

Aus der Medizinischen und Gerichtlichen Veterinärklinik
Professur für Innere Krankheiten der Pferde
der Justus-Liebig-Universität Gießen

**Vergleich ausgewählter Blutparameter zur
Eignung in der Diagnostik entzündlicher
Erkrankungen beim Pferd**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades beim
Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von
KATJA ROSCHER

Gießen 2000

Aus der Medizinischen und Gerichtlichen Veterinärklinik
Professur für Innere Krankheiten der Pferde
der Justus-Liebig-Universität Gießen
Betreuer: Prof. Dr. H.H.L. Sasse

**Vergleich ausgewählter Blutparameter zur
Eignung in der Diagnostik entzündlicher
Erkrankungen beim Pferd**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades beim
Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von
KATJA ROSCHER
Tierärztin aus Saarbrücken

Gießen 2000

Mit Genehmigung des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan

Prof. Dr. Dr. h.c. H. BOSTEDT

1. Berichterstatter:

Prof. Dr. H.H.L. SASSE

2. Berichterstatter:

Prof. Dr. L.-F. Litzke

Tag der mündlichen Prüfung:

18. August 2000

Für meine Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

| | Seite |
|--|-------|
| 1. <u>EINLEITUNG</u> | 1 |
| 2. <u>SCHRIFTTUM</u> | 3 |
| 2.1 <u>DIE AKUT-PHASE-REAKTION DER ENTZÜNDUNG</u> | 3 |
| 2.1.1 LOKALE REAKTIONEN | 3 |
| 2.1.2 SYSTEMISCHE REAKTIONEN | 5 |
| 2.2 <u>HÄMATOLOGISCHE REAKTIONEN BEI ENTZÜNDLICHEN PROZESSEN BEIM PFERD</u> | 7 |
| 2.2.1 ZELLULÄRE REAKTIONEN | 8 |
| 2.2.1.1 Blutsenkungsreaktion (BSR) | 8 |
| 2.2.1.1.1 Methodik und Referenzbereiche | 8 |
| 2.2.1.1.2 Einflussfaktoren auf die BSR | 9 |
| 2.2.1.1.3 Einsatzmöglichkeiten der BSR in der Diagnostik | 11 |
| 2.2.1.2 Leukozyten | 13 |
| 2.2.1.2.1 Physiologie | 13 |
| 2.2.1.2.2 Einflussfaktoren auf die Verteilung im Gefäßsystem | 14 |
| 2.2.1.2.3 Referenzbereiche | 16 |
| 2.2.1.2.4 Leukozytenveränderungen im Blut bei entzündlichen Prozessen | 18 |
| 2.2.2 REAKTIONEN DER EIWEISSFRAKTIONEN | 21 |
| 2.2.2.1 Albumin | 23 |
| 2.2.2.2 Globuline | 25 |
| 2.2.2.3 Akut-Phase-Proteine | 26 |
| 2.2.2.3.1 Fibrinogen | 27 |
| 2.2.2.3.2 Serum Amyloid A (SAA) | 30 |
| 2.2.2.3.3 α_1 -saures Glykoprotein (Orosomukoid) | 32 |
| 2.2.2.3.4 C-reaktives Protein (CRP) | 33 |
| 2.2.2.3.5 Haptoglobin (Hp) | 34 |
| 2.2.2.3.6 Ceruloplasmin (Cp) | 36 |
| 2.2.2.3.7 α_2 -Makroglobulin (α_2M) | 37 |
| 2.2.2.3.8 Transferrin (Tr) | 38 |
| 2.2.2.3.9 Tabellarische Übersicht | 39 |
| 2.3 <u>DIFFERENZIERUNG DER SERUMPROTEINE MITTELS ELEKTROPHORESE</u> | 41 |
| 2.3.1 Die konventionelle Elektrophorese | 42 |
| 2.3.1.1 Zellulose-Azetat-Folie | 43 |
| 2.3.1.2 Agarose-Gel | 43 |
| 2.3.2 Die Auswertung der Träger | 44 |
| 2.3.2.1 Albumin | 46 |
| 2.3.2.2 Globuline | 46 |

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 2.3.2.2.1 | a-Globuline | 47 |
| 2.3.2.2.2 | b-Globuline | 48 |
| 2.3.2.2.3 | g-Globuline | 49 |
| 3. | <u>EIGENE UNTERSUCHUNGEN</u> | 51 |
| 3.1 | MATERIAL UND METHODEN | 51 |
| 3.1.1 | PATIENTENMATERIAL | 51 |
| 3.1.2 | EINTEILUNG DER PATIENTEN IN GRUPPEN | 51 |
| 3.1.3 | LABORDIAGNOSTISCHE BLUTUNTERSUCHUNGEN | 53 |
| 3.1.3.1 | Blutentnahme und Bearbeitung der Proben | 53 |
| 3.1.3.2 | Routinebestimmungen | 53 |
| 3.1.3.3 | Serumproteinelektrophorese (SPE) | 54 |
| 3.1.3.4 | Lagerungsversuch von Seren | 55 |
| 3.1.4 | STATISTISCHE METHODIK | 56 |
| 3.2 | ERGEBNISSE | 58 |
| 3.2.1 | AUSWERTUNG DER ROUTINEBESTIMMUNGEN | 58 |
| 3.2.1.1 | Leukozyten | 58 |
| 3.2.1.2 | Blutsenkungsreaktion | 59 |
| 3.2.1.2.1 | Einfluss der Rasse auf die BSR | 60 |
| 3.2.1.2.2 | Zusammenhänge zwischen der BSR und ausgewählten Parametern | 61 |
| 3.2.1.3 | Hämatokrit | 62 |
| 3.2.1.4 | Proteine | 63 |
| 3.2.1.4.1 | Gesamteiweiß | 63 |
| 3.2.1.4.2 | Albumin | 64 |
| 3.2.1.4.3 | Globuline | 64 |
| 3.2.1.4.4 | Fibrinogen | 65 |
| 3.2.2 | AUSWERTUNG DER SERUMPROTEINELEKTROPHORESEN | 66 |
| 3.2.2.1 | Einteilung der Fraktionen | 66 |
| 3.2.2.2 | Beispiele für veränderte Elektropherogramme | 69 |
| 3.2.2.3 | Gruppenunterschiede bezüglich der elektrophoretisch bestimmten Parameter | 76 |
| 3.2.2.3.1 | Albumin | 76 |
| 3.2.2.3.2 | Gesamtglobuline | 76 |
| 3.2.2.3.3 | Einzelfraktionen | 77 |
| 3.2.3 | LAGERUNG VON SEREN | 79 |
| 3.2.4 | ÜBERPRÜFUNG DER TESTSICHERHEIT | 81 |

| | | |
|------------|--|-----|
| 4. | <u>DISKUSSION</u> | 84 |
| 4.1 | DISKUSSION DER METHODIK | 84 |
| 4.1.1 | PATIENTENMATERIAL UND GRUPPENEINTEILUNG | 84 |
| 4.1.2 | LABORDIAGNOSTIK | 85 |
| 4.1.2.1 | Routineuntersuchungen | 85 |
| 4.1.2.1.1 | Blutsenkungsreaktion (BSR) | 85 |
| 4.1.2.1.2 | Fibrinogen | 86 |
| 4.1.2.2 | Serumproteinelektrophorese (SPE) | 86 |
| 4.2 | DISKUSSION DER ERGEBNISSE | 87 |
| 4.2.1 | ROUTINEBESTIMMUNGEN | 87 |
| 4.2.1.1 | Leukozyten | 87 |
| 4.2.1.2 | Blutsenkungsreaktion (BSR) | 90 |
| 4.2.1.2.1 | Prüfung von Einflussfaktoren auf die BSR | 91 |
| 4.2.1.3 | Proteine | 96 |
| 4.2.1.3.1 | Gesamteiweiß | 96 |
| 4.2.1.3.2 | Albumin | 97 |
| 4.2.1.3.3 | Globuline | 97 |
| 4.2.1.3.4 | Fibrinogen | 98 |
| 4.2.2 | SERUMPROTEINELEKTROPHORESE (SPE) | 100 |
| 4.2.2.1 | Einteilung der Fraktionen | 100 |
| 4.2.2.2 | Veränderungen der Proteinfractionen | 101 |
| 4.2.2.2.1 | Albumin | 101 |
| 4.2.2.2.2 | a-Globuline | 102 |
| 4.2.2.2.3 | b-Globuline | 102 |
| 4.2.2.2.4 | g-Globuline | 103 |
| 4.2.3 | LAGERUNG VON SEREN | 104 |
| 4.2.4 | TESTSICHERHEIT | 105 |
| 5. | <u>ZUSAMMENFASSUNG</u> | 107 |
| 6. | <u>SUMMARY</u> | 110 |
| 7. | <u>LITERATURVERZEICHNIS</u> | 112 |
| 8. | <u>ANHANG</u> | -1- |
| 8.1 | TABELLENVERZEICHNIS | -1- |
| 8.1.1 | TABELLEN IM TEXT | -1- |
| 8.1.2 | TABELLEN IM ANHANG | -1- |

| | | |
|------------|------------------------------|------------|
| 8.2 | ABBILDUNGSVERZEICHNIS | -2- |
| 8.3 | ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS | -4- |

1. EINLEITUNG

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

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

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

2. SCHRIFTTUM

2.1 DIE AKUT-PHASE-REAKTION DER ENTZÜNDUNG

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

2.1.1 LOKALE REAKTIONEN

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

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

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

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

2.1.2 SYSTEMISCHE REAKTIONEN

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Nach Wissen der Autorin wurden bisher keine Untersuchungen über Zytokinproduzierende Plasmazellen beim Pferd durchgeführt.

2.2 HÄMATOLOGISCHE REAKTIONEN BEI ENTZÜNDLICHEN PROZESSEN BEIM PFERD

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

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

2.2.1 ZELLULÄRE REAKTIONEN

2.2.1.1 Blutsenkungsreaktion (BSR)

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

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

2.2.1.1.1 Methodik und Referenzbereiche

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

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

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

a = Senkung nach 30 Minuten b = Senkung nach 60 Minuten

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

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

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

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

2.2.1.1.2 Einflussfaktoren auf die BSR

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

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

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

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

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

Für Albumin berechnete er eine negative Korrelation zur BSR.

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

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

2.2.1.1.3 Einsatzmöglichkeiten der BSR in der Diagnostik

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

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

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

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

SR/10 = durchschnittliche Senkungsrate nach 10 Minuten

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

2.2.1.2 Leukozyten

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

2.2.1.2.1 Physiologie

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

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

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

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

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

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

2.2.1.2.2 Einflussfaktoren auf die Verteilung im Gefäßsystem

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

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

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

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

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

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

2.2.1.2.3 Referenzbereiche

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

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

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

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

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

WBC = Gesamtleukozytenzahl

¹ = Spannbreite

k.A. = keine Angabe

MVK I = Medizinische und Gerichtliche Veterinärklinik I, Gießen

Segm = segmentkernige Neutrophile

Stabk = stabkernige Neutrophile

Lymph = Lymphozyten

Mono = Monozyten

Eos = Eosinophile Granulozyten

Baso = Basophile Granulozyten

2.2.1.2.4 Leukozytenveränderungen im Blut bei entzündlichen Prozessen

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

- *Gesamtleukozyten und neutrophile Granulozyten*

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

- Lymphozyten und Monozyten

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

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

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

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

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

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

2.2.2 REAKTIONEN DER EIWEISSFRAKTIONEN

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

2.2.2.1 Albumin

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

2.2.2.2 Globuline

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

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

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

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

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

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

2.2.2.3 Akut-Phase-Proteine (APP)

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

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

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

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

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

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

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

2.2.2.3.1 Fibrinogen

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

2.2.2.3.2 Serum Amyloid A (SAA)

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

2.2.2.3.3 α_1 -saures Glykoprotein (Orosomukoid)

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

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

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

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

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

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

2.2.2.3.4 C-reaktives Protein (CRP)

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

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

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

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

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

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

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

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

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

2.2.2.3.5 Haptoglobin (Hp)

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

2.2.2.3.6 Ceruloplasmin (Cp)

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

Equines Cp ist ein Glykoprotein und wandert in der Elektrophorese in der a_1 -Fraktion (OKUMURA et al. 1991). Hierbei unterscheidet es sich von menschlichem Cp, welches in der a_2 -Fraktion wandert. Zu berücksichtigen ist hier, dass die Einteilung der α -Globuline beim Pferd bei verschiedenen Autoren sehr unterschiedlich ist (siehe auch Kap. 2.3.2.2.1; S. 47). Die Halbwertszeit von Cp beträgt bei Tieren etwa 4 Tage (JAIN 1993b).

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

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

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

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

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

2.2.2.3.7 α_2 -Makroglobulin (α_2 M)

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

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

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

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

Nach Wissen der Autorin liegen keine Untersuchungen über die Bestimmung von a₂M nach induzierter Entzündung beim Pferd vor.

2.2.2.3.8 Transferrin (Tr)

Transferrin (Tr) ist ein Glykoprotein, wird in der Leber synthetisiert und ist als einziges Protein im Blut in der Lage, Eisen zu transportieren. Jedes Tr-Molekül kann zwei Eisenionen (Fe³⁺) binden. Dadurch steht Eisen für Wachstum und Vermehrung von Bakterien nicht zur Verfügung (AUER et al. 1989). In der Regel ist ein Drittel des Serum-Tr mit Eisen gesättigt. Die Plasmahalbwertszeit von Tr beträgt 8 bis 10 Tage (JAIN 1993b). In der Elektrophorese wandert equines Tr in der b₁-Fraktion (MAKIMURA et al. 1975). MATTHEWS (1982) beschrieb zwei verschiedene Phänotypen des Tr, einer in der b₁- und einer in der b₂-Fraktion. Ebenso wie das Albumin wird das Tr auch als „negatives“ APP bezeichnet, dessen Konzentration im Verlauf der Akut-Phase-Reaktion abnimmt (PATTERSON et al. 1988).

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

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

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

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

2.2.2.3.9 Tabellarische Übersicht

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

Tab. 3: Zusammenstellung wichtiger Charakteristika ausgewählter APP beim Pferd

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

d = Tage

Frakt. = Fraktion in der Elektrophorese

Elektroimm.assay = Elektroimmunoassay

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

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

h = Stunden

post St. = nach Stimulation

Imm.turb.metrie = Immun-Turbidimetrie

Immunelektroph. = Immunelektrophorese

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

2.3 DIFFERENZIERUNG DER SERUMPROTEINE MITTELS ELEKTROPHORESE

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

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

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

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

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

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

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

2.3.1 Die konventionelle Elektrophorese

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

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

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

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

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

2.3.1.1 Zellulose-Azetat-Folie

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

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

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

2.3.1.2 Agarose-Gel

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

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

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

2.3.2 Die Auswertung der Träger

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

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

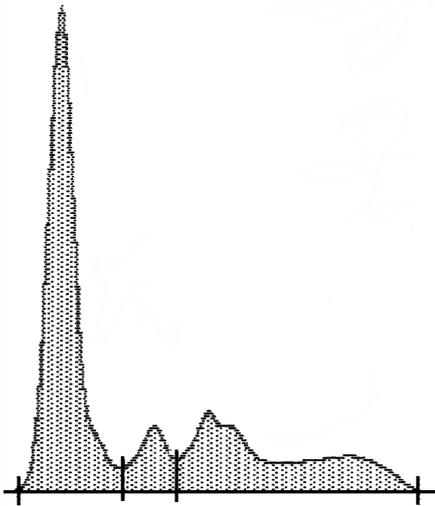


Abb 1a: „Drop-line“-Verfahren

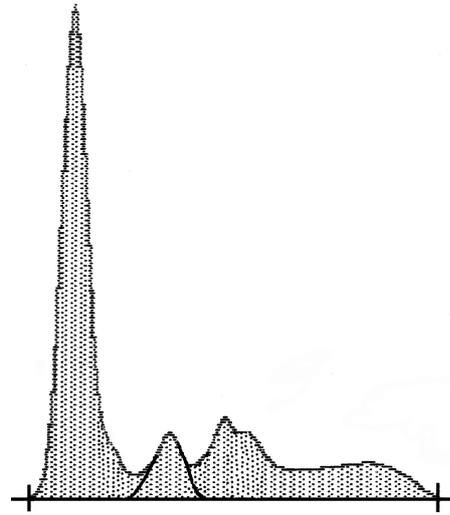


Abb 1b: Gaußsche Näherung

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

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

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

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

möglichen Einfluss kann die Rasse haben, KIRK et al. (1975) zeigten, dass a_3 - und b_2 -Fraktionen bei Ponies eine höhere Konzentration besaßen, als bei Pferden.

2.3.2.1 Albumin

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

Beim Pferd stellt sich der Albumin-Peak häufig nicht symmetrisch dar. Verschiedene Autoren beschrieben an der kathodalen Seite eine sogenannte „Schulter“, unabhängig von der von ihnen verwendeten Elektrophoresemethodik (BIERER 1969, MASSIP und FUMIÈRE 1974, KIRK et al. 1975, KRISTENSEN und FIRTH 1977, BIAGI 1980, KANEKO 1980, KEAY und DOXEY 1981, MATTHEWS 1982). Da keine Angaben über eine Heterogenität von Albumin vorliegen, muss es sich hierbei um eine Überlappung mit der Proteinbande eines Globulins handeln (KRISTENSEN und FIRTH 1977). KRISTENSEN und FIRTH (1977) gaben an, dass die Schulter ausnahmslos vorhanden war. Auch KANEKO (1980) beschrieb das Vorhandensein dieser Schulter, die prominenter wurde, wenn die Konzentration an Albumin abnahm oder wenn eine akute Entzündung vorlag. Trotzdem wurde sie von ihm dem Albumin zugerechnet. Bei den übrigen Autoren wurde sie als a_1 -Globulin bezeichnet.

2.3.2.2 Globuline

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

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

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

2.3.2.2.1 α -Globuline

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

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

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

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

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

2.3.2.2.2 β -Globuline

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

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

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

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

2.3.2.2.3 g-Globuline

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

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

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

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

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

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

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

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

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

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1 MATERIAL UND METHODEN

3.1.1 PATIENTENMATERIAL

Um Zusammenhänge zwischen ausgewählten Entzündungsparametern im Pferdeblut zu untersuchen, wurden retrospektiv Blutuntersuchungen ausgewertet. Die Blutproben stammten von Pferden, die von Januar 1997 bis September 1999 in der Medizinischen und Gerichtlichen Veterinärklinik I (MVK I), Professur für Innere Krankheiten des Pferdes, der Justus-Liebig-Universität Gießen zur stationären Behandlung vorgestellt wurden. Für die vorliegenden Untersuchungen wurde je Patient eine Probe untersucht. Ausgewertet wurden bei allen Pferden folgende Parameter: Gesamtleukozytenzahl, Differentialzellbild, Blutsenkungsreaktion, Hämatokrit, Fibrinogen, Gesamteiweiß, Albumin und Globuline.

Zusätzlich wurde bei einem Teil dieser Patienten (von denen Serum verfügbar war) eine Serumproteinelektrophorese (SPE) durchgeführt.

3.1.2 EINTEILUNG DER PATIENTEN IN GRUPPEN

Das vorhandene Patientenmaterial wurde in drei Gruppen eingeteilt.

Ausgeschlossen wurden Patienten, bei denen nicht alle benötigten Parameter der labordiagnostischen Blutuntersuchungen vorlagen. Ausgeschlossen wurden weiter Patienten, bei denen keine eindeutige Diagnose gestellt werden konnte, bzw. deren Erkrankung eine Einteilung in eine der drei vorgegebenen Gruppen nicht zuließ.

Die Einteilung in die drei Gruppen erfolgte nach folgenden Kriterien:

Bei **Gruppe 1** handelt es sich um die Kontrollgruppe. Die Tiere zeigten zum Zeitpunkt der Blutentnahme ein ungestörtes Allgemeinbefinden, keine erhöhte Körperinnentemperatur und die klinische Untersuchung ergab keinerlei Hinweis auf eine entzündliche Erkrankung. In dieser Gruppe befinden sich vor allem Pferde, die in o.g. Klinik ein bis drei Tage vor der Blutentnahme wegen Koliksymptomatik vorgestellt wurden.

Die Patienten der **Gruppe 2** zeigten eine mittel- bis höchstgradige Störung des Allgemeinbefindens, die mit und ohne Fieber einherging. Die klinische Untersuchung der Tiere ergab Anzeichen für das Vorliegen einer entzündlichen Erkrankung. Die Dauer der Erkrankung bei Vorstellung lag zwischen einem Tag und vier Wochen.

In **Gruppe 3** befinden sich die Pferde, bei denen klinisch eine COB (chronisch obstruktive Bronchitis) diagnostiziert wurde.

500 Pferde konnten einer dieser Gruppen zugeteilt werden. 300 Tiere befinden sich in Gruppe 1, in Gruppe 2 wurden 107 Pferde eingeordnet, auf die Gruppe 3 entfielen 93 Pferde. Innerhalb der Gruppen 1 und 2 wurden zusätzlich Sensitivität und Spezifität für folgende Parameter berechnet: Gesamtleukozyten, Fibrinogen, Gesamteiweiß und Albumin (siehe Kap. 3.2.4; S. 81 ff.). Die Verteilung der 500 Patienten in unterschiedliche Rassen, Alter und Geschlecht der Tiere ist der Tabelle 4 zu entnehmen.

Tab. 4: Rasse, Alter und Geschlecht der Patienten

| Rasse | gesamt (n) | Wallach (n) | Stute (n) | Hengst (n) | Alter² ($\bar{x} \pm s$) | SPE³ (n) |
|--------------------------|----------------------|-----------------------|---------------------|----------------------|---|-------------------------------|
| Warmblut | 360 | 175 | 161 | 24 | 9,7 ± 5,4 | 251 |
| Kleinpferde ¹ | 96 | 47 | 44 | 5 | 9,3 ± 5,8 | 62 |
| Vollblut | 22 | 5 | 13 | 4 | 9,4 ± 5,2 | 14 |
| Araber | 11 | 2 | 8 | 1 | 7,6 ± 5,5 | 7 |
| Kaltblut | 11 | 4 | 3 | 4 | 5,3 ± 3,6 | 7 |
| gesamt | 500 | 233 | 229 | 38 | 9,5 ± 5,5 | 341 |

¹ = Gruppe umfasst: Isländer, Haflinger, Reitponys, Norweger, Shetlandponies

² = In Jahren

³ = durchgeführte Serumproteinelektrophoresen

3.1.3 LABORDIAGNOSTISCHE BLUTUNTERSUCHUNGEN

3.1.3.1 Blutentnahme und Bearbeitung der Proben

Die Blutentnahme erfolgte durch Punktion der Vena jugularis externa bzw. Entnahme über einen in der Vene liegenden Verweilkatheter. Hierbei wurden heparinisierte Kunststoffröhrchen, Glasröhrchen ohne gerinnungshemmenden Zusatz und Glasröhrchen mit Zusatz von Natriumzitrat direkt befüllt. Die Blutuntersuchungen mit Ausnahme der Elektrophorese wurden von routiniertem Personal im Labor der MVK I durchgeführt. Die Elektrophoresen wurden von der Autorin selbst durchgeführt.

Zellzahlmessung, Anfertigung eines Blutausstriches, Bestimmung der Blutsenkungsreaktion und Plasmagewinnung erfolgten innerhalb von 2 Stunden nach Blutentnahme. Messungen aus dem Plasma erfolgten innerhalb von 4 Stunden. Serumproben wurden innerhalb von 6 Stunden durch Zentrifugation bei 1400 g für 20 Minuten gewonnen, in Eppendorfgefäße abgefüllt und anschließend bis zur weiteren Verwendung bei -18 °C gelagert.

3.1.3.2 Routinebestimmungen

Im Rahmen der Routinebestimmungen erfolgte die Messung folgender Parameter: Leukozytengesamtzahl, Differentialzellbild, Blutsenkungsreaktion, Hämatokrit, Gesamteiweiß, Albumin, Globuline und Fibrinogen.

Die Blutsenkungsreaktion wurde mit der Standzylindermethode durchgeführt. In einem 10 ml Glasröhrchen (Durchmesser 1cm) wurden 2 ml Natriumzitrat (3,8 %ig) vorgelegt. Anschließend wurde das Röhrchen während der Venenpunktion direkt mit 8 ml Vollblut aufgefüllt und durch vorsichtiges vertikales Schwenken vermischt. Senkungswerte in Millimetern wurden nach 30 Minuten unmittelbar an der Skala des Röhrchens abgelesen. Diese Skala ist so kalibriert, dass 0,1 ml Volumen einer Senkungsstrecke von 1 mm entspricht.

Die Hämatokritmessung wurde mit Hilfe einer Mikrohämatokritzentrifuge (Hettich, Tuttlingen) durchgeführt.

Die Bestimmung der Leukozytengesamtzahl erfolgte durch den Microcellcounter F 800 (Sysmex, Hamburg). Das Differentialzellbild der Leukozyten wurde manuell durch Auszählen von 100 Zellen im Pappenheim-gefärbten Ausstrich erstellt.

Die Fibrinogenkonzentration des Blutes wurde mit dem Testsystem Multifibren[®] (Dade Behring Marburg GmbH, Marburg) ermittelt. Dieses Testsystem bestimmt den Gehalt an Fibrinogen mit der Methode nach Clauss.

Mit Hilfe des Cobas Mira plus (Roche Diagnostika, Grenzach) wurden Gesamteiweiß- (GE) und Albumingehalt im Blutplasma bestimmt (GE mittels Biuret, Albumin durch Bromcresolgrün). Die Konzentration an Globulinen im Plasma wurde durch Subtraktion der Albumin- von der GE-konzentration berechnet.

3.1.3.3 Serumproteinelektrophorese (SPE)

Eine Elektrophorese wurde bei 341 der 500 Patienten, von denen Serum verfügbar war, von der Autorin durchgeführt. Hierbei wurden 202 Pferde der Gruppe 1, 76 Pferde der Gruppe 2 und 63 Pferde der Gruppe 3 untersucht.

Die für die Elektrophorese verwendeten Serumproben wurden bis zur Analyse bei -18°C gelagert. Die Lagerungsdauer betrug 4 Wochen bis 1,5 Jahre. Für die Bestimmung wurden die Proben bei Zimmertemperatur aufgetaut, durch vorsichtiges Schwenken gründlich gemischt und anschließend für 30 Sekunden bei 1500 g zentrifugiert. Für die SPE wurde der Überstand verwendet.

Die Elektrophorese erfolgte durch das Elektrophoresesystem Paragon[®] (Beckman Instruments, USA). Verwendet wurde das hochauflösende Agarosegel SPE-II (1% Agarose, 1,2% Tris Barbitol-Aspartat-Puffer) des Herstellers. 50 µl jeder Serumprobe wurden im Verhältnis 1:4 mit 200 µl des mitgelieferten B 2-Barbitolpuffers (pH 8,6; 0,075 M) vermischt. Die Laufzeit betrug 25 Minuten bei einer Stromstärke von 100 Volt und einem pH-Wert von 8,6. Die Gele wurden nach Angabe des Herstellers fixiert, getrocknet und mit Paragon[®]-Blau (0,5% Aminonaphtol-Schwefelsäure) gefärbt.

Die Auswertung der Gele wurde mittels Appraise[®]-Densitometer (Beckman Instruments, USA) bei einer Wellenlänge von 600 nm durchgeführt. Die Einteilung der Einzelaktionen erfolgt bei dem Gerät nach der „Drop-line“-Methode (siehe 2.3.2). Die Begrenzungen sind beliebig zu setzen, das Gerät berechnet die entsprechende Fläche in dem abgegrenzten Bereich in Prozent der Gesamtfläche, wobei diese dem Gehalt an

Gesamteiweiß im Serum entspricht. Es wurde in 6 Fraktionen unterteilt: Albumin, α_1 -, α_2 -, β_1 -, β_2 - und γ -Globuline, wobei die „Schulter“ an der kathodalen Seite des Albumin zu den α_1 -Globulinen gezählt wurde. Grundlage für die Berechnung der absoluten Werte der Einzelfraktionen waren die unmittelbar nach Probenentnahme ermittelten Werte des Gehaltes an Gesamteiweiß. Da diese Werte im Plasma gemessen wurden, wurden von ihnen jeweils die ermittelte Menge an Fibrinogen, welches im Serum nicht enthalten ist, subtrahiert.

Um eine möglichst objektive Bewertung der Elektropherogramme zu erreichen, wurden sämtliche Auswertungen von der Autorin innerhalb von zwei Tagen durchgeführt.

Zudem erfolgten die Auswertungen anonym, d.h. Besitzer- und Pferdenamen waren zum Zeitpunkt der Auswertung durch einen Zahlencode ersetzt, ebenso war der Autorin nicht bekannt, welcher der drei Gruppen der Patient zugeordnet worden war.

3.1.3.4. Lagerungsversuch von Seren

Für die Ermittlung absoluter Konzentrationen der Eiweißfraktionen aus den prozentualen Werten des Elektropherogramms wird die Konzentration an Gesamteiweiß im Serum benötigt. Da die Serumproteinelektrophoresen (SPE) nach unterschiedlicher Lagerungsdauer der Serumproben bei -18°C durchgeführt wurden, schien es notwendig zu überprüfen, ob die Bestimmung v.a. des Gesamteiweiß- aber auch des Albumingehaltes von der Lagerung beeinflusst wird.

Hierfür wurden von 8 klinisch unauffälligen Pferden (6 Warmblüter, 2 Kaltblüter; 4 Stuten, 2 Wallache, 2 Hengste; 3,5 bis 18 Jahre) nach oben genannter Methode Serumproben gewonnen. In diesen Proben wurden Gesamteiweiß- und Albumingehalt direkt gemessen und Serumproteinelektrophoresen durchgeführt. Das Serum wurde anschließend in mit einer Gummidichtung versehene Schraubdeckelgefäße aliquotiert, so dass für jede Folgeuntersuchung ein eigenes Probenvolumen zur Verfügung stand, und bei -18°C gelagert. Erneute Messungen erfolgten eine und vier Wochen nach Serumgewinnung sowie in der Folge zweimal im Abstand von 5 Wochen.

3.1.4 STATISTISCHE METHODIK

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit Hilfe des Statistikprogrammpaketes BMDP/Dynamic, Release 7.0 (DIXON 1993) auf den Rechnern der Arbeitsgruppe Biomathematik und Datenverarbeitung des Fachbereiches Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen. Die graphischen Darstellungen und Tabellen wurden mit Hilfe der Programme Excel[®] (Version 7.0) bzw. Word[®] (Version 7.0) der Firma Microsoft (USA) erstellt.

Zur Datenbeschreibung wurden mittels des Programmes BMDP1D arithmetische Mittelwerte (\bar{x}), Standardabweichungen (s), Minima (x_{\min}), Maxima (x_{\max}) und Stichprobenumfänge (n) berechnet und tabellarisch wiedergegeben. Mit dem Programm BMDP2D wurden die Daten auf ihre Normalverteilung überprüft, bei rechtsschiefer Verteilung positiver quantitativer Merkmale wurde eine logarithmische Transformation der Daten durchgeführt. Hierbei wurden Nullwerte durch den halben Wert der unteren Nachweisgrenze ersetzt, da das Logarithmieren der Null nicht möglich ist. Die Datenbeschreibung wurde dann durch geometrische Mittelwerte (\bar{x}_g) und Streufaktoren (SF) vorgenommen. Die Darstellung der Streufaktoren erfolgte in der Form $\bar{x}_g \cdot SF^{\pm 1}$.

Zur statistischen Prüfung des Gruppeneinflusses auf Signifikanz wurde bei den angenähert normalverteilten Merkmalen eine dreifaktorielle Kovarianzanalyse ohne Wechselwirkungen mit dem Programm BMDP2V durchgeführt. Als Einflussfaktoren wurden die Variablen Gruppe, Geschlecht und Rasse (qualitativ) sowie das Alter (quantitative Kontrollvariable) überprüft. Bei signifikantem Resultat wurde anschließend ein paarweiser Gruppenvergleich (zwischen Gruppe 1 und 2 bzw. 1 und 3) mit demselben Verfahren durchgeführt. Bei den paarweisen Gruppenvergleichen wurde für den α -Fehler eine Adjustierung nach Bonferroni vorgenommen. In den graphischen und tabellarischen Darstellungen der Daten finden sich die rohen Mittelwerte, welches die teilweisen hohen Streuungswerte erklären kann.

Es wurden folgende Benennungen der Signifikanzen verwendet:

| | | |
|----------------|--------------------------|------------------------------------|
| $p \leq 0,001$ | : hoch signifikant | (in Tabellen und Abbildungen: ***) |
| $p \leq 0,01$ | : signifikant | (in Tabellen und Abbildungen: **) |
| $p \leq 0,05$ | : schwach signifikant | (in Tabellen und Abbildungen: *) |
| $p > 0,05$ | : nicht signifikant (ns) | (in Tabellen und Abbildungen: ns) |

Die Untersuchung der Zusammenhänge erfolgte bei den quantitativen Merkmalen mit Hilfe von Korrelationsanalysen durch das Programm BMDP6D. Die Angabe der Zusammenhänge erfolgte durch den Korrelationskoeffizienten (r). Bei der Benennung von Signifikanzen wurden o.g. Bezeichnungen verwendet.

3.2 **ERGEBNISSE**

3.2.1 AUSWERTUNG DER ROUTINEBESTIMMUNGEN

Im Folgenden werden die Ergebnisse der Routinebestimmungen (Leukozytengesamtzahl, Differentialblutzellbild, Blutsenkungsreaktion, Hämatokrit, Gesamteiweiß, Albumin, Globuline und Fibrinogen) aufgeführt und besprochen.

Eine tabellarische Übersicht aller Mittelwerte und Standardabweichungen/Streufaktoren der Routinebestimmungen ist im Anhang (Tab. I) aufgeführt.

3.2.1.1 Leukozyten

Von allen Patienten wurden folgende Parameter ausgewertet: Anzahl der Gesamtleukozyten, Lymphozyten, Monozyten, segmentkernigen und stabkernigen neutrophile Granulozyten.

Eine Übersicht der geometrischen Mittelwerte (\bar{x}_g) und Streufaktoren (SF) ist in Tabelle 5 aufgeführt.

Bei den Werten können keine für den Kliniker relevanten Unterschiede zwischen den drei Gruppen ermittelt werden.

Zur Überprüfung von Zusammenhängen wurden Korrelationsfaktoren (KF) zwischen den Gesamtleukozyten und folgenden Parametern bestimmt: Gesamteiweiß in Serum und Plasma (direkt bestimmt), Albumin (direkt und mit SPE bestimmt), Globuline (direkt und mit SPE bestimmt) sowie Globulinfraktionen. Hierbei wurden alle Patienten einbezogen.

Klinisch relevante Korrelationsfaktoren ($r > 0,5$ bzw. $r < -0,5$) wurden nicht gefunden.

Eine tabellarische Übersicht der einzelnen Werte ist im Anhang (Tab. II) aufgeführt.

Tab. 5: Mittelwerte (\bar{x}_g) und Streufaktoren (SF) der Leukozytenzahlen

| Parameter | Einheit | Gruppe | \bar{x}_g | SF |
|---|-----------------|--------|-------------|------|
| Gesamt- Leukozyten | $\times 10^9/l$ | 1 | 7,86 | 1,27 |
| | | 2 | 9,40 | 1,63 |
| | | 3 | 9,08 | 1,28 |
| Lymphozyten | $\times 10^9/l$ | 1 | 2,27 | 1,56 |
| | | 2 | 2,52 | 1,75 |
| | | 3 | 2,76 | 1,48 |
| Monozyten | $\times 10^9/l$ | 1 | 0,05 | 3,48 |
| | | 2 | 0,07 | 4,10 |
| | | 3 | 0,07 | 4,06 |
| segmentkernige neutrophile Granulozyten | $\times 10^9/l$ | 1 | 5,03 | 1,43 |
| | | 2 | 5,61 | 2,19 |
| | | 3 | 5,59 | 1,44 |
| stabkernige neutrophile Granulozyten | $\times 10^9/l$ | 1 | 0,16 | 1,19 |
| | | 2 | 0,19 | 1,62 |
| | | 3 | 0,16 | 1,29 |

Gruppe 1 = Kontrollgruppe

Gruppe 2 = Entzündungsgruppe

Gruppe 3 = Pferde mit COB

3.2.1.2 Blutsenkungsreaktion (BSR)

Abbildung 2 zeigt die Mittelwerte und Standardabweichungen der BSR der drei Gruppen. Gruppe 1 ($37,5 \pm 14,6$ mm/30min) und Gruppe 3 ($36,0 \pm 13,9$ mm/30min) unterscheiden sich nicht. Der Mittelwert von Gruppe 2 liegt mit $51,5 \pm 20,3$ mm/30min statistisch signifikant höher.

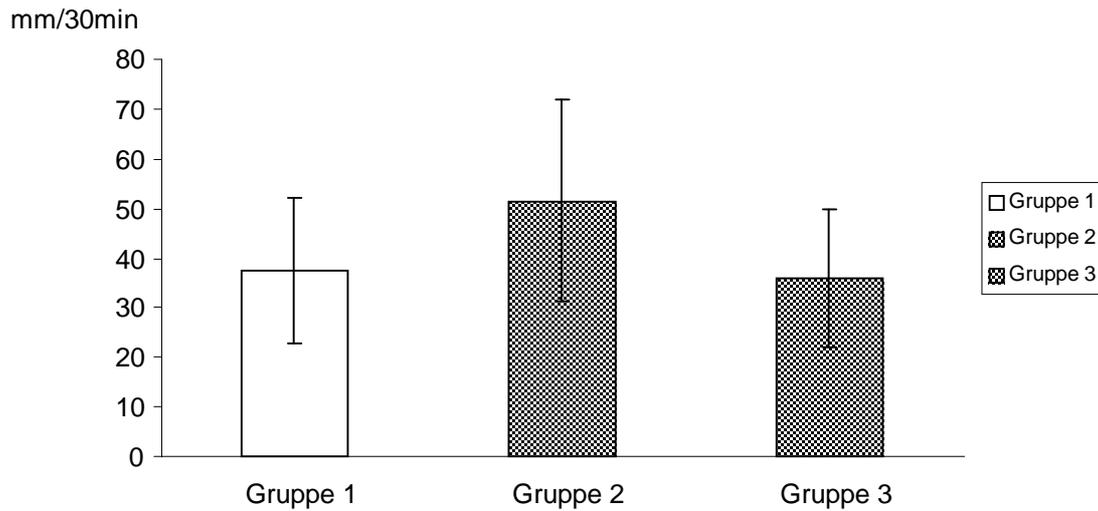


Abb. 2: Mittelwerte und Standardabweichungen ($\bar{x} \pm s$) der BSR

3.2.1.2.1 Einfluss der Rasse auf die BSR

Von HAMMERL (1982) wurde bei klinisch unauffälligen Pferden ein Einfluss der Rasse auf die Blutsenkungsreaktion (BSR) bei Durchführung der Standzylindermethode (und anderer Methoden) ermittelt. Dies wurde in der vorliegenden Untersuchung ebenfalls überprüft. Hierbei wurden nur die Patienten der Kontrollgruppe (Gruppe 1) einbezogen, um erkrankungsbedingte Ursachen als Einflussfaktoren auszuschließen.

Abbildung 3 zeigt Mittelwerte und Standardabweichungen der BSR unterschieden nach Rassen. Es lassen sich keine für den Kliniker relevante Unterschiede aufgrund verschiedener Rassen erkennen.

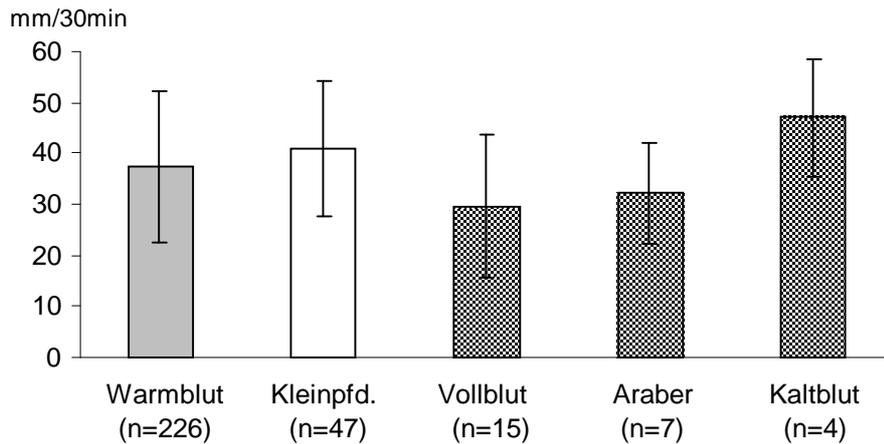


Abb. 3: Mittelwerte und Standardabweichungen ($\bar{x} \pm s$) der Blutsenkungsreaktion bei klinisch unauffälligen Pferden verschiedener Rassen

3.2.1.2.2 Zusammenhänge zwischen der BSR und ausgewählten Parametern

Von folgenden Parametern wurden Korrelationsfaktoren (KF) mit der BSR bestimmt, um mögliche Zusammenhänge aufzuzeigen: Hämatokrit, Gesamtleukozytenzahl, Gesamteiweiß in Serum und Plasma (direkt bestimmt), Fibrinogen, Albumin (direkt und mit SPE bestimmt), Globuline (direkt und mit SPE bestimmt) und Globulinfraktionen. Als mit Sicherheit nicht relevant wurden KF angesehen, bei denen $r < 0,5$ bzw. $r > -0,5$ waren. Aus diesem Grund werden im Folgenden nur KF von $r \geq 0,5$ bzw. $r \leq -0,5$ aufgeführt. Eine tabellarische Übersicht aller Korrelationsfaktoren ist im Anhang (Tab. III - V) aufgeführt.

Bei den Warmblütern ($n=360$ bzw. 251 bei SPE) ergeben sich für folgende Parameter in absteigender Folge statistisch signifikante Korrelationsfaktoren: Fibrinogen ($r= 0,62$) und Globuline ($r= 0,51$, direkt im Plasma gemessen).

Bei den Kleinpferden ($n=96$ bzw. 62 bei SPE) ergeben sich mehr möglicherweise klinisch relevante und statistisch signifikante Korrelationsfaktoren als bei den Warmblütern. In absteigender Reihenfolge trifft dies für folgende Parameter zu: Globuline ($r= 0,75$, durch SPE ermittelt und $r= 0,72$, direkt im Plasma gemessen), b-Globuline ($r= 0,68$), a-Globuline ($r= 0,64$), Gesamteiweiß in Plasma und Serum ($r= 0,63$ bzw. $r= 0,56$) und Fibrinogen ($r= 0,57$).

Die Gruppe der Vollblüter ist mit 22 Tieren (14 bei SPE) deutlich kleiner als die beiden vorherigen Gruppen. Gleichwohl sind auch hier mögliche klinisch relevante und statistisch signifikante Korrelationen zu berechnen, in absteigender Reihenfolge bei folgenden Parametern: Globuline ($r= 0,79$, durch SPE ermittelt), Fibrinogen ($r= 0,71$), b-Globuline ($r= 0,71$), Hämatokrit ($r= -0,65$), Gesamteiweiß in Plasma und Serum ($r= 0,63$ bzw. $r= 0,53$), Gesamtleukozyten ($r= 0,60$), a-Globuline ($r= 0,6$), Globuline ($r= 0,53$, direkt im Plasma gemessen) und Albumin ($r= -0,53$, durch SPE ermittelt).

Bei Arabern und Kaltblütern zeigen sich nur wenige klinisch eventuell relevante und statistisch signifikante Korrelationen der BSR mit den ausgewählten Parametern. Aufgrund der kleinen Anzahl an Patienten (je 7 Tiere pro Rasse) ließen sich keine statistisch signifikanten Korrelationen der BSR mit den elektrophoretisch ermittelten Fraktionen berechnen.

Bei den Arabern ($n=11$) bestehen unter Umständen klinisch relevante und statistisch signifikante Korrelationen zwischen der BSR und Fibrinogen ($r= 0,71$) und den im Plasma gemessenen Globulinen ($r= 0,73$).

Bei den Kaltblütern ($n=11$) finden sich möglicherweise relevante und statistisch signifikante Korrelationen zwischen der BSR und den Gesamtleukozyten ($r= 0,71$), dem Gesamteiweiß in Plasma und Serum ($r= 0,76$ bzw. $r= 0,65$) und den direkt im Plasma gemessenen Globulinen ($r= 0,71$).

3.2.1.3 Hämatokrit

Bei den Mittelwerten und Standardabweichungen des Hämatokrits ergeben sich keine für den Kliniker relevanten Unterschiede: $0,35\pm 0,04$ l/l für Gruppe 1, $0,34\pm 0,07$ l/l für Gruppe 2 und $0,38\pm 0,04$ l/l für Gruppe 3.

3.2.1.4 Proteine

Die Mittelwerte und Standardabweichungen/Streufaktoren der im Folgenden näher beschriebenen Proteinfractionen sind zur Übersicht in den Abbildungen 4, 5 und 6 dargestellt.

3.2.1.4.1 Gesamteiweiß (GE)

Die Mittelwerte der Konzentrationen des GE im Serum und Plasma zeigen keine als klinisch relevant zu wertenden Unterschiede zwischen den drei Gruppen (Abb. 4).

Im Serum ergeben sich folgende Mittelwerte und Standardabweichungen: $58,0 \pm 5,7$ g/l für Gruppe 1; $59,4 \pm 11,0$ g/l für Gruppe 2 und $59,0 \pm 4,8$ g/l für Gruppe 3.

Im Plasma liegen die Werte bei $60,7 \pm 5,8$ g/l für Gruppe 1, $63,8 \pm 11,2$ g/l für Gruppe 2 und $61,7 \pm 5,1$ g/l für Gruppe 3.

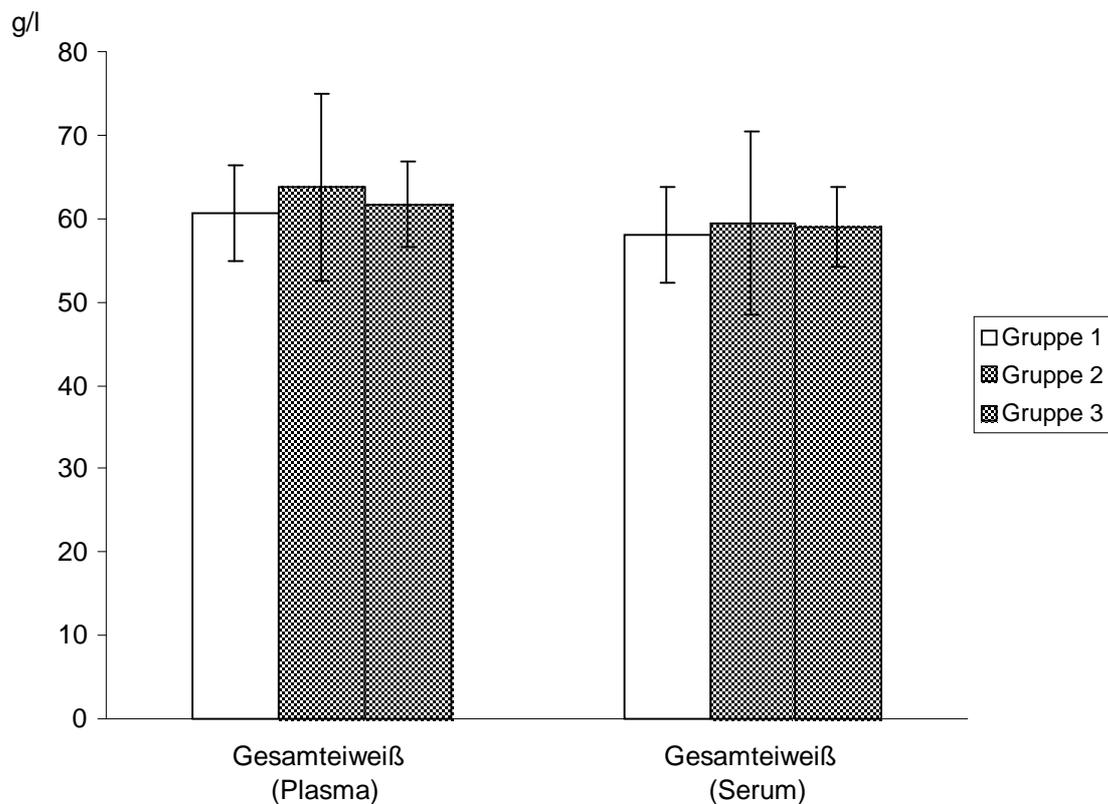


Abb. 4: Vergleich der Mittelwerte und Standardabweichungen ($\bar{x} \pm s$) der GE-konzentrationen der Gruppen 1 bis 3

3.2.1.4.2 Albumin

Im Vergleich der Gruppe 1 mit der Gruppe 3 finden sich bei den Mittelwerten und Standardabweichungen des direkt im Plasma bestimmten Albumins keine statistisch signifikanten Unterschiede. Die Werte betragen $33,7 \pm 3,3$ g/l für die Gruppe 1 und $33,7 \pm 2,9$ g/l für die Gruppe 3. Der Mittelwert der Gruppe 2 liegt trotz der größeren Standardabweichung mit $23,0 \pm 5,7$ g/l statistisch signifikant niedriger. Ein Vergleich der Werte von Gruppe 1 bis 3 ist in Abbildung 5 graphisch dargestellt.

3.2.1.4.3 Globuline

Auch bei den im Plasma errechneten Werten der Gesamtglobuline liegen die Mittelwerte und Streufaktoren der Gruppen 1 und 3 mit $26,4 \cdot 1,2^{\pm 1}$ g/l und $27,5 \cdot 1,2^{\pm 1}$ g/l im selben Bereich. Der Mittelwert der Gruppe 2 ist mit $32,1 \cdot 1,4^{\pm 1}$ g/l statistisch signifikant größer. Abbildung 5 zeigt den graphisch dargestellten Vergleich zwischen den Gruppen 1 bis 3.

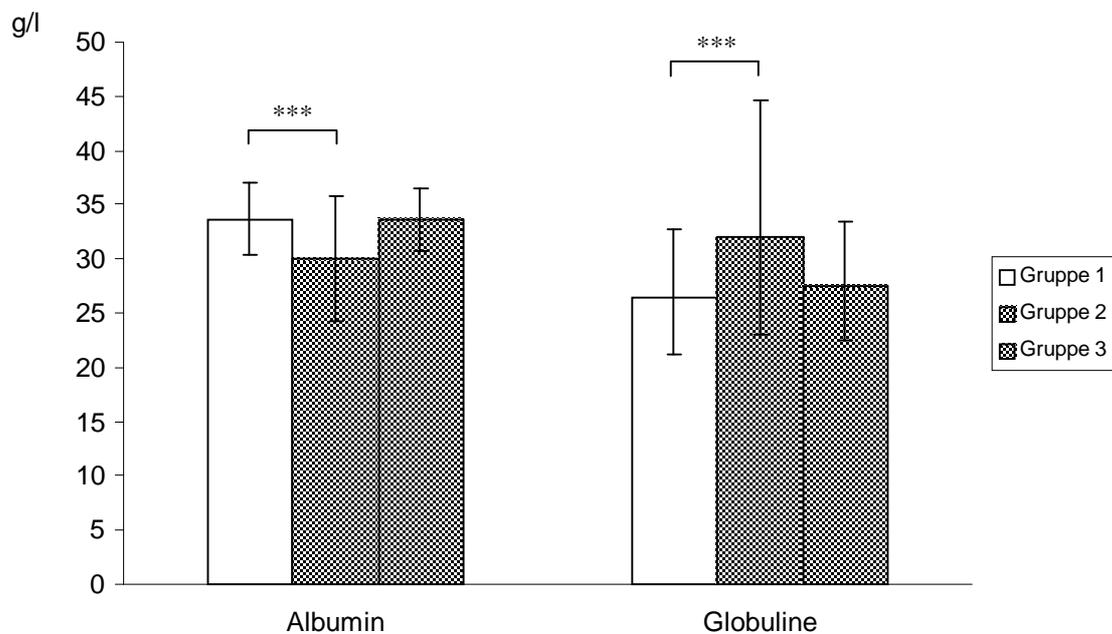


Abb. 5: Mittelwerte und Standardabweichungen/Streufaktoren von im Plasma gemessenem Albumin ($\bar{x} \pm s$) und Globulin ($\bar{x}_g \cdot SF^{\pm 1}$)

3.2.1.4.4 Fibrinogen

Ebenso wie bei den anderen Proteinen unterscheiden sich Mittelwerte und Streufaktoren des Fibrinogen zwischen Gruppe 1 ($2,5 \cdot 1,3^{\pm 1}$ g/l) und Gruppe 3 ($2,6 \cdot 1,3^{\pm 1}$ g/l) nicht voneinander. Der Mittelwert von Gruppe 2 liegt mit $4,0 \cdot 1,5^{\pm 1}$ g/l statistisch signifikant höher.

Die Werte sind zur besseren Übersicht in Abbildung 6 graphisch dargestellt.

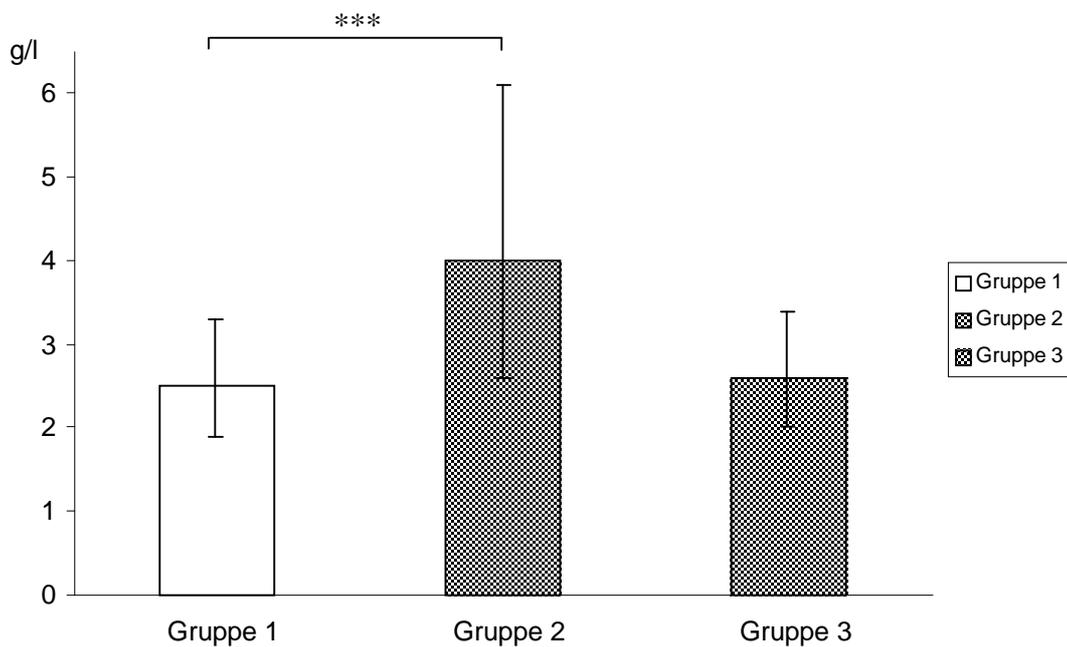


Abb. 6: Mittelwerte und Streufaktoren des Fibrinogens ($\bar{x}_g \cdot SF^{\pm 1}$)

Zwischen Fibrinogenkonzentration und folgenden Parametern wurden Korrelationsfaktoren berechnet: Gesamtleukozytenzahl, Gesamteiweiß in Serum und Plasma (direkt bestimmt), Albumin (direkt und mit SPE bestimmt), Globuline (direkt und mit SPE bestimmt) und Globulinfraktionen.

Für den Kliniker möglicherweise relevante und statistisch signifikante Korrelationen ergeben sich lediglich für die mittels SPE gemessenen absoluten Konzentrationen der a_{gesamt} -Globuline ($r=0,53$) und der a_2 -Globuline ($r=0,65$). Eine tabellarische Übersicht aller signifikanten Korrelationsfaktoren befindet sich im Anhang (Tab.VI).

3.2.2 AUSWERTUNG DER SERUMPROTEINELEKTROPHORESEN

Um eine möglichst objektive Beurteilung der Fraktionseinteilung zu ermöglichen, wurden die Elektropherogramme aller 341 Pferde anonym, d.h. ohne Angaben über Besitzer, Pferdenamen oder Gesundheitszustand, von der Autorin innerhalb von 2 Tagen ausgewertet.

3.2.2.1 Einteilung der Fraktionen

Abbildung 7 zeigt die in der vorliegenden Untersuchung durchgeführte Einteilung der Proteinfractionen anhand eines Elektropherogramms eines klinisch unauffälligen Pferdes. Die an der kathodalen Seite des Albuminpeaks vorhandene „Schulter“ (siehe auch 2.3.2.1) wurde den a_1 -Globulinen zugerechnet. Für dieses Beispiel ergaben sich folgende prozentuale Anteile der Proteinfractionen: Albumin 54,6 %, a-Globuline 13,6 % ($a_1=6,8$ bzw. $a_2=6,8$ %), b-Globuline 18,2 % ($b_1=9,1$ bzw. $b_2=9,1$ %) und g-Globuline 13,6 %.

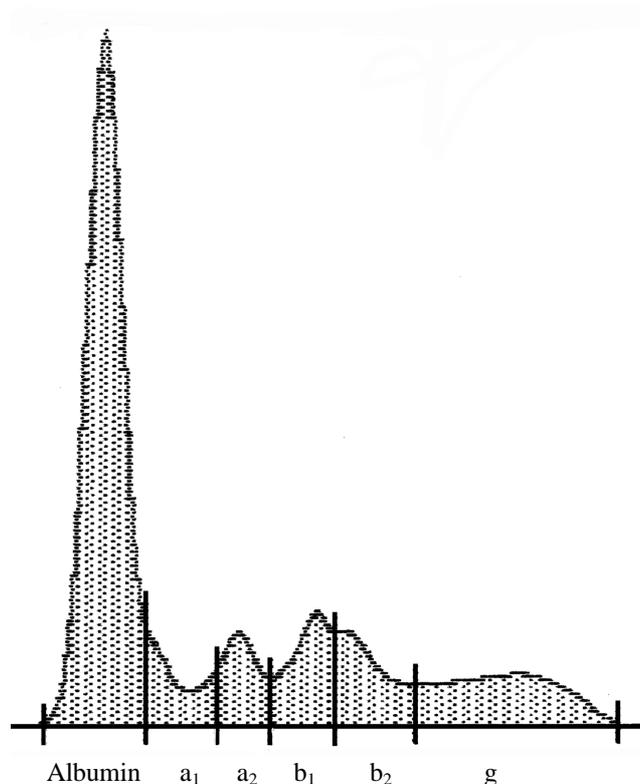


Abb. 7: Elektropherogramm eines klinisch unauffälligen Pferdes

Durch rechnerische Aufteilung des gemessenen Gesamteiweißes von 58,9 g/l ergeben sich folgende Absolutwerte der Fraktionen: Albumin 32,2 g/l, a-Globuline 8 g/l ($a_1=4$ bzw. $a_2=4$ g/l), b-Globuline 10,8 g/l ($b_1=5,4$ bzw. $b_2=5,4$ g/l) und g-Globuline 8 g/l.

Die „Schulter“ war eindeutig bei 272 der 341 Elektropherogramme zu erkennen, in den übrigen 69 Fällen war sie nur sehr geringgradig ausgeprägt, sodass eine eindeutige Unterscheidung in Albumin und a_1 -Globulin schwierig war. Gleichwohl wurde der Beginn der a_1 -Fraktion immer an den kathodalen Schenkel des Albuminpeaks gesetzt. Die geringe Ausprägung der „Schulter“ fand sich in allen drei Patientengruppen. Ein Beispiel für die undeutliche Ausprägung ist in Abbildung 8 zu sehen.

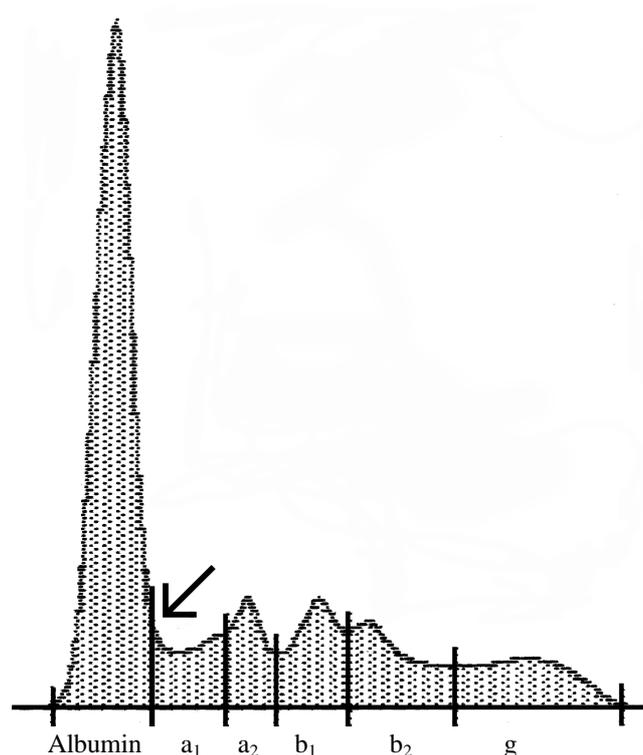


Abb. 8: Elektropherogramm mit undeutlich ausgeprägter Schulter am Albumin

Eine weitere Schwierigkeit zeigte sich in der Differenzierung der b_2 -Fraktion. Sie ließ sich bei 181 der 341 Elektropherogramme eindeutig differenzieren. Elektropherogramme mit undeutlicher b_2 -Fraktion fanden sich in allen drei Patientengruppen, jedoch deutlich seltener in der Gruppe 2. Ein Beispiel für eine schlecht ausgeprägte b_2 -Fraktion ist in Abbildung 9 zu sehen.

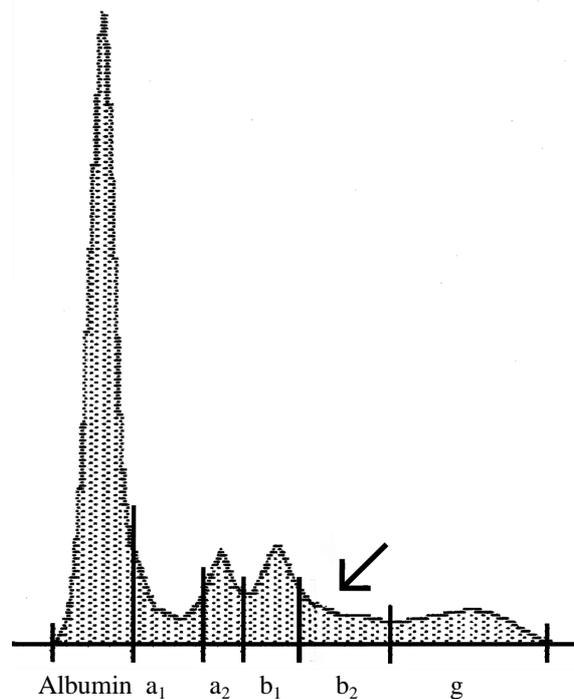


Abb. 9: Elektropherogramm mit undeutlich ausgeprägter b_2 -Fraktion

Insgesamt waren bei 28 der 341 Elektropherogramme sowohl „Schulter“ als auch b_2 -Fraktion schwierig zu differenzieren. Hierbei gehörten 20 Pferde zu Gruppe 1 und jeweils 4 Pferde zu Gruppe 2 bzw. 3. Es war kein Einfluss von Alter und/oder Geschlecht festzustellen. 24 der Pferde waren Warmblüter, 4 Pferde gehören zur Gruppe der Kleinpferde.

3.2.2.2 Beispiele für veränderte Elektropherogramme

Elektropherogramme mit besonders auffälligen Veränderungen des Kurvenverlaufs fanden sich ausschließlich in der Gruppe 2. Ein Vergleich der prozentualen und absoluten Aufteilung der Proteinfractionen aller folgenden 7 Beispiele ist in den Tabellen 6 und 7 (S. 74 und 75) aufgeführt.

Abbildung 10 zeigt das Elektropherogramm eines 1-jährigen Kleinpferdhengstes mit larvaler Cyathostominose. Das Gesamteiweiß betrug im Serum 70,2 g/l. Die elektrophoretisch ermittelte Albuminkonzentration ist mit 10,7 g/l deutlich erniedrigt. Die Konzentrationen der Globuline betragen: a-Globuline 14,4 g/l, b-Globuline 33,6 g/l und g-Globuline 11,5 g/l. Im Vergleich mit den Globulinkonzentrationen eines klinisch unauffälligen Pferdes (siehe 3.2.2.1) sind v.a. die Erhöhung der Konzentrationen der a- und b-Globuline auffallend.

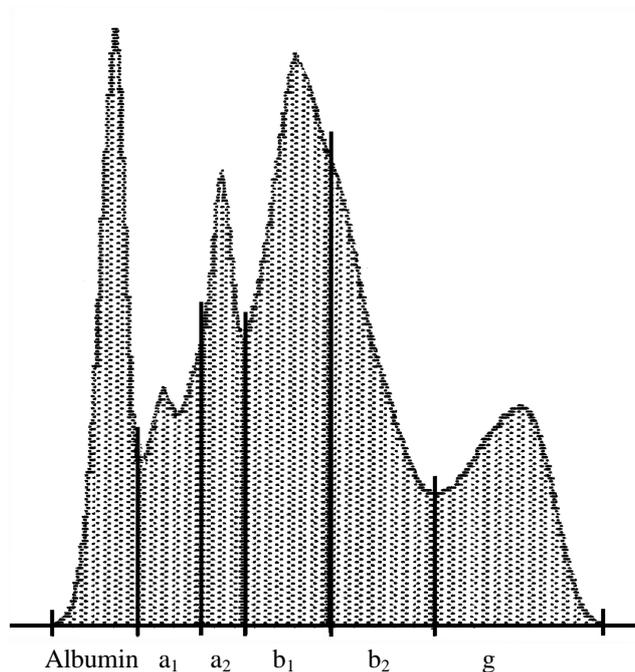


Abb. 10: Elektropherogramm eines Pferdes mit larvaler Cyathostominose

Abbildung 11 zeigt das Elektropherogramm einer 3-jährigen Kleinpferdstute mit akuter Enteritis unbekannter Ursache. Das Gesamteiweiß im Serum betrug 64,7 g/l. Wie im vorherigen Fall ist auch hier die Albuminkonzentration mit 19,8 g/l deutlich

herabgesetzt. Die Konzentrationen der Globuline betragen 13,0 g/l a-Globuline, 26,0 g/l b-Globuline und 5,8 g/l g-Globuline. Auch hier auffallend ist die deutliche Erhöhung der a- und b-Globuline.

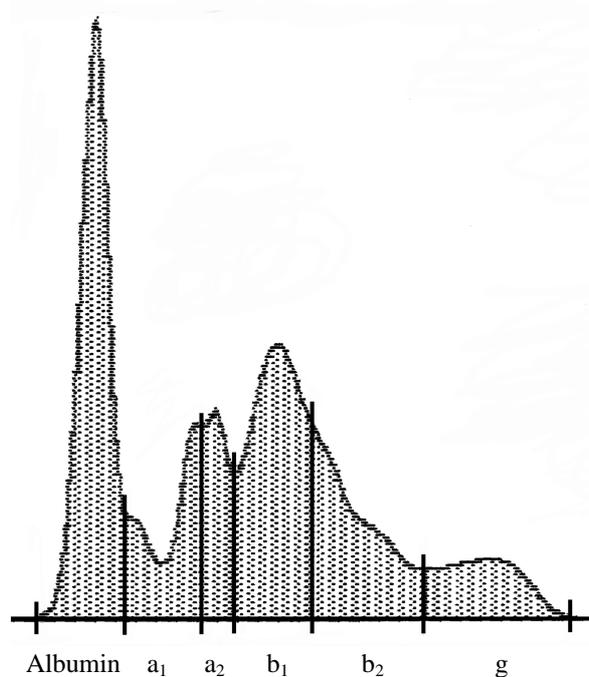


Abb. 11: Elektropherogramm eines Pferdes mit akuter Enteritis

Auch bakterielle Infektionen beispielsweise mit *Streptococcus equi* subsp. *equi* führen zu Veränderungen des Elektropherogramms beim Pferd. In den Abbildungen 12 und 13 sind die Elektropherogramme zweier Pferde aufgezeigt, bei denen dieser Keim als Erkrankungsursache nachgewiesen werden konnte. Abbildung 12 zeigt das Beispiel eines akut druseerkrankten Pferdes. Bei dem anderen Pferd konnte ein seit längerem bestehender Druseabszess diagnostiziert werden.

Das Elektropherogramm aus Abbildung 12 stammt von einem 2-jährigen Warmblutwallach. Das Gesamteiweiß betrug im Serum 69,0 g/l, die errechnete Albuminkonzentration liegt bei 25,6 g/l. Die Konzentrationen der Globuline betragen: a-Globuline 13,6 g/l, b-Globuline 18,4 g/l und g-Globuline 11,5 g/l.

Abbildung 13 zeigt das Elektropherogramm eines 18-jährigen Warmblutwallaches mit einem Druseabszess. Das Gesamteiweiß betrug 92,9 g/l. Die elektrophoretisch

ermittelten Eiweißkonzentrationen ergeben: 22,2 g/l Albumin, 12,1 g/l a-Globuline, 31,3 g/l b-Globuline und 27,4 g/l g-Globuline.

In beiden Fällen wiederum auffallend die deutliche Erhöhung der Konzentrationen der a- und b-Globuline. Im zweiten Fall zeigt sich jedoch auch eine deutliche Erhöhung der g-Globuline.

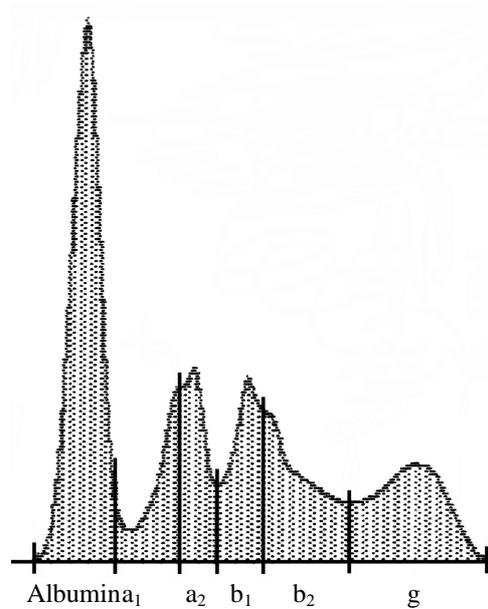


Abb. 12: Elektropherogramm eines Pferdes mit akuter Druse

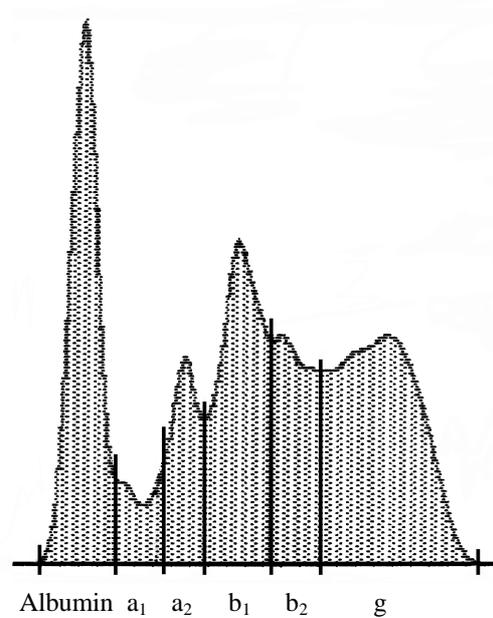


Abb. 13: Elektropherogramm eines Pferdes mit Druseabszess

Abbildung 14 zeigt ein weiteres Beispiel für Veränderungen des Elektropherogramms bei bakteriellen Infektionen des Pferdes. Es handelt sich um eine 6-jährige Ponystute mit eitrig abszedierender Dermatitis. Das Gesamteiweiß betrug 65,1 g/l. Die Serumproteinelektrophorese (SPE) ergibt für die einzelnen Fraktionen folgende Werte: Albumin 23,6 g/l, a-Globuline 10,4 g/l, b-Globuline 21,7 g/l und g-Globuline 9,4 g/l. Wie in den bisher gezeigten Beispielen liegt auch in diesem Falle eine Erhöhung der a- und b-Globuline vor.

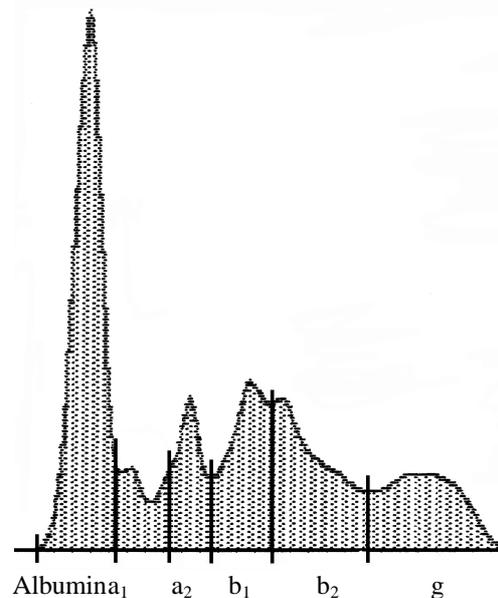


Abb. 14: Elektropherogramm eines Pferdes mit eitrig abszedierender Dermatitis

Auch bei viralen Infektionen zeigten sich Veränderungen des Elektropherogramms beim Pferd, wenngleich die Erhöhung der Globuline nicht so ausgeprägt war, wie in den oben aufgezeigten Beispielen bakterieller Infektionen.

Abbildung 15 zeigt das Elektropherogramm eines 3-jährigen Warmblutwallaches mit akuter nichteitriger, vermutlich viral bedingter, hochgradiger Laryngitis. Das Gesamteiweiß betrug 68,1 g/l. Aus der SPE errechnet ergeben sich folgende Werte für die Proteinfractionen: Albumin 29,5 g/l, a-Globuline 13,1 g/l, b-Globuline 17,4 g/l und g-Globuline 8,1 g/l. Diese Werte zeigen, dass auch bei viralen Infektionen eine Erhöhung der a- und b-Globuline beobachtet werden kann.

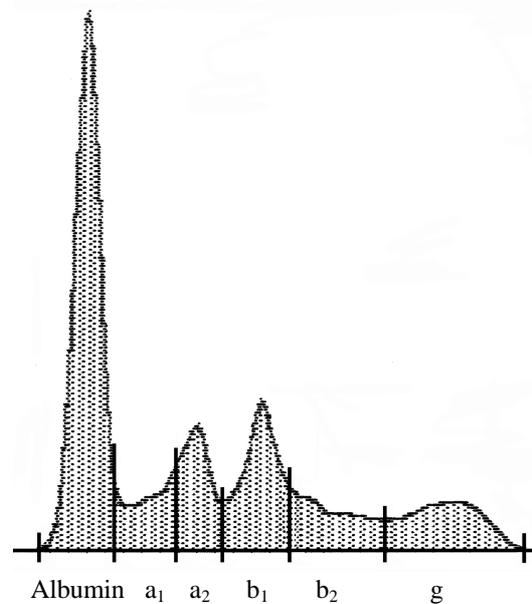


Abb. 15: Elektropherogramm eines Pferdes mit nichteitriger hochgradiger Laryngitis

Das letzte Beispiel zeigt in Abbildung 16 das Elektropherogramm einer 18-jährigen Warmblutstute mit einem Plattenepithelkarzinom im Magen. Das Gesamteiweiß lag bei 53,9 g/l. Die SPE ergibt folgende Konzentrationen der Proteinfractionen: Albumin 19,6 g/l, a-Globuline 13,4 g/l, b-Globuline 13,9 g/l und g-Globuline 7,0 g/l. Im Vergleich mit den Werten eines klinisch unauffälligen Pferdes (3.2.2.1) zeigt sich die Erniedrigung der Albuminkonzentration und erneut die Erhöhung der a- und b-Globuline.

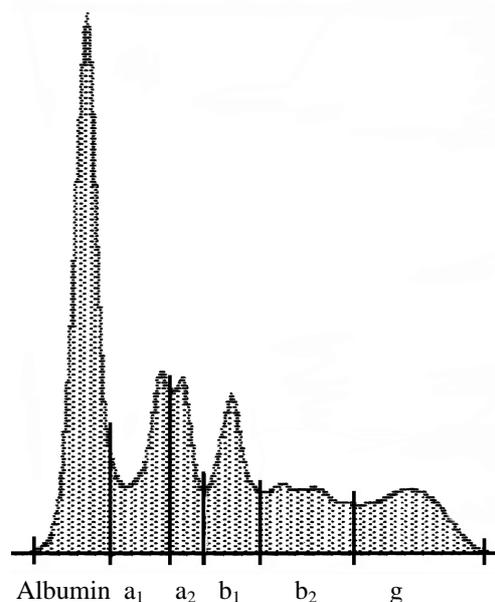


Abb. 16: Elektropherogramm eines Pferdes mit Plattenepithelkarzinom des Magens

In Tabelle 6 und 7 sind die prozentualen und absoluten Aufteilungen der Proteinfractionen der Elektropherogramme aus den Beispielen der Abbildungen 10 bis 16 wiedergegeben. Zum Vergleich sind in der jeweils ersten Zeile die Werte eines klinisch unauffälligen Pferdes (aus Abb. 7, S. 66) aufgeführt. Bei allen Beispielfällen ist das Albumin prozentual und absolut zumeist deutlich erniedrigt. Die a-Globuline sind mäßig bis deutlich erhöht, bei den b-Globulinen sind sehr umfangreiche Zunahmen der Konzentrationen in den Beispielen zu erkennen. Die g-Globuline unterscheiden sich bis auf das Elektropherogramm aus Abb. 13, dessen prozentualer und absoluter Anteil deutlich größer ist, kaum zu dem Wert eines klinisch unauffälligen Pferdes.

Tab. 6: Prozentuale Hauptproteinfraktionen der Beispielfälle aus Kapitel 3.2.2.2 zum Vergleich in der ersten Zeile die Ergebnisse bei einem klinisch unauffälligen Pferd

| Beispiel (Abb.) | Albumin | | a _{gesamt} | | b _{gesamt} | | g | |
|--------------------|---------|------|---------------------|------|---------------------|------|------|------|
| | % | g/l | % | g/l | % | g/l | % | g/l |
| 7 ¹ | 54,6 | 32,2 | 13,2 | 8,0 | 18,2 | 10,8 | 13,6 | 8,0 |
| 10 ² | 15,2 | 10,7 | 20,5 | 14,4 | 47,9 | 33,6 | 16,4 | 11,5 |
| 11 ³ | 30,6 | 19,8 | 20,1 | 13,0 | 40,3 | 26,0 | 8,9 | 5,8 |
| 12 ⁴ | 37,1 | 25,6 | 19,7 | 13,6 | 26,6 | 18,4 | 16,6 | 11,5 |
| 13 ⁵ | 23,9 | 22,2 | 13,0 | 12,1 | 33,7 | 31,3 | 29,5 | 27,4 |
| 14 ⁶ | 36,2 | 23,6 | 16,0 | 10,4 | 33,3 | 21,7 | 14,5 | 9,4 |
| 15 ⁷ | 43,3 | 29,5 | 19,2 | 13,1 | 25,6 | 17,4 | 11,9 | 8,1 |
| 16 ⁸ | 36,4 | 19,6 | 24,8 | 13,4 | 25,7 | 13,9 | 13,0 | 7,0 |

¹ = klinisch unauffällig

² = Cyathostominose

³ = Enteritis

⁴ = Druse

⁵ = Abszess

⁶ = Dermatitis

⁷ = Laryngitis

⁸ = Plattenepithelkarzinom

Tabelle 7 zeigt die prozentualen und absoluten Werte der Unterfraktionen der a- und b-Globuline. Alle Unterfraktionen sind im Vergleich zu einem klinisch unauffälligen Tier prozentual und absolut erhöht. Besonders deutliche Zunahmen zeigen die b₁- und die b₂-Globuline.

Tab. 7: Prozentuale Unterfraktionen der Beispielfälle aus Kapitel 3.2.2.2
zum Vergleich in der ersten Zeile die Ergebnisse bei einem klinisch unauffälligen Pferd

| Beispiel (Abb.) | a ₁ | | a ₂ | | b ₁ | | b ₂ | |
|--------------------|----------------|-----|----------------|-----|----------------|------|----------------|------|
| | % | g/l | % | g/l | % | g/l | % | g/l |
| 7 ¹ | 6,8 | 4,0 | 6,8 | 4,0 | 9,1 | 5,4 | 9,1 | 5,4 |
| 10 ² | 9,8 | 6,9 | 10,7 | 7,5 | 27,8 | 19,5 | 20,1 | 14,1 |
| 11 ³ | 11,8 | 7,6 | 8,3 | 5,4 | 24,7 | 16,0 | 15,6 | 10,1 |
| 12 ⁴ | 9,9 | 6,8 | 9,8 | 6,8 | 12,4 | 8,6 | 14,2 | 9,8 |
| 13 ⁵ | 3,8 | 3,5 | 9,2 | 8,5 | 20,8 | 19,3 | 12,9 | 12,0 |
| 14 ⁶ | 7,5 | 4,9 | 8,5 | 5,5 | 15,2 | 9,9 | 18,1 | 11,8 |
| 15 ⁷ | 9,0 | 6,1 | 10,2 | 6,9 | 17,0 | 11,6 | 8,6 | 5,9 |
| 16 ⁸ | 15,1 | 8,1 | 9,7 | 5,2 | 12,9 | 7,0 | 12,8 | 6,9 |

¹ = klinisch unauffällig

² = Cyathostominose

³ = Enteritis

⁴ = Druse

⁵ = Abszess

⁶ = Dermatitis

⁷ = Laryngitis

⁸ = Plattenepithelkarzinom

Es sei betont, dass es sich bei den obenstehenden Elektropherogrammen lediglich um eine kleine Auswahl aus den 341 durchgeführten Elektrophoresen handelt. Es wird jedoch deutlich, dass sich aus Veränderungen des Elektropherogramms keine spezifischen Diagnosen ableiten lassen. Es lässt sich lediglich feststellen, dass eine akute bis chronische Entzündungsreaktion im Organismus des Pferdes abläuft.

3.2.2.3 Gruppenunterschiede bezüglich der elektrophoretisch bestimmten Parameter

Der Vergleich von Mittelwerten und Standardabweichungen/Streufaktoren ($\bar{x} \pm s$; bzw. $\bar{x}_g \cdot SF^{\pm 1}$) der elektrophoretisch gemessenen Parameter zeigt nur wenige für den Kliniker relevante Unterschiede zwischen den drei Gruppen. Die Gruppen 1 (n=202) und 3 (n=63) unterscheiden sich praktisch nicht voneinander. Differenzen zeigen sich wiederum bei der Gruppe 2 (n=76), die Abbildungen 17, 18 und 19 zeigen die Unterschiede graphisch dargestellt. Der besseren Übersicht halber sind im Folgenden jeweils nur die Mittelwerte und Standardabweichungen/Streufaktoren der absoluten Konzentrationen genannt. Die prozentualen Werte zeigen jedoch die gleichen Unterschiede zwischen den Gruppen wie die absoluten. Eine tabellarische Übersicht aller prozentualen und absoluten Werte findet sich im Anhang (Tab. II und III).

3.2.2.3.1 Albumin

Der Mittelwert der Albuminkonzentration der Gruppe 1 beträgt $31,3 \pm 2,6$ g/l. Für die Gruppe 2 ergibt sich mit $26,1 \pm 6,2$ g/l ein niedrigerer Wert, die Gruppe 3 ($30,5 \pm 2,7$ g/l) unterscheidet sich nicht zur Gruppe 1. Eine graphische Darstellung der Werte ist in Abbildung 17 gezeigt.

3.2.2.3.2 Gesamtglobuline

Die Gruppen 1 ($26,4 \cdot 1,2^{\pm 1}$ g/l) und 3 ($28,4 \cdot 1,2^{\pm 1}$ g/l) unterscheiden sich bezüglich der Gesamtglobuline nicht voneinander. Bei Gruppe 2 liegt der Mittelwert statistisch signifikant höher ($32,2 \cdot 1,4^{\pm 1}$ g/l). Durch den relativ hohen Streufaktor ergeben sich für den Kliniker nur unbefriedigende Größenunterschiede. Die Werte sind in Abbildung 17 graphisch dargestellt.

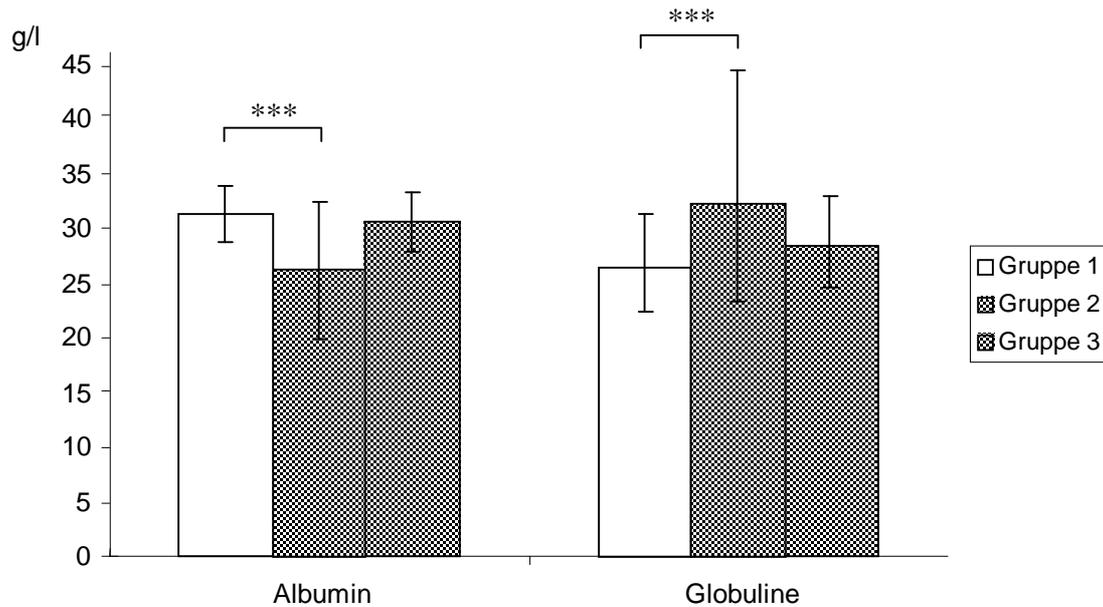


Abb. 17 Mittelwerte und Standardabweichungen/Streufaktoren der mittels SPE ermittelten Konzentrationen von Albumin ($\bar{x} \pm s$) und Globulinen ($\bar{x}_g \pm SF^{\pm 1}$)

3.2.2.3.3 Einzelfraktionen

Der Mittelwert der a-Globuline für die Gruppe 1 beträgt $7,9 \cdot 1,2^{\pm 1}$ g/l ($a_1=3,3 \cdot 1,3^{\pm 1}$ g/l und $a_2=4,4 \cdot 1,3^{\pm 1}$ g/l), für die b-Globuline ergibt sich ein Wert von $11,0 \cdot 1,2^{\pm 1}$ g/l ($b_1=6,7 \cdot 1,3^{\pm 1}$ g/l und $b_2=4,0 \cdot 1,6^{\pm 1}$ g/l) und für die g-Globuline $7,1 \cdot 1,4^{\pm 1}$ g/l.

Die Ergebnisse der Gruppe 3 ergeben keine von den Werten der Gruppe 1 abweichenden Werte: a-Globuline = $8,5 \cdot 1,2^{\pm 1}$ g/l ($a_1=3,9 \cdot 1,3^{\pm 1}$ g/l und $a_2=4,5 \cdot 1,2^{\pm 1}$ g/l); b-Globuline = $11,3 \cdot 1,2^{\pm 1}$ g/l ($b_1=6,8 \cdot 1,3^{\pm 1}$ g/l und $b_2=4,2 \cdot 1,6^{\pm 1}$ g/l) und für die g-Globuline $8,0 \cdot 1,4^{\pm 1}$ g/l.

Bei der Gruppe 2 zeigen sich in einigen Parametern auch für den Kliniker erkennbare Unterschiede der Mittelwerte zur Gruppe 1. Die Konzentration der a-Globuline liegt mit $10,0 \cdot 1,3^{\pm 1}$ g/l statistisch signifikant über der bei Gruppe 1 gemessenen ($7,9 \cdot 1,2^{\pm 1}$ g/l). Die a_1 -Fraktion unterscheidet sich mit $3,4 \cdot 1,4^{\pm 1}$ g/l nicht zur Gruppe 1 ($3,3 \cdot 1,3^{\pm 1}$ g/l), die a_2 -Globuline liegen mit $6,3 \cdot 1,5^{\pm 1}$ g/l statistisch signifikant über denen der Gruppe 1 ($4,4 \cdot 1,3^{\pm 1}$ g/l). Für die b-Globuline ergibt sich ein Wert von $13,7 \cdot 1,5^{\pm 1}$ g/l der statistisch signifikant über dem für Gruppe 1 errechneten Wert ($11,0 \cdot 1,2^{\pm 1}$ g/l) liegt. Die b_1 -Fraktion liegt mit einem Wert von $7,4 \cdot 1,6^{\pm 1}$ g/l im selben Bereich wie in Gruppe 1 ($6,7 \cdot 1,3^{\pm 1}$ g/l), die Konzentrationen der b_2 -Globuline liegen jedoch mit $5,7 \cdot 1,7^{\pm 1}$ g/l

signifikant höher als in Gruppe 1 ($4,0 \cdot 1,6^{\pm 1}$ g/l). Für die g-Globuline schließlich ergeben sich keine Unterschiede von Gruppe 2 ($7,6 \cdot 1,7^{\pm 1}$ g/l) zu Gruppe 1 ($7,1 \cdot 1,4^{\pm 1}$ g/l).

Die Abbildungen 18 und 19 zeigen alle Werte der Einzelfraktionen graphisch dargestellt.

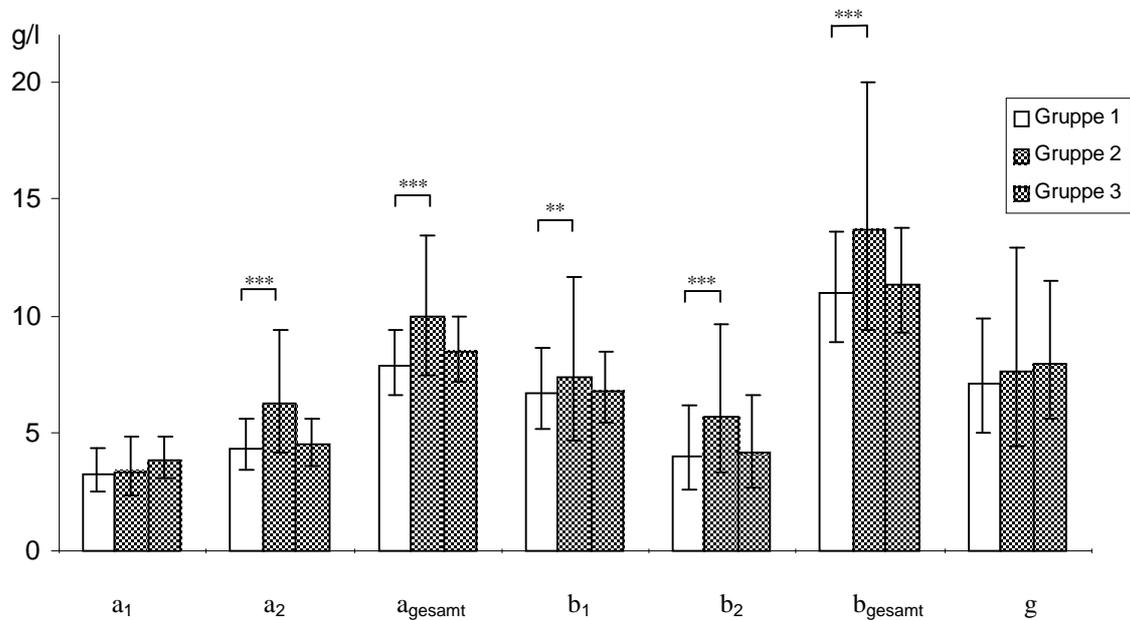


Abb. 18: Vergleich der Mittelwerte und Streufaktoren ($\bar{x}_g \pm SF^{\pm 1}$) der mittels Elektrophorese gemessenen Parameter in g/l

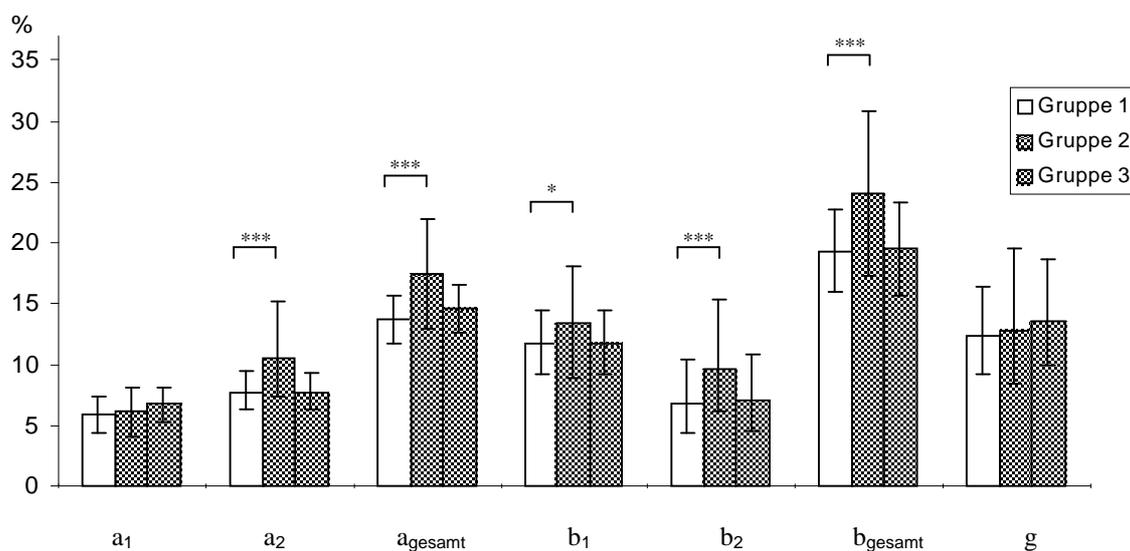


Abb. 19: Vergleich der Mittelwerte und Standardabweichungen/Streufaktoren der mittels Elektrophorese gemessenen Parameter in %

(a₁, b₁, a_{gesamt} und b_{gesamt} als $\bar{x} \pm s$; a₂, b₂ und g als $\bar{x}_g \pm SF^{\pm 1}$)

3.2.3 LAGERUNG VON SEREN

Die Ergebnisse der Messungen von Gesamteiweiß (GE) und Albumin sind in den Abbildungen 20 und 21 graphisch und tabellarisch im Anhang (Tab. IX) dargestellt.

Die Konzentrationsveränderungen im Vergleich mit der Messung vor dem Einfrieren äußern sich im Falle des GE in einer maximalen Zunahme von 7 g/l bzw. 11,6 % (Pferd 5) und einer maximalen Abnahme von 9,3 g/l bzw. 14,3 % (Pferd 6).

Bei der Bestimmung der Albuminkonzentrationen ergeben sich ähnliche (prozentuale) Maximalveränderungen: Zunahme von 5,4 g/l bzw. 15,9 % (Pferd 4) und Abnahme von 4,9 g/l bzw. 14 % (Pferd 3).

Bei diesen maximalen Abweichungen handelte es sich keinesfalls um „Ausreißer“, jedes der 8 Pferde zeigte im Verlauf der Untersuchungen mindestens einmal solch abweichende Werte (besonders bei der Bestimmung von Albumin).

Die Abbildungen 20 und 21 zeigen in bildlicher Darstellung den Verlauf der Konzentrationsveränderungen von GE und Albumin. Betrachtet man den Verlauf beim GE (Abb. 20) zeigt sich bei den unterschiedlichen Pferden noch eine ähnliche Tendenz der einzelnen Kurven, bei allen kommt es zum Messzeitpunkt (MZP) 2 zu einer Zunahme der Konzentrationen, MZP 3 und 4 zeigen eine Abnahme der Konzentrationen und folgendem erneuten Anstieg zum MZP 5.

Auch beim Albumin (Abb. 21) zeigt sich zunächst ein Anstieg der Konzentrationen zum MZP 2 mit nachfolgendem Abfall, der jedoch deutliche individuelle Unterschiede aufzeigt. Am MZP 4 und 5 besteht dann keine Synchronität mehr zwischen den einzelnen Pferden.

Die **Elektrophorese** bleibt unbeeinflusst von den Abweichungen in der Konzentrationsbestimmung. Ein Vergleich der Elektropherogramme von der Bestimmung vor dem Einfrieren der Seren mit den Messzeitpunkten, bei welchen die maximalen Veränderungen der Konzentrationen ermittelt wurden, zeigte jeweils ein praktisch identisches Profil.

Aufgrund der relativ geringen Datenmenge konnte eine statistische Auswertung der Ergebnisse nicht vorgenommen werden.

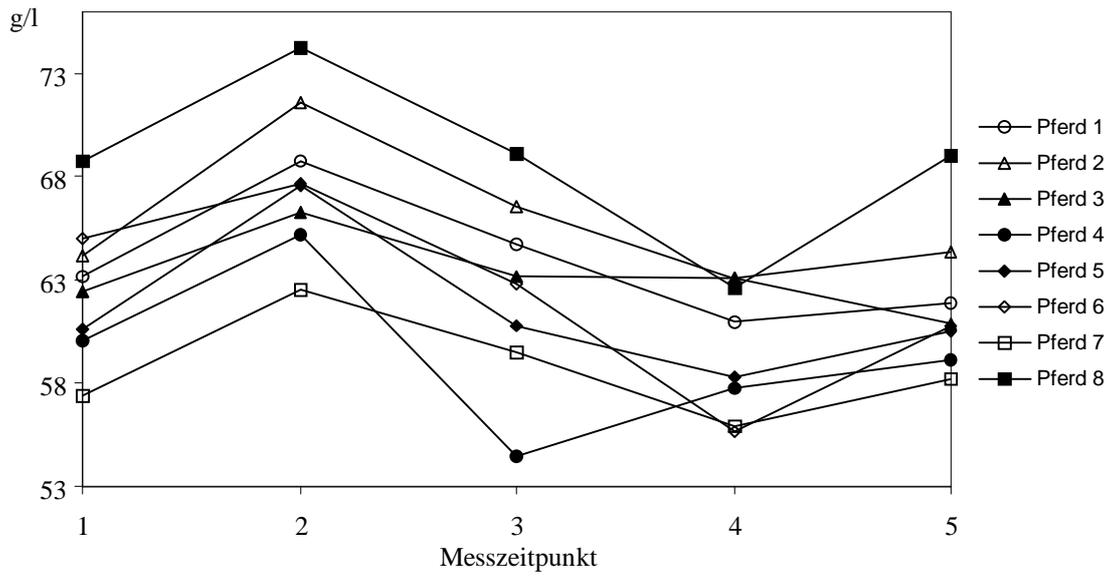


Abb. 20: Verlauf der Konzentrationen von GE

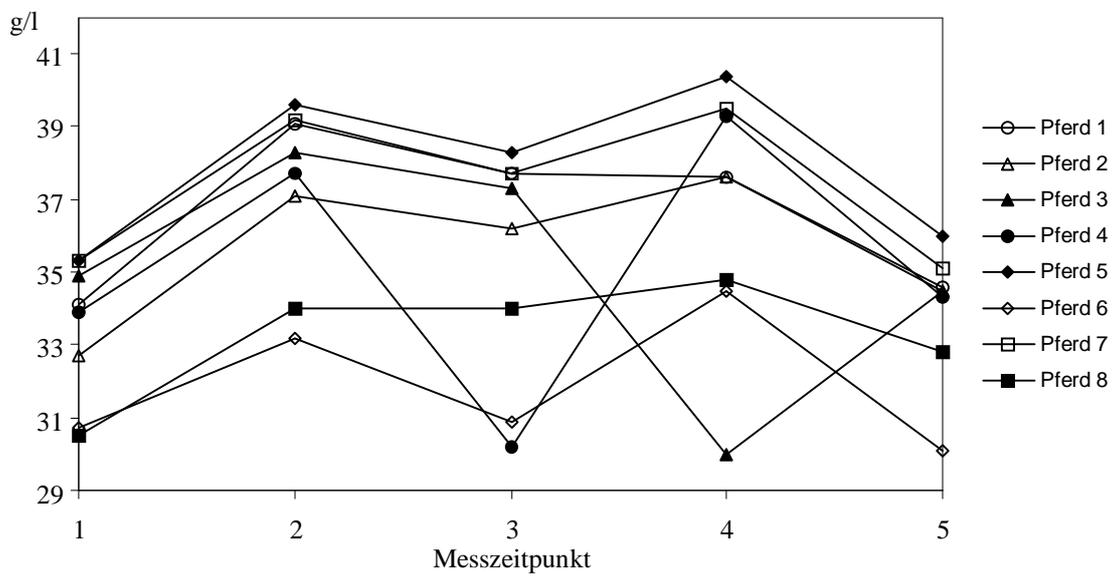


Abb. 21: Verlauf der Konzentrationen von Albumin

3.2.4 ÜBERPRÜFUNG DER TESTSICHERHEIT

Von einem guten medizinischen Test wird erwartet, dass er im Falle einer Erkrankung ein positives und bei gesunden Individuen ein negatives Ergebnis erbringt.

Die Wahrscheinlichkeit, dass ein Test bei Erkrankung richtig, d.h. positiv reagiert wird als Sensitivität bezeichnet. Die Wahrscheinlichkeit eines richtigen, d.h. negativen Ergebnisses bei Gesunden ist die Spezifität des Testverfahrens.

In der vorliegenden Untersuchung stellen Werte außerhalb des Referenzbereiches bei den erkrankten Pferden (Gruppe 2) ein richtig positives Ergebnis dar und geben die Sensitivität des untersuchten Parameters wieder. Werte innerhalb des Referenzbereiches bei den klinisch unauffälligen Pferden (Gruppe 1) stellen ein richtig negatives Ergebnis dar und bezeichnen die Spezifität des Parameters.

Im Idealfall liegen die Wahrscheinlichkeiten bei einem Wert von 1. Die Differenz der Sensitivität zu dem Wert 1 gibt die Wahrscheinlichkeit falsch negativer Ergebnisse wieder, d.h. eine vorliegende Erkrankung führt zu keinem abweichenden Testergebnis. Die Differenz der Spezifität zu dem Wert 1 gibt die Wahrscheinlichkeit falsch positiver Ergebnisse an, d.h. es liegt ein abweichender (pathologischer) Testwert bei klinisch unauffälligen Patienten vor.

In der vorliegenden Untersuchung wurden Sensitivität und Spezifität wie folgt berechnet:

$$\text{Sensitivität} = \frac{\text{Anzahl der Werte außerhalb des Referenzbereiches in Gruppe 2}}{\text{Anzahl aller Werte der Gruppe 2}}$$

$$\text{Spezifität} = \frac{\text{Anzahl der Werte innerhalb des Referenzbereiches in Gruppe 1}}{\text{Anzahl aller Werte der Gruppe 1}}$$

Für folgende Parameter wurden Sensitivität und Spezifität berechnet: Gesamtleukozytenzahl, Fibrinogen, Gesamteiweiß und Albumin. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 8 dargestellt. Für die Gesamtleukozyten wurden die Werte sowohl für den

Referenzbereich von $5 - 10 \times 10^9/l$ als auch von $5 - 12 \times 10^9/l$ angegeben, da geringgradige Erhöhungen bis $12 \times 10^9/l$ meist als Stressleukozytose gedeutet werden.

Für die Blutsenkungsreaktion (BSR) und die Einzelfractionen der Globuline wurden keine Sensitivitäten und Spezifitäten berechnet, da in beiden Fällen keine allgemein gültigen Referenzbereiche bestehen.

Tab. 8: Sensitivität und Spezifität ausgewählter Parameter

| Parameter | Referenzbereich | Sensitivität | Spezifität |
|----------------------|------------------------|--------------|------------|
| Gesamtleukozytenzahl | $5 - 10 \times 10^9/l$ | 0,64 | 0,82 |
| | $5 - 12 \times 10^9/l$ | 0,48 | 0,96 |
| Fibrinogen | 1,5 - 3,5 g/l | 0,60 | 0,88 |
| Gesamteiweiß | 55 - 75 g/l | 0,38 | 0,71 |
| Albumin | 25 - 45 g/l | 0,18 | 1,00 |

Da die Berechnungen der Sensitivität äußerst unbefriedigende Ergebnisse bei den Einzelparametern erbrachten, wurden verschiedene Parameter miteinander kombiniert. Die Ergebnisse dieser Berechnungen sind in Tabelle 9 zusammengefasst.

Tab. 9: Sensitivität und Spezifität kombinierter Parameter

| Parameter | Referenzbereich | Sensitivität | Spezifität |
|--|------------------------|--------------|------------|
| Gesamtleukozytenzahl und Fibrinogen | $5 - 10 \times 10^9/l$ | 0,83 | 0,97 |
| | 1,5 - 3,5 g/l | | |
| Gesamtleukozytenzahl und Albumin | $5 - 10 \times 10^9/l$ | 0,68 | 0,98 |
| | 25 - 45 g/l | | |
| Gesamtleukozytenzahl, Fibrinogen und Albumin | $5 - 10 \times 10^9/l$ | 0,84 | 0,98 |
| | 1,5 - 3,5 g/l | | |
| | 25 - 45 g/l | | |
| Gesamteiweiß und Albumin | 55 - 75 g/l | 0,45 | 1,00 |
| | 25 - 45 g/l | | |

Liegt der Leukozytenreferenzwert bei $5 - 12 \times 10^9/l$, ergeben für die Kombinationen folgende Sensitivitäten und Spezifitäten: Leukozytengesamtzahl und Fibrinogen Sensitivität = 0,79 und Spezifität = 0,99; Leukozytengesamtzahl und Albumin Sensitivität = 0,56 und Spezifität = 0,99; Leukozytengesamtzahl, Fibrinogen und Albumin Sensitivität = 0,8 und Spezifität = 1,0.

4. DISKUSSION

4.1 DISKUSSION DER METHODIK

4.1.1 PATIENTENMATERIAL UND GRUPPENEINTEILUNG

Bei dem Patientenmaterial handelte es sich um Pferde, welche in der MVK I der Justus-Liebig-Universität Gießen zwischen Januar 1997 und September 1999 zur stationären Behandlung vorgestellt wurden. Es wurden alle Pferde in die Untersuchung einbezogen, wenn die folgenden Voraussetzungen erfüllt waren: 1. die Ergebnisse der Routinelaboruntersuchungen (Leukozytengesamtzahl, Differentialblutzellbild, Blutsenkungsreaktion, Hämatokrit, Gesamteiweiß, Albumin, Globuline und Fibrinogen) lagen vollständig vor und 2. der Patient konnte eindeutig einer der drei vorgegebenen Gruppen zugeordnet werden. Die Einteilung erfolgte ausschließlich nach den Ergebnissen der klinischen Untersuchung ohne Berücksichtigung von labordiagnostischen Blutuntersuchungen.

Die Pferde der Kontrollgruppe (Gruppe 1) waren meist aufgrund milder bis mittelgradiger Koliksymptomatik in der MVK I vorgestellt worden. Diese Symptomatik war i.d.R. nach einmaliger medikamenteller Behandlung mit Spasmoanalgetika (Buscopan[®] compositum; Boehringer Ingelheim GmbH, Ingelheim oder Novalgin[®]; Hoechst Veterinär GmbH, Unterschleißheim) und/oder abführender Therapie (Paraffinöl und/oder Natriumsulfat, beides WDT eG, Hannover) nicht mehr vorhanden. Die Blutuntersuchungen erfolgten ein bis drei Tage nach Vorstellung und Behandlung, zu diesem Zeitpunkt waren Allgemeinbefinden und klinische Untersuchung der Tiere weitgehend ohne besonderen Befund. Dies berechtigt zur Definition dieser Tiere als Kontroll- und Vergleichsgruppe.

Die Einteilung der Patienten mit entzündlichen Veränderungen (Gruppe 2) wurde ausschließlich nach dem Ergebnis der klinischen Untersuchung (siehe 3.1.2; S. 51 ff.) und nicht nach der Dauer der Erkrankung vorgenommen. Hieraus resultiert auch die breite Streuung der Erkrankungsdauer auf einen Zeitraum zwischen einem Tag und 4 Wochen, wobei die Erkrankungsdauer bei der überwiegenden Zahl der Patienten eine Woche nicht überschritt. Patienten mit Erkrankungsbeginn von mehr als einer Woche waren häufig mit wechselndem Erfolg vorbehandelt und zeigten zum Zeitpunkt der

Vorstellung in der Klinik einen akuten Rückfall. Ein Grund für das „Nichtberücksichtigen“ der Erkrankungsdauer lag in der Fragestellung, welcher Laborparameter am besten zur Diagnostik entzündlicher Erkrankungen, unabhängig von der Dauer der Erkrankung, geeignet sei. Für den behandelnden Tierarzt gestaltet sich zudem die Einschätzung der Erkrankungsdauer häufig nicht ganz einfach, da er sich lediglich auf die Angaben der Besitzer, die ihre Tiere nicht ständig unter Kontrolle haben, berufen kann.

Der dritten Gruppe wurden schließlich Patienten zugeordnet, bei denen eine chronisch obstruktive Bronchitis diagnostiziert wurde.

4.1.2 LABORDIAGNOSTIK

4.1.2.1 Routineuntersuchungen

Alle Routineuntersuchungen wurden von erfahrenem Laborpersonal durchgeführt, methodische Fehler können aus diesem Grund weitgehend ausgeschlossen werden. Die Bestimmung der Gesamtleukozytenzahl, die Differenzierung des weißen Blutbildes, die Bestimmung von Hämatokrit und den Plasmaeiweißen erfolgte nach Routinemethoden, sie werden im Rahmen dieser Arbeit daher nicht diskutiert.

4.1.2.1.1 Blutsenkungsreaktion (BSR)

Die bei Pferden in der Literatur am häufigsten eingesetzte Methode zur Durchführung der BSR stellt die Methode nach Westergren dar. Es existieren jedoch keine gängigen Normwerte für das gesunde Pferd. Aus der Literatur zugängliche Werte lassen sich häufig nicht vergleichen, da auch bei Verwendung des gleichen Labormaterials Unterschiede v.a. in der Zeit, nach der die Senkung abgelesen wird, bestehen (siehe auch Tab. 1; S. 12). Die nach unterschiedlicher Zeit abgelesenen Werte lassen sich auch nicht umrechnen, da die BSR nicht gleichmäßig linear, sondern in 3 Phasen mit unterschiedlicher Geschwindigkeit verläuft (v. ZIJL 1948, HAMMERL 1982). HAMMERL (1982) verglich im Rahmen seiner Untersuchung verschiedene Methoden zur Durchführung der BSR miteinander. Es handelte sich hierbei um die Methode nach Westergren, die Standzylindermethode und die Durchführung mittels Auslaufpipette. Er

kam zu dem Ergebnis, dass die Westergrenmethode zur Anwendung beim Pferd wenig geeignet sei, da die Wiederholbarkeit der Methode nicht gegeben war. Die Durchführung mittels Auslaufpipette und Standzylinder war in Bezug auf die Wiederholbarkeit zuverlässiger, die Standzylindermethode war zudem noch sehr einfach und schnell durchzuführen. Sie wurde als Methode der Wahl für die Ermittlung der Blutsenkungsreaktion empfohlen und wurde in der vorliegenden Arbeit ausschließlich angewandt. HAMMERL (1982) stellt zudem eine deutliche Abhängigkeit der BSR von der Rasse fest. Aus diesem Grund wurden in der eigenen Untersuchung bei der Untersuchung der Zusammenhänge die Ergebnisse der BSR ebenfalls nach Rassen getrennt dargestellt.

4.1.2.1.2 Fibrinogen

Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse der Bestimmung der Fibrinogenkonzentration ist nur dann gegeben, wenn die verwandte Methodik übereinstimmt, bzw. denselben Prinzipien folgt. Es muss unterschieden werden zwischen Bestimmung der hämostatisch aktiven Anteile des Fibrinogens und der Bestimmung aller Fibrinogenmoleküle unabhängig von ihrer Funktion. In vorliegender Arbeit wurde die Methode nach Clauss zur Konzentrationsbestimmung eingesetzt. Bei dieser Methode werden nur hämostatisch aktive Anteile gemessen, indem Zitratplasma mit Thrombin zur Gerinnung gebracht wird. Die Gerinnungszeit ist hierbei proportional zum Fibrinogengehalt.

Von der Autorin konnte in der Literatur lediglich eine Angabe eines Referenzbereiches (1,5 - 3,3 g/l) für Fibrinogen beim Pferd gefunden werden (KRAFT et al 1997), bei der die Konzentration mittels der Methode nach Clauss bestimmt wurde.

4.1.2.2 Serumproteinelektrophorese (SPE)

Aufgrund der Angaben in der Literatur lassen sich keine grundsätzlichen methodischen Unterschiede zwischen der Durchführung der SPE mittels Zellulose-Azetat-Folie bzw. Agarose-Gel erkennen. Beide Verfahren finden in der Routinediagnostik Verwendung. Die Anzahl der differenzierten Proteinfractionen unterscheidet sich nicht nach der Methodik, sondern nach der Interpretation des Untersuchers. Aus diesem Grund ist die Vergleichbarkeit der einzelnen Untersuchungen schwierig, wenn nicht unmöglich. Auch

unterscheiden sich in den Publikationen angelegte Stromstärke und Dauer der Stromzufuhr, wodurch ein direkter Vergleich möglicherweise unzulässig wird.

Die Auswertung der Träger erfolgte in den Untersuchungen aller im Schrifttum zitierten Autoren und in den eigenen Untersuchungen mittels Densitometrie nach dem „Drop-Line“-Verfahren (s. Kap. 2.3.2; S. 44).

Ein Nachteil bei der Verwendung von Agarose-Gelen besteht in den relativ hohen Materialkosten (z.Zt. rund 40 DM netto pro Gel). Bei optimaler Ausnutzung sollten zur gleichen Zeit mindestens 2 Gele beschickt werden, das bedeutet die Untersuchung von 16 Serumproben. In großen Untersuchungslaboren, die tägliche eine Vielzahl an Proben untersuchen ist dies durchführbar. In vielen Fällen werden aber erst genug Proben gesammelt, so dass es in der Verfügbarkeit der Ergebnisse zu Verzögerungen kommen kann.

4.2 DISKUSSION DER ERGEBNISSE

4.2.1 ROUTINEBESTIMMUNGEN

4.2.1.1 Leukozyten

Der Mittelwert der Gesamtleukozyten liegt bei allen drei Gruppen im Normbereich der in der Literatur angegebenen Werte (siehe Tab. 2, S. 17). Der hohe Streufaktor der Gruppe 2 (1,63 im Vergleich zu 1,27 bei Gruppe 1) zeigt, dass in dieser Gruppe Patienten mit sehr niedriger und solche mit sehr hoher Leukozytengesamtzahl vorhanden sind. Die Erklärung hierfür liegt in der Inhomogenität der Gruppe bezüglich der Erkrankungsursachen und Organmanifestationen. In der Gruppe 2 befinden sich einige Tiere mit akuter bis subakuter Enteritis, welche sich häufig in einer massiven Leukopenie äußert (DORN et al. 1975, STEWART et al. 1995). Von den 107 Patienten der Gruppe 2 zeigten 14% (=15 Tiere) eine Leukopenie mit Leukozytenzahlen $<5 \times 10^9/l$. Zum anderen beinhaltet die Gruppe 2 auch Tiere mit akuten bis subakuten bakteriellen Infektionen v.a. der Atemwege. Die bakteriellen Infektionen gehen i.d.R. mit einer massiven Leukozytose einher (SCHALM 1979, JAIN 1986b). Eine Leukozytose mit Leukozytenzahlen $>10 \times 10^9/l$ zeigten 49% (=53 Tiere) der Patienten in Gruppe 2. Da

auch Stress zu einer Erhöhung der Leukozyten führen kann (siehe Kap. 2.2.1.2.2; S. 14ff.) sind vermutlich erst Erhöhungen der Leukozytenzahl $>12 \times 10^9/l$ ein sicheres Zeichen für das Vorliegen eines entzündlichen Prozesses. Über diesem Wert liegen nur 33,6% (=36 Pferde) der Patienten der Gruppe 2.

Die Leukozytenzahlen zeigen somit bei 36% (39 Pferde) der Patienten der Gruppe 2 mit klinisch gesicherten Entzündungen keine Abweichungen von dem Referenzwert von $5 - 10 \times 10^9$ Zellen pro Liter. Werden erst Leukozytenzahlen $>12 \times 10^9/l$ als entzündlich bedingte Leukozytose interpretiert, liegen 52% (56 Pferde) der Patienten der Gruppe 2 im Referenzbereich.

Ein Erklärungsansatz für die beim Pferd so unterschiedlichen Reaktionen der Leukozyten bei Infektionen des Magen-Darm-Traktes oder der Atemwege war in der Literatur nicht zu finden, und kann auch von der Autorin nicht gegeben werden.

Die Beobachtung, dass sich im Rahmen einer COB keine Veränderungen der Leukozytenzahlen im Blut zeigen (CHABCHOUB und GUELFY 1989, VANDENPUT und LEKEUX 1996) wurde durch die Ergebnisse der eigenen Untersuchung bestätigt.

Die Mittelwerte der Zellzahlen der segmentkernigen neutrophilen Granulozyten (PMN) der drei Gruppen liegen ebenfalls im Referenzbereich der in der Literatur angegebenen Werte. Auch hier finden sich keine für den Kliniker relevanten Differenzen zwischen den Mittelwerten der drei Gruppen. Gleichwohl zeigt auch bei den PMN der sehr große Streufaktor der Gruppe 2 (2,19), dass sowohl stark erhöhte als auch stark verminderte Zellzahlen bei Pferden dieser Gruppe vorliegen. Es gilt hier die gleiche Erklärung wie bei der Gesamtleukozytenzahl, da entzündliche Reaktionen der Leukozytenpopulation meist durch Reaktionen der PMN hervorgerufen werden (JAIN 1986b, MORRIS et al. 1990, MILLS et al. 1998).

Die in der angloamerikanischen Literatur angegebenen Referenzbereiche (siehe Tab. 2; S. 17) für stabkernige neutrophile (n.) Granulozyten (G.) liegen deutlich unter dem hier verwandtem und von KRAFT et al. (1997) angegebenen Referenzbereich. In der vorliegenden Untersuchung liegen die Mittelwerte aller drei Gruppen innerhalb des eigenen, aber deutlich über den übrigen Referenzbereichen. Ein Grund hierfür könnte in der statistischen Methodik liegen. Insgesamt wurden stabkernige neutrophile Granulozyten nur bei 58 der 500 Pferde (11,6 %) differenziert. Die rechtsschiefe Verteilung der Werte erfordert eine logarithmische Transformation der Daten. Hierbei müssen Nullwerte ersetzt werden, da das Logarithmieren der Null nicht möglich ist. Da

davon ausgegangen wird, dass die wirkliche Anzahl an Zellen im Blut mit Sicherheit größer Null ist, wird in der statistischen Methodik der halbe Wert der unteren Nachweisgrenze (hier entspricht dies $150 \times 10^6/l$) anstatt der Null eingesetzt. Dies erklärt den hohen Mittelwert der stabkernigen n. G. in der Gruppe 1, wenngleich nur bei 19 der 300 Patienten (6,3 %) diese Zellen im Ausstrich differenziert wurden. Hierbei lag nur bei einem Pferd der Wert über dem an unserer Klinik festgelegten oberen Grenzwert von $600 \times 10^6/l$. Im Vergleich hierzu wurden bei 28 der 107 Pferde (26,2 %) der Gruppe 2 stabkernige n. G. gezählt. Von diesen Patienten überschritten 3 Tiere unseren oberen Grenzwert. In der Gruppe 3 schließlich konnten bei 11 der 93 Pferde (11,8 %) im gefärbten Ausstrich stabkernige n. G. gefunden werden. Auch hier lag der Wert bei einem Tier über dem oberen Grenzwert. Somit werfen die ermittelten Zahlen die Frage auf, ob der obere Grenzwert von $600 \times 10^6/l$ stabkernige n. G. nicht zu hoch angesetzt ist, da dieser Wert auch bei den Patienten mit entzündlichen Erkrankungen praktisch nicht überschritten wurde.

Die Leukozytenzahlen bestätigen insgesamt Angaben in der Literatur, dass Pferde mit wesentlich geringeren Anstiegen der Leukozyten und v.a. der neutrophilen Granulozyten reagieren als Karnivoren (JAIN 1986c, ANDREWS et al. 1994, KRAFT et al. 1997a).

Bei den Mittelwerten der Zellzahlen der Monozyten und Lymphozyten ergeben sich keine Unterschiede zwischen den drei Gruppen. Fehlende Unterschiede v.a. der Gruppe 2 zur Gruppe 1 erklären sich wiederum durch die Verschiedenartigkeit der Ursachen und die Dauer der entzündlichen Erkrankung. So kommt es während der Akut-Phase-Reaktion der Entzündung zunächst zu einer Monozytopenie (SCHALM 1975a), mit Fortschreiten der Erkrankung stellt sich eine Monozytose ein (DOXEY 1971, SCHALM 1975a). Hingegen beschreiben ALLEN et al. (1982) bei Virusinfektionen in den ersten Tagen das Auftreten einer Monozytose als charakteristisch. Auch bei den Lymphozyten zeigen sich unterschiedliche Reaktionen auf einen Entzündungsreiz. SCHALM (1975a) und BARTON et al. (1998) beschreiben zu Beginn der Entzündung eine Lymphopenie, wohingegen MILLS et al. (1998) keine Veränderungen der Zahl der Lymphozyten feststellen konnten. Bei viralen Infektionen werden sowohl Lymphopenien (DOXEY 1971, RUSSEL et al. 1998) als auch Lymphozytosen (ALLEN et al. 1982) beschrieben. Problematisch stellt sich dar, dass in den entsprechenden Literaturstellen häufig keine

Angaben gemacht werden, ob es sich um absolute oder relative Zu- bzw. Abnahmen der Zellzahlen handelt. Bestehende Unterschiede könnten sich auf diese Gegebenheiten zurückzuführen lassen.

Die Übertragung der biologischen Leukozytenkurve von *Schilling* auf Veränderungen innerhalb der Leukozytenpopulation bei entzündlichen Erkrankungen des Pferdes ist in Ermangelung von Verlaufsuntersuchungen im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht möglich. Jedoch kann aus den aus der Literatur zugänglichen Ergebnissen geschlossen werden, dass die Leukozytenkurve grundsätzlich auch die Veränderungen während einer Infektion beim Pferd wiedergibt.

Zusammenfassend lässt sich anmerken, dass die Bestimmung von Leukozytenzahlen häufig nicht sehr hilfreich in der Diagnostik entzündlicher Erkrankungen ist. Dies zeigt sich besonders, wenn nur eine Blutuntersuchung vorgenommen wird. So besteht die Möglichkeit, dass bei einer einzigen Messung z.B. eine durch Stress ausgelöste Leukozytose als Entzündungshinweis fehlinterpretiert wird. Ebenso kann eine sich entwickelnde Enteritis durch das Fehlen der entzündungstypischen Leukozytose übersehen werden. Wichtiger erscheint jedoch v.a. die Problematik einer fehlenden Leukozytose trotz eindeutigen klinischen Zeichen einer Entzündung. Im Rahmen der eigenen Untersuchung lag (bei einem Referenzbereich von $5 - 12 \times 10^9/l$) bei der Hälfte der Pferde der Gruppe 2 die Zahl der Gesamtleukozyten im Referenzbereich.

4.2.1.2 Blutsenkungsreaktion (BSR)

Die beim Pferd beschriebene hohe Geschwindigkeit der BSR (v. ZIJL 1948, OSBALDISTON 1970, HAMMERL 1982, ALLEN 1988a) konnte trotz teilweise anderer Methodik auch in dieser Untersuchung bestätigt werden. Die Gründe für diese, im Vergleich mit anderen Tieren oder dem Menschen, schnelle Senkungsgeschwindigkeit sind letztlich nicht bekannt. OSBALDISTON (1970) vermutet eine Besonderheit der Pferde-Erythrozyten, die zu einer verstärkten Geldrollenbildung und somit einer Senkungsbeschleunigung führt. So beträgt die BSR, durchgeführt mittels Methode nach Westergren, nach einer Stunde beim Mann 3 bis 8 mm bzw. 6 bis 11 mm bei der Frau (ROCHE LEXIKON MEDIZIN 1993), beim Hund 0

bis 2 mm (KRAFT et al. 1997a). Beim Pferd werden bereits nach einer halben Stunde Werte von 34 mm (HAMMERL 1982) erreicht.

Auffallend sind beim Pferd jedoch nicht nur die sehr hohen Mittelwerte, die im Rahmen der verschiedenen Untersuchungen berechnet wurden (siehe Tab. 1; S. 12), sondern auch die durchweg hohen Standardabweichungen. Diese Beobachtung musste auch in der vorliegenden Untersuchung gemacht werden. Der Mittelwert der Gruppe 2 liegt zwar statistisch signifikant über dem der Gruppe 1; durch die umfangreiche Überschneidung der Standardabweichungen der Gruppen 1 und 2 erscheint jedoch der von SCHWAB (1986) beschriebene Einsatz der BSR in der Diagnostik entzündlicher Erkrankungen beim einzelnen Pferd sehr fraglich. Denkbar wäre der Einsatz innerhalb von Verlaufsuntersuchungen, jedoch bleibt der Zusammenhang zwischen Beschleunigung der Senkung und Schwere der Erkrankung unklar. Ob sich die BSR zumindest zur Therapiekontrolle eignen könnte, bleibt offen und wurde im Rahmen dieser Untersuchung auch nicht überprüft.

Zusammenfassend ist zu sagen, dass in vorliegender Untersuchung die Beschleunigung der BSR bei entzündlichen Prozessen des Pferdes nachzuvollziehen war, die Eignung als Diagnostikum im Einzelfall durch die umfangreiche Überschneidung der Standardabweichung mit der der klinisch unauffälligen Pferde jedoch fraglich bleibt.

4.2.1.2.1 Prüfung von Einflussfaktoren auf die BSR

Der von HAMMERL (1982) beschriebene Einfluss der Rasse auf die BSR konnte nur teilweise in der eigenen Untersuchung nachvollzogen werden. Araber (n=7) und Kaltblüter (n=4) lassen sich, bedingt durch die geringe Probandenzahl im Rahmen der eigenen Untersuchung, nicht mit den anderen Rassen vergleichen. Aus denselben Gründen ist ein Vergleich mit der Untersuchung von HAMMERL (1982) für diese Rassen nicht möglich. Die Abbildung 22 stellt die eigenen Ergebnisse bei den klinisch unauffälligen Pferden (Gruppe 1) denen von HAMMERL (1982) gegenüber. Auffallend ist hierbei die deutliche Diskrepanz der Mittelwerte der BSR bei den Vollblütern. Die 23 Pferde der Vergleichuntersuchung befanden sich alle auf der Rennbahn und standen im Training, die 15 Patienten der eigenen Untersuchung wurden als Freizeitpferde

genutzt. HAMMERL (1982) vermutet als Ursache der von ihm bei Vollblütern gemessenen extrem langsamen BSR genetische Einflüsse. Dies scheint nach den Ergebnissen der eigenen Untersuchung eher unwahrscheinlich.

Auch v. ZIJL (1948) findet bei den Vollblütern ($SR/10=17,1\pm 0,89$) eine langsamere BSR als bei den Warmblütern ($SR/10=21,9\pm 0,61$), allerdings verwendet er eine andere Methodik (Westergren), so dass die Werte nicht direkt vergleichbar sind.

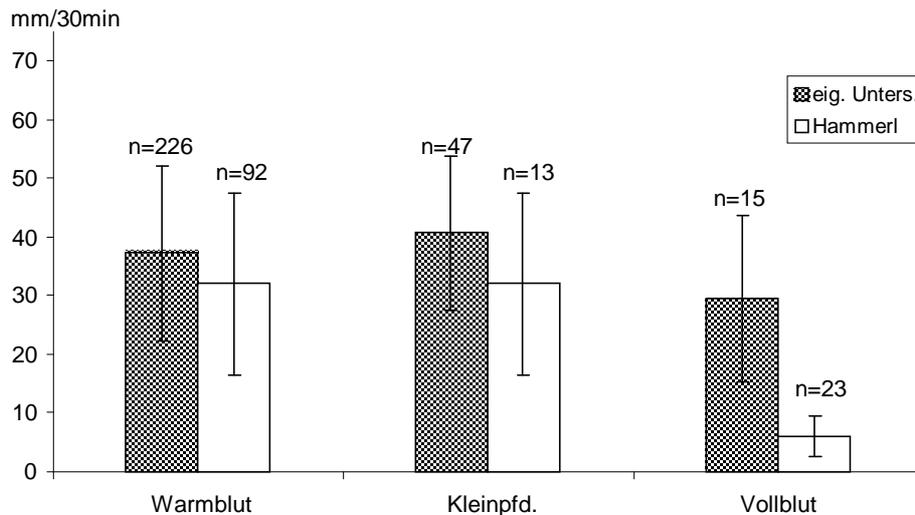


Abb. 22: Vergleich der Mittelwerte der BSR klinisch unauffälliger Pferde verschiedener Rassen zwischen der eigenen Untersuchung und der von HAMMERL (1982)

Beim Menschen (STUART und WHICHER 1988) und beim Pferd (v. ZIJL 1948, OSBALDISTON 1970, SCHWAB 1986, ALLEN 1988) wurde ein umgekehrt proportionaler Einfluss des Hämatokrits (Hkt) auf die BSR festgestellt, wobei v. ZIJL (1948) und OSBALDISTON (1970) keine Korrelationsfaktoren (KF) berechnen. Steigt der Hämatokrit, und somit auch die Zahl der Erythrozyten in der Blutprobe, behindern sich die Erythrozyten beim Absinken gegenseitig, so dass die Senkung verlangsamt ist (OSBALDISTON 1970, HAMMERL 1982). Im Rahmen der eigenen Untersuchung konnte nur bei den Vollblütern eine negative Korrelation ($r = -0,65$) ermittelt werden. ALLEN (1988) ermittelte bei 123 Vollblütern für Hkt und BSR einen Korrelationsfaktor von $r = -0,64$, obgleich er die Methode nach Westergren verwendete. Bei den hier untersuchten Warmblütern und Kleinpferden lag der KF über dem als klinisch relevant

angesehenen Wert von $r = -0,5$, bei den übrigen Rassen (Araber und Kaltblüter) wurden, vermutlich bedingt durch die geringe Probandenzahl, die Korrelationsfaktoren als nicht signifikant berechnet. Der von OSBALDISTON (1970) als „sehr dramatisch“ beschriebene Einfluss des Hkt auf die BSR zeigt sich in seiner Untersuchung in Bereichen von sehr niedrigen bzw. sehr hohen Werten. Liegt der Hämatokrit zwischen Werten von 0,28 bis 0,40 l/l, scheint der Einfluss nach Analyse seiner Ergebnisse für die Autorin jedoch eher gering. In den eigenen Untersuchung liegen, bei gleichzeitiger Betrachtung aller Rassen sehr wenige Einzelwerte außerhalb dieses Bereiches, wodurch sich der mangelnde Zusammenhang von Hkt und BSR erklären lassen könnte. SCHWAB (1986) ermittelte in seinem Patientengut, welches überwiegend aus Warmblütern besteht, ebenfalls einen negativen KF zwischen -0,5 und -1 (keine genaue Zahlenangabe). Die Untersuchung von SCHWAB (1986) beinhaltet jedoch auch Verlaufsmessungen einzelner Patienten, wobei aus der Versuchsbeschreibung nicht eindeutig hervorgeht, welche Tiere mehrfach untersucht wurden und ob diese Verlaufsuntersuchungen in seine Berechnung der KF einbezogen wurden. Möglicherweise könnten so einzelne mehrfach gemessene Patienten einen größeren Einfluss erhalten als solche Tiere, bei denen nur eine Messung vorgenommen wurde.

In den eigenen Untersuchungen konnten für die Rassen Vollblut und Kaltblut statistisch signifikante positive Korrelationsfaktoren für die Gesamtleukozytenzahl und die BSR ermittelt werden. Dies widerspricht den Ergebnissen von ALLEN (1988), der 123 Vollblüter untersuchte und keine Korrelationen feststellen konnte. Eine sinnvolle Erklärung für den hier festgestellten Zusammenhang könnte in der relativ geringen Zahl der Pferde dieser Rasse in der eigenen Untersuchung liegen, zudem unterscheiden sich auch die Methoden der eigenen und der Untersuchung von ALLEN (1988). Ein kausaler Einfluss der Leukozyten auf die BSR ist nach Kenntnis der Autorin nicht bekannt. Bei den Warmblütern und Kleinpferden, die zahlenmäßig sehr viel größere Gruppen stellen, finden sich auch in der eigenen Untersuchung keine Zusammenhänge von Gesamtleukozytenzahl und BSR. Dies deckt sich mit der Untersuchung von SCHWAB (1986), der bei 208 Pferden (v.a. Warmblüter) ebenfalls keine Korrelation von Leukozyten und BSR feststellt.

Um den bei Voll- und Kaltblütern ermittelten Zusammenhang zu überprüfen, müsste eine Untersuchung mit einer größeren Zahl an Pferden erfolgen.

REINHART und SINGH (1990) schreiben den Plasmaproteinen den größten Einfluss als anziehende Kraft auf die Erythrozyten, und somit auf die Ausprägung der Geldrollenbildung, zu. Das Fibrinogen, dem beim Menschen der größte Einfluss zugesprochen wird (STUART und WHICHER 1988), spielt in der eigenen Untersuchung auch beim Pferd eine wichtige Rolle. Es ergeben sich mit Ausnahme der Kaltblüter für alle anderen Rassen statistisch signifikante positive Korrelationsfaktoren zwischen Fibrinogen und BSR. Diese liegen bei den Warm- und Vollblütern, den Arabern bzw. Kleinpferden ($r= 0,62; 0,71; 0,71$ bzw. $0,57$) größtmäßig im gleichen Bereich wie in der Untersuchung von ALLEN (1988). Er ermittelt bei 123 Vollblütern einen KF von $r=0,61$, wobei er die Methode nach Westergren verwendet. OSBALDISTON (1970) findet hingegen keinen Zusammenhang zwischen Fibrinogen und BSR, jedoch verwendet er die Methodik nach Wintrobe.

Beim Pferd wurde in der Literatur der mathematische Zusammenhang (mittels Berechnung von KF) von Gesamtserum- und -plasmaproteinen und der BSR nach Wissen der Autorin nicht untersucht, sondern es wurden einzelne Proteinfractionen oder die Gesamtglobuline betrachtet. Es erscheint jedoch wahrscheinlich, dass bestehende Zusammenhänge einzelner Proteine sich auch in einem Zusammenhang von Gesamteiweiß und BSR zeigen. In der vorliegenden Untersuchung war dies bei den Rassen Kleinpferde [$r= 0,63$ (Plasma) bzw. $0,56$ (Serum)] und Vollblüter [$r= 0,63$ (Plasma) bzw. $0,53$ (Serum)] zu ermitteln. Die höheren Plasmawerte sind vermutlich auf den o.g. Zusammenhang von Fibrinogen und BSR zurückzuführen.

Der Zusammenhang von Albumin und BSR wurde in der Literatur widersprüchlich angegeben. LÖTSCH und MÜLLER (1962) beschreiben eine positive Korrelation ($r=0,6$) von Albumin und BSR, wobei sie das Albumin durch die Papierelektrophorese bestimmen und nur seine prozentualen Werte vergleichen. SCHWAB (1986) bestimmt die Konzentration von Albumin ebenfalls mittels Serumproteinelektrophorese. Er berechnet jedoch für die absoluten und prozentualen Albuminwerte einen negativen KF (zwischen 0 und $-0,5$, keine genaue Angabe) mit der BSR. ALLEN (1988) ermittelt ebenfalls eine negative Korrelation ($r= -0,35$), die aber nach der von ihm durchgeführten

Hkt-Korrektur der BSR nicht mehr besteht. In der eigenen Untersuchung wurde für die Warmblüter ein KF von $r = -0,23$ berechnet. Dieser Wert wurde als nicht klinisch relevant eingestuft.

Fraglich ist, ob die Angaben der Autoren vergleichbar sind, da sowohl die Bestimmung des Albumins als auch die Methodik der BSR nicht übereinstimmen. Gleichwohl zeigen zumindest die eigenen Ergebnisse, die von SCHWAB (1986) und die von ALLEN (1988), dass der Zusammenhang von Albumin und BSR eher umgekehrt proportional ist. Warum LÖTSCH und MÜLLER (1961) zu vollkommen anderen Ergebnissen kamen, ist nicht nachzuvollziehen.

Der negative Zusammenhang könnte seine Erklärung im Ablauf der Akut-Phase-Reaktion (APR) haben. Im Rahmen dieser APR kommt es beim Pferd zu einer Abnahme der Albuminkonzentration im Blut (AUER et al. 1989, MAIR et al. 1993, JAIN 1993b, FLOTHOW und DEEGEN 1994, MILLS et al. 1998). Zugleich wird bei Mensch und Pferd bei akuten Entzündungen die Beschleunigung der BSR beschrieben (SCHWAB 1986, STUART und WHICHER 1988).

Der Zusammenhang von Globulinen und BSR wurde von den Autoren in unterschiedlichem Umfang untersucht. LÖTSCH und MÜLLER (1962) berechneten für die Einzelfraktionen negative Korrelationen zwischen $r=0$ und $-0,4$, der Zusammenhang von Gesamtglobulinen und BSR wurde nicht untersucht. SCHWAB (1986) findet dagegen sowohl für die Gesamtglobuline als auch für die Einzelfraktionen (mit Ausnahme der α_1 -Globuline) signifikante positive Korrelationen. Auch ALLEN (1988) beschreibt eine positive Korrelation ($r=0,38$) von Globulinen und BSR. Einzelfraktionen der Globuline wurden von ihm nicht untersucht.

In der eigenen Untersuchung bestehen ebenfalls positive KF für die Gesamtglobuline bei allen Rassen. Auch im Falle der Einzelfraktionen sind positive KF zu berechnen. Allerdings liegen nur wenige der KF über einem Wert von $r=0,5$, was ihren tatsächlichen Einfluss auf die BSR fraglich macht.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Plasmaproteine deutliche positive Zusammenhänge mit der BSR aufweisen. Dies wird durch die Verstärkung der Geldrollenbildung der Erythrozyten durch die anziehenden Kräfte der Proteine

hervorgerufen (REINHART und SINGH 1990). Ein unerwartetes Ergebnis stellt die Beobachtung dar, dass im Rahmen der eigenen Untersuchung der Hämatokrit nur einen sehr schwachen Einfluss auf die BSR zu haben scheint. Bestehende Unterschiede in den Ergebnissen der eigenen Untersuchung und denen anderer Autoren könnten v.a. in der unterschiedlichen Messmethodik der BSR liegen.

4.2.1.3 Proteine

4.2.1.3.1 Gesamteiweiß

Die im Rahmen der vorliegenden Untersuchung ermittelten Mittelwerte und Standardabweichungen der Konzentrationen des Gesamteiweißes im Serum liegen bei allen Gruppen im Bereich des von KRAFT et al. (1997) angegebenen Referenzwertes für Pferde von 55 bis 75 g/l. Verglichen mit dem Referenzwert von JAIN (1986a) für adulte Pferde (60-75 g/l) sind die Werte geringfügig niedriger. Dies könnte mit der Tatsache zu erklären sein, dass sich in allen drei Gruppen der vorliegenden Untersuchung auch Jungtiere befanden, deren Konzentration an Gesamteiweiß niedriger ist, als das der adulten Tiere (KANEKO 1980, JAIN 1986a).

Wie auch bei den Leukozyten zeigt die große Standardabweichung bei den Ergebnissen der Gruppe 2, dass hier sowohl Patienten mit deutlich verminderter als auch solche mit deutlich erhöhter Konzentration an GE zu finden sind. Dies ist durch die Gruppenzusammensetzung zu erklären. In der Gruppe 2 befinden sich zum einen Pferde mit akuten bis chronischen Entzündungsreaktionen, welche zu einer Erhöhung der Plasma- bzw. Serumproteine führen (SCHALM 1975b, FLOTHOW und DEEGEN 1994, Kraft et al. 1997b). Andererseits umfasst die Gruppe 2 auch Pferde, die an akuten bis chronischen Enteritiden litten. Diese führen i.d.R. über Verlust bzw. Malresorption zu einer Hypoproteinämie (JAIN 1986d, FLOTHOW und DEEGEN 1994, KRAFT et al. 1997b).

4.2.1.3.2 Albumin

Die Mittelwerte der Konzentrationen an Albumin im Plasma entsprechen im Falle der Gruppen 1 und 3 den Angaben in der Literatur, wonach der Referenzbereich bei gesunden adulten Tieren bei 25 bis 45 g/l liegt. Bei Pferden, welche an COB erkrankt sind (Gruppe 3) sind Veränderungen der Albuminkonzentration nicht zu erwarten (CHABCHOUB und GUELFY 1991).

Der Mittelwert der Gruppe 2 liegt mit $23,0 \pm 5,7$ g/l knapp unter dem unteren Grenzwert des Referenzbereiches. Die große Standardabweichung zeigt auch hier, dass sich in der Gruppe 2 sehr viele Pferde befinden, bei denen die Albuminkonzentration im Referenzbereich liegt. Gleichwohl zeigen die Ergebnisse, dass es im Rahmen einer entzündlichen Erkrankung zu einer Verminderung der Albuminkonzentration im Blut kommt. Dies bestätigt die Ergebnisse anderer Autoren (ALLEN und KOLD 1988, AUER et al. 1989, JAIN 1993b, FLOTHOW und DEEGEN 1994, MILLS et al. 1998), und bestätigt die Bezeichnung des Albumin als sogenanntes „negatives“ Akut-Phase-Protein (PEPYS und BALTZ 1983).

4.2.1.3.2 Globuline

Aus der Methodik der Globulinbestimmung (Subtraktion des Albumingehaltes von der GE-Konzentration) ergibt sich, da die Mittelwerte der Konzentrationen von GE und Albumin der Gruppen 1 und 3 im jeweiligen Referenzbereich liegen, dass sich auch die Mittelwerte der Konzentrationen der Globuline in ihrem Referenzbereich befinden müssen. Für die Gruppe 2 ergibt sich ein statistisch signifikant höherer Wert, da der Mittelwert der GE-Konzentration im Referenzbereich liegt, der Mittelwert der Albuminkonzentration aber statistisch signifikant erniedrigt ist. Diese Erhöhung der Globulinkonzentrationen ist mit der Synthese der Akut-Phase-Proteine (ANDUS et al. 1989, JAIN 1993b) und vermehrter Synthese von Immunglobulinen, besonders bei chronischen Entzündungen (JEFFCOTT 1971, SCHALM 1975b, WUIJCKHUISE-SJOUKE 1984) zu erklären.

Zusätzlich zur Bestimmung des GE sollte auch die Konzentration des Albumins bestimmt werden, um eine Dysproteinämie in Form einer Störung des Verhältnisses von Albumin und Globulinen erkennen zu können. Eine reduzierte Albuminkonzentration bei einer GE-Konzentration im Referenzbereich bedeutet zugleich eine Erhöhung der Globuline, diese Befunde gemeinsam lassen auf eine entzündliche Erkrankung schließen.

4.2.1.3.3 Fibrinogen

Die im Rahmen der eigenen Untersuchung ermittelten Mittelwerte und Standardabweichungen der Fibrinogenkonzentration lassen sich lediglich mit dem Referenzbereich von KRAFT et al. (1997) vergleichen, da dies nach Kenntnis der Autorin die einzige Literaturangabe darstellt, in der die Methodik nach Clauss zur Ermittlung der Fibrinogenkonzentration beim Pferd Anwendung findet. Sowohl die Werte der Gruppe 1 als auch der Gruppe 3 liegen in diesem Referenzbereich (1,5 - 3,3 g/l). Der Mittelwert der Gruppe 2 liegt mit 4,0 g/l statistisch signifikant höher. Diese Ergebnisse bestätigen die Angaben in der Literatur, dass entzündliche Prozesse mit einer Erhöhung des Fibrinogens einhergehen (SCHALM et al. 1970, WUIJKHUISE-SJOUKE 1984, ALLEN und KOLD 1988, MILLS et al. 1997, BARTON et al. 1998), die maximal das 2 bis 3,5-fache des Normalwertes erreicht (WUIJKHUISE-SJOUKE 1984, ALLEN und KOLD 1988). Diese Beobachtung konnte auch in der vorliegenden Untersuchung gemacht werden. Der höchste gemessene Wert lag bei 10,4 g/l. Die erhöhten Konzentrationen wurden in der vorliegenden Untersuchung bei bakteriellen Infektionen ermittelt (Druse, Pleuro-/Bronchopneumonie, Enteritis, Abszesse, Phlegmonen). Dies entspricht den Angaben der Literatur (SCHALM et al. 1970, WUIJKHUISE-SJOUKE 1984, ALLEN und KOLD 1988, TOPPER und PRASSE 1998, BARTON et al. 1998). Die Aussage von WUIJKHUISE-SJOUKE (1984), bei Werten über 10 g/l sei die Prognose schlecht bis infaust konnte in der eigenen Untersuchung nicht bestätigt werden. Werte von >10 g/l wurden nur in 2 Fällen ermittelt, beide Tiere konnten geheilt entlassen werden. Es ist jedoch anzumerken, dass in der Untersuchung von WUIJKHUISE-SJOUKE (1984) eine andere Methode der Fibrinogenbestimmung gewählt wurde, was die Vergleichbarkeit von Werten praktisch

unmöglich macht. In der eigenen Untersuchung war der von WUIJKHUISE-SJOUKE (1984) und ALLEN und KOLD (1988) beschriebene Zusammenhang von Schwere der Erkrankung und Konzentration des Fibrinogens nicht überzeugend nachzuvollziehen. Eine mögliche Erklärung könnte im Bestimmungszeitpunkt der Fibrinogenkonzentration liegen. Wie bereits erwähnt, wurde von jedem Patient nur eine Blutuntersuchung berücksichtigt, die unter Umständen vor der maximalen Erhöhung des Fibrinogens nach 5 bis 7 Tagen (WUIJKHUISE-SJOUKE 1984, ALLEN und KOLD 1988) erfolgt war. Die Eignung der Fibrinogenbestimmung zur Kontrolle von Therapie und/oder körpereigener Heilung (SCHALM 1975b, WUIJKHUISE-SJOUKE 1984) erscheint etwas fraglich, da erhöhte Werte bis 50 Tage nach Beginn der Erkrankung gemessen werden können (AUER et al. 1989). Die in der Literatur beschriebene Altersabhängigkeit des Fibrinogens (BRUGMANNNS et al. 1998) wurde im Rahmen der eigenen Untersuchung nicht überprüft, da keine gesunden Fohlen untersucht wurden. Beim Vergleich der von BRUGMANNNS et al. (1998) angegebenen Werte der drei von ihnen gewählten Altersgruppen zeigt sich, dass die Werte sehr dicht beieinander und zudem im von ihnen festgelegten Referenzbereich liegen. Im Zusammenhang mit den Ergebnissen anderer Autoren, die keinen Einfluss des Alters auf die Fibrinogenkonzentration ermitteln (SCHALM et al. 1970, JAIN 1986d), erscheinen altersabhängige Unterschiede als zumindest für den Kliniker unbedeutend.

Die in der eigenen Untersuchung ermittelte Korrelation von Fibrinogen und den α -Globulinen ($r=0,53$) könnte darauf beruhen, dass es sich sowohl beim Fibrinogen als auch den α -Globulinen um Akut-Phase-Proteine handelt, die während der Akut-Phase-Reaktion vermehrt synthetisiert werden. Diese Akut-Phase-Proteine wandern in der Elektrophorese fast ausnahmslos in der α -Globulinfraktion.

Die Bestimmung der Fibrinogenkonzentration ist laut Literatur und nach den Ergebnissen der eigenen Untersuchung ein wichtiger Parameter in der Diagnostik entzündlicher Erkrankungen. Trotz der Heterogenität der Gruppe 2, in der entzündliche Erkrankungen von unterschiedlicher Genese und Erkrankungsdauer zusammengefasst wurden, ist eine deutliche Erhöhung der durchschnittlichen Fibrinogenkonzentration festzustellen.

4.2.2 SERUMPROTEINELEKTROPHORESE (SPE)

4.2.2.1 Einteilung der Fraktionen

Wie bereits im Schrifttum eingehend wiedergeben (Kap. 2.3.2; S. 44) hat sich in der Auswertung der SPE beim Pferd kein Standard durchgesetzt. Die Einteilung der Fraktion variiert je nach Untersucher. Hierbei werden zwischen 5 und 10 Einzelfraktionen unterschieden. Die Anzahl der Fraktionen ist jedoch unabhängig von dem gewählten Träger (Zellulose-Azetat-Folie oder Agarose-Gel). Die wichtigsten Unterschiede in der Interpretation der Elektropherogramme liegen im Bereich zwischen kathodaler Seite des Albumin und dem in Richtung der Kathode folgenden nächsten Peak, dem α -Globulin. Hier wird beim Pferd die sogenannte „Schulter“ am kathodalen Schenkel des Albumin beschrieben (BIERER 1969, MASSIP und FUMIÈRE 1974, KIRK et al. 1975, KRISTENSEN und FIRTH 1977, BIAGI 1980, KEAY und DOXEY 1981, MATTHEWS 1982), die nach KRISTENSEN und FIRTH (1977) immer vorhanden ist. In der eigenen Untersuchung war die Schulter in 79,8 % (272 von 341) der Fälle eindeutig zu erkennen. Da das Albumin keine Heterogenität aufweist (KRISTENSEN und FIRTH 1977), muss es sich bei dieser Schulter um eine Überlappung der Bande des Albumin mit der einer Globulinfraktion handeln. Von anderen Autoren wird diese Schulter überwiegend ignoriert. KANEKO (1980) erkennt zwar die Schulter, beschreibt auch ihre deutlichere Ausprägung im Verlauf der Akut-Phase-Reaktion, gleichwohl wird die Schulter dem Albumin zugerechnet. Durch diese unterschiedlichen Interpretationen von Albumin und v.a. α -Globulinen lassen sich Referenzwerte aus den unterschiedlichen Untersuchungen praktisch nicht vergleichen, da die Benennungen der Unterfraktionen der α -Globuline nicht mehr übereinstimmen. Ein Vergleich ist nur dann möglich, wenn anhand eines Elektropherogramms die Einteilung der Fraktionen dargestellt wird, um zu überprüfen, ob sie mit der eigenen Methodik übereinstimmt. Betrachtet man die Referenzwerte in den verschiedenen Quellen wird deutlich, dass bedingt durch die unterschiedliche Zahl an Fraktionen und unterschiedliche Beurteilung des Überganges zwischen Albumin und Globulinen (o.g. Schulter), ein Vergleich der Werte zumeist unmöglich ist. Problematisch stellt sich auch die Tatsache dar, dass nur in wenigen Fällen (PIERCE 1975, KRISTENSEN und FIRTH 1977, MATTHEWS 1982, FLOTHOW und DEEGEN 1994) prozentuale und absolute

Werte der Fraktionen angegeben werden. Es finden sich praktisch keine Untersuchungen, bei denen Anzahl der Fraktionen, Methodik und Einteilung der Fraktionen übereinstimmen und Angaben über prozentuale und absolute Werte gemacht werden. Eine Übersicht der Ergebnisse der aufgeführten Untersuchungen ist im Anhang tabellarisch wiedergegeben (Tab. Xa und Xb, Anhang S. 14-15). Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung wurde ein weiteres Problem deutlich: bei mehrfacher Wiederholung der Fraktionseinteilung am gleichen Elektropherogramm durch den gleichen Untersucher ergeben sich unterschiedliche Werte bei den Unterfraktionen der a- und b-Globuline. Die Werte der a- und b-Gesamtglobuline unterscheiden sich jedoch praktisch nicht bei diesen Kontrollen, weil die Abgrenzung zwischen den Hauptfraktionen a-, b- und g-Globuline i.d.R. problemlos möglich ist. Weiterhin ist anzumerken, dass es in der eigenen Untersuchung und auch in der von BIAGI (1980) schwierig bzw. nicht möglich war, innerhalb jedes Elektropherogramms 6 Proteinfractionen exakt zu unterscheiden. Hieraus kann der Schluss gezogen werden, dass die Einteilung in Unterfraktionen fehlerträchtig sein kann, und möglicherweise wenig sinnvoll ist.

Aus den angeführten Gründen ist eine Übernahme von Referenzwerten aus der Literatur nicht möglich, jeder Untersucher bzw. jedes Labor muss eine Methodik der Fraktionseinteilung erarbeiten und eigene Referenzbereiche ermitteln. Um Fehlerquellen zu minimieren, sollten die Globulinfraktionen in möglichst wenige Unterfraktionen weiterunterteilt werden.

4.2.2.2 Veränderungen der Proteinfractionen

4.2.2.2.1 Albumin

Im Rahmen der eigenen Untersuchung zeigt sich auch bei der elektrophoretisch bestimmten Albuminkonzentration, dass der Mittelwert der Gruppe 2 deutlich unter dem der Gruppen 1 und 3 liegt. Dieses Ergebnis ist bereits in Kap. 4.2.1.3.2 (S. 96) diskutiert worden, und wird aus diesem Grund an dieser Stelle nicht weiter ausgeführt. Vergleicht man jedoch die direkt im Plasma gemessenen Albuminwerte mit denen mittels

Elektrophorese bestimmten fällt auf, dass bei allen drei Gruppen die Mittelwerte aus der SPE niedriger sind, als die direkt gemessenen. Ein möglicher Grund könnte die Interpretation der „Schulter“ darstellen, die in vorliegender Untersuchung den α -Globulinen zugerechnet wurde. Geht man von der Tatsache aus, dass sich an dieser Stelle auf dem Träger das Albumin und ein Teil der α_1 -Fraktion überlagern, „fehlt“ dem Albumin sozusagen ein Teil, wenn die übliche „Drop-line“-Methode (siehe Kap. 2.3.2; S. 44 ff.) angewandt wird. Von Interesse könnte es sein, die Albuminkonzentration aus dem Elektropherogramm mittels Gaußscher Näherung (siehe Kap. 2.3.2; S. 44 ff.) zu ermitteln. Möglicherweise würden in diesem Fall die Werte besser übereinstimmen.

4.2.2.2.2 α -Globuline

Entzündliche Erkrankungen führen zu einer Erhöhung der α -Globuline. Dies wird sowohl bei akuten Entzündungen (KANEKO 1980, JAIN 1993b, FLOTHOW und DEEGEN 1994) als auch bei subakuten und chronischen Entzündungen (JEFFCOTT 1971, FLOTHOW und DEEGEN 1994) beschrieben. Diese Erhöhung ist auch in den eigenen Untersuchung festzustellen. Der prozentuale und absolute Gehalt der α -Globuline ist bei Pferden der Gruppe 2 im Mittel signifikant größer als bei der Kontrollgruppe. Diese höheren Werte beruhen ausschließlich auf einer Erhöhung der α_2 -Fraktion. Pferde, die an COB erkrankt sind, zeigen keine von der Kontrollgruppe abweichenden Konzentrationen. Dies wurde auch von anderen Autoren berichtet (CHABCHOUB und GUELFY 1991).

4.2.2.2.3 β -Globuline

Die in der eigenen Untersuchung ermittelte Erhöhung der β -Globuline bei der Gruppe 2 beruht praktisch ausschließlich auf einer Erhöhung der β_2 -Fraktion. Eine Erhöhung dieser Fraktion kann durch die Erhöhung der Konzentration an Immunglobulinen (IgM, IgG(T) und IgA) hervorgerufen sein, da diese Immunglobuline in der β_2 -Fraktion wandern (MAKIMURA et al. 1975). Eine Zunahme der Immunglobuline ist i.d.R. Zeichen einer subakuten bis chronischen Entzündung, wobei IgM und IgA als erstes ansteigen (JAIN 1993b). Im Patientengut der Gruppe 2 befinden sich v.a. Pferde mit subakuten Entzündungsreaktionen. Aus diesem Grund könnten die β -Globuline der

Gruppe 2 im Mittel höher sein als bei den Kontrolltieren. Die COB führt nicht zu Veränderungen der b-Globuline (CHABCHOUB und GUELFY 1991), dies kann durch die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung bestätigt werden.

4.2.2.2.4 g-Globuline

Eine Erhöhung der g-Globuline wird häufig als typisches Zeichen einer chronischen Entzündung gedeutet (JEFFCOTT 1971, SCHALM 1975a, KANEKO 1980, WUIJKHUISE-SJOUKE 1984, JAIN 1993b, FLOTHOW und DEEGEN 1994). Da sich im Patientengut der eigenen Untersuchung nur wenige Patienten mit chronischen Entzündungen befinden, sind diese Erhöhungen anhand der Mittelwerte nicht zu erkennen. Jedoch weist der Mittelwert der Gruppe 2 einen sehr umfangreichen Streufaktor auf, dies spricht für das Auftreten sehr hoher Werte. Eine Beispiel hierfür wäre ein Patient mit Abszess mit g-Globulinwerten von 27,4 g/l bzw. 29,5% (Abb. 13, Kap. 3.2.2.2). Alle im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Pferde mit Abszessbildung wiesen erhöhte g-Globulinkonzentrationen auf. Die Gruppe mit den an COB erkrankten Pferden zeigt keine Erhöhung der g-Globuline, was den Angaben von ROBINSON et al. (1996) und VANDENPUT und LEKEUX (1996) entspricht. Andere Autoren hingegen ermitteln eine Erhöhung der Werte (CHABCHOUB und GUELFY 1991, FLOTHOW und DEEGEN 1994), wobei in der Untersuchung von CHABCHOUB und GUELFY (1991) diese Erhöhung nur bei knapp der Hälfte der untersuchten Pferde festgestellt wurde.

Der Einsatz der Serumproteinelektrophorese in der Diagnostik entzündlicher Erkrankungen des Pferdes bleibt durch die relativ aufwendige Methodik und die hohen Anschaffungskosten der Bestimmungsgeräte größeren Laboren vorbehalten. Zudem lässt sich feststellen, dass die Serumproteinelektrophorese eine unspezifische Bestimmungsmethodik darstellt, und nur sehr vereinzelt Krankheiten beim Pferd (CID, monoklonale Gammopathie) zu spezifischen pathognomonischen Veränderungen des Elektropherogramms führen (KANEKO 1980). Sinnvoll erscheint der Autorin der Einsatz der SPE bei Verdacht einer entzündlichen Veränderung, wenn die Bestimmung der üblichen Entzündungsparameter (Leukozyten, Fibrinogen) ohne eindeutigen Befund bleibt. Hier kann das Elektropherogramm wichtige Hinweise auf eine bestehende

Dysproteinämie geben, die durch eine Erhöhung der Akut-Phase-Proteine oder der Immunglobuline hervorgerufen wird.

4.2.3 LAGERUNG VON SEREN

Wie die Ergebnisse des Lagerungsversuchs zeigen, kann die Bestimmung von Gesamteiweiß und Albumin mittels Biuret bzw. Bromcresolgrün durch das Einfrieren und Lagern der Serumproben bei -18°C beeinflusst werden. Die Ergebnisse der Messungen vor und nach Einfrieren und Lagerung unterscheiden sich erheblich voneinander. Die Ursachen für diese Abweichungen konnten im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht weitergehend untersucht werden. Ein Laborfehler kann ausgeschlossen werden, da die Messungen von routiniertem Laborpersonal ausgeführt wurden und eine tägliche Kontrolle und Eichung der Messgeräte erfolgt. Ähnliche Beobachtungen über Proteinveränderungen wurden nach Wissen der Autorin in der Literatur nicht beschrieben. Allein SATOH et al. (1995) beschreiben, dass die Serumkonzentration von Serum Amyloid A durch die Aufbewahrung der Serumproben bei -20°C nicht beeinflusst wird.

Aufgrund der Ergebnisse des Einfrierversuches sollten Konzentrationen von Gesamteiweiß und Albumin mit den hier verwendeten Messmethoden immer in frischen Serumproben ermittelt werden. Die Bestimmung aus gefrorenen Serumproben kann sehr fehlerträchtig sein. Von Bedeutung ist die Bestimmung der Eiweißkonzentrationen v.a. für die Ermittlung absoluter Konzentrationen der mittels Serumproteinelektrophorese ermittelten Proteinfractionen, da das Serum bis zur Durchführung der Elektrophorese i.d.R. tiefgefroren gelagert wird. Ob Unterschiede der Referenzwerte der absoluten Proteinfractionen in der Literatur mit der Bestimmung der Gesamteiweißkonzentration aus gefrorenen Proben zu erklären sein könnten, lässt sich meist nicht eruieren, da sich i.d.R. keine Angabe findet, zu welchem Zeitpunkt die Konzentration an GE ermittelt wurde.

Werden Gesamteiweiß- und Albuminkonzentrationen mittels Biuret bzw. Bromcresolgrün bestimmt, sollten die Messungen in frischen, nicht tiefgefrorenen Serumproben erfolgen.

4.2.4 TESTSICHERHEIT

Betrachtet man die Sensitivitäten der einzelnen untersuchten Parameter (Gesamtleukozytenzahl, Fibrinogen, Gesamteiweiß und Albumin) wird deutlich, dass jeder Parameter für sich nur in unbefriedigenderer Weise richtig positive Ergebnisse erbringt.

Je nach Referenzbereich zeigen nur 64 bzw. 48 % der kranken Tiere ein abweichendes Ergebnis bei Zählung der Gesamtleukozyten. Dies bedeutet gleichzeitig, bei 36 bzw. 52 % der kranken Tiere liegt ein falsch negatives Ergebnis vor, die Erkrankung könnte somit unerkannt bleiben.

Bei 60 % der kranken Pferde ergibt die Bestimmung des Fibrinogens ein richtig positives Ergebnis, aber auch hier sind 40 % der Fälle falsch negativ.

Bei der Berechnung der Sensitivität der Bestimmung von GE und Albumin wird deutlich, dass diese Parameter allein zur Erkennung richtig positiver Ergebnisse vollkommen ungeeignet sind: 62 bzw. 82 % der Werte zeigen ein falsch negatives Ergebnis.

Werden jedoch sowohl GE als auch Albumin bestimmt, zeigen immerhin 45% der Fälle ein richtig positives Ergebnis, die Zahl der falsch negativen Fälle sinkt somit auf 55%.

Anders verhält es sich bei der Berechnung der Spezifität. Hier werden durchweg bei allen Parametern sehr gute Werte erreicht, d.h. in nur einer geringen Zahl der Fälle sind falsch positive Ergebnisse zu beobachten. Bei der Gesamtleukozytenzahl findet sich je nach Referenzbereich bei 18 bzw. 4% der Pferde ein falsch positives Ergebnis. Die Bestimmung des Fibrinogens führt in 12 % der Fälle zu einem falsch positiven Ergebnis, beim GE werden 29 % der Fälle falsch positiv eingestuft. Ein optimales Ergebnis wird bei der Messung der Albuminkonzentration erreicht. Hier lag in keinem Fall ein falsch positives Ergebnis vor. Allerdings ist hier zu berücksichtigen, dass auch andere Erkrankungen als Entzündungen wie z.B. Mangelernährung zu einer Verminderung der Albuminkonzentration führen können.

Fasst man nun verschiedene Untersuchungsmethoden zusammen, zeigt sich, dass bei gleichzeitiger Bestimmung von Leukozytengesamtzahl und Fibrinogen 83% (Leukozytenreferenzwert $5-10 \times 10^9/l$) bzw. 79 % (Leukozytenreferenzwert $5-12 \times 10^9/l$) der Untersuchungen ein richtig positives Ergebnis haben. Die Zahl der falsch negativen Werte ist mit rund 20% deutlich herabgesetzt. Die Kombination der Bestimmung von Leukozytengesamtzahl und Albumin erbringt nur unbefriedigende Verbesserungen der Werte (Sensitivität = 0,68 und Spezifität = 0,98).

Bei der Bestimmung aller 3 Parameter (Leukozytengesamtzahl, Fibrinogen und Albumin) ergeben sich praktisch identische Werte wie im Falle der Kombination von Leukozytengesamtzahl und Fibrinogen.

Eine Berechnung von Sensitivität und Spezifität für die mittels Serumproteinelektrophorese ermittelten Globulinfractionen ist in Ermangelung gesicherter Referenzwerte nicht sinnvoll. Zudem erscheint der Autorin wie bereits erwähnt (siehe 4.2.2.2; S. 98 ff.) die Analyse des Elektropherogramms selbst wichtiger als die Betrachtung der absoluten und prozentualen Werte der Globulinfractionen.

Aus diesen Beobachtungen lässt sich schlussfolgern, dass die gleichzeitige Bestimmung von Leukozytengesamtzahl und Fibrinogen in etwa 80 % der Fälle ein richtig positives Ergebnis für das Vorliegen einer entzündlichen Erkrankung ergibt.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Ziel der hier vorliegenden Untersuchung war es zu ermitteln, ob und wenn ja welche Blutparameter bei Untersuchung einer einzelnen Blutprobe am besten geeignet sind, einen Hinweis auf einen entzündlichen Prozess, unabhängig von der Dauer der bestehenden Erkrankung, zu geben.

Untersucht wurden die Parameter Blutsenkungsreaktion (BSR), Leukozytengesamtzahl, Differentialblutzellbild, Gesamteiweiß, Albumin, Globuline, Fibrinogen und Serumproteinelektrophorese (SPE). Die Blutproben stammten von Pferden, die aufgrund klinischer Untersuchungen in 3 Gruppen eingeteilt wurden: Gruppe 1 waren klinisch unauffällige Patienten (n=300), Gruppe 2 enthielt Patienten mit klinisch bestätigter Entzündung (n=107) und in Gruppe 3 (n=93) wurden Pferde mit chronisch obstruktiver Bronchitis (COB) zusammengefasst.

Die BSR ist nach Literaturangaben durch die beim Pferd physiologisch beschleunigte Senkung und den Einfluss z.B. von Rasse und Hämatokrit in der Diagnostik entzündlicher Erkrankungen nur bedingt einzusetzen. In der hier vorliegenden Untersuchung konnten keine diagnostisch verwertbaren Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden. Der beschriebene Einfluss der Rasse war nicht nachzuweisen.

Die Ergebnisse der Leukozytengesamtzahl und des Differentialblutzellbildes zeigten bei Untersuchung in einer Einzelprobe keine relevanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Werden Leukozytenzahlen $>12 \times 10^9/l$ als sicheres Zeichen für das Vorliegen einer Entzündung gedeutet, ergibt die Untersuchung bei 52% der Patienten der Gruppe 2 ein falsch negatives Ergebnis. Die eigenen Untersuchungen bestätigen des Weiteren Angaben in der Literatur, dass beim Pferd deutlich weniger umfangreiche entzündlich bedingte Reaktionen der Leukozyten auftreten als z.B. bei Karnivoren.

Anhand eines Lagerungsversuches konnte nachgewiesen werden, dass die Bestimmung der Blutkonzentrationen von Gesamteiweiß und Albumin aus tiefgefrorenen Serumproben unzuverlässig ist. Ursachen für die abweichenden Ergebnisse vor bzw. nach Einfrieren sollten im Rahmen einer weiteren Untersuchung geklärt werden.

Die Messung der Proteinkonzentrationen erfolgte im Rahmen der eigenen Untersuchung innerhalb weniger Stunden nach Blutentnahme. Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass die in der Literatur beschriebenen entzündlich bedingten Dysproteinämien mit Ver-

minderung der Albumin- und Erhöhung der Globulinkonzentration lediglich bei 45% der Pferde der Gruppe 2 nachzuweisen waren. Gleichwohl lag der Mittelwert der Albuminkonzentration der Gruppe 2 hoch signifikant unter dem Mittelwert der Gruppe 1.

Ein eindeutiger Nachweis, welche Globulinfraktion die Erhöhung der Gesamtglobuline verursacht, kann nur durch die SPE erbracht werden. So wurde bei Gruppe 2 eine hoch signifikante durchschnittliche Erhöhung sowohl der a- als auch der b-Globuline ermittelt. Durch die Unterschiede bei der Einteilung der Fraktionen anhand des Elektropherogramms ist ein Vergleich von Referenzwertangaben innerhalb der Literatur und mit den eigenen Werten nicht möglich. Angaben verschiedener Autoren, wonach im Verlauf der Entzündung zunächst die a- und bei zunehmender Chronizität die b- und letztendlich auch die g-Globuline ansteigen, konnten wegen des hier gewählten Untersuchungsaufbaus nicht bestätigt werden.

Aufgrund von Verlaufsuntersuchungen wurde von verschiedenen Autoren gefolgert, dass das Fibrinogen beim Pferd ein Akut-Phase-Protein (APP) darstellt. Die Bestimmung der Fibrinogenkonzentration erwies sich in der eigenen Untersuchung auch bei Messung einer Einzelprobe zur Erkennung eines entzündlichen Prozesses als sehr hilfreich. Der Mittelwert der Gruppe 2 (4,03 g/l) lag trotz des relativ hohen Streufaktors von 1,52 statistisch hoch signifikant über dem der Gruppe 1 (2,52 g/l; SF 1,31) und auch dem Referenzbereich von 1,5-3,5 g/l. Gleichwohl führt die alleinige Bestimmung des Fibrinogens bei 40% der Patienten der Gruppe 2 zu einem falsch negativen Ergebnis. Werden jedoch Gesamtleukozytenzahl und Fibrinogen gemeinsam betrachtet, sinkt die Gefahr eines falsch negativen Ergebnisses auf rund 20%.

Die Literaturlauswertung zeigte, dass in Zukunft nach Etablierung einer geeigneten Messmethode möglicherweise auch das APP Serum Amyloid A (SAA) in der Diagnostik entzündlicher Erkrankungen beim Pferd wichtige Hinweise auf Schwere und bestehende Dauer des Prozesses geben kann. Es fehlen jedoch noch Untersuchungen mit umfangreichem Patientengut. Die bisher verfügbaren Ergebnisse stammen überwiegend aus experimentellen Studien. Interessant und sinnvoll wären insbesondere vergleichende Studien bezüglich der Reaktionen von Gesamtleukozyten, Fibrinogen und SAA im Verlauf eines entzündlichen Prozesses. Möglicherweise könnte die Anzahl falsch negativer Ergebnisse noch deutlicher reduziert werden.

Nach den Ergebnissen der eigenen Untersuchungen bestanden keine klinisch relevanten Unterschiede in den genannten Parametern zwischen Gruppe 1 und 3. Daher sind diese Blutuntersuchungen nicht geeignet, die Diagnose der COB zu bestätigen.

Als Schlussfolgerungen ergeben sich aus den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit:

- 1. bei dem Verdacht einer entzündlichen Veränderung beim Pferd sollte die Bestimmung der Fibrinogenkonzentration in die Routineblutuntersuchung einbezogen werden,*
- 2. die Bestimmung der Gesamteiweißkonzentration sollte immer durch die Bestimmung der Albuminkonzentration ergänzt werden,*
- 3. Konzentrationen von GE und Albumin sollten nicht in tiefgekühlt gelagerten Proben bestimmt werden,*
- 4. die Bestimmung der Blutsenkungsreaktion ist beim Pferd zumindest mit der hier gewählten Methodik wertlos.*

6. SUMMARY

The aim of the study was to determine the most suitable hematological or biochemical parameter for detection of an inflammatory disorder in horses, regardless of duration of the disease and by using just one sample.

The following parameters were examined: erythrocyte sedimentation rate (ESR), white blood cell (WBC) and differential blood count, total protein, albumin, globulins, fibrinogen and serumproteinelectrophoresis (SPE). Samples were derived from horses divided into 3 groups, according to the results of the clinical examination: group 1 were horses with normal clinical findings (n=300), group 2 consisted of patients with clinically confirmed inflammation (n=107) and in group 3 (n=93) horses diagnosed as suffering from chronic obstructive pulmonary disease (COPD) were summarized.

The use of the ESR for diagnosing inflammatory disorders in horses is discussed in the literature because of the physiologically accelerated settling of erythrocytes in this species and the effects of breed and hematocrit. In the present study, there were no diagnostically usable differences between the 3 groups. An influence of breed was not confirmed.

The results of WBC and differential blood counts showed no relevant differences between the 3 groups. If the upper limit of the normal WBC range is set at $12 \times 10^9/l$ in group 2, 52% of horses had a wrong negative result. Furthermore, the results of the present study confirm the observation, that changes in WBC and differential blood counts generally are less marked in horses, than for example in carnivores.

In this study, storage of serum at -18°C has proven, that determination of total protein respectively albumin (methods: biuret resp. bromcresolgreen) was unreliable in frozen samples. Causes for the differences between results before and after storage are unknown and should be evaluated in a following study.

In the present study, total protein and albumin serum concentrations were determined a few hours after taking the samples. The results showed, that dysproteinemias with decrease of albumin and increase of globulins, which are said to be typical in inflammatory conditions, were present in only 45% of horses in group 2. Nevertheless the mean concentration of albumin in group 2 was significantly reduced in comparison to group 1.

Measurement of fractions of globulins was achieved by electrophoresis. In this thesis, there was a significant increase in a- and b-globulins in group 2. It is impossible to compare absolute or relative globulin values between studies because of highly individual division of the electropherogram into fractions. Raised values of g-globulins in chronic inflammation have been reported, but could not be detected in this study probably because of varying duration of the disease in group 2.

Several authors concluded from their studies of the course of continued inflammatory disease, that fibrinogen is an acute-phase-protein (APP) in horses. In the present study, measurement of fibrinogen was helpful to detect an inflammatory disorder, even by examining just a single sample. The mean concentration of fibrinogen (4.03 g/l) in the group 2 was significantly raised in comparison to group 1 (2.52 g/l) and also higher than the reference range (1.5-3.5 g/l). However, even measurement of fibrinogen showed 40% wrong negative results in group 2. Combined consideration of WBC count and fibrinogen reduces the possibility of wrong negative results to 20%.

The analysis of references showed, that the APP serum amyloid A (SAA) could become an important diagnostic aid to specify degree and duration of inflammation. However, a routinely usable method for measurement of SAA in horses still needs to become established. Studies comparing WBC count, fibrinogen and SAA are of special interest and might further reduce the possibility of wrong negative results in laboratory diagnosis of inflammation in horses.

In the present study, there were no relevant differences in the chosen parameters between group 1 and 3. These examinations of bloodsamples are not suitable for diagnosing chronic obstructive pulmonary disease (COPD).

The conclusions of the present study are as follows:

- 1. measurement of fibrinogen should be added to the routine diagnostic procedures in cases of suspected inflammation in horses,*
- 2. measurement of albumin should be added to that of total protein,*
- 3. measurements of total protein and albumin have to take place in samples which are not stored frozen, and*
- 4. measurement of ESR in horses is worthless at least by using the method of this study.*

7. **LITERATURVERZEICHNIS**

Ahmed, A. A.; Nordlind, K.; Schultzberg, M. und Liden, S. (1994)
Interleukin-1 a- and b-, Interleukin-6- and tumor-nekrosis-factor-like immunoreactivities
in chronic granulomatous skin conditions
Acta Derm. Venereol. 74, 435-440

Allen, B. V. und Archer, R. K. (1971)
Haptoglobins in the horse
Vet. Rec. 89, 106-109

Allen, B.V.; Powell, D.G. und Singleton; W.B. (1982)
Value and limitations of haematology in viral infections in horses
Vet. Rec. 110, 348

Allen, B. V. (1988)
Relationships between the erythrocyte sedimentation rate, plasma proteins and viscosity,
and leucocyte counts in Thoroughbred racehorses
Vet. Rec. 122, 329-332

Allen, B. V. und Kold, S. E. (1988)
Fibrinogen response to surgical tissue trauma in the horse
Equine vet. J. 20, 441-443

Amborski, G. F.; Bello, T. R. und Torbert, B. J. (1974)
Host Response to experimentally induced infections of *Strongylus vulgaris* in parasite-
free and naturally infected ponies
Am. J. Vet. Res. 35, 1181-1188

Andrews, A. D.; Reagan, W. J. und DeNicola, D. B. (1994)
Plasma Fibrinogen in recognizing equine inflammatory disease
Cont. Educ. 10, 1349-1356

Andus, T.; Heinrich, P. C. und Castell, J. C. (1989)
Interleukin-6: ein Schlüsselhormon der Akutphase-Reaktion
Dtsch. med. Wschr. 114, 1710-1716

Athens, J. W.; Haab, O. P. und Raab, S. O. (1961)
Leukokinetik studies. IV. The total blood, circulating and marginal granulocyte pools
and the granulocyte turnover rate in normal subjects
J. Clin. Invest. 40, 989-993

- Auer, D. E.; Ng, J. C.; Thompson, H. L. und et al. (1989)
Acute phase response in horses: changes in plasma cation concentrations after localised tissue injury
Vet. Rec. 124, 235-239
- Barton, M. H.; Morris, D. D.; Norton, N. und Prasse, K. W. (1998)
Hemostatic and fibrinolytic Indices in neonatal foals with presumed septicemia
J. Vet. Intern. Med. 12, 26-35
- Bauer, J. E.; Harvey, J. W.; Asquith, R. L.; McNulty, P. K. und Kivipelto, J. (1985)
Serum protein reference values in foals during the first year of life: comparison of chemical and electrophoretic methods
Vet. Clin. Pathol. 14, 14-22
- Becht, J. L. (1987)
Interpretation of erythrocyte and leukocyte responses, dynamics of plasma proteins and assessment of fibrinogen
Proceedings of the American Association of Equine Practitioners 32, 605-612
- Biagi, G. (1980)
Sulle frazioni globuliniche del ferogramma equino
Annali della Facolta di Medicina Veterinaria di Pisa 32, 247-259
- Bierer, B. W. (1969)
Electrophoretic analysis of blood serum and plasma proteins of normal horses
Am. J. Vet. Res. 30, 2237-2240
- Brugmans, F.; Venner, M.; Menzel, D. und Mischke, R. (1998)
Messung der Fibrinogenkonzentration beim Pferd mit den Hitze-Präzipitationsmethoden nach Schalm und Millar
Dtsch. tierärztl. Wschr. 105, 58-61
- Butson, R. J.; Webbon, P. M. und Fairbairn, S. M. (1995)
⁹⁹Tc^m-HMPAO labelled leucocytes and their biodistribution in the horse: a preliminary investigation
Equine vet. J. 27, 311-313
- Campbell, M. D.; Bellamy, E. C. und Searcy, G. P. (1981)
Determination of plasma fibrinogen concentration in the horse
Am. J. Vet. Res. 42, 100-104
- Carakostas, M. C.; Moore, W. E. und Smith, J. E. (1981)
Intravascular neutrophilic granulocyte kinetics in horses
Am. J. Vet. Res. 42, 623-625

Chabchoub, A. und Guelfi, J. F. (1989)

Fonctions des polynucléaires neutrophiles sanguins de chevaux touseurs chroniques
Revue Méd. Vét. 4, 315-319

Chabchoub, A. und Guelfi, J. F. (1991)

Electrophorèse des protéines sériques de chevaux atteints d'affections broncho-
pulmonaires chroniques
Revue Méd. Vét. 42, 753-755

Chavatte, P. M.; Pepys, M. B.; Roberts, B.; Ousey, J. C.; McGladdery, A. J.; Rosedale,
P. D.; Plowright, W. und Wade, J. F. (1992)

Measurement of serum amyloid A protein (SAA) as an aid to differential diagnosis of
infection in newborn foals
Equine Infectious Diseases VI: Proceedings of the Sixth International Conference
7th-11th July 1991, 33-38

Coffman, J. R. (1969)

Clinical application of serum protein electrophoresis in the horse
Proceedings of the 14th annual Meeting of the American Association of Equine
Practitioners, 265-279

Coffman, J. R. (1981)

Serum protein electrophoresis
In: Clinical Chemistry and Pathophysiology of Horses
Vet. Med. Pub. Comp., Kansas, USA, 57-69

Coté, N.; Trout, D. R. und Hayes, A. M. (1996)

Evaluation of plasma alpha-2-macroglobulin and interactions with tumour necrosis
factor-alpha in horses with endotoxemic signs
Can J. Vet. Res. 60, 150-157

Coyne, C. P.; Carlson, G. P.; Spensley, M. S. und Smith, J. (1990)

Preliminary investigation of alterations in blood viscosity, cellular composition, and
electrophoresis plasma protein fraction profile after competitive racing activity in
Thoroughbred horses
Am. J. Vet. Res. 51, 1956-1963

DiGirolamo, N.; Visvanathan, K.; Lloyd, A. und Wakefield, D. (1997)

Expression of TNF-alpha by human plasma cells in chronic inflammation
J. Leukoc. Biol. 61, 667-678

Dinarello, C. A. (1984)

Interleukin-1 and the pathogenesis of the acute-phase response
N. Eng. J. Med. 311, 1413-1418

- Dixon, W. J. (1993)
BMDP Statistical Software Manual, Volume 1 and 2
University of California Press, Berkeley, USA
- Dorn, C. R.; Coffman, J. R.; Schmidt, D. A.; Garner, H.E.; Addison, J. B. und Mccune, E. L. (1975)
Neutropenia and Salmonellosis in hospitalized horses
JAVMA 166, 65-67
- Doxey, D. L. (1971)
Laboratory aids to clinical diagnosis in equine practice
Equine vet. J. 3, 25-30
- Dusek, J. (1973)
Veränderungen im Differentialbild der Leukozyten bei Pferden durch Arbeit
Arch. exp. Veterinärmed. 5, 729-739
- Eaton, J. W.; Brandt, P. und Mahony, J. R. (1982)
Haptoglobin: a natural bacteriostat
Science 215, 691-693
- Ek, N. (1970)
Studies of Electrophoresis on cellulose acetate Membrane of serum proteins from normal horses, sheep, and pigs
Acta Vet. Scand. 11, 295-304
- Erickson, E. D. (1975)
Alpha globulins of equine serum
Proceedings of the First International Symposium on Equine Hematology
28th-30th May 1975, 152-157
- Fellenberg, R. v. (1978)
Elektrophoretische Analyse der Proteaseinhibitoren von Pferdeserum
Schweiz. Arch. Tierheilk. 120, 631-642
- Flothow, C. und Deegen, E. (1994)
Diagnostische Bedeutung der Serumprotein-Elektrophorese auf Celluloseacetatfolie beim Pferd
Pferdeheilkunde 10, 57-65
- Foster, A. P.; Lees, P. und Cunningham, F. M. (1992)
Platelet activating factor is a mediator of equine neutrophil and eosinophil migration in vitro
Res. Vet. Sci. 53, 223-229

- Franchini, M.; Gilli, U.; Akens, M. K.; Fellenberg, R. V. und Bracher, V. (1998)
The role of neutrophil chemotactic cytokines in the pathogenesis of equine chronic obstructive pulmonary disease (COPD)
Vet. Immunol. Immunopathol. 66, 53-65
- Geor, R. J.; Weiss, D. J.; Burris, S. M. und Smith, C. M. (1992)
Effects of furosemide and pentoxifylline on blood flow properties in horses
Am. J. Vet. Res. 53, 2043-2049
- Gerber, H.; Tschudi, P.; Straub, R. (1975)
„Normal“ values for different breeds of horses
Proceedings of the First International Symposium on Equine Haematology
28th-30th May 1975, 266-275
- Gilman, A. R. (1952)
The blood sedimentation rate in the horse
Am. J. Vet. Res. 13, 77-82
- Green, S. A.; Jenkins, S. J. und Clark, P. A. (1982)
A comparison of chemical and electrophoretic methods of serum protein determinations in clinically normal domestic animals of various ages
Cornell Vet. 72, 416-426
- Hammerl, J. (1982)
Die Blutkörperchensenkungsreaktion mit unterschiedlichen Methoden, vergleichend bei unterschiedlichen Pferderassen
Vet. med. Dissertation, München
- Hamood, M. und Fondu, P. (1991)
In vivo regulation of granulocyte production in acute inflammation
Cell Prolif. 24, 181-190
- Hardy, J.; Bertone, A. L.; Weisbrode, S. E.; Muir, W. W.; O'Doriso, T. M. und Mast, J. (1998)
Cell trafficking, mediator release, and articular metabolism in acute inflammation of innervated or denervated isolated equine joints
Am. J. Vet. Res. 59, 88-100
- Hassan, G.; Moreno, S.; Massimi, M.; DiBiagio, P. und Stefanini, S. (1997)
Interleukin-1 producing plasma cells in close contact with hepatocytes in patients with chronic active hepatitis
J. Hepatol. 27, 6-17
- Herd, R. P. und Kent, J. E. (1986)
Serum protein changes in ponies on different parasite control programmes
Equine vet. J. 18, 453-457

Higgins, A. J. und Lees, P. (1984)

The acute inflammatory process, arachidonic acid metabolism and the mode of action of anti-inflammatory drugs

Equine vet. J. 16, 163-175

Hulten, C.; Sletten, K.; Bruun, C. F. und Marhaug, G. (1997)

The acute phase serum amyloid A protein (SAA) in the horse: isolation and characterization of three isoforms

Vet. Immunol. Immunopathol. 57, 215-227

International Committee for Standardization in Haematology (1977)

Recommendation for measurement of erythrocyte sedimentation rate of human blood

Am. J. Clin. Pathol. 68, 505-507

Jain, N. C. (1986a)

The Horse: Normal Hematology with Comments on Response to Disease

In: Jain, N. C.: Schalm's Veterinary Hematology

Lea & Febiger, Philadelphia, USA, 4th Edition, 140-177

Jain, N. C. (1986b)

The Neutrophils

In: Jain, N. C.: Schalm's Veterinary Hematology

Lea & Febiger, Philadelphia, USA, 4th Edition, 685-730

Jain, N. C. (1986c)

Clinical Interpretation of Changes in Leukocyte Numbers and Morphology

In: Jain, N. C.: Schalm's Veterinary Hematology

Lea & Febiger, Philadelphia, USA, 4th Edition, 823-837

Jain, N. C. (1986d)

The Plasma Proteins, Dysproteinemias and Immune Deficiency Disorders

In: Jain, N. C.: Schalm's Veterinary Hematology

Lea & Febiger, Philadelphia, USA, 4th Edition, 940-989

Jain, N. C. (1993a)

The Neutrophils

In: Jain, N. C.: Essentials of Veterinary Hematology

Lea & Febiger, Philadelphia, USA, 1st Edition, 227-246

Jain, N. C. (1993b)

The Plasma Proteins, Dysproteinemias and Immune Deficiency Disorders

In: Jain, N. C.: Essentials of Veterinary Hematology

Lea & Febiger, Philadelphia, USA, 1st Edition, 349-380

Jeffcott, L. B. (1971)

In: Discussion of Doxey, D.L.: Laboratory Aids to Clinical Diagnosis in Equine Practice

Equine vet. J. 3, 29-30

Kaneko, J. J. (1980)

Serum proteins and the dysproteinemias

In: Kaneko, J. J.: Clinical Biochemistry of Domestic Animals

Acad. Press, New York, USA, 3rd Edition, 97-118

Keay, G. und Doxey, D. L. (1981)

A comparison of the serum protein electrophoretic patterns of young and adult animals

Vet. Res. Comm. 5, 271-276

Kent, J. (1992)

Acute phase proteins: Their use in veterinary diagnosis

Br. Vet. J. 148, 279-282

Kirk, G. R.; Hutcheson, D. P. und Neate, S. (1975)

Electrophoretic pattern of serum protein in clinically normal horses and ponies with laminitis

Vet. Med. Small Animal Clin. 70, 337-339

Kleinert, T. (1990)

Elektrophoretische Methoden in der Proteinanalytik

Thieme Verlag, Stuttgart

Kraft, W.; Dürr, U. M.; Fürll, M.; Bostedt, H. und Heinritzi, K. (1997a)

Hämatologie

In: Kraft, W. und Dürr, U. M.: Klinische Diagnostik in der Tiermedizin

F.K. Schattauer Verlagsgesellschaft, Stuttgart, 4. Auflage, 43-77

Kraft, W.; Dürr, U. M.; Fürll, M.; Bostedt, H. und Heinritzi, K. (1997b)

Serum-Protein

In: Kraft, W. und Dürr, U. M.: Klinische Diagnostik in der Tiermedizin

F.K. Schattauer Verlagsgesellschaft Stuttgart, 4. Auflage, 148-155

Kristensen, F. und Firth, E. C. (1977)

Analysis of serum proteins and cerebrospinal fluid in clinically normal horses using agarose electrophoresis

Am. J. Vet. Res. 38, 1089-1092

Kunkel, S. L.; Remick, D. G.; Strieter, R. M. und Larrick, J. W. (1989)

Mechanisms that regulate the production and effects of tumor necrosis factor- α

Crit. Rev. Immunol. 9, 93-116

Lane, P. J.; Lees, P. und Fink, G. J. (1990)

Action of dexamethasone in an equine model of acute non-immune inflammation

Res. Vet. Sci. 48, 87-95

- Laurell, C. B. (1985)
Acute phase proteins - a group of protectic proteins
In: Price, C.P. und Alberti, K.G.M.M.: Recent Advances in clinical biochemistry
Churchill-Livingston, New York, USA, 3rd Edition, 103-124
- Lavergne, M. und Reynaud, M. (1970)
Préparation at propriétés de l'alpha 2 macroglobulins de cheval
Ann. Inst. Pasteur 119, 27-49
- Lötsch, D. und Müller, J. (1962)
Beziehungen zwischen den Blutsenkungswerten und den papierelektrophoretisch trennbaren Serumeiweißfraktionen sowie der Erythrozytenzahl beim Pferd
Arch. exp. Veterinärmed. 16, 129-135
- Lumsden, J.H.; Rowe, R. und Mullen, K. (1980)
Hematology and biochemistry reference values for the light horse
Can. J. comp. med. 44, 32-42
- Mackay, R. J. und Lester, G. D. (1992)
Induction of the acute-phase cytokine, hepatocyte-stimulating factor/interleukin 6, in the circulation of horses treated with endotoxin
Am. J. Vet. Res. 53, 1285-1289
- Mair, T. S.; Westerlaken, L. V. d.; Crippsa, P. J. und Love, S. (1990)
Diarrhoea in adult horses: A survey of clinical cases and an assessment of some prognostic indices
Vet. Rec. 5, 479-481
- Mair, T. S.; Cripps, P. J. und Ricketts, S. W. (1993)
Diagnostic and prognostic value of serum protein electrophoresis in horses with chronic diarrhoea
Equine vet. J. 25, 324-326
- Makimura, S.; Tomoda, I. und Usui, K. (1975)
Quantitative studies on immunoglobulins and transferrin in equine serum
Jpn. J. Vet. Sci. 37, 187-198
- Massip, A. und Fumière, I. (1974)
Analyse électrophorétique des protéins du serum sanguin de cheveaux adultes normaux ages de quatre à dix ans
Ann. Méd. Vét. 118, 221-229
- Mattheeuws, D. R. G.; Kaneko, J. J.; Loy, R. G.; Cornelius, C. E. und Wheat, J. D. (1966)
Compartmentalization and turnover of I-labeled Albumin and Gamma Globulin in Horses
Am. J. Vet. Res. 27, 699-705

Matthews, A. G. (1982)

Serum protein electrophoresis in horses and ponies
Equine vet. J. 14, 322-324

May, S. A.; Hooke, R. E. und Lees, P. (1991)

Late-stage mediators of the inflammatory response: identification of interleukin-1 and a casein-degrading enzyme in equine acute inflammatory exudates
Res. Vet. Sci. 50, 14-17

Mills, P. C.; Ng, J. C.; Kramer, H. und Auer, D. E. (1997)

Stress response to chronic inflammation in the horse
Equine vet. J. 29, 483-486

Mills, P. C.; Auer, D. E.; Kramer, H.; Barry, D. und Ng, J. C. (1998)

Effects of inflammation-associated acute-phase response on hepatic and renal indices in the horse
Aust. Vet. J. 76, 187-194

Milne, E. M.; Doxey, D. L.; Kent, J. E. und Pemberton, A. (1991)

Acute phase proteins in grass sickness (equine dysautonomia)
Res. Vet. Sci. 50, 273-278

Mirck, M.H. (1980)

Een onderzoek naar de epidemiologie van Strongylidae infecties bij het paard in Nederland
Proefschrift, Rijksuniversiteit Utrecht, Nederlande

Mischke, R. (1997)

Hämostase

In: Kraft, W. und Dürr, U. M.: Klinische Diagnostik in der Tiermedizin
F.K. Schattauer Verlagsgesellschaft Stuttgart, 4. Ausgabe, 92-111

Moritz, A. (1997)

Knochenmarksuntersuchung

In: Kraft, W. und Dürr, U. M.: Klinische Diagnostik in der Tiermedizin
F.K. Schattauer Verlagsgesellschaft Stuttgart, 4. Ausgabe, 78-91

Moritz, A. (1999)

Die diagnostische Aussage von Differentialblutbild und Knochenmarkzytologie
Tierärztliche Umschau 54, 63-68

Morris, D. D. (1991)

Endotoxemia in horses. A review of cellular and humoral mediators involved in its pathogenesis
J. Vet. Intern. Med. 5, 167-181

- Morris, D. D.; Crowe, N. und Moore, J. N. (1990)
Correlation of clinical and laboratory data with serum tumor necrosis factor activity in horses with experimentally induced endotoxemia
Am. J. Vet. Res. 51, 1935-1940
- Morris, D. D.; Moore, J. N.; Crowe, N. und Moldawer, L. L. (1992)
Effect of experimentally induced endotoxemia on serum interleukin-6 activity in horses
Am. J. Vet. Res. 53, 753-756
- Nunokawa, Y.; Fujinaga, T.; Taira, T.; Okumura, M.; Yamashita, K.; Tsunoda, N. und Hagio, M. (1993)
Evaluation of serum amyloid A protein as an acute-phase reactive protein in horses
J. Vet. Med. Sci. 55, 1011-1016
- Okumura, M.; Fujinaga, T.; Yamashita, K.; Tsunoda, N. und Mizuno, S. (1991)
Isolation, characterization, and quantitative analysis of ceruloplasmin from horses
Am. J. Vet. Res. 52, 1979-1985
- Osbaldiston, G. W. (1970)
Erythrocyte sedimentation rate studies in sheep, dog and horse
Cornell Vet. 61, 386-399
- Osbaldiston, G. W. (1972)
Serum protein fractions in domestic animals
Br. Vet. J. 128, 386-393
- Osbaldiston, G. W. und Johnson, J. H. (1972)
Effect of ACTH and selected glucocorticoids on circulating blood cells in horses
JAVMA 161, 53-56
- Patterson, S. D.; Auer, D. E. und Bell, K. (1988)
Acute phase response in horses: plasma protein changes associated with adjuvant induced inflammation
Biochem. Int. 17, 257-264
- Pepys, M. B. und Baltz, M. L. (1983)
Acute phase proteins with special reference to C-reactive protein and related proteins (pentaxins) and serum amyloid A protein
Adv. Immunol. 34, 141-212
- Pepys, M. B.; Baltz, M. L.; Tennent, G. A.; Kent, J.; Ousey, J. und Rosedale, P. D. (1989)
Serum amyloid A protein (SAA) in horses: objective measurement of the acute phase response
Equine vet. J. 21, 106-109

Peters, A. M. (1995)

Imaging infection and inflammation in veterinary practice
Equine vet. J. 27, 242-244

Pierce, K. R. (1975)

Assay of equine serum proteins by clinical chemical and electrophoretic methods
Proceedings of the First International Symposium on Equine Hematology
28th-30th May 1975, 144-151

Reinhart, W. H. und Singh, A. (1990)

Erythrocyte aggregation: the roles of cell deformability and geometry
Eur. J. Clin. Invest. 20, 458-462

Robinson, N. E.; Derksen, F. J.; Olszewski, M. A. und Buechner-Maxwell, V. A. (1996)

The pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease of horses
Br. Vet. J. 152, 283-306

Roche Lexikon Medizin (1993)

Urban und Schwarzenberg, München 3. Auflage

Rumbaugh, G. E.; Ardans, A. A.; Ginno, D. und Trommershausen, S. A. (1978)

Measurement of neonatal equine immunoglobulins for assessment of colostral immunoglobulin transfer: comparison of single radial immunodiffusion with the zinc sulfate turbidity test, serum electrophoresis, refractometry for total serum protein, and the sodium sulfite precipitation test
JAVMA 172, 321-325

Russell, K. E.; Walker, K. M.; Miller, R. T. und Sellon, D. C. (1998)

Hyperglobulinemia and lymphocyte subset changes in naturally infected, inapparent carriers of equine infectious anemia virus
Am. J. Vet. Res. 59, 1009-1015

Satoh, M.; Fujinaga, T.; Okumura, M. und Hagio, M. (1995)

Sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for quantitative measurement of serum amyloid A protein in horses
Am. J. Vet. Res. 56, 1286-1291

Schalm, O. W. (1975a)

Equine haematology as an aid to diagnosis
Proceedings of the First International Symposium on Equine Hematology
28th-30th May 1975, 5-16

Schalm, O. W. (1975b)

Significance of plasma fibrinogen in clinical disorders of the horse
Proceedings of the First International Symposium on Equine Hematology
28th-30th May 1975, 159-167

Schalm, O. W. (1979)

Equine haematology part III: significance of plasma fibrinogen concentration in clinical disorders in horses

Equine Practice 1, 22-26

Schalm, O. W.; Smith, R. und Kaneko, J. J. (1970)

Plasma protein, fibrinogen ratios in dogs, cattle and horses. Part I, II and III

Calif. Vet. 24, 9-22

Schott, H. C. (1998)

Chronic renal failure

In: Reed, S. M. und Bayly, W. M.: Equine Internal Medicine

W.B. Saunders Company, Philadelphia, USA, 856-875

Schwab, A. (1986)

Die Blutkörperchensenkungsreaktion bei kranken Pferden nach verschiedenen Methoden und der Einfluß einiger Blutparameter auf die Senkungsgeschwindigkeit

Vet. med. Diss, München

Sedgwick, A. D.; Lees, P.; Dawson, J. und May, S. A. (1987)

Cellular aspects of inflammation. The Ciba-Geigy Prize for Research in Animal Health

Vet. Rec. 120, 529-536

Sheldrick, R.; Kent, J. E. und Blackmore, D. J. (1982)

Haemoglobin binding capacity of serum as an indicator of infection in the horse

Vet. Rec. 111, 128-129

Smith, J. E. und Cipriano, J. E. (1987)

Inflammation-induced changes in serum iron analytes and ceruloplasmin of Shetland ponies

Vet. Pathol. 24, 354-356

Stewart, M. C.; Hodgson, J. L.; Kim, H.; Hutchins, D. R. und Hodgson, D. R. (1995)

Acute febrile diarrhoea in horses: 86 cases (1986-1991)

Aust. Vet. J. 72, 41-44

Stuart, J. und Whicher, J. T. (1988)

Tests for detecting and monitoring the acute phase response

Arch. Dis. Child 63, 115-117

Taira, T.; Fujinaga, T.; Okumura, M.; Yamashita, K.; Tsunoda, N. und Mizuno, S. (1992a)

Equine haptoglobin: isolation, characterization, and the effects of ageing, delivery and inflammation on its serum concentration

J. Vet. Med. Sci. 54, 435-442

Taira, T.; Fujinaga, T.; Tamura, K.; Izumi, M.; Itoh, H.; Tsunoda, N.; Yamashita, K.; Okumura, M. und Mizuno, S. (1992b)

Isolation and characterization of alpha1-acid glycoprotein from horses, and its evaluation as an acute-phase reactive protein in horses

Am. J. Vet. Res. 53, 961-965

Takiguchi, M.; Fujinaga, T.; Naiki, M.; Mizuno, S. und Otomo, K. (1990)

Isolation, characterization, and quantitative analysis of C-reactive protein from horses

Am. J. Vet. Res. 51, 1215-1220

Thein, P.; Essich, G.; Grunmach, J. und Abar, B. (1989)

Grundlagen und Kontrolle des Immunstatus beim Saugfohlen

Prakt. Tierarzt 70, 15-28

Tizard, I. (1996)

Veterinary Immunity: An Introduction

W. B. Saunders Company, Philadelphia, USA, 5th Edition

Topper, M. J. und Prasse, K. W. (1998)

Analysis of coagulation proteins as acute-phase reactants in horses with colic

Am. J. Vet. Res. 59, 542-545

Trumel, C.; Schelcher, F.; Braun, J. P. und Guelfi, J. F. (1996)

L'electrophorese des proteines seriques: principes d'interpretation chez le chien, le chat, et le cheval

Revue Méd. Vét. 147, 123-130

Tschudi, P. (1975)

The cells of equine blood and their development

Equine vet. J. 7, 141

Valli, V. E.; Lumsden, J. H.; Carter, E. I. und McSherry, B. J. (1975)

The kinetics of hematopoiesis in the normal light horse. The life span of peripheral blood cells and plasma proteins

Proceedings of the First International Symposium on Equine Hematology

28th-30th May 1975, 91-105

Vandenput, S. und Lekeux, P. (1996)

Maladie pulmonaire obstructive chronique dans l'espèce équine

Ann. Méd. Vét. 140, 239-272

Westergren, A. (1921)

Studies of the suspension stability of the blood in pulmonary tuberculosis

Acta Med. Scand. 54, 247-282

Wuijckhuise-Sjouke, L. A. v. (1984)

Plasma-fibrinogen als parameter voor de aanwezigheid en ernst van ontstekingen bij paard en rund

Tijdschr. Diergeneesk. 109, 869-872

Yamashita, K.; Fujinaga, T.; Okumura, M.; Takiguchi, M.; Tsunoda, N. und Mizuno, S. (1991)

Serum C-reactive protein (CRP) in horses: the effect of aging, sex, delivery and inflammations on its concentration

J. Vet. Med. Sci. 53, 1019-1024

Zijl, W. J. v. (1948)

Blood sedimentation rate in the horse and the cow

Tijdschr. Diergeneesk. 73, 485-516

| | | |
|------------|--|-------|
| 8. | <u>ANHANG</u> | Seite |
| 8.1 | TABELLENVERZEICHNIS | |
| 8.1.1 | TABELLEN IM TEXT | |
| Tab. 1: | Referenzwerte für die BSR aus der Literatur mit verschiedenen Methoden | 12 |
| Tab. 2: | Referenzwerte für Leukozyten beim erwachsenen Pferd (soweit nicht anders angegeben Mittelwerte \pm Standardabweichung) | 17 |
| Tab. 3: | Zusammenstellung wichtiger Charakteristika ausgewählter APP beim Pferd | 40 |
| Tab. 4: | Rasse, Alter und Geschlecht der Patienten | 52 |
| Tab. 5: | Mittelwerte (\bar{x}_g) und Streufaktoren (SF) der Leukozytenzahlen | 59 |
| Tab. 6: | Prozentuale Hauptproteinfraktionen der Beispielfälle aus Kapitel 3.2.2.2 | 74 |
| Tab. 7: | Prozentuale Unterfraktionen der Beispielfälle aus Kapitel 3.2.2.2 | 75 |
| Tab. 8: | Sensitivität und Spezifität ausgewählter Parameter | 82 |
| Tab. 9: | Sensitivität und Spezifität kombinierter Parameter | 82 |
| 8.1.2 | TABELLEN IM ANHANG | |
| Tab. I: | Mittelwerte und Standardabweichungen/Streufaktoren der direkt im Blut gemessenen Parameter beim Pferd, unterschieden nach den drei klinisch eingeteilten Gruppen | -5- |
| Tab. II: | Korrelationen zwischen Gesamtleukozyten und ausgewählten Parametern | -6- |
| Tab. III: | Korrelationen zwischen der BSR und ausgewählten Parametern (Warmblut) | -7- |
| Tab. IV: | Korrelationen zwischen der BSR und ausgewählten Parametern (Kleinpferde) | -8- |

| | | |
|------------|--|------|
| Tab. V: | Korrelationen zwischen der BSR und ausgewählten Parametern (Vollblüter) | -9- |
| Tab. VI: | Korrelationen zwischen Fibrinogen und ausgewählten Parametern | -10- |
| Tab. VII: | Mittelwerte und Standardabweichungen/Streufaktoren der mittels Serumproteinelektrophorese beim Pferd gemessenen Albumin- und Globulinkonzentrationen | -11- |
| Tab. VIII: | Mittelwerte und Standardabweichungen/Streufaktoren der mit Hilfe der SPE ermittelten Konzentrationen der Globulinunterfraktionen | -12- |
| Tab. IX: | Verlaufsmessungen von Gesamteiweiß (GE) und Albumin während des Lagerungsversuchs | -13- |
| Tab. Xa: | Vergleich elektrophoretisch ermittelter Referenzwerte der Proteinfraktionen | -14- |
| Tab. Xb: | Vergleich elektrophoretisch ermittelter Referenzwerte der Proteinfraktionen (Fortsetzung) | -15- |

8.2 ABBILDUNGSVERZEICHNIS

| | | |
|----------|---|----|
| Abb. 1a: | „Drop-line“-Verfahren | 45 |
| Abb. 1b: | Gaußsche Näherung | 45 |
| Abb. 2: | Mittelwerte und Standardabweichungen ($\bar{x} \pm s$) der BSR | 60 |
| Abb. 3: | Mittelwerte und Standardabweichungen ($\bar{x} \pm s$) der Blutsenkungsreaktion bei klinisch unauffälligen Pferden verschiedener Rassen | 61 |
| Abb. 4: | Vergleich der Mittelwerte und Standardabweichungen ($\bar{x} \pm s$) der GE-konzentrationen der Gruppen 1 bis 3 | 63 |
| Abb. 5: | Mittelwerte und Standardabweichungen/Streufaktoren von im Plasma gemessenem Albumin ($\bar{x} \pm s$) und Globulin ($\bar{x}_g \cdot SF^{\pm 1}$) | 64 |
| Abb. 6: | Mittelwerte und Streufaktoren des Fibrinogens ($\bar{x}_g \cdot SF^{\pm 1}$) | 65 |
| Abb. 7: | Elektropherogramm eines klinisch unauffälligen Pferdes | 66 |
| Abb. 8: | Elektropherogramm mit undeutlich ausgeprägter Schulter am Albumin | 67 |
| Abb. 9: | Elektropherogramm mit undeutlich ausgeprägter β_2 -Fraktion | 68 |
| Abb. 10: | Elektropherogramm eines Pferdes mit larvaler Cyathostominose | 69 |
| Abb. 11: | Elektropherogramm eines Pferdes mit akuter Enteritis | 70 |

| | | |
|----------|--|----|
| Abb. 12: | Elektropherogramm eines Pferdes mit akuter Druse | 71 |
| Abb. 13: | Elektropherogramm eines Pferdes mit Druseabszess | 71 |
| Abb. 14: | Elektropherogramm eines Pferdes mit eitrig abszedierender Dermatitis | 72 |
| Abb. 15: | Elektropherogramm eines Pferdes mit nichteitriger hochgradiger Laryngitis | 73 |
| Abb. 16: | Elektropherogramm eines Pferdes mit Plattenepithelkarzinom des Magens | 73 |
| Abb. 17 | Mittelwerte und Standardabweichungen/Streufaktoren der mittels SPE ermittelten Konzentrationen von Albumin ($\bar{x} \pm s$) und Globulinen ($\bar{x}_g \pm SF^{\pm 1}$) | 77 |
| Abb. 18: | Vergleich der Mittelwerte und Streufaktoren ($\bar{x}_g \pm SF^{\pm 1}$) der mittels Elektrophorese gemessenen Parameter in g/l | 78 |
| Abb. 19: | Vergleich der Mittelwerte und Standardabweichungen/Streufaktoren der mittels Elektrophorese gemessenen Parameter in % | 78 |
| Abb. 20: | Verlauf der Konzentrationen von GE | 80 |
| Abb. 21: | Verlauf der Konzentrationen von Albumin | 80 |
| Abb. 22: | Vergleich der Mittelwerte klinisch unauffälliger Pferde verschiedener Rassen zwischen der eigenen Untersuchung und der von HAMMERL (1982) | 92 |

8.3 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

| | |
|----------|--|
| a1G | a1 saures Glykoprotein |
| APP | Akut-Phase-Protein/-e |
| APR | Akut-Phase-Reaktion |
| AS | Aminosäure |
| bidest. | bidestillata |
| BSR | Blutsenkungsreaktion |
| CGP | circulating granulocyte pool = zirkulierender Granulozytenpool |
| CIF | colony inhibitory factor |
| COB | chronisch obstruktive Bronchitis |
| CRP | C-reaktives Protein |
| CSF | colony stimulating factor |
| EIA | equine infektiöse Anämie |
| ELISA | enzyme-linked immunosorbent assay |
| GE | Gesamteiweiß |
| GTR | Granulocyte turnover rate = Durchgangszeit der Gr. im Blut |
| Hb | Hämoglobin |
| Hkt | Hämatokrit |
| Hp | Haptoglobin |
| i.m. | intramuskulär |
| i.v. | intravenös |
| IL | Interleukin |
| IP | isoelektrischer Punkt |
| KF | Korrelationsfaktor |
| LT | Leukotrien |
| MGP | marginal granulocyte pool = marginaler Granulozytenpool |
| MIP | macrophage inflammatory protein |
| ml | Milliliter |
| mm | Millimeter |
| µl | Mikroliter |
| mRNS | messenger Ribonukleinsäure |
| MZP | Messzeitpunkt |
| OCD | Osteochondrosis dissecans |
| PAF | platelet activating factor |
| PG | Prostaglandin |
| PMN | polymorphonuklear leukocyte |
| s | Standardabweichung |
| SAA | Serum Amyloid A |
| SDS-PAGE | sodium dodecyl sulfate-Polyacrylamidgelelektrophorese |
| SF | Streifaktor |
| SPE | Serumproteinelektrophorese |
| SR/10 | durchschnittliche Senkungsrate in 10 Minuten |
| T 1/2 | Halbwertszeit |
| TBGP | total blood granulocyte pool = Gesamt-Granulozyten im Blut |
| TNF | Tumor Nekrose Faktor |
| U | units = Einheiten |
| ZAF | Zellulose-Azetat-Folie |
| ZNS | zentrales Nervensystem |

Tab. I: Mittelwerte und Standardabweichungen/Streufaktoren der direkt im Blut gemessenen Parameter beim Pferd, unterschieden nach den drei klinisch eingeteilten Gruppen (n=500)

| Parameter | Gruppe | Einheit | \bar{x} | s | \bar{x}_g | SF |
|---|--------|---------------------|---------------------|------|---------------------|------|
| Senkung | 1 | mm/ 30min | 37,5 | 14,6 | | |
| | 2 | | 51,5 ^{aaa} | 20,3 | | |
| | 3 | | 36,0 ^{ns} | 13,9 | | |
| Hämatokrit | 1 | l/l | 0,35 | 0,04 | | |
| | 2 | | 0,34 ^{ns} | 0,07 | | |
| | 3 | | 0,38 ^{bbb} | 0,04 | | |
| Leukozyten | 1 | x10 ⁹ /l | | | 7,86 | 1,27 |
| | 2 | | | | 9,40 ^{aa} | 1,63 |
| | 3 | | | | 9,08 ^{bbb} | 1,28 |
| Lymphozyten | 1 | x10 ⁹ /l | | | 2,27 | 1,56 |
| | 2 | | | | 2,52 ^{ns} | 1,75 |
| | 3 | | | | 2,76 ^{bbb} | 1,48 |
| Monozyten | 1 | x10 ⁹ /l | | | 0,05 | 3,48 |
| | 2 | | | | 0,07 ^{ns} | 4,10 |
| | 3 | | | | 0,07 ^b | 4,06 |
| segmentkernige neutrophile Granulozyten | 1 | x10 ⁹ /l | | | 5,03 | 1,43 |
| | 2 | | | | 5,61 ^{ns} | 2,19 |
| | 3 | | | | 5,59 ^{ns} | 1,44 |
| stabkernige neutrophile Granulozyten | 1 | x10 ⁹ /l | | | 0,16 | 1,19 |
| | 2 | | | | 0,19 ^{aaa} | 1,62 |
| | 3 | | | | 0,16 ^{ns} | 1,29 |
| Fibrinogen | 1 | g/l | | | 2,52 | 1,31 |
| | 2 | | | | 4,03 ^{aaa} | 1,52 |
| | 3 | | | | 2,56 ^{ns} | 1,31 |
| Protein ¹ (Plasma) | 1 | g/l | 60,7 | 5,8 | | |
| | 2 | | 63,8 ^{aaa} | 11,3 | | |
| | 3 | | 61,7 ^{ns} | 5,1 | | |
| Protein ² (Serum) | 1 | g/l | 58,0 | 5,7 | | |
| | 2 | | 59,4 ^{aa} | 11,0 | | |
| | 3 | | 59,0 ^{ns} | 4,8 | | |
| Albumin ¹ (Plasma) | 1 | g/l | 33,7 | 3,3 | | |
| | 2 | | 30,0 ^{aaa} | 5,7 | | |
| | 3 | | 33,7 ^{ns} | 2,9 | | |
| Globuline ² (Plasma) | 1 | g/l | | | 26,4 | 1,2 |
| | 2 | | | | 32,1 ^{aaa} | 1,4 |
| | 3 | | | | 27,5 ^{ns} | 1,2 |

Gruppe 1 = Kontrollgruppe

Gruppe 2 = Entzündungsgruppe

Gruppe 3 = Pferde mit COB

¹ = direkt gemessen

² = errechneter Wert

\bar{x} = arithmetischer Mittelwert

s = Standardabweichung

\bar{x}_g = geometrischer Mittelwert

SF = Streufaktoren

^a = Signifikanzen zwischen Gruppe 1 und 2

^b = Signifikanzen zwischen Gruppe 1 und 3

ns = nicht signifikant ^{a/b} = schwach signifikant

^{aa/bb} = signifikant ^{aaa/bbb} = hoch signifikant

Tab. II: Korrelationen zwischen Gesamtleukozyten und ausgewählten Parametern

| Parameter | Einheit | Anzahl der Pferde | Korrelationsfaktor | Signifikanz |
|--|---------|-------------------|--------------------|-------------|
| Protein (Plasma) | g/l | 500 | 0,19 | *** |
| Protein (Serum) | g/l | 500 | 0,15 | *** |
| Albumin ¹ | g/l | 500 | -0,10 | * |
| Globuline ¹ | g/l | 500 | 0,21 | *** |
| Albumin ² | % | 341 | -0,24 | *** |
| | g/l | 341 | -0,18 | *** |
| Globuline ² | % | 341 | 0,24 | *** |
| | g/l | 341 | 0,20 | *** |
| a ₂ -Globulin ² | % | 341 | 0,18 | *** |
| | g/l | 341 | 0,20 | *** |
| a _{gesamt} -Globulin ² | % | 341 | 0,17 | ** |
| | g/l | 341 | 0,19 | *** |
| b ₁ -Globulin ² | % | 341 | 0,10 | ns |
| | g/l | 341 | 0,09 | ** |
| b ₂ -Globulin ² | % | 341 | 0,13 | * |
| | g/l | 341 | 0,15 | ** |
| b _{gesamt} -Globulin ² | % | 341 | 0,19 | *** |
| | g/l | 341 | 0,18 | *** |

¹ = Werte gemessen mittels Cobas Mira Plus

² = Werte durch Elektrophorese ermittelt

*** = hoch signifikant ($p \leq 0,001$)

** = signifikant ($p \leq 0,01$)

* = schwach signifikant ($p \leq 0,05$)

ns = nicht signifikant

Tab. III: Korrelationen zwischen der BSR und ausgewählten Parametern (Warmblut)

| Parameter | Einheit | Anzahl der Pferde | Korrelationsfaktor | Signifikanz |
|--|-----------------|-------------------|--------------------|-------------|
| Hämatokrit | l/l | 360 | -0,48 | *** |
| Fibrinogen | g/l | 360 | 0,62 | *** |
| Gesamtleukozyten | $\times 10^9/l$ | 360 | 0,21 | ns |
| Protein (Plasma) | g/l | 360 | 0,39 | *** |
| Protein (Serum) | g/l | 360 | 0,30 | *** |
| Albumin ¹ | g/l | 360 | -0,23 | *** |
| Globuline ¹ | g/l | 360 | 0,51 | *** |
| Albumin ² | % | 251 | -0,52 | *** |
| | g/l | 251 | -0,30 | *** |
| Globuline ² | % | 251 | 0,52 | *** |
| | g/l | 251 | 0,46 | *** |
| a ₁ -Globulin ² | % | 251 | 0,003 | ns |
| | g/l | 251 | 0,11 | ns |
| a ₂ -Globulin ² | % | 251 | 0,42 | *** |
| | g/l | 251 | 0,49 | *** |
| a _{gesamt} -Globulin ² | % | 251 | 0,37 | *** |
| | g/l | 251 | 0,48 | *** |
| b ₁ -Globulin ² | % | 251 | 0,17 | ** |
| | g/l | 251 | 0,22 | *** |
| b ₂ -Globulin ² | % | 251 | 0,32 | *** |
| | g/l | 251 | 0,36 | *** |
| b _{gesamt} -Globulin ² | % | 251 | 0,38 | *** |
| | g/l | 251 | 0,40 | *** |
| g-Globulin ² | % | 215 | 0,14 | * |
| | g/l | 251 | 0,19 | ** |

¹ = Werte gemessen mittels Cobas Mira Plus² = Werte durch Elektrophorese ermittelt*** = hoch signifikant ($p \leq 0,001$)** = signifikant ($p \leq 0,01$)* = schwach signifikant ($p \leq 0,05$)

ns = nicht signifikant

Tab. IV: Korrelationen zwischen der BSR und ausgewählten Parametern (Kleinpferde)

| Parameter | Einheit | Anzahl der Pferde | Korrelationsfaktor | Signifikanz |
|--|-----------------|-------------------|--------------------|-------------|
| Hämatokrit | l/l | 96 | -0,45 | *** |
| Fibrinogen | g/l | 96 | 0,57 | *** |
| Gesamtleukozyte n | $\times 10^9/l$ | 96 | 0,42 | *** |
| Protein (Plasma) | g/l | 96 | 0,63 | *** |
| Protein (Serum) | g/l | 96 | 0,56 | *** |
| Albumin ¹ | g/l | 96 | -0,10 | ns |
| Globuline ¹ | g/l | 96 | 0,72 | *** |
| Albumin ² | % | 62 | -0,62 | *** |
| | g/l | 62 | -0,28 | * |
| Globuline ² | % | 62 | 0,62 | *** |
| | g/l | 62 | 0,75 | *** |
| a ₁ -Globulin ² | % | 62 | -0,17 | ns |
| | g/l | 62 | -0,03 | ns |
| a ₂ -Globulin ² | % | 62 | 0,46 | *** |
| | g/l | 62 | 0,61 | *** |
| a _{gesamt} -Globulin ² | % | 62 | 0,41 | *** |
| | g/l | 62 | 0,64 | *** |
| b ₁ -Globulin ² | % | 62 | 0,39 | ** |
| | g/l | 62 | 0,51 | *** |
| b ₂ -Globulin ² | % | 62 | 0,32 | * |
| | g/l | 62 | 0,44 | *** |
| b _{gesamt} -Globulin ² | % | 62 | 0,55 | *** |
| | g/l | 62 | 0,68 | *** |
| g-Globulin ² | % | 62 | 0,53 | ns |
| | g/l | 62 | 0,24 | ns |

¹ = Werte gemessen mittels Cobas Mira Plus

² = Werte durch Elektrophorese ermittelt

*** = hoch signifikant ($p \leq 0,001$)

** = signifikant ($p \leq 0,01$)

* = schwach signifikant ($p \leq 0,05$)

ns = nicht signifikant

Tab. V: Korrelationen zwischen der BSR und ausgewählten Parametern (Vollblüter)

| Parameter | Einheit | Anzahl der Pferde | Korrelationsfaktor | Signifikanz |
|--|-----------------|-------------------|--------------------|-------------|
| Hämatokrit | l/l | 22 | -0,65 | *** |
| Fibrinogen | g/l | 22 | 0,71 | * |
| Gesamtleukozyte n | $\times 10^9/l$ | 22 | 0,60 | ** |
| Protein (Plasma) | g/l | 22 | 0,63 | ** |
| Protein (Serum) | g/l | 22 | 0,53 | * |
| Albumin ¹ | g/l | 22 | -0,25 | ns |
| Globuline ¹ | g/l | 22 | 0,53 | * |
| Albumin ² | % | 14 | -0,75 | ** |
| | g/l | 14 | -0,53 | * |
| Globuline ² | % | 14 | 0,75 | ** |
| | g/l | 14 | 0,79 | *** |
| a ₁ -Globulin ² | % | 14 | -0,04 | ns |
| | g/l | 14 | 0,29 | ns |
| a ₂ -Globulin ² | % | 14 | 0,40 | ns |
| | g/l | 14 | 0,59 | * |
| a _{gesamt} -Globulin ² | % | 14 | 0,34 | ns |
| | g/l | 14 | 0,60 | * |
| b ₁ -Globulin ² | % | 14 | 0,36 | ns |
| | g/l | 14 | 0,63 | * |
| b ₂ -Globulin ² | % | 14 | 0,43 | ns |
| | g/l | 14 | 0,55 | * |
| b _{gesamt} -Globulin ² | % | 14 | 0,53 | ns |
| | g/l | 14 | 0,71 | ** |
| g-Globulin ² | % | 14 | 0,44 | ns |
| | g/l | 14 | 0,52 | ns |

¹ = Werte gemessen mittels Cobas Mira Plus² = Werte durch Elektrophorese ermittelt*** = hoch signifikant ($p \leq 0,001$)** = signifikant ($p \leq 0,01$)* = schwach signifikant ($p \leq 0,05$)

ns = nicht signifikant

Tab. VI: Korrelationen zwischen Fibrinogen und ausgewählten Parametern

| Parameter | Einheit | Anzahl der Pferde | Korrelationsfaktor | Signifikanz |
|--|---------------------|-------------------|--------------------|-------------|
| Gesamtleukozyte n | x10 ⁹ /l | 500 | 0,24 | *** |
| Protein (Plasma) | g/l | 500 | 0,28 | *** |
| Protein (Serum) | g/l | 500 | 0,11 | * |
| Albumin ¹ | g/l | 500 | -0,26 | *** |
| Globuline ¹ | g/l | 500 | 0,37 | *** |
| Albumin ² | % | 341 | -0,50 | *** |
| | g/l | 341 | -0,44 | *** |
| Globuline ² | % | 341 | 0,50 | *** |
| | g/l | 341 | 0,37 | *** |
| a ₁ -Globulin ² | % | 341 | -0,11 | * |
| | g/l | 341 | -0,09 | ns |
| a ₂ -Globulin ² | % | 341 | 0,67 | *** |
| | g/l | 341 | 0,65 | *** |
| a _{gesamt} -Globulin ² | % | 341 | 0,57 | *** |
| | g/l | 341 | 0,53 | *** |
| b ₁ -Globulin ² | % | 341 | 0,23 | *** |
| | g/l | 341 | 0,21 | *** |
| b ₂ -Globulin ² | % | 341 | 0,28 | *** |
| | g/l | 341 | 0,29 | *** |
| b _{gesamt} -Globulin ² | % | 341 | 0,39 | *** |
| | g/l | 341 | 0,36 | *** |
| g-Globulin ² | % | 341 | -0,04 | ns |
| | g/l | 341 | -0,003 | ns |

¹ = Werte gemessen mittels Cobas Mira Plus

² = Werte durch Elektrophorese ermittelt

*** = hoch signifikant (p ≤ 0,001)

** = signifikant (p ≤ 0,01)

* = schwach signifikant (p ≤ 0,05)

ns = nicht signifikant

Tab. VII: Mittelwerte und Standardabweichungen/Streufaktoren der mittels Serumproteinelektrophorese beim Pferd gemessenen Albumin- und Globulinkonzentrationen (n=341)

| Parameter | Gruppe | Einheit | \bar{x} | s | \bar{x}_g | SF |
|--------------------------------|--------|---------|---------------------|------|---------------------|-----|
| Albumin | 1 | % | 54,2 | 4,5 | | |
| | 2 | | 44,3 ^{aaa} | 10,7 | | |
| | 3 | | 51,6 ^b | 5,1 | | |
| | 1 | g/l | 31,3 | 2,6 | | |
| | 2 | | 26,1 ^{aaa} | 6,2 | | |
| | 3 | | 30,5 ^{ns} | 2,7 | | |
| Globuline | 1 | % | 45,8 | 4,5 | | |
| | 2 | | 55,7 ^{aaa} | 10,7 | | |
| | 3 | | 48,8 ^b | 5,1 | | |
| | 1 | g/l | | | 26,4 | 1,2 |
| | 2 | | | | 32,2 ^{aaa} | 1,4 |
| | 3 | | | | 28,4 ^{ns} | 1,2 |
| a _{gesamt} -Globuline | 1 | % | 13,7 | 2,0 | | |
| | 2 | | 17,5 ^{aaa} | 4,5 | | |
| | 3 | | 14,6 ^b | 2,0 | | |
| | 1 | g/l | | | 7,9 | 1,2 |
| | 2 | | | | 10,0 ^{aaa} | 1,3 |
| | 3 | | | | 8,5 ^b | 1,2 |
| b _{gesamt} -Globuline | 1 | % | 19,3 | 3,4 | | |
| | 2 | | 24,1 ^{aaa} | 6,8 | | |
| | 3 | | 19,5 ^{ns} | 3,8 | | |
| | 1 | g/l | | | 11,0 | 1,2 |
| | 2 | | | | 13,7 ^{aaa} | 1,5 |
| | 3 | | | | 11,3 ^{ns} | 1,2 |
| g-Globuline | 1 | % | | | 12,3 | 1,3 |
| | 2 | | | | 12,8 ^{ns} | 1,5 |
| | 3 | | | | 13,6 ^{ns} | 1,4 |
| | 1 | g/l | | | 7,1 | 1,4 |
| | 2 | | | | 7,6 ^{ns} | 1,7 |
| | 3 | | | | 8,0 ^{ns} | 1,4 |

Gruppe 1 = Kontrollgruppe

Gruppe 2 = Entzündungsgruppe

Gruppe 3 = Pferde mit COB

 \bar{x} = arithmetischer Mittelwert

s = Standardabweichung

 \bar{x}_g = geometrischer Mittelwert

SF = Streufaktor

^a = Signifikanzen zwischen Gruppe 1 und 2^b = Signifikanzen zwischen Gruppe 1 und 3ns = nicht signifikant ^{a/b} = schwach signifikant^{aa/bb} = signifikant ^{aaa/bbb} = hoch signifikant

Tab. VIII: Mittelwerte und Standardabweichungen/Streufaktoren der mit Hilfe der SPE ermittelten Konzentrationen der Globulinunterfraktionen (n=341)

| Parameter | Gruppe | Einheit | \bar{x} | s | \bar{x}_g | SF |
|---------------------------|--------|---------|--------------------|-----|---------------------|-----|
| a ₁ -Globuline | 1 | % | 5,9 | 1,5 | | |
| | 2 | | 6,1 ^{ns} | 2,0 | | |
| | 3 | | 6,7 ^{bbb} | 1,4 | | |
| | 1 | g/l | | | 3,3 | 1,3 |
| | 2 | | | | 3,4 ^{ns} | 1,4 |
| | 3 | | | | 3,9 ^{bbb} | 1,3 |
| a ₂ -Globuline | 1 | % | | | 7,7 | 1,2 |
| | 2 | | | | 10,6 ^{aaa} | 1,4 |
| | 3 | | | | 7,7 ^{ns} | 1,2 |
| | 1 | g/l | | | 4,4 | 1,3 |
| | 2 | | | | 6,3 ^{aaa} | 1,5 |
| | 3 | | | | 4,5 ^{ns} | 1,3 |
| b ₁ -Globuline | 1 | % | 11,8 | 2,7 | | |
| | 2 | | 13,4 ^{aa} | 4,6 | | |
| | 3 | | 11,8 ^{ns} | 2,6 | | |
| | 1 | g/l | | | 6,7 | 1,3 |
| | 2 | | | | 7,4 ^a | 1,6 |
| | 3 | | | | 6,8 ^{ns} | 1,3 |
| b ₂ -Globuline | 1 | % | | | 6,8 | 1,5 |
| | 2 | | | | 9,7 ^{aaa} | 1,6 |
| | 3 | | | | 7,0 ^{ns} | 1,6 |
| | 1 | g/l | | | 4,0 | 1,6 |
| | 2 | | | | 5,7 ^{aaa} | 1,7 |
| | 3 | | | | 4,2 ^{ns} | 1,6 |

Gruppe 1 = Kontrollgruppe

Gruppe 2 = Entzündungsgruppe

Gruppe 3 = Pferde mit COB

\bar{x} = arithmetischer Mittelwert

s = Standardabweichung

\bar{x}_g = geometrischer Mittelwert

SF = Streufaktoren

^a = Signifikanzen zwischen Gruppe 1 und 2

^b = Signifikanzen zwischen Gruppe 1 und 3

ns = nicht signifikant ^{a/b} = schwach signifikant

^{aa/bb} = signifikant ^{aaa/bbb} = hoch signifikant

Tab. IX: Verlaufsmessungen von Gesamteiweiß (GE) und Albumin während des Lagerungsversuchs (alle Angaben in g/l)

grau unterlegt = Messungen mit maximaler Abweichung im Vergleich mit der 1. Messung

| Patient | | Messzeitpunkt | | | | |
|-----------------------|---------|------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| | | (vor Einfrieren) | (1. Auftauen) | (2. Auftauen) | (3. Auftauen) | (4. Auftauen) |
| Pferd 1 (Wblt, w) | GE | 63,2 | 68,8 | 64,7 | 61,0 | 61,9 |
| | Albumin | 34,1 | 39,1 | 37,7 | 37,6 | 34,6 |
| Pferd 2 (Wblt, w) | GE | 64,2 | 71,6 | 66,6 | 63,1 | 64,4 |
| | Albumin | 32,7 | 37,1 | 36,2 | 37,6 | 34,5 |
| Pferd 3 (Wblt, w) | GE | 62,4 | 66,3 | 63,2 | 63,1 | 60,9 |
| | Albumin | 34,9 | 38,3 | 37,3 | 30,0 | 34,5 |
| Pferd 4 (Wblt, m) | GE | 60,1 | 65,2 | 54,5 | 57,8 | 59,1 |
| | Albumin | 33,9 | 37,7 | 30,2 | 39,3 | 34,3 |
| Pferd 5 (Wblt, mk) | GE | 60,6 | 67,6 | 60,8 | 58,3 | 60,5 |
| | Albumin | 35,3 | 39,6 | 38,3 | 40,4 | 36,0 |
| Pferd 6 (Kblt, m) | GE | 65,0 | 67,7 | 62,8 | 55,7 | 60,8 |
| | Albumin | 30,7 | 33,2 | 30,9 | 34,5 | 30,1 |
| Pferd 7 (Wblt, w) | GE | 57,4 | 62,5 | 59,5 | 55,9 | 58,2 |
| | Albumin | 35,3 | 39,2 | 37,7 | 39,5 | 35,1 |
| Pferd 8 (Kblt, mk) | GE | 68,8 | 74,3 | 69,1 | 62,6 | 69,0 |
| | Albumin | 30,5 | 34,0 | 34,0 | 34,8 | 32,8 |

Wblt = Warmblut
w = weiblich

Kblt = Kaltblut
m = männlich

mk = männlich kastriert

Tab. Xa: Vergleich elektrophoretisch ermittelter Referenzwerte der Proteinfraktionen (alle Angaben soweit nicht anders angegeben als $\bar{x} \pm s$)

| Autor ¹ | n | Albumin | | a ₁ | | a ₂ | | a _{gesamt} | | b ₁ | | b ₂ | | b _{gesamt} | | g | | S ² |
|------------------------|-----|----------------|--------------|---|--|--|--|--------------------------|--|--------------------------|--|--|--|---------------------|---|---|--|----------------|
| | | % | g/l | % | g/l | % | g/l | % | g/l | % | g/l | % | g/l | % | g/l | % | g/l | |
| eigene Untersuchung | 341 | 54,2 ±4,5 | 31,3 ±2,6 | 5,9 ±1,5 | 3,3 ³ •1,3 ^{±1} | 7,7 ³ •1,3 ^{±1} | 4,4 ³ •1,3 ^{±1} | 13,7 2,0 [±] | 7,9 ³ •1,2 ^{±1} | 11,8 2,7 [±] | 6,7 ³ •1,3 ^{±1} | 6,8 ³ •1,5 ^{±1} | 4,0 ³ •1,6 ^{±1} | 19,3 ±3,4 | 11,0 ³ •1,2 ^{±1} | 12,3 ³ •1,3 ^{±1} | 7,1 ³ •1,4 ^{±1} | + |
| Bierer 1969 | 10 | 43,0 | | 5,3 ⁴ | | 18,4 ⁴ | | | | 11,9 | | 7,2 ³ | | | | 14,3 | | + |
| Ek 1970 | 50 | 47,3 ±4,0 | | 4,3 ±1,1 | | 9,9 ±1,9 | | | | | | | | 19,5 ±2,9 | | 19,0 ±3,3 | | - |
| Osbaldiston 1972 | 62 | | 30,3 | | | | | 10,0 | | | 10,0 | | 8,0 | | | | 15,0 | - |
| Massip 1974 | 98 | 45,4 ±1,47 | 27,6 ±0,8 | 4,06 ⁴ ±0,33 2,8 ⁴ ±0,18 | 2,5 ⁴ ±0,2 1,7 ⁴ ±0,1 | 13,2 ±0,57 | 8,1 ±0,4 | | | 13,2 ±0,53 | 8,1 ±0,4 | 7,7 ±0,43 | 4,7 ±0,3 | | | 13,5 ±0,73 | 8,2 ±0,5 | + |
| Pierce 1975 | 104 | 41,5 | 27,6 ±2,6 | 7,0 | 4,7 ±0,8 | 11,6 | 7,8 ±1,4 | | | | | | | 22,6 | 15,1 ±3,2 | 17,3 | 11,6 ±2,5 | - |
| Kirk 1975 | 14 | | 27,0 ±0,6 | | 3,0 ⁴ ±0,2 2,1 ⁴ ±0,2 | 8,2 | ±0,8 | | | | 12,7 ±1,1 | | 8,2 ±0,6 | | | | 14,1 ±0,6 | + |
| Kristensen 1977 | 50 | 36,2 ±4,7 | 23,9 ±2,7 | 4,4 ±1,2 | 2,9 ±0,8 | 5 Fraktionen | | | | 15,1 ±3,4 | 10,1 ±2,8 | 8,2 ±2,9 | 5,5 ±2,1 | | | 17,3 ±4,0 | 11,5 ±2,8 | + |
| Biagi 1980 | 767 | 46,65 ±5,95 | | 5,24 ±1,38 | | 8,79 ±1,78 | | | | | | | | 12,04 ±2,3 | | 27,28 ±4,78 | | + |

¹ = nur Erstautor

² = Schulter (+=zu Globulinen, - =zu Albumin)

³ = \bar{x}_g , SF⁻¹

⁴ = 2 Unterfraktionen

Tab. Xb: Vergleich elektrophoretisch ermittelter Referenzwerte der Proteinfraktionen (Fortsetzung)

(alle Angaben soweit nicht anders angegeben als $\bar{x} \pm s$)

| Autor ¹ | n | Albumin | | a ₁ | | a ₂ | | a _{gesamt} | | b ₁ | | b ₂ | | b _{gesamt} | | g | S ² | |
|------------------------|-----|----------------|----------------------------|----------------|--|--|--|---------------------|--|----------------|--|--|--|---------------------|---|---|--|---|
| | | % | g/l | % | g/l | % | g/l | % | g/l | % | g/l | % | g/l | % | g/l | | | |
| eigene Untersuchung | 341 | 54,2 ±4,5 | 31,3 ±2,6 | 5,9 ±1,5 | 3,3 ³ •1,3 ^{±1} | 7,7 ³ •1,3 ^{±1} | 4,4 ³ •1,3 ^{±1} | 13,7 2,0± | 7,9 ³ •1,2 ^{±1} | 11,8 2,7± | 6,7 ³ •1,3 ^{±1} | 6,8 ³ •1,5 ^{±1} | 4,0 ³ •1,6 ^{±1} | 19,3 ±3,4 | 11,0 ³ •1,2 ^{±1} | 12,3 ³ •1,3 ^{±1} | 7,1 ³ •1,4 ^{±1} | + |
| Green 1982 | 6 | | 31,3 | | 4,2 | | 10,5 | | | | | | | | 19,3 | | 14,3 | - |
| Matthews 1982 | 30 | | 29,89 ±3,39 | | 6,4 ±1,21 | | 6,72 ±1,84 | | | | 9,01 ±3,3 | | 5,39 ±1,6 | | | | 2,22 ⁴ ±0,71 6,33 ⁴ ±1,54 | + |
| Chabchoub 1991 | 18 | | 31 ±7 | | 3 ±1 | | 7 ±2 | | | | | | | | 17 ±2 | | 10 ±2 | ? |
| Flothow 1994 | 82 | 56,12 ±3,62 | 35,77 ±2,6 | 2,95 ±0,65 | 1,79 ±0,4 | 7,49 ±1,06 | 4,79 ±0,9 | | | 9,39 ±2,13 | 6,05 ±1,5 | 7,45 ±2,1 | 4,86 ±1,5 | | | 17,16 ±2,86 | 11,28 ±2,3 | - |
| Trumel 1996 | ? | | 26,0- 37,0 ⁵ | | 0,6- 7,0 ⁵ | | 3,1- 13,1 ⁵ | | | | 4,0- 15,8 ⁵ | | 2,9- 8,9 ⁵ | | | | 5,5- 19,0 ⁵ | - |

¹ = nur Erstautor

² = Schulter (+=zu Globulinen, - =zu Albumin)

³ = $\bar{x}_g \cdot SF^{\pm 1}$

⁴ = 2 Unterfraktionen

⁵ = Spannweite

DANKSAGUNG

Meinem Doktorvater Prof. H.H.L. Sasse gilt mein besonderer Dank: nicht nur für die Überlassung des sehr interessanten und praxisrelevanten Themas meiner Dissertation, sondern vor allem für die menschliche und fachliche Unterstützung, die mir von seiner Seite jederzeit gegeben wurde. Dieser Unterstützung konnte ich mir nicht nur im Rahmen der Erstellung dieser Dissertation, sondern auch bei der Arbeit in seiner Klinik, zunächst als Famulantin später als Doktorandin, immer sicher sein. Ich habe in diesen Jahren der Mitarbeit in der Klinik durch das selbständige Arbeiten sehr viel lernen dürfen (und müssen), was mich in meiner persönlichen und fachlichen Entwicklung deutlich geprägt hat.

Ein ganz großer Dank gilt auch Frau Dr. Kerstin Fey. Durch ihre fachliche und kritische Unterstützung ist sie maßgeblich am Gelingen dieser Arbeit beteiligt. Sie hat sich immer Zeit genommen für meine Probleme und Fragen, nicht nur im Zusammenhang mit dieser Arbeit. Die Zusammenarbeit mit ihr hat mich in der täglichen Arbeit in der Klinik immer wieder aufs Neue gefordert und mit Sicherheit zu meiner fachlichen Weiterentwicklung beigetragen. Und auch außerhalb der Klinik ist sie für mich in den letzten Jahren zu einer sehr guten Freundin geworden, die ich nicht missen möchte.

Die statistische Auswertung der Daten wäre ohne die Hilfe von Herrn Dr. Failing und Herrn Heiter aus der Arbeitsgruppe Biomathematik und Datenverarbeitung nie möglich gewesen. Herrn Dr. Failing gilt mein besonderer Dank für die fachliche Unterstützung und Beratung bei der Interpretation der Daten.

Weiterhin möchte ich den Mitarbeiterinnen unseres Labors danken, die den Großteil der Blutuntersuchungen gemacht haben. Ein besonderer Dank gilt hierbei Frau Klein, die immer ein offenes Ohr für meine Fragen hatte, und mich mit ihrem fachlichen Wissen unterstützt hat.

Last but not least danke ich meinen Eltern, denen die Arbeit gewidmet ist, und ohne deren Unterstützung mein Studium und die Erstellung dieser Dissertation nie möglich gewesen wären.