mg EDTA/ml Blut vorgelegt. An einem Tag wurden zur Untersuchung des Blutes zweier Pferde 3 Zeiträume gewählt (gerechnet ab dem Zeitpunkt der Blutentnahme), nach denen mit der Stimulation der isolierten Leukozyten begonnen wurde: nach 3,5, 7 sowie 9 Stunden. Bei einer zusätzlichen Durchführung des Versuches an einem zweiten Tag wurden die Leukozyten von 4 Pferden nach 3, 6,5 und 10 Stunden stimuliert.

3.4 Hauptuntersuchungen

Zur Prüfung der Wirkung der Behandlungen wurden im Rahmen dieses Projektes bei den erfassten Probanden bzw. in deren Umgebung folgende separate Untersuchungen durchgeführt:

1. Klinische Beurteilung des Juckreizes der Pferde anhand eines Indexes
2. Klinische Untersuchung der Hautoberfläche der Pferde auf Veränderung anhand eines Indexes
3. Cellular Antigen Stimulation Test (CAST)
4. Histamine Release Test (HRT)

5. Bestimmung des C-reaktiven Proteins bzw. des Haptoglobins im Serum
6. Auswertung des Differenzialblutbildes
7. Bestimmung der Mückenexposition

Anschließend wurden die Ergebnisse der klinischen Untersuchungen in Zusammenhang mit den Ergebnissen der Labortests (HRT, CAST, Differenzialblutbild) sowie der Mückenexposition gesetzt um eventuell vorhandene Korrelationen zwischen den einzelnen erhobenen Befunden aufzuzeigen.

Hierbei wurden folgende Zeiträume der Untersuchung gesondert betrachtet:

1. Prophylaxephase (März–individuell April/Mai/Juni)
2. Therapiephase (individuell April/Mai/Juni–August)
3. Phase der Therapieunterbrechung (August–September)
4. Phase der erneuten Therapieaufnahme (September)

3.4.1 Erfassung der klinischen Daten zur Beurteilung des klinischen Bildes

Die klinischen Parameter „Juckreiz“ und „Hautveränderungen“ wurden bei allen Probanden 2 mal wöchentlich erfasst. Dabei wurde sowohl der spontan vorhandene als auch der auslösbare Juckreiz beurteilt und in einer eigens entwickelten Skala eingestuft (Tab. 3.8). Ebenso wurden jegliche Veränderungen der Haut sowie Art und Fläche der Veränderung erfasst und mit Hilfe eines hierfür entwickelten Indexes bewertet (Tab. 3.9).

Bei der Erstellung der Indices wurde streng auf eine equidistante Einteilung in die verschiedenen Grade geachtet, um die ermittelten Werte später als metrische Variablen auswerten zu können.

Tab. 3.8: Index zur Klassifizierung des Juckreizes

Grad	spontaner Juckreiz	auslösbarer Juckreiz
Grad 0	-	-
Grad 1	-	+
Grad 2	+	++
Grad 3	++	+++
Grad 4	+++	++++
Grad 5	++++	++++

Klassifizierung in 5 Grade: - = nicht vorhanden; + = ggr. vorhanden; ++ = deutlich vorhanden; +++ = stark ausgeprägt; ++++ = extreme Ausprägung

Tab. 3.9: Index zur Klassifizierung des Schweregrades des Sommerexzems in Bezug auf das Ausmaß der betroffenen Körperoberfläche

Grad	Art der Veränderungen	betr. Fläche
Grad 0	Keine Hautveränderungen sichtbar, Fell glatt und ohne Veränderungen	-
Grad 1	Erste Verdickungen in der Haut, erste Scheuerstellen im Fell	~
Grad 2	Erste oberflächliche offene Stellen in der Haut	bis zu 5 cm ²
Grad 3	Erste oberflächliche offene Stellen in der Haut	bis zu 10 cm ²
Grad 4	Oberflächliche offene Stellen, leicht nässend	bis zu 15 cm ²
Grad 5	Oberflächliche offene Stellen, leicht nässend	bis zu 20 cm ²
Grad 6	Tiefgehend offene Stellen, deutlich nässend und blutig gescheuert	bis zu 10 cm ²
Grad 7	Tiefgehend offene Stellen, deutlich nässend und blutig gescheuert	bis zu 15 cm ²
Grad 8	Tiefgehend offene Stellen, deutlich nässend und blutig gescheuert	bis zu 20 cm ²
Grad 9	Tiefgehend offene Stellen, nässend und blutig gescheuert	bis zu 25 cm ²
Grad 10	Tiefgehend offene Stellen, nässend und blutig gescheuert	bis zu 50 cm ²

Klassifizierung in 10 Grade; - = nicht vorhanden; ~ = beliebig

3.4.2 Cellular Antigen Stimulation Test (CAST)

Das Prinzip des Tests:

Der Bühlmann Cellular Antigen Stimulation Test (CAST) dient zur quantitativen Bestimmung von Sulfidoleukotrienen (sLT), die von isolierten Leukozyten nach Kontakt mit einem Allergen neu synthetisiert wurden. Dazu werden im CAST isolierte Leukozyten simultan mit Granulozyten-Makrophagen-Koloniestimulierendem Faktor (GM-CSF) und einem Allergen stimuliert. Basophile Granulozyten synthetisieren die bei einer allergischen

Reaktion als Mediatoren wirkenden Sulfidoleukotriene LTC₄, die zu LTD₄ und LTE₄ metabolisiert werden. Diese neu gebildeten Sulfidoleukotriene (sLT) werden im Anschluss an die Isolation der Leukozyten und darauffolgender Zellstimulation mit Hilfe eines ELISA gemessen.

Der Test umfasst im Einzelnen folgende Arbeitsschritte:

1. Isolierung der Leukozyten
2. Zellstimulation
3. Bestimmung der Leukotrienkonzentration (ELISA)

Tab. 3.10: 1. Arbeitsschritt zur Durchführung des CAST

Isolierung der Leukozyten
1. Sedimentation 30 min bei Raumtemperatur (RT)
2. Transferieren des Überstandes in Röhrchen, Auffüllen mit 7 ml HAGCM
3. 1. Waschung durch 15-minütiges Zentrifugieren (RT, 130 x g), Verwerfen des Überstandes
4. Suspension des Zellpellets in 3 ml HAGCM
5. 2. Waschung durch 15-minütiges Zentrifugieren (RT, 130 x g), Verwerfen des Überstandes
6. Suspension des Zellpellets in 5 ml HAGCM

Durchführung der Isolierung der Leukozyten:

- 1.: Die Sedimentation der Leukozyten erfolgte in den Blutentnahmeröhrchen.
 2.–6.: Die Waschungen, die Zentrifugation sowie Resuspension der Zellpellets wurden in Polypropylen-Röhrchen vorgenommen.

Tab. 3.11: 2. Arbeitsschritt zur Durchführung des CAST

Zellstimulation
1. Vorinkubation 10 µl GM-CSF mit 300 µl Zellsuspension 10 min bei 37 °C
2. Zugabe von 300 µl Zellsuspension zu je 75 µl Allergenextrakt (1,25 µg/ml; 2,5 µg/ml; 5 µg/ml), Stimulationskontrolle (Ionomycin 0,1 µg/ml; 0,05 µg/ml) und HAGCM-Puffer (Blank)
3. 40 min Inkubation bei 37 °C, vortexen
4. 3 min Zentrifugieren bei 4 °C und 1000 x g
5. Abpipettieren der Überstände
6. Lagerung bei -20 °C bis zur Messung

Durchführung der Zellstimulation:

1. Zur Zellstimulation wurden in kleine Polypropylen-Röhrchen jeweils 10 µl GM-CSF vorgelegt. Hierzu wurden jeweils 300 µl der fertigen Zellsuspension eines Pferdes pipettiert und diese anschließend 10 min bei 37 °C vorinkubiert.

2. An die Inkubation anschließend wurden jeweils 75 µl Allergenextrakt in verschiedenen Konzentrationen (1,25 µg/ml, 2,5 µg/ml, 5 µg/ml) hinzupipettiert und die Stimulation während
3. 40-minütiger Inkubation bei 37 °C durchgeführt.
 Als Hintergrund (Blank) dienten je 75 µl HAGCM-Puffer, zu dem jeweils 300 µl Zellsuspension hinzugegeben wurden. Um einen Wert für den Allergenextrakt zu ermitteln, der später für den HRT zur Korrektur der Ergebnisse herangezogen werden konnte, wurden 75 µl Allergenextrakt mit 300 µl HAGCM in einem Röhrchen vermischt.
 Auch diese Ansätze wurden 40 min bei 37 °C inkubiert. Im Anschluss an die Inkubation wurden die Röhrchen kurz gemischt um Agglutinationen zu lösen.
4. Hiernach wurden sie 3 min bei 1000 x g und 4 °C zentrifugiert.
5. Die Überstände wurden vorsichtig abpipettiert und
6. in 1,5 ml-Gefäßen bei -20 °C bis zum Zeitpunkt der Messung gelagert.
 Zur Kontrolle der Vitalität und Funktionalität der Leukozyten wurde ein Ansatz mit Ionomycin als unspezifischem Stimulator in 2 Konzentrationen (0,1 µg/ml, 0,05 µg/ml) mitgeführt. Hierzu wurden zu jeweils 75 µl Ionomycin in den Konzentrationen 0,1 µg/ml bzw. 0,05 µg/ml je 300 µl Zellsuspension hinzugegeben.

Alle Ansätze wurden doppelt angefertigt.

Tab. 3.12: 3. Arbeitsschritt zur Durchführung des CAST

Bestimmung der Leukotrienkonzentration (ELISA)
1. Vorlage von 100 µl Blankreagenz, ELISA-Puffer, Standards, Kontrollen und Zellüberstände im Doppelansatz
2. Zugabe von 50 µl Enzymkonjugat zu allen Vorlagen
3. Zugabe von 50 µl monoklonalem anti sLT Antikörper
4. Vorsichtiges Mischen (Mikrotiterplattenschüttler)
5. Inkubation der abgedeckten Platte für 18–24 Stunden bei 2–8 °C
6. Entleeren der Platte und zweimaliges Waschen mit Waschpuffer
7. Zugabe von 100 µl pNPP Substratlösung zu allen wells
8. Abdecken der Platte und Inkubation für 30 Minuten bei 20–30 °C auf Mikrotiterplattenschüttler mit 800–1000 rpm
9. Abstoppen der Reaktion durch Zugabe von 100 µl Stop-Lösung
10. Kurzes Mischen
11. Ablesen der Extinktion bei 405 nm im Spektralphotometer

Bestimmung der Leukotrienkonzentration:

Zur Bestimmung der Leukotrienkonzentration wurde die im Bühlmann CAST-ELISA Test Kit enthaltene antikörperbeschichtete Mikrotiterplatte (8 x 12 Kavitäten) entsiegelt und der in

den Vertiefungen enthaltene Vorratspuffer durch kräftiges Ausklopfen auf Zellstoff entleert. Je 100 µl Blank-Reagenz (lyophilisiertes Reagenz mit einer hohen Konzentration von sLT, zuvor in 2 ml doppelt destilliertem Wasser [DD] aufgelöst), ELISA-Puffer, sLT-Standards, hohe und niedrige ELISA-Kontrolle und die Zellüberstände wurden in die Kavitäten hineinpipettiert. 50 µl Enzymkonjugat (lyophilisiertes sLT konjugiert an Alkalische Phosphatase, mit ELISA-Puffer aufgelöst) wurden in jedes well hinzupipettiert. 50 µl monoklonale anti sLT Antikörper wurden hinzugegeben und die Platte kurz auf einem Mikrotiterplattenschüttler geschüttelt. Die Platte wurde mit Abdeckfolie abgedeckt und 18–24 h bei 2–8 °C inkubiert. Nach der Inkubation wurde die Mikrotiterplatte entleert, zweimal mit Waschpuffer gewaschen und durch kräftiges Ausklopfen auf Zellstoff geleert. Die gepufferte pNPP Substrat-Lösung wurde auf 20–30 °C erwärmt und hiervon 100 µl in jede Kavität hinzupipettiert. Die Platte wurde wiederum abgedeckt und 30 min auf einem Schüttler mit 800–1000 rpm bei 20–30 °C inkubiert. Nach der Inkubation wurde die Abdeckfolie von der Platte entfernt und die Reaktion mit Zugabe von je 100 µl Stop-Lösung in jedes well und kurzem Mischen auf einem Mikrotiterplattenschüttler gestoppt. Im Anschluss wurde die Extinktion bei 405 nm in einem Spektralphotometer gemessen.

Bei jedem Versuchsansatz wurde eine neue Standardkurve angelegt. Der zu dem Test-Kit mitgelieferte Standard S1 beinhaltete lyophilisierte sLT mit einer Konzentration von 6400 pg/ml und wurde mit 1 ml DD Wasser aufgelöst, bevor im Anschluss die Verdünnung durchgeführt wurde. Die Verdünnungsstufen waren mit S2 1600 pg/ml, S3 400 pg/ml und S4 100 pg/ml. Als Nullstandard wurde S0 (nur ELISA-Puffer) mitgeführt.

Die ELISA-Kontrollen enthielten lyophilisierte sLT, die mit DD Wasser aufgelöst wurden. Die Konzentrationen der Kontrollen lagen bei 1250 pg/ml (hoch) bzw. 250 pg/ml (niedrig). Die Kontrollen wurden bei jedem Versuchsansatz mitgeführt.

Alle Ansätze wurden im Doppelansatz angefertigt.

Zum Erstellen einer Standardkurve wurde die Absorption bei 405 nm für jeden Standard, die maximale Bindung (MB = S0, Nullstandard) sowie den Hintergrund im Doppelansatz bestimmt. Die Mittelwerte wurden errechnet und die mittleren Absorptionen der Standards um die der Hintergründe korrigiert. Die Bindung eines jeden Standards wurde wie folgt als Prozent der Maximalbindung (S0) errechnet:

$$\% \text{ gebunden} = \text{Absorption/MB Absorption} \times 100$$

Im Anschluss hieran wurde die prozentuale Bindung auf der Y-Achse linear gegen die sLT-Konzentration der Standards in pg/ml auf der X-Achse (logarithmisch) aufgezeichnet und eine Standardkurve erstellt.

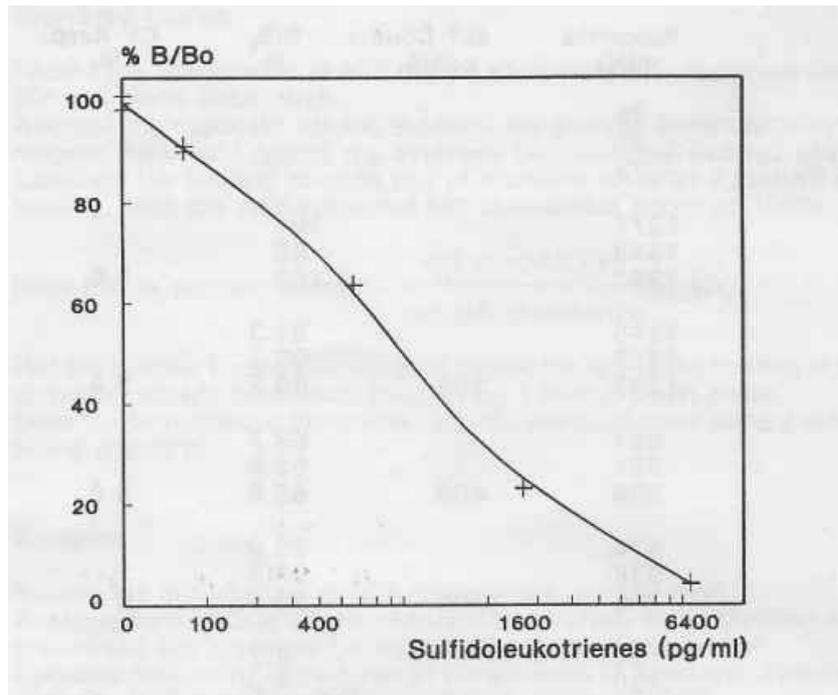


Abb. 3.1: Beispiel einer Standardkurve zur Bestimmung der sLT-Produktion im CAST im Absorptionsbereich von 450 nm

Der Variationskoeffizient (CV) des Tests wurde mit Hilfe 5 x innerhalb eines Tests im Doppelansatz gemessener Stimulationskontrollen bestimmt (Intra-Assay Precision) und beträgt 5,3%.

Der CV für wiederholte Messungen (Inter-Assay Precision) beträgt 6,9% und war durch die 20 x in Folge durchgeführte Messung der Stimulationskontrolle im Doppelansatz ermittelt worden.

Die Ergebnisse wurden in folgender Weise dargestellt:

$$\begin{aligned} & \text{sLT [Allergen] (pg/ml) - sLT [Hintergrund] (pg/ml)} \\ & \quad \Rightarrow \text{allergenspezifische sLT-Freisetzung} \\ & \text{sLT [Stim.kontrolle] (pg/ml) - sLT [Hintergrund] (pg/ml)} \\ & \quad \Rightarrow \text{sLT-Freisetzung der Stimulationskontrolle} \end{aligned}$$

3.4.3 Histamine Release Test (HRT)

Das Prinzip des Tests:

Der Histamine Release Test (HRT) dient zur quantitativen Bestimmung von Histamin, welches von basophilen Granulozyten präformiert und in Vesikeln gespeichert wird. Hierzu werden isolierte Leukozyten mit einem betreffenden Allergenextrakt inkubiert, wodurch es im

Falle der Sensibilisierung der Granulozyten gegenüber dem Allergen zur Aktivierung der Effektorzelle mit anschließender Ausschleusung des präformierten Histamins kommt. Das freigesetzte Histamin wird im Anschluss an die Isolierung und Stimulation der Leukozyten im ELISA gemessen. In der vorliegenden Untersuchung wurde der Histamin-ELISA von IBL, Gesellschaft für Immunchemie und Immunbiologie, Hamburg, eingesetzt. Die Testdurchführung erfolgte unter Beachtung der Anweisung des Herstellers.

Der Test umfasste im Einzelnen folgende Arbeitsabschnitte:

1. Isolierung der Leukozyten
2. Zellstimulation
3. Bestimmung der Histaminfreisetzung (ELISA)

1. Die Isolierung der Leukozyten wurde wie in 3.2.1.2 beschrieben durchgeführt.
2. Die anschließende Leukozytenstimulation wurde wie für den CAST in 3.3.3.2 beschrieben durchgeführt.

Zusätzlich zu den dort angegebenen Arbeitsschritten wurde der Gesamthistamingehalt der Zellsuspension ermittelt, um später die absolute und die prozentuale Histaminfreisetzung angeben zu können. Hierzu wurden 300 µl der Zellsuspension mit 75 µl Puffer in verschließbare 1,5 ml-Reaktionsgefäße gegeben und 4 min gekocht.

Danach wurden diese Zellsuspension sowie die nach der Zentrifugation abpipettierten Zellüberstände der Reaktionsansätze bei -20 °C gelagert.

3. Spätere Bestimmung des Histamingehaltes durch photometrische Messung bei 405 nm.

Bei jeder Messung wurden Plasmastandards mitgeführt und jeweils eine Standardkurve erstellt. Zusätzlich wurde eine Kit-Kontrolle mitgeführt. Um mögliche Störeinflüsse mit Verfälschungen der Ergebnisse durch die eigens hergestellten Allergenpräparationen zu erfassen, wurden bei jeder Messung die zur Stimulation eingesetzten Allergenextrakte als „Allergen-Kontrollen“ mitgeführt. Sie wurden nachfolgend zur Korrektur der Ergebnisse herangezogen.

Alle Messungen wurden im Doppelansatz durchgeführt.

Um eine Aussage über die Bereitschaft der Zellen, nach Kontakt mit einem spezifischen Allergen Histamin freizusetzen (allergeninduzierte Histaminfreisetzung), treffen zu können wurden die Freisetzung nach Inkubation mit dem Allergenextrakt sowie die spontane Histaminfreisetzung (Hintergrund) erfasst. Nach Korrektur der Ergebnisse um den Spontan-Release wurden die Ergebnisse in Bezug zu dem jeweiligen Gesamthistamingehalt gesetzt und somit die prozentuale Histaminfreisetzung aus den Zellen ermittelt.

1. Histaminfreisetzung nach Inkubation mit Allergen - Spontan-Release
2. Bezug der freigesetzten Menge auf den Gesamthistamingehalt (100%)
 => prozentuale Histaminfreisetzung (allergeninduzierte Freisetzung in %)

Die Bindung eines jeden Histamin-Standards wurde wie folgt als Prozent der Maximalbindung (S0, Nullstandard) errechnet:

$$\% \text{ gebunden} = \text{Absorption/MB Absorption} \times 100$$

Zur Erstellung einer Standardkurve wurden die bekannten Konzentrationen der Histamin-Standards auf der Abszisse logarithmisch gegen deren ermittelte B/B0-Werte auf der Ordinate linear aufgetragen. Es können mittels einer hieraus errechneten sigmoidalen Anpassungsfunktion die Histaminkonzentrationen der unbekanntenen Proben direkt aus der Standardkurve abgelesen werden.

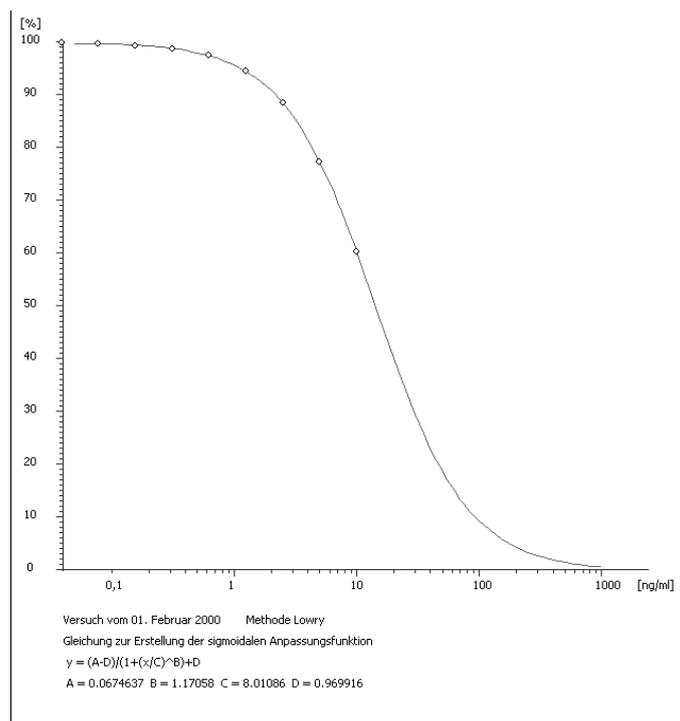


Abb. 3.1: Standardkurve zur Bestimmung der Histaminfreisetzung im HRT im Absorptionsbereich von 450 nm; 4-Parameter-Analyse

Die Gleichung zur Erstellung der sigmoidalen Anpassungsfunktion lautet:

$$y = (A-D)/(1+(x/C)^B)+D; \text{ mit}$$

- | | |
|--------------------------|---------------------|
| A: obere Asymptote | D: untere Asymptote |
| C: Wendepunkt | \hat{B} : Potenz |
| x: Histaminkonzentration | y: B/B0%-Wert |

3.4.4 Bestimmung des C-reaktiven Proteins und des Haptoglobins im Serum

Als ausgewählte Entzündungsparameter wurden die Konzentrationen von C-reaktivem Protein (CRP) und Haptoglobin (Hp) im Serum in einem externen Labor bestimmt (Dr. Schrödel, Institut für Bakteriologie und Mykologie der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig). Das CRP wurde mittels kompetitiven Immunoassays unter Ausnutzung der spezifischen calziumabhängigen Bindung des CRP an Phosphorylcholin erfasst. Die Messung des Hps erfolgte immunologisch mit Hilfe eines Sandwich-ELISAs unter Verwendung polyklonaler Antikörper vom Kaninchen gegen Haptoglobin und Markierung des zweiten Antikörpers mit Peroxydase.

Es wurden die Serumproben aus folgenden ausgewählten Studienphasen untersucht:

1. Übergang von der Prophylaxe- zur Therapiephase (März–Juni; n = 34)
2. Phase der Therapieunterbrechung (August; n = 26)
3. Untersuchungen zur Ekzemdisposition im Winter (Februar; n = 14)

3.4.5 Differenzialblutbild

Die – wie in 3.3.1.4 beschrieben – angefertigten Blutausrichthe wurden zur Erstellung eines Differenzialblutbildes an ein Labor verschickt (Fa. Biocontrol, Ingelheim, Dr. Spranz). Über den gesamten Zeitraum der Studie hinweg wurden die Differenzialblutbilder aller in die Studie mit aufgenommenen Pferde der Untersuchungsgruppe einmal wöchentlich angefertigt und später ausgewertet.

Schwerpunkt der späteren Auswertung waren die Anzahl der Eosinophilen Granulozyten sowie der Lymphozyten.

3.4.6 Erfassung der Mückenexposition

An allen fünf Standorten der an der Untersuchung beteiligten Pferde wurden Insektenfallen zur Erfassung der Mückenvorkommen, speziell der Gnitzenvorkommen, installiert. Hierbei wurden Insektenfallen (sog. Boden- und Lufteklektoren) der Fa. ecoTech aus Bonn bzw. deren eigens angefertigte Nachbauten verwandt.

1. Mit den Bodenfallen wurde der Schlupfzeitpunkt der Insekten, ihre Art sowie die Anzahl der geschlüpften Tiere bestimmt. Sie wurden an den bevorzugten Brutstätten der Gnitzen – feuchte Bodenbereiche mit evtl. vorhandenen Ansammlungen von Wasser – in den von den Pferden genutzten Ausläufen aufgestellt.
2. Die Luftfallen dienten der Erfassung des tatsächlichen Insektenfluges. Auch hier wurden Art und Anzahl der gefangenen Tiere bestimmt. Die betreffenden Geräte

wurden an den von den Pferden bevorzugten Aufenthaltsorten installiert, um die tatsächlich vorhandene Mückenexposition möglichst präzise zu erfassen.

Je Standort wurden jeweils eine Boden- und eine Luftfalle aufgestellt. Alle Auffangbehälter (Eklektorkopfdosen) der Insektenfallen wurden über den Untersuchungszeitraum von März bis Oktober hinweg täglich geleert, der Inhalt durch Gaze filtriert und die enthaltenen Insekten in Ethanol fixiert und aufbewahrt. Sie wurden später im Institut für Zoomorphologie, Zellbiologie und Parasitologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf mikroskopisch untersucht und ausgewertet.

Über die Anzahl der geschlüpften Gnitzen sowie den Gnitzenflug während bestimmter Studienzeiträume konnte somit später eine Aussage gemacht werden.

Die folgenden Abbildungen 3.3 und 3.4 zeigen den schematischen Aufbau beider verwendeter Eklektoren.

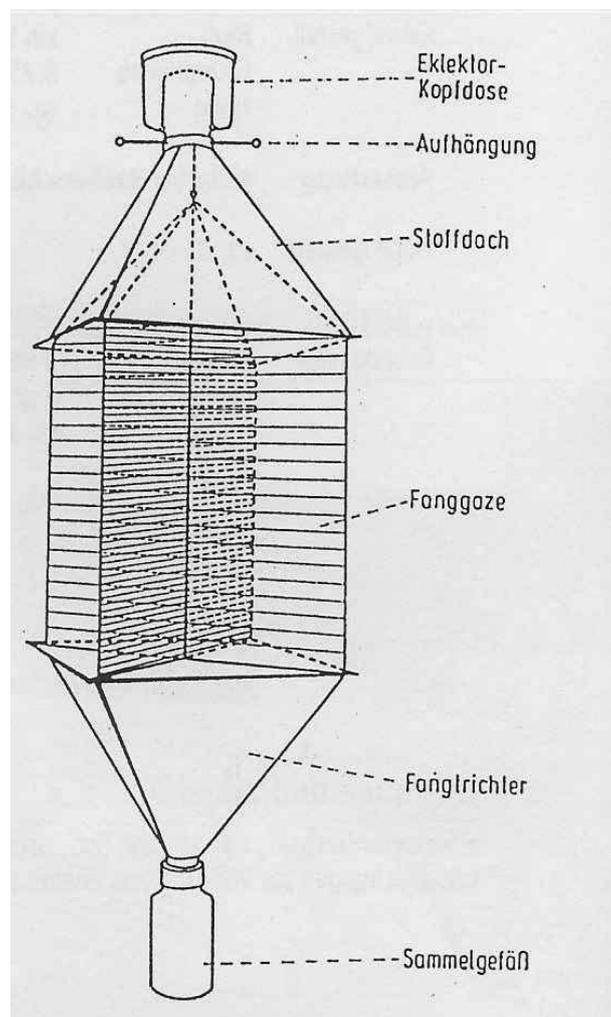


Abb. 3.3: Schematischer Aufbau eines Lufteklektors mit Gazewänden



Abb. 3.4: Schematischer Aufbau eines Bodenphotoelektors

3.4.7 Statistische Methoden

In allen durchgeführten Analysen im CAST und HRT wurden die Proben im Doppelansatz gemessen. Die Serumproben zur Bestimmung des CRP wurden im Dreifachansatz untersucht. Alle in diesen Tests ermittelten Daten wurden in Mittelwert \pm SD dargestellt. Zunächst wurden die Daten auf Normalverteilung im Normalitätstest untersucht. Normalverteilte Daten wurden mittels Einweg-Varianzanalyse (ANOVA) oder t-Test verglichen. Signifikante Unterschiede wurden mit dem Duncans Test (Duncan's Multiple Range Test) bestimmt. Datenmengen, welche die Voraussetzungen der Normalverteilung nicht erfüllten, wurden mit Hilfe des Kruskal-Wallis Tests (Varianzanalyse von Rangdaten) analysiert. Signifikante Unterschiede wurden mittels Dunn's Test bestimmt. Auch Daten, welche die Voraussetzungen der Normalverteilung nicht erfüllten, wurden in MW \pm SD dargestellt um so eine Vergleichbarkeit mit der Literatur zu ermöglichen. Zur Analyse der Beziehung zwischen den Gruppen wurden der Korrelationskoeffizient nach Pearson und die Lineare Regression genutzt. Zur Überprüfung von Daten auf Unabhängigkeit zweier Merkmale in einer Kontingenztafel wurde Fisher's Exact Test durchgeführt. Alle statistischen Analysen wurden mit SigmaStat (Jandel scientific software V2.0) durchgeführt. $p < 0.05$ wurde als signifikant erachtet. Die Grade der Signifikanz sind in den Tabellen und Diagrammen wie folgt dargestellt: * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$ und *** = $p < 0.001$.

4 Ergebnisse

Im Rahmen der vorliegenden Feldstudie wurde die Wirkung einer homöopathischen Behandlung als Prophylaxe und Therapie bei Pferden mit Disposition für Sommerekzem untersucht. Die Entwicklung des klinischen Bildes wurde durch Skalierung des dermatologischen Status und der Ausprägung des Juckreizes beurteilt. In-vitro-Tests dienten zur Erfassung der Entzündungsreaktionen auf zellulärer Ebene, speziell der Histaminfreisetzung und Neusynthese von Leukotrienen. Zusätzlich wurde der Einfluss der Behandlung auf das Differenzialblutbild und die Entzündungsparameter CRP und Haptoglobin untersucht. Begleitende Mückenfänge sollten die Allergenexposition sowie die *Culicoides spp.*, die im Untersuchungsgebiet das SE auslösen, darstellen. Vergleichende Untersuchungen an Pferden mit und ohne Disposition für SE wurden im Winter vorgenommen, um mögliche Unterschiede in den genutzten Laborparametern zu ermitteln und festzustellen, ob eine Diagnose des SE bei symptomfreien Pferden mittels der angewandten In-vitro-Tests möglich ist.

Die erhobenen klinischen Befunde zeigten, dass es unter der angewandten Therapie zu einer deutlichen Verbesserung der Symptomatik des Sommerekzems kommt. Diese Verbesserung betraf beide untersuchten klinischen Parameter. Die zu Beginn der Studie durchgeführte Prophylaxe konnte den Ausbruch des SE nur wenig verzögern, jedoch einen signifikanten Abfall der Lymphozytenzahlen zum Ausbruch des Ekzems hin, nachgewiesen im Differenzialblutbild, verhindern.

Die In-vitro-Tests HRT und CAST belegten eine erhöhte Bereitschaft der Zellen zur Histaminfreisetzung bzw. sLT-Neusynthese nach Stimulation mit dem Allergenextrakt zum Ausbruch des SE hin, während der Gesamthistamingehalt der Basophilen Granulozyten abnahm. Unter der einsetzenden Therapie ging die prozentuale Histaminfreisetzung zurück, wohingegen der Gesamthistamingehalt der Zellen zunahm. Hierbei zeigten sich deutliche Unterschiede zwischen den Pferden je nach Zugehörigkeit zur vormaligen Placebo- bzw. Verumgruppe.

In den vergleichenden Untersuchungen im Winter an symptomfreien Pferden konnte gezeigt werden, dass eine Differenzierung zwischen Pferden mit und ohne Disposition für SE mit Hilfe der In-vitro-Tests HRT und CAST sicher möglich ist. Darüber hinaus wurden deutliche Unterschiede in den Serumspiegeln von CRP und Haptoglobin, sowie in dem Befall mit Dermatophyten zwischen beiden Pferdegruppen aufgedeckt.

4.1 Ergebnisse der Eingangsuntersuchung

Bei der Eingangsuntersuchung wurde zunächst der Gesundheitszustand überprüft. Anschließend wurde der Zustand der Haut unter Einschluss mikroskopischer und mykologischer Untersuchungen erfasst und dabei speziell darauf geachtet, ob Unterschiede zwischen den Pferden mit und ohne Disposition für das Sommerkezem aufgezeigt werden konnten. Diese Diagnostik fand Ende des Winters statt, zu einem Zeitpunkt, als noch sämtliche für die Untersuchung ausgewählten Pferde frei von akuten Symptomen des Sommerkezems waren.

4.1.1 Ergebnisse der allgemeinen Untersuchung

Die Allgemeinuntersuchung umfasste die Beurteilung des Herz-Kreislauf-Systems, des Atmungsapparates sowie der rektalen Körpertemperatur. Sie ergab bei keinem der 52 untersuchten Pferde einen besonderen Befund.

4.1.2 Ergebnisse der adspektorischen dermatologischen Untersuchung

Die adspektorische Untersuchung der Haut umfasste die in Tab. 9.1 aufgeführten Gesichtspunkte (siehe Anhang). Die Einzelbefunde wurden ausschließlich nach qualitativen Kriterien erfasst. Sie lagen durchgehend nur in gering- bis mittelgradiger Ausprägung vor.

Die Gesamtergebnisse sind nachfolgend für beide Pferdegruppen zum Vergleich graphisch dargestellt (Abb. 4.1).

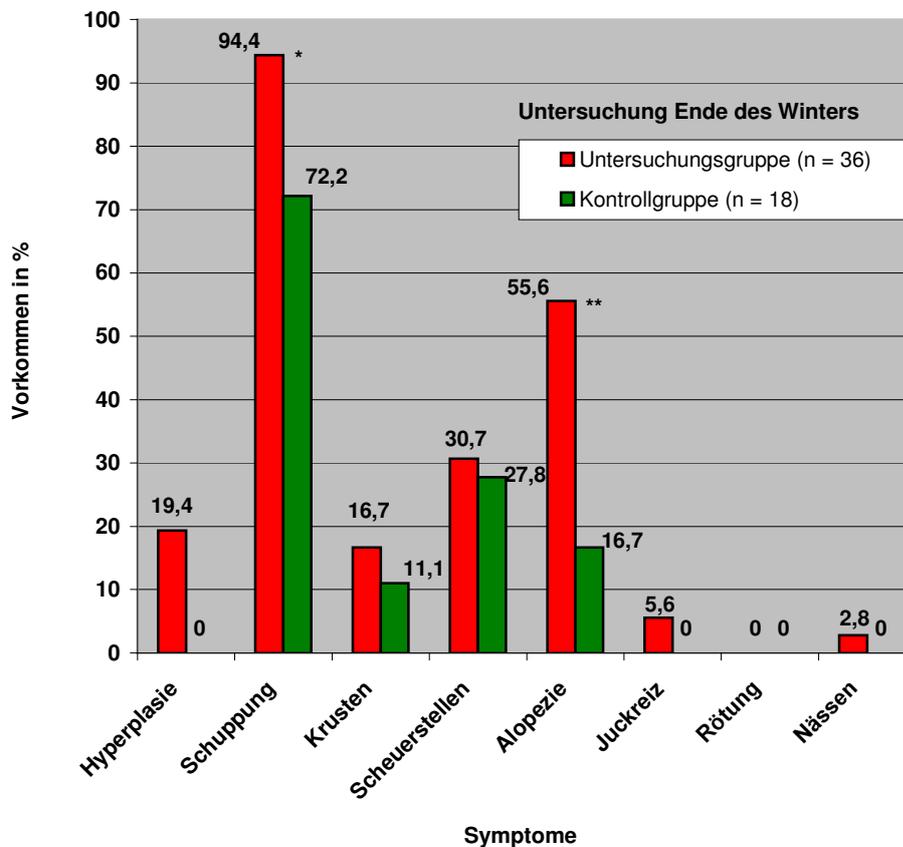


Abb. 4.1: Graphische Darstellung der Befunde der adspektorischen dermatologischen Untersuchung Ende des Winters: Vergleich von Pferden mit einer Disposition für SE (Untersuchungsgruppe, UG; n = 36) und einer unbelasteten Kontrollgruppe (KG; n = 18), Signifikanzen in Bezug auf die Unterschiede zwischen Verum- und Placebogruppe

Während bei beiden Pferdegruppen Scheuerstellen an Mähne oder Schweif bei ca. einem Drittel der Tiere, allerdings ohne Nachweis eines signifikanten Unterschiedes, beobachtet wurden, lagen für die Parameter Fellverlust und Schuppung der Haut hoch signifikante bzw. signifikante Unterschiede ($p < 0,01$ bzw. $p < 0,05$) vor. Fellverlust konnte besonders häufig im Bereich der Halsseiten am Übergang zum Mähnenkamm, aber auch im Keh- und Kopfbereich, an den Flanken und im Kruppenbereich festgestellt werden. Schwellungen der Haut betrafen hauptsächlich Bezirke am Mähnenkamm, am Übergang vom Mähnenkamm zum Halsbereich sowie an der Schweifrübe. Die Haut zeigte hier bei 5 der 7 Pferde mit Hyperplasie der Haut bereits Anfangsstadien der charakteristischen „Riefenbildung“ an Mähnenkamm bzw. Schweifrübe. In diesen Bereichen war bei 2 der 36 Pferde der UG Juckreiz leicht auslösbar. Eine Rötung der Haut wurde bei keinem Pferd und nässende Hautbereiche wurden nur bei einem diagnostiziert.

4.1.3 Untersuchung auf Dermatophyten

Die Untersuchung auf den Befall mit Dermatophyten wurde bei allen Pferden der Untersuchungs- und Kontrollgruppe wie in 3.1.3 beschrieben durchgeführt. Die Ergebnisse sind für beide Pferdegruppen in der folgenden Abb. 4.2 einander gegenübergestellt.

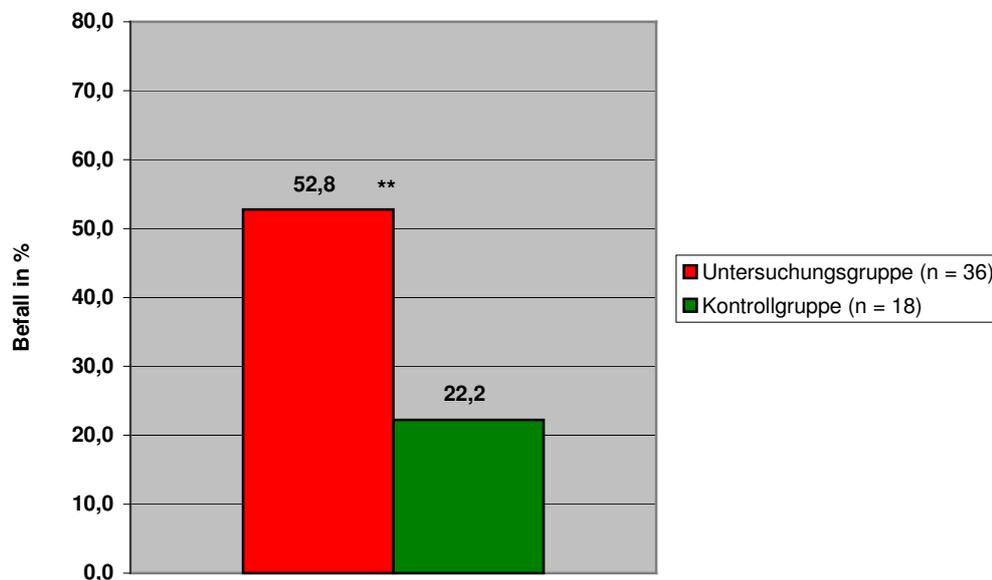


Abb. 4.2: In der Eingangsuntersuchung im Winter ermittelte Anzahl der Pferde in % mit positivem Dermatophytenbefund; Vergleich UG zu gesunden Kontrolltieren

Der beträchtliche Unterschied im Dermatophytenbefall zwischen den Pferden mit (UG) und ohne (KG) Disposition für SE erwies sich als hoch signifikant ($p < 0,01$).

4.1.4 Untersuchung auf Ektoparasiten

Die Proben für die Untersuchung auf Ektoparasiten wurden wie in 3.1.3 beschrieben entnommen. Bei der nachfolgenden mikroskopischen Untersuchung ergab sich bei allen 52 Pferden ein negativer Befund.

4.1.5 Untersuchung auf den Befall mit Endoparasiten

Die Kotproben wurden wie in 3.1.3 beschrieben entnommen und untersucht. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tab. 4.1. für beide Pferdegruppen dargestellt.

Tab. 4.1: Ergebnisse der Untersuchung auf den Befall mit Endoparasiten in der Gruppe mit Disposition für SE (Untersuchungsgruppe, UG) und der unbelasteten Kontrollgruppe

Befund	positiv		negativ	
	absolut (n =)	in %	absolut (n =)	in %
UG, (n = 35)	18	51,4	17	48,6
KG, (n = 18)	10	55,6	8	44,4

Es lagen gering- bis hochgradige Infektionen mit großen und kleinen *Strongyliden*, *Oxyuris equi* und *Parascaris equorum* vor.

Die Befallstärken unterschieden sich für beide Pferdegruppen nur geringfügig und außerdem nicht signifikant.

Im Anschluss an die Ergebnisse wurden alle Pferde durch orale Gabe von Fenbendazol (Panacur® Paste ad us. vet.) gleichermaßen entwurmt.

4.2 Ergebnisse der Voruntersuchungen

4.2.1 Ermittlung der optimalen Allergenextraktkonzentration für den Einsatz im CAST und HRT

Um die optimale Proteinkonzentration des *Culicoides*-Ganzkörperextraktes für den späteren Einsatz in den Labortests CAST und HRT zu ermitteln, wurde der hergestellte Extrakt durch Titration mit HACM auf mehrere verschiedene Konzentrationen eingestellt (s. Kap. 3.3.2.1). Im Anschluss wurden sowohl der CAST als auch der HRT mit den isolierten Leukozyten zweier Pferde aus der Gruppe mit Disposition für SE (Untersuchungsgruppe) durchgeführt. Abbildung 4.3. und 4.4 zeigen die ermittelte Histaminfreisetzung bzw. Leukotrienneubildung nach Stimulation mit dem *Culicoides*-Ganzkörperextrakt in verschiedenen Konzentrationen.

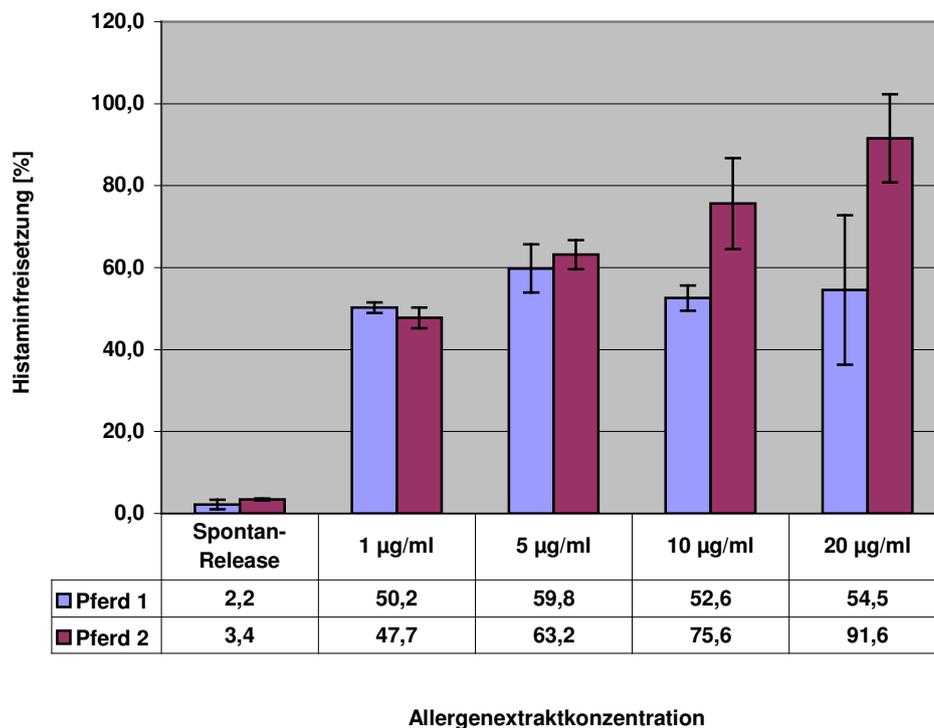
HRT:

Abb. 4.3: Histaminfreisetzung in % aus Basophilen Granulozyten zweier Pferde mit Disposition für das SE nach Stimulation mit einem *Culicoides*-Ganzkörperextrakt in verschiedenen Konzentrationen; Pferd 1 und 2. 100% entsprechen dem Gesamthistamingehalt der Zellen, ermittelt durch Zerstören der Zellen durch Kochen

Testauswertung:

Zur Ermittlung der prozentualen Histaminfreisetzung (s. Kap. 3.4.3) wird die gemessene allergeninduzierte Histaminfreisetzung jedes Probanden zunächst um die Spontanfreisetzung korrigiert und der Wert hiernach in Bezug zu dem jeweiligen Gesamthistamingehalt der Zellen gesetzt. Anschließend wird die Zellsensibilität (HR_{50}) bestimmt. Sie ist definiert als die Allergenkonzentration, die erforderlich ist, um 50% Histamin – bezogen auf den Gesamthistamingehalt – freizusetzen. Die Konzentration des eingesetzten Allergenextraktes sollte im Bereich der HR_{50} liegen. Daher wurde für die weitere Versuchsdurchführung eine Konzentration des *Culicoides*-Extraktes zwischen 1 µg/ml und 5 µg/ml gewählt.

Beurteilung der Testergebnisse:

Der Wert des Spontan-Releases (Hintergrund) sollte bei < 5% des Gesamthistamingehaltes liegen. Höhere Werte können durch Zellschädigungen verursacht werden. Um diese Ursache auszuschließen, wird bei jeder Messung die Spontanfreisetzung aus den Zellen bestimmt und

nur die Ergebnisse aus Messungen als aussagekräftig angesehen, deren Hintergrund bei < 5% des Gesamthistamingehaltes liegen.

Die allergenspezifische Histaminfreisetzung sollte > 5% des Spontan-Releases überschreiten, um als positiv gewertet zu werden.

CAST:

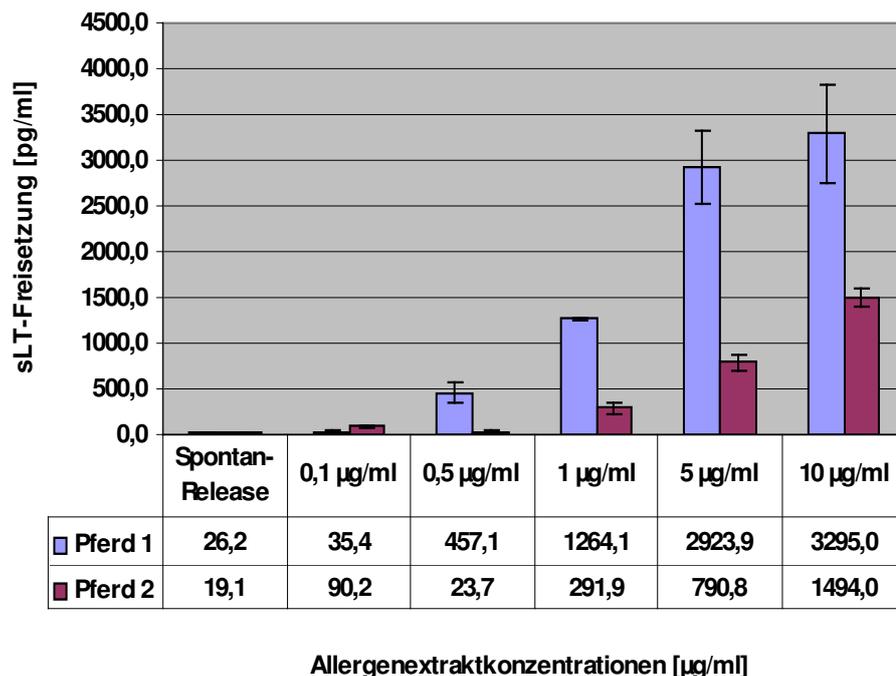


Abb. 4.4: Spontan-Release bzw. mittlere allergeninduzierte sLT-Freisetzung aus isolierten Leukozyten von 2 Pferden mit SE nach Stimulation mit verschiedenen Konzentrationen eines *Culicoides*-Ganzkörperextraktes; Pferd Nr. 1 und 2

Testauswertung:

Die sLT-Freisetzung wurde bei 405 nm gegen eine bei jedem Versuchsansatz neu erstellte Standardkurve gemessen (s. Kap. 3.4.2). Anschließend wurden die Ergebnisse um die basale sLT-Freisetzung (Hintergrund) korrigiert.

Beurteilung der Testergebnisse:

sLT-Freisetzungsraten von > 200 pg/ml gelten als positiv für das zur Stimulation eingesetzte Allergen und ebenso für die mitgeführte Stimulationskontrolle zum Nachweis von Vitalität und Funktionalität der isolierten Leukozyten.

Der Einsatz von Konzentrationen unter 1µg/ml erbrachte im CAST keine zuverlässige positive Antwort bei Pferden, die mit einer geringen sLT-Freisetzungsraten reagierten.

Anhand der ermittelten Ergebnisse wurden für die spätere Durchführung der Tests die Konzentrationen zwischen 1 und 5 µg/ml ausgewählt. Unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Reaktivität verschiedener Pferde bei den verschiedenen Konzentrationen des Allergenextraktes sowie der Ergebnisse des HRT wurden zur späteren Versuchsdurchführung die Konzentrationen 1,25 µg/ml, 2,5 µg/ml und 5 µg/ml gewählt. Die Konzentrationen wurden durch Titration der Vorratslösung mit HAGCM erreicht.

4.2.2 Ermittlung einer geeigneten Stimulationskontrolle zum Nachweis von Vitalität und Funktionalität der Leukozyten (CAST)

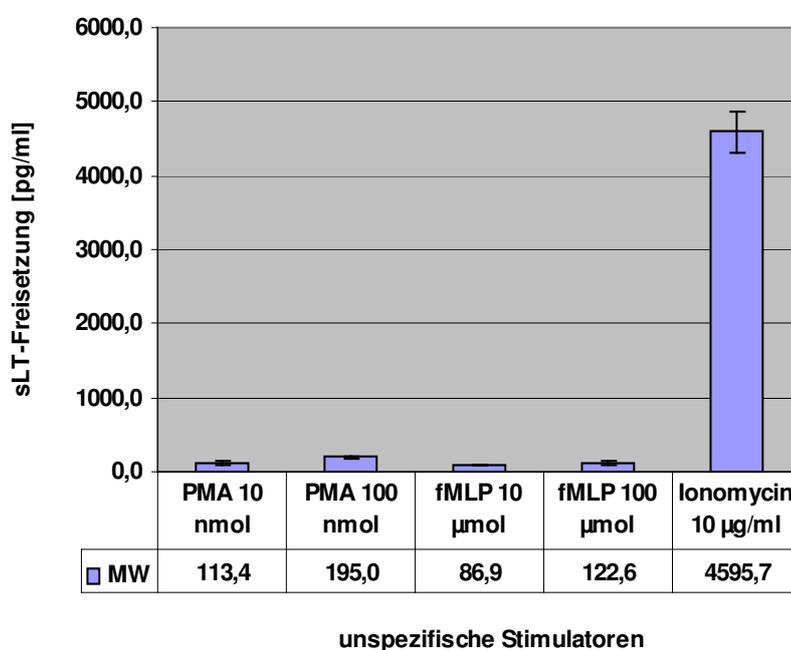


Abb. 4.5: sLT-Freisetzung aus isolierten Leukozyten von einem Pferd mit SE nach Stimulation mit verschiedenen unspezifischen Stimulatoren; Pferd Nr. 3

Während PMA und fMLP in den verschiedenen Konzentrationen im CAST keine positiven Antworten erbrachten, konnte eine sehr hohe sLT-Freisetzung nach der Stimulation mit dem Calcium-Ionophor Ionomycin ermittelt werden. Um zu überprüfen, wie sich der Einsatz von Ionomycin als unspezifischer Stimulator in niedrigeren Konzentrationen im CAST auswirkte, wurde eine Verdünnungsreihe hergestellt und der Test mit Ionomycin 0,01 µg/ml, 0,05 µg/ml und 0,1 µg/ml bei einem Pferd mit Disposition für SE durchgeführt (Abb. 4.6).

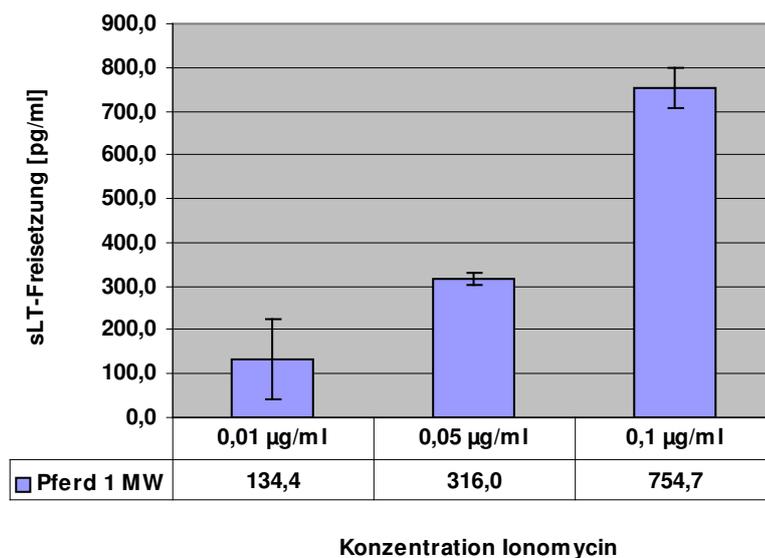


Abb. 4.6: Darstellung der mittleren sLT-Freisetzung aus isolierten Leukozyten von einem Pferd mit SE nach Stimulation mit Ionomycin in verschiedenen Konzentrationen; Pferd Nr. 1

Die Konzentrationen 0,05 und 0,1 µg/ml zeigten bei dieser Untersuchung zuverlässige Ergebnisse mit einer mittleren sLT-Freisetzung von > 200 pg/ml. Um dieses Ergebnis zu bestätigen, wurden die beiden Konzentrationen in einem weiteren Versuchsansatz bei jeweils 4 Pferden mit Disposition für SE erneut eingesetzt (Abb. 4.7 u. 4.8).

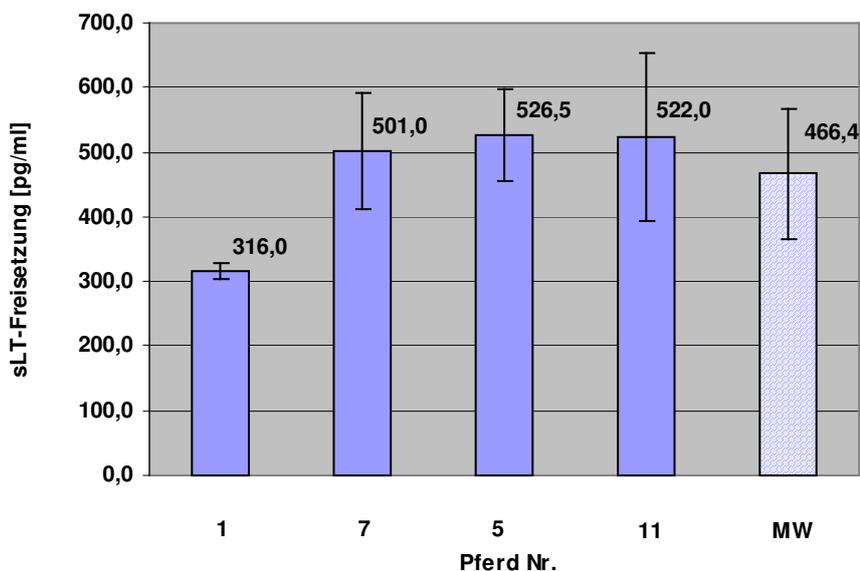


Abb. 4.7: Darstellung der mittleren sLT-Freisetzungsrates aus isolierten Leukozyten von 4 Pferden mit SE nach Stimulation mit Ionomycin [0,05 µg/ml] sowie des Mittelwertes der sLT-Freisetzungsrates

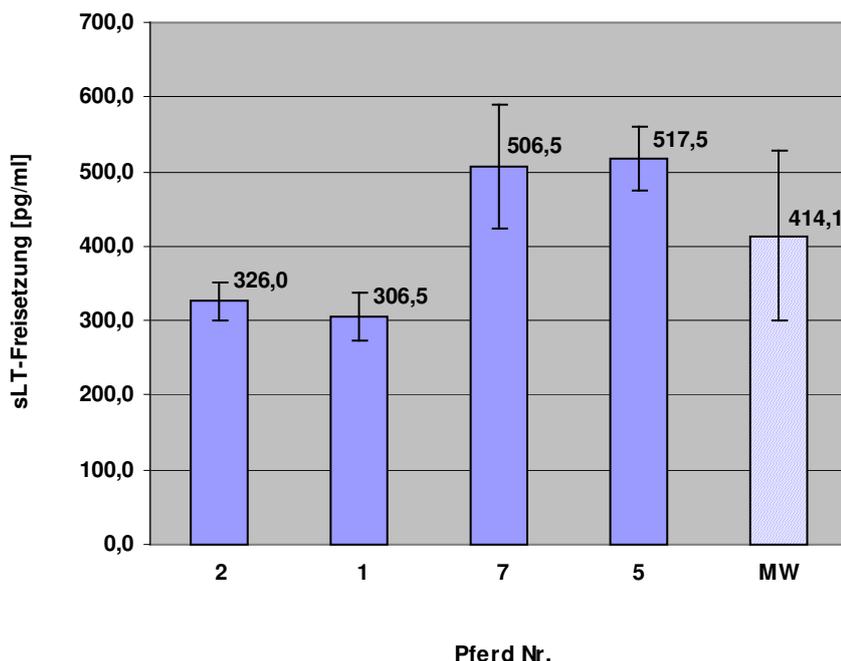


Abb. 4.8: Darstellung der mittleren sLT-Freisetzungsrates aus isolierten Leukozyten von 4 Pferden mit SE nach Stimulation mit Ionomycin [0,1 µg/ml] sowie des Mittelwertes der sLT-Freisetzungsrates

Beurteilung der Testergebnisse:

Ionomycin erwies sich sowohl in der Konzentration 0,05 µg/ml als auch in der von 0,1 µg/ml als zur Stimulation geeignet. Im CAST wurden konstant Werte von > 200 pg/ml erreicht. Daher wurden für die weitere Versuchsdurchführung die beiden o.g. Konzentrationen gewählt.

4.2.3 Ermittlung der geeigneten Konzentration von GM-CSF als Primer

Um eine höhere Reaktivität der Zellen in den In-vitro-Untersuchungen zu erreichen, wurden die isolierten Leukozyten vor der Stimulation mit einem Primer – hier dem Granulozyten-Makrophagen-Koloniestimulierenden Faktor (GM-CSF) – in verschiedenen Konzentrationen präinkubiert (Abb. 4.9 u. 4.10).

HRT:

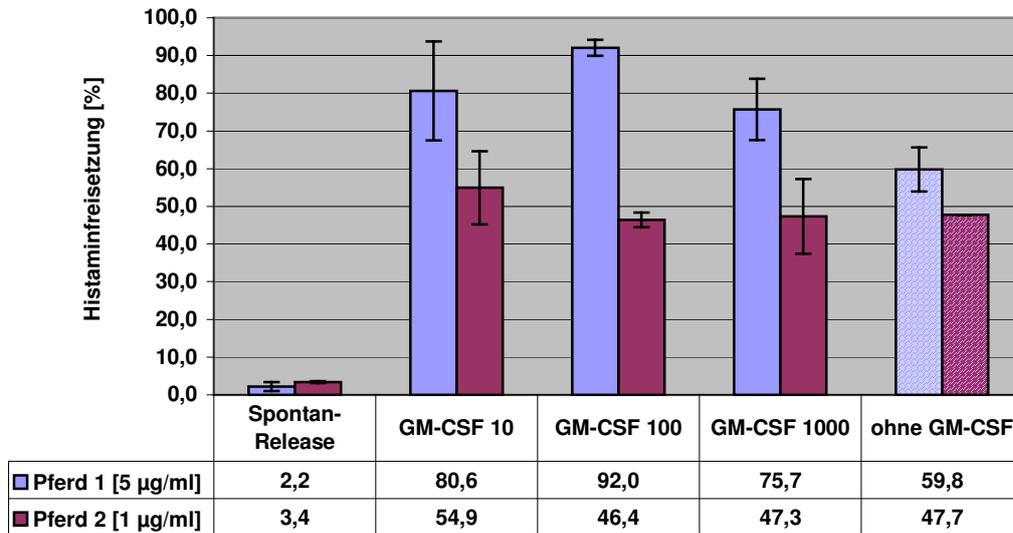


Abb. 4.9: Histaminfreisetzung nach Stimulation mit einem *Culicoides*-Extrakt in den Konzentrationen 1 bzw. 5 µg/ml mit bzw. ohne Präinkubation mit GM-CSF; Pferd Nr. 1 und 2. 100% entsprechen dem Gesamthistamingehalt der Zellen

CAST:

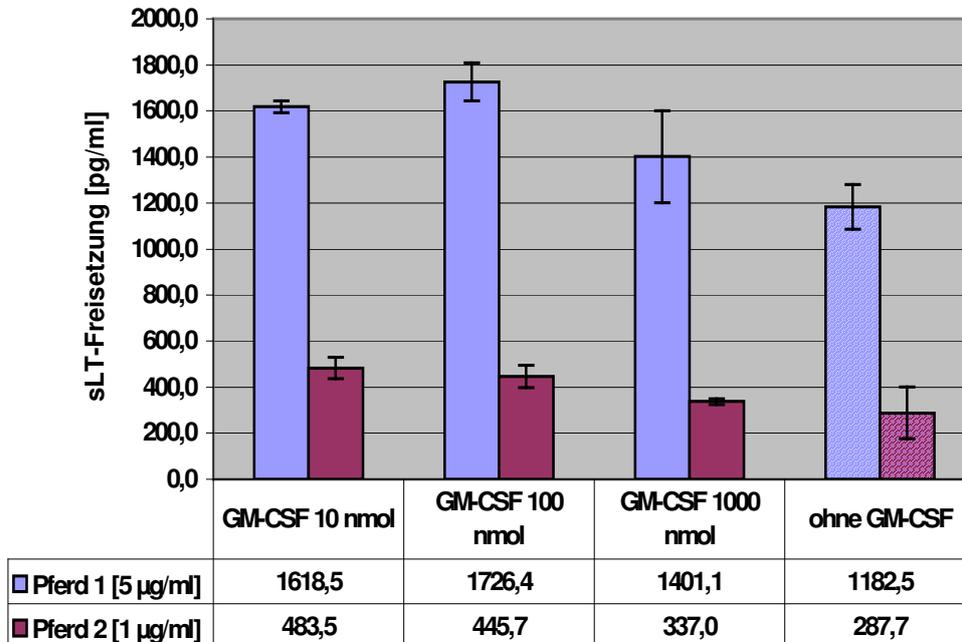


Abb. 4.10: sLT-Freisetzung aus isolierten Leukozyten zweier Pferde mit SE nach Stimulation mit einem *Culicoides*-Ganzkörperextrakt in den Konzentrationen 1 bzw. 5 µg/ml mit bzw. ohne Präinkubation mit GM-CSF; Pferd Nr. 1 und 2

Beurteilung der Testergebnisse:

Beide untersuchten Pferde gehörten zur Untersuchungsgruppe mit bekannter Disposition für SE. Bei Pferd 1 ergab sich nach Stimulation mit dem *Culicoides*-Extrakt [5 µg/ml] bei allen Konzentrationen von GM-CSF eine deutliche Steigerung sowohl der Histamin- [%] als auch der sLT-Freisetzung. Dagegen war die Primerwirkung bei Pferd 2 deutlich schwächer, wobei sie bei diesem Tier jedoch sowohl im HRT als auch im CAST in der Konzentration 10 nmol am stärksten ausfiel.

Unter Berücksichtigung der Ergebnisse beider Pferde wurde GM-CSF in der Konzentration von 10 nmol zum Einsatz als Primer für die folgenden Untersuchungen gewählt.

4.2.4 Ergebnisse zur Überprüfung der Lagerungsfähigkeit des Blutes

In diesem Versuch wurde der Einfluss der Lagerungsdauer auf die Funktionsfähigkeit und Stimulierbarkeit der equinen Leukozyten untersucht. Konkretes Ziel war, zu überprüfen, in welcher Weise die Ergebnisse im CAST und HRT durch die Dauer der Lagerung des Blutes beeinflusst werden. Dabei sollte die maximale Zeitspanne zwischen Blutentnahme und erfolgter Stimulation ermittelt werden, die noch korrekte Werte in beiden Tests ergab. Das entnommene Blut wurde bei RT gelagert (s. Kap.3.2.3.2). Die Isolierung der Leukozyten wurde erst unmittelbar vor der Stimulation der Zellen vorgenommen.

CAST:

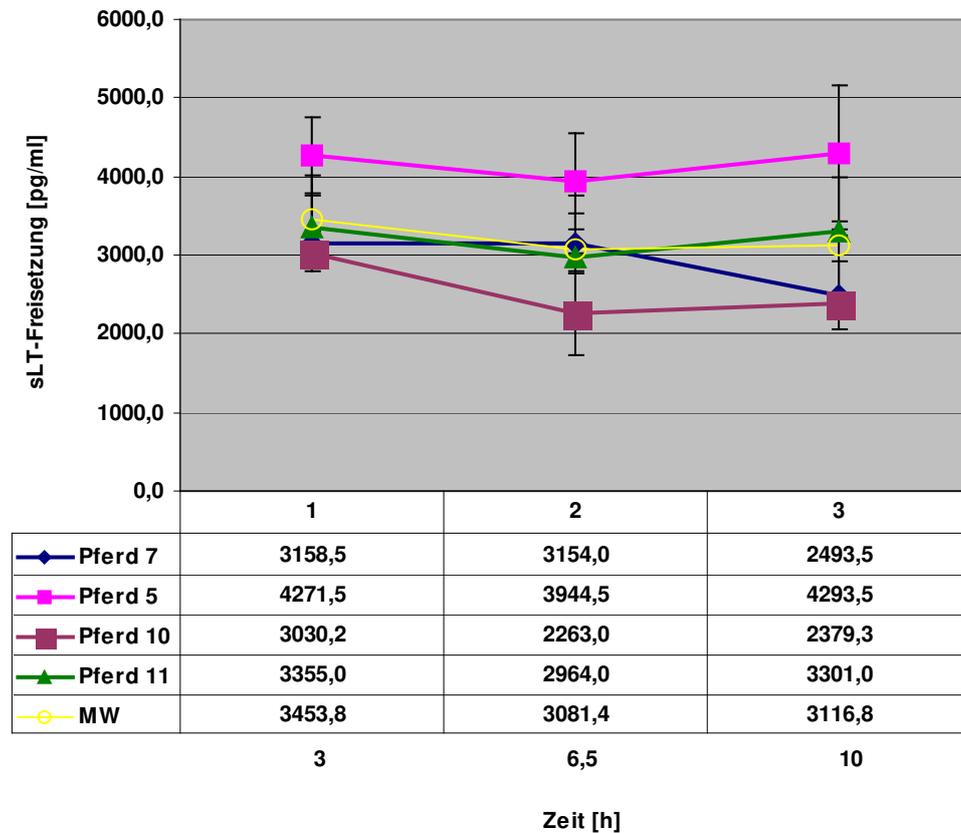


Abb. 4.11: sLT-Freisetzung aus isolierten equinen Leukozyten von 4 Pferden mit SE nach Stimulation mit einem *Culicoides*-Ganzkörperextrakt [2,5 µg/ml] zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Blutentnahme, sowie deren Mittelwert; Lagerung des Blutes bei RT

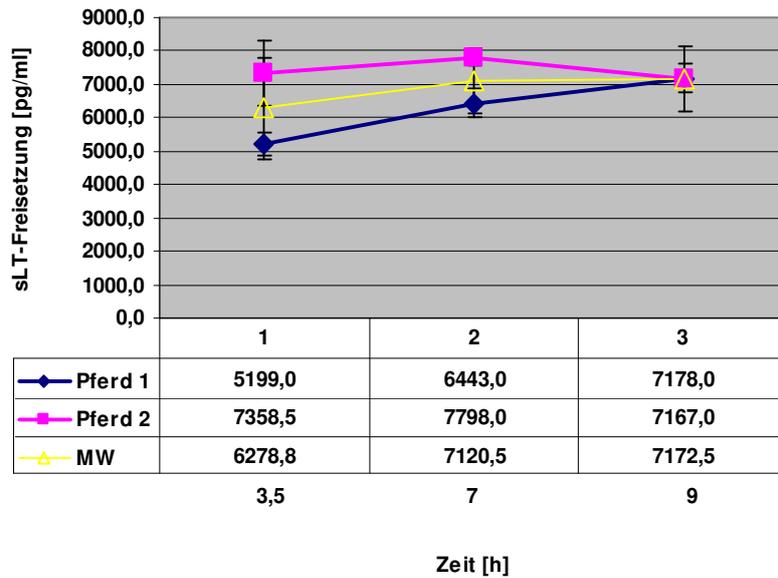


Abb. 4.12: sLT-Freisetzung aus isolierten equinen Leukozyten nach Stimulation mit einem *Culicoides*-Ganzkörperextrakt [2,5 µg/ml] zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Blutentnahme, sowie deren Mittelwert; Lagerung des Blutes bei RT

HRT:

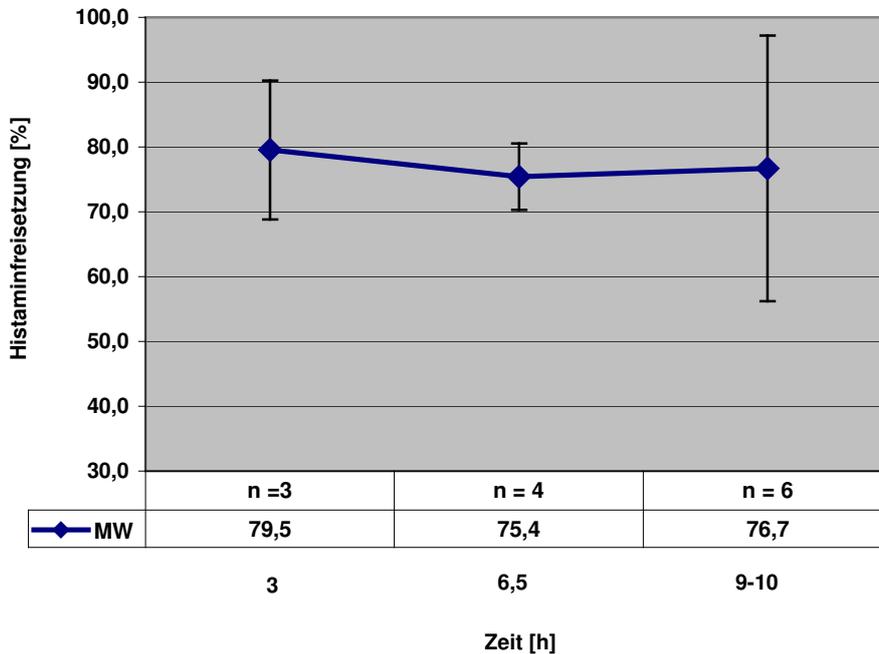


Abb. 4.13: Mittlere Histaminfreisetzung in % aus isolierten Leukozyten von Pferden mit SE nach Stimulation mit einem *Culicoides*-Ganzkörperextrakt [2,5 µg/ml] zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Blutentnahme, Lagerung des Blutes bei RT

Beurteilung der Ergebnisse:

Alle untersuchten Pferde zeigten zu den gewählten Zeitpunkten eine ausreichende Stimulierbarkeit der Zellen durch den Allergenextrakt.

Im CAST zeigten 3 der Pferde zwischen dem Zeitpunkt 3 und 6,5 h eine leichte Erhöhung der freigesetzten sLT, während die 3 anderen einen leichten Abfall der Werte zum Zeitpunkt 6,5 h hin aufwiesen. Der Mittelwert aller 6 Probanden stieg von Zeitpunkt 6,5 h zu 9 h an.

Im HRT stiegen die Mittelwerte aller Pferde nach einem Abfall zum Zeitpunkt 6,5 h zum Zeitpunkt 9-10 h hin wieder leicht an. Da jedoch zu diesem Untersuchungszeitpunkt eine starke Abweichung vom Mittelwert vorlag, wurde dieser Zeitraum als nicht geeignet eingestuft.

Um zuverlässige Werte zu erhalten, wurde daher für die spätere Versuchsdurchführung als maximaler Zeitraum zwischen Blutentnahme und Stimulation der Leukozyten 6 Stunden festgesetzt.

4.3 Ergebnisse der Hauptuntersuchungen

4.3.1 Ergebnisse der Prophylaxe-Phase

4.3.1.1 Untersuchungen zum Zeitpunkt des ersten Auftretens der Erkrankung

Zunächst war festzustellen, ob die prophylaktische Behandlung der Pferde den Ausbruch der Erkrankung verhindern oder verzögern kann. Die Behandlung der 17 Pferde der Prophylaxegruppe erfolgte wöchentlich mit Engystol[®] ad us. vet. und Eigenblut, sowie 2 x wöchentlich mit Carduus und Coenzyme compositum s.c.. Die 17 Tiere der Placebogruppe wurden 2 x wöchentlich mit steriler physiologischer NaCl-Lösung s.c. behandelt. Es wurde für jedes Pferd der Tag des ersten Auftretens von Symptomen des SE festgehalten und der Zeitraum zwischen Behandlungsbeginn (27.03.–07.04.) und Ausbruch der Erkrankung bestimmt.

In Abbildung 4.14 ist der Verlauf der Erkrankungszahlen der Verum- und Placebogruppe nach Behandlungsbeginn im Vergleich zueinander dargestellt.

Anzahl der erkrankten Pferde [je Gruppe n = 17]

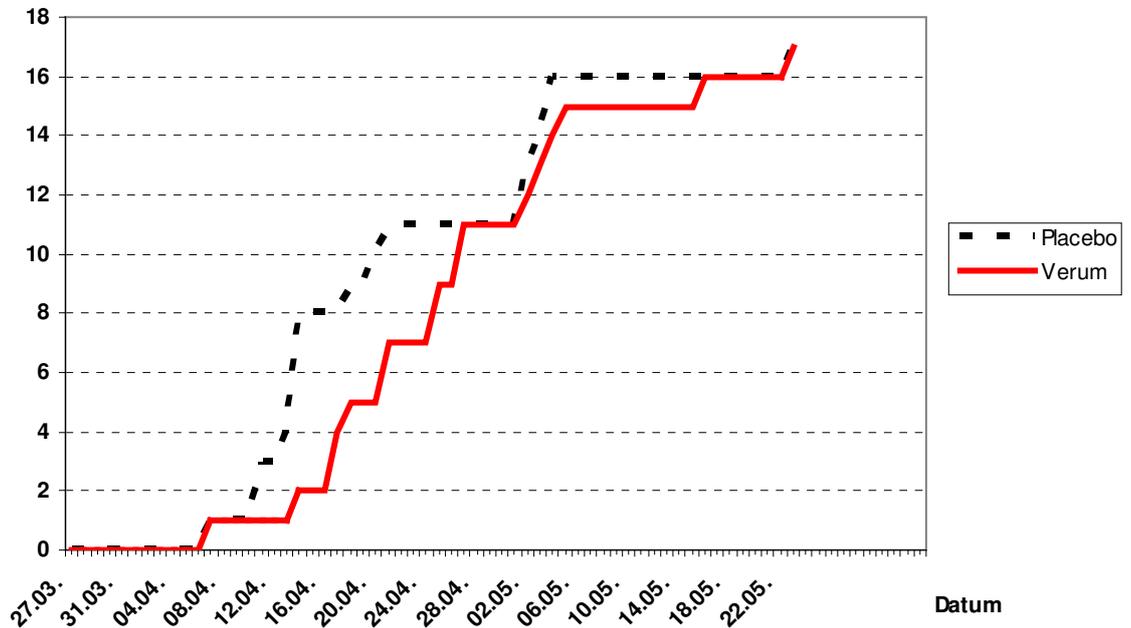


Abb. 4.14: Übersicht über den Zeitpunkt des ersten Auftretens des SE in der Verum- und Placebogruppe (je n = 17); Darstellung in Tagen nach Behandlungsbeginn

Die Pferde der Verumgruppe zeigten nach durchschnittlich 3,9 Wochen, die der Placebogruppe dagegen bereits nach durchschnittlich 2,9 Wochen die ersten Symptome des SE. Erfasst wurde hierbei das Auftreten der beiden Hauptsymptome Juckreiz und Hautveränderungen mittels speziell entwickelter Indices (s. Kap. 3.4.1). Die Verschiebung des Erkrankungszeitpunktes um 1 Woche erwies sich jedoch als statistisch nicht signifikant.

4.3.1.2 Einfluss der Präventivbehandlung auf das Differenzialblutbild

Hierzu wurde wöchentlich von jedem Pferd ein Differenzialblutbild angefertigt. Bei der Auswertung wurden die Veränderungen der Anzahl der Lymphozyten und der Eosinophilen Granulozyten besonders beachtet (Abb. 4.15, Abb. 4.16).

Lymphozytenzahlen:

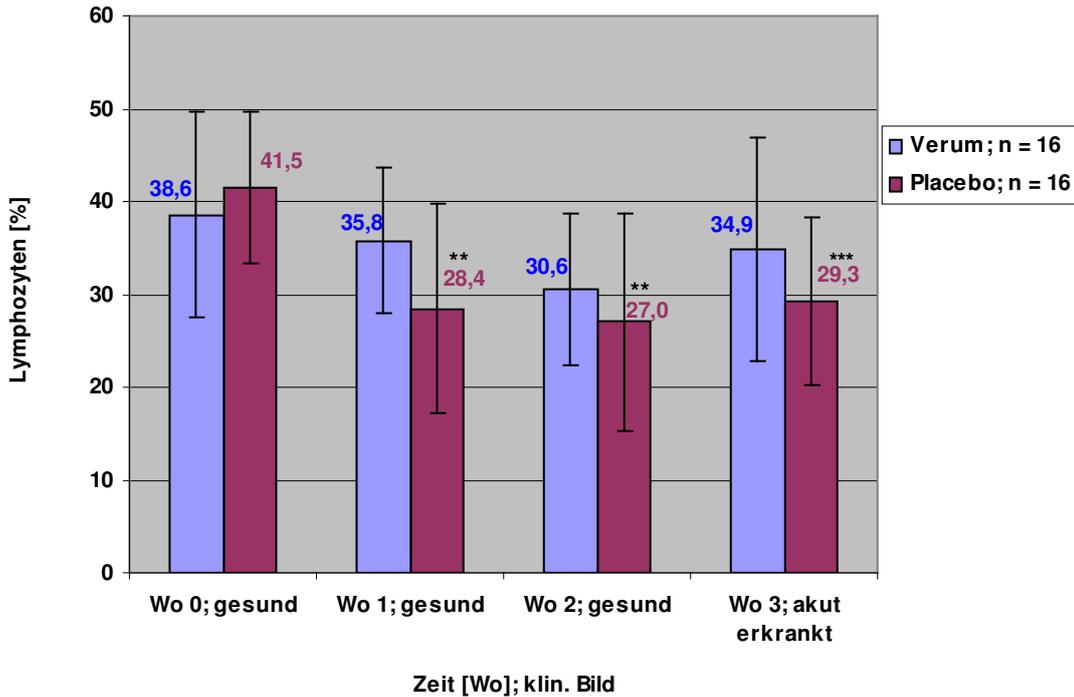


Abb. 4.15: Anzahl der Lymphozyten in % bei Pferden mit Disposition für SE vor und zum Zeitpunkt des Ausbruchs des Ekzems im Frühjahr; Vergleich Verum-/Placebogruppe, wöchentliche Entnahme, n = 32, Signifikanzen in Bezug auf den Zeitpunkt Wo 0

Die Ergebnisse zeigen, dass während der 3 Wochen vor Ausbruch der Erkrankung bereits ein deutlicher Abfall der Lymphozytenzahlen stattfindet. Dieser ist in der Placebogruppe besonders ausgeprägt und beträgt 12,2% (41,5% → 29,3%). Dieser Abfall ist sowohl von Woche 0 zu Woche 1 als auch von Woche 0 zu Woche 2 hoch signifikant ($p < 0,01$). Von Woche 0 zu Woche 3 (mit Ausbruch des Ekzems) ist er sogar höchst signifikant ($p < 0,001$). Die Verumgruppe zeigt im Vergleich hierzu einen deutlich geringeren Abfall der Lymphozytenzahlen um 3,7% (38,6% → 34,9%). Der Abfall der Zellzahlen weist zu keinem Zeitpunkt eine statistische Signifikanz auf. Hingegen kommt es bei der Verumgruppe zu Beginn der Erkrankung hin sogar zu einem deutlichen Anstieg der Lymphozytenzahlen von 4,3% (30,6% → 34,9%).

Die verringerten n-Zahlen (Untersuchungsgruppe: n = 36) ergaben sich aus teilweise nicht auswertbaren Differenzialblutbildern bzw. Abwesenheit einzelner Probanden zum Zeitpunkt der Blutentnahme.

Anzahl der Eosinophilen Granulozyten:

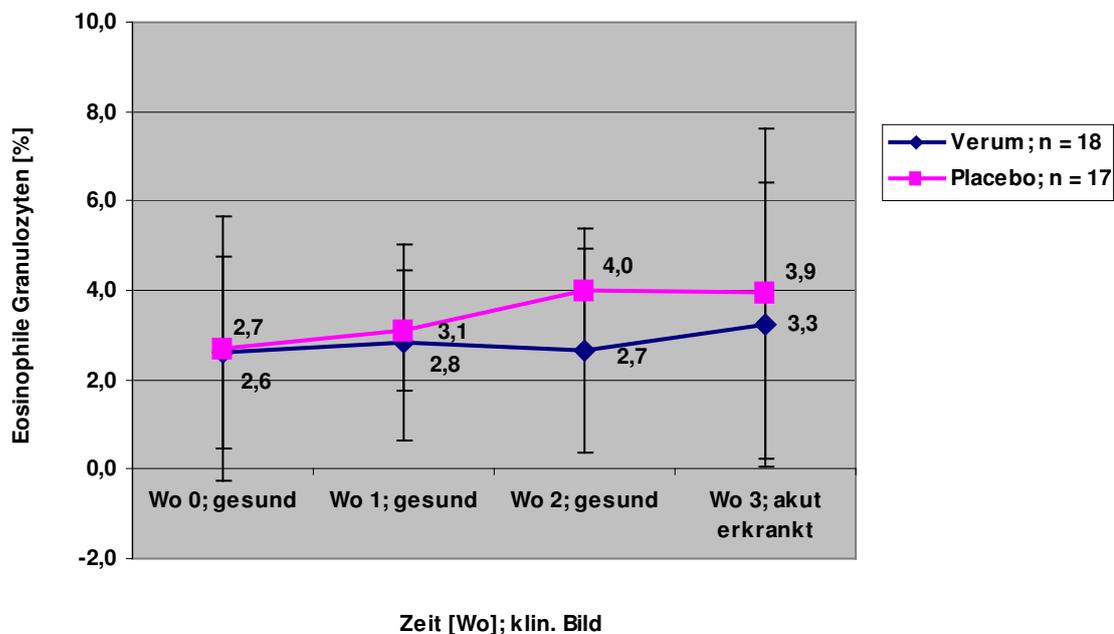


Abb. 4.16: Anzahl der Eosinophilen Granulozyten in % von Pferden mit Disposition für SE vor und zum Zeitpunkt des Ausbruches des Ekzems im Frühjahr; Vergleich Verum-/Placebogruppe, wöchentliche Entnahme, n = 35

Die Anzahl der Eosinophilen Granulozyten war unter der präventiven Behandlung während der 3 Wochen vor Ausbruch des Ekzems sowie zu dem Zeitpunkt der Erkrankung geringer als in der Placebogruppe. Dieser Unterschied erwies sich jedoch als nicht signifikant.

4.3.1.3 Einfluss der Präventivbehandlung auf die Ergebnisse in den funktionellen In-vitro-Tests (HRT, CAST)

Die Ergebnisse sind in den nachfolgenden Abb. 4.17 und 4.18 graphisch dargestellt.

HRT:

Gesamthistamingehalt der Basophilen Granulozyten

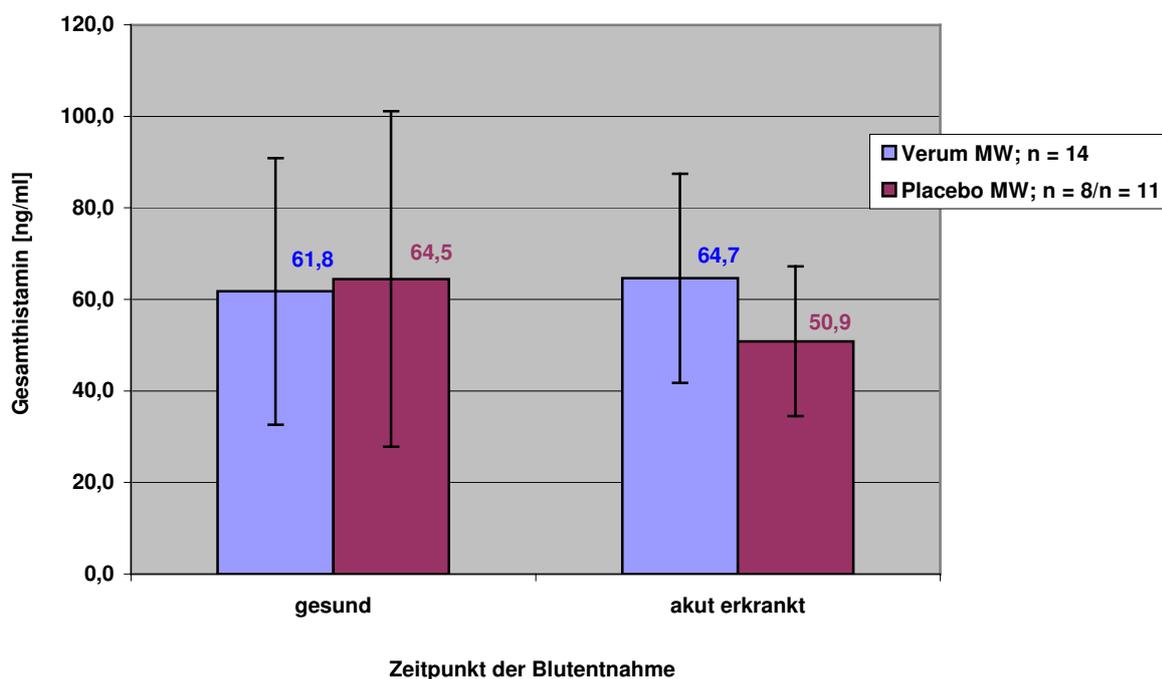


Abb. 4.17: Vergleich des Gesamthistamingehaltes der Basophilen Granulozyten von klinisch gesunden und an SE erkrankten Pferden in der Verum- (n = 14) und der Placebogruppe (n = 8 bzw. n = 11) vor und während des Ausbruches von SE im Frühjahr

Der Gesamthistamingehalt steigt in der Verumgruppe vom Zeitpunkt der Blutentnahme bei klinisch unauffälligem Bild zum Stadium „akut erkrankt“ um 3,1 ng/ml leicht an (61,8 → 64,9). Dagegen nahm er im gleichen Zeitraum in der Placebogruppe deutlich um 13,6 ng/ml ab (64,5 → 50,9). Dieser Unterschied war jedoch statistisch nicht signifikant. Die unterschiedlichen n-Zahlen in den beiden Gruppen ergaben sich aus teilweise nicht auswertbaren Ergebnissen bei der Gesamthistaminbestimmung sowie Abwesenheit einzelner Probanden zum Zeitpunkt der Blutentnahme.

Histaminfreisetzung [%] aus Basophilen Granulozyten

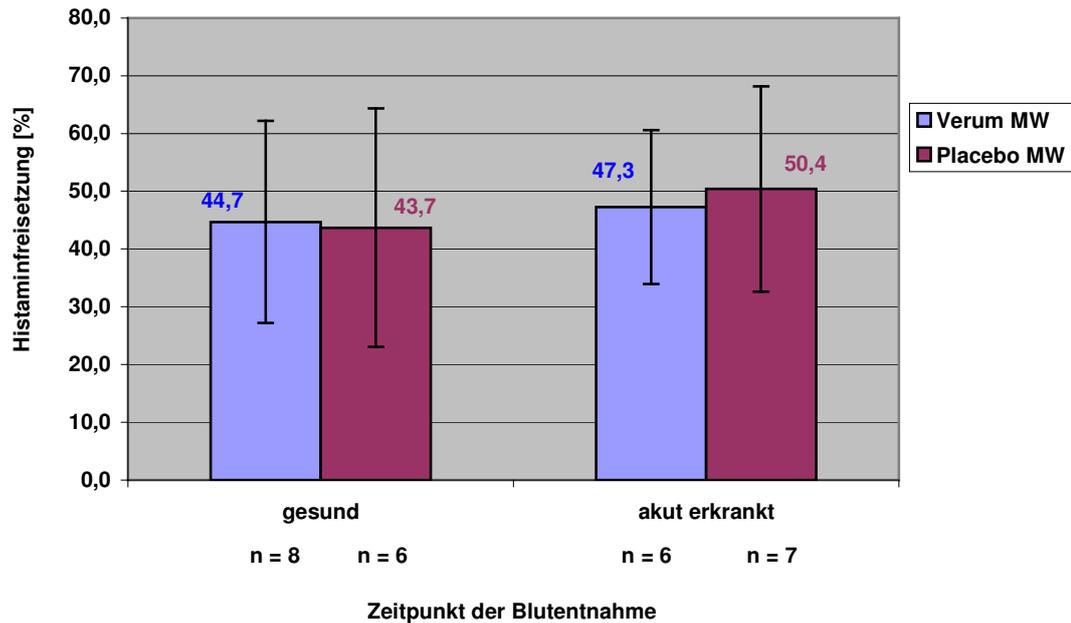


Abb. 4.18: Vergleich der Histaminfreisetzung [%] aus equinen Basophilen Granulozyten in der Verum- und Placebogruppe vor und während des Ausbruches von SE.

Die Histaminfreisetzung in % vom Gesamthistamingehalt der Zellen nahm zu den gleichen Untersuchungszeitpunkten in beiden Gruppen zu. Der Anstieg betrug in der Verumgruppe 2,6% und in der Placebogruppe 6,7%. Dieser Unterschied war ohne statistische Relevanz. Die unterschiedlichen n-Zahlen ergaben sich aus teilweise nicht auswertbaren Ergebnissen der durchgeführten Tests sowie Abwesenheit einzelner Probanden aus beiden Gruppen zum Zeitpunkt der Blutentnahme.

Um einen Vergleich zu dem Gesamthistamingehalt Basophiler Granulozyten gesunder Pferde ohne Disposition für das SE sowie der prozentualen Histaminfreisetzung nach Stimulation mit einem *Culicoides*-Extrakt ziehen zu können, wurde 10 Pferden der Kontrollgruppe (KG) im Frühjahr Blut abgenommen und der HRT durchgeführt.

Die Ergebnisse sind in Abb. 4.19 graphisch dargestellt.

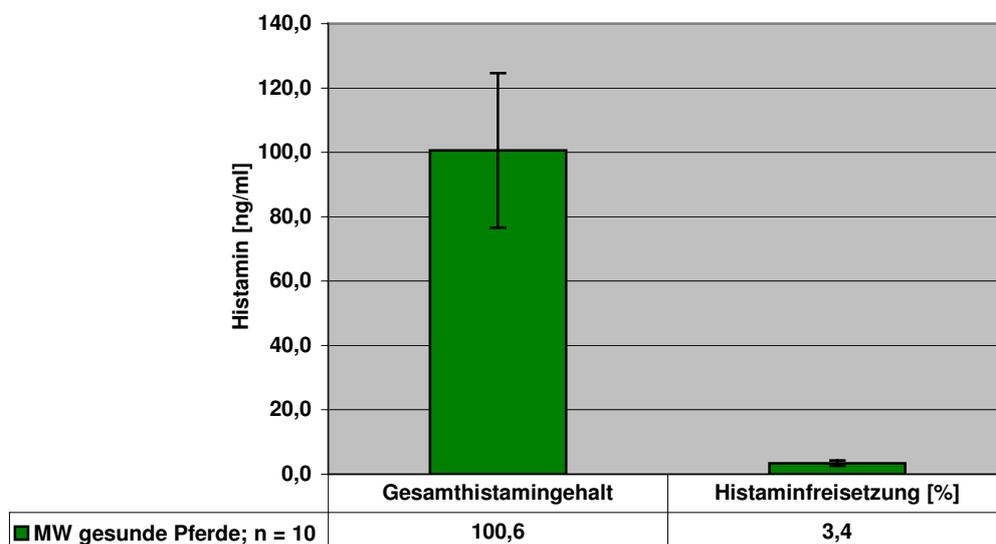
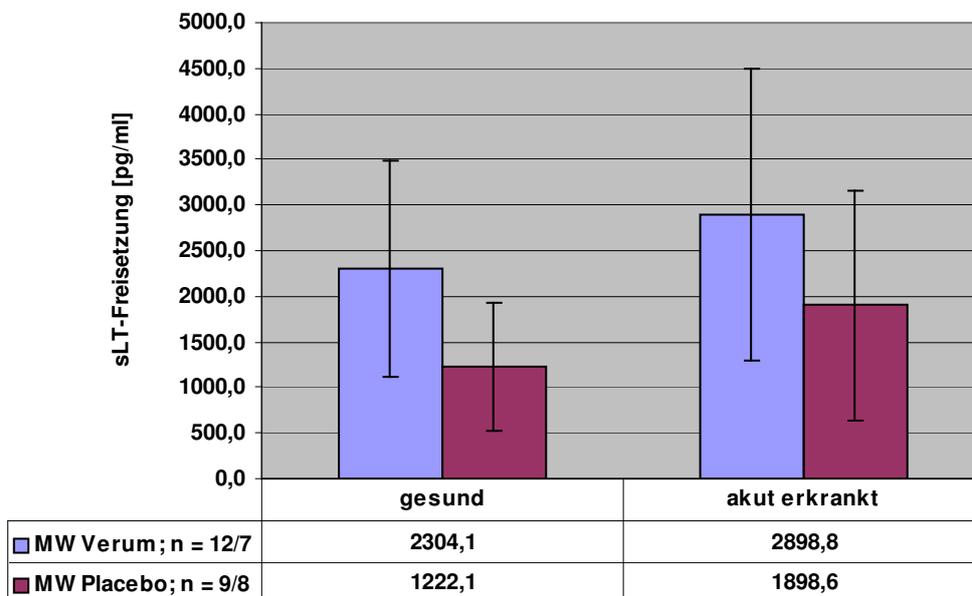


Abb. 4.19: Gesamthistamingehalt und Histaminfreisetzung aus Basophilen Granulozyten von Pferden ohne Disposition für SE im Frühjahr nach Stimulation mit einem *Culicoides*-Extrakt; n = 10, Kontrollgruppe (KG)

CAST:



Zeit/klin. Bild

Abb. 4.20: Vergleich der sLT-Freisetzung aus Basophilen Granulozyten von klinisch gesunden und an SE erkrankten Pferden in der Verum- (n = 12 bzw. 7) und der Placebogruppe (n = 9 bzw. n = 8) vor und während des Ausbruches von SE im Frühjahr

Wie aus Abb. 4.20 ersichtlich, zeigen die sLT-Freisetzungsraten zum Zeitpunkt der Blutentnahme bei klinisch unauffälligem Bild sowohl in der Verumgruppe als auch in der Placebogruppe einen niedrigeren Wert als zum Zeitpunkt des Ausbruchs von SE. Der Anstieg zum Zeitpunkt „akut erkrankt“ hin ist hierbei in der Verumgruppe mit 594,7 pg/ml niedriger als in der Placebogruppe (676,5 pg/ml). Auffallend ist jedoch, dass die in der Placebogruppe zusammengefassten Pferde zufällig eine ohnehin relativ niedrige sLT-Freisetzungsraten zeigen. Berücksichtigt man diese Tatsache und vergleicht den prozentualen Zuwachs in den jeweiligen Gruppen, so liegt dieser bei 25,8% in der Verum- bzw. 55,4% in der Placebogruppe. Auch dieser Unterschied zwischen den beiden Gruppen ist jedoch aufgrund der hohen Standardabweichungen statistisch nicht signifikant.

Die unterschiedlichen n-Zahlen in den beiden Gruppen ergaben sich aus teilweise nicht auswertbaren Ergebnissen bei der Bestimmung der sLT-Freisetzung sowie Abwesenheit einzelner Probanden zum Zeitpunkt der Blutentnahme.

4.3.2 Ergebnisse der Untersuchungen zur Klärung einer Ekzemdisposition

Für Züchter, Verkäufer und Käufer von Islandpferden ist die Frage nach der Ekzemdisposition von großer wirtschaftlicher Bedeutung.

Ziel dieser Untersuchungen war es, festzustellen, ob zu einem Zeitpunkt ohne klinische Symptomatik des SE bereits Unterschiede in den funktionellen In-vitro-Tests CAST und HRT bzw. in bestimmten Blutparametern zwischen Pferden mit und ohne Disposition für SE bestehen. Hierzu wurden je 7 Pferden im Winter Blutproben entnommen und diese im CAST, HRT, sowie auf die Entzündungsproteine CRP und Haptoglobin untersucht.

4.3.2.1 Untersuchungsergebnisse im CAST

Jeweils 7 Pferden mit Disposition für SE (Untersuchungsgruppe) bzw. unbelasteten Tieren (Kontrollgruppe) wurde zu einem Zeitpunkt ohne klinische Symptomatik von SE Blut entnommen. Anhand des klinischen Bildes konnte keine Differenzierung zwischen Pferden mit und ohne Disposition für SE vorgenommen werden.

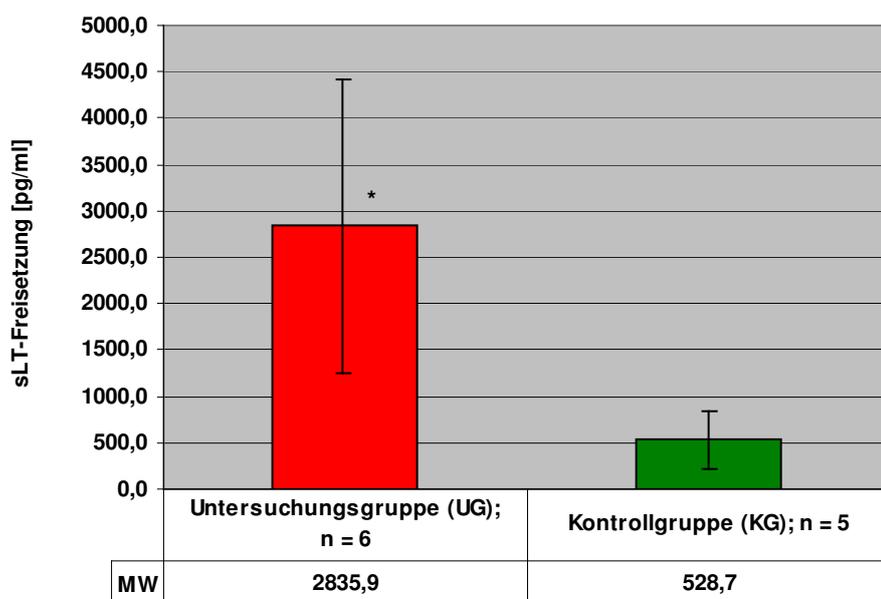


Abb. 4.21: sLT-Freisetzung aus isolierten equinen Leukozyten von Pferden mit (UG) und ohne (KG) Disposition für SE nach Stimulation mit einem *Culicoides*-Extrakt; Blutentnahme im Winter bei symptomfreien Pferden

Wie aus der Abbildung 4.21 hervorgeht, konnte ein beträchtlicher und signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) in der sLT-Freisetzung nach Stimulation mit einem *Culicoides*-Ganzkörperextrakt zwischen den Pferden mit und ohne Disposition für SE festgestellt werden. Die unterschiedlichen n-Zahlen ergeben sich aus teilweise nicht aussagekräftigen Werten bei der Bestimmung der sLT-Freisetzung.

4.3.2.2 Untersuchungsergebnisse im HRT

Ebenso wurde bei je 7 symptomfreien Pferden mit und ohne Disposition für das SE Blut abgenommen und der Gesamthistamingehalt der Basophilen Granulozyten bestimmt.

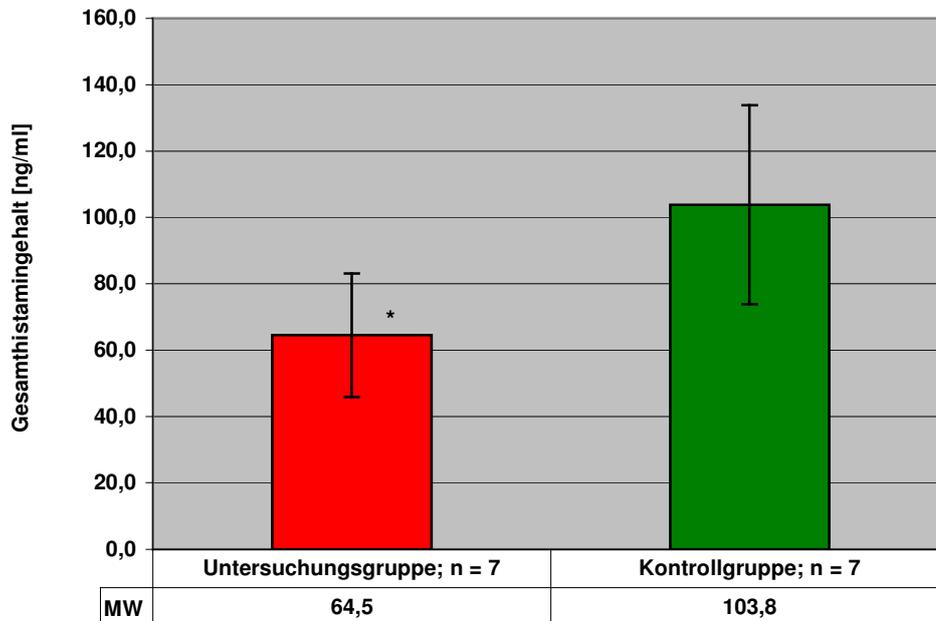


Abb. 4.22: Vergleich des Gesamthistamingehaltes Basophiler Granulozyten symptomfreier Pferde mit (UG) und ohne (KG) Disposition für SE, Blutentnahme im Winter; je Gruppe n = 7

Es konnte ein deutlich und signifikant niedriger Gesamthistamingehalt ($p < 0,05$) bei den Pferden mit Disposition für das SE im Vergleich zu der unbelasteten Kontrollgruppe festgestellt werden.

Zusätzlich zum Gesamthistamingehalt wurde die prozentuale Histaminfreisetzung nach Stimulation der isolierten Zellen beider Pferdegruppen mit einem *Culicoides*-Ganzkörperextrakt bestimmt (Abb. 4.23).

Ziel war, herauszufinden, ob durch Nachweis verschieden hoher Histaminfreisetzungsraten eine Differenzierung zwischen den beiden Gruppen mit Hilfe des HRT möglich ist.

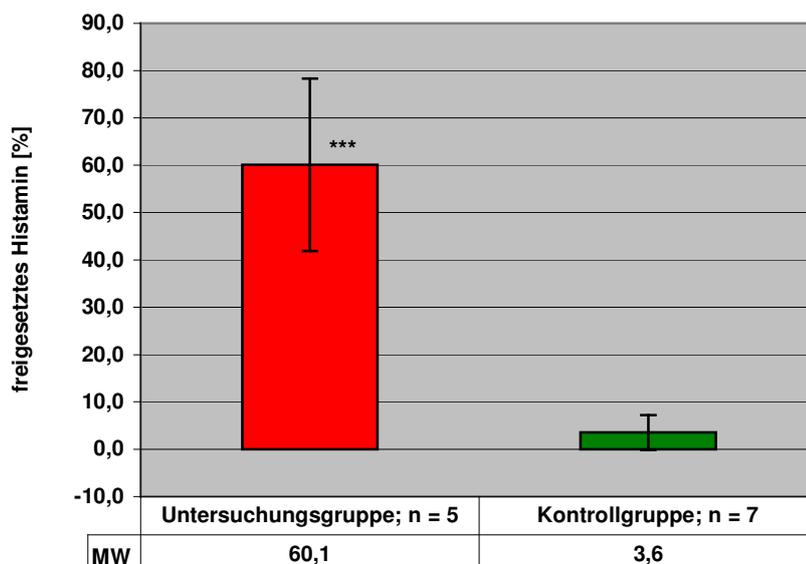


Abb. 4.23: Vergleich der Histaminfreisetzung in % vom Gesamthistamingehalt aus equinen Basophilen Granulozyten nach Stimulation mit einem *Culicoides*-Extrakt bei Pferden mit (UG) und ohne (KG) Disposition für SE, Blutentnahme im Winter

Wie aus Abb. 4.23 ersichtlich, setzten die isolierten Leukozyten der Pferde mit nachgewiesener Disposition für das SE auch zur Winterzeit und in symptomfreiem Zustand nach entsprechender Stimulation erheblich mehr Histamin frei. Dieser Unterschied erwies sich statistisch gesehen als höchst signifikant ($p < 0,001$).

4.3.2.3 Gehalt an Serum-CRP bei Pferden mit und ohne Disposition für das SE

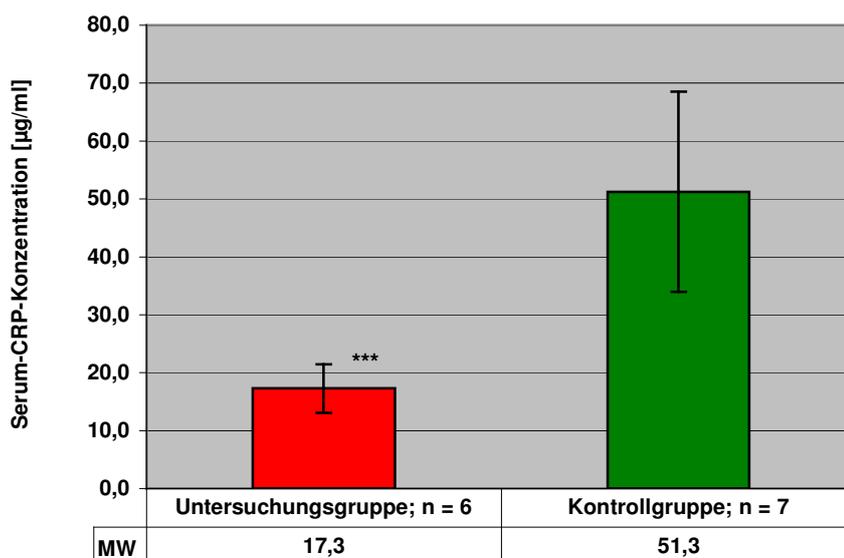


Abb. 4.24: Vergleich der Konzentration des Serum-CRP von Pferden mit (UG) und ohne (KG) Disposition für SE; Blutentnahme im Winter bei symptomfreien Tieren

Die Pferde der Untersuchungsgruppe zeigten mit einem mittleren Serum-CRP-Spiegel von 17,3 µg/ml einen deutlich niedrigeren Wert als die Kontrollgruppe (51,3 µg/ml). Dieser Unterschied zwischen den Serum-CRP-Spiegeln von Pferden mit und ohne Disposition für SE erwies sich als höchst signifikant ($p < 0,001$).

4.3.2.4 Gehalt an Serum-Haptoglobin bei Pferden mit und ohne Disposition für das SE

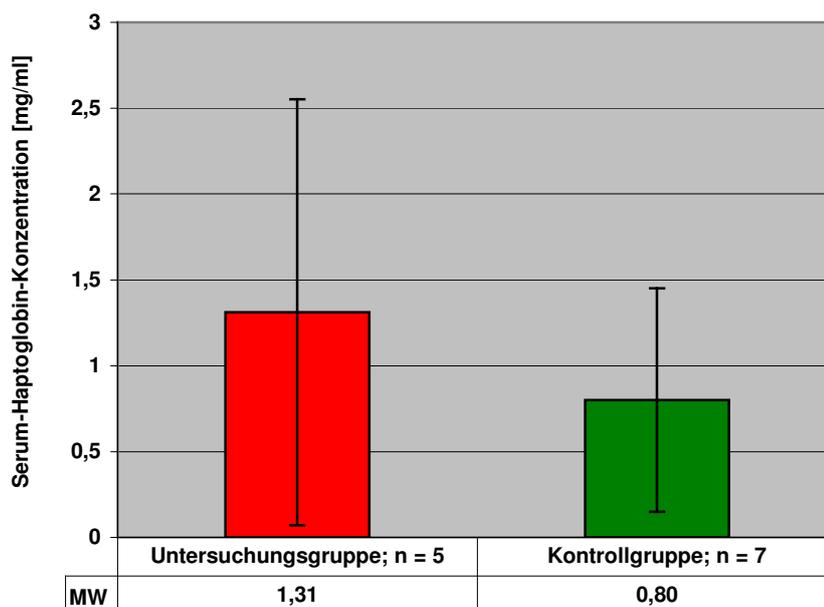


Abb. 4.25: Vergleich der Konzentration des Serum-Haptoglobin-Spiegels von Pferden mit (UG) und ohne (KG) Disposition für SE; Blutentnahme im Winter bei symptomfreien Tieren

Die Pferdegruppe mit Disposition für SE zeigte mit 1,31 mg/ml einen deutlich höheren mittleren Serum-Haptoglobin-Spiegel als die Kontrollgruppe (0,80 mg/ml) ohne Disposition für SE. Bei der statistischen Prüfung erwies sich diese Differenz jedoch als nicht signifikant.

4.3.3 Ergebnisse der Therapiephase

4.3.3.1 Verlauf des Gesamthistamingehaltes der equinen Basophilen Granulozyten

Um zu beurteilen, ob und welchen Einfluss die eingesetzte Therapie auf den Gesamthistamingehalt der equinen Basophilen Granulozyten an SE erkrankter Pferde hat, wurde allen Pferden der Untersuchungsgruppe in wöchentlichen Abständen Blut entnommen. Es wurde die Gesamthistaminmenge der Basophilen Granulozyten bestimmt und diese auf Unterschiede zwischen dem Zeitpunkt der Symptomfreiheit, des Krankheitsausbruches sowie während einer 19-wöchigen Therapie hin untersucht.

In der nachfolgenden Abb. 4.26 ist der Gesamthistamingehalt der Zellen während dieser Zeit graphisch dargestellt.

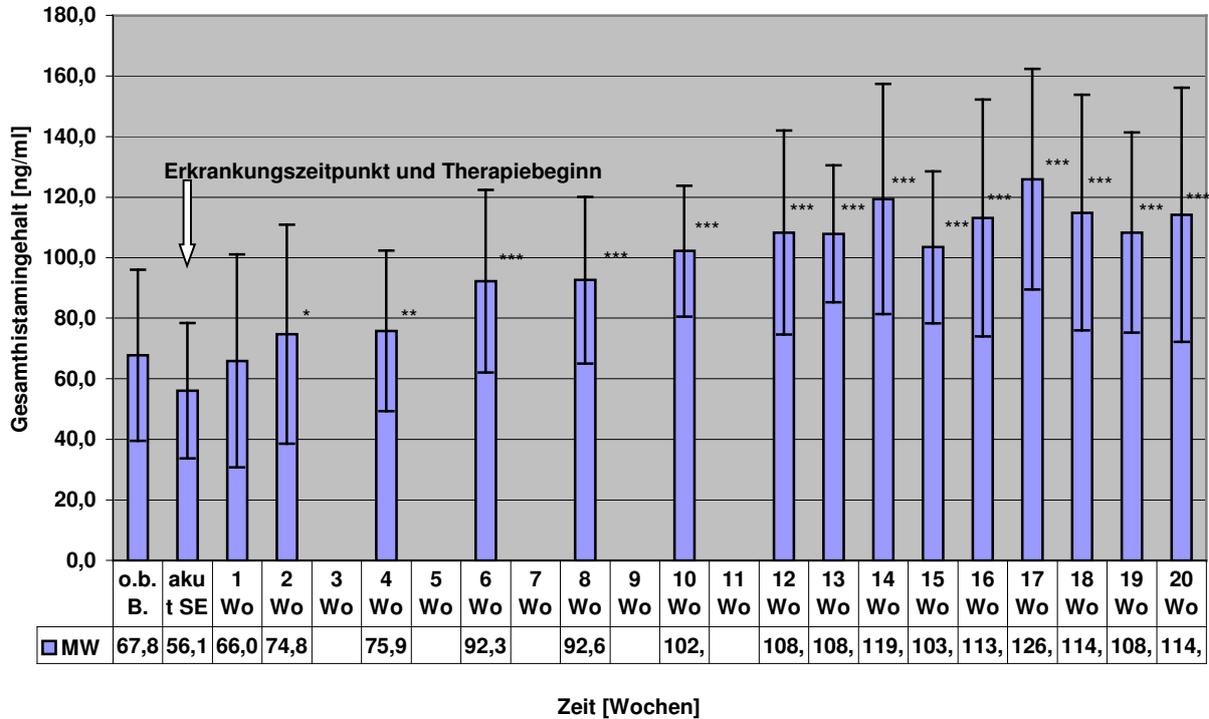


Abb. 4.26: Darstellung des Verlaufes des mittleren Gesamthistamingehaltes Basophiler Granulozyten von Pferden mit SE vor und während des Ausbruchs der Erkrankung, sowie unter wöchentlicher Therapie; Signifikanzen in Bezug auf den Zeitpunkt des Auftretens von ersten Symptomen von SE („akut SE“); n-Zahlen s. Tab. 9.26

Wie aus Abb. 4.26 ersichtlich, kommt es zum Zeitpunkt des ersten Auftretens von Symptomen des SE zunächst zu einem Abfall des Gesamthistamingehaltes der equinen Basophilen Granulozyten (67,8 → 56,1 ng/ml). Im weiteren Verlauf ist unter der wöchentlichen Therapie bei den an SE erkrankten Pferden ein deutlicher Anstieg des Gesamthistamingehaltes der Basophilen Granulozyten nachzuweisen. In Bezug zum Zeitpunkt der akuten Erkrankung an SE ist dieser Anstieg ab der 2. Therapiewoche bereits signifikant ($p < 0,05$), ab der 4. Therapiewoche hoch signifikant ($p < 0,01$) und von der 6. bis einschließlich der 20. Therapiewoche über einen Zeitraum von 15 Wochen sogar höchst signifikant ($p < 0,001$).

In der folgenden Abb. 4.27 sind die Signifikanzen in Bezug auf den Gesamthistamingehalt klinisch noch gesunder Pferde vor dem Ausbruch des SE dargestellt.

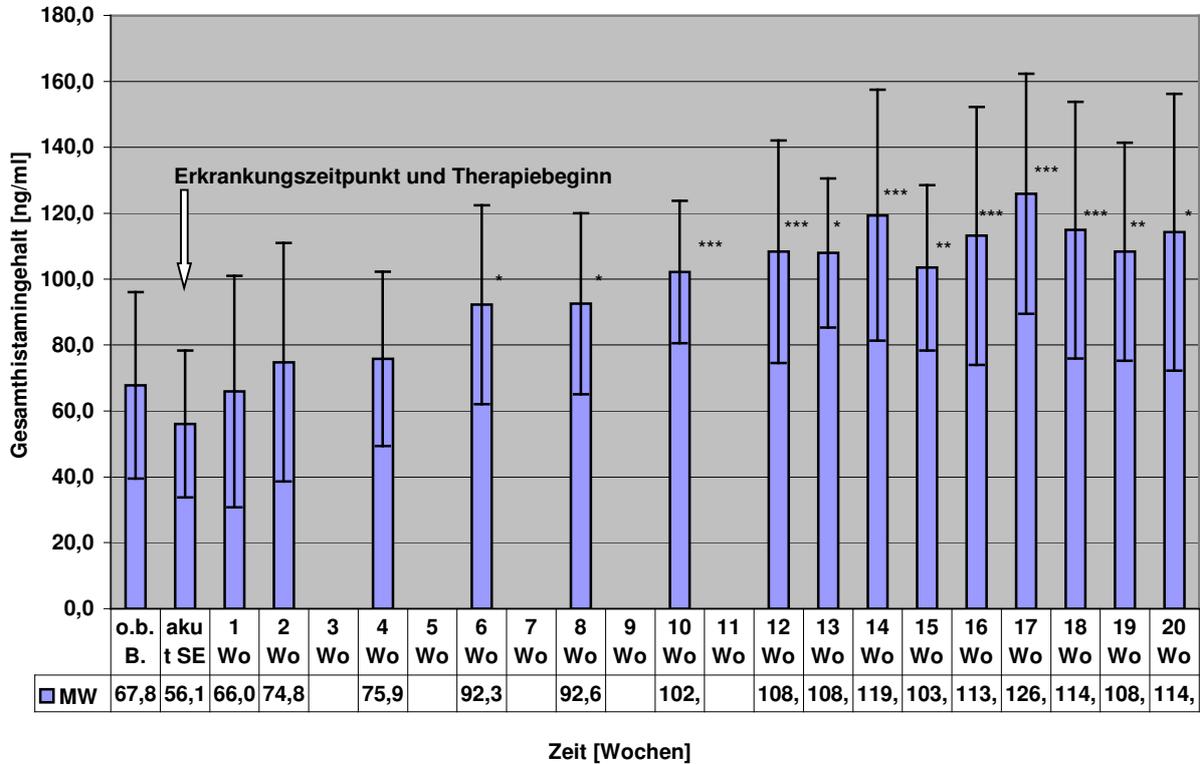


Abb. 4.27: Darstellung des Verlaufes des Gesamthistamingehaltes Basophiler Granulozyten von Pferden mit SE vor und während des Ausbruchs der Erkrankung, sowie unter wöchentlicher Therapie. Signifikanzen in Bezug auf den Zeitpunkt vor Auftreten der ersten Symptome von SE („o.b.B.“); n-Zahlen s. Tab. 9.27

Wie in Abb. 4.27 dargestellt, findet eine deutliche Steigerung des Gesamthistamingehaltes sogar im Vergleich zu dem Histamingehalt der Basophilen Granulozyten klinisch gesunder Pferde mit Disposition für SE vor Ausbruch des Ekzems statt. Diese Steigerung ist in der 10., 12., und 14., sowie von der 16. bis 18. Woche nach Therapiebeginn höchst signifikant ($p < 0,001$), in der 15. und 19. hoch signifikant ($p < 0,01$), sowie in der 6., 8., 13. und 20. Woche signifikant ($p < 0,05$).

Um zu beurteilen, welchen Einfluss die durchgeführte Prophylaxe mit Engystol[®] ad us. vet. auf den Verlauf des Gesamthistamingehaltes der Zellen nach Ausbruch des SE hat, wurde eine Aufteilung der Pferde nach der derzeitigen Verum- und Placebogruppe vorgenommen. Die folgende Abb. 4.28 zeigt den Vergleich des Gesamthistamingehaltes beider Pferdegruppen unter der oben beschriebenen Therapie (n-Zahlen s. Tab. 9.28).

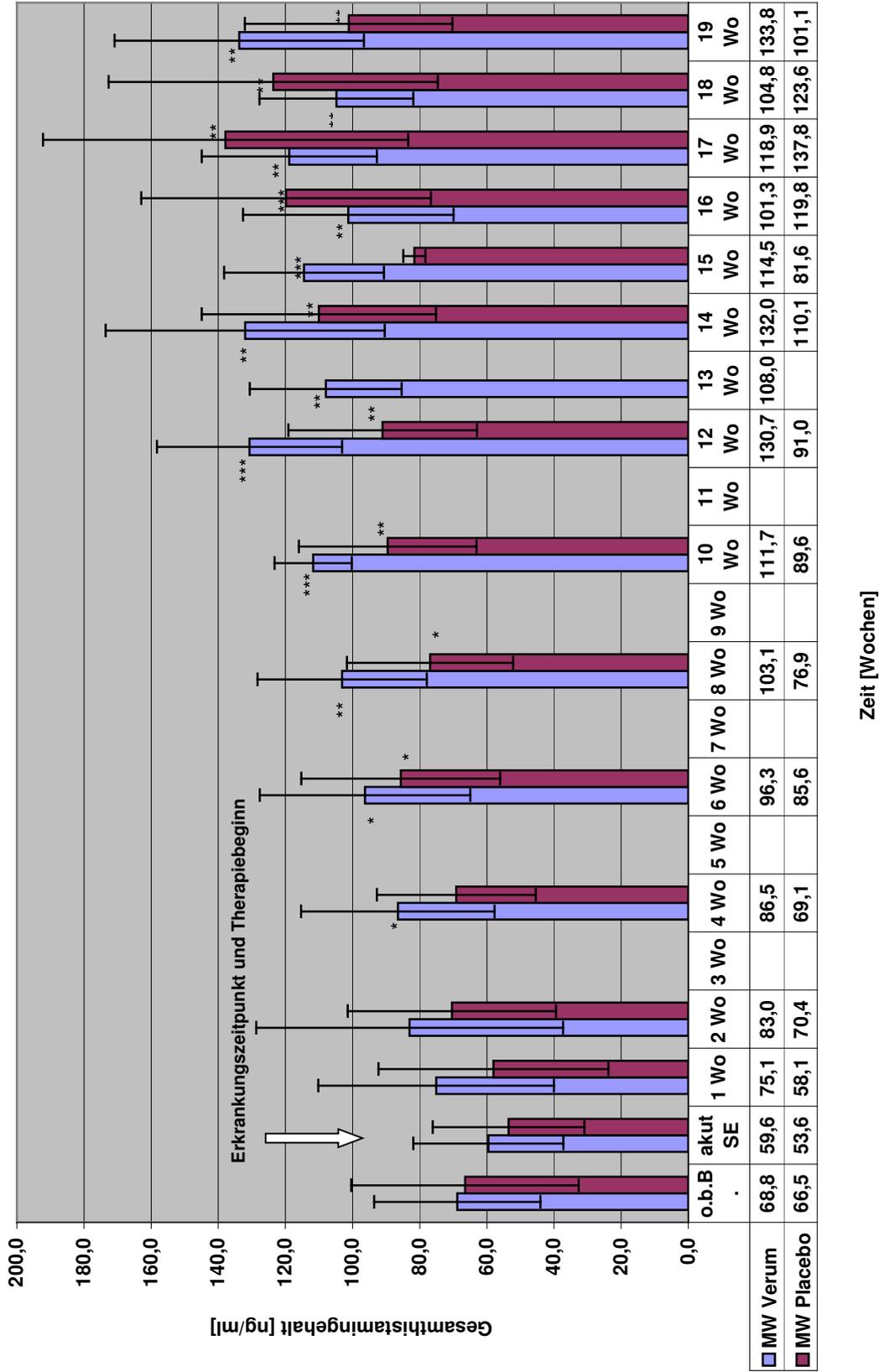


Abb. 4.28: Darstellung des Verlaufes des Gesamthistamingehaltes Basophiler Granulozyten von Pferden mit SE vor und während des Ausbruchs der Erkrankung sowie unter wöchentlicher Therapie. Vergleich Verum-/Placebogruppe aus der Prophylaxephase mit Engystol® ad us. vet.; Signifikanz in beiden Gruppen jeweils in Bezug auf den Zeitpunkt des Auftretens von ersten Symptomen von SE („akut SE“)

Wie aus Abb. 4.28 ersichtlich, weisen die Basophilen Granulozyten der Pferde aus der vormaligen Placebogruppe, d.h. ohne die prophylaktische Behandlung mit Engystol® ad us. vet., einen niedrigeren Gesamthistamingehalt auf als die Pferde der entsprechenden vormaligen Verumgruppe. Beim Vergleich der Signifikanzen fällt auf, dass der Gesamthistamingehalt in der Verumgruppe bereits in der 4. Woche nach Therapiebeginn signifikant über dem Wert zum Zeitpunkt des Auftretens von ersten Symptomen von SE („akut SE“) liegt, während dies in der Placebogruppe erst zwei Wochen später der Fall ist. Ein höchst signifikanter Unterschied in Bezug auf den Zeitpunkt „akut SE“ besteht in der Verumgruppe bereits in der 8. Therapiewoche, in der Placebogruppe dagegen erst sechs Wochen später in der 14. Woche nach Behandlungsbeginn. Ein signifikanter ($p < 0,05$) Unterschied zwischen beiden Gruppen liegt in der Woche 12 vor. Erst ab der 16. Therapiewoche gleichen sich die Werte beider Gruppen einander an bzw. zeigt die Placebogruppe in Woche 16 bis 18 auch höhere Gesamthistaminwerte.

4.3.3.2 Verlauf der prozentualen Histaminfreisetzung aus equinen Basophilen

Granulozyten nach Stimulation mit einem *Culicoides*-Ganzkörperextrakt

Um zu beurteilen, ob und welchen Einfluss die angewandte Therapie auf die nach Stimulation mit einem *Culicoides*-Ganzkörperextrakt stattfindende prozentuale Histaminfreisetzung aus den Basophilen Granulozyten der an SE erkrankten Pferde hatte, wurde allen Pferden der Untersuchungsgruppe unter der Therapie in wöchentlichen Abständen Blut entnommen. Im Anschluss wurde die prozentuale Histaminfreisetzung aus den Basophilen Granulozyten bestimmt und diese auf Unterschiede zwischen dem Zeitpunkt der Symptommfreiheit, des Krankheitsausbruches sowie während einer 19-wöchigen Therapie hin untersucht.

In der nachfolgenden Abb. 4.29 ist die prozentuale Histaminfreisetzung aus den Zellen während dieser Zeit graphisch dargestellt (n-Zahlen s. Tab. 9.29).

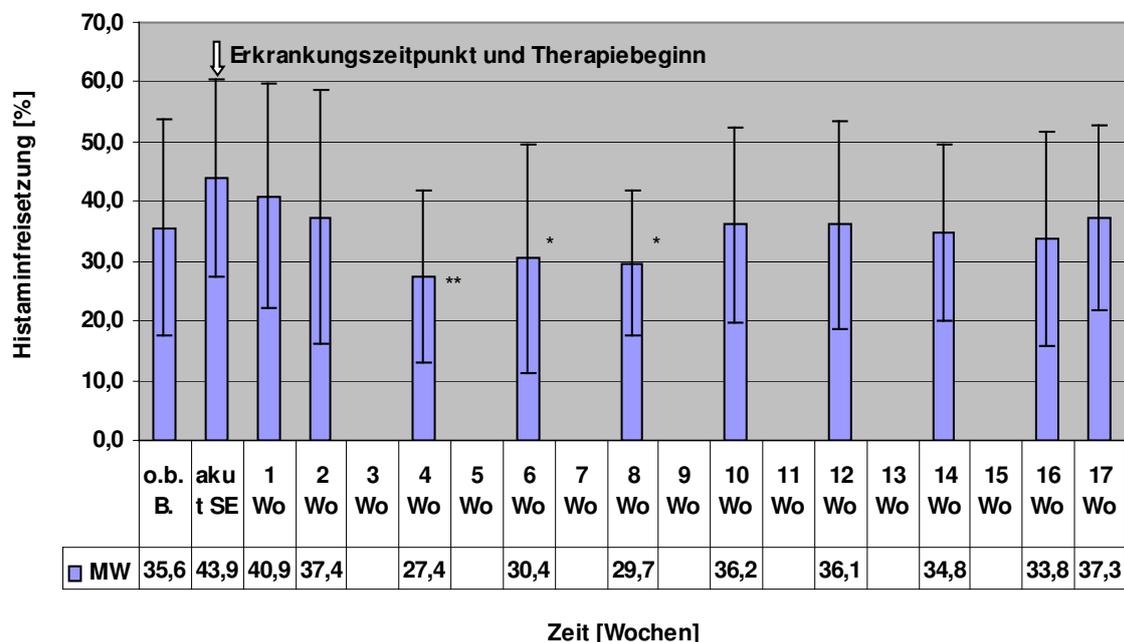


Abb. 4.29: Darstellung des Verlaufes der prozentualen Histaminfreisetzung aus Basophilen Granulozyten von Pferden mit SE vor und während des Ausbruchs der Erkrankung sowie unter wöchentlicher Therapie. Signifikanzen in Bezug auf den Zeitpunkt des Auftretens von ersten Symptomen von SE („akut SE“)

Wie aus Abb. 4.29 ersichtlich, kommt es vom klinisch gesunden Zustand zum Zeitpunkt des ersten Auftretens von Symptomen von SE hin zu einem deutlichen Anstieg der prozentualen Histaminfreisetzung aus den Zellen um 8,3% (35,6% → 43,9%). Dieser Unterschied ist jedoch nicht signifikant. Unter der daraufhin einsetzenden Therapie fällt die prozentuale Histaminfreisetzung aus den Zellen nach Stimulation mit einem *Culicoides*-Extrakt deutlich ab. Dieser Abfall beträgt 4 Wochen nach Therapiebeginn 16,5% (43,9% → 27,4%) und ist statistisch hoch signifikant ($p < 0,01$). Sechs und acht Wochen nach Therapiebeginn liegt die Histaminfreisetzung [%] im Vergleich zu akut erkrankten Pferden mit 30,4% bzw. 29,7% ebenfalls signifikant niedriger ($p < 0,05$). In den Wochen 4–8, 14 und 16 Wochen nach Therapiebeginn weisen die Zellen sogar eine niedrigere prozentuale Histaminfreisetzung auf als die Zellen klinisch gesunder Pferde vor Ausbruch des SE. Dieser Unterschied ist jedoch nicht signifikant.

Um zu beurteilen, welchen Einfluss die vorher durchgeführte Prophylaxe mit Engystol® ad us. vet. nach Ausbruch des SE auf den Verlauf der Histaminfreisetzung aus den Zellen unter der Therapie hat, wurde eine Aufteilung der Pferde nach der vorherigen Verum- und Placebogruppe vorgenommen.

Die folgende Abb. 4.30 zeigt den Vergleich der Histaminfreisetzung [%] beider Pferdegruppen unter der oben beschriebenen Therapie.

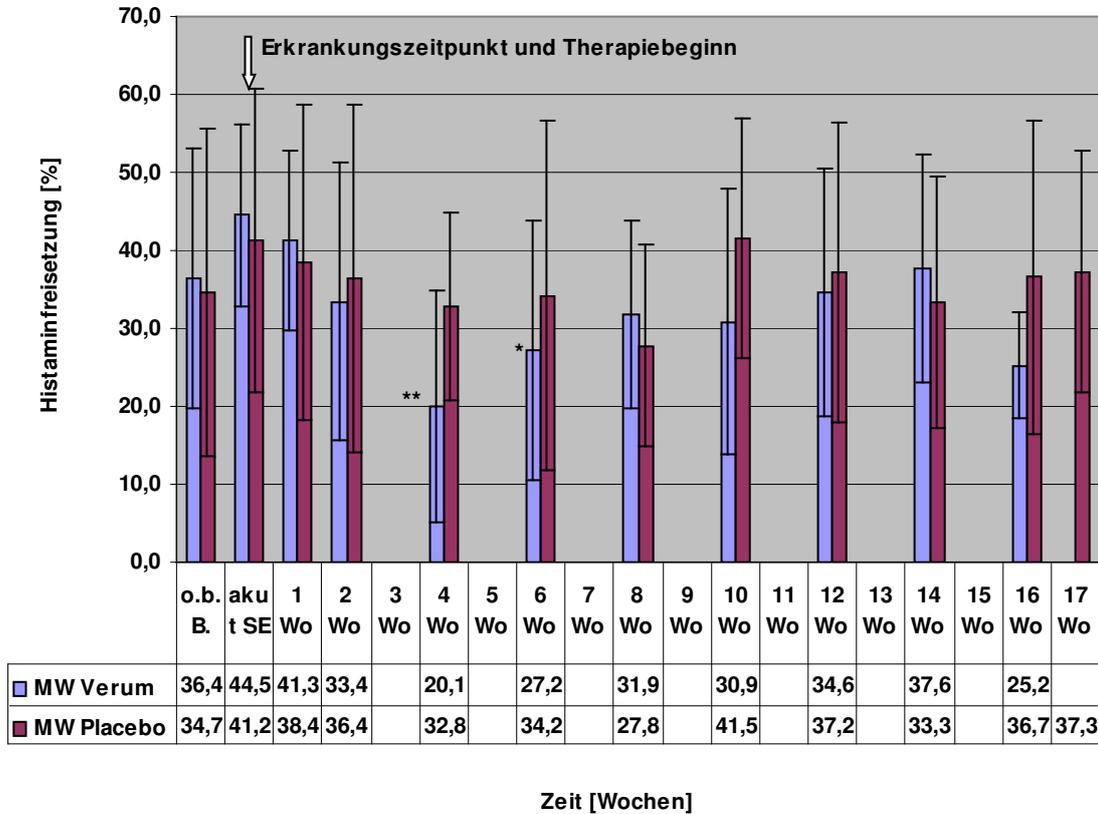


Abb. 4.30: Darstellung des Verlaufes der prozentualen Histaminfreisetzung aus Basophilen Granulozyten von Pferden mit SE vor und während des Ausbruchs der Erkrankung sowie unter wöchentlicher Therapie. Vergleich der vormaligen Verum-/Placebogruppe, Signifikanzen in beiden Gruppen in Bezug auf den Zeitpunkt des Auftretens von ersten Symptomen von SE („akut SE“); n-Zahlen s. Tab. 9.30

Wie in Abb. 4.30 zu sehen, fällt die prozentuale Histaminfreisetzung bei den Pferden der Verumgruppe bereits in den ersten zwei Therapiewochen mit 11,1% stärker ab als bei den Tieren der Placebogruppe (4,8%). Dieser Unterschied weist jedoch keine Signifikanz auf. Dagegen liegen in der Verumgruppe in der Woche 4 hoch signifikant niedrigere Werte als zum Zeitpunkt des Auftretens von ersten Symptomen des SE vor ($p < 0,01$), in Woche 6 ist der Abfall der prozentualen Histaminfreisetzung signifikant ($p < 0,05$).

Im Vergleich dazu zeigt die Placebogruppe eine weniger starke Reduzierung der Histaminfreisetzung [%], die nicht signifikant ist.

4.3.3.3 Verlauf der sLT-Freisetzung aus isolierten equinen Basophilen Granulozyten nach Inkubation mit einem *Culicoides*-Ganzkörperextrakt zu Beginn der Therapie

Zur Ermittlung des Einflusses der angewandten Therapie auf die sLT-Freisetzungsraten aus den Basophilen Granulozyten wurde allen Pferden mit Disposition für das SE wöchentlich Blut abgenommen und im CAST untersucht. Die nachfolgende Abb. 4.31 stellt die Ergebnisse aus den zu verschiedenen Zeitpunkten durchgeführten In-vitro-Tests dar.

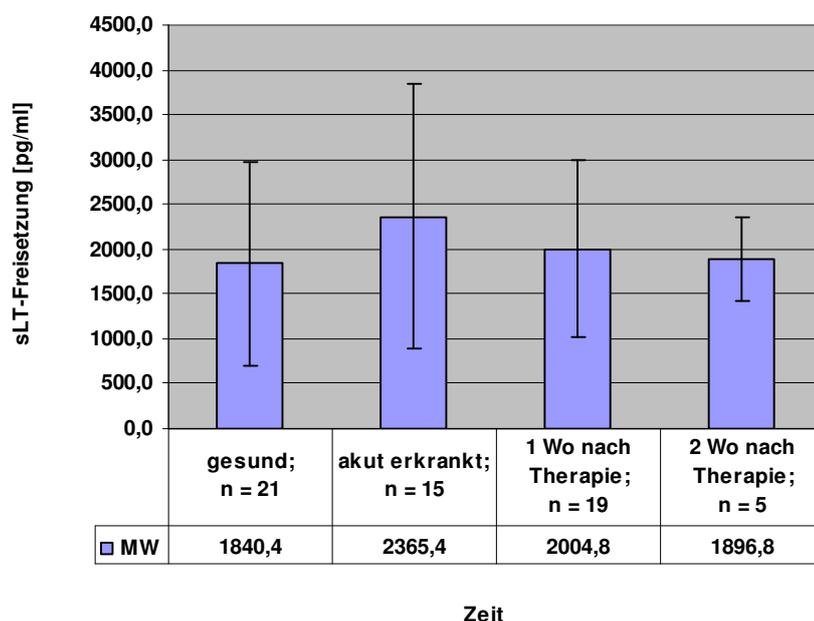


Abb. 4.31: Darstellung des Verlaufes der sLT-Freisetzung aus Basophilen Granulozyten von Pferden mit SE vor und während des Ausbruchs der Erkrankung sowie unter wöchentlicher Therapie.

Die sLT-Freisetzungsraten aus den Basophilen Granulozyten nach Stimulation mit dem *Culicoides*-Ganzkörperextrakt steigt zum Ausbruch des SE im Mittel um 525,0 pg/ml auf 2365,4 pg/ml an. Es kommt daraufhin unter der einsetzenden Therapie innerhalb der folgenden zwei Wochen zu einem Abfall der Freisetzung auf 1896,8 pg/ml. Diese ermittelten Unterschiede in den sLT-Freisetzungsraten weisen jedoch zu keinem Zeitpunkt statistische Signifikanz auf.

Um zu ermitteln, welchen Einfluss die zuvor durchgeführte Therapie mit Engystol® ad us. vet. auf die sLT-Freisetzung nach Stimulation mit dem *Culicoides*-Ganzkörperextrakt hat, wurde eine Aufteilung der Pferde in die vormalige Verum- und Placebogruppe vorgenommen. In Abb. 4.32 sind die Ergebnisse graphisch dargestellt.

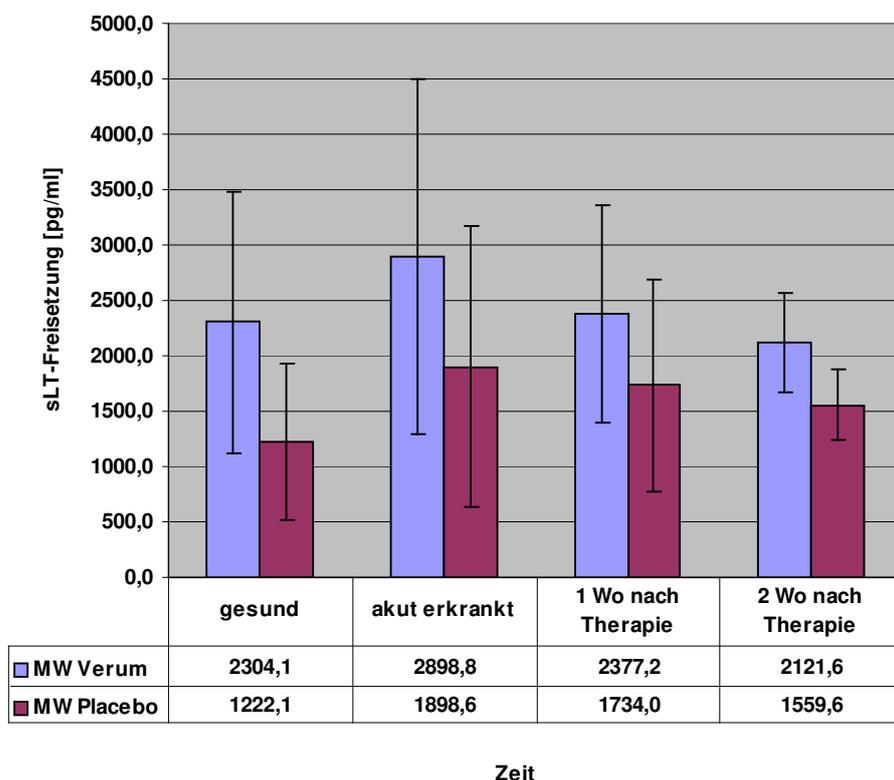


Abb. 4.32: Darstellung des Verlaufes der sLT-Freisetzung aus Basophilen Granulozyten von Pferden mit SE vor und während des Ausbruchs der Erkrankung sowie unter wöchentlicher Therapie; Unterteilung nach Zugehörigkeit zur vormaligen Verum- bzw. Placebogruppe; n-Zahlen s. Tab. 9.32

Bei beiden untersuchten Gruppen ist eine Reduzierung der sLT-Freisetzung im Verlauf der eingesetzten Therapie zu beobachten. Diese ist bei den Pferden der vormaligen Verumgruppe besonders in der ersten Woche stärker ausgeprägt und beträgt 521,5 pg/ml im Vergleich zu 164,6 pg/ml in der Placebogruppe. Prozentual bedeutet dies ein Absinken der sLT-Freisetzungsrates um 18,0% (Verumgruppe) gegenüber 8,7% (Placebogruppe). Diese Unterschiede besitzen jedoch keine statistische Signifikanz.

4.3.3.4 Verlauf der Serum-CRP-Konzentration bei Pferden mit SE zu Beginn der Therapie

Die folgende Abb. 4.33 zeigt den Verlauf der Serum-CRP-Konzentration bei den Pferden mit Disposition für das SE (Untersuchungsgruppe) vor Ausbruch des Ekzems, zum Zeitpunkt des Auftretens der ersten Symptome sowie eine Woche nach Einsetzen der Therapie.

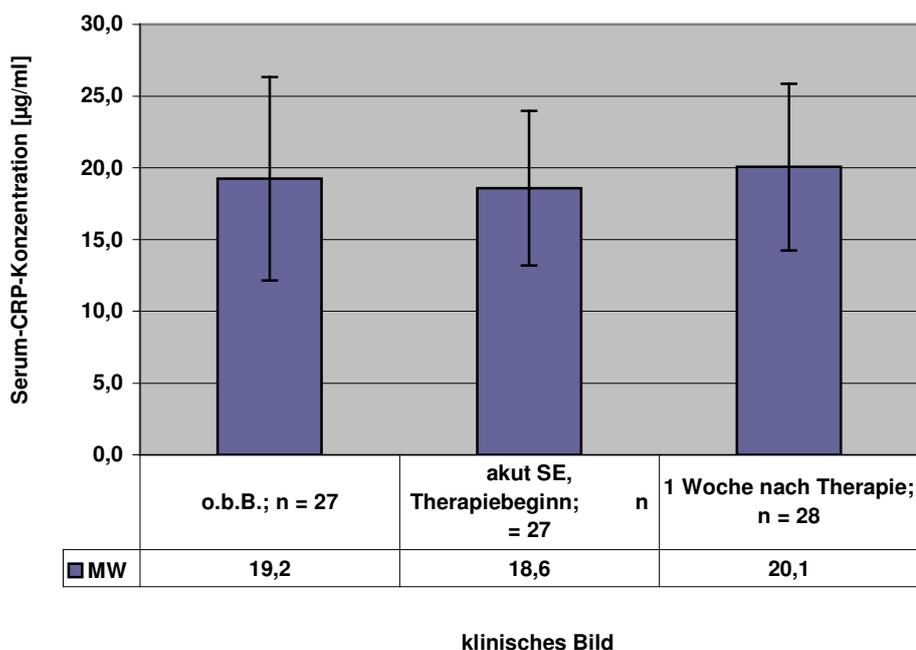


Abb. 4.33: Darstellung des Verlaufes der mittleren Serum-CRP-Konzentration von Pferden der Untersuchungsgruppe vor und während des Ausbruchs von SE sowie eine Woche nach Beginn der wöchentlichen Therapie.

Wie Abb. 4.33 zeigt, weisen die Serum-CRP-Spiegel lediglich Schwankungen auf, die innerhalb der üblichen statistischen Abweichungen liegen.

Um festzustellen, ob die zuvor durchgeführte Prophylaxe einen Unterschied im Verlauf der Serum-CRP-Konzentration der Pferde mit Disposition für das SE bewirkt, wurde eine Aufteilung der Probanden in die vormalige Verum- bzw. Placebogruppen vorgenommen. Die ermittelten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen lagen jedoch innerhalb der üblichen statistischen Standardabweichungen.

4.3.3.5 Verlauf des klinischen Bildes in Bezug auf die betroffene Körperoberfläche bei Pferden mit SE zu Beginn der Therapie

Um zu beurteilen, welchen Einfluss die angewandte Therapie auf den Verlauf des klinischen Bildes der Pferde hat, wurde in wöchentlichen Abständen die betroffene Körperoberfläche beurteilt. Die folgende Abbildung 4.34 A stellt die Ergebnisse graphisch dar.

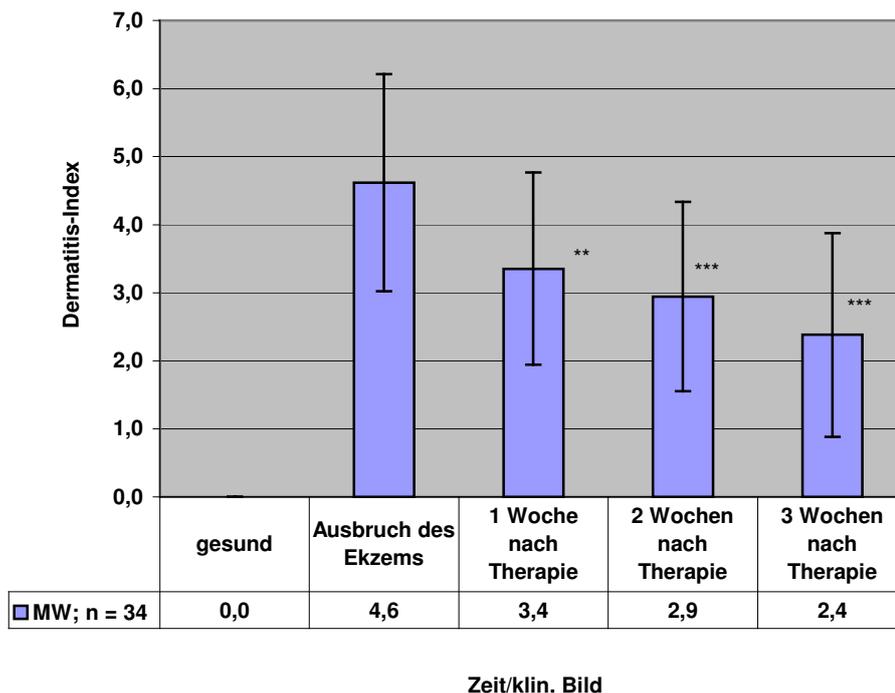


Abb. 4.34 A: Darstellung des Verlaufes des klinischen Bildes bei Pferden der Untersuchungsgruppe vor und während des Ausbruchs von SE sowie nach Beginn der wöchentlichen Therapie, Beurteilung der betroffenen Körperoberfläche; Signifikanzen in Bezug auf den Zeitpunkt "Ausbruch des Ekzems"

Bei den Pferden mit Disposition für das SE kommt es zum Ausbruch der Erkrankung hin zu einem plötzlichen und starken Anstieg auf den Schweregrad 4,6 der Skala für die Bewertung der betroffenen Körperoberfläche. Nach Einsetzen der Therapie geht der Schweregrad um 1,2 auf 3,4 in der ersten Woche zurück, ohne eine statistische Signifikanz zu zeigen. Bereits zwei Wochen nach Therapiebeginn beträgt der Rückgang 1,7 Grade und ist statistisch signifikant ($p < 0,05$). Der Rückgang um 2,2 auf Grad 2,4 ist drei Wochen nach Therapiebeginn sogar hoch signifikant ($p < 0,01$).

Die folgenden Abbildungen 34 A1 und 34 A2 zeigen den Zustand der Haut nach dreiwöchiger Therapie an einem Beispiel (Pferd Nr. 7).



Abb. 4.34 A1: Mähnenkamm eines an SE erkrankten Pferdes in Abheilung 3 Wochen nach Therapiebeginn

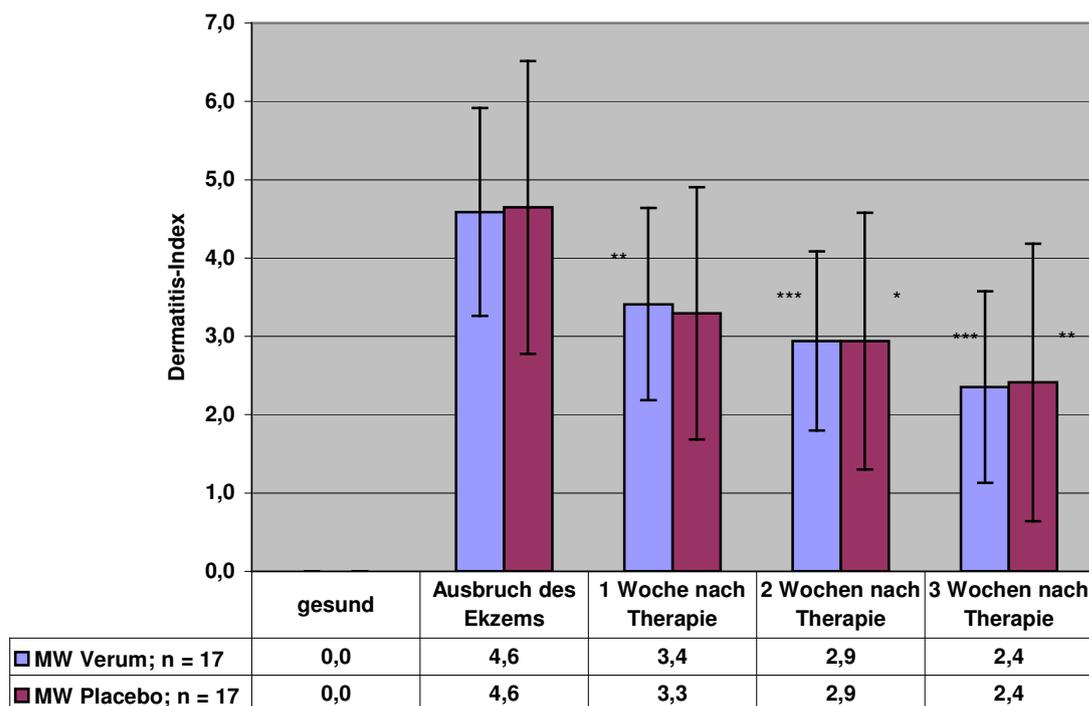


Abb. 4.34 A2: Kruppenbereich eines an SE erkrankten Pferdes in Abheilung 3 Wochen nach Therapiebeginn

Abb. 4.34 A1 und A2 zeigen deutlich die zuvor von SE betroffenen Hautbezirke, die sich unter der angewandten Behandlung in Abheilung befinden. Die Hautbereiche weisen keinerlei Krusten oder nässende Bereiche auf und zeigen bereits wieder Fellwuchs (auf Abb. 4.34 A2 ist die zusätzliche lokale Behandlung mit Traumeel-S-Salbe sichtbar).

Um zu beurteilen, welchen Einfluss die zuvor durchgeführte Prophylaxe mit Engystol® ad us. vet. auf die Ergebnisse des klinischen Bildes hat, wurde eine Aufteilung in die vormalige Verum- und Placebogruppe vorgenommen.

Die folgende Abbildung 4.34 B stellt die Ergebnisse graphisch dar.



Zeit/klin. Bild

Abb. 4.34 B: Darstellung des Verlaufes des klinischen Bildes bei Pferden der Untersuchungsgruppe vor und während des Ausbruchs von SE sowie nach Beginn der wöchentlichen Therapie, Beurteilung der betroffenen Körperoberfläche. Unterteilung nach Zugehörigkeit zur vormaligen Verum- bzw. Placebogruppe; Signifikanzen in beiden Gruppen in Bezug auf den Zeitpunkt „Ausbruch des Ekzems“

Wie aus der Abb. 4.34 B ersichtlich, zeigen die Pferde der Verumgruppe bereits eine Woche nach Therapiebeginn einen hoch signifikanten Abfall im Dermatitis-Index ($p < 0,01$), der zwei und drei Wochen nach Einsetzen der Behandlung sogar höchst signifikant ist ($p < 0,001$). Bei den Pferden der Placebogruppe hingegen kommt es erst zwei Wochen nach erfolgter Therapie zu einem signifikanten ($p < 0,05$) Rückgang des Dermatitis-Indexes, welcher drei Wochen nach Therapiebeginn hoch signifikant ($p < 0,01$) ist.

4.3.3.6 Verlauf des klinischen Bildes in Bezug auf den Juckreiz bei Pferden mit SE zu Beginn der Therapie

Zur Beurteilung des Einflusses der angewandten Therapie auf das Vorhandensein von Juckreiz wurden die Pferde in wöchentlichen Abständen auf diesen Parameter hin untersucht. Dabei wurde sowohl der spontan vorhandene als auch der auslösbare Juckreiz beurteilt und in einer eigens entwickelten Skala eingestuft (s. Kap. 3.4.1). Die folgende Abbildung 4.35 A stellt die Ergebnisse graphisch dar.

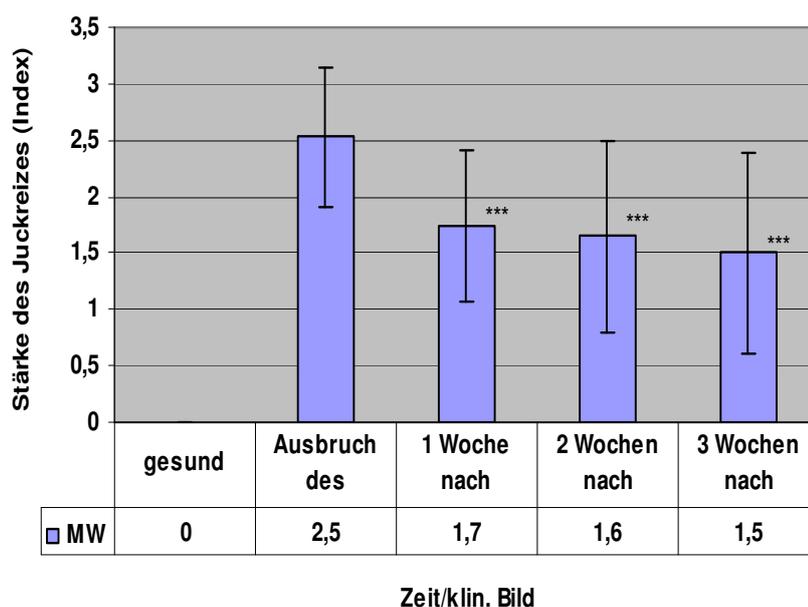


Abb. 4.35 A: Darstellung des Verlaufes des klinischen Bildes bei Pferden der Untersuchungsgruppe vor und während des Ausbruchs von SE sowie nach Beginn der wöchentlichen Therapie. Beurteilung des Juckreizes, Signifikanzen in Bezug auf den Zeitpunkt „Ausbruch des Ekzems“; n = 34

Wie aus der Abbildung 4.35 A ersichtlich, kommt es zum Ausbruch des Ekzems hin zu einem plötzlichen Anstieg des Juckreizes auf den Wert von 2,5. Bereits nach einer Woche Therapie zeigten die Pferde deutlich weniger Juckreiz und wiesen mit dem Grad von 1,7 einen statistisch signifikant niedrigeren ($p < 0,05$) Wert auf. Im weiteren Verlauf der Therapie fällt der Grad des Juckreizes weiterhin leicht ab (1,6 \rightarrow 1,5) und liegt sowohl zwei als auch drei Wochen nach eingesetzter Therapie signifikant niedriger ($p < 0,05$) als zum Zeitpunkt des Ausbruchs von SE.

Um zu beurteilen, welchen Einfluss die zuvor durchgeführte Prophylaxe mit Engystol® ad us. vet. auf die Ergebnisse des klinischen Bildes hat, wurde eine Aufteilung in die vormalige Verum- und Placebogruppe vorgenommen.

Die folgende Abbildung 4.35 B stellt die Ergebnisse graphisch dar.

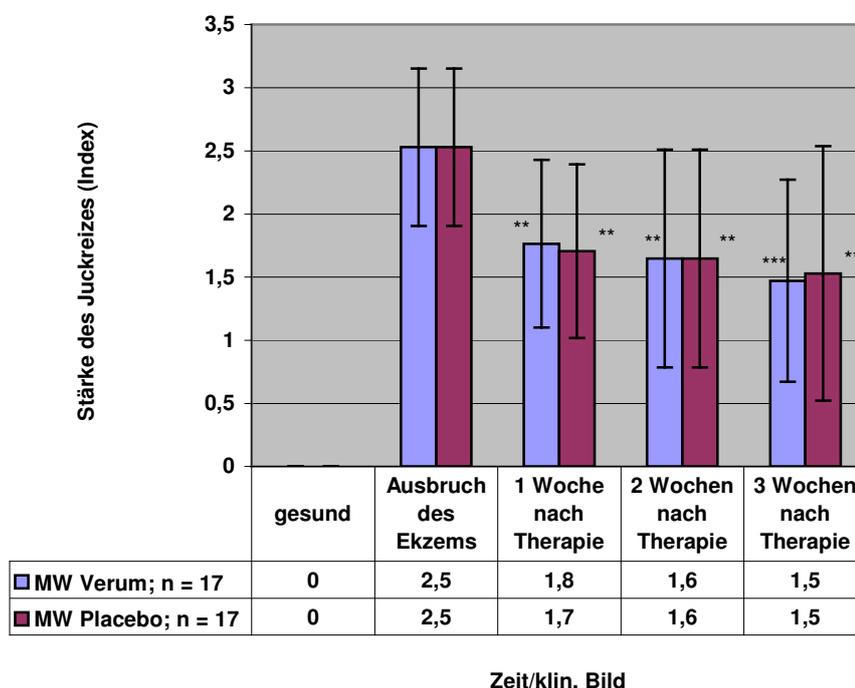


Abb. 4.35 B: Darstellung des Verlaufes des klinischen Bildes bei Pferden der Untersuchungsgruppe vor und während des Ausbruchs von SE sowie nach Beginn der wöchentlichen Therapie, Beurteilung des Juckreizes. Unterteilung nach Zugehörigkeit zur vormaligen Verum- bzw. Placebogruppe; Signifikanzen in Bezug auf den Zeitpunkt „Ausbruch des Ekzems“

Wie Abb. 4.35 B zeigt, fällt die Stärke des Juckreizes in beiden Gruppen bereits eine Woche nach Therapiebeginn hoch signifikant ($p < 0,01$) ab und bleibt auch zwei Wochen nach begonnener Behandlung auf diesem Signifikanzniveau. Während jedoch die Pferde der Verumgruppe in der dritten Woche nach Therapiebeginn einen höchst signifikanten ($p < 0,001$) Abfall des Dermatitis-Indexes aufweisen, ist dieser Rückgang in der Placebogruppe nur hoch signifikant.

4.3.4 Ergebnisse der Phase der Therapieunterbrechung

Um zu ermitteln, welchen Einfluss eine Unterbrechung der bis dahin durchgeführten Therapie auf die Ergebnisse im HRT, CAST, das klinische Bild und den Serum-CRP-Spiegel der Probanden hat, wurde ein Abbruch der Therapie im August vorgenommen. Alle Pferde wurden weiterhin wöchentlich auf die klinischen Symptome Juckreiz und Hautveränderungen hin untersucht und beurteilt. Bei Verschlechterung der Symptome (individuell 1–2 Wochen nach Therapieabbruch) wurde eine Blutprobe entnommen und die Therapie wieder eingeleitet.

Darauffolgend wurden eine, zwei und drei Wochen nach der erneuten Therapieaufnahme weitere Blutproben genommen und diese auf die oben genannten Parameter hin untersucht.

4.3.4.1 Verlauf des Gesamthistamingehaltes der equinen Basophilen Granulozyten

Die folgende Abb. 4.36 zeigt den Verlauf des Gesamthistamingehaltes der Zellen vor und zum Zeitpunkt des Therapieabbruches sowie während der ersten zwei Wochen nach Wiederaufnahme der Therapie.

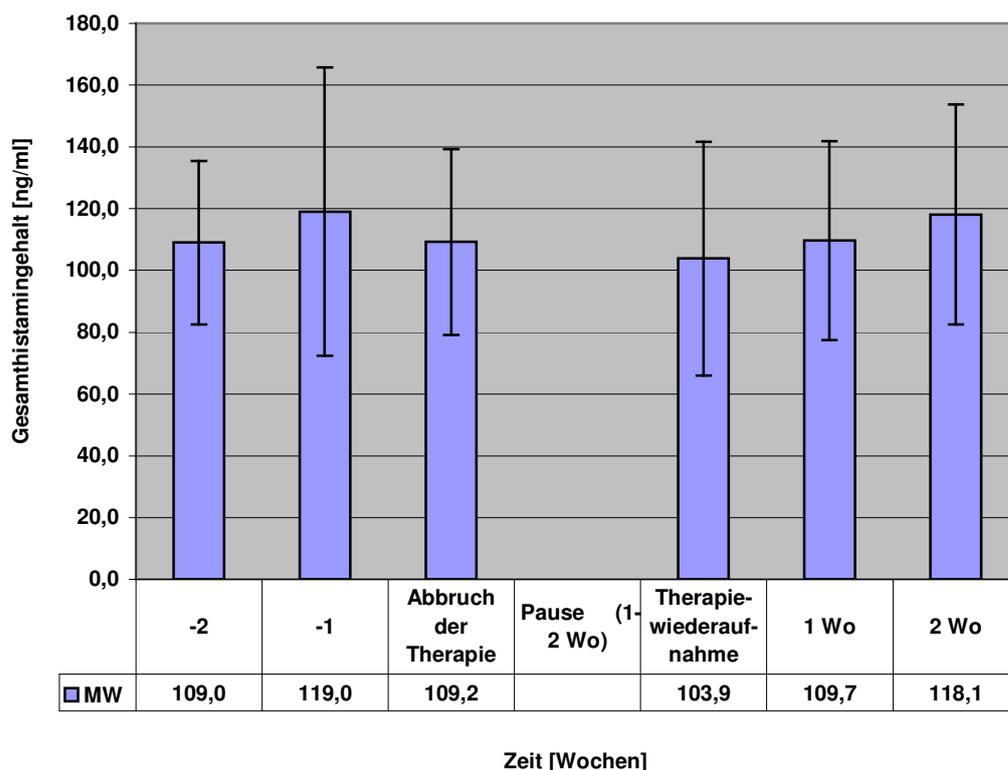


Abb. 4.36: Darstellung des Verlaufes des Gesamthistamingehaltes Basophiler Granulozyten von Pferden mit SE vor und während der Unterbrechung der wöchentlichen Therapie, sowie nach erneuter Therapieaufnahme; n-Zahlen s. Tab. 9.36

Wie Abb. 4.36 zeigt, findet nach Unterbrechung der Therapie ein Abfall des Gesamthistamingehaltes von 109,2 auf 103,9 ng/ml statt. Dieser Unterschied weist jedoch keine Signifikanz auf. Nach erneuter Therapiewiederaufnahme kommt es in den darauffolgenden Wochen zu einem Anstieg über 109,7 auf 118,1 ng/ml, der ebenfalls nicht signifikant ist.

Die folgende Abb. 4.37 zeigt den Verlauf des Gesamthistamingehaltes der Basophilen Granulozyten unterteilt nach Zugehörigkeit der Pferde zur vormaligen Verum- und Placebogruppe.

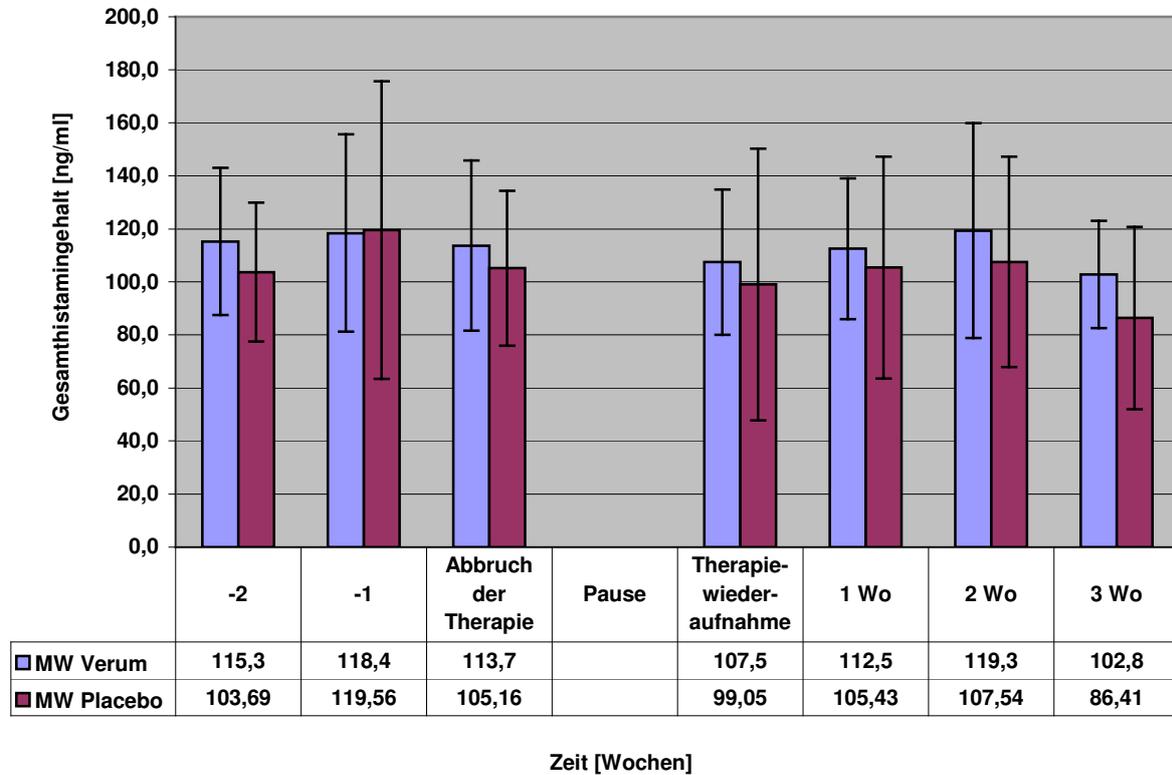


Abb. 4.37: Darstellung des Verlaufes des Gesamthistamingehaltes Basophiler Granulozyten von Pferden mit SE vor und während des Absetzens der wöchentlichen Therapie sowie nach erneuter Therapieaufnahme; unterteilt nach Zugehörigkeit zur vormaligen Verum- und Placebogruppe; n-Zahlen s. Tab. 9.37

Wie aus Abb. 4.37 ersichtlich, liegt der Gesamthistamingehalt der vormaligen Verumgruppe außer einer Woche vor Absetzen der Therapie stets höher als in der Placebogruppe. Zum Zeitpunkt der Wiederaufnahme der Therapie kommt es in beiden Gruppen zu einem ähnlich leichten Abfall, auf den folgend die Verumgruppe jedoch zu Woche 2 hin eine stärkere Zunahme des Gesamthistamingehaltes zeigt (11,8 ng/ml) als die Placebogruppe (8,4 ng/ml). Alle diese Unterschiede sind jedoch nicht signifikant.

4.3.4.2 Verlauf der Serum-CRP-Konzentration bei Pferden mit SE während der Phase der Therapieunterbrechung im August

Die folgende Abb. 4.38 zeigt den Serum-CRP-Spiegel der Pferde zum Zeitpunkt der Therapieunterbrechung, der Therapiewiederaufnahme sowie eine und zwei Wochen nach erneuter wöchentlicher Therapie.

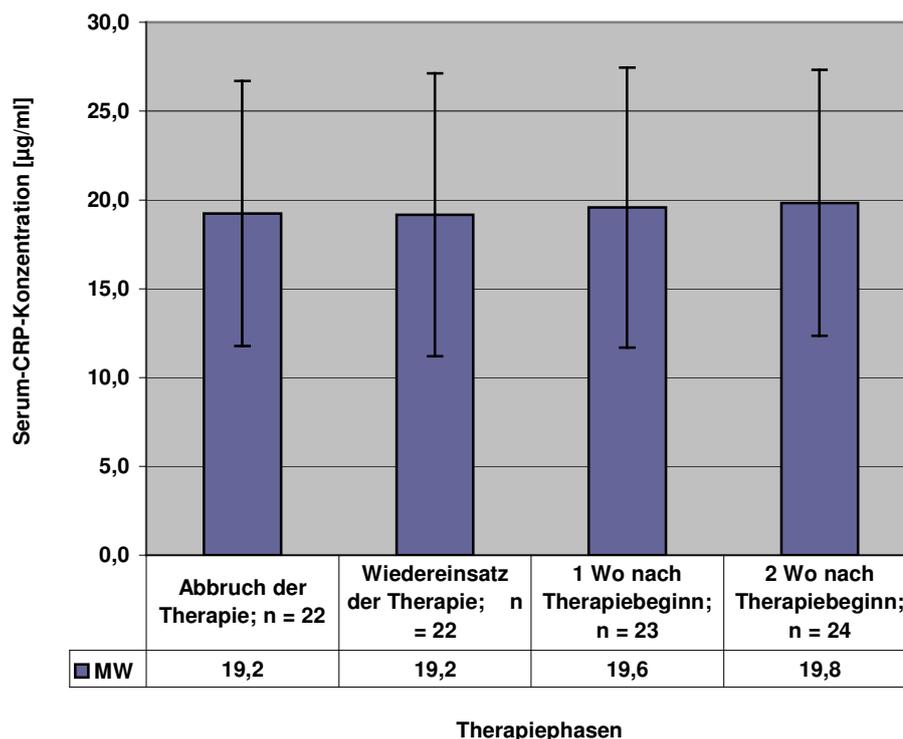


Abb. 4.38: Darstellung des Verlaufes der mittleren Serum-CRP-Konzentration von Pferden mit SE vor und während der Unterbrechung der wöchentlichen Therapie sowie nach erneuter Therapieaufnahme

Wie Abb. 4.38 zeigt, lagen alle Veränderungen der Serum-CRP-Spiegel innerhalb der üblichen Hintergrundschwankungen.

Bei der Aufteilung der Pferde nach Zugehörigkeit zu der vormaligen Verum- bzw. Placebogruppe waren keine statistisch signifikanten Veränderungen der mittleren Serum-CRP-Spiegel festzustellen, welche die üblichen Standardabweichungen überschritten.

Um einen Überblick über die verschiedenen Serum-Konzentrationen des CRP bei Pferden mit und ohne Disposition für das SE zu erstellen, wurden in der folgenden Abb. 4.39 die Serumspiegel des akute-Phase-Proteins von Pferden beider Gruppen zu unterschiedlichen Zeitpunkten zusammengestellt.

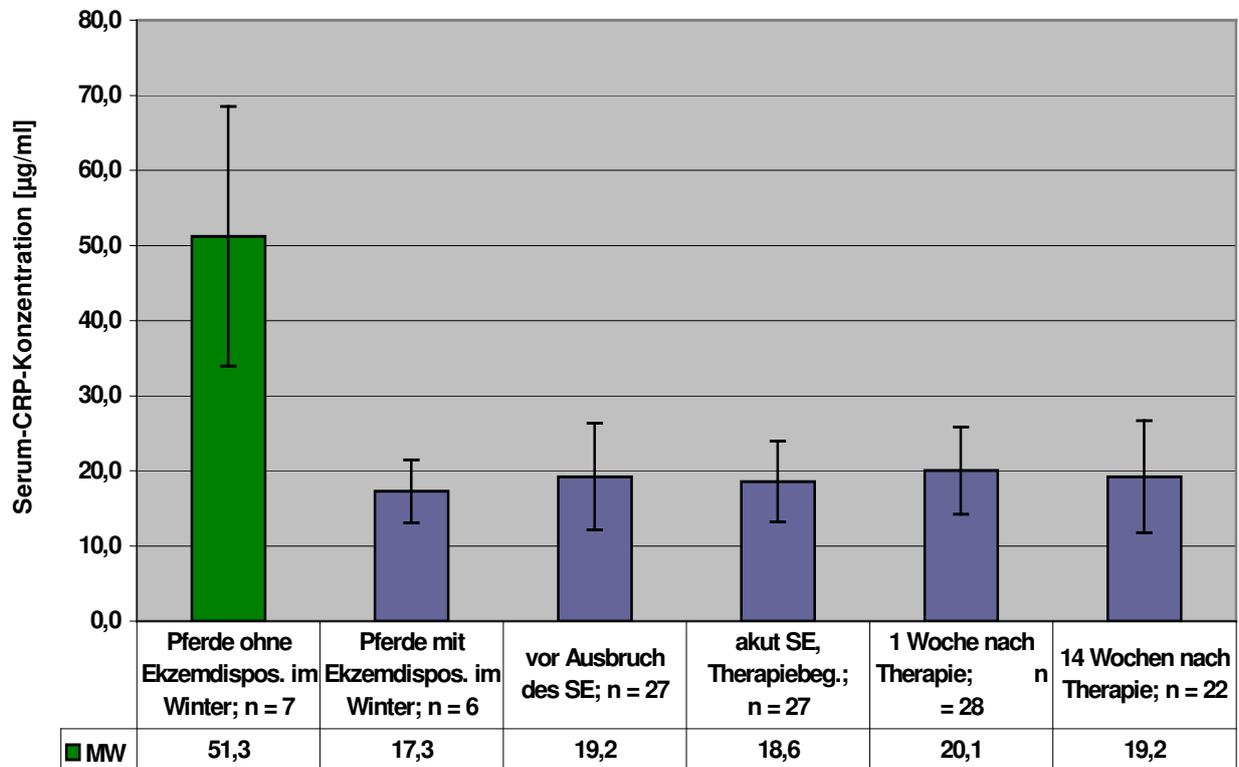


Abb. 4.39: Darstellung der mittleren Serum-CRP-Konzentration von Pferden mit und ohne Disposition für SE zu verschiedenen Jahreszeiten sowie vor und während einer wöchentlichen Therapie

4.3.4.3 Verlauf des klinischen Bildes in Bezug auf die betroffene Körperoberfläche bei Pferden mit SE während der Phase der Therapieunterbrechung im August

In der folgenden Abbildung 4.40 ist der Verlauf des klinischen Bildes in Bezug auf die betroffene Körperoberfläche graphisch dargestellt.

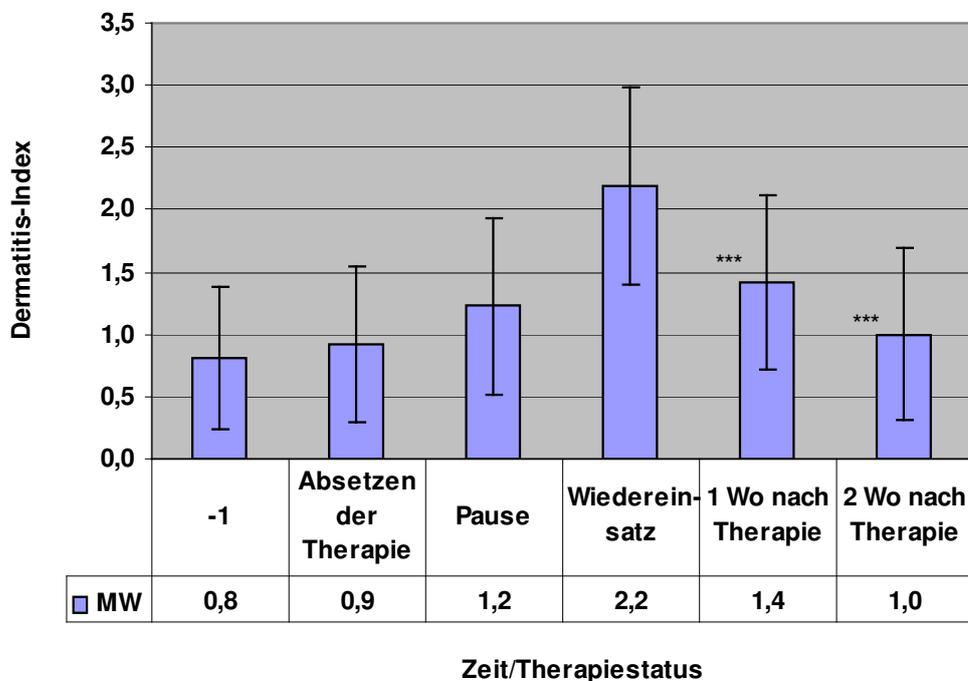


Abb. 4.40: Darstellung des Verlaufes des klinischen Bildes bei Pferden der Untersuchungsgruppe während der Phase der Therapieunterbrechung im August, Beurteilung der betroffenen Körperoberfläche, n = 26, Signifikanzen in Bezug auf den Zeitpunkt „Wiedereinsatz“

Wie Abbildung 4.40 zeigt, kommt es nach Absetzen der Therapie in der zweiten Woche zu einem signifikanten Anstieg des Indexes für die betroffene Körperoberfläche auf 2,2. Bereits eine Woche nach erneuter Therapieaufnahme sinkt der Index höchst signifikant ($p < 0,001$) ab, auch in der zweiten Woche liegt ein höchst signifikanter ($p < 0,001$) Abfall des Indexes von 2,2 auf 1,0 vor.

Bei dem Vergleich der Pferde unter Berücksichtigung der Zugehörigkeit zur vormaligen Verum- und Placebogruppe konnten keine Unterschiede, die außerhalb der üblichen statistischen Standardabweichungen lagen, festgestellt werden.

4.3.4.4 Verlauf des klinischen Bildes in Bezug auf den Juckreiz bei Pferden mit SE während der Phase der Therapieunterbrechung im August

In der folgenden Abbildung 4.41 ist der Verlauf des klinischen Bildes in Bezug auf den Juckreiz graphisch dargestellt.

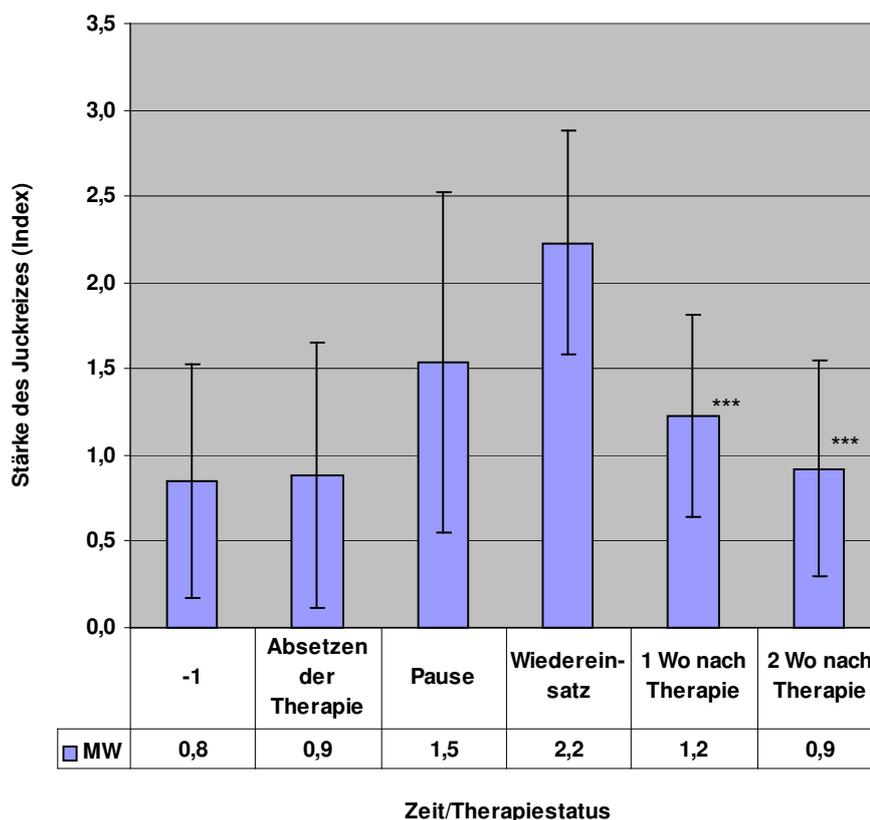


Abb. 4.41: Darstellung des Verlaufes des klinischen Bildes bei Pferden der Untersuchungsgruppe während der Phase der Therapieunterbrechung im August, Beurteilung des Juckreizes, n = 26, Signifikanzen in Bezug auf den Zeitpunkt „Wiedereinsatz“

Wie die Abbildung 4.41 zeigt, kommt es zwei Wochen nach Absetzen der Therapie zu einem signifikanten ($p < 0,05$) Anstieg des Indexes für den Juckreiz. Bereits in der ersten Woche nach erneuter Therapieaufnahme ist ein höchst signifikanter ($p < 0,001$) Abfall des Indexes festzustellen, der auch in der zweiten Woche höchst signifikant ($p < 0,001$) bleibt.

Bei dem Vergleich der Pferde unter Berücksichtigung der Zugehörigkeit zur vormaligen Verum- und Placebogruppe ergaben sich keine Unterschiede, die außerhalb der üblichen statistischen Standardabweichungen lagen.

4.3.5 Ergebnisse der im Untersuchungsgebiet durchgeführten Mückenfänge

Über den Zeitraum der Studie hinweg wurde an den Standorten der Pferde täglich die Anzahl der geschlüpften und fliegenden *Culicoides spp.* mittels Boden- und Luftfallen erfasst. In den nachfolgenden Abb. 4.42 A–E sind die Ergebnisse der Fallen von zwei ausgewählten Gestüten dargestellt. Über die gesamte Saison hinweg waren durchweg die meisten Fänge in den Bodenfallen zu verzeichnen, während die Zahl der mit Hilfe der Luftfallen gefangenen Mücken sehr gering war.

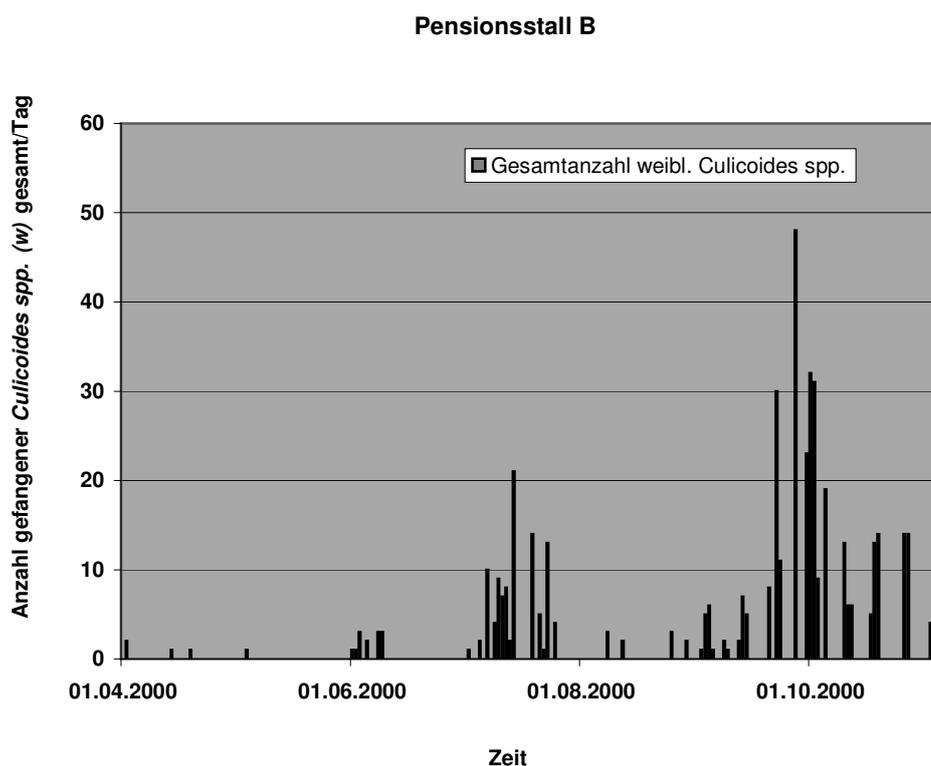


Abb. 4.42 A: Anzahl der an dem Pensionsstall B mittels der Luft- und Bodenfallen erfassten *Culicoides spp.* (w)

In Abb. 4.42 A ist deutlich eine mehrgipflige Verlaufskurve im Vorkommen der *Culicoides spp.* zu erkennen, die nach einer ersten Häufung der Fänge Anfang Juni ihre Höhepunkte im Juli und vor allem Ende September/Anfang Oktober aufweist. Der Zeitpunkt der ersten Fänge Anfang April deckt sich mit dem des ersten Auftretens von Symptomen des SE bei den Pferden mit Disposition für die Erkrankung.

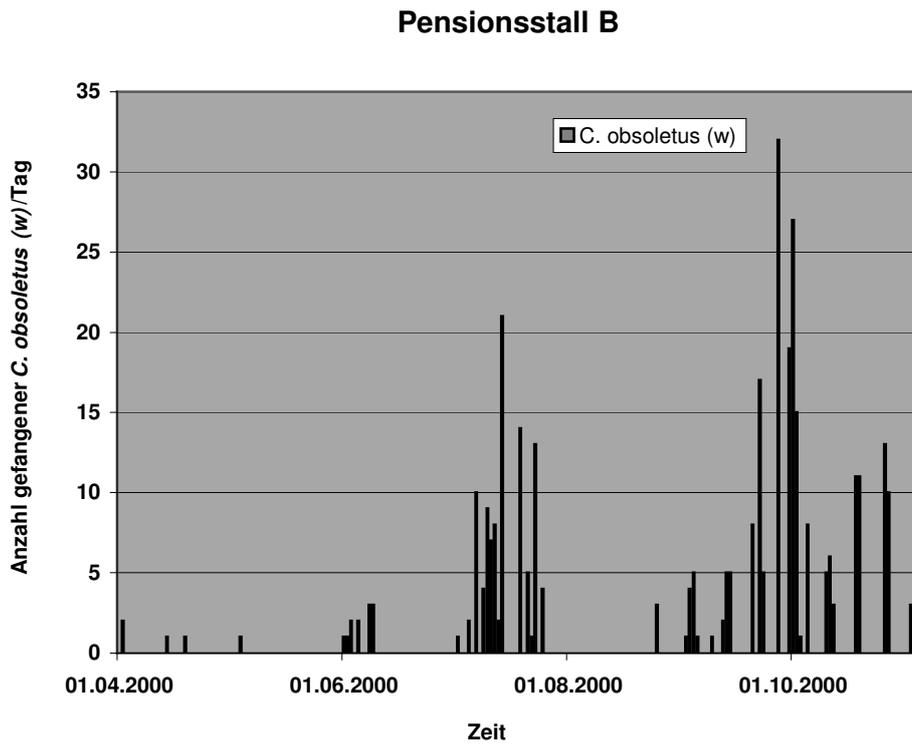


Abb. 4.42 B: Anzahl der an dem Pensionsstall B mittels der Luft- und Bodenfallen erfassten *Culicoides obsoletus* (w)

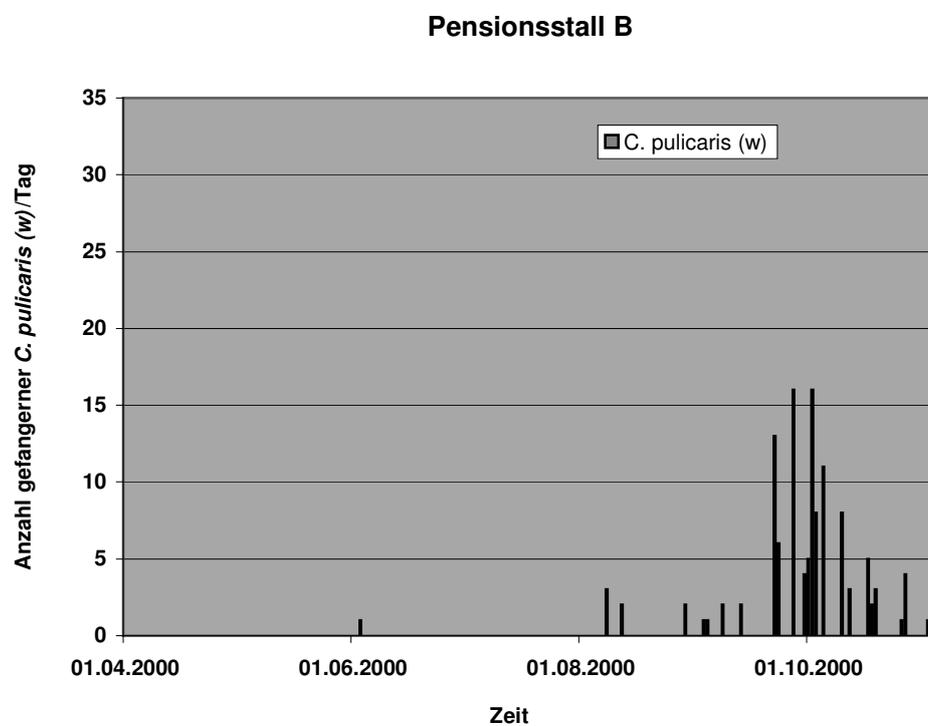


Abb. 4.42 C: Anzahl der an dem Pensionsstall B mittels der Luft- und Bodenfallen erfassten *Culicoides pulicaris* (w)

Wie Abb. 4.42 B und C zeigen, überwiegen die Zahlen der gefangenen *C. obsoletus* gegenüber denen der *C. pulicaris* deutlich. Darüber hinaus ist *C. obsoletus* die ganze Saison über hinweg vertreten, während *C. pulicaris* bis auf ein Anfang Juni gefangenes Exemplar erst ab August zu finden war. Gemeinsam ist beiden Subspezies der Ende September/Oktober festzustellende Peak im Vorkommen sowie das Vorhandensein über den gesamten Oktober bis in den November hinein.

Zum Vergleich ist in der folgenden Abb. 4.42 D das Vorkommen der männlichen *Culicoides spp.* dargestellt.

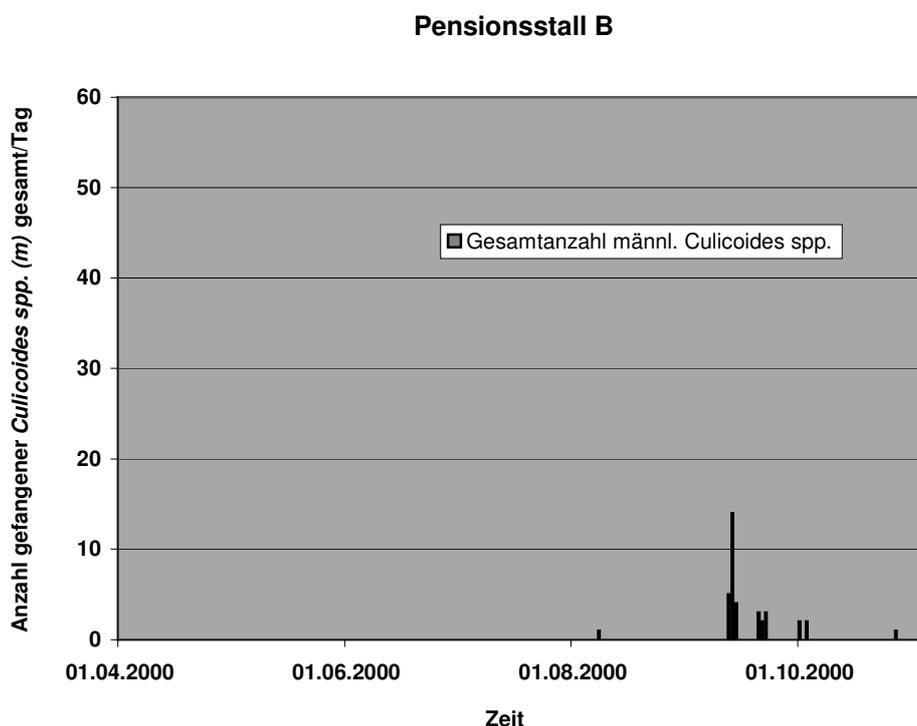


Abb. 4.42 D: Anzahl der an dem Pensionsstall B mittels der Luft- und Bodenfallen erfassten *Culicoides spp. (m)*

Wie die Abbildung zeigt, liegt die Anzahl der gefangenen männlichen Tiere um ein Vielfaches niedriger als die der weiblichen. Zudem ist ein erstes Auftreten der männlichen Gnitzen erst Mitte August festzustellen. Auch bei ihnen jedoch kommt es zu einem Peak im Vorkommen Ende September/Anfang Oktober. Zu berücksichtigen ist auch hier, dass es sich wie bei den weiblichen *Culicoides spp.* fast ausschließlich um Fänge aus der Bodenfalle handelt, d. h. die hier ermittelten Ergebnisse zeigen, dass an den Untersuchungsorten um ein Vielfaches mehr weibliche als männliche Tiere schlüpfen.

In Abb. 4.42 E und F ist das Vorkommen der *Culicoides spp.* auf dem Gangpferdezentrum A dargestellt. Durch teilweise zu lange Lagerungsdauer, fehlende Proben und Verdampfen des

Alkohols mit dadurch bedingter Schädigung der Gnitzen waren leider nicht für alle Zeitpunkte auswertbare Proben vorhanden. Die Abbildungen zeigen dennoch einen Überblick über das Auftreten der *Culicoides spp.*.

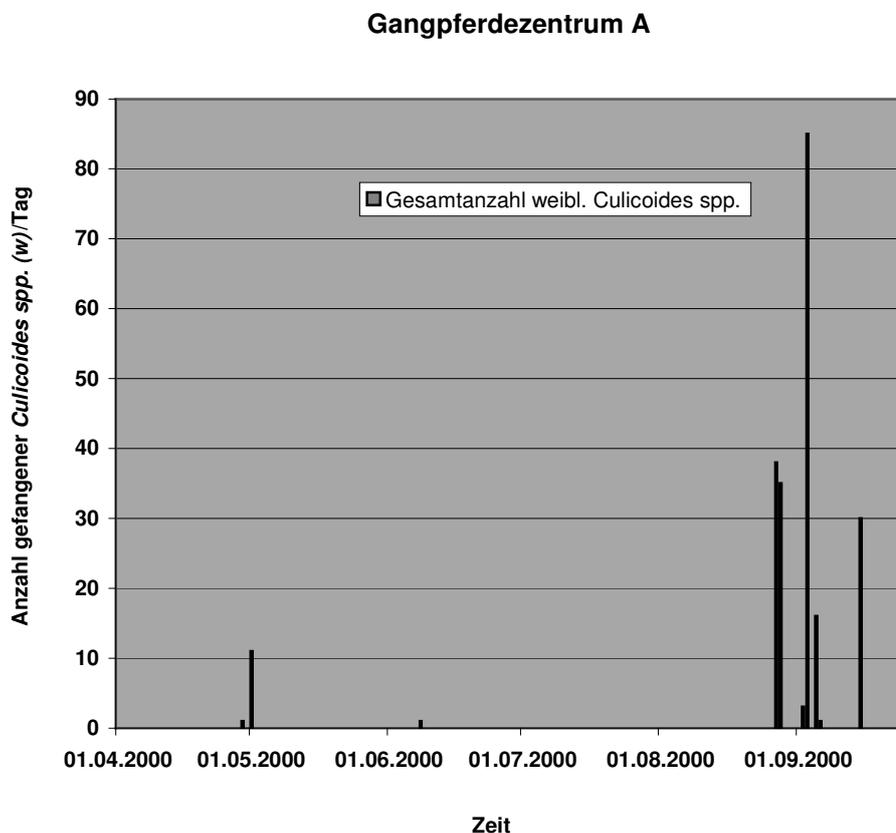


Abb. 4.42 E: Anzahl der auf dem Gangpferdezentrum A mittels der Luft- und Bodenfallen erfassten *Culicoides spp. (w)*

Abb. 4.42 E zeigt trotz der teilweise fehlenden auswertbaren Proben auch in dem Gangpferdezentrum A einen deutlichen Peak im Vorkommen der *Culicoides spp.* im September sowie ein erstes Auftreten der Gnitzen bereits im Mai.

Da durch das teilweise Verdampfen des Alkohols nicht immer eine sichere Typisierung der gefangenen *Culicoides spp.* möglich war, stellt die folgende Abb. 4.42 F das jahreszeitliche Vorkommen von *C. obsoletus* nicht vollständig dar, sondern gibt nur einen Überblick über die sicher als *C. obsoletus* identifizierbaren Gnitzen.

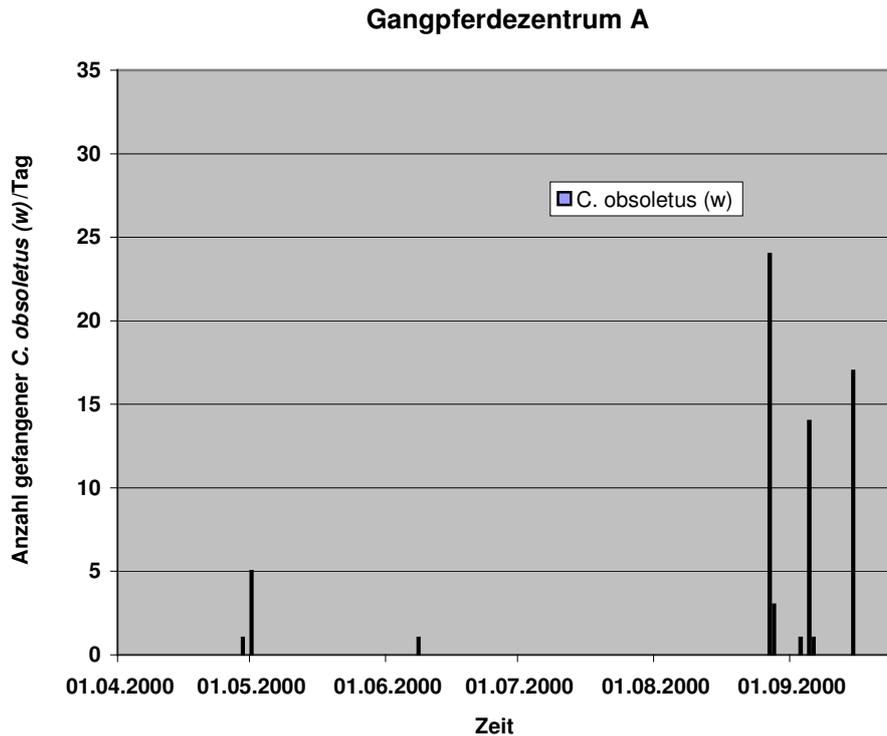


Abb. 4.42 F: Anzahl der auf dem Gangpferdezentrum A mittels der Luft- und Bodenfallen erfassten und sicher als *C. obsoletus* (w) identifizierten Gnitzen

Auch in dem Gangpferdezentrum A zeigen die *C. obsoletus* bereits im Frühjahr ein erstes Auftreten, sowie einen typischen Peak im Vorkommen im September. Andere *Culicoides* spp. ließen sich aufgrund fehlender Typisierungsmerkmale (Fleckung/Form der Flügel) leider nicht sicher identifizieren.



Abb. 4.43: Lichtmikroskopische Aufnahme einer weiblichen *Culicoides obsoletus* (mit freundlicher Genehmigung von Prof. Mehlhorn und Hr. Köhler)

5 Diskussion

5.1 Einfluss einer homöopathischen Behandlung als Prophylaxe und Therapie auf das klinische Bild von Pferden mit Disposition für SE

Es gibt bis heute keine befriedigenden Behandlungsvorschläge für das SE. So bringt der Einsatz von immunsuppressiven Kortikosteroiden nur zeitlich begrenzte Erfolge und ist aufgrund der Gefahr von starken Nebenwirkungen wie Hufrehe oder Infektanfälligkeit begrenzt [UNGEMACH in LÖSCHER et al. 1999]. Die Spezifische Immunotherapie (SIT) als bislang einzige kausale Therapie hat das Ziel der Hyposensibilisierung des betroffenen Individuums gegenüber bestimmten Allergenen durch die serielle Verabreichung hochreiner Allergene [WESTRITSCHNIG 2002]. Da bisher jedoch für die SIT gegen das SE nur grobe Extrakte zur Verfügung stehen, waren die Erfolge begrenzt und stark schwankend [BARBET et al. 1990, ANDERSON et al. 1996].

Berichte über kontrollierte Untersuchungen zur Prophylaxe oder Therapie des SE liegen bisher nicht vor. Dagegen existieren bereits zahlreiche positive Ergebnisse zur Wirkung des hier geprüften homöopathischen Präparats Engystol[®] aus Placebo kontrollierten klinischen und experimentellen Untersuchungen aus der Human- und Veterinärmedizin [KÜPPER 1994, MATUSIEWICZ 1995, SCHWAN 2002, ENBERGS und VERDROSS 2005]. Hierbei ging es in erster Linie um die Aktivierung peripherer T-Lymphozyten durch Engystol[®]. Diese nehmen im Immunsystem wichtige Effektor- und Steuerungsfunktionen wahr. Ein Schlüssel-Zytokin ist dabei das Interferon- γ . IFN- γ ist entscheidend an der Differenzierung der naiven T_h0-Zellen zu T_h1-Zellen beteiligt [SCOTT 1991] und stimuliert sowie koordiniert die zellbasierten Immunitätsreaktionen (Phagozytose, Zytotoxizität). Aufgrund eines Antagonismus zu den T_h2-Lymphozyten mit dem allergiefördernden Leitzytokin IL-4 ermöglicht es eine Modulierung der Immunreaktion von einer für allergische Reaktionen typischen T_h2-Zell-Antwort hin zu einer unter Normalbedingungen herrschenden balancierten T_h1/T_h2-Immunantwort mit einer T_h1-Dominanz [ENBERGS 2005, HOREJS-HÖCK und DUSCHL 2003]. Lymphozyten von Individuen mit Allergiedisposition exprimieren deutlich weniger IFN- γ als solche gesunder Probanden [ENBERGS und VERDROSS 2005, ENBERGS 2006].

Nach Applikation von Engystol[®] ad us. vet. kam es bei den Lymphozytenkulturen dieser und unbelasteter Personen zu einer signifikanten Steigerung der Expression von Interferon- γ .

In vorhergehenden Untersuchungen wurden sowohl die Aktivität von Lymphozytenkulturen durch Engystol hoch bis höchstsignifikant stimuliert als auch gleichzeitig die Sekretion des immunsupprimierenden Zytokins TGF- β vermindert [SCHWAN 2002].

Nach diesen gleichsinnigen Befunden erschien es naheliegend und sinnvoll, die Wirksamkeit von Engystol[®] ad us. vet. bei Pferden mit Disposition für das SE im prophylaktischen Einsatz zur Umstimmung des Immunsystems mit der Erwartung einer Milderung bzw. Vermeidung einer klinischen Erkrankung zu testen.

Dabei konnte das eingesetzte Präventivprogramm mit Engystol[®] ad us. vet. den Ausbruch des SE wohl verzögern, jedoch nicht dauerhaft verhindern (s. Abb. 4.14). Dafür könnten nach den vorher zitierten Untersuchungsergebnissen mit Engystol[®] folgende Faktoren verantwortlich sein:

1. Die ungewöhnlich früh einsetzenden hohen Frühlingstemperaturen im Jahr 2000 und der dadurch bedingte starke Mückenflug mit entsprechend starker Exposition der Pferde gegenüber dem Mücken-Allergen.
2. Der relativ späte Beginn der Prophylaxe erst Ende März, bei einigen Pferden erst Mitte April. Dadurch war die Zeitdauer der präventiven Behandlung möglicherweise zu kurz.

In Anbetracht der relativ langen Lebensdauer der Lymphozyten wird verständlich, dass das bei den Pferden mit einer nachgewiesenen Disposition für das SE vorauszusetzende und hier durch verschiedene Labortests bestätigte Ungleichgewicht des T_h1/T_h2 -Verhältnisses zugunsten der allergische Reaktionen fördernden T_h2 -Zellen bei überraschend kurzfristigem und starken Wirksamwerden des auslösenden Mücken-Antigens nicht innerhalb kurzer Zeit und ohne eine gewisse Behandlungsdauer umgekehrt werden kann. So ist denkbar, dass ein früherer Einsatz von Engystol[®] eine rechtzeitige und nachhaltigere Umstimmung des Immunsystems zur Folge gehabt hätte.

Es wäre sicher eine weitere Untersuchung wert, ob bei einer zeitiger im Frühjahr beginnenden und längerfristigen Prophylaxephase eine weitere Verschiebung des Ausbruchs klinischer Erscheinungen oder möglicherweise sogar – zumindest bei einigen Probanden – ihre totale Unterdrückung möglich ist.

Welchen jeweiligen Wirkungsanteil die im Rahmen des Prophylaxeprojektes applizierten Präparate an der Verzögerung des Ausbruches des SE hatten, lässt sich im Rahmen dieser Untersuchung nicht klären. Hierzu fehlt eine Aufteilung der Untersuchungsgruppe in weitere Gruppen. Dieses war jedoch aus Gründen der statistischen Auswertbarkeit nicht möglich, da die jeweiligen Probandengruppen zahlenmäßig zu klein geworden wären. Durch die Eigenbluttherapie wird die unspezifische und spezifische Abwehr ebenfalls stimuliert [KLEMPARSKAYA ET AL. 1986, VORSCHÜTZ und LÖHR in KREBS 1999].

Dabei wurde eine deutlich verstärkte Bildung histiozytärer Zellen mit einer Veränderung der Reaktionslage des Organismus festgestellt [SCHÜRER-WALDHEIM in KREBS 1999]. Dies setzt

wiederum eine verstärkte Aktivität von Makrophagen und Lymphozyten voraus. So ist anzunehmen, dass die diskutierte Wirkung von Engystol[®] durch die Kombination mit Eigenblut noch verstärkt worden ist.

Die Präparate *Carduus compositum* und *Coenzyme compositum* wurden hier aufgrund von Erfahrungen aus der Praxis zur begleitenden Aktivierung des Energiestoffwechsels bzw. zur Aufhebung von toxinbedingten Blockaden einschlägiger Enzyme eingesetzt [DORENKAMP 1997]. Sie haben nach ihrem Indikationsprofil keinen direkt fördernden Einfluss auf Immunprozesse. Da diese zur optimalen Funktion jedoch eine ungestörte Energiebereitstellung erfordern, können diese Präparate in dieser Hinsicht hier nur positiv unterstützend gewirkt haben. Dies gilt entsprechend auch für deren komplementäre Wirkung während der anschließenden Therapiephase mit Traumeel[®] ad us. vet. und Eigenblut.

Diese konnte aus ethischen Gründen nicht mehr mit einer Placebokontrolle fortgesetzt werden. Anstatt dessen wurde eine Unterbrechung der Therapie mit Wiederholung der Behandlungsmaßnahmen zur Überprüfung der Ergebnisse eingeplant.

Unter der hier gewählten Therapie kommt es nach einer kurzen Übergangsphase zu einer deutlichen und signifikanten Reduzierung bzw. Beseitigung der beiden Hauptsymptome des SE, des Juckreizes und der Dermatitis (vergl. Abb. 4.34, 4.35). Bereits eine Woche nach erfolgter Therapie zeigen die Pferde einen höchst signifikanten Rückgang des Juckreizes. Auch der Dermatitis-Index fällt eine Woche nach Therapie deutlich und hoch signifikant ab, nach zwei Wochen ebenfalls höchst signifikant. Auch DORENKAMP (1997) hatte in der Praxis bereits gute Erfolge mit dieser Therapieform bei Pferden mit SE beobachtet.

Nach einschlägigen experimentellen Untersuchungen dürften für diese Therapieerfolge vor allem die für Traumeel[®] nachgewiesenen entzündungshemmenden und immunstimulierenden Wirkungen verantwortlich sein. So hemmt es den Transkriptionsfaktor Nuclear Factor-kappa B (NF- κ B) selektiv [LYSS et al. 1997]. NF- κ B ist nicht nur von großer Bedeutung für die Regulation der Immunantwort, sondern seine Aktivierung gilt auch als kritisch für das Entstehen von Entzündungen. Die Cyclooxygenase-2 wird unter NF- κ B verstärkt transkribiert, wodurch es letztendlich zu einer vermehrten Produktion von Prostaglandin-H₂ kommt. Nach MATUSIEWICZ (1996) hemmt die Behandlung allergischer Patienten mit Traumeel[®] darüber hinaus die Fähigkeit der Granulozyten, Peroxidradikale zu bilden – ein Vorgang, der einen Teil des Entzündungsvorgangs darstellt. Außerdem wurden durch Traumeel[®] bei allergischen Patienten die hohen IgE-Spiegel signifikant gesenkt [MATUSIEWICZ 1996]. Ferner bewirkte die Applikation von Traumeel[®] in-vitro bei Lymphozytenkulturen eine signifikante Zunahme der Aktivität [ENBERGS 1998] bzw. der Sekretion des immunstimulierenden und allergiesupprimierenden Zytokins Interferon- γ

[SARWAR und ENBERGS 2001]. Unter der In-vivo-Behandlung mit Interferon und Interferon-Inducern wiederum konnte bei Mäusen eine beschleunigte und verbesserte Wundheilung mit gesteigerter Migration der dermalen Fibroblasten in das Wundgebiet beobachtet werden [BHARTIYA et al. 1992].

Wie im Ergebnisteil dargestellt, bewirkt die Vorbehandlung der Pferde mit Engystol® einen deutlichen positiven Einfluss, indem die Pferde der Verumgruppe bereits eine Woche nach Therapie einen hoch signifikanten Rückgang im Dermatitis-Index aufweisen, der zwei und drei Wochen später sogar höchst signifikant ist (vergl. Abb. 4.34 B). Die Tiere der Placebogruppe hingegen erreichen erst zwei Wochen nach Therapiebeginn einen signifikanten bzw. drei Wochen später hoch signifikanten Rückgang desselben Indexes. Bei der Ausprägung des Juckreizes weisen die Pferde der vorbehandelten Gruppe drei Wochen nach Therapiebeginn einen höchst signifikant niedrigeren Index auf, während die unbehandelten Tiere eine hoch signifikante Reduzierung des Wertes zeigen (siehe Abb. 4.35 B).

Dies weist darauf hin, dass trotz des relativ späten Beginns der Prophylaxe und somit kurzen präventiven Behandlung eine Umstimmung des Immunsystems durch die oben diskutierte Wirkung von Engystol® mit hieraus resultierender Abschwächung der allergiebedingten Symptomatik stattgefunden hat.

Die Therapieerfolge wurden nach einer Unterbrechung der Behandlung im August und nach Wiederaufnahme der Therapiemaßnahmen an 26 Islandpferden deutlich und höchst signifikant bestätigt und dadurch die positive Wirkung der ausgewählten Therapie für das SE unterstrichen.

Die erzielten positiven Wirkungen der angewandten homöopathischen Prophylaxe und Therapie sind insbesondere bemerkenswert, als dass sie eine Möglichkeit bieten, das in der Humanmedizin bekannte „Rebound-Phänomen“ nach Cortisoneinsatz zur Therapie allergischer Erkrankungen zu umgehen. Hierunter wird die nach Absetzen von Corticosteroidgaben häufig beobachtete Verschlechterung der Symptome über den Zustand vor Therapiebeginn hinaus verstanden, welche beim Menschen bereits untersucht worden ist [KIMATA 1999, FORTE et al. 2005]. KIMATA fand hierbei zwei Wochen nach Absetzen einer jahrelangen topischen Anwendung von Dexamethasonsalben erhöhte T_H2-Zell-Zytokin-Spiegel und eine gesteigerte Produktion von IgE und IgG4. Für das Pferd liegen Ergebnisse zum Einfluss von Dexamethason auf Basophile Granulozyten von HAMPEL (2007) vor. Er konnte nach Gabe von Dexamethason in vivo keine Beeinträchtigung der Funktionsbereitschaft der Zellen im HRT nachweisen, wohl aber eine temporäre Reduzierung der Anzahl Basophiler Granulozyten, die ca. 48 Stunden anhielt. Ab dem 12. Tag nach einmaliger Gabe von Dexamethason war jedoch eine erheblich gesteigerte Reagibilität der

Basophilen gegenüber den von ihm verwandten Antikörpern im HRT festzustellen, die bis zum 62. Tag anhielt. Hieraus wird deutlich, dass die Anwendung von Corticosteroiden erhebliche – unerwünschte – Nebenwirkungen auf der Ebene der Effektorzellen besitzt und lediglich dazu dient, die klinische Symptomatik zu unterdrücken. Demgegenüber stehen die in dieser Arbeit ermittelten immunmodulatorischen Effekte der eingesetzten homöopathischen Präparate, die Corticosteroiden zur Anwendung in Prophylaxe und Therapie des SE deutlich vorzuziehen sind.

Um einen Überblick über die tatsächliche Allergenexposition zu erlangen und auszuschließen, dass ein zufälliger geringer Mückenflug für eine Verbesserung der Symptomatik verantwortlich war, wurde über die Saison hinweg an den Standorten der Pferde mit Hilfe von Mückenfallen das tägliche *Culicoides*-Vorkommen erfasst. Gerade nach der Therapieunterbrechung mit nachfolgender Wiederaufnahme der Behandlung kam es zu einem besonders hohen Mückenaufkommen. Der schnelle Therapieerfolg wurde hier also nicht nur bei gleichbleibenden extensiven Haltungsbedingungen sondern auch bei unverminderter bzw. sogar starker Allergenexposition erreicht.

5.2 Einfluss einer homöopathischen Prophylaxe und Therapie auf die Ergebnisse in den funktionellen In-vitro-Tests HRT und CAST sowie auf das Differenzialblutbild bei Pferden mit Disposition für das SE

Im Rahmen dieser Untersuchung wurden erstmals bei einer größeren Anzahl von Pferden mit Disposition für SE der CAST und HRT während einer Saison und damit über einen längeren Zeitraum hinweg eingesetzt, um so die nach Stimulation mit einem Allergenextrakt freigesetzten präformierten und neusynthetisierten Mediatoren zu erfassen. Darüber hinaus wurde zum ersten Mal eine kontrollierte Prophylaxe und Therapie mit homöopathischen Präparaten gegen das SE angewandt und parallel dazu deren Auswirkungen auf die Abläufe auf zellulärer Ebene untersucht und dargestellt.

Bei Pferden mit Disposition für das SE wurden die Vorgänge auf zellulärer Ebene mit Hilfe von funktionellen In-vitro-Tests zu Beginn dieser Arbeit kaum untersucht. Das Gleiche gilt für Verlaufskontrollen mittels dieser Untersuchungsmethoden über längere Zeiträume hinweg (vor, während und nach Ausbruch des Ekzems, Winterphase). Lediglich MARTI et al. (1999) konstatierten bei Pferden mit Disposition für das SE nach Stimulation mit einem Extrakt aus *Culicoides nubeculosus* eine signifikant erhöhte sLT-Freisetzung aus isolierten basophilen Leukozyten. Sie zeigten, dass die Bestimmung der sLT-Freisetzung eine geeignete diagnostische Möglichkeit zum Nachweis des SE ist. Diese Einschätzung wurde von DE WECK und SANZ (2004) bestätigt, die in ihrer Meta-Analyse den Wert des CAST als

diagnostisches Mittel für IgE-vermittelte Reaktionen unterstrichen. Der HRT bewährte sich bei KAUL (1998) als ein zuverlässiger Test zur Messung und Quantifizierung der Histaminfreisetzung bei Pferden mit bekannter Typ-I-Allergie.

Wie die in Abb. 4.29 und 4.31 dargestellten Ergebnisse zeigen, ist bei den Pferden mit Disposition für das SE im Winter in der Phase vor Ausbruch des Ekzems bis zum ersten Auftreten klinischer Symptome des Sommerexzems bereits eine erhöhte Bereitschaft der isolierten Basophilen Granulozyten festzustellen, Histamin und sLT nach Stimulation mit einem *Culicoides*-Extrakt freizusetzen. Gleichzeitig sinkt der Gesamthistamingehalt der Zellen von im Mittel 67,8 auf 56,1 µg/ml. Pferde ohne Ekzemdisposition weisen dagegen einen mittleren Gesamthistamingehalt von 103,84 µg/ml auf (vergl. Abb. 4.22). Sie zeigen nach Stimulation mit dem *Culicoides*-Extrakt keine erhöhte Histaminfreisetzung im HRT bzw. sLT-Neusynthesierung im CAST.

Vergleicht man in der Präventivphase den Anstieg der prozentualen Histaminfreisetzung der Placebo- und Verumgruppe miteinander, so wird deutlich, dass dieser in der Verumgruppe weniger stark ausfällt als in der unbehandelten Gruppe (s. Abb. 4.18). Auch steigt der Gesamthistamingehalt in der Verumgruppe sogar leicht an, während er in der Placebogruppe deutlich abfällt (s. Abb. 4.17). Diese Ergebnisse zeigen, dass die gewählte Prophylaxe die prozentuale Histaminfreisetzung auf die Stimulation mit einem Allergenextrakt reduziert und den Gesamthistamingehalt der Basophilen Granulozyten stabilisiert. Auch der Vergleich mit dem hohen Gesamthistamingehalt von Basophilen Granulozyten gesunder Pferde sowie mit deren geringer prozentualer Histaminfreisetzung nach Stimulation mit einem *Culicoides*-Extrakt macht deutlich, dass die durchgeführte Prophylaxe auf diese Effektorzellen stabilisierend bzw. desensibilisierend gewirkt haben muss.

Während der 3 Wochen vor Ausbruch des Ekzems zeigt sich im Differenzialblutbild der Pferde mit Disposition für SE ein deutlicher Abfall der Lymphozyten- bei gleichzeitigem Anstieg der Eosinophilenzahlen. Diese Veränderungen waren jedoch nicht signifikant. Bei dem Vergleich von Verum- und Placebogruppe zeigte sich jedoch, dass die Lymphozytenzahlen in der unbehandelten Gruppe zum Zeitpunkt des ersten Auftretens des SE höchst signifikant abfallen (41,5 → 29,3%), während die mit Engystol® und Eigenblut behandelte Gruppe zu diesem Zeitpunkt keine signifikant niedrigeren Zellzahlen aufweist (38,6 → 34,9%). Bei den Eosinophilenzahlen besteht jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen (vergl. Abb. 4.15, 4.16).

Die Ergebnisse zeigen, dass die prophylaktische Behandlung der Pferde mit Disposition für SE mit Engystol® ad us. vet. und Eigenblut, Carduus und Coenzyme compositum den höchst signifikanten Abfall der Lymphozytenzahlen in der Zeit vor Ausbruch des Ekzems verhindert.

Interessant ist hierbei, dass bereits durch eine einmalige Behandlung der in der unbehandelten Gruppe innerhalb einer Woche festgestellte hoch signifikante Abfall der Lymphozytenzahl um 13,1% verhindert wird und es im gleichen Zeitraum bei den behandelten Pferden zu einer nur sehr geringen Senkung von 2,8% kommt (s. Abb. 4.15). Diese Ergebnisse decken sich mit den im vorherigen Abschnitt bereits zitierten Ergebnissen zum positiven Effekt von Engystol[®] ad us. vet. auf die Aktivität von Lymphozytenkulturen bzw. die Expression von Interferon- γ . Sie beweisen eine immunstimulierende Wirkung von Engystol[®] ad us. vet. nicht nur für den Einsatz im In-vitro- sondern auch im In-vivo-Bereich.

Unter der hier eingesetzten Therapie kommt es bei den an SE erkrankten Pferden zu einem teilweise hoch signifikanten Abfall der prozentualen Histaminfreisetzung aus den Basophilen Granulozyten. Gleichzeitig steigt der Gesamthistamingehalt dieser Zellen zunehmend deutlich an. Ab der zweiten Therapiewoche erwies sich dieser Anstieg als signifikant, ab der vierten Woche als hoch signifikant und ab der sechsten Woche sogar als höchst signifikant (s. Abb. 4.26, 4.29). Hieraus muss man auf eine zunehmende Desensibilisierung und damit Stabilisierung der Basophilen durch die angewandte Therapie schließen. Dafür sprechen auch die Untersuchungsergebnisse von MATUSIEWICZ (1996), die ein signifikantes Absinken des für Allergiker typischen hohen IgE-Spiegels bei Patienten mit allergischem Asthma unter der Therapie mit Traumeel[®] feststellte. Offenbar findet neben der entzündungshemmenden Umstimmung des T_h1/T_h2-Verhältnisses auch eine Modulation der humoralen Reaktion statt, die in künftigen Untersuchungen zu berücksichtigen ist.

Mittels wöchentlich angefertigter Differenzialblutbilder konnte eine über den Studienzeitraum hinweg konstante Zahl der Basophilen Granulozyten nachgewiesen werden, sodass auszuschließen ist, dass Schwankungen in der Anzahl der Basophilen für die hier festgestellten Veränderungen ursächlich waren.

Untersucht man den Einfluss der Vorbehandlung mit Engystol[®] auf die Behandlungsergebnisse in der Therapiephase, ergeben sich vom Therapiebeginn an diesbezüglich bemerkenswerte und zum Teil signifikante Vorteile. So liegt der Gesamthistamingehalt in der vorher mit Engystol[®] behandelten Verumgruppe bereits in der 4. Woche nach Therapiebeginn signifikant über dem Wert zum Zeitpunkt „akut SE“, während dies in der Placebogruppe erst zwei Wochen später der Fall ist (s. Abb. 4.28). Einen höchst signifikanten Unterschied in Bezug auf den Zeitpunkt „akut SE“ hat die Verumgruppe bereits in der 8. Therapiewoche erreicht, die Placebogruppe hingegen erst sechs Wochen später, d.h. 14 Wochen nach Therapiebeginn. In der 12. Woche liegt der Gesamthistamingehalt in der mit Engystol[®] behandelten Gruppe signifikant über dem der Placebogruppe. Diese Befunde

beweisen, dass die vorherige Behandlung mit Engystol[®] und Eigenblut bereits zu einer deutlichen Umstimmung und Desensibilisierung des Immunsystems geführt haben muss.

Auch der Vergleich der prozentualen Histaminfreisetzung je nach Zugehörigkeit zur vormaligen Verum- bzw. Placebogruppe unterstreicht die Desensibilisierung der Basophilen Granulozyten. So zeigten die Zellen der mit Engystol[®] und Eigenblut behandelten Pferde in der 4. und 6. Woche nach Therapiebeginn eine hoch signifikant bzw. signifikant niedrigere Histaminfreisetzung. Die vorherige Placebo-Gruppe hingegen zeigte zu keinem Zeitpunkt eine signifikant niedrigere prozentuale Freisetzung von Histamin (s. Abb. 4.30).

Dies zeigt, dass die gewählte Prophylaxe nicht nur den Gesamthistamingehalt der Zellen stabilisiert, sondern auch die Reaktionen auf das Allergen auf zellulärer Ebene mäßigend beeinflusst. Durch die Desensibilisierung der Basophilen Granulozyten der Probanden näherten sich die Gesamthistaminwerte den Werten gesunder Pferde ohne Allergiedisposition an. In der kurzen Phase der Therapieunterbrechung im August fiel der Gesamthistamingehalt der Basophilen nur leicht und auch nicht signifikant ab. Nach erneuter Aufnahme der Therapie kommt es dann zügig zu einem erneuten Anstieg der Werte, der wegen des höheren Ausgangsniveaus ebenfalls nicht signifikant ausfiel (s. Abb. 4.36). In dem gesamten Zeitraum der Therapieunterbrechung lagen die Gesamthistamingehalte der Basophilen Granulozyten über denen gesunder Pferde ohne Allergiedisposition, was die Stabilisierung der Zellen deutlich unterstreicht. Durch die während der Phase der Therapieunterbrechung erzielte Wiederholung des positiven Behandlungseffektes konnte dieser somit nachdrücklich bestätigt werden.

5.3 Untersuchungen zur Eignung der funktionellen In-vitro-Tests CAST und HRT zur Diagnostik und Verlaufskontrolle des SE

Zum Zeitpunkt des Beginns dieser Untersuchungen gab es nur wenige Ansätze, das SE beim Pferd sicher zu diagnostizieren. Dies galt im Besonderen für Pferde ohne klinische Symptome der Erkrankung. Um weitere Erkenntnisse über eine mögliche Diagnostik für das SE zu erhalten, wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit erstmals die funktionellen In-vitro-Tests HRT und CAST zur Diagnostik des SE bei einer größeren Anzahl von Pferden mit Disposition für das SE eingesetzt. Um Vergleichswerte von Tieren ohne Allergiedisposition zu erhalten, wurden diese Tests ebenso bei gesunden Pferden angewandt. Zudem wurden im Winter beide Tests an symptomfreien Pferden mit Disposition für SE wie auch an gesunden Pferden ohne eine entsprechende Disposition im direkten Vergleich durchgeführt. Dabei wurde auf die Beantwortung der Frage nach einer sicheren Differenzierung zwischen Pferden

mit und ohne Disposition für das SE selbst im Winter bei symptomfreien Pferden besonderer Wert gelegt. Über den Zeitraum einer gesamten Saison wurde darüber hinaus mit Hilfe des HRT der Verlauf des Gesamthistamingehaltes sowie die Histaminfreisetzung nach Stimulation mit einem *Culicoides*-Extrakt aus den isolierten Basophilen Granulozyten der an SE erkrankten Pferde erfasst. Im CAST wurde vor, zum Zeitpunkt des Auftretens des SE sowie 1 Woche nach Therapie die sLT-Neusynthesierung auf Stimulation mit dem Allergenextrakt hin bestimmt.

Die in Abb. 4.22 gezeigten Untersuchungsergebnisse des HRT im Winter zeigen, dass die Gesamthistamingehalte der Basophilen gesunder Pferde ohne Allergiedisposition mit $103,8 \mu\text{g/ml} \pm 29,9 \mu\text{g/ml}$ hoch signifikant über den entsprechenden Werte symptomfreier Pferde mit einer Disposition für das SE ($64,5 \mu\text{g/ml} \pm 18,6 \mu\text{g/ml}$) liegen. Die prozentuale Histaminfreisetzung nach Stimulation mit dem Allergenextrakt lag bei den Pferden mit Disposition für das SE erheblich höher als bei den gesunden Tieren ohne Allergiedisposition ($60,1\% \pm 18,2\%$ gegenüber $3,6\% \pm 3,6\%$). Dieser Unterschied erwies sich als höchst signifikant.

Bei allen Pferden mit Disposition für das SE lag die prozentuale Histaminfreisetzung nach Stimulation mit dem *Culicoides*-Extrakt bei $39,7\%$ oder höher, während bei keinem der gesunden Probanden ohne Disposition für das SE der entsprechende Wert nach Stimulation über $11,1\%$ lag (s. Kap. 9, Tab. 9.42). Bei einer prozentualen Histaminfreisetzung von $39,7\%$ und darüber kann daher mit hoher Sicherheit vom Vorliegen einer Disposition für das SE ausgegangen werden.

Diese Ergebnisse belegen, dass der HRT zur zuverlässigen Differenzierung zwischen Pferden mit und ohne Disposition für Sommereczem auch bei symptomfreien Tieren geeignet ist. Er erwies sich somit als ein sicherer Test zur Diagnose des SE sowie der Disposition für SE.

Auch im CAST wurden im Winter beträchtliche Unterschiede in der sLT-Neusynthesierung nach Stimulation mit dem *Culicoides*-Extrakt zwischen den beiden Gruppen festgestellt. Pferde mit Disposition für das SE setzten im Mittel $2835,9 \text{ pg/ml} \pm 1576,3 \text{ pg/ml}$ sLT frei, während die Probanden ohne Allergiedisposition nur eine mittlere sLT-Freisetzung von $528,7 \text{ pg/ml} \pm 319,6 \text{ pg/ml}$ zeigten. Diese Differenz zwischen den beiden Gruppen war statistisch signifikant (s. Abb. 4.21).

Bei allen Probanden mit Disposition für das SE lag die sLT-Freisetzung nach Stimulation mit dem *Culicoides*-Extrakt über einem Wert von $1756,7 \text{ pg/ml}$, wohingegen keines der gesunden Pferde ohne Disposition für das SE einen entsprechenden Wert über $1090,0 \text{ pg/ml}$ aufwies. Bei einem im CAST ermittelten Wert von $1756,7 \text{ pg/ml}$ und mehr freigesetztem sLT kann

daher mit hoher Sicherheit von einer vorhandenen Disposition für das SE ausgegangen werden.

Dies dokumentiert, dass auch der CAST sich zur Differenzierung zwischen Pferden mit und ohne Ekzemdisposition – auch während symptomfreier Phasen – eignet und mit ihm eine sichere Diagnose für das SE sowie für Disposition für SE gestellt werden kann.

In dieser Untersuchung wurde der CAST vor, während sowie 1 Woche nach Ausbruch des SE angewandt. Es zeigten sich ein Anstieg der sLT-Freisetzung aus den Basophilen Granulozyten zum Zeitpunkt der Erkrankung sowie ein leichter Abfall der sLT-Freisetzung 1 Woche nach erfolgter Therapie (s. Abb. 4.31). Diese Unterschiede waren nicht signifikant. Im HRT wurden parallel zu den Änderungen im CAST ein Anstieg der prozentualen Histaminfreisetzung zum Zeitpunkt des Ausbruchs des Ekzems sowie ein leichtes Absinken in der darauffolgenden Woche unter einsetzender Therapie festgestellt. Der Gesamthistamingehalt verlief umgekehrt und stieg nach anfänglichem deutlichen Absinken zum Erkrankungszeitpunkt wieder leicht an (s. Abb. 4.26, 4.29).

In der darauffolgenden wöchentlichen Verlaufskontrolle mittels HRT über die Saison hinweg stieg der Gesamthistamingehalt der Basophilen Granulozyten unter der Therapie stetig und zu einem Großteil höchst signifikant an, während die prozentuale Histaminfreisetzung mit fortschreitender Therapiedauer langsam und zu einigen Zeitpunkten ebenfalls signifikant zurückging (Abb. 4.26, 4.29). Der HRT ist folglich zur Verlaufskontrolle und Darstellung der auf der zellulären Ebene ablaufenden Entzündungsvorgänge geeignet.

Nach den vorliegenden Ergebnissen verliefen der Krankheitsprozess und die Verbesserung der klinischen Symptomatik mit den biochemischen Ergebnissen im HRT und CAST gleichsinnig und – mit einer gewissen Verzögerung – nahezu parallel, d.h. mit ansteigendem Gesamthistamingehalt und gleichzeitig abnehmender prozentualer Histaminfreisetzung bzw. sLT-Neusynthesierung kam es zu einem Abklingen der Symptome. Dies beweist nicht nur, dass die gewählte Therapie in klinischer Hinsicht erfolgreich war, sondern auch, dass eine Beschreibung und Bestätigung des Behandlungserfolges in Form einer Verlaufskontrolle durch den HRT und den CAST möglich ist.

5.4 Ergebnisse zu den Grundlagen der Pathogenese des SE

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden wie bereits erwähnt zum ersten Mal Ergebnisse einer größeren Anzahl von Pferden mit Disposition für das SE im Frühjahr und Winter im HRT und CAST erfasst und zusätzlich der Verlauf der Werte im HRT über eine ganze Saison dargestellt. Die Ergebnisse dieser Untersuchung bestätigen das SE als eine Typ-I-Allergie

gegenüber den Bissen der *Culicoides spp.*. MARTI et al. (1999) bestimmten eine erhöhte sLT-Freisetzung aus Basophilen Granulozyten von 16 an SE erkrankten Pferden nach Stimulation mit einem *Culicoides*-Extrakt. In den letzten Jahren haben eine Reihe von Untersuchungen weiter zur Klärung der Pathogenese beigetragen und die hier erhobenen Erkenntnisse bestätigt. So wurden equine IgE- und IgG-Serumantikörper gegen *Culicoides*-Speicheldrüsenextrakte nachgewiesen [WILSON et al. 2001] und in weiteren Studien mehrere potenzielle Antigene aus *C. nubeculosus* als Auslöser für das SE identifiziert [LANGNER et al. 2005, HELLBERG et al. 2006, WILSON et al. 2008, LANGNER et al. 2009].

Ein weiterer interessanter Aspekt ist der Verlauf der in dieser Arbeit untersuchten Akute-Phase-Proteine CRP und Haptoglobin. Wie in Abb. 4.24 gezeigt, wiesen die Pferde mit Disposition für SE im Winter einen mittleren CRP-Spiegel von $17,3 \mu\text{g/ml} \pm 4,2 \mu\text{g/ml}$ auf, die gesunden Kontrolltiere jedoch einen mittleren Spiegel von $51,3 \mu\text{g/ml} \pm 17,3 \mu\text{g/ml}$. Dieser Unterschied ist höchst signifikant. Die während des ersten Auftretens des SE, sowie auch im August vor und während der Phase der Therapieunterbrechung ermittelten Werte der CRP-Spiegel lagen nie oberhalb von $20,1 \mu\text{g/ml} \pm 5,8 \mu\text{g/ml}$ und somit immer statistisch höchst signifikant unter denen gesunder Pferde. CRP wird unter Einfluss von IL-1, TNF- α sowie v.a. IL-6 in der Leber synthetisiert. IL-6, welches früher auch als zytotoxischer T-Zell-Differenzierungsfaktor, B-Zell-stimulierender Faktor oder B-Zell-Differenzierungs-Faktor bekannt war, wird u.a. von Makrophagen, Endothelzellen und T-Zellen produziert [MÜLLER et al. 2008]. Es ist ein multifunktionales Zytokin, welches über zwei Rezeptortypen (IL-6R, membrangebunden, bzw. sIL-6R, löslicher Rezeptor) u.a. die Proliferation von B-Zellen zu antikörpersezernierenden Plasmazellen induziert, die Differenzierung und Proliferation von T-Zellen steuert und hierbei die Differenzierung zu zytotoxischen T-Lymphozyten fördert sowie traditionell als Aktivator der APP und der Lymphozyten gilt [KISHIMOTO et al. 1995]. Über die Höhe des IL-6-Spiegels bei Pferden mit SE ist bislang nichts bekannt. Ob eine eventuelle niedrige Produktion von IL-6 mit daraus resultierender geringer CRP-Synthese und erniedrigtem CRP-Spiegel bei Pferden mit Disposition für das SE vorliegen könnte, wäre in weiteren Studien zu klären. In einem solch niedrigen IL-6-Spiegel könnte dann auch der zum Ausbruch des SE hin höchst signifikante Rückgang der Lymphozytenzahlen begründet sein. Eine weitergehende Untersuchung nicht nur des IL-6 sondern auch des übrigen Zytokinmusters von Pferden mit SE sowie den vorkommenden Lymphozytensubpopulationen wäre von großem Interesse, da die Ergebnisse weiter zur Klärung der Pathogenese des SE beitragen könnten. In der letzten Zeit gab es zahlreiche Studien beim Menschen, die einen Zusammenhang zwischen Unterschieden im Haplotyp des CRP-Gens und der Höhe des CRP-Spiegels im Blut nachweisen [SZALAI et al. 2005, MORITA et al. 2006, CRAWFORD et al.

2006]. Neue Untersuchungen zeigen, dass die genetische Variation von IL-6 ebenfalls einen deutlichen und teilweise noch stärker ausgeprägten Einfluss auf den CRP-Serum-Spiegel hat [PAIK et al. 2007] und die Haplotypen von IL-1beta zusätzlich eine Rolle bei der Regulation des CRP-Spiegels einnehmen könnten [ENQUOBAHRIE 2008]. Entsprechende Untersuchungen bei Pferden liegen leider noch nicht vor. Ob diese Erkenntnisse vom Menschen auf das Pferd übertragen werden können und somit auch bei Pferden mit Disposition für SE bestimmte genetische Variationen der Gene für CRP, IL-6 und IL-1beta vorliegen könnten, bedarf weiterer Untersuchungen und ist sicherlich von großem Interesse. Ein weiterer Grund für die unterschiedlichen CRP-Spiegel zwischen Pferden mit und ohne Disposition für das SE könnte auch in einer unterschiedlich starken Expression der IL-1beta- und IL-6-mRNA liegen. So stellten KOLM et al. (2006) bei ihren Untersuchungen von Hautbiopsien von gesunden und an SE erkrankten Pferden nach intradermaler Injektion eines *Culicoides*-Extraktes eine deutliche lokale Heraufregulierung von IL-1beta-mRNA bei beiden Gruppen fest. Dieser Anstieg war jedoch nur bei den an SE erkrankten Pferden signifikant. Diese Unterschiede in der Expression der IL-1beta-mRNA zwischen Pferden mit und ohne Disposition für das SE könnten ein Hinweis auf die Mitbeteiligung von IL-1beta und IL-6, deren vorkommender Haplotypen sowie der Höhe ihrer Expression an der Pathogenese des Sommerzems und so auch ein Grund für den stark erniedrigten CRP-Spiegel sein. Um diese These zu festigen sind weitere molekularbiologische Untersuchungen auf diesem Gebiet notwendig und wünschenswert und sicherlich von großem Interesse, da auch sie zur Klärung der Pathogenese beitragen könnten. Einen Zusammenhang zwischen einer Veränderung des T_h1/T_h2 Gleichgewichts und Expression verschiedener Zytokin-mRNA beschrieb DRONOV (2005). Er wies eine deutliche dosisabhängige Induktion der mRNA für IL-10, IL-4, IFN- γ sowie TNF- α durch Kultivierung equiner polymorphkerniger neutrophiler Granulozyten mit einem pflanzlichen bzw. mikrobiellen Immunmodulator nach.

Dass CRP eine Rolle bei immunologischen Prozessen spielt und im Tierversuch u.a. regulierend auf die bei Autoimmunerkrankungen ablaufenden Vorgänge wirkt, bewiesen SZALAI et al. [2002, SZALAI 2004], indem sie zeigten, dass humanes CRP CRP-transgene Mäuse vor Autoimmunerkrankungen schützt. Diese schützende Wirkung bestätigten MARJON et al. (2009) bei ihren Untersuchungen an Mäusen über die regulatorische Funktion des CRP bei der Autoimmunkrankheit Immunthrombozytopenie, bei der sie die Generierung suppressiver Makrophagen durch CRP nachwies. PEREIRA et al. (1980) und PEPYS et al. (1982) hatten bereits Hinweise für eine Beteiligung des CRP an der Pathogenese der Autoimmunerkrankung Systemischer Lupus Erythematosus (SLE) aufgezeigt. Sie wiesen nach, dass entgegen der bekannten Eigenschaft des CRP als Akute-Phase-Protein, bei

entzündlichen Veränderungen im Blut anzusteigen, es bei Patienten mit SLE zu keinem oder nur einem geringen Anstieg des CRP-Spiegels kommt. Einen Zusammenhang zwischen einem niedrigen CRP-Spiegel, dem Vorliegen von IgG-Autoantikörpern gegen monomeres CRP (mCRP) sowie dem Ausprägungsgrad der Erkrankung SLE deckten SJÖWALL et al. (2004) und TAN et al. (2008) auf. Sie zeigten, dass bei humanen Patienten mit SLE die Höhe der Serum-Spiegel von mCRP mit der Aktivität der Erkrankung korrelieren. SJÖWALL et al. (2004) wiesen darüber hinaus eine signifikante inverse Korrelation der mCRP-Serum-Spiegel mit den Lymphozytenzahlen nach. Ob bei Pferden mit Disposition für das SE IgG-Autoantikörpern gegen das CRP vorliegen und hieraus die niedrigen CRP-Spiegel resultieren könnten und inwieweit darüber hinaus der höchst signifikante Abfall der Lymphozytenzahlen zum Ausbruch der Erkrankung hin ebenfalls mit einer negativen Korrelation mit dem mCRP-Serum-Spiegel zusammenhängen könnte, bedarf weiterer Untersuchungen. Auch diese Untersuchungen wären zur Klärung der Pathogenese des SE von großem Interesse. Die von SZALAI et al. (2002) in ihrer Studie ermittelten regulierenden Effekte des CRP waren u.a. eine Hemmung der entzündlichen Zytokine und Chemokine, wie auch eine Steigerung der IL-10-Produktion. IL-10 ist eines der wichtigsten anti-inflammatorisch wirksamen Zytokine und hilft durch seine Wirkung, den Organismus vor überschießenden Entzündungsreaktionen zu schützen. Einen Hinweis auf die Mitbeteiligung von IL-10 an der Pathogenese des SE fanden HAMZA et al. (2007). Sie ermittelten einen erhöhten IL-10-Spiegel bei gesunden in Europa geborenen Islandpferden nach Stimulation der mononukleären Zellen des peripheren Blutes bei gleichzeitig fehlender IL-4-Produktion. Hingegen zeigten die Blutzellen von Pferden mit SE nach Stimulation eine erhöhte Anzahl IL-4-produzierender T-Zellen sowie eine Reduzierung von IFN- γ -produzierenden Zellen. In einer weiteren Studie an Islandpferden mit SE zeigten HAMZA et al. (2008), dass bei diesen in-vitro die IL-4-Produktion durch IL-10 und TGF- β 1 in Kombination gehemmt wird. Sie folgerten, dass durch die Kombination von IL-10 und TGF- β 1 IL-4-induzierte allergenspezifische T_h2-Zellen herunterreguliert werden mit nachfolgendem verbesserten T_h1/T_h2-Gleichgewicht. Inwieweit in diesem Regelkreis ein erniedrigter CRP-Spiegel im Blut von Pferden mit Disposition für das SE eine entscheidende Schlüsselrolle durch den eventuellen Wegfall der regulierenden Eigenschaften des CRP selbst wie auch des IL-10 spielt, müsste ebenfalls in weiteren Studien geklärt werden. Die Tatsache, dass MARSCHAN et al. (2008) bei ihren Untersuchungen an Kindern mit familiärer Disposition für Allergien einen direkten Zusammenhang zwischen einem erhöhten CRP-Spiegel im Alter von 6 Monaten und einem geringeren Risiko, mit 2 Jahren an Ekzemen und Allergien zu erkranken, feststellten, unterstreicht zusätzlich die besondere Bedeutung des CRP bei immunologischen Prozessen.

In der Literatur wird bislang bei gesunden erwachsenen Pferden ein Normwert von $7,4 \pm 2,0$ $\mu\text{g/ml}$ [TAKIGUCHI et al. 1990] bzw. $7\text{--}8$ $\mu\text{g/ml}$ [YAMASHITA et al. 1991] angegeben, während die in dieser Untersuchung ermittelten Werte sowohl bei Islandpferden mit Disposition für das SE ($17,3$ $\mu\text{g/ml} \pm 4,2$ $\mu\text{g/ml}$) als auch vor allem bei den gesunden Kontrolltieren ($51,3$ $\mu\text{g/ml} \pm 17,3$ $\mu\text{g/ml}$) um ein Vielfaches höher lagen. Dabei sind die in den jeweiligen Studien angewandten verschiedenen Nachweismethoden zu berücksichtigen. Während in der vorliegenden Arbeit ein kompetitiver Immunoassay unter Ausnutzung der spezifischen calciumabhängigen Bindung des CRP an Phosphorylcholin angewandt wurde, nutzten YAMASHITA et al. (1991) und TAKIGUCHI et al. (1990) in ihren Studien an Vollblutpferden die Methode der einfachen radialen Immunodiffusion. Weitere Studien, die Messergebnisse unterschiedlicher Nachweismethoden einander gegenüberstellen, wären geeignet, eine bessere Vergleichbarkeit der Werte zu erreichen. Studien zu rassebedingten Unterschieden in der CRP-Konzentration liegen ebenfalls bislang noch nicht vor. Dies wäre jedoch von großem Interesse, um weiteren Einblick in die Rolle des CRP bei der Pathogenese des SE beim Islandpferd zu erlangen.

Im Winter wurde hier außerdem das Entzündungsprotein Haptoglobin (Hp) bei beiden Pferdegruppen bestimmt. Abb. 4.25 zeigt, dass die Konzentration des Hp im Serum in der Gruppe mit Disposition für das SE deutlich höher ($1,31$ $\text{mg/ml} \pm 1,24$ mg/ml) liegt als bei den gesunden Kontrolltieren ($0,80$ $\text{mg/ml} \pm 0,65$ mg/ml). Aufgrund der starken Streuung waren die Unterschiede jedoch nicht signifikant. Das Haptoglobin wird wie das CRP in der Leber synthetisiert und ist neben seiner Eigenschaft als Akute-Phase-Protein als Transportprotein für Hämoglobin charakterisiert. Der Hp-Spiegel im Blut steigt nach einer Reaktionszeit von ca. $6\text{--}24$ Stunden nach Entzündungsreaktion um den $1\text{--}5$ -fachen Wert an, erreicht die Höchstkonzentration nach $2\text{--}12$ Tagen, um nach $14\text{--}50$ Tagen wieder den Ausgangswert zu erreichen [KENT 1987, PATTERSON et al. 1988, KENT und GOODALL 1991, TAIRA et al. 1992]. GOTHE (1998) ermittelte eine physiologische Obergrenze von $0,55$ mg/ml für Vollblutpferde ohne Abhängigkeit vom Geschlecht sowie ein Absinken der Haptoglobinwerte ab dem 6. Lebensjahr. Die in der vorliegenden Arbeit ermittelten Ergebnisse lagen im Vergleich hierzu sowohl bei den Pferden mit Disposition für das SE als auch bei den gesunden Kontrolltieren deutlich höher. Hierbei lag das mittlere Alter der Tiere mit Allergiedisposition mit $15,2$ Jahren deutlich über dem der gesunden Pferde ($9,9$ Jahre). Zu berücksichtigen sind jedoch auch hier die unterschiedlichen angewandten Messmethoden. Während GOTHE (1998) für ihre Ergebnisse nephelometrische Messungen (Nephelometer BN 100, Behring Diagnostika) zur immunochemischen Bestimmung des Hp nutzte, wurde in dieser Arbeit ein Sandwich-ELISA unter Verwendung von polyklonalen Antikörpern vom Kaninchen gegen Hp eingesetzt.

Vergleichende Untersuchungen beider Nachweisverfahren wären notwendig, um eine Aussage über die Vergleichbarkeit der ermittelten Normwerte zu erlangen. Wäre diese gegeben, könnte man davon ausgehen, dass offensichtlich rassebedingte Unterschiede im Hp-Spiegel vorhanden sind. Für im Sandwich-ELISA ermittelte Ergebnisse kann ein Wert von $0,8 \text{ mg/ml} \pm 0,65 \text{ mg/ml}$ für Islandpferde als physiologisch angesehen werden. Selbst bei schwerwiegenden Entzündungsreaktionen wie offenen Abszessen konnte GOTHE bei Vollblütern nur einen Maximalwert von $1,18 \text{ mg/ml}$ ermitteln, während der mittlere Haptoglobinspiegel der klinisch gesunden Islandpferde mit Disposition für das SE im Winter $1,31 \text{ mg/ml} \pm 1,24 \text{ mg/ml}$ betrug. Auch kann nicht von einem Absinken der Werte ab dem 6. Lebensjahr ausgegangen werden. Eine Beantwortung der Frage nach Bestehen einer Alterskurve für Hp beim Islandpferd bedarf noch weiterer Untersuchungen. Das Gleiche gilt für die Klärung der Ursache für die hohen Hp-Werte bei den klinisch gesunden Pferden mit Disposition für das SE im Winter, bei denen die letzten Symptome des SE im Mittel 4 Monate zuvor aufgetreten waren.

Im Winter wurden die Pferde zusätzlich auf einen Befall mit Dermatophyten hin untersucht. Dabei ergab sich ein hoch signifikanter Unterschied in der Erkrankungsrate zwischen den Pferden mit (52,8%) und ohne Disposition (22,2%) für das SE. Dies war besonders bemerkenswert, da die dermatologische Untersuchung zu einem Zeitpunkt vorgenommen wurde, an dem die Pferde der Untersuchungsgruppe keine Symptome des SE zeigten. Darüber hinaus kamen die Tiere aus der gleichen Haltung und wurden zu einem großen Teil sogar in engem Kontakt zueinander gehalten (dieselbe Herdenzugehörigkeit, benachbarte Weiden und Putzplätze, teilweise keine Trennung von Zaum- und Sattelzeug bzw. Putzzeug). Diese Ergebnisse können als Anzeichen für die gestörte Abwehrfunktion der Haut angesehen werden. MATUSIEWICZ und RUSIECKA-MATUSIEWICZ (1988) zeigten in ihrer Untersuchung an humanen Probanden, dass bei Patienten mit atopischem Asthma die Wanderungsfähigkeit der Granulozyten selbst während symptomloser Phasen signifikant eingeschränkt ist. Diese Einschränkung der Migrationsfähigkeit der Granulozyten, die mit ihrer Fähigkeit zur Phagozytose entscheidend an der unspezifischen Abwehr beteiligt sind, könnte u.a. eine Erklärung für den signifikant höheren Befall mit Dermatophyten aufgrund einer gestörten Abwehrfunktion des Immunsystems der Haut bei den Pferden mit Disposition für das SE sein. Ein weiterer Hinweis für eine gestörte Hautfunktion ist die Tatsache, dass diese Pferde bei der dermatologischen Untersuchung zusätzlich eine signifikant stärkere Schuppung der Haut aufwiesen und hoch signifikant mehr von Fellverlust betroffen waren.

5.5 Ergebnisse zu den Auslösern des SE im Untersuchungsgebiet

Um feststellen zu können, welche Mücken-Arten im Untersuchungsgebiet als Auslöser für das SE in Frage kommen, wurden über eine Saison hinweg mittels verschiedener Mückenfallen (Boden- und Luftfallen) die an den Standorten der Pferde auftretenden *Culicoides spp.* erfasst. Hierbei wurden in die Auswertung nur die weiblichen Tiere miteinbezogen, da diese das SE durch ihre Bisse auslösen. Es wurden zwei Spezies identifiziert: *Culicoides obsoletus* und *Culicoides pulicaris*. *C. obsoletus* waren die zahlenmäßig weit häufiger vertretene Art, deren Vorkommen sich über die gesamte Saison hinweg erstreckte. Dabei zeigte die Verteilungskurve einen zweiphasigen Verlauf. Die ersten Mücken dieser Art wurden bereits in geringer Anzahl im April registriert, gerade zum Zeitpunkt des ersten Auftretens des SE bei einigen Pferden. Im Juli und besonders im September/Oktober kommt es dann zu auffälligen Zunahmen im Vorkommen dieser Art. Selbst Anfang November war *C. obsoletus* noch in den Fallen zu finden. Im Gegensatz hierzu tritt *C. pulicaris* deutlich später im Jahr auf. Bis auf ein Anfang Juni gefangenes Exemplar wurde diese Mücken-Spezies hier nicht vor Mitte August gefunden. Ihre Anzahl blieb bis Mitte September sehr gering, um dann – ähnlich wie *C. obsoletus* – Ende dieses Monats stark zuzunehmen und über den Oktober ebenfalls auf einem relativ hohen Niveau zu bleiben. Auch von *C. pulicaris* wurden einzelne Exemplare noch Anfang November erfasst. Demnach zeigten beide Arten den Höhepunkt ihres Vorkommens im September und Oktober. Aufgrund des Verteilungsprofils im Auftreten von *C. obsoletus* muss man daher diese Art als Auslöser des SE im Untersuchungsgebiet ansehen. Auch *C. pulicaris* kommt nach den Ergebnissen dieser Untersuchung als potenzieller zusätzlicher Auslöser des SE in Betracht.

Der hier festgestellte Höhepunkt der Mückenfänge in den Monaten September und Oktober deckt sich mit den Ergebnissen von MEHLHORN et al. (2007). Sie ermittelten in Nordrhein-Westfalen in diesen Monaten ebenfalls eine hohe Anzahl von *Culicoides spp.*, wobei auch dort *C. obsoletus* (97%) am weitaus häufigsten vertreten war. Weitere vorkommende Arten waren ebenfalls *C. pulicaris* und darüber hinaus vereinzelt *C. nubeculosus* und *C. festivipennis*. Da aufgrund der langen Lagerungsdauer der Proben die Bestimmung einiger Arten nicht möglich war, ist nicht auszuschließen, dass auch im Untersuchungsgebiet dieser Studie zusätzlich noch andere Arten vorkamen, die als weitere Auslöser des SE in Frage kommen. Der Einsatz von UV-Fallen hätte die Fangergebnisse optimieren können [MEHLHORN et al. 2007]. Ein Übergewicht in der Anzahl weiblicher Mücken wurde auch von MEHLHORN et al. (2007) bestimmt. Dies weist darauf hin, dass sich diese in der Regel gezielt in der Nähe der Pferde aufhalten. Männliche Tiere wurden im Rahmen der vorliegenden

Arbeit lediglich zu den Zeiten des massiven *Culicoides*-Aufkommens in sehr geringer Anzahl gefangen. Berücksichtigt man jedoch die Tatsache, dass über die gesamte Saison hinweg sämtliche Fänge fast ausschließlich mit der Bodenfalle erzielt wurden, wird deutlich, dass an den Untersuchungsstandorten bereits um ein Vielfaches mehr weibliche als männliche *Culicoides spp.* schlüpfen.

Beim Vergleich des Aufkommens von *Culicoides spp.* auf konventionell und auf ökologisch geführten Betrieben [MEHLHORN et al. 2007] fiel auf, dass auf letzteren die Vorkommen bis auf wenige Ausnahmen immer massiv über denen der konventionellen Höfe lagen. Dies unterstreicht die große Bedeutung der Haltungsbedingungen der Pferde für Auftreten und Vorbeugung des SE. Dabei ist zu bedenken, dass die *Culicoides spp.* bei der bei Islandpferden in der Regel weit verbreiteten Robusthaltung besonders gute Entwicklungsmöglichkeiten finden. Die Verwendung ungeeigneter Tränkeeinrichtungen wie Badewannen oder anderer offener Tränkebecken sowie häufig vorkommende feuchte Böden bieten ideale Brutmöglichkeiten für die *Culicoides spp.*.

Eine Optimierung der Haltungsbedingungen sowie ein Vermeiden von zu großer Nähe zu offenen Gewässern wie Bachläufen oder Tümpeln ist bei der Vorbeugung gegen das SE von großer Bedeutung, da sich die erwachsenen Mücken nach dem Schlupf meist nicht mehr als einige hundert Meter von ihrer Brutstätte zur Nahrungsaufnahme an ihrem Wirt entfernen [LANGE 2004]. Auch zeigen die *Culicoides spp.* nicht nur einen durch das Vorhandensein von Pferden und für schmutzige Ställe typischen Gerüchen gezielten Zugang zu den Ställen. Sie weisen ebenfalls einen passiven, nicht zielgerichteten Zugang zu Stallungen auf, der proportional zu der Größe der Stalleingänge ist [BARNARD 1997]. Hieraus wird außer der Reinhaltung der Ställe die große Bedeutung eines geeigneten Unterstandes mit Maßnahmen zur Reduzierung des *Culicoides*-Aufkommens – z.B. feinmaschigem Insektengitter an den Fenstern sowie Kunststoffstreifen im Eingangsbereich – zur Vorbeuge des SE ersichtlich. Des weiteren ist das Aufstallen der Pferde zu den Hauptflugzeiten der *Culicoides spp.* während der Dämmerung bei geringer Lichtintensität, Windstille sowie hoher Luftfeuchtigkeit [STROTHMANN 1982] eine sinnvolle Maßnahme, um die zu diesen Zeiten besonders starke Exposition der Pferde gegenüber dem Mücken-Allergen so weit wie möglich zu vermeiden. Für die Anwendung der Insekten-Repellentien BayoflyTM (Cyfluthrin 1 g/100 ml) sowie Butox[®] 7,5 (Deltamethrin 7,5 mg/1 ml) pour on an Kühen und Schafen konnten MEHLHORN et al. (2008) eine gute Wirksamkeit gegenüber *Culicoides spp.* nachweisen. Diese hielt drei bis vier Wochen nach Auftragen der Präparate an und bewirkte eine schnelle Paralyse mit nachfolgendem Tod der Insekten. Es wäre in weiteren Untersuchungen zu klären, ob diese positiven Ergebnisse auch auf das Pferd übertragen werden können.

5.6 Ausblick

Die vorliegende Arbeit trägt zur Aufklärung der Abläufe auf Ebene der Effektorzellen bei Islandpferden mit Disposition für das Sommerexzem, einer Typ-I-Allergie, bei. Die gesteigerte Freisetzung präformierter (Histamin) und neusynthetisierter (sLT) Mediatoren auf Stimulation mit einem *Culicoides*-Extrakt hin konnte über einen längeren Zeitraum hinweg zu verschiedenen Zeitpunkten der Erkrankung sowie in symptomfreien Phasen dargestellt werden. Beide in dieser Studie angewandten funktionellen In-vitro-Tests (HRT und CAST) erwiesen sich zur sicheren Diagnostik des SE selbst bei asymptomatischen Pferden als geeignet.

Die Wirkung einer homöopathischen Prophylaxe und Therapie konnte sowohl für die Verbesserung der klinischen Symptomatik als auch für Ergebnisse im HRT, speziell Reduzierung der Reaktionsbereitschaft der Zellen und Steigerung des Gesamthistamingehaltes der Basophilen Granulozyten im Sinne einer Desensibilisierung, belegt werden. Hierbei ist jedoch zu bemerken, dass aufgrund des Studienaufbaus nur die Durchführung einer sehr kurzen Prophylaxephase mit Engystol® ad us. vet. und Eigenblut möglich war. Es sollte in weiteren Studien näher untersucht werden, ob sich die beobachteten immunmodulatorischen Effekte durch eine längere Anwendung der Prophylaxe noch ausgeprägter zeigen.

Für die Praxis ergibt sich aus den Ergebnissen, dass eine frühzeitige, möglichst einige Wochen vor dem Erstkontakt mit dem Allergen beginnende Prophylaxe mit Engystol und Eigenblut 1 mal wöchentlich sowie Carduus und Coenzyme comp. 2 mal wöchentlich durchgeführt werden sollte (Beginn spätestens Anfang März). Als Therapie bei Ausbruch des SE kann Traumeel und Eigenblut 1 mal wöchentlich in der gleichen Kombination mit Carduus und Coenzyme comp. 2 mal wöchentlich empfohlen werden. Darüber hinaus ist die Mückenexposition so gering wie möglich zu halten. Als Auslöser des SE im Untersuchungsgebiet wurde *C. obsoletus* sicher identifiziert, *C. pulicaris* kommt als weiterer potenzieller Auslöser in Betracht.

Das in dieser Arbeit aufgezeigte Vorliegen von signifikant niedrigeren Serum-CRP-Spiegeln bei Pferden mit Disposition für das SE sollte in weiteren Studien näher untersucht werden. Es ist zu klären, inwieweit eine reduzierte CRP-Synthese in den Hepatozyten eventuell durch eine verminderte IL-6-Produktion begründet sein könnte. IL-6 gilt auch als ein Aktivator von Lymphozyten. Hier könnte eventuell auch ein Zusammenhang mit dem festgestellten höchst signifikanten Rückgang der Lymphozytenzahlen zum Ausbruch der Erkrankung hin bestehen. Die Untersuchung nicht nur von IL-6 sondern auch der übrigen Zytokinmuster bei Pferden

mit Disposition für das SE in weiteren Studien wäre von großem Interesse, da hierdurch zur Klärung der Pathogenese des SE beigetragen werden könnte.

Für einen niedrigen CRP-Spiegel wären zusätzlich auch genetische Ursachen denkbar, wie in der letzten Zeit zahlreiche Studien beim Menschen zeigen, die einen Zusammenhang zwischen Unterschieden im Haplotyp des CRP-Gens und der Höhe des CRP-Spiegels im Blut nachwiesen [SZALAI et al. 2005, MORITA et al. 2006, CRAWFORD et al. 2006]. Das Vorliegen signifikanter Unterschiede in der Höhe der Expression von IL-1 β mRNA in der Haut von Pferden mit SE im Vergleich zu gesunden Tieren [KOLM et al. 2006] unterstreicht die Möglichkeit genetischer Ursachen für Veränderungen im Zytokinmuster mit den daraus resultierenden veränderten Interaktionen und deren Beteiligung in der Pathogenese des SE. Zur Festigung dieser These sind weitergehende molekularbiologische Untersuchungen notwendig und sicherlich zur Klärung eines neuen Aspektes in der Pathogenese des SE von großem Interesse.

6 Zusammenfassung

Felduntersuchungen zur Ätiologie und Diagnose des Sommerekzems beim Islandpferd sowie zur Verlaufskontrolle einer Prophylaxe und Therapie mit homöopathischen Komplex-Präparaten in Verbindung mit Eigenblut anhand der funktionellen In-vitro-Tests HRT und CAST.

Britta Steidle

Zunächst war es Ziel dieser Arbeit, in einer Placebo kontrollierten Untersuchung an 34 Islandpferden mit Disposition für das Sommerekzem (SE) die Wirksamkeit einer Prophylaxe mit dem homöopathischen Präparat Engystol® ad us. vet. in Kombination mit Eigenblut und Carduus und Coenzyme compositum zu prüfen. Da der Ausbruch des SE jedoch nicht zu verhindern war, wurde die Therapie mit Traumeel® ad us. vet. in der gleichen Kombination fortgesetzt.

Die Veränderungen des klinischen Bildes (Hautveränderungen, Juckreiz) wurden anhand eines speziell entwickelten Index beurteilt. Parallel wurde eine Verlaufskontrolle durch Auswertung von Differenzialblutbildern und der funktionellen In-vitro-Tests Histamine Release Test (HRT) und Cellular Antigen Stimulation Test (CAST) unter Verwendung eines eigens hergestellten Extrakts aus *Culicoides nubeculosus* vorgenommen. Vergleichende Untersuchungen an Pferden mit und ohne Disposition für das SE im Winter dienten zur Klärung der Frage, ob eine Diagnose des SE mit dem Einsatz der oben genannten In-vitro-Tests auch bei symptomfreien Pferden möglich ist. Zur Vertiefung der Erkenntnisse über die Pathogenese des SE wurden die Akute-Phase-Proteine C-reaktives Protein (CRP) und Haptoglobin erfasst. Mittels Mückenfallen wurden die Auslöser des SE im Untersuchungsgebiet bestimmt.

Folgende Ergebnisse wurden erzielt:

1. Während der Prophylaxephase zeigte sich im Differenzialblutbild bei den Pferden der Placebogruppe ein höchst signifikanter Abfall der Lymphozyten zum Ausbruch des SE hin. Dieses Absinken der Lymphozytenzahlen war in der Verumgruppe deutlich schwächer und zu keinem Zeitpunkt signifikant. Der Ausbruch des Ekzems wurde verzögert, jedoch nicht signifikant.
2. Die nach Ausbruch der Erkrankung im Frühjahr eingesetzte Therapie reduzierte bei allen 34 Islandpferden den Juckreiz bereits nach einer Woche höchst signifikant. Auch der

Dermatitis-Index zeigte schon nach einer Woche einen hoch signifikanten sowie nach 2 bzw. 3 Wochen höchst signifikanten Rückgang. Dabei hatte die prophylaktische Behandlung der Pferde mit Engystol[®] ad us. vet. einen positiven Effekt, denn die vorbehandelten Pferde zeigten bereits eine Woche nach Therapiebeginn eine hoch signifikante Verbesserung des Dermatitis-Indexes, die Pferde der vormaligen Placebogruppe hingegen erst 2 ($p < 0,05$) bzw. 3 Wochen ($p < 0,01$) nach Therapiebeginn.

Der Behandlungserfolg wurde nach einer Unterbrechung der Therapie im August und nachfolgender Therapiewiederaufnahme bei 26 noch in der Untersuchung verbliebenen Islandpferden deutlich bestätigt. Der Rückgang des Juckreizes wie auch des Dermatitis-Indexes war bereits eine Woche nach erneutem Therapiebeginn höchst signifikant.

3. Für die Verlaufskontrolle einer Langzeittherapie des SE mit Traumeel[®] ad us. vet. in Kombination mit Eigenblut standen durch Verkauf, Umstellungen, Krankheitsfälle etc. noch 28 Islandpferde mit Disposition für SE zur Verfügung.

Der Gesamthistamingehalt der Basophilen Granulozyten zeigte einen deutlichen Anstieg von $56,1 \pm 22,3$ ng/ml vor Therapiebeginn auf $74,8 \pm 36,1$ ng/ml in der zweiten Woche ($p < 0,05$), $75,9 \pm 26,5$ ng/ml in der vierten Woche ($p < 0,01$) bzw. $92,3 \pm 30,2$ ng/ml in der sechsten Woche nach Therapiebeginn ($p < 0,001$). Auch über die folgenden 12 Wochen blieb er auf einem statistisch höchst signifikant höheren Niveau gegenüber dem Zeitpunkt vor Therapiebeginn. Gleichzeitig kam es zu einem Abfall der prozentualen Histaminfreisetzung aus den Basophilen Granulozyten nach Stimulation mit dem Allergenextrakt von $43,9 \pm 16,5\%$ auf $27,4 \pm 14,4\%$ vier Wochen nach Therapiebeginn ($p < 0,01$). Sechs bzw. acht Wochen später lag diese mit $30,4 \pm 19,0\%$ bzw. $29,7 \pm 12,1\%$ signifikant ($p < 0,05$) niedriger als vor Therapiebeginn. Dies weist auf eine zunehmende Desensibilisierung und damit Stabilisierung der Basophilen durch die angewandte Therapie hin.

Dabei zeigte auch hier die Vorbehandlung der Pferde mit Engystol[®] ad us. vet. einen bemerkenswert positiven Einfluss, indem der Gesamthistamingehalt der Basophilen in der vormaligen Verumgruppe zwei Wochen früher signifikant anstieg. Außerdem wurde in dieser Gruppe ein hoch signifikant höherer Wert bereits 4 Wochen früher und eine höchst signifikante Steigerung des Gesamthistamingehaltes 6 Wochen vor der vormaligen Placebogruppe erreicht. Die prozentuale Histaminfreisetzung sank nur in der vorbehandelten Gruppe 4 bzw. 6 Wochen nach Therapiebeginn hoch signifikant ($44,5 \pm 11,8\% \rightarrow 20,1 \pm 14,8\%$) bzw. signifikant ($44,5 \pm 11,8\% \rightarrow 27,2 \pm 16,7\%$), während die vorherige Placebogruppe zu keinem Zeitpunkt eine signifikant niedrigere prozentuale Freisetzung von Histamin zeigte. Diese Ergebnisse zeigen, dass auch die Prophylaxe in der Lage war, den

Gesamthistamingehalt der Zellen zu stabilisieren sowie die Reaktionen auf das Allergen mäßigend zu beeinflussen.

4. Bei vergleichenden Untersuchungen an 6 symptomfreien Pferden mit Disposition für das SE sowie an 7 gesunden Tieren ohne Ekzemdisposition im Winter lag der mittlere Gesamthistamingehalt der Zellen bei $64,5 \pm 18,6$ ng/ml (SE) bzw. bei $109,2 \pm 29,0$ ng/ml (nicht SE, $p < 0,01$). Dabei betrug die prozentuale Histaminfreisetzung bei den Pferden mit Ekzemdisposition im Mittel $60,1\% \pm 18,2\%$ gegenüber $2,3\% \pm 1,6\%$ bei den gesunden Kontrolltieren ($p < 0,001$). Im CAST setzten Pferde mit Disposition für das SE mit im Mittel $2835,9$ pg/ml \pm $1576,3$ pg/ml signifikant mehr sLT frei als die Tiere ohne eine entsprechende Disposition mit einer mittleren sLT-Freisetzung von $528,7$ pg/ml \pm $319,6$ pg/ml ($p < 0,05$). Damit erwiesen sich der HRT und der CAST als zuverlässige Tests zur Differenzierung zwischen Pferden mit und ohne Disposition für Sommerekzem auch während symptomfreier Phasen.

Der mittlere Serum-CRP-Spiegel betrug bei den Pferden mit Disposition für das SE $17,3 \pm 4,2$ μ g/ml. Dies war höchst signifikant niedriger als bei den Pferden ohne Ekzemdisposition mit $51,3 \pm 17,3$ μ g/ml ($p < 0,001$). Weitergehende Untersuchungen wären hier von großem Interesse, um die Erkenntnisse über die Rolle des CRP bei der Pathogenese des SE beim Islandpferd zu vertiefen. Dagegen lag der mittlere Haptoglobinspiegel bei den disponierten Pferden mit $1,31 \pm 1,24$ mg/ml deutlich, wenn auch nicht signifikant, höher als bei den gesunden Kontrollpferden ($0,80 \pm 0,65$ mg/ml).

5. Über den gesamten Zeitraum der Studie hinweg wurde das tatsächliche Vorkommen der *Culicoides*-Arten im Untersuchungsgebiet mittels spezieller Mückenfallen (Boden- und Luftfallen) erfasst. Dabei war *C. obsoletus* die weit häufigste Art und über die gesamte Saison hinweg vertreten. *C. obsoletus* zeigt im Vorkommen eine zweiphasige Verlaufskurve mit Höhepunkten im Juli bzw. September/Oktober und kann als sicherer Auslöser des SE beim Islandpferd im Untersuchungsgebiet angesehen werden. Als weiterer möglicher Auslöser kommt *C. pulicaris* in Betracht.

7 Summary

Field studies on the etiology and diagnosis of summer eczema in Icelandic horses and in addition on the monitoring of a prophylaxis and treatment with complex homeopathic drugs in combination with own blood by means of the in-vitro-tests HRT and CAST.

Britta Steidle

The primary aim of this study was to analyse the effect of a prophylactic treatment with the homeopathic drug Engystol[®] ad us. vet. in combination with own blood and *Carduus* and *Coenzyme compositum* in 34 Icelandic horses with a predisposition for summer eczema (SE). As the outbreak of SE could not be prevented, a therapy with Traumeel[®] ad us. vet. in the same combination was added.

Changes in the clinical appearance of the patients (alteration of skin quality, grade of pruritus) were evaluated on the basis of a specially developed index. At the same time a monitoring of disease progression was conducted by means of differential haemogram analyses, the functional in-vitro-tests histamine release test (HRT) and cellular antigen stimulation test (CAST) using a specially generated extract from *Culicoides nubeculosus*. Comparative studies in horses with and without a predisposition for summer eczema were carried out during winter time to answer the question whether the diagnosis of SE is possible with the above mentioned in-vitro-tests also in asymptomatic horses. To gain further insight into the pathogenesis of SE the acute phase proteins c-reactive protein (CRP) and haptoglobin were recorded. The cause of SE in the investigation area was determined by using midge traps.

The following results were obtained:

1. During the phase of prophylaxis a highly significant ($p < 0,001$) reduction in the number of lymphocytes towards the outbreak of SE in the horses of the placebo group was detected. This decrease was clearly weaker in the verum group and showed no significance at any time. The outbreak of SE could be deferred - but not significant.
2. The therapy applied after the onset of SE led to a highly significant ($p < 0,001$) reduction in the grade of pruritus in all 34 Icelandic horses within one week. Also the index of dermatitis showed a decrease after one week ($p < 0,01$) as well as after 2 and 3 weeks ($p < 0,001$). A positive effect of the prophylactic treatment with Engystol[®] ad us. vet. was determined as the pretreated horses showed a highly significant ($p < 0,01$) improvement in the index of dermatitis already after one week whereas the horses of the placebo group showed a

significant reduction ($p < 0,05$) after 2 respectively 3 ($p < 0,01$) weeks. The achievement of the therapy was clearly certified by interrupting the treatment in August followed by resumption with 26 remaining Icelandic horses. The decrease in the grade of pruritus as well as in the index of dermatitis showed high significance ($p < 0,001$) already one week after the restart of therapy.

3. For the monitoring of a long-term treatment of SE with Traumeel® ad us. vet. in the combination with own blood only 28 Icelandic horses remained available due to cases of disease, sales or changes in habitation.

The amount of total histamine contained in the basophile granulocytes showed a clear increase from $56,1 \pm 22,3$ ng/ml before therapy to $74,8 \pm 36,1$ ng/ml 2 weeks ($p < 0,05$), $75,9 \pm 26,5$ ng/ml 4 weeks ($p < 0,01$) and $92,3 \pm 30,2$ ng/ml 6 weeks ($p < 0,001$) after therapy. During the following 12 weeks the content of total histamine remained highly significant ($p < 0,001$) above the level before treatment. At the same time a decrease of the histamine release in percent from the granulocytes after stimulation with the allergen extract occurred from $43,9 \pm 16,5\%$ to $27,4 \pm 14,4\%$ 4 weeks after therapy ($p < 0,01$). The histamine release averaged $30,4 \pm 19,0\%$ and $29,7 \pm 12,1\%$ at six respectively eight weeks after the beginning of treatment and was therefore significantly lower ($p < 0,05$) than before therapy. This indicates an increasing desensitisation and therewith stabilisation of the basophil granulocytes evoked by the therapy applied.

The pretreatment of the horses with Engystol® ad us. vet. again showed a remarkable positive effect, as the amount of total histamine contained in the basophils increased significantly 2 weeks earlier in the verum group. Furthermore a highly significant rise in the level of total histamine was achieved four ($p < 0,01$) and six ($p < 0,001$) weeks earlier than in the placebo group. Only in the pretreated group a reduction of the histamine release in percent was detected at four ($44,5 \pm 11,8\% \rightarrow 20,1 \pm 14,8\%$, $p < 0,01$) and six weeks ($44,5 \pm 11,8\% \rightarrow 27,2 \pm 16,7\%$, $p < 0,001$) after therapy, whereas the former placebo group did not show a significantly declined histamine release at any time. These results indicate, that also the prophylaxis has the ability to stabilise the content of total histamine of the basophils as well as to exert a moderating influence on the response towards the allergen.

4. By means of comparative studies on six horses with predisposition for SE and 7 healthy controls during winter time an average amount of total histamine of $64,5 \pm 18,6$ ng/ml in the horses with predisposition compared to $109,2 \pm 29,0$ ng/ml in the controls was determined. The mean histamine release obtained was $60,1\% \pm 18,2\%$ in the disposed horses in contrast to

2,3% \pm 1,6% in the healthy animals. In the CAST the horses with a predisposition for SE produced significantly more (2835,9 pg/ml \pm 1576,3 pg/ml) sLT than non disposed horses (528,7 pg/ml \pm 319,6 pg/ml, $p < 0,05$). Thus the CAST and HRT were proven to be reliable tests to differentiate between horses with and without a predisposition for SE even during asymptomatic phases.

The mean level of C-reactive protein (CRP) obtained in the sera of the horses with a disposition for SE was 17,3 \pm 4,2 μ g/ml. This was highly significant lower than in the sera of the non disposed horses (51,3 \pm 17,3 μ g/ml, $p < 0,001$). Further research would be of great interest to provide deeper insight into the role of CRP in the pathogenesis of SE in Icelandic horses. The average level of haptoglobin detected in the disposed horses was clearly higher (1,31 \pm 1,24 mg/ml) than in the healthy controls (0,80 \pm 0,65 mg/ml) although their difference did not reach significance.

5. During the entire period of this study the actual occurrence of the *Culicoides*-subspecies in the investigation area was determined using special midge traps (soil- and air-traps). *C. obsoletus* was proven to be the most numerous subspecies which also showed presence during the whole season. A two-phase course of occurrence with a maximum in July respectively September/October was determined for *C. obsoletus*, which apparently represents the main cause for SE in the area under investigation. *C. pullicaris* can be considered as an additional initiator.

8 Zitierte Literatur

- ANDERSON, G.S., P. BELTON, N. KLEIDER (1988)
The hypersensitivity of horses to *Culicoides* bites in British Columbia.
Can. Vet. J. 29: 718-23
- ANDERSON, G.S., P. BELTON, N. KLEIDER (1991)
Culicoides *obsoletus* (Diptera: Ceratopogonidae) as a causal agent of *Culicoides* hypersensitivity (sweet itch) in British Columbia.
J. Med. Entomol. 28 (5): 685-93
- ANDERSON, G.S., P. BELTON, N. KLEIDER (1993)
Hypersensitivity of horses in British Columbia to extracts of native and exotic species of *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae).
J. Med. Entomol. 30 (4): 657-63
- ANDERSON, G.S., P. BELTON, E. JAHREN, H. LANGE, N. KLEIDER (1996)
Immunotherapy trial for horses in British Columbia with *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) hypersensitivity.
J. Med. Entomol. 33 (3): 458-66
- BAKER, K.P., P.J. QUINN (1978)
A report on clinical aspects and histopathology of sweet itch.
Equine Vet. J. 10 (4): 243-8
- BARBET, J.L., D. BEVIER, E.C. GREINER (1990)
Specific immunotherapy in the treatment of *Culicoides* hypersensitive horses: a double-blind study.
Equine Vet. J. 22 (4): 232-5
- BARNARD, B.J. (1997)
Some factors governing the entry of *Culicoides* spp. (Diptera: Ceratopogonidae) into stables.
Onderstepoort J. Vet. Res. 64 (3): 227-33
- BASELGIA, S. (2003)
Evaluation of an in vitro sulfidoleukotriene release test for diagnosis of insect bite hypersensitivity in horses
Veterinärmedizinische Fakultät Bern, Dissertation
- BASELGIA, S., M.G. DOHERR, P.S. MELLOR, S. TORSTEINSDOTTIR, T. JERMANN, A. ZURBRIGGEN, T. JUNGI, E. MARTI (2006)
Evaluation of an in vitro sulphidoleukotriene release test for diagnosis of insect bite hypersensitivity in horses.
Equine Vet. J. 38 (1): 40-6
- BENARAFI, C., F.M. CUNNINGHAM, A.S. HAMBLIN, D.W. HOROHOV, M.E. COLLINS (2000)
Cloning of equine chemokines eotaxin, monocyte chemoattractant protein (MCP)-1, MCP-2 and MCP-4, mRNA expression in tissues and induction by IL-4 in dermal fibroblasts.
Vet. Immunol. Immunopathol. 76 (3-4): 283-98

- BENARAF, C., M.E. COLLINS, A.S. HAMBLIN, F.M. CUNNINGHAM (2002)
 Role of the chemokine eotaxin in the pathogenesis of equine sweet itch.
Vet. Rec. 151 (23): 691-3
- BHARTIYA, D., J.W. SKLARSH, R.K. MAHESHWARI (1992)
 Enhanced Wound Healing in Animal Models by Interferon and an Interferon Inducer
J. Cellular Physiol. 150: 312-19
- BJÖRNSDOTTIR, S., J. SIGVALDADOTTIR, H. BROSTRÖM, B. LANGVAD, A. SIGURDSSON (2006)
 Summer eczema in exported Icelandic horses: influence of environmental and genetic factors
Acta Vet. Scand. 2006; 48:3
- BRAVERMAN, Y., H. UNGAR-WARON, K. FRITH, H. ADLER, Y. DANIELI, K.P. BAKER, P.J. QUINN (1983)
 Epidemiological and immunological studies of sweet itch in horses in Israel.
Vet. Rec. 112 (22): 521-4
- BRAVERMAN, Y. (1988)
 Preferred landing sites of Culicoides species (Diptera: Ceratopogonidae) on a horse in Israel and its relevance to summer seasonal recurrent dermatitis (sweet itch).
Equine Vet. J. 20 (6): 426-9
- BROSTRÖM, H., A. LARSSON, M. TROEDSSON (1987)
 Allergic dermatitis (sweet itch) of Icelandic horses in Sweden: an epidemiological study.
Equine Vet. J. 19 (3): 229-36
- BRUENNLEIN, G. (2001)
 Funktioneller in-vitro-Test (FIT) für Typ I-Allergien beim Pferd: Nachweis allergischer Sensibilisierung bei Pferden mit chronisch obstruktiver Bronchitis (COB) sowie Einflüsse verschiedener Therapiemaßnahmen auf den Sensibilisierungsgrad von Patienten
Tierärztliche Hochschule Hannover, Dissertation
- CAUGHEY, G.H., F. LEIDIG, F. VIRO, J.A. NADEL (1988)
 Substance P and vasoactive intestinal peptide degradation by mast cell tryptase and chymase
J. Pharmacol. Exp. Ther. 244: 133-7
- CRAWFORD, D.C., C.L. SANDERS, X. QIN, J.D. SMITH, C. SHEPHARD, M. WONG, L. WITRAK, M.J. RIEDER, D.A. NICKERSON (2006)
 Genetic variation is associated with C-reactive protein levels in the Third National Health and Nutrition Examination Survey.
Circulation 114 (23): 2458-65
- DASER, A., B. GERSTNER, R. HANSEN, S. BULFONE - PAUS, H. RENZ (1998)
 Impaired NK1.1+ T cells do not prevent the development of an IgE-dependent allergic phenotype.
Clin. Exp. Allergy 28: 950-5
- DE METZ, J., F. SPRANGERS (1999)
 Interferon-gamma has immunomodulatory effects with minor endocrine and metabolic effects in humans.
J. Appl. Physiol. 86: 517-22

DE WECK, A.L., B.M. STADLER, A. URWYLER, H.U. WEHNER, R.P. BÜHLMANN (1993)

Cellular Antigen Stimulation Test (CAST) – A New Dimension in Allergy Diagnostics.
Allergy Clin. Immunol. News 5, 9-14

DE WECK, A.L., M.L. SANZ (2004)

Cellular allergen stimulation test (CAST) 2003, a review.
J. Investig. Allergol. Clin. Immunol. 14 (4): 253-73

DIJKMANS, R., A. BILLIAU (1988)

Interferon-gamma : A master key in the immunsystem.
Curr. Opin. Immunol. 1: 269-74

DORENKAMP, B. (1997)

Homöopathische Behandlungsmöglichkeiten des Sommerkezems bei Pferden
Biol. Tiermed., Sonderdruck: 14. Jahrgang, Heft 2: 47-52

DRONOV, A. (2005)

Funktionelle und molekularbiologische Parameter zum Nachweis immunmodulatorischer Wirkungen: Dargestellt an unterschiedlichen Zellpopulationen von Pferden mit und ohne Sommerkezem
Tierärztliche Hochschule Hannover, Dissertation

ENBERGS, H. (1998)

Wirkung ausgewählter potenziierter Suis-Organpräparate und von Traumeel auf die Aktivität von Phagozyten und Lymphozyten aus dem peripheren Blut von gesunden menschlichen Probanden.
Biol. Med. 27 (1): 3-11

ENBERGS, H. (2005)

Interferon- γ als Schlüsselzytokin bei immunologischen Prozessen
Biol. Tiermed., Sonderdruck aus 22. Jahrgang, Heft 1: 2-6

ENBERGS, H. (2006)

Effects of the homeopathic preparation Engystol on interferon- γ production by human T-lymphocytes
Immunol. Invest. 35 (1): 19-27

ENBERGS, H., A. SCHWAN (2004)

Wirkung von Engystol[®] ad us. vet. auf die Aktivität von Lymphozytenkulturen.
Biol. Tiermed. 21: 54-58

ENBERGS, H., S. VERDROSS (2005)

Induktion von Interferon- γ in T-Lymphozyten nach Applikation von Engystol[®] ad us. vet.
Biol. Tiermed., Sonderdruck aus 22. Jahrgang, Heft 1: 7-11

ENQUOBAHRIE, D.A., K. RICE, O.D. WILLIAMS, M.A. WILLIAMS, M.D. GROSS, C.E. LEWIS, S.M. SCHWARTZ, D.S. SISCOVICK (2008)

IL1B genetic variation and plasma C-reactive protein level among young adults: The CARDIA study.
Atherosclerosis 2008 May (Epub ahead of print)

- FADOK, V.A., E.C. GREINER (1990)
Equine insect hypersensitivity: skin test and biopsy results correlated with clinical data.
Equine Vet. J. 22 (4): 236-40
- FERROGLIO, E., P. PREGEL, A. ACCOSSATO, I. TARICCO, E. BOLLO, L. ROSSI, A. TRISCIUOGLIO (2006)
Equine Culicoides hypersensitivity: evaluation of a skin test and of humoral response.
J. Vet. Med. A. Physiol. Pathol. Clin. Med. 53 (1): 30-3
- FORTE, W.C., J.M. SUMITA, A.G. RODRIGUES, D. LIUSON, E. TANAKA (2005)
Rebound phenomenon to systemic corticosteroid in atopic dermatitis
Allergol. Immunopathol. (Madr.) 33 (6): 307-11
- FOSTER, A.P., P. LEES, M.J. ANDREWS, F.M. CUNNINGHAM (1992)
Effects of WEB 2086, an antagonist to the receptor for platelet-activating factor (PAF), on PAF-induced responses in the horse.
Equine Vet. J. 24 (3): 203-7
- FOSTER, A.P., P. LEES, F.M. CUNNINGHAM (1995a)
Platelet activating factor mimics antigen-induced cutaneous inflammatory responses in sweet itch horses.
Vet. Immunopathol. 44 (2): 115-28
- FOSTER, A.P., P. LEES, F.M. CUNNINGHAM (1995b)
Actions of PAF receptor antagonists in horses with the allergic skin disease sweet itch.
Inflamm. Res. 44 (10): 412-7
- FOSTER, A.P., J. MCKELVIE, F.M. CUNNINGHAM (1998)
Inhibition of antigen-induced cutaneous responses of ponies with insect hypersensitivity by the histamine-1 receptor antagonist chlorpheniramine.
Vet. Rec. 143 (7): 189-93
- GEHLHAR, K., M. SCHLAACK, W. BECKER, A. BUFE (1999)
Monitoring allergy immunotherapy of pollen-allergic patients: the ratio of allergen-specific IgG4 to IgG1 correlates with clinical outcome.
Clin. Exp. Allergy 29 (4): 497-506
- GEIBEN, T. (2003)
Untersuchungen zum Sommerexzem sowie zum Einfluss des Immunmodulators Baypamun N[®] auf die Typ I-Allergie der Pferde
Tierärztliche Hochschule Hannover, Dissertation
- GELL, P.G.H., R.R.A. COOMBS, P.J. LACHMANN (1975)
Classification of allergic reactions for clinical hypersensitivity and disease.
Clinical Aspects of Immunology Third Edition; Verlag Oxford, Blackwell Scientific Publications: 761-81
- GIROLOMONI, G., S. SEBASTIANI, C. ALBANESI, A. CAVANI (2001)
T-cell subpopulations in the development of atopic and contact allergy.
Curr. Opin. Immunol. 13, 733-37

GOTHE, CH. (1998)

Das Haptoglobin als Entzündungsmarker in der Gesundheitskontrolle von Vollblutpferden
Landwirtschaftliche Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Dissertation

GOULD, H.J., B.J. SUTTON, J.A. BEAVIL, R.L. BEAVIL, N. MCCLOSKEY, H. COKER, D. FEAR, L. SMURTHWAITE (2003)

The biology of IgE and the basis of allergic disease.
Annu. Rev. Immunol. 21: 579 - 628

GRATZ, H. (1981)

Die Auto-Sanguis-Stufentherapie bei chronischen Hautveränderungen – Beispiele aus der Kleintierpraxis.

Biol. Med. 1: 409-10

GRATZ, H. (1993)

Zur Durchführung der Auto-Sanguis-Stufentherapie bei chronischen und allergiebedingten Krankheiten.

Biol. Tiermed. 10: 61-63

GREINER, E.C., V.A. FADOK, E.B. RABIN (1988)

Equine Culicoides hypersensitivity in Florida: biting midges collected in light traps near horses.

Med. Vet. Entomol. 2 (2): 129-35

GREINER, E.C., V.A. FADOK, E.B. RABIN (1990)

Equine Culicoides hypersensitivity in Florida: biting midges aspirated from horses.

Med. Vet. Entomol. 4 (4): 375-81

HALLDORSOTTIR, S., H.J. LARSEN, R. MEHL (1989)

Intradermal challenge of Icelandic horses with extracts of four species of the genus Culicoides.

Res. Vet. Sci. 47 (3) : 283-7

HALLDORSOTTIR, S., H.J. LARSEN (1991)

An epidemiological study of summer eczema in Icelandic horses in Norway.

Equine Vet. J. 23 (4): 296-9

HALLDORSOTTIR, S., S. LAZARY, E. GUNNARSSON, H.J. LARSEN (1991)

Distribution of leucocyte antigens in Icelandic horses affected with summer eczema compared to non-affected horses.

Equine Vet. J. 23 (4): 300-2

HAMPEL, S. (2007)

Prüfung und Modulation der Typ-I-Reaktionsbereitschaft von Pferden im funktionellen in vitro Test (FIT) sowie im Intrakutantest (IKT)

Tierärztliche Hochschule Hannover, Dissertation

HAMZA, E., M.G. DOHERR, G. BERTONI, T.W. JUNGI, E. MARTI (2007)

Modulation of allergy incidence in icelandic horses is associated with a change in IL-4-producing T cells.

Int. Arch. Allergy Immunol. 144 (4): 325-37

- HAMZA, E., B. WAGNER, T.W. JUNGI, J. MIRKOWITCH, E. MARTI (2008)
 Reduced incidence of insect-bite hypersensitivity in icelandic horses is associated with a down-regulation of interleukin-4 by interleukin-10 and transforming growth factor-beta 1.
Vet. Immunol. Immunopathol. 122 (1-2): 65-75
- HELLBERG, W., A.D. WILSON, P.S. MELLOR, M.G. DOHERR, S. TORSTEINSDOTTIR, A. ZURBRIGGEN, T. JUNGI, E. MARTI (2006)
 Equine insect bite hypersensitivity: immunoblot analysis of IgE and IgG subclass responses to *Culicoides nubeculosus* salivary gland extract.
Vet. Immunol. Immunopathol. 113 (1-2): 99-112
- HOREJS-HÖCK, DUSCHL, A. (2003)
 Die Rolle von Zytokinen bei Allergien und Asthma
Bundesgesundheitsbl – Gesundheitsforsch – Gesundheitsschutz 46 (3): 211-16
- HUNSINGER, B. (2002)
 „Sommerkezem“ der Pferde: Spezifische Immunotherapie (SIT)
VEImpulse 11. Jahrgang, Ausgabe 21, 1. November 2002
- HUNSINGER, B. (2003)
 Diagnostik und Spezifische Immunotherapie allergisch bedingter Erkrankungen
pferde spiegel 4/2003
- JAIN, N.C. (1993)
 The Plasma Proteins, Dysproteinemias and Immune Deficiency Disorders
 In: JAIN, N.C.: *Essentials of Veterinary Hematology*
Lea & Febinger, Philadelphia, USA, 1st Edition: 227-46
- JANEWAY, C.A., Jr., P. TRAVERS (1996)
 The humoral immune response
 In: *Immunobiology - The Immune System In Health and Disease*, JANEWAY, C.A., Jr. and P. TRAVERS, eds.: 8.1-8.31
- KAUL, S. (1998)
 Typ I-Allergie beim Pferd: Prinzipielle Entwicklung eines funktionellen in-vitro Nachweises.
Tierärztliche Hochschule Hannover, Dissertation
- KIMATA, H. (1999)
 Selective enhancement of production of IgE, IgG4 and Th2-cell cytokine during the rebound phenomenon in atopic dermatitis and prevention by suplatast tosilate
Ann. Allergy Asthma Immunol. 82 (3): 293-5
- KIRCHNER, H. (1986)
 Das Interferonsystem unter besonderer Berücksichtigung des Gamma-Interferons.
Dtsch. Med. Wochenschrift 111: 64-70
- KENT, J.E. (1987)
 Specific serum protein changes associated with primary and secondary *Strongylus vulgaris* infections in pony yearlings.
Equine Vet. J. 19 (2): 133-7

- KENT, J.E. (1992)
Acute phase proteins: Their use in veterinary diagnosis
Br. Vet. J. 148: 279-82
- KENT, J.E., J. GOODALL (1991)
Assessment of an immunoturbidimetric method for measuring equine serum haptoglobin concentrations.
Equine Vet. J. 23 (1): 59-66
- KISHIMOTO, T, S. AKIRA, M. NARAZAKI, T. TAGA (1995)
Interleukin-6 family of cytokines and gp130
Blood 86: 1243-54
- KLEMPARSKAYA, N.N., G.A. SHALNOVA, A.M. ULANOVA, T.D. KUZMINA, A.D. CHUHROV (1986)
Immunomodulating effect of autohaemotherapy (literature review)
J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol. 30 (3): 331-6
- KOBELT, C. (2001)
Zum Sommerkzem, eine Typ I-Allergie beim Islandpferd: Verlauf der in vivo-Sensibilisierung von basophilen Granulozyten nachgewiesen mit einem funktionellen in vitro-Test (FIT)
Tierärztliche Hochschule Hannover, Dissertation
- KOLM, G., A. HELSBERG, M. GEMEINER (2005)
Variations in the concentration of zinc in the blood of Icelandic horses.
Vet. Rec. 157 (18): 549-51
- KOLM, G., E. KNAPP, R. WAGNER, D. KLEIN (2006)
Increased interleukin-1beta mRNA expression in skin biopsies of horses with *Culicoides* hypersensitivity following challenge with *Culicoides nubeculosus* extract.
Vet. Immunol. Immunopathol. 113 (1-2): 90-8
- KOLM-STARK, G., R. WAGNER (2002)
Intradermal skin testing in Icelandic horses in Austria.
Equine Vet. J. 34 (4): 405-10
- KREBS, H. (1999)
Eigenbluttherapie; Methoden, Indikation, Praxis
Verl. Urban und Fischer bei Elsevier, 4. Auflage
- KÜPPER, G. (1994)
Atemwegserkrankungen beim Pferd – Prophylaxe und Therapie mit Engystol ad us. vet..
Biol. Tiermed., Sonderdruck aus 11. Jahrgang (1): 19-31
- KUROTAKI, T., K. NARAYAMA, T. OYAMADA, H. YOSHIKAWA, T. YOSHIKAWA (1994)
Immunopathological study on equine insect hypersensitivity (“kasen”) in Japan.
J. Comp. Pathol. 110 (2): 145-52
- LANGE, S. (2004)
Untersuchung zur Vererbung des Sommerkzems beim Islandpferd
Tierärztliche Hochschule Hannover, Dissertation

- LANGHE, S., H. HAMANN, E. DEEGEN, B. OHNESORGE, O. DISTL (2005)
 Untersuchung der Prävalenz des Sommerekzems beim Islandpferd in Norddeutschland
Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschrift 118 (11-12): 481-89
- LANGNER, K.F.A. (2005)
 Das Sommerekzem des Pferdes: Untersuchungen zu potentiellen Allergenen aus *Culicoides nubeculosus*
Tierärztliche Hochschule Hannover, Dissertation
- LANGNER, K.F.A., K.E. DARPEL, B.S. DROLET, A. FISCHER, S. HAMPEL, J.E. HESELHAUS, P.S. MELLOR, P.P.C. MERTENS, W. LEIBOLD (2008)
 Comparison of cellular and humoral immunoassays for the assessment of summer eczema in horses
Vet. Immunol. Immunopathol. 122 (1-2): 126-37
- LANGNER, K.F.A., D.L. JARVIS, M. NIMTZ, J.E. HESELHAUS, L.E. McHOLLAND, W. LEIBOLD, B.S. DROLET (2009)
 Identification, expression and characterisation of a major salivary allergen (Cul s 1) of the biting midge *Culicoides sonorensis* relevant for summer eczema in horses
Int. J. for Parasitol. 39 (2): 243-50
- LAZARY, S., E. MARTI, G. SZALAI, C. GAILLARD, H. GERBER (1994)
 Studies on the frequency and associations of equine leucocyte antigens in sarcoid and summer dermatitis.
Anim. Genet. 25 Suppl. 1: 75-80
- LEBIS, C., P. BOURDEAU, F. MARZIN-KELLER (2002)
 Intradermal skin tests in equine dermatology: a study of 83 horses.
Equine Vet. J. 34 (7): 666-71
- LOWMAN, M.A., P.H. REES, R.C. BENYON, M.K. CHURCH (1988)
 Human mast cell heterogeneity: Histamine release from mast cells dispersed from skin, lung, adenoids, tonsils and intestinal mucosa in response to IgE-dependent and non-immunological stimuli.
J. Allergy Clin. Immunol. 81: 591-97
- LYSS, G., T.J. SCHMIDT, I. MERFORT, H.L. PAHL (1997)
 Helenalin, an anti-inflammatory sesquiterpene lactone from Arnica, selectively inhibits transcription factor NF-kappa B.
Biol. Chem. 358 (9): 951-61
- MARJON, K.D., L.L. MARNELL, C. MOLD, T.W. DU CLOS (2009)
 Macrophages activated by C-reactive protein through Fc gamma RI transfer suppression of immune thrombocytopenia.
J. Immunol. 182 (3): 1397-403
- MARSCHAN, E., M. KUITUNEN, K. KUKKONEN, T. POUSSA, A. SARNESTO, T. HAAHTELA, R. KORPELA, E. SAVILAHTI, O. VAARALA (2008)
 Probiotics in infancy induce protective immune profiles that are characteristic for chronic low-grade inflammation.
Clin. Exp. Allergy 38 (4): 611-8

- MARTI, E., H. GERBER, S. LAZARY (1992)
On the genetic basis of equine allergic diseases: II. Insect bite dermal hypersensitivity.
Equine Vet. J. 24 (2): 113-7
- MARTI, E. A. URWYLER, M. NEUENSCHWANDER, R. EICHER, D. MEIER, A.L. DE WECK, H. GERBER, S. LAZARY, C.A. DAHINDEN (1999)
Sulfidoleukotriene generation from peripheral blood leukocytes of horses affected with insect bite dermal hypersensitivity.
Vet. Immunol. Immunopathol. 71 (3-4): 307-20
- MARTIN, S., J.C. SIMON (2001)
Effector T cells and regulatory T cells in allergic contact dermatitis.
ACI International 13, 117-21
- MATUSIEWICZ, R., K. RUSIECKA-MATUSIEWICZ (1988)
In vitro granulocyte migration from bone marrow, tissues and blood vessels in atopic patients.
Allergol. Immunopathol. (Madr.) 16: 167-70
- MATUSIEWICZ, R. (1995)
Wirksamkeit von Engystol-N bei Bronchialasthma unter kortikoidabhängiger Therapie.
Biol. Med. 24 (5): 242-46
- MATUSIEWICZ, R. (1996)
Traumeel S in der Behandlung von kortikoidabhängigem Bronchialasthma
Biol. Med. 3/1996
- MATUSIEWICZ, R., J. WASNIEWSKI, A. STERNA BAZANSKA, M. HÜLSBERG (1999)
Behandlung des chronischen Asthma bronchiale mit einem homöopathischen Komplexmittel.
Erfahrungsheilkunde 48: 367-74
- McCAIG, J. (1973)
A survey to establish the incidence of sweet itch in ponies in the United Kingdom.
Vet Rec. 93: 444-46
- McCAIG, J. (1975)
Recent thoughts on sweet itch.
Veterinary annual, 15th Edition. Edited by C.S.C. Grunsell and F.W.G. Hill, Wright and Sons, Bristol: 204-6
- McKELVIE, J., A.P. FOSTER, F.M. CUNNINGHAM, A.S. HAMBLIN (1999)
Characterisation of lymphocyte subpopulations in the skin and circulation of horses with sweet itch (*Culicoides* hypersensitivity).
Equine Vet. J. 31 (6): 466-72
- McKELVIE, J., A.P. FOSTER, A.S. HAMBLIN, F.M. CUNNINGHAM (2001)
Culicoides antigen extract stimulates equine blood mononuclear (BMN) cell proliferation and the release of eosinophil adherence-inducing factor(s).
Res. Vet. Sci. 70 (2) : 115-22

- MEHLHORN, H., V. WALLDORF, S. KLIMPEL, B. JAHN, F. JAEGER, J. ESCHWEILER, B. HOFFMANN, M. BEER (2007)
 First occurrence of *Culicoides* obsoletus-transmitted Bluetongue virus epidemic in Central Europe
Parasitol. Res. 101: 219-28
- MEHLHORN, H., G. SCHMAHL, J. D'HAESE, B. SCHUMACHER (2008)
 Butox[®] 7,5 pour on: a deltamethrin treatment of sheep and cattle: pilot study of killing effects on *Culicoides* species (Ceratopogonidae)
Parasitol. Res. 102: 515-8
- MEHLHORN, H., G. SCHMAHL, B. SCHUMACHER, J. D'HAESE, V. WALLDORF, S. KLIMPEL (2008)
 Effects of BayoflyTM on specimens of *Culicoides* species when incubated in hair taken from the feet of previously treated cattle and sheep
Parasitol. Res. 102: 519-22
- MELLOR, P.S., J. McCAIG (1974)
 The probable cause of "sweet itch" in England.
Vet. Rec. 95: 411-15
- MILLER, M.S. (2006)
 Akute Phase Proteine als diagnostische Parameter der perioperativen Phase beim Pferd
Veterinärmedizinische Fakultät Gießen, Dissertation
- MIMURA, T., S. AMANO, H. FUNATSU, S. YAMAGAMI, M. ARAIE, Y. KAJI, Y. ISHIDA, T. USUI, S. OKAMOTO (2004)
 Correlations between allergen-specific IgE serum levels in patients with allergic conjunctivitis in spring.
Ocul. Immunol. Inflamm. 12 (1): 45-51
- MORRIS, D.O., S. LINDBORG (2003)
 Determination of 'irritant' threshold concentrations for intradermal testing with allergenic insect extracts in normal horses.
Vet. Dermatol. 14 (1): 31-6
- MÜLLER, CH., B.A. IMHOFF, G.A. HOLLÄNDER (2008)
 Fehlleistungen des Immunsystems: Überempfindlichkeitsreaktionen und Autoimmunität
In: Pathologie; Böcker, W., H. Denk, Ph.U. Heitz, H. Mock (Hrsg.) Urban und Fischer Verlag, 4. Aufl.; 104-14
- NICOLAI, T., W. MEIGEL, M. KERSCHER (1999)
 1 – Entstehung der Allergie 2 – Antihistaminika.
In: Allergie – Prävention und Therapie mit modernen Antihistaminika; W. Sterry und J. Ring (eds.), Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag: 1-24
- OHASHI, Y., A. TANAKA, Y. KAKINOKI, Y. OHNO, H. SAKAMOTO, A. KATO, T. MASAMOTO, Y. WASHIO, Y. NAKAI (1997)
 Effect of immunotherapy on seasonal changes in serum-specific IgE and IgG4 in patients with pollen-allergic rhinitis
Laryngoscope 107 (9): 1270-5

- PAIK, J.K., O.Y. KIM, S.J. KOH, Y. JANG, J.S. CHAE, J.Y. KIM, H.J. KIM, Y.J. HYUN, J.R. CHO, J.H. LEE (2007)
Additive effect of interleukin-6 and C-reactive protein (CRP) single nucleotide polymorphism on serum CRP concentration and other cardiovascular risk factors.
Cli. Chim. Acta. 380 (1-2): 68-74
- PATTERSON, S.D., D.E. AUER, K. BELL (1988)
Acute-phase response in the horse: plasma protein changes associated with adjuvant induced inflammation.
Biochem. Internat. 17: 257-64
- PEPYS, M.B., J.G. LANHAM, F.C. DEBEER (1982)
C-reactive protein in SLE
Clin. Rheum. Dis. 8: 91-103
- PEREIRA, D.A., J.A. SILVA, K.B. ELKON, G.R.V. HUGHES (1980)
C-reactive protein levels in systemic lupus erythematosus: a classification criterion?
Arthritis Rheum. 23: 770-71
- PICKER, L.J., J.R. TREER, B. FERGUSON-DARNELL, P.A. COLLINS, P.R. BERGSTRESSER, L.W. TERSTAPPEN (1993)
Control of lymphocyte recirculation in man: II. Differential regulation of the cutaneous lymphocyte associated antigen, a tissue-selective homing receptor for skin homing T cells.
J. Immunol. 150, 1122-36
- PURSE, B.V., P.S. MELLOR, D.J. ROGERS, A.R. SAMUEL, P.P. MERTENS, M. BAYLIS (2005)
Climate change and the recent emergence of bluetongue in Europe.
Nat. Rev. Microbiol. 3 (2): 171-81
- QUINN, P.J., K.P. BAKER, A.N. MORROW (1983)
Sweet itch: responses of clinically normal and affected horses to intradermal challenge with extracts of biting insects.
Equine Vet. J. 15 (3): 266-72
- RIECK, R.F. (1953)
Studies on allergic dermatitis (Queensland itch) of the horse. I. Description, distribution, symptoms and pathology.
Aust. Vet. J. 29: 177-84
- RIECK, R.F. (1954)
Studies on allergic dermatitis (Queensland itch) of the horse: the aetiology of the disease.
Aust. J. Agric. Res. 5: 109-29
- RÜSBÜLDT, A. (2001)
Sommerkzem. Erkennen, vorbeugen, behandeln
Cadmos Verlag, 2. Auflage
- RUFENACHT, S., E. MARTI, C. VON TSCHARNER, M.G. DOHERR, U. FORSTER, M. WELLE, P.J. ROOSJE (2005)
Immunglobulin E-bearing cells and mast cells in skin biopsies of horses with urticaria.
Vet. Dermatol. 16 (2): 94-101

SANZ, M.L., J.P. MASELLI, P.M. GAMBOA, A. OEHLING, I. DIEGUEZ, A.L. DE WECK (2002)

Flow cytometric basophil activation test: a review.
J. Investig. Allergol. Clin. Immunol. 12 (3): 143-54

SARWAR, A., H. ENBERGS (2001)

Wirkung von Traumeel, Lachesis comp. auf die Phagozytoseaktivität der PMNL und die Sekretion von Interferon- γ durch Lymphozytenkulturen.
Vortrag Biotherapeutische Möglichkeiten in der Veterinärmedizin, Fortbildungsveranstaltung der Fa. Heel

SCHMIDT-WEBER, C.B., K. BLASER (2004)

Immunological mechanisms in specific immunotherapy
Springer Semin. Immunopathol. 25 (3-4): 377-90

SCHWAN, A. (2002)

Untersuchungen zum Einfluss des homöopathischen Kombinationspräparates Engystol-N und weiterer Präparatvariationen auf die Proliferation isolierter mononukleärer Zellen des Menschen und die Sekretion von TGF- β anhand von Vollblutkulturen.
Vet Med Diss Berlin, Logos Verlag Berlin

SCHRÖDL, W. (1999)

Das C-reaktive Protein und dessen mögliche Praxisrelevanz
GroßtierVet 10: 22-24

SCHULER, G. (1990)

Die Rolle epidermaler Langerhanszellen beim allergischen Kontaktekzem.
in: Macher, E., G. Kolde u. E.B. Bröcker (Hrsg.): Jahrbuch der Dermatologie 1989/90, Jahrbücher zur Medizin.
Biermann-Verlag Münster, 21-40

SCHURINK, A., E.M. VAN GREVENHOF, B.J. DUCRO, J.A.M. VAN ARENDONK (2009)

Heritability and repeatability of insect bite hypersensitivity in Dutch Shetland breeding mares
J. Anim. Sci. 87: 484-90

SCOTT, PH., ST. KAUFMANN (1991)

The role of T-cell subsets and cytokines in the regulation of infection.
Immunology today 12: 346-48

SJÖWALL, C., A.A. BENGTSSON, G. STURFELT, T. SKOGH (2004)

Serum levels of autoantibodies against monomeric C-reactive protein are correlated with disease activity in systemic lupus erythematosus
Arthritis Res. Ther. 6 (2): R87-94

STARK, G. (2000)

Studien zum Intrakutantest und zur Konzentration von Kupfer und Zink im Plasma bei Islandpferden mit Sommerekzem
Veterinärmedizinische Fakultät Wien, Dissertation

- STARK, G., B. SCHNEIDER, M. GEMEINER (2001)
Zinc and copper plasma levels in Icelandic horses with *Culicoides* hypersensitivity.
Equine Vet. J. 33 (5): 506-9
- STEIDLE, B., H. ENBERGS (2003)
Behandlung des Sommerkzems beim Pferd
Biol. Tiermed., 20. Jahrgang, Heft 1: 8-11
- STROTHMANN, A. (1982)
Beitrag zum Sommerkzem (Allergische Dermatitis) der Islandpferde. Literaturstudie und eigene Untersuchungen
Tierärztliche Hochschule Hannover, Dissertation
- SZALAI, A.J., S. NATAF, X.Z. HU, S.R. BARNUM (2002)
Experimental allergic encephalomyelitis is inhibited in transgenic mice expressing C-reactive protein.
J. Immunol. 168, 5792-97
- SZALAI, A.J. (2004)
C-Reactive Protein (CRP) and Autoimmune Disease: Facts and Conjectures
Clin. Development. Immunol.: 11 (3/4), 221-6
- SZALAI, A.J., E.M. LANGE, M.A. MCCRORY, C.D. LANGEFELD, A. WILLIAMS, S.O. ZAKHARKIN, V. GEORGE, D.B. ALLISON, G.S. COOPER, F. XIE, Z. FAN, J.C. EDBERG, R.P. KIMBERLY (2005)
Single-nucleotide polymorphisms in the C-reactive protein (CRP) gene promoter that affect transcription factor binding, alter transcriptional activity, and associate with differences in baseline serum CRP level.
J. Mol. Med. 83 (6): 440-7
- TAIRA, T., T. FUJINAGA, M. OKUMURA, K. YAMASHITA, N. TSUNODA, S. MIZUNO (1992)
Equine Haptoglobin: Isolation, Characterization, and the Effects of Aging, Delivery and Inflammation on its Serum Concentration.
Japan. J. Vet. Med. Sci. 54 (3): 435-42
- TAKIGUCHI, M., T. FUJINAGA, M. NAIKI, S. MIZUNO, K. OTOMO (1990)
Isolation, characterization and quantitative analysis of C-reactive protein from horses
Am. J. Vet. Res. 51(8): 1215-20
- TAN, Y, F. YU, H. YANG, M. CHEN, Q. FANG, M.H. ZHAO (2008)
Autoantibodies against monomeric C-reactive protein in sera from patients with lupus nephritis are associated with disease activity and renal tubulointerstitial lesions.
Hum. Immunol. 69 (12): 840-4
- THALLER, A. (2000)
Eigenblut zur Immuntherapie zwischen alter Erfahrung und moderner Laboranalytik
In: Eigenbluttherapien und andere autologe Verfahren; Gedeon, W. (Hrsg.); Haug-Verlag, Heidelberg

- THOMAS, J.S. (2000)
Overview of Plasma Proteins
In: Schalm's Veterinary Hematology; Feldman, B.V., J.G. Zinkl, N.C. Jain und B.F. Feldman (eds.)
Lippincott, Williams and Wilkins, 5. Aufl., Philadelphia, USA
- TOWNLEY, P., K.P. BAKER, P.J. QUINN (1984)
Preferential landing and engorging sites of *Culicoides* species landing on a horse in Ireland.
Equine Vet. J. 16 (2): 117-20
- UNGAR-WARON, H., Y. BRAVERMAN, A. GLUCKMAN, Z. TRAININ (1990)
Immunogenicity and allergenicity of *Culicoides imicola* (Diptera: Ceratopogonidae) extracts.
Zentralbl. Veterinärmed. B. 37 (1): 64-72
- UNGEMACH, F.R. (1999)
Pharmaka zur Beeinflussung von Entzündungen
In: Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren; Löscher, W., F.R. Ungemach, R. Kroker; Parey Buchverlag, 4. Auflage: 319-49
- UNKEL, M. (1985)
Zur genetischen Fundierung des Sommerkezems beim Islandpferd
Hohe Landwirtschaftliche Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität zu Bonn, Dissertation
- UNKEL, M., D. SIMON, M. MAYER, H. SOMMER (1987)
Zur genetischen Fundierung des Sommerkezems beim Islandpferd
J. Anim. Breed. Genet. 104: 217-230
- VAN DER HAEGEN, A., M. GRIOT-WENK, M. WELLE, A. BUSATO, C. VON TSCHARNER, A. ZURBRIGGEN, E. MARTI (2001)
Immunglobulin-E-bearing cells in skin biopsies of horses with insect bite hypersensitivity.
Equine Vet. J. 33 (7): 699-706
- VAN DER RIJT, R., R. VAN DEN BOOM, Y. JONGEMA, M.M. SLOET VAN OLDRUITENBORGH-OOSTERBAAN (2008)
Culicoides species attracted to horses with and without insect hypersensitivity
The Vet. J. 178 (1): 91-7
- VAN ROOYEN, C., R. ANDERSON (2004)
Assessment of determinants of optimum performance of the CAST-2000 ELISA procedure.
J. Immunol. Methods. 288 (1-2):1-7
- WAGNER, B., A. RADBRUCH, J. ROHWER, W. LEIBOLD (2003)
Monoclonal anti-equine IgE antibodies with specificity for different epitopes on the immunoglobulin heavy chain of native IgE.
Vet. Immunol. Immunopathol. 92 (1-2): 45-60
- WESTRITSCHNIG, K., D. KRAFT, R. VALENTA (2002)
Rekombinante Allergene in der Diagnose der Typ I-Allergie
Laboratoriums Medizin 26 (3-4): 120-29

- WESTRITSCHNIG, K., R. VALENTA (2003)
Can we genetically engineer safer and more effective immunotherapy reagents?
Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol. 3 (6): 495-500
- WILSON, A.D., L.J. HARWOOD, S. BJORNSDOTTIR, E. MARTI, M.J. DAY (2001)
Detection of IgG and IgE serum antibodies to *Culicoides* salivary gland antigens in horses with insect dermal hypersensitivity (sweet itch).
Equine Vet. J. 33 (7): 707-13
- WILSON, A.D., L. HARWOOD, S. TORSTEINSDOTTIR, E. MARTI (2006)
Production of monoclonal antibodies specific for native equine IgE and their application to monitor total serum IgE responses in Icelandic and non-Icelandic horses with insect bite dermal hypersensitivity.
Vet. Immunol. Immunopathol. 112 (3-4): 156-70
- WILSON, A.D., K.J. HEESOM, W.J. MAWBY, P.S. MELLOR, C.L. RUSSEL (2008)
Identification of abundant proteins and potential allergens in *Culicoides nubeculosus* salivary glands
Vet. Immunol. Immunopathol. 122 (1-2): 94-103
- WITTMANN, E.J., P.S. MELLOR, D.J. ROGERS, A.R. SAMUEL, P.P. MERTENS, M. BAYLIS (2001)
Using climate data to map the potential distribution of *Culicoides imicola* (Diptera: Ceratopogonidae) in Europe.
Rev. Sci. Tech. 20 (3): 731-40
- YAMASHITA, K., T. FUJINAGA, M. OKUMURA, M. TAKIGUCHI, N. TSUNODA, S. MIZUNO (1991)
Serum C-reactive protein (CRP) in horses: the Effect of Aging, Sex, Delivery and Inflammations on Its Concentration
J. Vet. Med. Sci. 53(6): 1019-24
- YOUNG, H.A., K.J. HARDY (1990)
Interferon-gamma: Producer cells, activation stimuli and molecular genetic regulation.
Pharm. Ther. 45: 137-51

9 Anhang

Tab. 9.1: Dermatologische Befunde an den Prädilektionsstellen für SE bei Pferden mit Disposition für das SE (Untersuchungsgruppe, UG) und einer unbelasteten Kontrollgruppe (KG) vor Studienbeginn Anfang März

Symptome	UG (n = 36)		KG (n = 18)	
	absolut (n =)	in %	absolut (n =)	in %
Verdickung der Haut	7	19,4	0	0
Schuppung der Haut	34*	94,4*	13	72,2
Beläge/Krusten	6	16,7	2	11,1
Scheuerstellen im Mähnen- oder Schweifbereich	11	30,7	5	27,8
Stellenweiser Fellverlust	20**	55,6**	3	16,7
Juckreiz auslösbar	2	5,6	0	0
Rötung der Haut	0	0	0	0
Nässende Bereiche	1	2,8	0	0

Tab. 9.2: Ergebnisse der Untersuchung auf den Befall mit Dermatophyten Anfang März, Vergleich Untersuchungsgruppe (UG) und unbelastete Kontrollgruppe (KG)

Befund Dermatophyten	positiv absolut (n =) in %		negativ absolut (n =) in %	
UG (n = 36)	19**	52,8**	17	47,2
KG (n = 18)	4	22,2	14	77,8

Tab. 9.3: Histaminfreisetzung [%] aus Basophilen Granulozyten zweier Pferde mit Disposition für das SE nach Stimulation mit einem *Culicoides*-Ganzkörperextrakt in verschiedenen Konzentrationen; Pferd 1 und 2, (MW ± SD)

Pferd Nr.	Spontan-Release	Konzentration <i>Culicoides</i> -Extrakt			
		1 µg/ml	5 µg/ml	10 µg/ml	20 µg/ml
1	2,19 ± 1,17	50,23 ± 1,28	59,80 ± 5,87	52,56 ± 3,09	54,52 ± 18,24
2	3,40 ± 0,23	47,73 ± 2,52	63,19 ± 3,55	75,65 ± 11,10	91,59 ± 10,76

Tab. 9.4: Spontan-Release bzw. allergeninduzierte sLT-Freisetzung [pg/ml] aus isolierten Leukozyten von 2 Pferden mit SE nach Stimulation mit verschiedenen Konzentrationen eines *Culicoides*-Ganzkörperextraktes; Pferd Nr. 1 und 2, (MW ± SD)

Pferd Nr.	Spontan-Release	Konzentration <i>Culicoides</i> -Extrakt		
		0,1 µg/ml	0,5 µg/ml	1 µg/ml
1	26,2 ± 5,7	35,4 ± 7,1	457,1 ± 116,8	1264,1 ± 3,7
2	19,1 ± 8,6	90,2 ± 11,3	23,7 ± 15,0	291,9 ± 69,9

Pferd Nr.	Konzentration <i>Culicoides</i> -Extrakt	
	5 µg/ml	10 µg/ml
1	2923,9 ± 411,1	3295,0 ± 536,2
2	790,8 ± 96,5	1494,0 ± 97,2

Tab. 9.5: sLT-Freisetzung [pg/ml] aus isolierten Leukozyten von einem Pferd mit SE nach Stimulation mit verschiedenen unspezifischen Stimulatoren; Pferd Nr. 3, (MW ± SD)

Pferd Nr	PMA 10 nmol	PMA 100 nmol	FMLP 10 µmol	fMLP 100 µmol	Ionomycin 10µg/ml
3	113,4 ± 17,7	195,0 ± 14,1	86,9 ± 7,1	122,6 ± 22,6	4595,7 ± 280,3

Tab. 9.6: Mittlere sLT-Freisetzung [pg/ml] aus isolierten Leukozyten von einem Pferd mit SE nach Stimulation mit Ionomycin in verschiedenen Konzentrationen; Pferd Nr. 1, (MW ± SD)

Pferd Nr.	Konzentration Ionomycin		
	0,01 µg/ml	0,05 µg/ml	0,1 µg/ml
1	134,4 ± 91,1	316,0 ± 12,7	754,7 ± 45,4

Tab. 9.7: Mittlere sLT-Freisetzungsrates [pg/ml] aus isolierten Leukozyten von 4 Pferden mit SE nach Stimulation mit Ionomycin [0,05 µg/ml]

Pferd Nr.	sLT-Freisetzung [pg/ml]
1	316,0 ± 12,7
5	526,5 ± 70,0
7	501,0 ± 90,5
11	522,0 ± 130,1

Tab. 9.8: Mittlere sLT-Freisetzungsrates [pg/ml] aus isolierten Leukozyten von 4 Pferden mit SE nach Stimulation mit Ionomycin [0,1 µg/ml]

Pferd Nr.	sLT-Freisetzung [pg/ml]
1	306,5 ± 31,8
2	326,0 ± 25,5
5	517,5 ± 41,7
7	506,5 ± 82,7

Tab. 9.9: Histaminfreisetzung [%] nach Stimulation mit einem *Culicoides*-Ganzkörperextrakt in den Konzentrationen 1 bzw. 5 µg/ml mit bzw. ohne Präinkubation mit GM-CSF; Pferd Nr. 1 und 2, (MW ± SD)

Pferd Nr.	Spontan-Release	GM-CSF 10 nmol	GM-CSF 100 nmol	GM-CSF 1000 nmol	ohne GM-CSF
1 [5 µg/ml]	2,2 ± 1,2	80,6 ± 13,1	92,0 ± 2,1	75,7 ± 8,1	59,8 ± 5,9
2 [1 µg/ml]	3,4 ± 0,2	54,9 ± 9,7	46,4 ± 1,9	47,3 ± 10,0	47,7 ± 0,0

Tab. 9.10: sLT-Freisetzung [pg/ml] aus isolierten Leukozyten zweier Pferde mit SE nach Stimulation mit einem *Culicoides*-Ganzkörperextrakt in den Konzentrationen 1 bzw. 5 µg/ml mit bzw. ohne Präinkubation mit GM-CSF; Pferd Nr. 1 und 2, (MW ± SD)

Pferd Nr.	GM-CSF 10 nmol	GM-CSF 100 nmol	GM-CSF 1000 nmol	ohne GM-CSF
1 [5 µg/ml]	1618,5 ± 26,3	1726,4 ± 82,6	1401,1 ± 199,0	1182,5 ± 97,1
2 [1 µg/ml]	483,5 ± 46,7	445,7 ± 48,5	337,0 ± 12,9	287,7 ± 113,1

Tab. 9.11: sLT-Freisetzung [pg/ml] aus isolierten equinen Leukozyten nach Stimulation mit einem *Culicoides*-Ganzkörperextrakt [2,5 µg/ml] zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Blutentnahme, Lagerung des Blutes bei RT, (MW ± SD)

Pferd Nr.	Lagerungsdauer (h)		
	3	6,5	10
5	4271,5 ± 480,8	3944,5 ± 608,1	4293,5 ± 869,7
7	3158,5 ± 134,4	3154,0 ± 388,9	2493,5 ± 424,3
10	3030,2 ± 226,3	2263,0 ± 537,4	2379,3 ± 00,0
11	3355,0 ± 417,2	2964,0 ± 56,6	3301,0 ± 35,4
MW (n = 4)	3453,8 ± 561,3	3081,4 ± 691,3	3116,8 ± 885,2

Tab. 9.12: sLT-Freisetzung [pg/ml] aus isolierten equinen Leukozyten nach Stimulation mit einem *Culicoides*-Ganzkörperextrakt [2,5 µg/ml] zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Blutentnahme, Lagerung des Blutes bei RT, (MW ± SD)

Pferd Nr.	Lagerungsdauer (h)		
	3,5	7	9
1	5199,0 ± 339,4	6443,0 ± 410,1	7178,0 ± 431,3
2	7358,5 ± 968,7	7798,0 ± 212,1	7167,0 ± 954,6
MW (n = 2)	6278,8 ± 1527,0	7120,5 ± 958,1	7172,5 ± 7,8

Tab. 9.13: Histaminfreisetzung [%] aus isolierten Leukozyten von Pferden mit SE nach Stimulation mit einem *Culicoides*-Ganzkörperextrakt [2,5 µg/ml] zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Blutentnahme, Lagerung des Blutes bei RT, (MW ± SD)

Pferde	Lagerungsdauer (h)		
	3	6,5	9-10
MW	79,5 ± 10,7	75,4 ± 5,1	76,7 ± 20,5
n =	3	4	6

Tab. 9.14: Übersicht über den mittleren Erkrankungszeitpunkt in Wochen nach Beginn der Prophylaxe in der Verum- und der Placebogruppe (MW ± SD)

Gruppe	Erkrankungszeitpunkt in Wochen
Verumgruppe (n = 17)	3,9 ± 2,0
Placebogruppe (n = 17)	2,9 ± 1,9

Tab. 9.15: Anzahl der Lymphozyten in % bei Pferden mit Disposition für SE vor und zum Zeitpunkt des Ausbruchs des Ekzems im Frühjahr; Vergleich Verum-/Placebogruppe, wöchentliche Entnahme, n = 32, (MW ± SD), Signifikanzen in Bezug auf den Zeitpunkt 0, gesund

Gruppe	Zeit [Wochen], klin. Bild			
	0, gesund	1, gesund	2, gesund	3, akut SE
Verum (n = 16)	38,6 ± 11,1	35,8 ± 7,8	30,6 ± 8,2	34,9 ± 12,0
Placebo (n = 16)	41,5 ± 8,1	28,4** ± 11,3	27,0** ± 11,7	29,3*** ± 9,0

Tab. 9.16: Anzahl der Eosinophilen Granulozyten in % von Pferden mit Disposition für SE vor und zum Zeitpunkt des Ausbruches des Ekzems im Frühjahr; Vergleich Verum-/Placebogruppe, wöchentliche Entnahme, n = 35

Gruppe	Zeit [Wochen], klin. Bild			
	0, gesund	1, gesund	2, gesund	3, akut SE
Verum (n = 18)	2,6 ± 2,2	2,8 ± 2,2	2,7 ± 2,3	3,3 ± 3,2
Placebo (n = 17)	2,7 ± 3,0	3,1 ± 1,4	4,0 ± 1,4	3,9 ± 3,7

Tab. 9.17: Vergleich des Gesamthistamingehaltes [ng/ml] der Basophilen Granulozyten von klinisch gesunden und an SE erkrankten Pferden in der Verum- (n = 14) und der Placebogruppe (n = 8 bzw. n = 11) vor und während des Ausbruches von SE im Frühjahr, (MW ± SD)

Gruppe	Zeitpunkt	
	gesund	akut SE
Verum (n = 14)	61,8 ± 29,1	64,7 ± 22,8
Placebo (n = 8/12)	64,5 ± 36,7	50,9 ± 16,4

Tab. 9.18: Vergleich der Histaminfreisetzung [%] aus equinen Basophilen Granulozyten in der Verum- und Placebogruppe nach Stimulation mit einem *Culicoides*-Ganzkörperextrakt vor und während des Ausbruches von SE, (MW ± SD)

Gruppe	Zeitpunkt	
	gesund	akut SE
Verum (n = 8/6)	44,6 ± 17,5	47,3 ± 13,3
Placebo (n = 6/7)	43,7 ± 20,6	50,4 ± 17,8

Tab. 9.19: Gesamthistamingehalt und Histaminfreisetzung [%] aus Basophilen Granulozyten von Pferden ohne Disposition für SE im Frühjahr nach Stimulation mit einem *Culicoides*-Ganzkörperextrakt; n = 10, Kontrollgruppe (KG)

	Gesamthistamingehalt [ng/ml]	Histaminfreisetzung [%]
Pferde ohne Disposition für SE (KG, n = 10)	100,6 ± 24,0	3,4 ± 0,8

Tab. 9.20: Vergleich der sLT-Freisetzung [pg/ml] aus Basophilen Granulozyten von klinisch gesunden und an SE erkrankten Pferden in der Verum- (n = 12 bzw. 7) und der Placebogruppe (n = 9 bzw. n = 8) vor und während des Ausbruches von SE im Frühjahr, (MW ± SD)

Gruppe	Zeitpunkt	
	gesund	akut SE
Verum (n = 12/7)	2304,1 ± 1187,0	2898,8 ± 1605,4
Placebo (n = 9/8)	1222,1 ± 706,2	1898,6 ± 1269,3

Tab. 9.21: sLT-Freisetzung aus isolierten equinen Leukozyten von Pferden mit (UG) und ohne (KG) Disposition für SE nach Stimulation mit einem *Culicoides*-Extrakt; Blutentnahme im Winter bei symptomfreien Pferden, (MW ± SD)

Gruppe	sLT-Freisetzung [pg/ml]
Untersuchungsgruppe (n = 6)	2835,9* ± 1576,3
Kontrollgruppe (n = 5)	528,7 ± 319,6

Tab. 9.22: Vergleich des Gesamthistamingehaltes Basophiler Granulozyten symptomfreier Pferde mit (UG) und ohne (KG) Disposition für SE, Blutentnahme im Winter; je Gruppe n = 7, (MW ± SD)

Gruppe	Gesamthistamingehalt [ng/ml]
Untersuchungsgruppe (n = 7)	64,5* ± 18,6
Kontrollgruppe (n = 7)	103,8 ± 29,9

Tab. 9.23: Vergleich der Histaminfreisetzung [%] vom Gesamthistamingehalt aus equinen Basophilen Granulozyten nach Stimulation mit einem *Culicoides*-Extrakt bei Pferden mit (UG) und ohne (KG) Disposition für SE, Blutentnahme im Winter, (MW ± SD)

Gruppe	Histaminfreisetzung [%]
Untersuchungsgruppe (n = 5)	60,1*** ± 18,2
Kontrollgruppe (n = 7)	3,6 ± 3,6

Tab. 9.24: Vergleich der Konzentration des Serum-CRP von Pferden mit (UG) und ohne (KG) Disposition für SE; Blutentnahme im Winter bei symptomfreien Tieren, (MW ± SD)

Gruppe	Serum-CRP [µg/ml]
Untersuchungsgruppe (n = 6)	17,3*** ± 4,2
Kontrollgruppe (n = 7)	51,3 ± 17,3

Tab. 9.25: Vergleich der Konzentration des Serum-Haptoglobin-Spiegels von Pferden mit (UG) und ohne (KG) Disposition für SE; Blutentnahme im Winter bei symptomfreien Tieren, (MW ± SD)

Gruppe	Serum-Haptoglobin [mg/ml]
Untersuchungsgruppe (n = 5)	1,31 ± 1,24
Kontrollgruppe (n = 7)	0,80 ± 0,65

Tab. 9.26: Darstellung des Verlaufes des Gesamthistamingehaltes [ng/ml] Basophiler Granulozyten von Pferden mit SE vor und während des Ausbruchs der Erkrankung, sowie unter wöchentlicher Therapie. Signifikanzen in Bezug auf den Zeitpunkt des Auftretens von ersten Symptomen von SE („akut SE“)

	Zeit [Wochen]							
	gesund	akut SE	1	2	4	6	8	10
MW ± SD	67,8 ± 28,2	56,1 ± 22,3	66,0 ± 35,1	74,8* ± 36,1	75,9** ± 26,5	92,3*** ± 30,2	92,6*** ± 27,5	102,2*** ± 21,7
n =	21	28	28	20	18	16	15	14

	Zeit [Wochen]								
	12	13	14	15	16	17	18	19	20
MW	108,4***	108,0***	119,5***	103,5***	113,2***	126,0***	114,9***	108,4***	114,3***
± SD	± 33,7	± 22,6	± 38,0	± 25,1	± 39,1	± 36,5	± 38,9	± 33,1	± 42,0
n =	16	3	14	6	14	8	13	9	3

Tab. 9.27: Darstellung des Verlaufes des Gesamthistamingehaltes Basophiler Granulozyten [ng/ml] von Pferden mit SE vor und während des Ausbruchs der Erkrankung, sowie unter wöchentlicher Therapie. Signifikanzen in Bezug auf den Zeitpunkt vor Auftreten der ersten Symptome von SE („o.b.B.“)

	Zeit [Wochen]							
	o.b.B.	akut SE	1	2	4	6	8	10
MW	67,8	56,1	66,0	74,8	75,9	92,3*	92,6*	102,2***
± SD	± 28,2	± 22,3	± 35,1	± 36,1	± 26,5	± 30,2	± 27,5	± 21,7
n =	21	28	28	20	18	16	15	14

	Zeit [Wochen]								
	12	13	14	15	16	17	18	19	20
MW	108,4***	108,0*	119,5***	103,5**	113,2***	126,0***	114,9***	108,4**	114,3*
± SD	± 33,7	± 22,6	± 38,0	± 25,1	± 39,1	± 36,5	± 38,9	± 33,1	± 42,0
n =	16	3	14	6	14	8	13	9	3

Tab. 9.28: Darstellung des Verlaufes des Gesamthistamingehaltes Basophiler Granulozyten [ng/ml] von Pferden mit SE vor und während des Ausbruchs der Erkrankung sowie unter wöchentlicher Therapie. Vergleich Verum-/Placebogruppe aus der Prophylaxephase mit Engystol® ad us. vet.; Signifikanzen in beiden Gruppen jeweils in Bezug auf den Zeitpunkt des Auftretens von ersten Symptomen von SE („akut SE“)

Gruppen	Zeit [Wochen]							
	gesund	akut SE	1	2	4	6	8	10
Verum	68,8	59,6	75,1	83,0	86,5*	96,3**	103,1***	111,7***
MW ± SD	± 24,8	± 22,4	± 35,1	± 45,7	± 28,8	± 31,4	± 25,2	± 11,5
n =	12	12	13	7	7	10	9	8
Placebo	66,5	53,6	58,1	70,4	69,1	85,6*	76,9*	89,6**
MW ± SD	± 33,9	± 22,6	± 34,2	± 31,0	± 23,7	± 29,6	± 24,7	± 26,4
n =	9	16	15	13	11	6	6	6

Gruppen	Zeit [Wochen]							
	12	13	14	15	16	17	18	19
Verum	130,7***	108,0**	132,0***	114,5***	101,3**	118,9***	104,8***	133,8**
MW ± SD	± 27,6	± 22,6	± 41,6	± 23,8	± 31,4	± 26,1	± 22,9	± 37,1
n =	7	3	6	4	5	5	6	2
Placebo	91,0**		110,1***	81,6	119,8***	137,8***	123,6***	101,1***
MW ± SD	± 28,1		± 34,9	± 3,3	± 43,1	± 54,4	± 49,0	± 30,9
n =	9		8	2	9	3	7	7

Tab. 9.29: Darstellung des Verlaufes der prozentualen Histaminfreisetzung aus Basophilen Granulozyten von Pferden mit SE vor und während des Ausbruchs der Erkrankung sowie unter wöchentlicher Therapie. Signifikanzen in Bezug auf den Zeitpunkt des Auftretens von ersten Symptomen von SE („akut SE“)

	Zeit [Wochen]							
	gesund	akut SE	1	2	4	6	8	10
MW	35,6	43,9	40,9	37,4	27,4**	30,4*	29,7*	36,2
± SD	± 18,1	± 16,5	± 18,8	± 21,2	± 14,4	± 19,0	± 12,1	± 16,3
n =	15	17	19	16	15	13	11	10

	Zeit [Wochen]			
	12	14	16	17
MW	36,1	34,8	33,8	37,3
± SD	± 17,4	± 14,8	± 18,0	± 15,6
n =	18	9	8	2

Tab. 9.30: Darstellung des Verlaufes der prozentualen Histaminfreisetzung aus Basophilen Granulozyten von Pferden mit SE vor und während des Ausbruchs der Erkrankung sowie unter wöchentlicher Therapie. Vergleich der vormaligen Verum-/Placebogruppe, Signifikanzen in beiden Gruppen in Bezug auf den Zeitpunkt des Auftretens von ersten Symptomen von SE („akut SE“)

	Zeit [Wochen]						
	gesund	akut SE	1	2	4	6	8
Verum	36,4	44,5	41,3	33,4	20,1**	27,2*	31,9
MW ± SD	± 16,6	± 11,8	± 11,6	± 17,8	± 14,8	± 16,7	± 12,0
n =	8	7	5	5	7	7	5
Placebo	34,7	41,2	38,4	36,4	32,8	34,2	27,8
MW ± SD	± 21,0	± 19,5	± 20,2	± 22,4	± 12,2	± 22,5	± 12,9
n =	7	9	12	10	8	6	6

	Zeit [Wochen]				
	10	12	14	16	17
Verum	30,9	34,6	37,6	25,2	
MW ± SD	± 17,2	± 15,9	± 14,6	± 6,9	
n =	5	8	3	2	
Placebo	41,5	37,2	33,3	36,7	37,3
MW ± SD	± 15,4	± 19,2	± 16,1	± 20,1	± 15,6
n =	5	10	6	6	2

Tab. 9.31: Darstellung des Verlaufes der sLT-Freisetzung [pg/ml] aus Basophilen Granulozyten von Pferden mit SE vor und während des Ausbruchs der Erkrankung sowie unter wöchentlicher Therapie.

	Zeit [Wochen]			
	gesund	akut SE	1	2
MW \pm SD	1840,4 \pm 1129,3	2365,4 \pm 1475,4	2004,8 \pm 996,6	1896,8 \pm 468,1
n =	21	15	19	5

Tab. 9.32: Darstellung des Verlaufes der sLT-Freisetzung [pg/ml] aus Basophilen Granulozyten von Pferden mit SE vor und während des Ausbruchs der Erkrankung sowie unter wöchentlicher Therapie. Unterteilung nach Zugehörigkeit zur vormaligen Verum- bzw. Placebogruppe

	Zeit [Wochen]			
	gesund	akut SE	1	2
Verum MW \pm SD	2304,1 \pm 1187,0	2898,8 \pm 1605,4	2377,2 \pm 979,0	2121,6 \pm 443,0
n =	12	7	8	3
Placebo MW \pm SD	1222,1 \pm 706,2	1898,6 \pm 1269,3	1734,0 \pm 961,9	1559,6 \pm 323,7
n =	9	8	11	2

Tab. 9.33 A: Darstellung des Verlaufes der mittleren Serum-CRP-Konzentration [μ g/ml] von Pferden der Untersuchungsgruppe vor und während des Ausbruchs von SE, sowie eine Woche nach Beginn der wöchentlicher Therapie.

	gesund	akut SE	1 Woche nach Therapie
CRP [μ g/ml]	19,2 \pm 7,1	18,6 \pm 5,4	20,1 \pm 5,8
n =	27	27	28

Tab. 9.33 B: Darstellung des Verlaufes der mittleren Serum-CRP-Konzentration [μ g/ml] von Pferden der Untersuchungsgruppe vor und während des Ausbruchs von SE, sowie eine Woche nach Beginn der wöchentlicher Therapie. Vergleich vormalige Verum-/Placebogruppe

Gruppen	gesund	akut SE	1 Woche nach Therapie
Verum	20,3 \pm 9,6	18,6 \pm 6,5	22,2 \pm 6,3
n =	12	12	12
Placebo	18,4 \pm 4,4	18,6 \pm 4,5	18,8 \pm 5,0
n =	15	15	15

Tab. 9.34 A: Darstellung des Verlaufes des klinischen Bildes bei Pferden der Untersuchungsgruppe vor und während des Ausbruchs von SE sowie nach Beginn der wöchentlicher Therapie. Beurteilung der betroffenen Körperoberfläche, n = 34

	gesund	akut SE	1 Wo Therapie	2 Wo Therapie	3 Wo Therapie
betroffene Körperoberfläche	0	4,6 \pm 1,6	3,4** \pm 1,4	2,9*** \pm 1,4	2,4*** \pm 1,5

Tab. 9.34 B: Darstellung des Verlaufes des klinischen Bildes bei Pferden der Untersuchungsgruppe vor und während des Ausbruchs von SE sowie nach Beginn der wöchentlichen Therapie. Beurteilung der betroffenen Körperoberfläche, Unterteilung nach vormaliger Verum-/Placebogruppe, je n = 17

	gesund	akut SE	1 Wo Therapie	2 Wo Therapie	3 Wo Therapie
Verum	0	4,6 ± 1,3	3,4** ± 1,2	2,9*** ± 1,1	2,4*** ± 1,2
Placebo	0	4,6 ± 1,9	3,3 ± 1,6	2,9* ± 1,6	2,4** ± 1,8

Tab. 9.35 A: Darstellung des Verlaufes des klinischen Bildes bei Pferden der Untersuchungsgruppe vor und während des Ausbruchs von SE sowie nach Beginn der wöchentlichen Therapie. Beurteilung des Juckreizes, n = 34

	gesund	akut SE	1 Wo Therapie	2 Wo Therapie	3 Wo Therapie
Juckreiz	0	2,5 ± 0,6	1,7*** ± 0,7	1,6*** ± 0,9	1,5*** ± 0,9

Tab. 9.35 B: Darstellung des Verlaufes des klinischen Bildes bei Pferden der Untersuchungsgruppe vor und während des Ausbruchs von SE sowie nach Beginn der wöchentlichen Therapie. Beurteilung des Juckreizes, Unterteilung nach vormaliger Verum-/Placebogruppe, je n = 17

	gesund	akut SE	1 Wo Therapie	2 Wo Therapie	3 Wo Therapie
Verum	0	2,5 ± 0,6	1,8** ± 0,7	1,6** ± 0,9	1,5*** ± 0,8
Placebo	0	2,5 ± 0,6	1,7** ± 0,7	1,6** ± 0,9	1,5** ± 1,0

Tab. 9.36: Darstellung des Verlaufes des Gesamthistamingehaltes [ng/ml] Basophiler Granulozyten von Pferden mit SE vor und während der Unterbrechung der wöchentlichen Therapie, sowie nach erneuter Therapieaufnahme

	Stand der Therapie					
	2 Wo vor Abbruch	1 Wo vor Abbruch	Abbruch	Wiederaufnahme	+ 1 Wo Therapie	+ 2 Wo Therapie
Gesamthistamingehalt [ng/ml]	109,0 ± 26,5	119,0 ± 46,7	109,2 ± 30,1	103,9 ± 37,9	109,7 ± 32,2	118,1 ± 35,6
n =	13	17	19	14	15	18

Tab. 9.37: Darstellung des Verlaufes des Gesamthistamingehaltes Basophiler Granulozyten [ng/ml] von Pferden mit SE vor und während des Absetzens der wöchentlichen Therapie sowie nach erneuter Therapieaufnahme; unterteilt nach Zugehörigkeit zur vormaligen Verum- und Placebogruppe, (MW ± SD)

Gruppen	Stand der Therapie						
	2 Wo vor Abbruch	1 Wo vor Abbruch	Abbruch	Wiederaufnahme	+ 1 Wo Therapie	+ 2 Wo Therapie	+ 3 Wo Therapie
Verum	115,3 ± 27,8	118,4 ± 37,2	113,7 ± 32,1	107,5 ± 27,4	112,5 ± 26,5	119,3 ± 40,5	102,8 ± 20,2
n =	6	8	9	8	9	10	3
Placebo	103,7 ± 26,2	119,6 ± 56,1	105,2 ± 29,2	99,1 ± 51,3	105,4 ± 41,8	107,5 ± 39,7	86,4 ± 34,4
n =	7	9	10	6	6	9	4

Tab. 9.38 A: Darstellung des Verlaufes der mittleren Serum-CRP-Konzentration [$\mu\text{g/ml}$] von Pferden mit SE vor und während der Unterbrechung der wöchentlichen Therapie sowie nach erneuter Therapieaufnahme

	Abbruch	Wiederaufnahme	+ 1 Wo Therapie	+ 2 Wo Therapie
Serum-CRP-Spiegel [$\mu\text{g/ml}$]	19,2 \pm 7,5	19,2 \pm 8,0	19,6 \pm 7,9	19,8 \pm 7,5
n =	22	22	23	24

Tab. 9.38 B: Darstellung des Verlaufes der mittleren Serum-CRP-Konzentration [$\mu\text{g/ml}$] von Pferden mit SE vor und während der Unterbrechung der wöchentlichen Therapie sowie nach erneuter Therapieaufnahme; Vergleich vormalige Verum-/Placebogruppe, (MW \pm SD)

Gruppen	Abbruch	Wiederaufnahme	+ 1 Wo Therapie	+ 2 Wo Therapie
Verum	19,6 \pm 6,4	18,6 \pm 7,1	18,5 \pm 6,8	19,7 \pm 4,3
n =	10	11	11	11
Placebo	18,9 \pm 8,5	19,7 \pm 9,1	20,6 \pm 9,0	20,0 \pm 9,6
n =	12	11	12	13

Tab. 9.39: Darstellung der mittleren Serum-CRP-Konzentration [$\mu\text{g/ml}$] von Pferden mit und ohne Disposition für SE zu verschiedenen Jahreszeiten sowie vor und während einer wöchentlichen Therapie, (MW \pm SD)

	Pferde ohne Disposition für SE, im Winter	Pferde mit Disposition für SE, im Winter	Vor Ausbruch des SE	akut SE	1 Woche nach Therapie	14 Wochen nach Therapie
Serum-CRP-Spiegel [$\mu\text{g/ml}$]	51,3 \pm 17,3	17,3 \pm 4,2	19,2 \pm 7,1	18,6 \pm 5,4	20,1 \pm 5,8	19,2 \pm 7,5
n =	7	6	27	27	28	22

Tab. 9.40 A: Darstellung des Verlaufes des klinischen Bildes bei Pferden der Untersuchungsgruppe während der Phase der Therapieunterbrechung im August, Beurteilung der betroffenen Körperoberfläche (Index), n = 26, (MW \pm SD)

	-1 Wo	Absetzen der Therapie	Pause	Wiedereinsatz der Therapie	1 Wo nach Therapie	2 Wo nach Therapie
Index	0,8 \pm 0,6	0,9 \pm 0,6	1,2 \pm 0,7	2,2 \pm 0,8	1,4*** \pm 0,7	1,0*** \pm 0,7

Tab. 9.40 B: Darstellung des Verlaufes des klinischen Bildes bei Pferden der Untersuchungsgruppe während der Phase der Therapieunterbrechung im August, Beurteilung der betroffenen Körperoberfläche (Index); Unterteilung nach der Zugehörigkeit zur vormaligen Verum-/Placebogruppe, (MW \pm SD)

Gruppen	-1 Wo	Absetzen der Therapie	Pause	Wiedereinsatz der Therapie	1 Wo nach Therapie	2 Wo nach Therapie
Verum	0,8 \pm 0,4	0,8 \pm 0,4	1,2 \pm 0,6	2,0 \pm 0,6	1,4* \pm 0,7	0,9*** \pm 0,7
n =	12	12	12	12	12	12
Placebo	0,8 \pm 0,7	1,0 \pm 0,8	1,3 \pm 0,8	2,4 \pm 0,9	1,4** \pm 0,8	1,1*** \pm 0,7
n =	14	14	14	14	14	14

Tab. 9.41 A: Darstellung des Verlaufes des klinischen Bildes bei Pferden der Untersuchungsgruppe während der Phase der Therapieunterbrechung im August, Beurteilung des Juckreizes (Index), n = 26, (MW ± SD)

	-1 Wo	Absetzen der Therapie	Pause	Wiedereinsatz der Therapie	1 Wo nach Therapie	2 Wo nach Therapie
Index	0,8 ± 0,7	0,9 ± 0,8	1,5 ± 1,0	2,2 ± 0,7	1,2*** ± 0,6	0,9*** ± 0,6

Tab. 9.41 B: Darstellung des Verlaufes des klinischen Bildes bei Pferden der Untersuchungsgruppe während der Phase der Therapieunterbrechung im August, Beurteilung des Juckreizes (Index); Unterteilung nach der Zugehörigkeit zur vormaligen Verum-/Placebogruppe, (MW ± SD)

Gruppen	-1 Wo	Absetzen der Therapie	Pause	Wiedereinsatz der Therapie	1 Wo nach Therapie	2 Wo nach Therapie
Verum	0,8 ± 0,5	0,8 ± 0,7	1,6 ± 0,8	2,2 ± 0,4	1,3*** ± 0,6	1,0*** ± 0,4
n =	12	12	12	12	12	12
Placebo	0,9 ± 0,8	0,9 ± 0,8	1,5 ± 1,2	2,3 ± 0,8	1,2*** ± 0,6	0,9*** ± 0,8
n =	14	14	14	14	14	14

Tab. 9.42: Vergleich der Histaminfreisetzung [%] vom Gesamthistamingehalt aus equinen Basophilen Granulozyten nach Stimulation mit einem *Culicoides*-Ganzkörperextrakt bei Pferden mit (UG) und ohne (KG) Disposition für SE, Blutentnahme im Winter

Pferd Nr.	Histaminfreisetzung Untersuchungsgruppe (UG) in %	Histaminfreisetzung Kontrollgruppe (KG) in %	Pferd Nr.
1	42,1	1,8	46
2	39,7	3,8	48
4	72,3	3,6	49
7	80,0	11,1	50
12	66,5	0,4	51
		0,5	52
		3,8	55
MW	60,1	3,6	
SD	18,2	3,6	

10 Publikationsverzeichnis

STEIDLE, B., H. ENBERGS (2003)

Behandlung des Sommerkzems beim Pferd

Biol. Tiermed. 20. Jahrgang, Heft 1: 8-11

STEIDLE, B., H. ENBERGS (2009)

Prophylaxe und Therapie des Sommerkzems von Pferden mittels biologischer Präparate

Biol. Tiermed. 26. Jahrgang, Heft 1: 7-18

11 Danksagung

Mein erster, ganz herzlicher Dank gilt Herrn Professor Dr. med. vet. Heinrich Enbergs für die Überlassung des Themas sowie seine unermüdliche Geduld und seinen niemals endenden Enthusiasmus bei der Betreuung dieser Arbeit. Auch für die zahlreichen konstruktiven Anregungen und die immer vorhandene Gesprächsbereitschaft möchte ich mich sehr bedanken.

Ein großer Dank richtet sich auch an Herrn Prof. Dr. med. vet. Michael F. G. Schmidt für die überaus freundliche und engagierte Übernahme der Betreuung der Arbeit am Fachbereich Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin.

Bei Frau Birgit Stimper bedanke ich mich für die zuverlässige Hilfe bei der Durchführung der Laborarbeiten.

Ein ganz großes Dankeschön möchte ich an Herrn Dr. med. vet. Dhafer Aziz richten, der mir bei Fragen zur Statistik eine unersetzbare Hilfe und ein stets ansprechbarer und kompetenter Gesprächspartner war.

Ein herzlicher Dank geht auch an die Islandpferdebesitzer, die mir – wie auch ihre Pferde – mit ihrer Freundlichkeit und Offenheit in der Zeit dieser Arbeit an das Herz gewachsen sind.

Einen ganz besonderen Dank sagen möchte ich meiner Familie, besonders meinen Eltern, die mir durch ihre unermüdliche Unterstützung und ihr großes Vertrauen nicht nur während des Studiums sondern auch während der Zeit der Dissertation geholfen haben, diese Arbeit tatsächlich zu Ende zu führen.

Ich danke Margit für die Hilfe beim Korrekturlesen, Stefan für sein fortwährendes Verständnis und seine Geduld, und allen meinen Freunden, die mir mit aufmunternden, anspornenden und auch tröstenden Worten stets eine wichtige Hilfe waren.

12 Selbstständigkeitserklärung

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Britta Steidle

Erftstadt, den 24.11.2009