

Aus dem Zentrum für klinische Tiermedizin
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Angefertigt unter der Leitung von: Prof. Ralf S. Müller

**Plazebokontrollierte Doppelblindstudie zur
Immunmodulation der kaninen atopischen
Dermatitis durch Helminthen**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von

Lisa Christine Specht

aus Günzburg

München 2011

Gedruckt mit der Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Braun
Berichtersatter: Univ.-Prof. Dr. Müller
Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Dr. Erhard

Tag der Promotion: 12. Februar 2011

Für meine Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG	1
II.	LITERATURÜBERSICHT	3
2.	Atopie.....	3
2.1.	Humane Atopie	3
2.1.1.	Epidemiologie	4
2.1.2.	Genetik	8
2.1.3.	Pathologie.....	9
2.1.4.	Klinik.....	18
2.1.5.	Diagnose.....	20
2.1.6.	Therapie.....	21
2.1.6.1.	Glukokortikoide	21
2.1.6.2.	Zyklosporine.....	22
2.1.6.3.	Antihistaminika und essentielle Fettsäuren.....	23
2.1.6.4.	Antigen-spezifische Immuntherapie	23
2.1.6.5.	Neue Therapiewege.....	24
2.2.	Kanine Atopie	25
2.2.1.	Epidemiologie	25
2.2.2.	Pathologie.....	26
2.2.3.	Klinik.....	28
2.2.4.	Diagnose.....	31
2.2.5.	Therapie.....	33
2.2.5.1.	Glukokortikoide	34
2.2.5.2.	Zyklosporine.....	35
2.2.5.3.	Antihistaminika und essentielle Fettsäuren.....	36
2.2.5.4.	Allergen-spezifische Immuntherapie	38
2.3.	Immunmodulation durch Helminthen	39
2.3.1.	Helminthen	39
2.3.2.	Allgemeines zur Immunmodulation durch Helminthen.....	40
2.3.3.	Studien mit Helminthen beim Menschen	43
2.3.3.1.	Behandlung von Allergien	48
2.3.3.2.	Behandlung von immunbedingten Erkrankungen.....	51
2.3.4.	Studien mit Helminthen bei anderen Tierarten außer dem Hund.....	52

2.3.4.1.	Studien mit Helminthen beim Hund.....	54
III.	MATERIAL UND METHODEN	57
3.1.	Material	57
3.1.1.	Würmer.....	57
3.1.1.1.	<i>Trichuris vulpis</i>	57
3.1.2.	Hunde	58
3.1.3.	Verwendete Chemikalien und Reagenzien	58
3.1.4.	Geräte in alphabetischer Reihenfolge	59
3.2.	Methoden.....	62
3.2.1.	Einschlusskriterien für die Hunde	62
3.2.2.	Ausschlusskriterien für die Hunde	63
3.2.3.	Randomisierung	63
3.2.4.	Behandlungsgruppen.....	63
3.2.5.	Studienprotokoll	64
3.2.6.	Blutprobenentnahme	66
3.2.7.	Entnahme der Hautstanzen.....	66
3.2.8.	Orale Eingabe des Medikamentes	67
3.2.9.	Blutprobenbearbeitung	67
3.2.9.1.	Bestimmung des Allergen-spezifischen IgE	67
3.2.10.	Biopsienbearbeitung.....	68
3.2.11.	Histologie	68
3.2.11.1.	Fixierung	68
3.2.11.2.	Paraffineinbettung und Schnittherstellung	69
3.2.11.3.	Färbung der Paraffinschnitte	69
3.2.11.3.1.	H.E. Färbung	70
3.2.11.3.2.	Giemsas-Färbung	71
3.2.11.3.3.	Luna-Färbung	72
3.2.11.3.4.	Immunhistochemische Färbung	73
3.2.11.4.	Auswertung	75
3.2.11.4.1.	Bestimmung der Zellzahl	75
3.2.12.	Gewinnung und Lagerung der infektiösen Helminthenstadien.....	76
3.2.12.1.	<i>Trichuris vulpis</i>	76
3.2.13.	Aufbewahrung der Wurmeier in der Klinik	77
3.2.14.	Kotuntersuchung mittels Flotationsverfahren	77

3.2.15.	Statistik.....	78
IV.	ERGEBNISSE	79
4.1.	Hunde	79
4.1.1.	Altersverteilung.....	79
4.1.2.	Geschlechtsverteilung	79
4.1.3.	Rasseverteilung	80
4.2.	Datenauswertung.....	80
4.2.1.	CADESI	80
4.2.2.	Juckreiz.....	82
4.2.3.	Histologische Auswertung	84
4.2.3.1.	Eosinophile Granulozyten.....	84
4.2.3.2.	Neutrophile Granulozyten.....	84
4.2.3.3.	Mastzellen	85
4.2.3.4.	Lymphozten.....	85
4.2.4.	Blutwerte	86
4.2.4.1.	Bestimmung des spezifischen IgE.....	86
4.2.5.	Kotuntersuchung	87
4.2.6.	Nebenwirkungen und Ausschluss von Patienten	87
V.	DISKUSSION	89
5.1.	Zusammenfassung der Studie.....	89
5.2.	Nebenwirkungen	90
5.3.	Zoonosegefahr.....	90
5.4.	Einfluss von <i>Trichuris vulpis</i> auf die klinische Symptomatik von Hunden mit atopischer Dermatitis	90
5.5.	Beeinflussung des zellulären entzündlichen Infiltrates.....	92
5.6.	Beeinflussung des spezifischen IgE	93
5.7.	Ergebnisse der Kotuntersuchung.....	94
VI.	ZUSAMMENFASSUNG	95
VII.	SUMMARY.....	97
VIII.	LITERATURVERZEICHNIS	99
IX.	ANHANG	134
9.1.	Abbildungsverzeichnis	134

9.2.	Tabellenverzeichnis.....	134
9.3.	Besitzereinverständniserklärung	135
9.4.	Studienprotokoll	136
X.	DANKSAGUNG	153

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

®	registrierte Marke
°C	Grad Celsius
µl	Mikroliter
µm	Mikrometer
µM	mikromolar
<i>A. lumbricoides</i>	<i>Ascaris lumbricoides</i>
<i>A. suum</i>	<i>Ascaris suum</i>
AD	Atopische Dermatitis
APC	Antigen präsentierende Zellen (engl. antigen presenting cells)
Aqua bidest.	Aqua bidestillata
Aqua dest.	Aqua destillata
ASIT	allergen-spezifische Immuntherapie
bzw.	beziehungsweise
CAD	Kanine atopische Dermatitis (engl. canine atopic dermatitis)
CADESI	Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index
CD	Cluster of Differentiation
CV	Variationskoeffizient
<i>D. pteronyssinus</i>	<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>
DC	Dendritische Zellen (engl. dendritic cells)
DNA	Desoxyribonukleinsäure (engl. Desoxyribonucleic acid)
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure (engl. Ethylendiamintetraacetic acid)

ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
Fc	kristallines Fragment (engl. Fragment crystalline)
FGL	Filaggrin
GM-CSF	Granulozyten-Makrophagen-Kolonie stimulierender Faktor (engl. Granulocyte-macrophage colony stimulating factor)
H1-/H2-Rezeptoren	Histaminrezeptoren Typ 1/Typ 2
IBD	Inflammatory Bowel Disease
IDEC	entzündliche dendritische Epidermalzellen (inflammatory dendritic epidermal cells)
IFN- γ	Interferon γ
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
ISAAC	International Study of Asthma and Allergy in Childhood
L1	erste Larve
L3	dritte Larve
LC	Langerhans Zellen (engl. Langerhans cells)
Log	Logarithmus
LPS	Lipopolysaccharid
LT	Leukotrien
M	molar
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mM	millimolar
<i>N. americanus</i>	<i>Necator americanus</i>
NaCl	Natriumchlorid

PBS	Phosphat gepufferte Salzlösung (engl. Phosphate Buffered Saline)
PCR	Polymerasekettenreaktion (engl. Polymerase Chain Reaction)
PG	Prostaglandin
pH	pondus Hydrogenii
PLA	Phospholipase A
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylokokkus aureus</i>
<i>S. mansoni</i>	<i>Schistosoma mansoni</i>
SD	Standardabweichung
SDS	Natriumdodecylsulfat (engl. Sodium Dodecyl Sulfat)
spp.	Spezies
<i>T. suis</i>	<i>Trichuris suis</i>
<i>T. vulpis</i>	<i>Trichuris vulpis</i>
TBS Puffer	TRIS gepufferte Salzlösung (engl. TRIS Buffered Saline)
TGF- β	Transforming Growth Factor β
Th	T-Helferzellen
TLR	Toll-like-Rezeptor
TNF- α	Tumornekrosefaktor α
Treg-Zellen	regulatorische T-Zellen
TRIS	Tris(hydroxymethyl)aminomethan
<i>U. stenocephala</i>	<i>Uncinaria stenocephala</i>
U/min	Umdrehungen pro Minute
V	Volt
<i>V. cephalica antebrachii</i>	<i>Vena cephalica antebrachii</i>

I. EINLEITUNG

Die kanine atopische Dermatitis zählt neben der Flohspeichelallergie zu den wichtigsten Hauterkrankungen der Hunde. Die Atopie des Hundes und die des Menschen gleichen einander in klinischer, histologischer und immunologischer Hinsicht, die atopische Dermatitis des Hundes kann daher als Tiermodell für die humane atopische Dermatitis angesehen werden (NUTTALL et al., 2002). Beim Hund herrschen Juckreiz und Dermatitis vor, wohingegen beim Menschen die Symptome der Atopie aus einer klassischen Triade von Asthma, Heuschnupfen und atopischer Dermatitis bestehen.

Die Diagnose einer Umweltallergie wird gestellt, wenn die Vorgeschichte und Klinik für eine Atopie sprechen und alle Differentialdiagnosen, welche zu Juckreiz führen, ausgeschlossen worden sind.

Behandelt werden kann die Atopie zum einen mittels allergen-spezifischer Immuntherapie (ASIT), zum anderen durch verschiedene symptomatische Therapien und deren Kombinationen wie zum Beispiel Glukokortikoide (OLIVRY et al., 2003) (OLIVRY & SOUSA, 2001a), Antihistaminika (OLIVRY et al., 2003), Zyklosporin (OLIVRY et al., 2003; STEFFAN et al., 2006), essentielle Fettsäuren (BOND & LLOYD, 1992; HARVEY, 1999; MUELLER et al., 2004), Shampoobehandlungen, Pentoxifyllin und Misoprostol (OLIVRY et al., 2003).

In der Humanmedizin konnte nachgewiesen werden, dass Darmparasiten bei Umweltallergikern das Immunsystem beeinflussen (COOPER et al., 2003; COOPER et al., 2004; COOPER, 2004). Erste diesbezügliche Vermutungen kamen auf, als der Zusammenhang zwischen einer höheren Wurmbelastung in ärmeren Ländern und einem geringeren Vorkommen von Allergikern in diesen Regionen ersichtlich wurde (COMMITTEE, 1998; CARVALHO et al., 2006). Kinder, welche chronisch mit Helminthen infiziert waren, hatten nach einer konsequenten Wurmbehandlung ein höheres Risiko, eine Allergie zu entwickeln (VAN DEN BIGGELAAR et al., 2004). Obwohl sowohl Allergie als auch Wurminfektion eine Immunantwort vom Typ 2 nach sich ziehen, scheint im Falle der Helminthen die gewebeschützende Komponente zu überwiegen, welche unter anderem durch Produktion von IL-10 und TGF- β durch regulatorische T-Zellen

(T-reg) bewirkt wird. Möglicherweise sind es genau diese Zytokine, welche auch die positive Wirkung auf die klinische Symptomatik der Atopie hervorrufen (CARVALHO et al., 2006).

Dieser positive Effekt von Infektionen mit Helminthen auf die klinischen Erscheinungen einer Allergie wurde bereits bei mehreren Tierarten wie zum Beispiel bei Mäusen (BASHIR et al., 2002; LIMA et al., 2002; MANGAN et al., 2004), Schweinen (HURST et al., 2006) und Rindern (GRAHAM et al., 2001) nachgewiesen. Die neuesten Erkenntnisse beim Hund stammen aus einer Pilotstudie, welche zu diesem Thema durchgeführt wurde. Um den Beweis einer Immunmodulation der kaninen atopischen Dermatitis durch Helminthen zu erbringen, wurden jeweils drei Hunde mit verschiedenen Wurmart in verschiedenen Dosierungen behandelt (HELMER et al., 2008). Zum Einsatz kamen sowohl 500 als auch 2500 embryonierte Eier der Wurmart *Trichuris vulpis* und 500 bzw. 2500 L3 Larven der Wurmart *Uncinaria stenocephala*. Die Wurmastadien wurden den Hunden einmalig oral verabreicht. Für alle Hunde, die an dieser Studie teilnahmen, galten dieselben Rahmenbedingungen. Bei den Hunden konnte eine statistisch signifikante Verminderung von Juckreiz und Läsionen festgestellt werden. Die Zahl von Entzündungszellen in den Gewebeproben ging ebenfalls zurück, diese Veränderung war allerdings nicht signifikant. Auf Grund dieser Daten wurde die vorliegende Plazebo-kontrollierte Doppelblindstudie durchgeführt, um die Ergebnisse der Pilotstudie zu verifizieren.

II. LITERATURÜBERSICHT

2. Atopie

Der Begriff Atopie beschreibt die Neigung eines Lebewesens, auf den Kontakt mit an und für sich harmlosen Substanzen aus der Umwelt eine Überempfindlichkeitsreaktion vom Soforttyp (Typ-I) zu entwickeln.

Die Prävalenz der Atopie ist stetig ansteigend, sowohl beim Menschen als auch beim Hund (HILLIER & GRIFFIN, 2001b; LEWIS-JONES, 2001).

2.1. Humane Atopie

Die allergische Erkrankung Atopie kann verschiedene Organe des Menschen betreffen. Somit erkrankt der allergische Mensch an verschiedenen klinischen Symptomen (COOPER, 2005). Die atopische Dermatitis tritt am häufigsten als Teil der atopischen Triade in Erscheinung. Dazu zählen: allergische Dermatitis, Asthma und allergische Rhinokonjunktivitis (Heuschnupfen) (STONE, 2002).

Einige Studien haben gezeigt, dass die atopische Dermatitis bei Neugeborenen und kleinen Kindern sich mit der Zeit verbessern kann, aber auch mit einem erhöhten Risiko verbunden ist, an Asthma oder Heuschnupfen zu erkranken. (LINNA et al., 1992; GUSTAFSSON et al., 2000). In der Tat ist die AD in den ersten drei Lebensmonaten prädiktiv dafür, mit etwa fünf Jahren eine allergische Atemwegserkrankung zu bekommen (BERGMAN et al., 1998). Nach Leung entwickeln ungefähr 80% der Patienten, welche an AD leiden, in der späteren Kindheit zusätzlich noch entweder Heuschnupfen oder Asthma (LEUNG, 1995). Andere Autoren zählen neben der Trilogie von Asthma, atopischer Dermatitis und allergischer Rhinokonjunktivitis auch nonsuppurative Otitis media und Fehlsteuerung der Eustach'schen Röhre (ELLIS et al., 2002), sowie eine Nahrungsmittelunverträglichkeit zu den wichtigsten Komorbiditäten der Atopie (COOPER, 2005).

Man kann beim Menschen zwei Formen der atopischen Dermatitis unterscheiden. Eine Form, auch extrinsische Form genannt, betrifft die Mehrheit der Patienten (70-80%) und äußert sich in einer Sensibilisierung gegen Umweltallergene und erhöhten Serum IgE-Konzentrationen im Blut. Die zweite Form der AD, die intrinsische Form oder auch nicht-allergische Form genannt, betrifft lediglich 20-

30% der Menschen und geht mit niedrigen Serum IgE-Konzentrationen gegen Umweltallergene einher (SCHMID-GRENDELMEIER et al., 2001).

2.1.1. Epidemiologie

Die Prävalenz von atopischer Dermatitis und Asthma ist in den letzten Jahren stetig angestiegen (SEARS, 1997a; LEWIS-JONES, 2001). Populationsstudien stellen die These auf, dass die Wahrscheinlichkeit, an AD zu erkranken, seit dem 2. Weltkrieg stark angestiegen ist. Außerdem gehen sie davon aus, dass 10-15% aller Menschen während ihrer Kindheit irgendwann an atopischer Dermatitis leiden (SCHULTZ-LARSEN et al., 1986). AD ist bei Frauen in geringem Maße häufiger zu finden als bei Männern, das Verhältnis liegt bei 1,5:1 (KÜSTER et al., 1990). Die Mehrheit der Fälle, etwa 60%, entwickelt sich im ersten Lebensjahr (RUDIHOFF & LEBWOHL, 1998), aber auch im Alter von zwei bis zwölf Jahren und von der Pubertät bis ins Erwachsenenalter zeigen sich häufig zum ersten Mal Symptome. Ob jemand eine AD entwickelt, ist abhängig von verschiedenen Umwelteinflüssen und deren Zusammenspiel. Diese immunologischen Auslöser unterscheiden sich zwischen den einzelnen Individuen und schließen multiple Faktoren ein, wie beispielsweise Essen, Luftallergene, Irritantien und Kontaktallergene, Hormone, Stress, Klima und Mikroorganismen (ABRAMOVITS, 2005). Atopische Dermatitis tritt häufiger in gemäßigten, kälteren und trockenen Regionen auf als in feuchten, tropischen Gegenden. Mögliche Ursachen, welche zum gehäuftem Auftreten beitragen, sind städtische Standorte mit erhöhter Belastung durch schädliche Umwelteinflüsse der Industrie, kleinere Anzahl an Familienmitgliedern, Infektionen mit *Staphylokokkus aureus* und das Alter der Mutter bei der Geburt des Kindes (OLESEN et al., 1996; VON MUTIUS, 2000; HARRIS et al., 2001; JONES, 2002; LARSEN & HANIFIN, 2002).

Williams hat in einer weltweiten Studie, die 56 verschiedene Länder einschloss, bei Kindern im Alter zwischen 6-7 und 13-14 Jahren die Prävalenz der Symptome von Atopie untersucht. Über eine halbe Millionen Kinder waren an der Studie beteiligt. Die Studie kam zu folgendem Ergebnis: Atopie stellt über die gesamte Welt verteilt ein großes Problem dar. Etwa 5-20% der Kinder zwischen 6-7 und 13-14 Jahren sind betroffen. Es gibt jedoch sehr große Unterschiede in der Prävalenz der Erkrankung sowohl zwischen einzelnen Ländern als auch innerhalb einzelner Länder. Bestimmte Umweltfaktoren scheinen eine Rolle für die

Ausbildung der Erkrankung zu spielen. Hohe Prävalenzzahlen wurden beispielsweise für Australien und Nordeuropa gefunden, niedrigere Prävalenzen für Ost- und Zentraleuropa sowie Asien (WILLIAMS et al., 1999).

Die Prävalenz von atopischer Dermatitis und Asthma ist höher in industrialisierten Ländern (WOOLCOCK et al., 1995; COMMITTEE, 1998). ISAAC, eine internationale Studie über Asthma und Allergien in der Kindheit, hat ebenfalls weltweit bei Kindern zwischen 13 und 14 Jahren die Prävalenz dieser Erkrankung untersucht und kam zu einem ähnlichen Ergebnis wie Williams: Sehr hohe Prävalenz für atopische Ekzeme fand sich über die gesamte Welt verstreut, wobei die Häufigkeitszentren in Skandinavien und Afrika lagen. Es gab jedoch keine Übereinstimmung mit den Zentren für Asthma. Die Zentren mit der niedrigsten Prävalenz für AD, allergische Rhinokonjunktivitis und Asthma stimmten dagegen überein. Sie fanden sich in Osteuropa, Indonesien, Griechenland, China, Taiwan, Uzbekistan, Indien und Äthiopien (COMMITTEE, 1998). Es wurde die Vermutung aufgestellt, dass dies etwas mit den Umweltfaktoren und Lebensbedingungen in den entsprechenden Ländern zu tun haben könnte. Ähnlich wie bei allergischen Erkrankungen ist auch die Häufigkeit von Autoimmunerkrankungen und Morbus Crohn in industrialisierten Ländern dramatisch angestiegen. In diesen Ländern hat zur gleichen Zeit auch eine starke Verbesserung der Hygiene, intensivere Vakzinierung und ein verstärkter Gebrauch von Antibiotika und Entwurmungsmitteln statt gefunden, was zu einem enormen Absinken der Infektionszahlen und Wurmansteckungen geführt hat. Dies war wiederum besonders zu beobachten bei Kindern. (WILLS-KARP et al., 2001; BACH, 2002; YAZDANBAKHSI et al., 2002). So hat auch ELLIOTT et al. (2003) festgestellt, dass Morbus Crohn hauptsächlich in stark industrialisierten Ländern mit gemäßigttem Klima gefunden wird und in Afrika, Asien und Südamerika selten ist.

Es gibt mehrere Studien, welche belegen können, dass es zeitgleich mit einer Verbesserung des Lebensstandards zu einem Anstieg der Zahl von allergischen Erkrankungen kam. In Schweden stieg in den Jahren 1979-1991 parallel mit dem Anstieg des Lebensstandards auch die Wahrscheinlichkeit, an Asthma zu erkranken. In Ostdeutschland stieg die Prävalenz für Asthma, aber auch für atopische Dermatitis seit dem Mauerfall 1989 ebenfalls (ABERG et al., 1979; VON MUTIUS, 1998). Es kam in den letzten Jahren zu einem starken Wechsel

der Lebensbedingungen in industrialisierten, aber auch in Entwicklungsländern. Das Ausmaß der Luftverschmutzung hat zugenommen, wir sind einer größeren Zahl von Umweltallergenen ausgesetzt, die Essgewohnheiten haben sich geändert und die Zahl der Infektionen, denen wir ausgesetzt sind, hat sich reduziert. Von all diesen Veränderungen wird angenommen, dass sie an dem dramatischen Anstieg der Zahl an Allergie erkrankter Personen beteiligt sind (YAZDANBAKHS & WAHYUNI, 2005). Sehr entscheidend ist hier sicherlich die Tatsache, dass der Kontakt mit Bakterien, Viren und Parasiten in entwickelten Ländern abgenommen hat und die Menschen geringeren Kontakt zu Schmutz und Tierbeständen haben. Die so genannte Hygiene-Hypothese, geht davon aus, dass der Kontakt mit Infektionserregern in der frühen Kindheit vor Atopie schützt. Dies soll dadurch geschehen, dass die Entwicklung von Typ 1 Helfer-Zellen (Th1) induziert und stimuliert wird und naive CD4+ T-Helfer Lymphozyten (Th0) sich mehr zu Th1 Zellen differenzieren als zu Th2 Zellen (LARSEN & HANIFIN, 2002). Die Hygiene-Hypothese besagt auch, dass Kinder, die mit einem westlichen Lebensstandard aufwachsen, zwar ein reduziertes Risiko haben, an Infektionen in der frühen Kindheit zu versterben, dafür steigt aber ihr Risiko, eine allergische Erkrankung zu entwickeln, an (WILLS-KARP et al., 2001). Andere Forscher glauben, dass die sinkende Zahl an Infektionen während der frühen Kindheit auf Grund der verringerten Exposition, vermehrter Anwendung von Antibiotika und auf Grund anderer Aspekte eines mehr städtisch geprägten Lebensstiles zu einem Anstieg der Th2 Allergiereaktionen führt und sich in dem neuesten Anstieg der Prävalenz für AD niederschlägt (LEUNG & BIEBER, 2003). Es wurde auch ein Zusammenhang zwischen der Kolonisierung des Darmtraktes mit Laktobazillen und einer geringeren Prävalenz für Atopie gefunden (BJORKSTEN et al., 1999). Der Verdauungstrakt stellt nach der Geburt die Hauptquelle für mikrobielle Stimulation des Immunsystems dar und ist essentiell für die Entwicklung einer Th1 Antwort und einer oralen Toleranz. Dies geschieht wahrscheinlich durch Toll-like Rezeptor 4 abhängige Signale von der intestinalen Flora, die das Ziel haben, eine Nahrungsmittelunverträglichkeit zu verhindern (RAMSEY & CELEDON, 2005). Bei neugeborenen Mäusen kann die Gabe von Antibiotika zu Veränderungen der Magen-Darm-Flora in Verbindung mit einer veränderten Th1 Antwort führen, was aber durch die Gabe von Probiotika verhindert werden kann. Bis zum heutigen Zeitpunkt besteht aber kein eindeutiger Beweis dafür, dass die Gabe von Antibiotika in jungem Alter zu einem erhöhten Risiko führt, an

Heuschnupfen zu erkranken oder eine Allergie zu entwickeln (BREMNER et al., ; CULLINAN et al., 2004). Bewiesen ist jedoch die Tatsache, dass Kontakt zu Tierhaltung in der Landwirtschaft während der Kindheit negativ mit der Entwicklung von Asthma oder einer Allergie im Schulkindalter korreliert. Dies wurde sowohl in Kanada als auch in Zentraleuropa nachgewiesen (RIEDLER et al., 2001).

Außerdem wurde herausgefunden, dass Kinder mit reduziertem Kontakt zu anderen Kindern ein erhöhtes Risiko tragen, eine Allergie zu entwickeln. Es konnte aber noch kein spezifisches Agens oder eine mikrobielle Komponente bestimmt werden, welche bei Kontakt zwischen Kindern übertragen werden könnte und zu einem Schutz gegen bestimmte allergische Krankheiten wie z.B. Heuschnupfen in der Lage wäre (RAMSEY & CELEDON, 2005). Man weiß auch, dass es eine inverse Beziehung zwischen der Familiengröße und dem Risiko, an Heuschnupfen zu erkranken, gibt (STRACHAN, 1989). Inzwischen wurde die Hygiene-Hypothese auf alle autoimmunen Erkrankungen ausgeweitet (ZACCONE et al., 2006).

Neben der Hygiene-Hypothese sind es aber auch verschiedene andere Faktoren, bei denen die Vermutung nahe liegt, dass sie einen gewissen Einfluss auf die Ausbildung einer Atopie haben könnten. Dazu zählt man ein niedriges Geburtsgewicht, was meist mit einer reduzierten Lungenfunktion vergesellschaftet ist, Rauchen in der Schwangerschaft, frühe Infektionen mit einem Syncytial Virus und eine Vakkzinierung gegen *Bordetella pertussis*. (INFANTE-RIVARD, 1996; STICK et al., 1996; LAU et al., 2000). (WAHN et al., 1997) haben gezeigt, dass Kleinkindern, die einen gehäuften Kontakt zu Hausstaubmilben oder aber auch zu Katzen in einem Alter von bis zu drei Jahren haben, eher an Asthma erkranken. In der späteren Kindheit wird das Phänomen beobachtet, dass Asthma sehr stark mit der Ausbildung einer Atopie korreliert, vor allem einer Umweltallergie gegen Hausstaubmilben und Haustiere (SEARS, 1997a, 1997b). Eine Studie von Kerkhof, welche in den Niederlanden durchgeführt wurde, hat sich mit der Frage beschäftigt, inwieweit Haustiere die Entwicklung von Allergien und Asthma beeinflussen. Im Rahmen dieser Studie wurden Kinder von ihrer Geburt ab bis zu einem Alter von acht Jahren beobachtet. Dabei wurde festgestellt, dass bei Kindern im Alter von acht Jahren deutlich seltener eine Allergie festgestellt werden konnte, wenn die Kinder im Alter von drei Monaten zusammen mit

Hunden oder Katzen lebten. Dieser Zusammenhang wurde jedoch lediglich für Allergien beobachtet, bei Asthmatikern konnte er nicht festgestellt werden. Katzen konnten somit das Risiko, an einer Hausstaubmilbenallergie zu erkranken, um 30% senken. Hunde hatten das Potential, das Risiko für eine Pollenallergie um 50% zu reduzieren. Ab einem Alter von zwei Jahren ist jedoch bei Kindern, die mit Hunden aufwachsen, häufiger eine Asthmasymptomatik mit trockenem Husten oder Keuchen festgestellt worden, als bei Gleichaltrigen ohne Hund. Interessanter Weise ist jedoch das Risiko, an Asthma zu erkranken, bei diesen Kindern noch weiter angestiegen, sobald der Hund aus dem Haushalt entfernt wurde. An Hand dieser Ergebnisse nahmen die Autoren an, dass Haustiere wie Hunde und Katzen in der Lage sind, kleine Kinder vor Allergien gegen einzuatmende Substanzen wie Pollen und Hausstaubmilben-Kot zu schützen. Die Häufigkeit von Asthma können die vierbeinigen Gefährten jedoch nicht vermindern (KERKHOF et al., 2009).

2.1.2. Genetik

Bei der Entstehung der Erkrankung atopische Dermatitis wirken mehrere Faktoren zusammen. Genetik, Umwelt, pharmakologische Abnormalitäten, Hautbarrierestörungen und/oder immunologische Faktoren (LEUNG & BIEBER, 2003) haben einen Einfluss auf die Entwicklung der atopischen Dermatitis. Die genetische Prädisposition, an Asthma und AD zu erkranken, scheint dieselbe zu sein (LEUNG, 1995).

Kinder mit lediglich milden Symptomen von Asthma wachsen oft aus dieser Erkrankung heraus, wohingegen Kinder mit starkem Asthma, einer Kombination mit Atopie und einer familiären Vorgeschichte von Asthma oder Atopie dauerhaft erkrankt sind (SEARS, 1994).

Eine elterliche Vorgeschichte von atopischer Lungenwegserkrankung erhöht das Risiko signifikant stärker für eine IgE-assoziierte als für eine nicht-IgE-assoziierte atopische Dermatitis. Dies lässt vermuten, dass die Vererblichkeit möglicherweise die Hauptursache für die Entwicklung einer AD ist. Zwillingsstudien mit ein- und zweieiigen Zwillingen bestärkten diese Annahme (SCHULTZ-LARSEN et al., 1986; SCHULTZ, 1993). Ungefähr 27% der Kinder, deren Eltern keine Atopiker sind, erkranken an atopischer Dermatitis im Gegensatz zu 38% beziehungsweise

50% der Kinder mit einem betroffenen Elternteil bzw. zwei betroffenen Elternteilen (BÖHME et al., 2003). Es wird angenommen, dass die Krankheiten AD und Psoriasis von ein und demselben Chromosomenlokus ausgehen. Auch mit der Erkrankung Morbus Crohn wird eine Verwandtschaft vermutet (NOVAK et al., 2003). Bei Morbus Crohn weiß man, dass neben der genetischen Prädisposition die Umwelt einen Einfluss darauf ausübt, welche Person tatsächlich eine IBD (Inflammatory Bowel Disease) entwickelt (ELLIOTT et al., 2004). Es wurde herausgefunden, dass eine Mutation des Genes für Fillagrin (FGL) für atopische Dermatitis prädisponiert (BIEBER & NOVAK, 2009).

2.1.3. Pathologie

Die Pathogenese der atopischen Dermatitis wird noch nicht vollständig verstanden, einige Zellarten (z.B. T-Lymphozyten, Langerhans Zellen, eosinophile Granulozyten, Keratinozyten) werden jedoch damit in Zusammenhang gebracht (ABRAMOVITS, 2005).

In den ersten Studien über diese Erkrankung wurde diskutiert, ob AD eine primär allergen-induzierte Erkrankung darstellt, oder ob es sich dabei um eine entzündliche Begleiterscheinung von Asthma und allergischer Rhinitis handelt, die sich in speziellen Fällen in der Haut äußert (LEUNG, 1995). Heute geht man davon aus, dass es sich bei der atopischen Dermatitis um eine allergische Erkrankung handelt, die starke Parallelen zu Asthma aufweist, sich aber in der Lokalisation des immunologischen Einflussbereiches (Haut-assoziiertes lymphoides Gewebe im Gegensatz zum bronchial-assoziierten Lymphgewebe) unterscheidet. Bei der Atopie wird die Lokalisation der allergischen Erkrankung der Haut wahrscheinlich durch die Expression eines in der Haut angesiedelten Rezeptors, der auf Gedächtnis Effektor T Lymphozyten sitzt, reguliert (LEUNG, 2000). Dieser Rezeptor, oder besser dieses Zell-Adhäsions-Molekül, welches „kutanes Lymphozyten-assoziiertes Antigen“ genannt wird, interagiert mit vaskulären endothelialen Zelloberflächen-Antigenen, um zirkulierende T-Lymphozyten zu der reagierenden Hautstelle zu leiten. Im Blut von Patienten wurde eine erhöhte Zahl an aktivierten T Lymphozyten mit kutanem Lymphozyten-assoziierten Antigen beschrieben. Normalerweise sollen T-Zellen und deren Zytokine das Immunsystem regulieren und gegebenenfalls

unterdrücken, um eine gewisse periphere Toleranz aufrecht zu erhalten und den eigenen Körper vor einer überschießenden Reaktion gegen auf ganz natürliche Weise in unseren Körper gelangende Antigene (Einatmen und Nahrungsaufnahme) zu schützen. So schützen z.B. CD4⁺ Zellen durch die Produktion von Zytokin IL-10 den Körper vor solch überschießenden Reaktionen (GROUX et al., 1997).

Es wurde die Vermutung aufgestellt, dass das sich entwickelnde Immunsystem eine Th1 Stimulierung von der Außenwelt benötigt, um die Entwicklung einer allergischen Erkrankung zu verhindern (WILLS-KARP et al., 2001). Neugeborene Kinder haben eine Tendenz zu einer Th2 Immunantwort, welche sich aber innerhalb der ersten zwei Lebensjahre immer mehr verringert. In diesem Zeitraum kommt es bei atopisch veranlagten Kindern zu einer Steigerung der Th2 Immunantwort (BARRIOS & AL, 1996). Th1 Zellen sind wichtig beim Aktivieren von Makrophagen und induzieren die zellvermittelte Immunität. Th2 Zellen sind wichtig für die humorale Immunität und sind Hauptbestandteil bei allergischen Erkrankungen (UMETSU & DEKRUYFF, 1997). Eine genetische Prädisposition führt dazu, dass es zu einem Ungleichgewicht im Immunsystem kommt und die Ausdifferenzierung der Th2 Antwort stärker favorisiert wird, was sich in gesteigerten IgE-Konzentrationen, Eosinophilie im Blut und einer erhöhten Zahl an Th2 Zellen zeigt. Aus naiven CD4⁺ Zellen (T0 Zellen) bilden sich durch anhaltenden chronischen Antigenkontakt Th1 oder Th2 Zellen. Bei Allergien besteht eine überschießende Th2 Antwort und eine Überproduktion der charakteristischen Zytokine (IL-3, IL-4, IL-5, und IL-13) (UMETSU & DEKRUYFF, 1997). Die Anfangsphase ist gekennzeichnet durch Zytokine, die von aktivierten allergen-spezifischen Th2 Zellen stammen. Zellen, die in die Haut einwandern können wie Makrophagen oder eosinophile Granulozyten, werden angezogen und von Th2 Zytokinen aktiviert und produzieren daraufhin ihrerseits IL-12, was zur Aktivierung von allergen-spezifischen und nicht spezifischen Th0 und Th1 Zellen führt. Die Zahl von Interferon- γ -produzierenden Zellen ist sehr hoch, was die Chronizität der atopischen Hautveränderungen und den Schweregrad der Erkrankung bestimmt (GREWE et al., 1998a). Möglicherweise ist IL-12 ausschlaggebend für den Wechsel vom Übergewicht der Th2 Antwort in der akuten Phase hin zu der größeren Beteiligung von Th1 Zellen während der chronischen oder Erhaltungsphase (GREWE et al., 1998b).

Patienten mit atopischer Dermatitis weisen ein zweiphasisches T Helfer Zell-Muster auf, in welchem die Th2 Immunantwort im frühen akuten Stadium auftritt, sich aber umwandelt in eine Th1 dominierte Phase bei chronischen Läsionen (LEUNG, 2000). In dieser Vorstellung sind Th2 Zytokine während der akuten Phase im Übergewicht und stimulieren eosinophile Granulozyten, welche dann IL-12 produzieren. IL-12 wiederum aktiviert Th1 und Th0 Zellen und fördert die gesteigerte Produktion von IFN- γ , welches die Th2 Antwort hemmt und hilft, die Läsionen der AD über einen längeren Zeitraum zu erhalten (GREWE et al., 1998b).

Die systemische Th2 Antwort, welche sich bei Patienten mit atopischer Dermatitis zeigt, ist geprägt durch erhöhte IgE-Konzentrationen (sowohl totaler IgE Level als auch allergen-spezifischer IgE Level (BOLUDA et al., 1997)) und Eosinophilie. Die Typ-2 Zytokine IL-4 und IL-13 verursachen eine Zunahme von IgE, wobei IL-5 zu einer erhöhten Zahl an Eosinophilen führt (DEL PRETE et al., 1988; WALKER et al., 1991). Akute Hautläsionen sind assoziiert mit einem Einwandern von Th2 Zellen, dagegen wandern bei chronischen Läsionen vor allem Eosinophile und Makrophagen ein, womit es zu einem Anstieg der IL-12 Expression kommt, was wiederum eine Zunahme von Th1 Zellen zur Folge hat. Dieser Wechsel der Immunantwort von Th2 zu Th1 geht parallel mit einem Wechsel des klinischen und histologischen Erscheinungsbildes von akuten Papeln und Spongiose hin zu Lichenifikation, epidermaler Hyperplasie und dermalen Fibrose einher (LEUNG, 2000). Von Th1 Zellen wird angenommen, dass sie einen Schutz gegen allergische Symptome bieten, da IFN- γ inhibitorisch auf die Bildung von IgE einwirkt und da allergen-spezifische Th1 Zellen in nicht-allergischen Individuen gefunden werden können (UMETSU & DEKRUYFF, 1997).

Obwohl das Th1/Th2 Denkmuster, das davon ausgeht, dass die Th2 Antwort bei der AD im Vordergrund steht, einen großen Beitrag zu unserem Verständnis für immunologische Prozesse geleistet hat (ASADULLAH et al., 2002), sind die beteiligten Mechanismen viel komplexer (ABRAMOVITS, 2005).

Wie bereits erwähnt, zeigt die Mehrheit der Patienten mit atopischer Dermatitis eine Überproduktion an IgE, insbesondere während des Beginns oder Aufflackerns der Erkrankung, was möglicherweise ein Ergebnis der gesteigerten Produktion von Typ-2 Zytokinen während der akuten Phase der Erkrankung ist

(VAN REIJSEN et al., 1992; LEUNG, 2000). Nach dem Andocken mit einem Antigen spielt IgE eine Schlüsselrolle in der Typ-1 Überreaktion. Mastzellen und basophile Granulozyten werden induziert, um verschiedene bioaktive Mediatoren auszuschütten, wie zum Beispiel Histamin (JELINEK, 2000). Allergenspezifisches IgE aktiviert Mastzellen und Basophile indem es mit einem Hoch-Affinitäts-Rezeptor für IgE, dem so genannten FcεRI, interagiert, der an diesen Zellen lokalisiert ist (GALLI et al., 2003).

IgE Autoreaktivität könnte an der Pathogenese der atopischen Dermatitis ebenso beteiligt sein. Die meisten Patienten mit AD haben zirkulierende IgE Antikörper, welche gegen endogene Proteine gerichtet sind. Diese Tatsache könnte helfen, die allergische Entzündung nach Exposition zu einem allergischen Auslöser aufrecht zu erhalten (LEUNG & SOTER, 2001). Neben IgE scheint auch IgG4 eine Rolle für die Atopie beim Menschen zu spielen. Es scheint zum einen blockierende Eigenschaften zu besitzen, zum anderen aber auch „reaginic“ Aktivität zu haben (BOLUDA et al., 1997). IgG4 ist charakteristisch für die normale Immunität gegenüber Allergenen (AALBERSE et al., 1983; WALKER et al., 1991).

Die Antwort auf lösliche Phospholipase A2 (PLA) aus Bienengift repräsentiert ein gut geeignetes menschliches Modell, um die Regulationsmechanismen von Zytokinen und antigen-spezifischen IgE und IgG Antikörpern zu studieren. PLA repräsentiert das Hauptantigen und Allergen bei Patienten, welche gegen Bienengift sensibilisiert sind, und kann sowohl Allergie als auch normale Immunität induzieren (KAGEY-SABOTKA et al., 1976; MÜLLER et al., 1995). Bei Erstanwort auf einen Bienenstich scheidet man normalerweise IgG1 anti-PLA Antikörper aus (AALBERSE et al., 1983), wiederholte Bienenstiche generieren IgG4 anti-PLA Antikörper mit einer hohen Affinität (AALBERSE et al., 1983; LUCAS, 1990; CARBALLIDO et al., 1993). Dahingegen entwickeln Personen, welche allergisch gegen Bienengift sind, exzessiv IgE Antikörper hauptsächlich gegen PLA (KAGEY-SABOTKA et al., 1976; MÜLLER et al., 1995).

Die Produktion von IgG4 Antikörpern durch Gedächtnis B Zellen ist abhängig von der Anwesenheit von IFN- γ und wird von IFN- γ unterdrückt, wohingegen IgE abhängig von IL-4 ist (CARBALLIDO et al., 1994; AKDIS et al., 1997a; AKDIS et al., 1997b). Deshalb sind sowohl Th1 als auch Th2 Zellen an der Wirtsabwehr beteiligt. Sie regulieren sich gegenseitig, indem IFN- γ die Th2 Antwort und entsprechend dazu IL-4 und IL-10 die Th1 Antwort nach unten

regulieren. Das ist wichtig, um Gewebeschäden durch die eigene Immunantwort verhindern zu können (CARVALHO et al., 2006). Die Studie von Jeannin und Mitarbeitern zeigt, dass IL-10 zum einen die Produktion von IgE hemmt und zum anderen durch die Stimulierung von peripheren Blutmastzellen durch IL-4 die Synthese von IgG steigert (JEANNIN et al., 1998). Auch Jutel hat in seiner Studie gezeigt, dass IL-10 und TGF- β die spezifische T-Zell Antwort supprimieren und somit einen wichtigen Mechanismus für die Immunantwort auf Umweltallergene darstellen (JUTEL et al., 2003).

Es wurde in einer Studie von Koning 1997 festgestellt, dass bei Kindern mit allergischem und nicht-allergischem Asthma sowie bei Kindern mit atopischer Dermatitis IL-10 mRNA niedriger und im Gegensatz dazu IL-5 mRNA höher ist als bei gesunden Kindern. Die Forschergruppe ging daraufhin davon aus, dass die fehlende Immunsuppression bei dieser Art von Erkrankungen eventuell auf die reduzierte Expressierung von IL-10 zurückzuführen ist (KONING et al., 1997). IL-10 wirkt entzündungshemmend auf IgE/antiIgE wettstreitende menschliche Mastzellen und verhindert die Ausscheidung von TNF- α , IL-8 und Histamin (ROYER et al., 2001). IL-10 ist das Hauptregulationszytokin der Entzündungsantwort, es inhibiert die Synthese von IFN- γ und IL-2 in Th1 Zellen und wird produziert von mononukleären Phagozyten (DE WAAL MALEFYT et al., 1991; FIORENTINO et al., 1991), von natürlichen Killerzellen (HSU et al., 1992) und von Th1 und Th2 Lymphozyten (DEL PRETE et al., 1993). Auch so genannte Treg (regulatorische T-Zellen) produzieren IL-10 und TGF- β , wodurch die IgE Produktion stark supprimiert wird, während gleichzeitig die Produktion von nicht-entzündlichen Antikörper Isotypen IgG4 und IgA ansteigt (AKDIS et al., 2005). Treg Zellen supprimieren direkt oder indirekt Effektorzellen von allergischen Entzündungen, wie Mastzellen, basophile und eosinophile Granulozyten, und wirken mit beim Remodellieren von Asthma und atopischer Dermatitis (AKDIS et al., 2005).

Eine weitere wichtige Zellart für die Pathogenese der Atopie stellt die Mastzelle dar. In der Haut von Menschen und Hunden mit Atopie werden vermehrt Mastzellen und auch Histamin gefunden (MIHM et al., 1989; DEMORA et al., 1996). Mastzellen entwickeln sich aus den Vorläuferzellen im Knochenmark und reifen im peripheren Gewebe, veranlasst durch das dortige Milieu und den Einfluss von verschiedenen Zytokinen (NAUTA et al., 2008). Die Mastzellen

kommen bei der sofortigen Immunantwort zum Einsatz und bringen lokale Reaktionen wie Ödeme, Gewebeschwellungen oder Bronchokonstriktion mit sich. Durch die Ausschüttung von chemotaktischen und pro-inflammatorischen Mediatoren nehmen sie auch Einfluss auf die Spätphase der allergischen Reaktion. Auch bei anderen Erkrankungen wie IBD, nicht atopischem Asthma und Kontaktallergie sind die Mastzellen bei der Entstehung von Überreaktionen beteiligt. Sie können direkt durch Pathogene wie Bakterien, Hefen oder Parasiten aktiviert werden, oder aber durch viele verschiedene endogene oder exogene Peptide, Zytokine oder andere Entzündungsmediatoren (METZ et al., 2007). Mastzellen können verschiedene Mediatoren freisetzen, welche in drei Untergruppen gegliedert werden können. Zum einen sind das die präformierten Mediatoren, die in zytoplasmatischen Granula gespeichert werden, dazu zählt man Histamin, Proteoglykan und Proteasen. Eine weitere Mediatorenart sind die neu-synthetisierten Lipidmediatoren, Metaboliten der Arachidonsäure. Und zum Dritten zählen zu den Mediatoren viele verschiedene Zytokine, Chemokine und Wachstumsfaktoren (GALLI et al., 2005; MARONE et al., 2005; METZ et al., 2007). Mastzellen sind zudem verantwortlich für die große Mehrheit der IgE bedingten allergischen Sofortreaktionen (METZ et al., 2007). Viele der klinisch signifikanten Veränderungen, verursacht durch IgE assoziierte antigenabhängige Reaktionen in der Haut, scheinen vor allem auf das Einwandern von Leukozyten in der Spätphase der Reaktion zu beruhen. Die Spätphase einer allergischen Reaktion läuft einige Stunden nach dem initialen Kontakt mit einem Antigen ab. Meistens geht der Spätreaktion eine Sofortreaktion voraus (WILLIAMS & GALLI, 2000; METZ et al., 2007).

Hautläsionen von Patienten mit atopischer Dermatitis beinhalten vermehrt CD1+a epidermale Langerhanszellen (LC), welche zu den dendritischen antigen-präsentierenden Zellen (APC) gehören. Langerhanszellen exprimieren auf ihrer Oberfläche Hoch-Affinitäts IgE Rezeptoren (FcεRI) und spielen wahrscheinlich eine wichtige Rolle bei der Allergenpräsentation (MUDDE et al., 1990; JURGENS et al., 1995). Die Aktivierung von Th2 Lymphozyten bewirkt die Expression von IgE, welches wiederum zur Entwicklung eines positiven Feedback Mechanismus führt, der die Antwort auf ein Antigen/Allergen verstärkt (GALLI et al., 2003). Antigen-präsentierende Zellen exprimieren dieselbe Art von Rezeptoren auf ihrer Oberfläche wie Immunglobuline, was bewirkt, dass

Interaktionen zwischen den verschiedenen Wirtszellen möglich sind und somit die Immunantwort reguliert werden kann (MCGREAL et al., 2005). Zu den antigenpräsentierenden Zellen (APC) des angeborenen Immunsystems gehören Makrophagen, dendritische Zellen (DC) und B-Lymphozyten. Die Zellen präsentieren den T-Lymphozyten Antigene und aktivieren damit eine Wirtsabwehr und das immunologische Gedächtnis. B-Zellen sind in der Lage viele verschiedene Antigene aufzunehmen und zu präsentieren. Makrophagen und DC sind auf Rezeptoren auf der Zelloberfläche angewiesen, um unterscheiden zu können, ob es sich um harmlose Autoantigene oder pathogene Antigene, welche eine Immunantwort benötigen, handelt (TAYLOR et al., 2005).

Läsionen der AD beinhalten auch noch eine andere Population von CD1a+ dendritischen Zellen, welche entzündliche dendritische Epidermalzellen (IDEC) genannt werden. In gesunder Haut werden diese nicht gefunden und sie unterscheiden sich von klassischen LCs. An ihrer Oberfläche exprimieren sie ebenfalls FcεRI und spielen wahrscheinlich auch eine wichtige Rolle in der Allergenpräsentation bei der atopischen Dermatitis. Die FcεRI Expression scheint stärker zu sein als bei den klassischen Langerhanszellen (WOLLENBERG et al., 1996; SCHULLER et al., 2001; MCDERMOTT et al., 2002). Außerdem besitzen IDECs Vertiefungen und Vesikel auf ihrer Oberfläche in enger Nachbarschaft zu großen endosomenähnlichen Strukturen, die alle zur Endozytose von bakteriellen Komponenten dienen (WOLLENBERG et al., 2002). Entzündliche dendritische Epidermalzellen scheinen zudem große Mengen von ko-stimulierenden Molekülen CD80 und CD86 zu exprimieren, welche für die T-Zellen-Aktivierung und Proliferation notwendig sind, sowie einen hohen Level an proinflammatorischen Zytokinen (z.B. IL-12, IL-8 und IFN-γ), was wiederum dazu dient, die AD-assoziierte Entzündungsreaktion zu verstärken. Außerdem sind sie möglicherweise für den Wechsel von Th2 zu Th1 verantwortlich, der in der chronischen Phase der AD besteht (SCHULLER et al., 2001; NOVAK et al., 2004). Im Gegensatz dazu scheinen die Langerhanszellen verantwortlich zu sein für die Freisetzung von chemotaktischen Signalmolekülen, die dazu dienen, IDECs und naive T-Zellen anzulocken (NOVAK et al., 2004). Langerhanszellen von Patienten, welche an atopischer Dermatitis leiden, beteiligen sich außerdem an der Rekrutierung von CD4+ T-Lymphozyten an die Läsionsstellen durch die Stimulierung der Produktion von IL-16 (LABERGE et al., 1998; REICH et al.,

2002).

Des Weiteren scheint bei chronischen Entzündungsreaktionen in Verbindung mit AD Läsionen die Infiltration der Haut mit eosinophilen Granulozyten und Makrophagen und die konsequente Produktion von IL-12 wichtig zu sein (KAPP, 1993). Eosinophile von Patienten mit atopischer Dermatitis scheinen mit einem „Primer“ versehen zu sein und demonstrieren eine erhöhte Migrationsfähigkeit mit verschiedenen Chemotaxinen (BRUIJNZEEL et al., 1993; GIMÉNEZ, 2000). Granulozyten-Makrophagen Kolonie-Stimulierender-Faktor (GM-CSF) ist ein sehr potenter Faktor für die Chemotaxis von eosinophilen Granulozyten (GIMÉNEZ, 2000). Werden Mastzellen über ihren IgE –Rezeptor stimuliert so werden nach Ausschüttung von Histamin verschiedene Zytokine sezerniert, wie IL-3, IL-4 und IL-5 sowie der erwähnte Granulozyten-Makrophagen Kolonie-Stimulierungs-Faktor (BURD et al., 1995).

Eosinophile Granulozyten von Patienten mit AD haben im Gewebe eine längere Überlebensdauer. Diese dysregulierte Apoptose der eosinophilen Granulozyten und anderer Zellen, wie z.B. Monozyten, könnte verantwortlich sein für die Entstehung und das Persistieren von Läsionen der atopischen Dermatitis (BRATTON et al., 1995; TRAUTMANN et al., 2000; AKDIS et al., 2001). Das Zytokin IL-5 ist vielleicht verantwortlich für die erhöhte Überlebensfähigkeit (DOMAE et al., 2003). Ebenso scheint IL-10 eine wichtige Rolle zu spielen bei der Regulierung des Überlebens von Monozyten und der Entwicklung von Makrophagen durch die Blockade des GM-CSF-abhängigen anti-apoptischen Effektes in der frühen Entwicklungsphase von Hautveränderungen (HASHIMOTO et al., 2001). Große Mengen an GM-CSF sind ein zentrales Merkmal von atopischer Dermatitis, da dieses Zytokin zu der Entwicklung und dem Verbleiben eines chronischen Entzündungsprozesses führt. Dies geschieht dadurch, dass durch GM-CSF die Entstehung und Reifung von Langerhanszellen sowie deren gesteigerte Kapazität, Antigene zu präsentieren, induziert wird. Außerdem veranlasst er das Überleben von dendritischen Zellen und Makrophagen (BREUHAHN et al., 2000; GIROLOMONI & PASTORE, 2001). GM-CSF induziert auch die Hyperproliferation und Apoptose von Keratinozyten (BREUHAHN et al., 2000).

Keratinozyten fungieren anscheinend als Erstauslöser und Angriffsziel von immunologischen Antworten in der Haut (CHU et al., 2003). Keratinozyten sind

als Korneozyten in die Struktur des *Stratum corneums* eingebaut (MADISON & HOWARD, 1996; MADISON et al., 1998; CHU et al., 2003). Bei atopischen Menschen ist die Hautbarriere – die Durchlässigkeit zwischen Körper und der Umwelt – geschädigt, was sich in einem erhöhten transepidermalen Wasserverlust und einer verringerten Kapazität, Wasser zu binden, zeigt und die damit verbundene Trockenheit und den starken Juckreiz bei der AD verursacht (WERNER, 1986; FATASCH, 1994). Dieser Defekt beruht auf einer niedrigeren Konzentration von Ceramiden, die dadurch bedingt ist, dass das Enzym, welches den Ceramid-Vorläufer Sphingomyelin hydrolisiert, übermäßig ausgeschüttet wird (HARA et al., 2000; ESCHE et al., 2004). Bei der Hydrolyse von Sphingomyelin entstehen freie Fettsäuren und Sphingosyl-Phosphoryl-Cholin, ein Hoch-Regulierer von Plasminogen Aktivatoren und ein Auslöser der Proliferation von Keratinozyten. Zudem verursacht die verringerte Bildung von Ceramiden einen erhöhten Level an Protein-Kinase C (IMOKAWA, 2001).

Zusätzlich verursacht Kratzen, das durch den Juckreiz ausgelöst wird, Traumata und verschlechtert weiterhin die Hautbarriere. Durch das Kratzen werden Keratinozyten angeregt, eine Vielzahl an proinflammatorischen Zytokinen auszuschütten (LEUNG & SOTER, 2001). Zu diesen zählen IL-1, TNF- α und IL-4, Zytokine, welche entscheidend sind für die Induzierung von Adhäsionsmolekülen und auch für die Wegweisung von Lymphozyten, Makrophagen und Eosinophilen zu den kutanen Entzündungsstellen (ROBERT & KUPPER, 1999). Die defekte Hautbarriere erlaubt den Eintritt von *Staphylokokkus aureus* und anderen Keimen. Diese Tatsache zusammen mit der erhöhten Bindungsbereitschaft von atopischer Haut für *S. aureus* führen zu einer erhöhten Ansiedelung von *S. aureus*, was häufig bei Patienten mit AD berichtet wird (CHO et al., 2001; ONG et al., 2002). Das Eindringen von *S. aureus* hat ernste Konsequenzen für die Keratinozyten, da die Mikrobe verschiedene immunmodulatorische Proteine ausschüttet, einschließlich dem zytolytischen Toxin α (welches fatale Schäden an Keratinozyten verursacht) und dem superantigenem Toxin (induziert Ausschüttung von proinflammatorischen und zytotoxischen Zytokine durch Keratinozyten) (ESCHE et al., 2004). Diese Toxine und andere Proteinprodukte scheinen zu verhindern, dass Keratinozyten das antimikrobielle Peptid β -Defensin und Kathelazine in ausreichenden Mengen produzieren können, um *Staphylokokkus aureus* abzutöten (ONG et al., 2002;

NOMURA et al., 2003).

2.1.4. Klinik

Die atopische Dermatitis ist in der Mehrheit der Fälle das erste Symptom einer allergischen Erkrankung und tritt meist in den ersten sechs Lebensmonaten auf, in der Regel vor dem 5. Lebensjahr (KAY et al., 1994; COOPER, 2005). Bei der Hälfte der atopischen Patienten folgt der AD die Erkrankung Asthma, wobei meist eine Verschlechterung der Hautsymptomatik auftritt. Zwei Drittel der Patienten entwickeln eine allergische Rhinitis (OH et al., 2002). Atopische Dermatitis ist eine weit verbreitete entzündliche Hauterkrankung, die durch den damit verbundenen starken Juckreiz und die unansehnlichen Hautveränderungen den Patienten Stress verursachen. In extremen Fällen kann es zu psychologischen Problemen führen, im Falle von sehr jungen betroffenen Kindern ist die gesamte Familie in Mitleidenschaft gezogen (BARNETSON & ROGERS, 2001). Die Läsionen sind stark juckend, gerötet, schuppig und krustig, manchmal erscheinen auch so genannte „weeping patches“ (RUDIHOFF & LEBWOHL, 1998). Die Hautläsionen sind nach einem charakteristischen alters-bedingten Muster verteilt. Bei Neugeborenen ist das Gesicht, vor allem die Wangen betroffen, die Nase und paranasalen Bereiche sind gewöhnlich ausgespart (LEUNG & BIEBER, 2003). Das kindliche Stadium im Alter von 2-12 Jahren zeigt außerdem ein papulöses „Beugeekzem“ in den Ellenbeugen und Kniekehlen, aber auch an der volaren Seite der Handgelenke, den Fußgelenken und im Nacken. Verdickte kutane Plaques zeigen Lichenifikation sowie Exkoration. Im Erwachsenenalter nach der Pubertät bilden sich die Beschwerden häufig zurück oder treten schubweise auf. Dann finden sich Hautverdickungen in den Ellenbeugen, an der Stirn sowie periorbital. Handgelenke, Hände, Fußgelenke, Füße, Finger und Zehen können gelegentlich ebenfalls beteiligt sein (LEUNG & BIEBER, 2003; MATTHYS & SEEGER, 2008). Verschiedene Hautläsionen treten bei der atopischen Dermatitis auf. Es gibt akute Hautveränderungen, die sich dadurch auszeichnen, dass sie mit starkem Juckreiz und erythematösen Papeln auf geröteter Haut einhergehen, meistens können Exkorationen, Erosionen und seröses Exsudat gefunden werden. Subakute Läsionen äußern sich durch Erythem, Exkorationen und schuppige Papeln. Die chronischen Läsionen sind mit verdickter Haut, Lichenifikation und fibrotischen Papeln vergesellschaftet (LEUNG, 1995). Bei chronisch betroffenen Patienten können alle drei Formen von Läsionsstadien auch nebeneinander

angetroffen werden. AD Patienten haben eine erniedrigte so genannte Juckreizschwelle (RAJKA, 1968; MATTHYS & SEEGER, 2008). Ein Überschreiten dieser Reizschwelle resultiert in Juckreiz. Mehrere Hautstimuli, welche einzeln betrachtet unter dieser Schwelle liegen, addieren sich und liegen somit als Summe gesehen über der Schwelle und verursachen dadurch Juckreiz. Es ist nachgewiesen, dass bei Stress diese Juckreizschwelle erniedrigt ist. Für jeden Menschen ist die Höhe dieser Juckreizschwelle individuell unterschiedlich (GUPTA et al., 1994). Bei der Ausbildung von Ekzemen spielt das Kratzen auf Grund von Juckreiz eine wichtige Rolle. Der Juckreiz ist meistens am frühen Abend und nachts am schlimmsten (LEUNG, 1999). Stimuli, die auf die Haut einwirken können, sind neben Umweltallergenen auch Nahrungsmittelallergene oder Keime wie Bakterien oder Hefen. Bei einer Studie in Indien wurde festgestellt, dass viele atopische Kinder auch erhöhte Antikörper gegen ein oder mehrere Lebensmittelallergene zeigten, dies war vor allem bei Äpfeln und Haselnüssen der Fall (SOMANI, 2008). Jones konnte mit Hilfe von Provokationstests ebenfalls feststellen, dass viele AD Patienten auf Lebensmittel reagieren (JONES, 2002). Die Reaktionen zeigten sich an der Haut und gingen mit starkem Juckreiz einher, meist innerhalb von zwei Stunden nach Aufnahme der Nahrung. Meist gingen diese Hautveränderungen bereits nach drei Stunden wieder zurück, in hartnäckigeren Fällen persistierten sie bis zu acht Stunden. Die Lebensmittel, welche bei den meisten Patienten eine allergische Reaktion verursachten, waren Eier, Milch, Erdnüsse, Soja und Getreide. Zahlenmäßig leiden aber die wenigsten Erwachsenen mit atopischer Dermatitis an einer Lebensmittelunverträglichkeit (JONES, 2002).

Auffällig ist, dass Patienten mit atopischer Dermatitis häufig gleichzeitig unter sekundären Hautinfektionen leiden, was beispielsweise bei Patienten mit Psoriasis, einer weiteren Hauterkrankung, nicht der Fall ist. In einer Studie von Nomura wurde gezeigt, dass es bei Patienten mit AD auf Grund der erhöhten Th2 Zytokine zu einer verringerten Expression von antimikrobiellen Genen kommt und somit Keimen das Anhaften an deren Haut erleichtert wird (NOMURA et al., 2003). Leyden et al zeigte in seiner Studie, dass in 90% der Läsionen von AD Patienten *Staphylokokkus aureus* nachgewiesen werden konnte, im Gegensatz zu 5% der Menschen mit normaler Haut. Meistens findet man den Keim *S. aureus* in der Nase oder in Hautfalten (LEYDEN, 1974). Aber auch die Tendenz bei AD

Patienten zu einer durch Viren, Pilze und anderen Bakterien erzeugten Hautinfektion ist hoch. Virale Infektionen können neben *Herpes simplex*, Vaccina und Warzen auch *Molluskum contagiosum* oder Papilloma Viren sein (LEUNG, 1995).

2.1.5. Diagnose

Um die Diagnose atopische Dermatitis stellen zu können gibt es kein spezifisches Symptom und es sind auch nicht bei allen Patienten dieselben Symptome vorhanden. Ein starker Verdacht kann aber bei einer Vorgeschichte von anderen allergischen Erkrankungen gehegt werden, wenn Juckreiz chronisch und wiederkehrend ist und wenn typische Hautläsionen bei der dermatologischen Untersuchung gefunden werden (BOGUNIEWICZ & LEUNG, 1988). In der Regel wird die Diagnose an Hand von klinischen Anzeichen gestellt, die meist in Summe auftreten. Dabei werden Haupt- und Nebenmerkmale der atopischen Dermatitis unterschieden. Zu den **Hauptkennzeichen** zählen:

- Juckreiz und Exkorationen
- Typisches Auftreten und Verteilungsmuster der Hautläsionen; Gesicht und Streckmuskeln sind bei Neugeborenen und kleinen Kindern meistens betroffen, Beugemuskel-Beteiligung und Lichenifikation tritt im Erwachsenenalter auf
- Chronizität oder häufige Rückfälle meist in einem Zeitabstand von sechs Wochen
- Persönliche oder familiäre Geschichte von atopischer Dermatitis, allergischer Rhinokonjunktivitis, Lebensmittelallergie oder Asthma

Zu den **Nebenmerkmalen** zählt man:

- Höhere Empfänglichkeit für Hautinfektionen, vor allem mit *S. aureus*
- Xerosis (Trockenheit der Haut)
- Früher Erkrankungsbeginn
- Viele Sofortreaktionen beim Prick-Test
- Ichthyosis, Keratosis pilaris, verstärkte Handlinienzeichnung an der Handinnenfläche

- Unspezifische Hand/Fuß Dermatitis
- Kopfhautdermatitis
- Erhöhte IgE Level

(LEUNG, 1995).

Außerdem stellt der Patch-Test ein *in vivo* Model für die atopische Dermatitis beim Menschen dar. Unter standardisierten Bedingungen werden bei 30-40% der Patienten positive Ergebnisse auf topisch aufgetragene Allergene erwartet, auf die eine Person bei Inhalation allergisch reagiert (GREWE et al., 1998b).

2.1.6. Therapie

Es gibt verschiedene Möglichkeiten, eine Atopie erfolgreich zu behandeln. Dazu zählen die Feuchthaltung der Haut sowie die Identifikation und konsequente Eliminierung von verschlimmernden Faktoren, welche irritierende Mittel, Allergene, infektiöse Agentien, aber auch emotionaler Stress sein können (LEUNG, 2000). Das tägliche Baden mit anschließender Benutzung eines Moisturizers hilft, die Feuchtigkeit der Haut zu verbessern.

2.1.6.1. Glukokortikoide

Die Wirkung von Glukokortikoiden beruht darauf, die Expression von zahlreichen Entzündungsgenen zu verhindern, wie z.B. von Zytokinen, Enzymen, Rezeptoren und Adhäsionsmolekülen. Sie sind somit auch in der Lage, die Zahl der zirkulierenden Eosinophilen zu reduzieren (OWEN et al., 1987), die Aktivität, Proliferation und das Überleben von T-Lymphozyten zu hemmen und die Ausschüttung von IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-13 und GM-CSF zu blockieren. Diese Interleukine sind sehr wichtig für die Rekrutierung und das Überleben von Entzündungszellen (BARNES, 1998). Durch die verringerte Ausschüttung von IL-3 kommt es indirekt auch zu einer Verringerung der Zahl an Mastzellen aus den Schleimhäuten. Die Wirkung von Glukokortikoiden kommt unter anderem dadurch zu Stande, dass sie in der Lage sind, eine Deacetylierung von Histonen zu verursachen, wodurch wiederum die DNA straffer gewickelt wird und somit Transkriptionsfaktoren in geringerem Maße Zugriff auf die Bindungsstellen an der DNA haben, was letzten Endes zu einer Reduktion der Genexpression führt. Nebenwirkungen von Glukokortikoiden beruhen vor allem auf den endokrinen und metabolischen Aktivitäten dieser Steroide (BARNES, 1998). Bei einer

geringen Zahl an Menschen kommt eine erbliche Glukokortikoid-Resistenz vor, wahrscheinlich ist der Grund dafür eine Abnormalität der Bindung von Glukokortikoiden an die Rezeptoren. Es wird aber auch vermutet, dass durch die Therapie mit Glukokortikoiden die Glukokortikoid-Rezeptoren in den zirkulierenden Lymphozyten herunterreguliert werden können, was zu einer sekundären Resistenz gegen dieses Medikament führt (ROSEWICZ et al., 1988).

Neuere Glukokortikoide wurden dahin gehend verbessert, dass die positiven Effekte der Steroide überwiegen, welche auf der Transrepression beruhen, wohingegen die Nebenwirkungen von der Transaktivierung hervorgerufen werden. Aus diesem Grund wurde nach Kortikosteroiden geforscht, welche selektiv für die Transrepression sind, um somit die Gefahr von Nebenwirkungen zu reduzieren (BARNES, 1998).

Synergistische Effekte bei der Gabe von Glukokortikoiden zusammen mit Zyklosporinen oder Tacrolimus wurden nachgewiesen (WRIGHT et al., 1995). Ein ebenfalls synergistischer Effekt wird bei der Gabe von Retinoidsäure (Vitamin A) und Glukokortikoiden beobachtet, dadurch soll es zu einer Repression von Transskriptionsfaktoren kommen (WALLACE et al., 1996).

Topische Kortikosteroide helfen dabei die Gefahr einer Hautinfektion zu verringern, sie sind jedoch auf Grund der Gefahr von Nebenwirkungen wie Hautatrophie keine Therapiealternative bei nur gering ausgeprägtem Juckreiz (LEUNG, 2000). Eine Neuerung stellen hier die Diester dar, die auf Grund ihrer molekularen Zusammensetzung nicht systemisch aufgenommen, sondern in der Haut aktiviert werden. Im Vergleich zu anderen Glukokortikoiden kommt bei diesen Präparaten eine Atrophie der Haut sehr selten vor.

2.1.6.2. Zyklosporine

Zyklosporin A ist ein potentes Immunsuppressivum, das seinen wichtigsten therapeutischen Effekt in der Hemmung der T-Zellaktivierung hat, indem es die Transkription von Zytokinen supprimiert (SCHREIBER & CRABTREE, 1992). Es bildet einen Komplex, welcher dann Calcineurin inhibiert. Als Nebenwirkungen wurden Nausea, Bauchschmerzen, Hyperbilirubinämie und Nierenschädigungen beschrieben (LEUNG, 2000), bei Langzeittherapie besteht beim Menschen sogar die Gefahr der Entstehung von Neoplasien. Aus diesen

Gründen wird das Medikament in der Humanmedizin nur mit äußerster Vorsicht eingesetzt (RYFFEL, 1992).

Tacrolimus ist ebenfalls ein potentes Immunsuppressivum, aber auf Grund der kleinen Molekülgröße und seines höheren Wirkungspotentials als topisches Mittel einsetzbar. Als Nebenwirkung wurde ein brennender Schmerz an der applizierten Stelle beschrieben, was jedoch nach mehreren Tagen der Anwendung nachlässt. Der anti-inflammatorische Effekt dieses Medikamentes kann ohne die Nebenwirkungen einer Hautatrophie erzielt werden (LEUNG, 2000).

2.1.6.3. Antihistaminika und essentielle Fettsäuren

Antihistaminika haben einen partiellen Effekt, den Juckreiz zu vermindern und können durchaus ein Teil eines symptomatischen Behandlungsschemas der Umweltallergie darstellen (BOGUNIEWICZ & LEUNG, 1988). Bei Asthma ist bekannt, dass die Sensibilisierung über die Haut zur Migration von sensibilisierten T-Lymphozyten in den Nasenraum und die Atemwege führt, was mit Erkrankungen der oberen und unteren Atemwege einhergeht. Es wird angenommen, dass durch die zeitige orale Gabe von Antihistaminika der Fortgang der Erkrankung verlangsamt werden kann (SPERGEL & PALLER, 2003). Die meisten Antihistaminika wirken als H1 Rezeptor-Antagonisten und verhindern dadurch Histamin-induzierten Juckreiz und veränderte Gefäßpermeabilität. Weiterhin können sie sich auf die Entzündungsmediatoren auswirken, welche von Mastzellen und basophilen Granulozyten ausgeschüttet werden (LIPPERT et al., 1995). H1 Antihistaminika finden bei manchen Atopikern Anwendung, wobei sie hauptsächlich hilfreich sind bei Urtikaria oder, um einen sedativen Effekt zu erzielen. Neuere Antihistaminika wie beispielsweise Cetirizin sollen zusätzlich einen entzündungshemmenden Effekt mit sich bringen und sind besonders geeignet für den Einsatz bei Kindern (SIMONS, 1999).

2.1.6.4. Antigen-spezifische Immuntherapie

Immuntherapie ist eine Desensibilisierung von atopischen Patienten mittels aufsteigender Dosen der Allergene, gegen welche der jeweilige Patient allergisch ist (LOVELESS, 1943).

Loveless fand bereits 1943 heraus, dass es einen Zusammenhang zwischen

Heuschnupfenerkrankung und thermostabilen Antikörpern im Blut gibt. Bei 79% seiner Patienten stieg die Serumkonzentration der Antikörper an, wenn die Heuschnupfensaison im Gange war. Er kam auch zu der Überzeugung, dass die Höhe des für die Immunität nötigen Antikörperspiegels von jedem einzelnen Individuum abhängig ist. Deshalb kam er zu dem Schluss, dass bei einer Immuntherapie das Protokoll immer individuell an die Reaktionen des einzelnen Patienten angepasst werden muss (LOVELESS, 1943). Auch wenn Patienten aus ihrer Allergie heraus wachsen oder mittels Immuntherapie geheilt werden konnten, bleibt bei diesen Menschen die allergen-spezifische IgE Antwort bestehen, was in positiven Hauttestreaktionen nachgewiesen werden konnte (LEUNG, 1995). Bei Kindern, die mittels Immuntherapie gegen Hausstaubmilben behandelt wurden, wurde herausgefunden, dass nach achtmonatiger Therapie die IgG4 antiMilben Antikörper anstiegen, wohingegen die IgE Antikörper gleich blieben. Die Zytokine IL-4 und IL-10 sanken nach der Immuntherapie ab, IL-13, welches die IgG und IgE Produktion durch B-Lymphozyten induzieren kann, stieg aber an. So wird angenommen, dass IL-13 eine entscheidende Rolle in der Entstehung von IgG4-blockierenden Antikörpern während einer Immuntherapie spielt (LU et al., 1998). Allergen-spezifische Immuntherapie ist bei respiratorischer atopischer Erkrankung und bei Bienengiftallergie sehr erfolgsversprechend, bei Patienten mit atopischer Dermatitis wird die Wirkung etwas kontroverser diskutiert (GRIFFIN & DEBOER, 2001).

2.1.6.5. Neue Therapiewege

In der bereits früher erwähnten Hygienehypothese vermuten die Forscher, dass es zum Beispiel durch die verbesserte Hygiene zu einer geringeren Infektionsrate der Menschen mit Würmern kommt und dies ein Grund dafür sein könnte, dass die Menschen häufiger allergisch erkranken. Der Einsatz von *Trichuris suis* bei IBD, im Besonderen Morbus Crohn, beim Menschen hat sich als sicher und hilfreich herausgestellt. Schon nach einmaliger Gabe der Parasiteneier können positive Effekte beobachtet werden, die Therapie kann aber auch alle drei Wochen wiederholt werden (SUMMERS et al., 2003; SUMMERS et al., 2005b). Es wird auch vermutet, dass eine natürliche Infektion mit den Parasiten vor der Entwicklung der Krankheit schützt. Summers führte eine Plazebo kontrollierte randomisierte Doppel-Blind-Studie an der Universität von Iowa durch. 54 Patienten, welche an ulzerativer Colitis erkrankt waren, bekamen entweder 2500

Eier von *Trichuris suis* oder ein Plazebo-Produkt alle zwei Wochen für zwölf Wochen. Es traten keinerlei Nebenwirkungen auf und die Therapie mit den Wurmeiern erwies sich als effektiv (SUMMERS et al., 2005a). Summers konnte bei keinem der Patienten Wurmeier im Stuhl nachweisen, weshalb er davon ausging, dass keines der verabreichten Wurmeier sich bis zum reifen Wurm hin entwickeln konnte (SUMMERS et al., 2006). *Trichuris suis* kann sich nicht an den menschlichen „Fehlwirt“ adaptieren, da die Eier des Parasiten dafür zu schnell ausgeschieden werden. Dadurch wird die Gefahr von negativen Nebenwirkungen minimiert. Es kann aber davon ausgegangen werden, dass die Parasitenstadien trotzdem lange genug im Magen-Darm-Trakt verweilt, um einen positiven Effekt auf das Immunsystem zu haben (SUMMERS et al., 2003; FALCONE & PRITCHARD, 2005). Nachteilig ist hierbei, dass eine wiederholte Gabe des Parasiten erforderlich ist. Es existiert auch die Hypothese, dass es durch eine Infektion mit Würmern eventuell zu einer Verbesserung der Allergiesymptome kommen könnte (HAGEL et al., 1993; LYNCH et al., 1993; ARAUJO et al., 2000; BARTHLOTT et al., 2003; COOPER et al., 2003; CARVALHO et al., 2006).

2.2. Kanine Atopie

Einer der größten Unterschiede zwischen der atopischen Dermatitis bei Hund und Mensch ist die Tatsache, dass beim Hund kein Zusammenhang zwischen der messbaren Konzentration an Gesamt IgE im Serum und dem Schweregrad des klinischen Bildes der Erkrankung besteht (HILL et al., 1995). Bereits im Jahre 1971 wurden zum ersten Mal die klinischen Symptome der atopischen Dermatitis beim Hund beschrieben (HALLIWELL & SCHWARTZMANN, 1971), wobei schon zuvor Einzelberichte von Hunden mit Anzeichen einer kaninen atopischen Dermatitis auftauchten, wie beispielsweise ein Bericht über einen Hund mit allergischer Rhinitis 1941 von Wittich (WITTICH, 1941) oder ein anderer Fallbericht über einen Hund mit allergischer Konjunktivitis, verstärktem Tränenfluss und Juckreiz (PATTERSON, 1960).

2.2.1. Epidemiologie

Scott überprüfte in einer Studie an der Kleintierklinik der Universität von Montreal Quebec, wie viele der vorgestellten Hunde Hautpatienten waren. Er gelangte zu dem Ergebnis, dass über 18% der Hunde Hilfe von Dermatologen in

Anspruch nahmen und dass von diesen Hunden wiederum der größte Anteil an bakterieller Follikulitis und Atopie erkrankt war. Rassen mit besonderer Prädisposition für Atopie waren der Golden Retriever und der Boxer (SCOTT & PARADIS, 1990). Auch in der Studie von Zur et al. 2002 war der Golden Retriever verhältnismäßig oft unter den atopischen Patienten zu finden. Weitere Rassen, welche am meisten bei ihrer Studie an AD erkrankt waren, waren der Labrador Retriever und der West Highland White Terrier (ZUR et al., 2002). Die Prävalenz und Inzidenz der AD beim Hund wurde noch nicht genügend erforscht, es ist aber davon auszugehen, dass es beim Hund wie beim Menschen zu einem immer weiteren Anstieg der Erkrankungsfälle an atopischer Dermatitis kommt. Dies ist höchstwahrscheinlich auf dieselben Umwelteinflüsse und ebenso auf genetische Prädispositionen zurück zu führen wie beim Menschen (HILLIER & GRIFFIN, 2001b). Man geht davon aus, dass es eine genetische Prädisposition für Hunde gibt, an AD zu erkranken, da bestimmte Rassen stärker betroffen sind und im Besonderen bestimmte Stammbäume von Hunden gehäuft mit dieser Erkrankung in Verbindung gebracht werden (MARSELLA & OLIVRY, 2003). In einer groß angelegten Studie mit West Highland White Terriern konnte jedoch kein klarer Beweis für eine Vererbbarkeit festgestellt werden. Und im Gegensatz zum Menschen konnte, wie bereits erwähnt, kein Zusammenhang zwischen der IgE Konzentration im Serum von Welpen und deren späteren Entwicklung einer Atopie festgestellt werden (DE BOER & HILL, 1999). Um Rückschlüsse über eine mögliche Vererbbarkeit der atopischen Dermatitis beim Hund ziehen zu können, muss die Inzidenz der Erkrankung mit der Auftretenshäufigkeit in einer bestimmten Rasse in Zusammenhang gebracht werden. Es gibt kaum Studien, welche dieses erfolgreich durchgeführt haben, beziehungsweise es wurden keine genetischen Hinweise gefunden. Meistens wurde nur die Vererbbarkeit der IgE Produktion getestet, welche aber beim Hund nicht immer mit der Ausbildung der Atopie korreliert (SOUSA & MARSELLA, 2001). Eine Geschlechtsprädisposition für die atopische Dermatitis scheint es aus diesen Gründen beim Hund nicht zu geben (ZUR et al., 2002).

2.2.2. Pathologie

Olivry zeigte in einer Studie 1999, dass die Veränderungen, welche in Biopsien von atopischen Hunden gefunden werden können, in vielen Bereichen den Veränderungen bei humanen Atopiepatienten entsprechen und somit die atopische

Deratitis des Hundes als vortreffliches Modell für die entsprechende humane Erkrankung dienen kann (OLIVRY et al., 1999). Läsionale Haut beider Spezies zeigt das entsprechende Entzündungsmuster, epidermale Exozytose von Eosinophilen und T-Lymphozyten, Anhäufung und Hyperplasie von epidermalen Langerhans Zellen und ein vorwiegendes Hautinfiltrat von Mastzellen, dendritischen antigen-präsentierenden und Gedächtnis CD4+ Zellen, sowie wenige B-Lymphozyten. Die wichtigsten Zellen, welche bei der Pathologie der AD eine Rolle spielen, sind Langerhans und dermale dendritische Zellen, beide Zellarten sind verantwortlich für die Prozessierung von Antigenen und deren Präsentation. B-Lymphozyten bewirken die Produktion von reaktiven Antikörpern, allergen-spezifische T Helfer Zellen produzieren Zytokine und bewirken somit die Aktivierung von B-Zellen und anderen Entzündungszellen und zuletzt spielen Mastzellen eine wichtige Rolle, da sie Entzündungsmediatoren produzieren (HILL et al., 2001). In der Haut von Hunden mit atopischer Dermatitis werden laut de Mora erhöhte Konzentration an Mastzellen wie auch an Histamin gefunden (DEMORA et al., 1996). Welle konnte jedoch drei Jahre später zeigen, dass es keinen Unterschied in der Anzahl von Mastzellen zwischen gesunden und atopischen Hunden gibt. Sie stellte fest, dass eine Heterogenität in der Granulation von Mastzellen besteht, was davon ausgehen ließ, dass die Zellen zu verschiedenen Zeitpunkten degranulieren (WELLE et al., 1999). Die Pathogenese wird unter anderem durch die Interaktion von allergen-spezifischem IgE mit Allergenen bestimmt. Die Antikörper haben das Potential, die Immunantwort zu verstärken, indem sie an der Epidermis Antigene binden und ein Anhaften der Langerhanszellen bewirken. Antikörper lösen durch die Wechselwirkung mit Antigenen an der Oberfläche von Mastzellen und Basophilen Entzündungen aus (HALLIWELL & DEBOER, 2001). Es wurde gezeigt, dass Hautinfektionen an der Pathogenese der atopischen Dermatitis beteiligt sind (DEBOER & MARSELLA, 2001). Staphylokokken und Malassezien (*Malassezia pachydermatis*) stehen im Zusammenhang mit der kaninen atopischen Dermatitis. Diese Pathogene verursachen jedoch auch autonom, ohne das Vorliegen einer Atopie, Entzündungen und Juckreiz, weshalb eine Zuordnung der Symptome schwierig sein kann, wenn beides zeitgleich vorliegt. Des Weiteren scheinen Staphylokokken wie auch Malassezien eine hypersensitive Reaktion vom Soforttyp auszulösen (DEBOER & MARSELLA, 2001). Die Adhärenz von *Staphylokokkus intermedius* an die Haut von atopischen

Hunden ist höher als bei gesunden Hunden. Bei Individuen mit mehr Juckreiz ist die Anhaftung der Keime stärker als bei geringerem Juckreiz (SIMOU et al., 2005).

Widersprüchliche Ergebnisse wurden in verschiedenen Studien über die epidermale Barriere bei Hunden mit AD erzielt. Chesney kam zu der Schlussfolgerung, dass ein Defekt in der Hautbarriere unwahrscheinlich ist, da der Wasserverlust über die intakte Haut von atopischen Hunden dem von normalen Hunden entspricht (CHESNEY, 1995), während eine jüngere Studie von einem Defekt an der epidermalen Barriere, genauer gesagt am *Stratum corneum* der Fettdepots bei atopischen Hunden, ausgeht (INMAN et al., 2001). Laut Olivry ist davon auszugehen, dass die Läsionen, die in Verbindung mit der Erkrankung an einer atopischen Dermatitis einhergehen, auf epidermalen Allergenkontakt zurückzuführen sind und nicht auf ein Inhalieren der Allergene (OLIVRY & HILL, 2001). Außerdem kann davon ausgegangen werden, dass eine atopische Dermatitis dafür prädisponierend ist, eine Überreaktion auf Flohspeichel zu entwickeln und später auch eine Flohspeichelallergie auszubilden (SOUSA & HALLIWELL, 2001). Hunde, welche aus derselben Region stammen, also derselben Aussetzung gegenüber Flöhen unterliegen, reagieren eher positiv im Hauttest auf Flöhe, wenn sie zeitgleich Atopiker sind. Auch das Risiko, an einer Futtermittelallergie zu erkranken ist bei umweltallergischen Hunden höher (ROSSER JR, 1993).

2.2.3. Klinik

Die häufigste zu Grunde liegende Erkrankung von Hunden, die in der Praxis auf Grund einer Hauterkrankung vorgestellt werden, ist die atopische Dermatitis. Oft ist die Erkrankung kombiniert mit einer Flohspeichelallergie oder einer Futtermittelallergie (MUELLER et al., 2001).

Bei der Klinik verhält es sich in der Veterinär- und Humanmedizin identisch, es gibt kein pathognomonisches klinisches Anzeichen, welches dem Tierarzt die Diagnose der Atopie eindeutig anzeigt. Es gibt lediglich Zusammenstellungen von klinischen Anzeichen, die das Vorhandensein einer Umweltallergie stark vermuten lassen (DEBOER & HILLIER, 2001b). Futtermittelüberreaktionen und Umweltallergie sind im klinischen Erscheinungsbild alleine nicht voneinander zu unterscheiden (HILLIER & GRIFFIN, 2001a). Kanine atopische Dermatitis ist

charakterisiert durch eine komplexe Pathologie mit verschiedenen klinischen Manifestationen. In einer aktuellen Studie von Favrot, welche bereits bestehende Verfahren zur Diagnosestellung der Atopie verifiziert hat, zeigte sich, dass beim Vorliegen von fünf Kriterien welche für eine Atopie sprechen, davon aus zu gehen ist, dass ein Hund mit großer Wahrscheinlichkeit an einer Umweltallergie leidet. Zu diesen Kriterien zählen ein Alter von unter drei Jahren bei Beginn der Symptomatik, eine Haltung des Tieres im Haus, Juckreiz, welcher auf die Gabe von Kortikosteroiden anspricht, chronische oder wiederkehrende Hefeninfektionen, Beteiligung der Vorderpfoten, Beteiligung der Ohrmuscheln, juckreizfreie und läsionsfreie Ohränder sowie die Tatsache, dass die dorso-lumbar Region nicht von Juckreiz betroffen ist (FAVROT et al., 2010). Das Hauptsymptom besteht im Juckreiz, aber die Läsionen, welche von atopischer Dermatitis betroffene Hunde zeigen sind vielfältig. Man geht davon aus, dass die meisten Hautläsionen eine Folgeerscheinung des Juckreizes sind (GRIFFIN & DEBOER, 2001; MARSELLA & OLIVRY, 2003). Aus Erfahrungswerten wurde die These aufgestellt, dass es ähnlich wie beim Menschen auch beim Hund eine sogenannte Juckreizschwelle gibt, welche für jeden Hund unterschiedlich hoch sein kann. Für jedes Individuum ist die Zahl an Allergenen, welche auf das Tier einwirken müssen, bis dieses mit Juckreiz reagiert, unterschiedlich. So kann ein Hund, welcher an Pollen- und Hausstaubmilbenallergie leidet, in den kühleren Wintermonaten juckreiz- und beschwerdefrei sein. Sobald es anfängt, wärmer zu werden und die Pollenflugzeit einsetzt, kann bei diesem Hund der Juckreiz wieder einsetzen, da erst durch die Summierung beider Allergenarten die Juckreizschwelle überschritten wurde (MARSELLA & SOUSA, 2001). In einer Studie von Marsella wurde bei Beagles, welche bekannter weise mit atopischen Symptomen auf die Hausstaubmilben reagierten, getestet, ob die Art des Kontaktes mit Allergenen für die klinischen Symptome eine Rolle spielt. Dafür wurde der Kontakt mittels peroraler Aufnahme mit der Aufnahme über die Atemwege verglichen. Egal, auf welche Weise die Tiere Kontakt mit den Allergenen hatten, entwickelten sie Juckreiz und Hautentzündungen. Bei der oralen Aufnahme waren dieselben Körperstellen von Juckreiz betroffen, wie das bei epikutanem Kontakt der Fall war. Der einzige Unterschied bestand darin, dass der Schweregrad der Läsionen bei Umweltkontakt auch nach dem dritten Tag stetig zunahm, im Falle der oralen Applikation jedoch abnahm (MARSELLA et al., 2006). Die Hauptlokalisationen von Juckreiz bei der Umweltallergie sind das

Gesicht, die Ohren, die Pfoten, die Gliedmaßen und/oder das Ventrum. Der Juckreiz beginnt meist in jungem Alter, manchmal tritt er nur saisonal auf. Zur (2002) ging sogar davon aus, dass 2/3 der Hund unter einem saisonalen Juckreiz leiden und bei der Mehrheit der Hunde der saisonale Juckreiz im Winter schlimmer war. (GRIFFIN & DEBOER, 2001; ZUR et al., 2002). Das Läsionsschema ist also dem der Kontaktallergie sehr ähnlich, bei welcher ebenfalls vor allem haarlose ventrale Hautbezirke betroffen sind (ZUR et al., 2002; MARSELLA & OLIVRY, 2003). Bei 40% oder mehr der Tiere wird generalisierter Juckreiz beschrieben. Sekundäre Läsionen kommen regelmäßig vor, was von der Entzündung, dem Juckreiz und Selbsttrauma herrührt. Zu den sekundären Läsionen zählt man Leckverfärbungen, Exkoriationen, selbstinduzierte Alopezie, trockenes struppiges Fell, Hyperpigmentation, Schuppen und Lichenifikation. Diese Veränderungen können an allen Körperstellen auftreten, an welchen auch Juckreiz besteht (MARSELLA & OLIVRY, 2003). Bei der Mehrheit der Hunde zählte zu den klinischen Symptomen auch eine Otitis externa (ZUR et al., 2002). Um den Juckreiz bei Hunden standardisierter ermitteln zu können und den Besitzern der Tiere die Beurteilung des Juckreizes zu erleichtern, wurde eine Studie mit vier verschiedenen Arten von Juckreizbeurteilungs-Systemen durchgeführt. Die Studie kam zu dem Ergebnis, dass eine Kombination einer visuellen Skala mit einer Skala, bei der das Verhalten des Hundes und der Schweregrad des Juckreizes in Beziehung gebracht wurden, am besten anwendbar war (HILL et al., 2007; RYBNICEK et al., 2008). Diese Juckreiz Skala ist ein praktisches Hilfsmittel, um Besitzer den Juckreiz ihres Tieres bewerten zu lassen. Die Skala geht von 0 bis 10 mit stufenweisen Erläuterungen, welcher Juckreiz des Tieres und das daraus resultierende Verhalten des Hundes welchem Skalenwert entspricht. Solche Skalen eignen sich besonders gut, um die Verbesserung oder Verschlechterung des Juckreizes eines Hundes von einem Tierarztbesuch zum nächsten zu verdeutlichen und somit die Wirkung der Therapie beurteilen zu können. Zur hat bei einer retrospektiven Studie über Atopie beim Hund herausgefunden, dass die meisten Hunde auf Hausstaubmilben allergisch reagieren, gefolgt von Schimmelpilzen. Hunde, welche auf Hausstaubmilben allergisch reagierten, hatten meist sehr früh mit ihrer Erkrankung begonnen. Auf Gräser gab es häufiger positive Reaktionen, wenn die Tests im Sommer oder Herbst durchgeführt wurden (ZUR et al., 2002). Meistens ist die atopische Dermatitis vergesellschaftet mit

Hautinfektionen mit dem Bakterium *Staphylokokkus pseudintermedius*. Dieser Keim wird ebenso bei gesunden Hunden gefunden, beispielsweise im Perianalbereich oder im Nasenraum, aber häufiger bei atopischen Tieren, da die Adhärenz an die Keratinozyten bei allergischen Hunden besser ist (MCEWAN, 2000).

2.2.4. Diagnose

Die Diagnose erfolgt durch Ausschluss der Differentialdiagnosen. Eines der Hauptsymptome der Umweltallergie stellt der Juckreiz dar, dieser kommt allerdings auch bei anderen weit verbreiteten Hauterkrankungen wie bakteriellen oder Hefeinfektionen, Parasitosen, Verhornungsstörungen und anderen Allergien vor. Außerdem können manche der klinischen Erscheinungen auch auf Grund einer zusätzlich bestehenden Hauterkrankung, wie Flohspeichel- oder Futtermittelallergie auftreten und die Diagnose dadurch verschleiern (SCOTT et al., 2000; DEBOER & HILLIER, 2001b). Es gibt kein pathognomonisches klinisches Anzeichen, welches dem Tierarzt die Diagnose der Atopie eindeutig anzeigt. Es gibt lediglich Zusammenstellungen von klinischen Anzeichen, die das Vorhandensein einer Umweltallergie stark vermuten lassen (DEBOER & HILLIER, 2001b). Die Diagnose der Umweltallergie ist eine Ausschlussdiagnose. Erst wenn alle anderen Erkrankungen, welche für dieselben Symptome in Frage kommen, ausgeschlossen worden sind, kann man von einer Atopie sprechen (DEBOER & HILLIER, 2001b). Erste Kriterien für die atopische Dermatitis wurden von Willemse erstellt (WILLEMSE, 1986, 1988). Aber diese Kriterien geben nur einen kleinen Anhaltspunkt und sind keinesfalls als sicheres Indiz für eine Atopie zu verstehen (DEBOER & HILLIER, 2001b). Da Bakterien und Malassezien Toxine ausschütten können, welche ebenfalls Juckreiz verursachen, ist es wichtig bestehende bakterielle und/oder Hefeinfektionen zu behandeln, um beurteilen zu können, ob der momentane Juckreiz auf die Allergie alleine oder mögliche Infektionen zurück zu führen ist (MARSELLA & SOUSA, 2001). Der CADESI-03 (Canine Atopic Dermatitis Extension and Severity Index) stellt ein validiertes Schema dar, an Hand dessen möglichst objektiv der Schweregrad der Hautveränderungen und bei aufeinander folgenden Anwendungen die Entwicklung der Läsionen von atopischen Hunden bestimmt werden kann. Die Werte, welche den Schweregrad der Veränderungen festlegen, sind reproduzierbar

und zwischen verschiedenen fachkundigen Anwendern nicht stark abweichend. Die Veränderungen der Haut des Hundes werden an 62 verschiedenen Körperstellen beschrieben. Die Läsionen werden in Rötungen, Lichenifikation, Alopezie und Exkorationen unterteilt und mittels Schweregraden von 0-5 eingestuft, wobei 0 keinen Veränderungen, 1 milden, 2-3 moderaten und 4-5 starken Hautveränderungen entspricht. Abschließend werden alle Werte die an einem Hund bestimmt wurden, addiert (OLIVRY et al., 2007). Bei einer weiteren Studie wurden CADESI-03 Werte und ihre ungefähre klinische Bedeutung festgelegt. Von einer Remission kann in der Regel ausgegangen werden bei Werten zwischen 0-15. Eine milde AD besteht bei Werten zwischen 16-59, moderate atopische Dermatitis liegt vor bei Werten von 60-119 und ab einem CADESI-03 Wert von 120 kann man von schwerer atopischer Dermatitis sprechen (OLIVRY et al., 2008). Steht die Diagnose der Atopie fest auf Grund des Ausschlusses aller möglichen Differentialdiagnosen, dann kann mittels eines Allergietests bestimmt werden, auf welche speziellen Allergene ein Hund allergisch reagiert. Es gibt die Möglichkeit eines Serumallergie-Tests und die eines Intrakutan-Tests. Bei beiden Testvarianten muss jedoch beachtet werden, dass jeweils nur das Vorhandensein von allergen-spezifischem IgE beziehungsweise beim Hauttest funktionelle Möglichkeiten der in der Haut befindlichen Mastzellen auf ein Allergen zu reagieren getestet werden. In beiden Fällen sind positive Resultate kein sicherer Beweis für das Vorliegen einer Umweltallergie. Zudem können auch klinisch völlig unauffällige Tiere positive Reaktionen in beiden Arten von Testsystemen aufweisen (LIAN & HALLIWELL, 1998). Bei einem Intrakutantest werden dem Hund Antigene in die Haut appliziert, um makroskopisch die Überreaktionen in der Haut sichtbar zu machen. Positive Reaktionen können sich als Sofortreaktionen oder Spätreaktionen manifestieren. Erste Reaktionen äußern sich als gerötete Quaddeln, die innerhalb von 15-30 Minuten nach Antigeninjektion auftreten. Ausgelöst werden sie durch die Ausschüttung von gefäßaktiven Mediatoren wie beispielsweise Histamin durch Mastzellen. Im Gegensatz dazu sind Spätreaktionen gerötete und verhärtete Hautveränderungen, welche sich erst Stunden nach der Antigenapplikation bilden. Diese Art der Hautveränderungen hat die Einwanderung von Entzündungszellen als Ursache, welche durch die Ausschüttung von chemotaktischen Mediatoren von Mastzellen angelockt werden (PATTERSON, 1960). In einer Studie von Mueller hat sich gezeigt, dass es keinen signifikanten Unterschied im Reaktionsverhalten

auf Vorratsmilbenantigene im Hauttest bei Vergleich von atopischen und gesunden Hunden gab. Der Autor vermutete, dass möglicherweise das Extrakt per se schon irritierend in der Haut wirkt, ohne eine allergische Reaktion zu verursachen oder dass es auf Grund der Verbreitung von Vorratsmilben bei vielen Hunden zu einer Sensibilisierung gegen diese Antigene ohne klinische Konsequenzen kommt (MUELLER et al., 2005). Als Serumallergietest ist ein Fcε-Rezeptor-Test geeignet, welcher hochspezifisch für IgE ist und Kreuzreaktionen mit IgG ausschließt. Auch dieser Test dient nicht der Diagnosestellung (DEBOER & HILLIER, 2001a; THOM et al., 2009). Die Zahl der Allergene, auf welche ein Hund eine Umweltallergie entwickeln kann, ist groß. Die Allergene sind beispielsweise Hausstaub- oder Vorratsmilben, bzw. deren Ausscheidungen, Hausstaub, Pollen von Gräsern, Bäumen oder Kräutern, Pilzsporen, epidermale Antigene, Insekten Antigene oder diverse andere Antigene. Es kommt jedoch sowohl beim Intrakutan- als auch beim Serumallergietest zu falsch positiven und auch falsch negativen Reaktionen (HILL et al., 2001).

2.2.5. Therapie

In einer Studie mit atopischen Hunden stellte Pucheu-Haston fest, dass diese bei epikutanem Kontakt zu Hausstaubmilben-Extrakt mit einer Erhöhung der spezifischen IgE Level und lokalisierter sowie generalisierter juckender Dermatitis reagierten (PUCHEU-HASTON CM, 2008). Deshalb wäre der Kontakt von atopischen Hunden mit relevanten Allergenen zu vermeiden. Dies kann sich schwierig gestalten, wenn der Hund beispielsweise an einer Allergie gegen Pollen, Hausstaubmilben oder ähnlich weit verbreiteten Allergenen leidet. Im Falle der Allergie gegen Hausstaubmilben kann dem Hund in manchen Fällen etwas geholfen werden, wenn die Matratze seines Liegeplatzes mit einem Bezug mit sehr kleiner Porengröße ausgestattet wird. Während der Hauptzeit des Pollenfluges ist es empfehlenswert, den Hund nach dem Spaziergehen mit Wasser und Shampoo abzuwaschen (OLIVRY & SOUSA, 2001b). Manchen Hunden kann schon alleinig durch das Füttern einer Eliminationsdiät geholfen sein, falls sie an einer Kombination aus Umwelt- und Futtermittelallergie leiden (OLIVRY & SOUSA, 2001b). Möglicherweise kann durch die Fütterung der Eliminationsdiät der Schweregrad des Juckreizes so stark gesenkt werden, dass der Hund unter seine individuelle Juckreizschwelle gelangt und somit keine

weitere Therapie benötigt. Ebenso verhält es sich bei einer möglichen Kombination aus Flohspeichel- und Umweltallergie. Diesen Tieren kann oft bereits durch regelmäßige Anwendung wirksamer Antiparasitika geholfen werden (OLIVRY & SOUSA, 2001b). Außerdem ist es sehr entscheidend für den Behandlungserfolg, bestehende Pyodermien zu erkennen und gegebenenfalls zu bekämpfen. Die antibakterielle oder antifungale Therapie kann topikal oder systemisch erfolgen, immer abhängig von dem Schweregrad der Infektion und der Möglichkeit der Anwendung der Medikamente (OLIVRY & SOUSA, 2001b). Anti-allergische Medikamente können in zwei Kategorien unterteilt werden, zum einen Mittel, welche die Degranulierung der Mastzellen verhindern sollen, zum anderen Medikamente, welche die vasoaktive und Juckreiz induzierende Wirkung von Histamin verhindern (OLIVRY & SOUSA, 2001b). Im Vergleich dazu gibt es auch noch Medikamente, welche die Spätreaktion der Allergie hemmen. Dazu werden Misoprostol, Pentoxyphyllin, Zyklosporin-A, Tacrolimus und Glukokortikoide gezählt. Zu den potentesten Mitteln zählen diejenigen, welche sowohl die Sofort- als auch die Spätreaktion verhindern können, was beispielsweise bei Zyklosporin A und Kortikosteroiden der Fall ist. Meist sind die Kombination von mehreren Therapeutika und ein längerer Einsatz dieser Medikamente von Nöten (MARSELLA & OLIVRY, 2003).

2.2.5.1. Glukokortikoide

Die Wirkung von Glukokortikoiden beruht auf ihrer Repression der Genaktivierung durch Wechselwirkung mit verschiedenen Transkriptionsfaktoren (BARNES, 1998). Sie sind vor allem wirksam bei der atopischen Dermatitis durch ihr Einwirken auf die Entzündungsreaktion. Die Produktion von Zytokinen, vor allem von Interferon- γ wird von Glukokortikoiden supprimiert. In mehreren Studien konnte der effektive Einsatz von Glukokortikoiden wie Prednisolon und Methylprednisolon bei atopischer Dermatitis nachgewiesen werden (OLIVRY & SOUSA, 2001a). Bei einer Langzeittherapie mit Glukokortikoiden besteht jedoch die Gefahr einer bakteriellen Zystitis vor allem bei weiblichen Tieren und kastrierten Rüden. Dabei spielt es keine besondere Rolle, in welcher Dosierung und ob das Medikament täglich oder nur jeden 2.Tag verabreicht wird (IHRKE et al., 1985; OLIVRY & SOUSA, 2001a). Bei extremen Juckreiz und um einen ersten starken Erfolg zu Therapiebeginn zu erzielen, kann jedoch die Therapie mit oralem Kortison wie Prednisolon initiiert werden (MARSELLA & OLIVRY,

2003).

2.2.5.2. Zyklosporine

Zyklosporin-A ist ein Polypeptid, das von dem Pilz *Tolypocladium inflatum* stammt (MARSELLA & OLIVRY, 2001). Zyklosporine sind in der Lage, das Immunsystem zu supprimieren und können somit bei Krankheiten mit überschießender Immunreaktion, wie es beispielsweise bei der atopischen Dermatitis der Fall ist, eingesetzt werden. Die Wirkung von Zyklosporin beim Hund wurde in vielen Studien getestet und konnte mit der Effizienz von Glukokortikoiden verglichen werden (OLIVRY et al., 2003; STEFFAN et al., 2006). Unter anderem ist die positive Wirkung auf die Inhibierung von Calcineurin zurück zu führen (HO et al., 1996; MARSELLA, 2005). Zyklosporin inhibiert die Funktion und das Überleben von Eosinophilen und die meisten Funktionen der T-Lymphozyten, vor allem die Aktivierung und Proliferation. Die Zahl von Langerhans Zellen in der Epidermis wird durch Zyklosporine reduziert und die lymphozyten-aktivierende Funktion dieser Zellen wird inhibiert (MARSELLA, 2005). Mögliche Nebenwirkungen sind Durchfall, Erbrechen, Appetitlosigkeit und damit einhergehender Gewichtsverlust, außerdem Gingivahyperplasie und Peridontitis (MARSELLA & OLIVRY, 2001). Hunde scheinen Zyklosporin besser zu vertragen als der Mensch und entwickeln insgesamt weniger Nebenwirkungen. Etwa 20% der Hunde haben Probleme mit dem Medikament, welche sich vor allem als Probleme des Magen-Darm-Trakt äußern, aber nur bei einem Prozent sind diese so schwerwiegend oder persistieren so lange, dass die Behandlung eingestellt werden muss. Neben den bereits aufgeführten Nebenwirkungen konnten andere Autoren Hirsutismus, Papillomatose und bakterielle Infektionen feststellen (OLIVRY et al., 2003; STEFFAN et al., 2006). Laut den pharmakologischen Angaben des Herstellers ist es für die Wirksamkeit des Arzneimittels wichtig, dass es zwei Stunden vor oder nach der Fütterung verabreicht wird. Dieses konnte aber in einer Studie von Thelen in Bezug auf die klinische Wirksamkeit widerlegt werden. In ihrer Studie ergab es keinen merkbaren Unterschied in der Wirksamkeit des Medikamentes, egal ob das Arzneimittel direkt mit dem Futter oder entsprechend der pharmakologischen Angaben mit zweistündigem Abstand zur Nahrungsaufnahme verabreicht wurde (THELEN et al., 2006). Um die Kosten einer dauerhaften

Zyklosporintherapie etwas reduzieren zu können, verabreichen Tierärzte öfters gleichzeitig das Medikament Ketokonazol, welches wie Zyklosporin durch das Zytochrom P450 Enzymsystem metabolisiert wird. Auf diese Weise wird Zyklosporin weniger schnell abgebaut und seine Wirkung steht dem Körper länger zur Verfügung, was eine Dosisreduktion möglich macht (KUROHA et al., 2002). Der Wirkmechanismus von Tacrolimus ist dem von Zyklosporin sehr ähnlich. Es ist ein Makrolakton und wird von dem Pilz *Streptomyces tsukubaensis* gebildet (MARSELLA & OLIVRY, 2001). Es reduziert die Zytokinexpression in Mastzellen, Basophilen, Eosinophilen, Keratinozyten und Langerhans Zellen. Bei äußerer Anwendung kommt es zu phänotypischen und funktionalen Veränderungen in den epidermalen antigen-präsentierenden dendritischen Zellen und zu der Verringerung der Zahl an entzündlichen epidermalen dendritischen Zellen (WOLLENBERG et al., 2001). Bei einer Studie von DeBoer wurde nachgewiesen, dass es nach drei wöchiger täglicher Anwendung zum Abklingen klinischer Symptome kommt, jedoch bei Hunden mit lokalisierten Hautveränderungen die Erfolge besser waren als bei generalisiert betroffenen Tieren (DEBOER et al., 2002). Nebenwirkungen konnten für die Tiermedizin nicht entdeckt werden, im humanmedizinischen Bereich ist lediglich ein Brennen auf der Haut in den ersten Anwendungstagen beschrieben (MARSELLA, 2005).

2.2.5.3. Antihistaminika und essentielle Fettsäuren

Antihistaminika, trizyklische Antidepressiva und Omega-3 und -6 Fettsäuren sind hilfreiche Medikamente bei der Behandlung von atopischer Dermatitis. Sie können entweder einzeln oder in Kombination eingesetzt werden und bringen meist den Vorteil mit sich, bei einer kombinierten Gabe die Dosierung an Glukokortikoiden reduzieren zu können (SCOTT & BUERGER, 1988; SCOTT & MILLER, 1993; SAEVIK et al., 2004). Paradis konnte in einer Studie beweisen, dass die gleichzeitige Gabe von Antihistaminika und Fettsäuren einen positiven Effekt auf die Therapiewirksamkeit hat (PARADIS et al., 1991). Der positive Effekt bei Antihistaminika variiert stark zwischen den einzelnen Produkten und auch von einem Patienten zum anderen. Eine Vorhersage, welches Produkt bei einem speziellen Patienten am Besten bzw. überhaupt hilft, ist daher nicht möglich. Es müssen in einem gewissen zeitlichen Rahmen unterschiedliche Produkte hintereinander für ihre Wirkung ausgetestet werden, um sich danach für das effektivste Antihistaminikum bei einem individuellen Patienten entscheiden

zu können (DEBOER & GRIFFIN, 2001). Ein positiver Effekt sollte sich innerhalb der ersten 1-2 Wochen der Therapie zeigen. Teilweise lässt sich der positive Effekt des verminderten Kratzens auf den sedativen Nebeneffekt der Antihistaminika zurückführen (DEBOER & GRIFFIN, 2001). In einer Studie von Paterson wurden sechs verschiedene Antihistaminika in ihrer Wirkung gegen Juckreiz bei atopischen Hunden getestet. Bei allen Produkten wurde eine positive Wirkung gegen Juckreiz bemerkt. Getestet wurden Hydroxyzin, Trimeprazin, Chlorpheniramin, Klemastin, Promethazin und Cyproheptadin. Als wirksamstes Antihistaminikum hat sich Hydroxyzin herausgestellt (PATERSON, 1994). Allerdings gibt es kaum Placebo-kontrollierte Studien. Omega-3 essentielle Fettsäuren modulieren die Produktion von Eikosanoiden, indem sie mit Arachidonsäure um Zyklo-Oxygenase und Lipoxygenase konkurrieren. Diese Konkurrenz bewirkt eine Verschiebung zu Gunsten der anti-inflammatorischen Bestandteile (LT5, PG3) anstatt der pro-inflammatorischen Leukotriene (LT4, PG2) (OLIVRY et al., 2001). Die EFA verhindern die Entwicklung und Aktivierung von Lymphozyten und reduzieren die Synthese von entzündungsfördernden Zytokinen. Es ist davon auszugehen, dass Linolsäure im Stande ist, epidermale Lipiddefekte auszubessern, welche bei der kaninen atopischen Dermatitis eine Rolle spielen.

Man geht davon aus, dass der positive Effekt von ungesättigten Fettsäuren vor allem darin besteht, dass sie auf die Balance zwischen pro- und anti-inflammatorischen Mediatoren einwirken (NASSAR et al., 1986a; NASSAR et al., 1986b; ZIBOH & CHAPKIN, 1988; MILLER et al., 1991). Mueller zeigte mit einer placebo-kontrollierten Doppelblindstudie, dass die Gabe von kommerziellen Mitteln mit Fettsäuren zu einer Minderung des Juckreizes bei atopischen Hunden führt (MUELLER et al., 2004). Borretschöl und Fischöl in einer Kombination, wie sie beispielsweise in Viacutan enthalten ist, hilft signifikant bei einer täglichen oralen Gabe, um die Symptome der AD wie Erythem, Juckreiz, Ödeme und Alopezie zu reduzieren (HARVEY, 1999). Bei frühen, sprich akuten, Stadien der Atopie sprechen die Hunde besser auf die Gabe von essentiellen mehrfach ungesättigten Fettsäuren an (ABBA et al., 2005). Die optimale Dosierung, Anwendungsdauer und Verabreichungsmenge von essentiellen Fettsäuren ist noch unklar (ABBA et al., 2005). Bis jetzt wurde noch nicht untersucht, ob es rassebedingte Unterschiede für die Anwendung von essentiellen Fettsäuren gibt

(ABBA et al., 2005).

Weitere Medikamente, die sich ebenfalls als erfolgsversprechend zur Behandlung der kaninen atopischen Dermatitis erwiesen, sind Misoprostol und Phosphodiesterase-Inhibitoren. Misoprostol besitzt potente anti-allergische Effekte, indem es die Proliferation von Lymphozyten, die Aktivierung von Granulozyten und die Synthese von pro-inflammatorischen Zytokinen inhibiert. In Studien erwies es sich als effektives Mittel zur Behandlung der Atopie mit lediglich gelegentlichen Nebenwirkungen wie Durchfall und Erbrechen (MARSELLA & OLIVRY, 2001; OLIVRY et al., 2003). Pentoxifyllin (Trental, Hoechst-Russel Pharmaceuticals, Trenton, NJ) ist ein Phosphodiesterase-Inhibitor mit verschiedenen immunmodulatorischen Eigenschaften. Es verringert die Leukozytenadhäsion und -aggregation und erhöht die Neutrophilenmotilität und -chemotaxis, des Weiteren inhibiert es die Aktivierung von B- und T-Zellen. Es wurde in einer plazebo-kontrollierten Doppelblindstudie getestet und zeigte signifikante Verbesserung des Juckreizes und der Rötungen, ohne Nebenwirkungen hervorzurufen (MARSELLA et al., 2000).

2.2.5.4. Allergen-spezifische Immuntherapie

Die Immuntherapie sollte vor allem dann eingesetzt werden, wenn mittels medikamentöser Therapie nur ungenügende Erfolge erzielt werden oder falls die Zahl der Medikamente beziehungsweise die Kosten, um ein ausreichend gutes Therapieergebnis zu erzielen, sehr hoch sind oder falls zu starke Nebenwirkungen auf Grund der symptomatischen Therapie auftreten (OLIVRY & SOUSA, 2001b). Eine Immuntherapie ist bei einer Allergie gegen Allergene, deren Vermeidung nicht umsetzbar ist, ebenfalls angeraten. Diese Art der Therapie sollte nur begonnen werden, wenn die Besitzer des Hundes die erforderliche Zeit, Geduld und das Geld aufbringen können und ihnen das Prinzip der Therapie verständlich ist. Auf Grund der Tatsache, dass auf diesem Gebiet noch viel Forschungsbedarf besteht, gibt es derzeit keinerlei standardisiertes Protokoll über Dosierung und Frequenz zur Optimierung der Immunotherapie (GRIFFIN & HILLIER, 2001). Immuntherapie führt zu einem Anstieg der Serumkonzentration an allergenspezifischem IgG Antikörpern (HITES et al., 1989). Der Erfolg der Immuntherapie hat ähnlich wie beim Menschen mit großer Wahrscheinlichkeit mit dem durch IL-10 verursachten Anstieg von Treg Zellen zu tun. Dies wurde beim Hund von einer Studie von Keppel 2008 belegt (KEPPEL et al., 2008).

Zur stellt in einer retrospektiven Studie fest, dass kein Unterschied bei den Behandlungsergebnissen zu erkennen ist, ob die Desensibilisierung an Hand eines Intrakutantestes oder Serumallergietests hergestellt wurde (ZUR et al., 2002). Hunde mit gleichzeitiger Flohspeichelallergie schienen besser auf die Desensibilisierung anzusprechen als solche mit gleichzeitiger Futtermittelallergie. Es gab keinerlei Rasse oder Geschlechts bedingte Unterschiede bei der Wirkung der Desensibilisierung. Der Zeitpunkt, zu welchem die Immuntherapie gestartet wurde, hatte keinerlei Einfluss auf deren Erfolg. Hunde, welche an einer Otitis externa litten, hatten etwas schlechtere Ergebnisse, was den Erfolg der Therapie anging. Dies könnte daran gelegen haben, dass diese Gruppe von Hunden zu den schlimmer betroffenen zählte. An Hand der Therapieergebnisse konnte die Vermutung aufgestellt werden, dass eine Mischung von Pollenallergenen und Schimmelpilzallergenen schlechtere therapeutische Effekte haben können, da die Schimmelpilze inhibierend auf die Pollen wirken (SCHNABL et al., 2006). Dies zeigte auch Rosenbaum, der zu der Feststellung kam, dass die Proteasen von Schimmelpilzen sich negativ auf beispielsweise Pollenallergene auswirken können, wenn diese länger als 30 Tage in einem Gefäß aufbewahrt werden (ROSENBAUM et al., 1996). Bei etwa einem Drittel der Hunde war die Therapie nicht von Erfolg gekrönt. Extrem wichtig bei dieser Art der Therapie ist die Besitzerkommunikation, eine stetige Infektionskontrolle sowie ein Anpassen des Behandlungsregimes an das individuelle Tier (ZUR et al., 2002).

2.3. Immunmodulation durch Helminthen

Parasiten wie beispielsweise *Necator americanus* haben in der Evolution Möglichkeiten entwickelt, um ihr Überleben zu sichern. Eine davon besteht darin die Immunantwort des Wirtes zu modulieren, um das eigene Ausscheiden durch die Wirtsabwehr zu verhindern. Möglicherweise kann der Wirt von diesem parasitischen Einwirken auf seine Immunantwort Nutzen ziehen, da dadurch die Entwicklung einer allergischen Reaktion unterdrückt wird. Somit könnte laut Pritchard von einer Art Symbiose zwischen Wirt und Wurm gesprochen werden (PRITCHARD & BROWN, 2001).

2.3.1. Helminthen

Nematoden sind nach Giardien laut einer Studie von Barutzki die am häufigsten gefundenen Darmparasiten von Hunden in Deutschland, darunter auch *Trichuris*

vulpis. Dabei belief sich der Prozentsatz von *Trichuris vulpis* auf 4% und wurde vor allem bei Hunden bis zu einem Jahr angetroffen (BARUTZKI & SCHAPER, 2003). Geohelminthen sind abgesehen von wenigen Ausnahmen nicht in der Lage, sich im Wirt zu reproduzieren, weshalb es für die Parasiten wichtig ist, die Umwelt des Wirtes stark und dauerhaft zu kontaminieren, um ein Überleben der nächsten Generation zu sichern (MONCAYO & COOPER, 2006). *Trichuris vulpis* kann im Erdboden von Spielplatzumgebungen und anderen öffentlichen Gebieten gefunden werden (UMECHÉ, 1989; MINVIELLE et al., 1993). Das klinische Erscheinungsbild einer Infektion mit *Trichuris vulpis* kann variieren von asymptomatischen Trägern bis hin zu Diarrhoe oder Dysenterie (SAKANO et al., 1980; MASUDA et al., 1987). Es wurde auch schon in sehr seltenen Fällen bei Kindern und Menschen das Erscheinungsbild der *Larva migrans* beschrieben. Arzneimittel, welche gegen die am häufigsten auftretenden Helminthenarten helfen, sind Albendazol, Mebendazol, Praziquantel und Ivermektin (HOTEZ et al., 2008). Die Mehrheit der mit Würmern infizierten Individuen hat eine asymptomatische Form der Infektion oder leidet an sehr milden klinischen Manifestationen. Es scheint eine Art Wurm-Wirt-Beziehung zu geben, welche durch adaptive Mechanismen des Wurmes entwickelt wird, damit es dem Parasiten ermöglicht wird, der Immunantwort des Wirtes zu entgehen, aber gleichzeitig den Wirt davor schützt, Gewebeschäden durch überschießende Entzündungsantworten zu erleiden. Würmer sind in der Lage, Entzündungsreaktionen herunter zu fahren und Autoimmunerkrankungen in experimentellen Modellen abzuschwächen (LA FLAMME et al., 2003).

2.3.2. Allgemeines zur Immunmodulation durch Helminthen

Es wurde nachgewiesen, dass es durch eine Infektion des Magen-Darm-Traktes des Menschen mit Nematoden zu einer Mastzellenhyperplasie der Lamina propria kommt. Einige der Mastzellmediatoren einschließlich Serotonin, Leukotrien und Histamin können zum Ausscheiden des Wurmes führen oder aber direkt zu Schäden an den Parasiten führen. Dies ist jedoch von der Art des infektiösauslösenden Wurmes abhängig (FINKELMAN et al., 2004; VLIAGOFTIS & BEFUS, 2005). Aus experimentellen Studien weiß man, dass IL-4 und IL-13, welche bei einer Wurminfektion produziert werden, durch Stimulation der Peristaltik und Förderung der intestinalen Flüssigkeitsmenge zu einer Elimination von Würmern im Stuhl führen (FINKELMAN et al., 1997). Die Würmer haben

daher Strategien entwickelt, um ihr Überleben im Wirt durch Einwirken auf dessen Immunsystem zu sichern, möglicherweise kann der Wirt von diesem parasitischen Einwirken auf seine Immunantwort Nutzen ziehen, da dadurch die Entwicklung einer allergischen Reaktion unterdrückt wird (PRITCHARD & BROWN, 2001). Es gibt zwei Phasen der allergischen Immunantwort, in denen ein Parasit modulierend einwirken kann. Zum Einen ist es die Phase der Sensibilisierung, welche durch die Induktion der Th2 Antwort charakterisiert ist (spezifisches IgE), zum Anderen die Effektorphase, welche mit Reaktionen einher geht, welche der ersten Ausweitung der Th2 Antwort folgen (MONCAYO & COOPER, 2006). Die anti-inflammatorische Wirkung mancher Helminthen auf Atemwegserkrankungen ist eventuell mit einer Lungenpassage verbunden und führt zu einer Beeinflussung der Immunantwort der respiratorischen Schleimhäute auf Umweltallergene (MONCAYO & COOPER, 2006). Studien mit *Schistosoma mansoni* infizierten Personen zeigten, dass es einen Zusammenhang zwischen einem Anstieg von IL-10 und dem reduzierten Risiko einer Erkrankung an Asthma oder Atopie gibt. Zu den bekannten Reaktionen, welche Würmer bei ihrem Wirt auslösen und welche bei allen Wurmartenspezies dieselben sind, zählen die Induktion von Th2 Zytokinen und anti-inflammatorischen Zytokinen, vor allem von IL-10, was vor allergischen Reaktionen schützt (MANGAN et al., 2004), eine starke Produktion von IgE und IgG4 (YAZDANBAKHSI et al., 2002), eine Induktion von Treg Zellen sowie eine Immunsuppression, wie zum Beispiel eine mangelnde Lymphozytenantwort auf Mitogene und Antigene. All diese Wirkungen von Würmern auf den Wirt addieren sich zu einer Th2 ähnlichen, entzündungshemmenden Immunantwort des Wirtstieres (HARNETT & HARNETT, 2006). Die Immunantwort, die von Antigen-präsentierenden Zellen nach Kontakt mit Viren oder Bakterien ausgelöst wird, ist generell gesehen pro-inflammatorisch und meist mit der Produktion von IL-12, TNF- α , IL-18 und anderen Mediatoren verbunden, welche eine zell-medierte Immunantwort hervorrufen, die durch IFN- γ Produktion charakterisiert ist. Bei einer Wurminfektion ist die Immunantwort durch die Produktion von IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 und Th2 Zellen charakterisiert und meist wird eine große Anzahl an IgE Antikörpern vorgefunden (THOMAS & HARNETT, 2004). IL-10 reguliert Th1 assoziierte Mediatoren wie IFN- γ nach unten, reduziert die Expression von MHC und ko-stimulierenden Molekülen an Antigen-präsentierenden Zellen und bewirkt somit Anergie der Immunantwort (VAN DER KLEIJ et al., 2002; THOMAS &

HARN, 2004).

Man geht davon aus, dass mehrere Bestandteile der Würmer oder auch Sekretionsprodukte dieser Parasiten verantwortlich sind für die Ausbildung der Th2 ähnlichen anti-entzündlichen immunologischen Reaktion des Wirtes. Eine Rolle zu spielen scheinen Proteine wie Cystatine, Kohlenwasserstoffe, Lipide sowie Nukleinsäuren (HARNETT & HARNETT, 2006). Cystatine sind Cystein Protease Inhibitoren, welche von Nematoden sezerniert werden, um gegen die Immunantwort des Wirtstieres geschützt zu sein. Cystatine inhibieren unter anderem Proteasen, welche wichtig sind für die Prozessierung und Präsentation von Antigenen. Damit können sie die Nematoden vor einer übermäßigen T Zell Antwort schützen (HARTMANN & LUCIUS, 2003). Zum anderen sorgen Cystatine dafür, dass mehr IL-10 von Makrophagen produziert wird. Das führt zu einer Reduktion der Oberflächenmoleküle an Makrophagen, was deren Stimulation erschwert. Auf diese Weise sorgt der Parasit für eine anti-entzündliche Umgebung und sein eigenes Überleben. Andererseits sind Cystatine aber auch in der Lage, die Produktion von NO zu fördern, indem Makrophagen mittels IFN- γ aktiviert werden (HARTMANN & LUCIUS, 2003).

Tropomyosin ist ein Muskelprotein (zwei parallele α -helikale Moleküle, die in sich verdreht sind), das im Tierreich weit verbreitet ist. Das Tropomyosin von wirbellosen Tieren ist allergen und ist verantwortlich für viele allergische Reaktionen gegen Meeresfrüchte oder aber auch Hausstaubmilben. Das Tropomyosin von Wirbeltieren hingegen ist kein bekannter Allergieauslöser (REESE et al., 1999). Da das Tropomyosin von Hausstaubmilben beispielsweise demjenigen von anderen Krustentieren so ähnlich ist, wird angenommen, dass es zu Kreuzreaktionen kommt und jemand, der auf Meeresfrüchte allergisch reagiert, deshalb ebenfalls gegen bestimmte Umweltallergene allergisch sein kann (ARRUDA L.K., 2005). Arruda spekulierte, dass kreuzreaktive Allergene wie Tropomyosin zur Zeit der initialen Infektion mit *Ascaris* die weitere Entwicklung von kreuzreaktiven IgE Antikörperreaktionen auf Exposition zu Milben oder Kakerlaken erleichtern könnte, was zu einer Atemwegsentzündung oder Asthma führen kann (ARRUDA L.K., 2005).

Die Immunantwort, welche gegen WurmAg entwickelt wird, entspricht nicht der Immunantwort, welche von lebenden Würmern verursacht wird. Wahrscheinlich bewirken auch die unterschiedlichen Stadien von Parasiten verschiedene immune

Reaktionen beim Wirt, wie mit unterschiedlichen Entwicklungsstadien von Filarien und dem adulten Wurm *Brugia malayi* bei Mäusen gezeigt wurde (LANGLEY et al., 1994; BABU et al., 2006). Es wurde festgestellt, dass IL-10 bei infizierten Personen nicht nachgewiesen werden konnte, was möglicher Weise daran lag, dass IL-10 bei der Infektion mit lebenden Würmern nicht gebildet wird. Letzten Endes wird sowohl die Th1 als auch die Th2 Antwort durch lebende Parasiten beeinflusst (BABU et al., 2006). Es gibt einen großen Unterschied in der Immunantwort gegen Eier oder Larven beispielsweise von *Schistosoma mansoni*. Bei einer Infektion mit Eiern kommt es zu einer maximalen Ag Präsentation durch dendritische Zellen, ausschließlich bei den Eiern kommt es zudem zu einer verstärkten Produktion von IL-12, welches für die Aktivierung von natürlichen Killerzellen und das Primen von naiven T Zellen wichtig ist (TROTTEIN et al., 2004). Bei der Interaktion zwischen Würmern und Allergie sind einige Variablen entscheidend. Zum Einen die Phase der Wurminfektion (akut oder chronisch), zum Anderen die Wurmbelastung und die Wurmart (CARVALHO et al., 2006). In einer Studie von Kreider wurde angenommen, dass durch Würmer eine alternative Art an aktivierten Makrophagen ins Spiel kommt, die sich von den normalen Makrophagen in ihrer Zelloberfläche und der Art der ausgeschütteten Moleküle unterscheidet. Dieser alternativen Zellart wird der mögliche positive Effekt einer Wurminfektion auf seinen Wirt zugeschrieben (KREIDER et al., 2007). Zumindest für Schistosomen ist nachgewiesen, dass sie in der Lage sind, „eigene Glykan“ Antigene auszuschleiden, welche von C-Typ Lektin Rezeptoren an den dendritischen Zellen erkannt werden, deren eigentliche Aufgabe darin besteht, körpereigene Antigene einzufangen und daraufhin Treg Zellen zu generieren, welche dafür sorgen, dass die körpereigenen Antigene toleriert werden. Somit werden Schistosomen als eigentlich pathogene Antigene vom Immunsystem verschont, da sie für körpereigen gehalten werden. Der Wirt selbst ist vor zu großem Schaden geschützt, da er die Wurm-induzierte Th2 Immunantwort herunterfährt und gleichzeitig gegen eine übermäßige zell-medierte allergische Reaktion geschützt ist (VAN DIE & CUMMINGS, 2006).

2.3.3. Studien mit Helminthen beim Menschen

Bis jetzt sind die Forscher noch nicht zu einem einstimmigen Konsens gekommen, ob sich eine Infektion mit Helminthen positiv oder negativ auf die

Entstehung oder den Schweregrad einer allergischen Erkrankung auswirkt. Beide Gedankenansätze werden von unterschiedlichen Forschern unterstützt, welche die Beweise für ihre Überlegungen in ihren Studien sehen. Untersuchungen in Venezuela zeigten, dass es in *Ascaris lumbricoides* endemischen Gebieten eine niedrige Prävalenz von positiven Hauttests gegen Aeroallergene gibt und dass es nach einer Wurmtherapie zu einem Anstieg dieser Prävalenz kam (HAGEL et al., 1993; LYNCH et al., 1993). Bei seiner Studie in Ecuador stellte Cooper bei 2865 untersuchten Schulkindern fest, dass eine Wurminfektion mit einem negativen Ergebnis beim Hauttest auf Allergene korreliert ist (COOPER et al., 2003). Van den Biggelaar zeigte in seiner Studie bei Schulkindern in Gabon (Zentralafrika) eine negative Assoziation zwischen chronischen Infektionen mit Blut- und Gewebeparasiten und der Reaktion im Hauttest auf Hausstaubmilben. Vor allem höhere Konzentrationen von parasiten-induzierten IL-10 gingen mit einer verminderten Hauttestreaktion auf Hausstaubmilben einher (VAN DEN BIGGELAAR et al., 2001). Ein Jahr zuvor zeigte van den Biggelaar in dieser Gegend, dass Kinder, bei welchen Schistosomen im Urin nachgewiesen werden konnten, eine niedrigere Prävalenz von positiven Hauttestreaktionen hatten als Kinder, welche nicht infiziert waren. Dieser Unterschied konnte aber nicht durch den Grad der Sensibilisierung gegenüber Hausstaubmilben erklärt werden, da Schistosomen-Ag-spezifische Konzentrationen von IL-10 signifikant höher waren bei infizierten Kindern. Eine hohe Konzentration an IL-10 korrelierte mit negativen Resultaten beim Hauttest. Somit kam die Vermutung auf, dass durch chronische Parasiten-Infektionen entstandenes IL-10 die Entwicklung der Atopie verhindert (VAN DEN BIGGELAAR et al., 2000). Van den Biggelaar wollte die Richtigkeit seiner Überlegungen überprüfen und führte in Gabon ein paar Jahre später eine weitere Studie durch, bei der er die Auswirkungen einer Langzeit-Anthelminthen-Therapie auf die Hauttestreaktionen prüfen wollte. Durch die mehrmalige Verabreichung der Anthelmintika Praziquantel und Mebendazol kam es zu einem signifikanten Anstieg der Hauttestreaktionen auf Hausstaubmilben (VAN DEN BIGGELAAR et al., 2004). Araujo et al zeigten, dass die Sofortreaktion auf Umweltallergene bei Personen, welche mit *Schistosoma mansoni* infiziert sind, unterdrückt sein kann. Dafür untersuchten sie in einer Studie 42 Personen, welche mit *S. mansoni* infiziert waren (>200 Eier/g Kot) und 133 uninfizierte, ebenfalls aus dem endemischen Gebiet stammende Personen, und stellten fest, dass es eine statistisch signifikante inverse Assoziation zwischen

der Sofortreaktion beim Hauttest auf gebräuchliche Umweltallergene und der Infektion mit *S. mansoni* bestand (ARAUJO et al., 2000). Lynch führte 1987 eine Studie in Venezuela durch, bei welcher ihm auffiel, dass bei Personen mit niedrigem sozio-ökonomischem Standard Wurminfektionen häufig waren und sowohl bei allergischen als auch bei nicht allergischen Personen hohe Gesamt IgE- und spezifische IgE Konzentrationen gemessen werden konnten. Allerdings reagierten in dieser Personengruppe nur sehr wenige positiv im Hauttest verglichen mit anderen Personenkreisen aus besserer sozialer Umgebung. So entstand die Überlegung, dass die Würmer durch Erhöhung der Produktion von IgE verantwortlich für die modifizierte allergische Reaktion sein könnten (LYNCH et al., 1987). In einer späteren Studie, welche Lynch ebenfalls in Venezuela durchführte, konnte er aufzeigen, dass es bei Kindern, welche mit Anthelmintika gegen ihre Darmparasiten behandelt wurden, zu einem Absinken der totalen IgE und IL-4 Konzentrationen im Serum kam, aber auch zu einem signifikanten Anstieg von positiven Reaktionen bei Hauttests auf Umweltallergene und zu einem Anstieg von spezifischem IgE gegen diese Antigene. Interessant war auch die Entdeckung, dass bei einer anderen Gruppe von Kindern, welche ebenfalls verwurmt waren und nicht behandelt wurden, innerhalb der Studiendauer ein massiver Anstieg ihrer Verwurmung dokumentiert wurde, was laut Autor wohl mit einer derzeitigen Verschlechterung der sozio-ökonomischen Situation in dieser Gegend zu erklären war. Parallel mit dem verstärkten Wurmbefall stieg auch die Konzentration an Gesamt-IgE, wohingegen die Reaktivität auf Hauttests und die spezifischen IgE Konzentrationen zurückgingen. Es wurde ermittelt, dass die polyklonale Stimulation der IgE Synthese durch die Helminthen zu einer Sättigung der Fcε Rezeptoren der Mastzellen führt und somit zu einer Unterdrückung der Synthese von spezifischen Antikörpern. Wie bereits zuvor beschrieben ist diese Hemmung der allergischen Reaktivität durch Antiparasitika reversibel (LYNCH et al., 1993). Die starke inverse Korrelation zwischen Hautreaktion auf Aeroallergene und Infektion mit *S. mansoni* ohne eine Wechselwirkung mit der allergischen Erkrankung ist vereinbar mit der Hypothese, dass Wurminfektionen des Darmtraktes die hypersensitive Sofortreaktion reduzieren, die klinische Manifestation aber nicht in gleichem Maße beeinflussen. Diese Feststellung stimmt ebenso mit der Hypothese überein, dass Anti-*S. mansoni* IgE mit allergen-spezifischem IgE um denselben hochaffinen IgE-Rezeptor konkurriert. Ein Anstieg der IgE Produktion und

Sättigung von Mastzellrezeptoren sind mögliche Mechanismen, um die inverse Assoziation zwischen Infektion mit dem Parasiten *S. mansoni* und Hautreaktionen auf Allergene zu erklären (CATAPANI et al., 1997; ARAUJO et al., 2000). Die höheren Level von Gesamt IgE und *S. mansoni* spezifischem IgE bei Wurminfizierten unterstützen diese Hypothese (ARAUJO et al., 2000). Eine Alternative dazu ist die Hypothese, dass Atopie ein Zeichen von verstärkter protektiver Antwort gegen Helminthen ist. So gesehen würde die Atopie dem Wirt helfen, *S. mansoni* zu töten und somit den Parasiten zu dezimieren (LYNCH et al., 1998). Macedo stellte fest, dass *Ascaris lumbricoides*-Extrakte zu einer verminderten Infiltration von Eosinophilen und Reduktion von Atemwegs-Überempfindlichkeit führt (MACEDO et al., 1998). Auch Cooper konnte eine inverse Assoziation von Wurminfektion und Atopie feststellen (COOPER, 2002). Einen Zusammenhang zwischen Wurminfektionen und Husten stellte Dagoyed 2003 fest. Kinder, welche mit Askariden oder Hakenwürmern infiziert waren, hatten signifikant weniger Probleme mit Husten. Dadurch hat die Studie die Vermutung bekräftigt, dass es durch verstärkte Entwurmungen und einen höheren Hygienestandard zu einem Anstieg an Atemwegserkrankungen kommen kann (DAGOYE et al., 2003). Bei einer Infektion mit Trichuren konnte dieses Phänomen nicht nachgewiesen werden, was die Vermutung nahe legt, dass der infizierende Parasit eine systemische Phase in seinem Lebenszyklus beinhalten muss, um sich auf die Hustenproblematik positiv auswirken zu können (DAGOYE et al., 2003). Es wurde sogar im Gegenteil festgestellt, dass es bei einer *Trichuris* Infektion zu einer verstärkten Reaktion auf Kakerlaken im Hauttest kam. Medeiros führte eine Studie durch, um die Wirkung von *Schistosoma mansoni* auf asthmatische Erkrankungen beim Menschen zu testen. Dafür wurden drei verschiedene Gruppen von Asthmatikern über ein Jahr hinweg beobachtet und die Veränderungen bei Reaktionen auf Hauttests, bei Lungenfunktionstests, in Blutwerten, bei der Einnahme von Medikamenten und bei Stuhlproben verglichen. Gruppe 1 stammte aus einem ländlichen Gebiet, in dem *Schistosoma mansoni* endemisch war, Gruppe 2 aus einem ländlichen Gebiet und Gruppe 3 aus einem Slum Gebiet, in den letzten beiden Gruppen war *Schistosoma mansoni* nicht endemisch. Alle drei Monate wurden Tests durchgeführt und am Ende der Studie stellte sich heraus, dass die Prävalenz einer *S. mansoni* Infektion in Gruppe 1 höher war als in den anderen beiden Gruppen, die Häufigkeit einer Infektion mit anderen Helminthen oder Protozoen war aber in

allen drei Gruppen dieselbe. In Gruppe 1 kam es zu weniger positiven Reaktionen im Hauttest als bei Gruppe 2 und 3 und auch die Frequenz asthmatischer Symptome und die Zahl an gefundenen Lungenveränderungen in der klinischen Untersuchung war in Gruppe 1, bei der *S. mansoni* endemisch vorkam, niedriger als in den beiden anderen Gruppen. Daraus wurde geschlossen, dass eine Infektion mit *Schistosoma mansoni* zu einem milderen Verlauf einer Asthmaerkrankung führt (MEDEIROS JR et al., 2003). Auch Scrivener bemerkte in einer Studie in Äthiopien, dass eine schwere Infektion mit Hakenwürmern zu einer Verminderung der Symptome von Asthma führen kann (SCRIVENER et al., 2001). In einer Studie über *Schistosoma mansoni* Infektionen in einem Gebiet in Kenia, in welchem der Parasit endemisch ist, wurde festgestellt, dass es vom Alter des infizierten Menschen abhängig ist, wie lange eine Infektion mit diesen Würmern anhält und wie stark die Infektion ausfällt. Die IgE Antwort gegen adulte Würmer dieser Parasitenart scheint eine Resistenz für eine Neuinfektion mit diesem Parasiten mit sich zu bringen (NAUS et al., 1999). Es gibt aber ebenso Wissenschaftler, die von einem Zusammenhang von Wurminfektionen und Allergien bzw. Asthmaerkrankungen überzeugt sind, es wurden sogar Asthmakrisen im Zusammenhang mit Geohelminthen beschrieben (GUEMENT, 1973; KAYHAN et al., 1978; PALMER et al., 2002). Sie geben zu bedenken, dass Wurminfektionen mit hohen Konzentrationen an IL-4, IL-5 und IL-13, eosinophilen Granulozyten und der Produktion von IgE einher gehen, was dafür sprechen würde, dass diese Infektionen allergische Reaktionen begünstigen. Was diese Meinung bekräftigt ist die Tatsache, dass Proteasen von Würmern sehr große Ähnlichkeit mit bekannten Allergenen aufweisen und es somit bei akuten Wurminfektionen zu allergischen Manifestationen in der Haut und dem Atmungstrakt kommen kann (DONNELLY et al., 2006). Palmer hat in seiner Studie, welche mit Kindern im Alter zwischen 8 und 18 Jahren in China durchgeführt wurde, festgestellt, dass das Risiko, in der Kindheit an Asthma zu erkranken, bei einer bestehenden Infektion mit *Ascaris lumbricoides* erhöht und eine Allergisierung gegen Umweltallergene erhöht ist (PALMER et al., 2002). Dabei ist zu bedenken, dass diese Kinder eine genetische Prädisposition für die Entwicklung von Asthma hatten, da die Studie mit einer anderen Studie über die familiären und genetischen Zusammenhänge von Asthma kombiniert war. Als Ursache für die positive Korrelation von Wurm und Asthma wird angenommen, dass *Ascaris* die Th 2 Antwort von asthmatischen Kindern potenziert. In einer

weiteren Studie wurden Patienten in einem Gebiet, in welchem *Ascaris lumbricoides* endemisch war, über ein Jahr hinweg mit Anthelmintika behandelt, wodurch sich die Symptome des Asthmas signifikant verbesserten, wohingegen bei einer Kontrollgruppe von unbehandelten Asthmatikern mit Wurminfektion keine Verbesserung der Symptome eingetreten ist. Die an Asthma erkrankten Personen, welche Anthelmintika erhielten, konnten noch ein weiteres Jahr nach Abschluss der Studie ohne weitere antiparasitäre Behandlung von den positiven Auswirkungen auf ihre Asthmaproblematik profitieren. Bei diesen Personen kam es zu einem merklichen Abfall der Konzentrationen von allergen-spezifischem und Gesamt-IgE Level im Blut. Auch bei Hauttests gegen Hausstaubmilben kam es zu verringerten Reaktionen. Auf die Lungenfunktion hatte die Anthelminthen-Therapie jedoch keinerlei Auswirkung. In Gebieten mit endemischen Helminthen kann es zu einer Beeinflussung der Symptomatik von Asthma durch diese Darmparasiten kommen (LYNCH et al., 1997). Andere Autoren kamen ebenfalls zu dem Schluss, dass Infektionen mit *Ascaris lumbricoides* keinen Schutz gegen Atopie zeigten, sondern stattdessen mit einem erhöhten Risiko für Atembeschwerden, Asthma und allergische Sensibilisierung einher gingen (PALMER et al., 2002; SALES et al., 2002).

2.3.3.1. Behandlung von Allergien

Bei der Interaktion zwischen Würmern und Allergie sind einige Variablen wie die Phase der Wurminfektion (akut oder chronisch), die Wurmbelastung und die Wurmart entscheidend (CARVALHO et al., 2006). IL-10 und TGF- β werden als Antwort auf den anhaltenden Stimulus des Immunsystems durch die Würmer produziert und schützen den Wirt vor Gewebeschäden, was nebenbei auch noch einen positiven Effekt auf eine bestehende Allergie haben soll (CARVALHO et al., 2006). Ein wichtiger Aspekt beim Schutz vor Allergien durch eine Wurminfektion ist die Stärke des Wurmbefalles (COOPER et al., 2003). Mortimer führte einen Versuch mit *Necator americanus* durch, um festzustellen, welche Dosierung des Wurmes nötig ist, um eine von ihm als erstrebenswerte Infektion des Patienten mit 50 Eiern/Gramm Kot zu erhalten. An der Hauteintrittsstelle zeigte sich bei den Probanden Juckreiz, eine weitere Nebenwirkung war das Auftreten von gastrointestinalen Störungen, beides trat bei höheren Dosen vermehrt auf. Die Lungenfunktion veränderte sich bei keiner der Dosierungen des Wurmes bis zum Endpunkt der Studie. Die Blutwerte von eosinophilen

Granulozyten und IgE veränderten sich vorübergehend, die Werte von IgG stiegen progressiv an. Alle Dosierungen (10, 25, 50 und 100 Larven) führten zu der angestrebten Dosierung im Kot. Bei der Infektion mit 10 *N. americanus* Larven wurde eine moderate Konzentration im Blut gemessen und die Dosierung wurde gut vertragen (MORTIMER et al., 2006). Es wurde beispielsweise von Araujo festgestellt, dass bei Patienten, welche gleichzeitig an Asthma und einer Wurminfektion mit *S. mansoni* litten, die Produktion von IL-10 höher war als bei reinen Asthmapatienten (ARAUJO et al., 2004). Vier verschiedene Mechanismen werden diskutiert, wie der positive Effekt einer Wurminfektion auf die Atopie zustande kommen kann. Als Erstes geht man davon aus, dass wurminduziertes und das allergen-spezifische IgE um die IgE Rezeptoren an Mastzellen konkurrieren. Als Weiteres wird angenommen, dass es zu einer IgG4 Antikörper Produktion durch die Würmer kommt, welche ebenfalls mit antigen-spezifischen IgE konkurrieren oder kreuz reagieren und somit die IgE mediierte IgE Antwort hemmen. Drittens besteht die Überlegung, dass die Wurminfektion regulatorische T Zellen aktiviert, welche die Th2 Antwort gegen Umweltallergene nach unten reguliert. Zuletzt kann angenommen werden, dass hohe Level an regulatorischen Zytokinen wie IL-10 und TGF- β die Immunantwort gegen Antigene unterdrücken (BARTHLOTT et al., 2003; CARVALHO et al., 2006). Es gibt zwei mögliche Erklärungen für den positiven Effekt, den hohe IgE Level gegen die Atopie aufweisen. Die Produktion einer großen Menge an polyklonalem IgE, durch eine Wurminfektion verursacht, könnte die direkte Überreaktion (Hypersensitivitätsreaktion) dadurch modulieren, dass die Fc ϵ RI Rezeptoren an den Mastzellen und basophilen Granulozyten gesättigt sind (BAZARAL et al., 1973; HAGEL et al., 1993). Die andere Vermutung ist, dass hohe IgE Level einen Marker für andere immunologische Faktoren darstellen, welche Schutz gegen Atopie bewirken, wie zum Beispiel antiinflammatorische Zytokine, wie IL-10, welches assoziiert ist mit einem protektiven Effekt bei einer *Schistosoma haematobium* Infektion gegen Atopie auf Hausstaubmilben (VAN DEN BIGGELAAR et al., 2000; COOPER et al., 2003). Die mögliche positive Wirkung von IgG4 auf Atopien wird in verschiedenen Studien kontrovers diskutiert (SCRIVENER et al., 2001; COOPER et al., 2003). Eine Toleranz gegen Umweltallergene, ausgelöst durch eine immunologische Kreuzreaktion auf Grund einer Wurminfektion, kann verschiedene Gründe haben. Eine zentrale Toleranz wäre dann denkbar, wenn bereits die Mutter mit Würmern infiziert war und es zu einer Exposition des

Foetus (über Plazenta) oder des Säuglings (über Muttermilch) zu HelminthenAg und zu einer Ausschüttung von kreuz-reaktiven T Zellen aus dem Thymus kommt. Von einer peripheren Toleranz könnte man sprechen, wenn es bereits intrauterin oder postnatal zu einer Wurmübertragung kommt, was eine klonale Anergie von kreuz-reaktiven T Zellen oder eine Induktion von regulatorischen T Zellen bewirkt, welche aktiv das Immunsystem unterdrücken. Als dritte Variante wäre eine orale Toleranz denkbar, da adulte Würmer ein starkes enterisches Pathogen darstellen, welches große Mengen an Proteinen und Glykoproteinen sezerniert. Es kommt dadurch zu einer Hyposensitivität durch die Vielzahl an WurmAg Epitopen und durch Kreuzreaktionen auch zu einer verringerten allergischen Reaktion auf Epitope von Umweltallergenen (COOPER, 2005). Alternativ könnten Darmparasiten zu einer veränderten Lokalisation der T Zellen führen oder spezifische Antagonisten der Mediatoren und/oder Rezeptoren ausschütten, welche für die Migration der Zellen verantwortlich sind (LUSTER & TAGER, 2004). Stimulierte Treg Zellen sind allerdings in der Lage, die Allergie eines nicht wurminfizierten Individuums zu supprimieren (MAIZELS, 2005). Bei Kindern im Alter von vier bis 14 Jahren in Kuba kam es bei den Wechselwirkungen zwischen Wirt und Wurm immer auf die Art des Parasiten und die Art der allergischen Erkrankung sowie den Zeitpunkt der Wurminfektion an. In dieser Studie wurde ein gewisser Schutz vor atopischer Dermatitis bei einer Infektion mit *Ascaris lumbricoides* festgestellt, wohingegen nach einer Infektion mit *Enterobius vermicularis* oder einem Hakenwurm das Risiko einer allergischen Rhinokonjunktivitis und/oder atopischen Dermatitis anstieg (WÖRDEMANN et al., 2008). Entscheidend für die Einwirkung von Würmern auf die allergischen Erkrankungen ist sicherlich die Stärke und die Kontinuität der Wurminfektion (YAZDANBAKHSH et al., 2001). Weil man davon ausgeht, dass die Karbohydrate für die immunmodulatorischen Eigenschaften verantwortlich sind und weil man versuchen will, die möglichen Nebenwirkungen, welche bei Applikation von Helminthen auftreten können, zu umgehen, soll in zukünftigen Studien versucht werden, synthetisierte Glyko-Konjugate, welche Helminthen-Glykane beinhalten, zu verwenden anstatt natürlicher Helmintheneier (THOMAS & HARN, 2004). Bager führte vor Kurzem eine Studie durch, bei der die positive Wirkung von *Trichuris suis* auf die Symptomatik von allergischer Rhinitis an Hand eines randomisierten doppel-blinden plazebo-kontrollierten Versuchsaufbaus getestet werden sollte. Bei den Patienten, welche acht Mal im Abstand von

21 Tagen 2500 lebende Eier von *Trichuris suis* erhielten, wurden bei etwa einem Drittel Durchfall als Nebenwirkung festgestellt. Bei allen diesen Patienten stiegen die Werte von Eosinophilen und des *T. suis* spezifischem IgE im Blut an. Auf die Symptomatik der allergischen Rhinitis oder Hauttestreaktionen hatte die Verabreichung der Helminthen jedoch im Vergleich zur Plazebogruppe keinerlei Auswirkung (BAGER et al., 2010).

2.3.3.2. Behandlung von immunbedingten Erkrankungen

Auf Grund der Tatsache, dass in Gebieten, in denen Filarien (Nematoden) endemisch sind, manche autoimmune Erkrankungen, wie zum Beispiel die rheumatoide Arthritis, weniger gehäuft auftreten, ist der Gedanke aufgekommen, dass es eventuell einen Zusammenhang zwischen dem Parasiten und dem Schutz des Wirtes vor solchen Erkrankungen geben kann. Diese Tatsache ist höchst wahrscheinlich auf die Sekretion des Glykoprotein ES-62 durch die Nematoden im Wirt zurückzuführen (HARNETT 2004). Dieses Glykoprotein besitzt immunmodulatorische Eigenschaften, welche hauptsächlich anti-entzündlich sind. Das Protein inhibiert die Produktion von TNF- α und verhindert eine kollagen-spezifische Th1 Antwort. Auf diese Weise schützt sich der Parasit vor einer überschießenden Immunantwort und sichert somit sein dauerhaftes Verbleiben im Wirt. Nebenbei schützt der Parasit auf diese Weise auch seinen Wirt vor der autoimmunen Erkrankung rheumatoide Arthritis (HARNETT et al., 2004). *Trichuris suis* wurde erfolgreich beim Menschen zur Therapie von Morbus Crohn getestet. Summers führte eine plazebokontrollierte randomisierte Doppel-Blind-Studie an der Universität von Iowa durch. 54 Patienten, welche an ulzerativer Colitis erkrankt waren, bekamen entweder 2500 Eier von *Trichuris suis* oder ein Plazebo-Produkt alle zwei Wochen über einen Zeitraum von 12 Wochen. Schon nach einmaliger Gabe der Eier konnten positive Effekte beobachtet werden. Es wurde ein signifikant besseres Ergebnis bei der Patientengruppe, welche Würmer erhielt, erzielt. Außerdem lief eine Studie mit 29 Morbus Crohn Patienten, bei der alle drei Wochen oral die Wurmeier verabreicht wurden und auch bei diesem Test waren die Ergebnisse positiv. Es traten keinerlei Nebenwirkungen auf und die Therapie mit den Wurmeiern erwies sich als effektiv und hilfreich (SUMMERS et al., 2005b; SUMMERS et al., 2005a). *Trichuris suis* kann sich nicht im menschlichen „Fehlwirt“ adaptieren, da er dafür zu schnell ausgeschieden wird. Dadurch wird die Gefahr von negativen Nebenwirkungen minimiert. Man geht

davon aus, dass der Parasit trotzdem lange genug im Magen-Darm-Trakt verweilt, um einen positiven Effekt auf das Immunsystem auswirken zu können (SUMMERS et al., 2003; FALCONE & PRITCHARD, 2005). Nachteilig ist hierbei, dass eine wiederholte Gabe des Parasiten erforderlich ist. Ganz im Gegensatz dazu kann sich der Helminth *N. americanus* bei einer einmaligen Gabe bereits im humanen Verdauungstrakt ansiedeln und dort für mehrere Jahre angesiedelt bleiben (FALCONE & PRITCHARD, 2005). Eine Pilotstudie, welche Potential für den Einsatz von *Necator americanus* bei der Therapie von Morbus Crohn sieht, wurde bereits durchgeführt (CROESE et al., 2006). *Schistosoma mansoni* beispielsweise wäre ebenfalls in der Lage, sich über Jahre hinweg im Verdauungstrakt eines Menschen anzusiedeln, bei diesem Parasiten sind jedoch die zu erwartenden pathologischen Auswirkungen durch den Parasiten zu hoch, um sie mit den potentiellen positiven immunologischen Effekten aufwiegen zu können. Deshalb kommt ein therapeutischer Einsatz dieses Wurmes eher nicht in Frage (FALCONE & PRITCHARD, 2005). Es gibt jedoch auch Hinweise, dass eine Langzeittherapie mit *Trichuris suis* möglicherweise eine Infektion mit *Campylobakter jejuni* begünstigt, was sicherlich bei einem therapeutischen Einsatz dieser Wurmspezies im Auge behalten werden muss (MANSFIELD, 2003; SHIN & ET, 2004).

2.3.4. Studien mit Helminthen bei anderen Tierarten außer dem Hund

Bei verschiedenen Tierarten versuchten die Wissenschaftler bereits Immunmodulation durch Wurminfektionen zu erforschen. Sechs Rindern wurden die Nematoden *Onchocerca ochengi* (350 infektionsfähige Larven) einmalig verabreicht. Während die Parasiten reiften und die Infektion patent wurde, konnte eine verminderte Lymphproliferation und eine deutliche Verschiebung hin zu einer Th2 Antwort mit erhöhtem IL-10 Aufkommen bemerkt werden (GRAHAM et al., 2001). Hurst zeigte zum Beispiel an Schweinen, dass genau wie beim Menschen durch Immunmodulation im frühen Stadium der Infektion durch die Besiedelung von Eiern des Parasiten *Schistosoma japonicum* Granulome in der Leber gebildet werden. Sowohl reife als auch unreife Eier lösen solch eine granulomatöse Reaktion aus (HURST et al., 2006). Pedersen stellte bei Schweinen fest, dass sie durch langzeitige Applikation von *Trichuris suis* in kleinen Dosen eine gewisse Immunität gegen diesen Parasiten entwickeln konnten (PEDERSEN & SAEED, 2001). Die weitaus meisten der Studien wurden aber an

Mäusen durchgeführt. Eine Infektion mit *Schistosoma mansoni* kann bei Mäusen durch die IL-10-abhängige B-Zell-Population einen Schutz vor einer anaphylaktischen Reaktion bieten. In dieser Studie wurde auch ersichtlich, dass es eine Balance zwischen der schützenden Induktion von IL-10 und zerstörerischen allergischen Reaktion verursacht durch IL-4 geben muss (MANGAN et al., 2004). Flores-Villanueva kam ebenfalls zu der Überzeugung, dass IL-10 bei der Infektion mit *Schistosoma mansoni* bei Mäusen immunpathologischen Schäden reduzieren kann, da bei Anwesenheit dieses Zytokines die Granulombildung reduziert war und somit weniger Gewebeschäden auftraten (FLORES-VILLANUEVA et al., 1996). Hesse zeigte bei einer Studie, dass IL-10 produzierende angeborene Effektor und Regulator T Zellen bei einer Infektion mit Schistosomen zusammenwirken, um die Morbidität zu verringern und das Überleben zu sichern (HESSE et al., 2004). Bei Mäusen wurde gezeigt, dass die Produktion von alternativen Makrophagen bei einer Infektion mit Schistosomen überlebenswichtig ist, damit der Wirt die Entzündungsreaktion, welche von den Parasiteneiern ausgelöst wird, nach unten regulieren und somit den Schaden an Organen eindämmen kann (HERBERT et al., 2004). Bei einem Versuch von Fallon wurde bei Mäusen, welche mit Larven des Parasiten *Necator brasiliensis* infiziert wurden, festgestellt, dass IL-25 eine wichtige Funktion bei der Immunantwort gegen diese Art von Parasiten inne hat. Mit Hilfe von IL-25 wird die Th2 Antwort reguliert. Ohne die Anwesenheit von IL-25 sinken die Konzentrationen an IL-5 und IL-13 und somit ist der Wirt nicht mehr in der Lage, den Parasiten los zu werden (FALLON et al., 2006). Bashir ging davon aus, dass eine Wurminfektion Mäuse vor einer allergischen Reaktion gegen Futtermittelantigene schützt, indem die Produktion von spezifischem IgE blockiert und IL-13 gehemmt wird. In seinem Mäusemodell wurden verwurmete und nicht verwurmete Tiere mit einem Erdnuss-Ag und Choleratoxin gefüttert. In diesem Modell wurde gezeigt, dass eine Wurminfektion vor der Entwicklung einer Allergie schützt (BASHIR et al., 2002). Bei Mäusen kann eine Helmintheninfektion Schutz vor der Entwicklung einer Futtermittelallergie bieten (NAGLER-ANDERSON, 2006). Ebenso gab es eine Studie, welche die inverse Assoziation von Wurminfektionen und Allergien bei Ratten bewies (SILVEIRA et al., 2002). Elliott fand heraus, dass Schistosomeneier Mäuse vor einer mittels Trinitrobenzoesulfonsäure ausgelösten Kolitis schützen. Es kam neben einer histologisch nachweisbaren Verbesserung auch zu weniger Todesfällen auf Grund

der Colitis-Induktion (ELLIOTT et al., 2003). Unter anderem wurde bei Mäusen die Infektion mit dem Parasiten *Trichinella spiralis* untersucht. Es wurde festgestellt, dass dieser Parasit das Potential hat, eine Erkrankung an IBD (infectious bowel disease) einzudämmen beziehungsweise zu verhindern. Vermutlich schwächt die durch Helminthen verursachte Th2 Antwort die von der IBD verursachte Th1 Antwort ab (KHAN et al., 2002). Gerbale, welche mit *Trichinella spiralis* infiziert wurden, reagierten mit einer dominierenden Th2 Antwort auf diese Darmparasiten, daher eignet sich diese Spezies sehr gut als Modell für die Auswirkungen von parasiten-induzierter Th2 Antwort auf Th1 mediierte Krankheiten wie zum Beispiel *Helicobacter pylori* induzierte Gastritis oder aber auch Magenkarzinome (SAGAR et al., 2004). Mäuse waren durch eine Infektion mit *Schistosoma mansoni* Eier vor der Entwicklung einer Kolitis durch Dextran Sodium Sulfat geschützt. Dieser Schutz beruhte auf der Ausbildung einer neuen Makrophagen-Population, welche in das Kolon einwanderte, nicht wie bisher angenommen, durch eine Modulation der Th2 Antwort oder durch Induzierung von regulatorischen Zellen (SMITH et al., 2007). Bei einer *Schistosoma mansoni* Infektion kommt es bei Nagern zu unterschiedlichen Auswirkungen auf das Immunsystem, abhängig davon, ob es sich um eine akute Infektion mit Eiern handelt, oder ob eine Infektion mit adulten Würmern besteht (SMITH et al., 2004). Die Extrakte von *Ascaris suum* sind bei Mäusen in der Lage, die Entzündungserscheinungen und Überreaktionen in der Lunge bei Asthma zu reduzieren, was mit einer Reduktion der Eosinophilenzahl sowie der Konzentration von IL-5 und IL-4 vergesellschaftet ist (LIMA et al., 2002). Eine Infektion mit *Nippostrongylus brasiliensis* konnte bei Mäusen die Entwicklung von Asthma supprimieren (TRUJILLO-VARGAS et al., 2007). Durch eine solche Infektion mit *Nippostrongylus brasiliensis* wird die Entwicklung von allergen-induzierter Atemwegseosinophilie durch das Zytokin IL-10 verhindert. Mäuse, welche mit *Trichuris muris* infiziert worden waren, reagierten mit einer gesteigerten Produktion von 5-Hydroxytryptamin, was durch eine Interaktion von CD4+ Zellen und enterochromaffinen Zellen zustande kam und für eine immunendokrine Achse im Darmtrakt sprach (WANG et al., 2007).

2.3.4.1. Studien mit Helminthen beim Hund

Zum momentanen Zeitpunkt ist lediglich eine Studie über die Wirkung von Helminthen beim therapeutischen Einsatz der kaninen atopischen Dermatitis

bekannt. Es ist eine Pilotstudie, welche von Helmer 2008 in der Medizinischen Kleintierklinik der Universität München durchgeführt wurde. Bei diesem Versuch lag das Hauptaugenmerk zum einen auf einer möglichen positiven Beeinflussung der klinischen Symptomatik der Helminthen auf die CAD und zum anderen auf der optimalen Dosierung für diese folgende größer angelegte Plazebo-kontrollierte Doppelblindstudie.

In der Studie von Helmer gab es vier verschiedene Gruppen mit jeweils drei partizipierenden Hunden. Jeweils zwei der Gruppen wurden die Helminthen *Trichuris vulpis*, den anderen beiden Gruppen die Würmer *Uncinaria stenocephala* einmalig zu Beginn der Studie oral verabreicht. Es wurden bei der Wurmart *T. vulpis* die Dosierungen 500 bzw. 2500 embryonierte Eier getestet. Bei der Helminthenart *U. stenocephala* sollten dieselben Dosierungen von L3 Larven zum Einsatz kommen, jedoch wurde bei jeweils dem letzten Hund der Uncinaria-Gruppen die Dosierung auf 100 Larven reduziert, da bei den zuvor in die Studie aufgenommenen Hunden zu starke Nebenwirkungen wie Durchfall und Erbrechen auftraten. Zur Bewertung des Schweregrades der Läsionen wurde der CADESI (ein validiertes Punktesystem zur Bestimmung der Verteilung und des Schweregrades von Hautläsionen der CAD) und für den Juckreiz eine visuelle Analogskala verwendet, außerdem beurteilten die Hundebesitzer den Hautzustand ihres Tieres zu Beginn und am Ende der Studie. Histologische Hautpräparate von Beginn und Ende der Studie wurden mittels Biopsien entnommen, um Werte wie IL-4, IL-10, IFN- γ und TGF- β bestimmen und vergleichen zu können. Mit Giemsa und Luna Färbungen wurden die Mastzellen, neutrophilen und eosinophilen Granulozyten sowie die Lymphozyten gezählt. Alle Hunde zusammen betrachtet zeigten eine signifikante Reduzierung der CADESI Werte sowie des Juckreizes. Wenn die Wurmarten separat betrachtet wurden, konnte (bedingt durch die geringe Zahl von Hunden in jeder Gruppe) lediglich bei den CADESI Werten ein signifikanter Rückgang beobachtet werden. Bei acht der zwölf teilnehmenden Hunde beurteilten die Besitzer den Hautzustand am Ende der Studie besser als zu Beginn. Bei der Zytokinexpression konnten keine statistisch signifikanten Werteänderungen festgestellt werden. Die Veränderungen der zellulären Entzündungsinfiltrate waren nicht signifikant. Bei den Hunden der *Trichuris* Gruppe konnten keine Parasitenstadien am Ende der Studie im Kot nachgewiesen werden, wohingegen bei allen Hunden, welche *Uncinaria* erhielten,

Eier dieser Helminthen im Kot gefunden wurden (HELMER et al., 2008).

III. MATERIAL UND METHODEN

3.1. Material

Im Folgenden werden alle Materialien aufgeführt und beschrieben, die bei dieser Studie zum Einsatz kamen.

3.1.1. Würmer

In dieser Studie wurde eine Helminthenart verwendet, welche der Gattung der Peitschenwürmer angehört. Ihren Namen hat die Gattung durch das peitschenförmige Aussehen der 3,0-8,0cm langen Würmer erhalten. Es handelt sich um Dickdarmparasiten von Säugetieren.

3.1.1.1. *Trichuris vulpis*

Trichuris vulpis ist ein Peitschenwurm, der zu Infektionen bei Hund, Fuchs und anderen Kaniden führen kann und sich vor allem im Zäkum, aber auch im Kolon dieser Tier ansiedelt, bei starkem Befall auch im gesamten Dickdarm. Die Weibchen des Parasiten produzieren Tausende von Eiern, welche mit dem Kot des Wirtes ausgeschieden werden. Die weitere Entwicklung zur infektiösen L1 Larve im Ei erfolgt dann in der Umwelt und benötigt bei einer optimalen Temperatur von 20°C etwa sechs Wochen, bei niedrigeren Temperaturen kann sich diese Entwicklung auch über eine Dauer von mehreren Monaten erstrecken. Nun muss eine orale Aufnahme durch den Wirt erfolgen und es kommt zu einer histotropen Phase in der Schleimhaut von Dünn- und Dickdarm, nachdem die Larven die Eihülle verlassen haben. Weitere vier Häutungen sind nötig, bis die endgültige Besiedelung des Dickdarmtraktes erfolgt. Die Verankerung der Würmer in der Schleimhaut und Sekrete, die von den Würmern ausgeschieden werden, führen beim betroffenen Wirtstier zu katarrhalischen Entzündungen, was mit petechialen Blutungen, Ödemen, Hyperämie, Epitheldefekten und Nekrosen, bei sehr starkem Befall auch mit hämorrhagischen Entzündungserscheinungen von Zäkum und Kolon einhergehen kann. Klinisch sichtbar werden diese Veränderungen beim Hund durch Abmagerung, Anämie, sowie katarrhalische oder hämorrhagische Dickdarmentzündung (ECKERT et al., 2005).



Abb.1: Embryoniertes Ei von *Trichuris vulpis* (Quelle: cal.vet.upenn.edu)

3.1.2. Hunde

An dieser Studie haben insgesamt 21 Hunde verschiedener Rassen im Alter zwischen 10 Monaten bis 14 Jahren aus privatem Besitz Teil genommen.

3.1.3. Verwendete Chemikalien und Reagenzien

Avidin-Biotin-Komplex	Vectastain: PK-6100, Linaris
Biebrich-Scharlach	Chroma Gesellschaft, Schmid GmbH & Co., Stuttgart, CI 26905
CD-3 Antikörper A045201	DAKO Diagnostika GmbH, Hamburg
Essigsäure 100%	Carl Roth® GmbH & Co. KG, Karlsruhe
Ethanol reinst	AppliChem GmbH, Darmstadt
Ethanol 100%	Bundesmonopolverwaltung für Branntwein, Offenbach am Main
Ethanol 96%	Bundesmonopolverwaltung für Branntwein, Offenbach am Main
Ethanol 95%	Bundesmonopolverwaltung für Branntwein, Offenbach am Main
Ethanol 95%	CLN GmbH, Niederhummel
Ethanol 70%	Bundesmonopolverwaltung für Branntwein, Offenbach am Main
Eukitt (Roti®-Histokitt II, Einschlussmittel)	Carl Roth® GmbH & Co. KG, Karlsruhe

Giemsa Stammlösung	Merck, Darmstadt, Nr. 1.0924.0500
Hämatoxylin	Merck, Darmstadt, Nr. 1.04302.0100
Lithiumkarbonat	Merck, Darmstadt, Nr. 1.04543
Mayers Hämalau	AppliChem GmbH, Darmstadt, Nr. A0884
Paraffin	SAV LP, Flintsbach am Inn
Vet-Sept® Spray	A. Albrecht GmbH, Aulendorf
Wasserstoffperoxid 30%	AppliChem, Darmstadt
Wasserstoffperoxid 30%	neoLab® Labor Spezialprodukte, Heidelberg
Xylocain® 2% (Lido- cainhydrochlorid)	AstraZeneca GmbH, Wedel

3.1.4. Geräte in alphabetischer Reihenfolge

<u>Gerät</u>	<u>Bezeichnung</u>	<u>Herstellerfirma</u>
Einbettungsautomat	Histomaster 2050/DI	Bavimed, Birkenau
Kamera (Mikrosko)	ColorView III, Soft Imaging System	Olympus Soft Imaging Solutions GmbH, Münster
Mikroskop	Olympus BX51TF Software: analySIS FIVE	Olympus Imaging Eu- ropa GmbH, Hamburg
Mikroskop	Leica DMLS	Leica Mikroskopie und Systeme GmbH, Wetzlar
Mikrowelle	Micro-Chef® Moulinex	Moulinex, Ecully, Frankreich
Rasierer	Favorita II	Aesculap AG, Tuttlingen
Rotationsmikrotom	HM 315	Microm, Walldorf
Statistik-Programme		Graphpad Software, San Diego, USA

<u>Gerät</u>	<u>Bezeichnung</u>	<u>Herstellerfirma</u>
Wärmeschrank	Wärmeschrank	Memmert GmbH & Co. KG, Schwabach
Wasserbad	Wasserbad	Daglef Platz, Wankendorf
Zentrifuge	Centrifuge 5415R	Eppendorf AG, Hamburg

Sonstige Verbrauchsmaterialien

Biopsy Punch 6mm	Stiefel Laboratorium GmbH, Offenbach am Main
Deckgläschen	Spicker Laborbedarf GmbH, Schwandorf
Drontal® Plus	Bayer Vital GmbH, Leverkusen
Einmalpipetten	Carl Roth® GmbH & Co. KG, Karlsruhe
Ethilon II	Johnson & Johnson Medical GmbH, Norderstedt
Färbegestelle	VWR International, Darmstadt
Färbetröge	VWR International, Darmstadt
Gentle Skin® grip	Meditrade GmbH, Kiefersfelden
Glas-Baermann-Trichter	DURAN Group GmbH, Mainz
Kotröhrchen	Spicker Laborbedarf GmbH, Schwandorf
Microlance™	Becton Dickinson S.A., Fraga, Spanien
Milbemax®	Novartis Tiergesundheit GmbH, München
Mullkompressen	Holthaus Medical GmbH & Co. KG, Remscheid
Objektträger	Glaswarenfabrik Karl Hecht KG, Sondheim
Objektträger, entfettet	VWR International, Darmstadt

Panacur ®	Intervet Deutschland GmbH, Unterschleiß- Heim
Parasiten-Diagnose-System	Janssen Animal Health, Janssen-Cilag GmbH, Neuss
Petrischalen	DURAN Group GmbH, Mainz
Spritze 1 ml	Becton Dickinson S. A., Madrid, Spanien
Spritze 2 ml	Becton Dickinson S. A., Fraga, Spanien
Spritze 5 ml	Becton Dickinson S. A., Fraga, Spanien
Spritze 10 ml	Becton Dickinson S. A., Fraga, Spanien
Stickstoff, flüssig	AIR LIQUIDE Deutschland GmbH, Düsseldorf
Tesafilm	tesa AG, Hamburg
Verbandsmull	Rauscher, Pattensen
Zellstoff	WDT, Hannover

3.2. Methoden

Nun erfolgt eine detaillierte Beschreibung der verschiedenen Methoden, welche bei dieser Studie zum Einsatz kamen.

3.2.1. Einschlusskriterien für die Hunde

Insgesamt 21 Hunde mit diagnostizierter nicht-saisonalen atopischer Dermatitis, welche überwiegend aus dem Patientenstamm der Medizinischen Kleintierklinik der LMU München stammten, wurden in die Studie aufgenommen. Die Hunde mit atopischer Dermatitis, die in die Studie eingeschlossen werden durften, wurden nach den Kriterien von Willemse diagnostiziert, alle anderen klinisch infrage kommenden Differentialdiagnosen wurden ausgeschlossen (WILLEMSE, 1986; DEBOER & HILLIER, 2001b; GRIFFIN & DEBOER, 2001).

Die Hunde mussten mindestens ein Alter von sechs Monaten erreicht haben. Vor Aufnahme in die Studie musste an Hand von zytologischen Proben das Vorliegen von sekundären bakteriellen oder Malassezien-Infektionen ausgeschlossen worden sein. Des Weiteren durften die Hunde an keiner parasitären Erkrankung wie zum Beispiel Sarkoptesräude oder Cheyletiellose leiden. Diese Krankheiten wurden durch Anamnese, Klinik, oberflächliche Geschabsel und gegebenenfalls eine diagnostische Therapie ausgeschlossen. Eine Besiedelung der Hunde mit Flöhen wurde mittels einer konsequenten Flohprophylaxe unterbunden. Die Gabe von jeglichen Glukokortikoid-Präparaten wurde mindestens sechs Wochen vor Studienbeginn eingestellt. Zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses durften den Hunden außerdem keinerlei Antibiotika verabreicht werden. Symptomatische Therapien durften unter bestimmten Voraussetzungen weitergeführt werden, wenn während der Studie kein Einfluss auf die Klinik zu erwarten war. So war es beispielsweise erlaubt, Fettsäuren zu füttern, wenn der Hund das Präparat schon mindestens zwölf Wochen vor Studienbeginn erhielt, Antihistaminika konnten gegeben werden, falls der Hund das jeweilige Präparat schon mindestens vier Wochen vor Studienbeginn zum ersten Mal bekam. Diese Medikamente mussten während der gesamten Studienzeit in gleich bleibender Dosierung verabreicht werden, ohne das Präparat zu wechseln. Ebenfalls erlaubt war eine Shampootherapie unter der Voraussetzung, dass diese schon mindestens zwei Wochen vor Studienbeginn begonnen wurde und keine Änderung des Shampoo-Präparates erfolgte. Sollte ein Hund zusätzlich zu seiner Atopie unter einer Flohspeichelallergie leiden, dann war in diesen Fällen eine Therapie mit Fipronil

(Frontline[®], Merial, Hallbergmoos) 1x monatlich vorgesehen. Je nach Patient und Haltung wurde auch eine regelmäßige Umweltbehandlung eingeleitet. Natürlich mussten Hunde, die zuvor mit Selamectin (Stronghold[®], Pfizer, Berlin) behandelt wurden, ebenfalls auf Fipronil umgestellt werden, um der Entwurmung durch Selamectin vorzubeugen. Auch Hunde, welche an einer Futtermittelunverträglichkeit in Kombination mit der Umweltallergie erkrankt waren, durften ihre Diät weiterführen, solange diese schon seit mindestens zwölf Wochen gefüttert wurde. Auch in diesen Fällen galt, dass während der Dauer der Studie keine Änderung der Diät gestattet war. Hunde, die bereits vor Teilnahme an der Studie seit mindestens einem Jahr mit einer allergen-spezifischen Immuntherapie behandelt wurden, durften diese weiterhin in denselben Intervallen und Dosierungen erhalten. Des Weiteren musste direkt vor Aufnahme in die Studie eine negative Kotprobe der Hunde von drei aufeinander folgenden Tagen eingereicht werden. Zuletzt mussten die Besitzer der Hunde eine Einverständniserklärung unterschrieben, in der sie sich bereit erklärten, mit ihren Hunden an der Studie teil zu nehmen und zu den weiteren Kontrollterminen zu erscheinen. Außerdem bestätigten die Besitzer damit, dass sie über mögliche Nebenwirkungen der Behandlung und über die zu treffenden Hygienemaßnahmen aufgeklärt wurden.

3.2.2. Ausschlusskriterien für die Hunde

Hunde, bei denen eine positive Kotuntersuchung vorlag, wurden nicht in die Studie aufgenommen. Außerdem durften die Hunde bei Aufnahme in die Studie nicht an einer immunsupprimierenden systemischen Erkrankung wie zum Beispiel Hyperadrenokortizismus, Hypothyreose oder Diabetes mellitus leiden.

3.2.3. Randomisierung

Vor Studienbeginn wurde mit Hilfe einer Randomisierungstafel eine Randomisierungstabelle erstellt, bei der die Buchstaben A und B aufgelistet wurden. Diese Buchstaben standen stellvertretend für die zwei Gruppen, in welche die teilnehmenden Studienhunde eingeteilt wurden.

3.2.4. Behandlungsgruppen

Wie bereits erwähnt gab es bei der Studie zwei Behandlungsgruppen, in denen jeweils elf (Gruppe A) oder zehn Hunde (Gruppe B) eingeschlossen waren. Eine der Gruppen wurde mit Würmern therapiert, die Hunde der zweiten Gruppe erhielten lediglich ein Plazebo und dienten somit als Kontrollgruppe. In der

Wurmgruppe (A) wurde *Trichuris vulpis* verwendet. Als Dosierung wurden 2500 embryonierte Eier in einer Suspension mit Natriumchlorid beim Erstbesuch und beiden Kontrollterminen verabreicht. Als Plazebo (B) diente reines Natriumchlorid, welches ebenso zum Erstbesuch und beiden Kontrollterminen oral verabreicht wurde.

3.2.5. Studienprotokoll

Vor Beginn der Studie wurde ein Tierversuchsantrag gestellt, der unter dem Geschäftszeichen 55.2-1-54-2531-120-08 genehmigt wurde. Beim Erstbesuch, dem so genannten Tag-0 der Studie, unterschrieben die Besitzer eine Einverständniserklärung und gaben auf einer visuellen Juckreizskala nach Rybniček den momentanen Grad des Juckreizes ihres Hundes an (RYBNICEK et al., 2008). Bei dieser Skala ist auf verschiedenen Querstrichen der entsprechende Schweregrad des Juckreizes beschrieben. Außerdem brachten die Besitzer die Kotproben von drei aufeinander folgenden Tagen mit, welche zur Flotation ins Labor gegeben wurden (s. 3.2.13. Kotprobenuntersuchung mittels Flotation). Der Hund wurde sowohl allgemein als auch dermatologisch untersucht. Klinische Untersuchung und Hautzytologie bestätigten, dass keine bakterielle Pyodermie oder Malasseziendermatitis des Hundes vorlag. Um den Schweregrad der aktuellen Hautveränderungen, verursacht durch die atopische Dermatitis, fest zu halten wurden alle Läsionen mittels CADESI (Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index) beurteilt (OLIVRY et al., 2007; OLIVRY et al., 2008). Diese Bewertung der Läsionen erfolgte durch Dermatologen, welche für die Zugehörigkeit der Hunde zu den Studiengruppen geblindet waren, um eine maximale Objektivität der Werte zu gewährleisten. Wenn möglich wurden die Beurteilungen eines Hundes bei den verschiedenen Kontrollterminen von ein und dem selben Tierarzt durchgeführt. Soweit die Besitzer dies zuließen wurden den Hunden unter lokaler Anästhesie drei Hautbiopsien mit sechs Millimeter Durchmesser entnommen (s. 3.2.7. Biopsientnahme). Die Biopsien wurden in Formalin fixiert und zur weiteren Aufarbeitung in die Tierpathologie verbracht (s. 3.2.10.1. in Formalin fixierte Biopsien). Von jedem der teilnehmenden Hunde wurden zehn Milliliter Blut entnommen (s. 3.2.6. Blutprobenentnahme) und zur Bearbeitung ins Labor gegeben (s. 3.2.9. Blutprobenbearbeitung). Außerdem wurde für die Besitzer genauestens festgelegt, welche Therapien während der gesamten Studiendauer abzusetzen beziehungsweise anzuwenden waren. Zuletzt

bekamen die Hunde entsprechend ihrer Gruppenzugehörigkeit, welche durch eine Randomisationstabelle bestimmt wurde, ihr Medikament oral verabreicht, das entweder aus einer Suspension von 2500 embryonierten *Trichuris vulpis* Eiern oder für den Fall der Placebogruppe aus reiner Natriumchlorid-Lösung bestand.

Nach jeweils einem Monat erfolgten der 1. (Tag-30) und 2. Kontrolltermin (Tag-60), bei welchen die Hunde erneut allgemein und dermatologisch untersucht wurden und der aktuelle Schweregrad der Läsionen mittels CADESI von einem geblindeten Tierarzt erstellt wurde. Die Besitzer belegten erneut an Hand der visuellen Juckreizskala, die kombiniert mit graduellen Juckreizerklärungen aufgezeichnet war, den momentanen Juckreiz ihres Hundes. Es wurde ins Protokoll aufgenommen, ob die Hunde Nebenwirkungen bezüglich des Magen-Darm-Traktes auf die Studie entwickelten und wie sich diese äußerten. Auf Grund dieser Angaben wurde entschieden, ob ein Hund in der Studie verbleiben durfte oder ausschied. Außerdem wurde gegebenenfalls erneut mittels Zytologie überprüft, ob eine bakterielle oder Malassezieninfektion vorlag. Zusammen mit den Besitzern wurde ermittelt, ob die angewiesenen Behandlungen zu Hause (wie zum Beispiel Shampootherapie, Antihistaminikagaben, usw.) dem Protokoll entsprechend durchgeführt wurden. Am Ende der Kontrollbesuche wurde den Hunden jeweils ihre Medikation oral verabreicht (Placebo oder *Trichuris vulpis*).

Zu dem Endbesuch (Tag-90) nach weiteren vier Wochen brachten die Besitzer erneut Kot von drei aufeinander folgenden Tagen mit. Auch hier mussten sie mittels der Juckreizskala festlegen, auf welchem Niveau der aktuelle Juckreiz ihres Hundes sich befand. Die Hunde wurden abermals einer allgemeinen und dermatologischen Untersuchung unterzogen, bei der zugleich durch einen geblindeten Dermatologen der CADESI Wert bestimmt wurde. Bei den Hunden, deren Besitzer beim Erstbesuch der Entnahme von Biopsien zugestimmt hatten, wurden auch bei dem Endbesuch nach 90 Tagen an vergleichbarer Stelle drei Biopsien entnommen und diese identisch zu Tag-0 aufbereitet. Bei allen Hunden der Studie wurden ebenfalls am letzten Studientag zehn Milliliter Blut zur Serumgewinnung entnommen. Zuletzt wurde jeder Hund mit Febantel, Pyrantelmonat und Praziquantel (Drontal[®] Plus, Bayer Vital GmbH, Leverkusen, Deutschland) oder, im Falle von Hunden, die auf Grund einer Futterunverträglichkeit kein Rindfleisch vertrugen, mit Milbemycinoxim und Praziquantel (Milbemax[®], Novartis Tiergesundheit GmbH, München,

Deutschland) entwurmt.

Kam es auf Grund von drastischen Nebenwirkungen ohne Besserung durch symptomatische Therapie oder durch extreme Verschlechterung der klinischen Symptomatik zum vorzeitigen Ausscheiden eines Hundes aus der Studie, so wurde die Entwurmung schon zu diesem früheren Zeitpunkt durchgeführt und, falls möglich, erneut vor der Gabe der Entwurmungstabletten eine Sammelkotprobe eingereicht.

3.2.6. Blutprobenentnahme

Allen Hunden wurden an Tag-0 und Tag-90 bzw. im Falle eines vorzeitigen Ausscheidens, wenn möglich, zu diesem früheren Zeitpunkt zehn Milliliter Blut entnommen. Bevorzugt wurde das Blut aus der *Vena jugularis* der Tiere gewonnen, um den Stress für die Tiere durch eine möglichst kurze Manipulationszeit so gering wie möglich zu halten. War dies nicht möglich, wurde auf die Blutprobenentnahme an der *V. cephalica antebrachii* zurückgegriffen. Das gewonnene Blut wurde gleichmäßig auf 2-3 Serumröhrchen verteilt und zur Zentrifugation ins Labor gebracht.

3.2.7. Entnahme der Hautstanzen

Die Entnahme der Hautstanzen wurde nur bei den Hunden durchgeführt, bei denen die Zustimmung der Besitzer vorlag. Um möglichst vergleichbare Biopsieproben der unterschiedlichen Hunde zu erhalten, wurden die Proben bei allen Hunden im inguinalen Bereich entnommen. Dazu wurden lediglich die Haare der Hunde an dieser Stelle mit einer Schere gekürzt. Dann wurde mit einem Filzstift der Verlauf der Haarwuchsrichtung auf der Haut an den zu entnehmenden Stellen aufgezeichnet, um das korrekte Schneiden der Dünnschnittschnitte einfacher zu ermöglichen. Mittels einer dünnen Kanüle wurden nun die drei vormarkierten Entnahmestellen mit 2,0%igem Lidocainhydrochlorid (Xylocain® 2%, AstraZeneca GmbH, Wedel, Deutschland) subkutan unterspritzt. Mit sterilen Biopsiestanzen von sechs Millimeter Durchmesser (Biopsy Punch 6mm, Stiefel Laboratorium GmbH, Offenbach am Main, Deutschland) wurden drei Hautstücke entnommen, indem unter mäßigem aber konstantem Druck die Stanze gegen die Haut gedrückt und in einer Richtung gedreht wurde. Unter Zuhilfenahme von steriler Pinzette und Schere wurde nun das Hautstück abgetrennt und nach Abtupfen von Blut direkt in Formalin verbracht. Die dadurch verursachte

Hautwunde wurde mit resorbierbarem Faden genäht.

3.2.8. Orale Eingabe des Medikamentes

Unabhängig von der Gruppenzugehörigkeit wurden die oralen Medikamente an Tag-0, Tag-30 und Tag-60 verabreicht. Sowohl das Plazebo-Produkt NaCl als auch die Wurmei-Suspensionen wurden in 10,0ml Spritzen abgefüllt und den Hunden direkt in das Maul langsam eingegeben. Im Falle der Wurmei-Suspension wurde der Stempel der Spritzen komplett herausgezogen, die Öffnung der Spritze vorne verschlossen und die Röhrchen, welche bereits mit 2500 Wurmeiern in Suspension portioniert waren, von hinten in die Spritze umgefüllt. Nach erneutem Einbringen des Spritzenstempels wurden die Wurmeier oral verabreicht. Um den Kontakt von Mensch zu den Parasiteneiern auszuschließen, war hierbei das Tragen von Einmalhandschuhen Pflicht.

3.2.9. Blutprobenbearbeitung

Direkt nach der Blutprobenentnahme wurden die Serumröhrchen fünf Minuten bei 4000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Anschließend wurde mit Hilfe von Einmalpipetten das gewonnene Serum abpipettiert und auf mehrere Kryoröhrchen (CryoPure Röhrchen, Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland) verteilt, um ein späteres portionsweises Auftauen zu ermöglichen.

Nachdem die Proben ordnungsgemäß beschriftet waren, wurden sie bei $-20,0^{\circ}\text{C}$ gefroren und bis zur weiteren Untersuchung aufbewahrt.

3.2.9.1. Bestimmung des Allergen-spezifischen IgE

Zur Bestimmung des Allergen-spezifischen IgE wurde Serum an das Heska Labor in Fribourg geschickt und mittels eines auf den rekombinanten FcEpsilon Rezeptor basierenden ELISAs IgE gegen die wichtigsten Umweltallergene bestimmt (Heska AG, Fribourg, Schweiz). Das Testverfahren zur Bestimmung des spezifischen IgE mittels Fc ϵ R1 α nennt sich Allercept und arbeitet nach folgendem Prinzip. Damit eine allergische Reaktion ablaufen kann, muss der IgE Antikörper an Rezeptoren an der Oberfläche von Mastzellen oder basophilen Granulozyten binden. Dies erfolgt mittels des dreidimensionalen Fc Anteiles des IgE Antikörpers. Der Hochaffinitätsrezeptor an der Mastzelle (auch am basophilen Granulozyten) ist ein tetramerisches Protein, welches aus einer α -, einer β - und zwei γ -Ketten besteht. An der α -Kette gibt es eine Bindungsstelle für den Fc

Anteil des IgE Moleküls. Diese Bindung ist hoch spezifisch, das heißt, dass andere Antikörper (IgG, IgM, IgA), auch wenn sie mit einem Allergen reagieren, nicht an diesen Rezeptor binden. Ansonsten läuft das Verfahren ab wie ein üblicher ELISA. Es besteht aus einer Platte, welche mit einem speziellen Allergen beschichtet ist, dazu wird das Serum gegeben, woraufhin allergen-spezifisches IgE und IgG an das Allergen binden. Anschließend werden IgE Rezeptoren hinzugefügt und binden sich nur an IgE. Zuletzt wird ein Substrat zugefügt, welches einen farbigen Komplex bei Bindung an IgE bildet (WASSOM & GRIEVE, 1998).

3.2.10. Biopsienbearbeitung

Wie schon beim Studienprotokoll (s. 3.2.5.) erwähnt wurden nur bei Hunden Biopsien entnommen, bei denen die Besitzer die Zustimmung gaben. Drei Biopsien mit einem Durchmesser von sechs Millimetern wurden entnommen, wobei eine der Biopsien in flüssigem Stickstoff gefroren wurde und für weiterführende Studien aufbewahrt. Die anderen zwei Biopsien wurden in Formalin fixiert und in die Pathologie zur Weiterverarbeitung gebracht.

3.2.11. Histologie

Hautbiopsien von Tag-0 und Tag-90 wurden histologisch untersucht und bestimmte Zellarten ausgezählt und verglichen. Die Fixierung der Hautproben genauso wie die mikroskopische Untersuchung erfolgte in der Medizinischen Kleintierklinik. Die Einbettung der Schnitte und die Färbung der histologischen Präparate erfolgten im Institut für Tierpathologie der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilian-Universität München.

Zuerst wurde routinemäßig eine Hämatoxylin-Eosin Färbung durchgeführt. Dann erfolgten Spezialfärbungen nach Giemsa zur Auszählung der Mastzellen und nach Luna zur Zählung von eosinophilen und neutrophilen Granulozyten. Zuletzt wurde eine immunhistochemische Färbung mit Hilfe von polyklonalen CD3-Antikörpern durchgeführt, um die Lymphozyten zu zählen.

3.2.11.1. Fixierung

Die entnommenen Hautstanzen wurden zur Fixierung für 24 Stunden in einem Gefäß mit 3%igem Formalin aufbewahrt, nachdem sorgsam das anhaftende Blut abgetupft wurde. Anschließend wurden die Gewebestücke zur weiteren

Verarbeitung in das Institut für Tierpathologie gebracht.

3.2.11.2. Paraffineinbettung und Schnittherstellung

Sowohl die Einbettung in Paraffin (SAVLP, Flintsbach am Inn, Deutschland) als auch die Entwässerung der Biopsien erfolgten maschinell mittels eines Einbettungsautomaten (Histomaster 20507DI, Bavimed, Birkenau, Deutschland).

Das automatische Verfahren folgt folgendem Schema:

Spülen mit Aqua dest. :	30 Minuten
Ethanol 70 %:	2 x 1,5 Stunden
Ethanol 96 %:	2 x 1,5 Stunden
Ethanol 100 %:	2 x 1,5 Stunden
Xylol (Intermedium):	2 x 30 Minuten
Xylol:	1,5 Stunden
Paraffin bei 60,0 °C:	2 Stunden
Paraffin bei 60,0 °C:	3 Stunden

Anschließend wurden die Gewebeproben zur Herstellung von Paraffinblöcken an einer Ausgießstation (TBS 88 Paraffin Embedding system, Medite Medizintechnik, Burgdorf, Deutschland) ausgegossen. Nun erfolgte die Herstellung von 4,0-6,0µm dicken Schnitten von den Blöcken mit Hilfe eines Rotationsmikrotomes (HM 315, Microm, Walldorf, Deutschland). Wichtig waren danach das Strecken der gewonnenen Schnitte in 40,0°C warmen Wasserbad (Daglef Platz, Wankendorf, Deutschland) und das Ziehen auf entfettete Objektträger (VWR International, Darmstadt, Deutschland) um Artefakte durch Faltenbildung auszuschließen. Danach trockneten die Schnitte in einem Wärmeschrank (Memmert GmbH & Co.KG, Schwabach, Deutschland) bei 37,0°C für mindestens 24 Stunden.

3.2.11.3. Färbung der Paraffinschnitte

Um die Schnitte anfärben zu können, musste zunächst das Paraffin mit Hilfe von Xylol (Isomerengemisch, SAVLP, Flintsbach am Inn, Deutschland) aus diesen entfernt werden. Dafür wurden die Schnitte für zwanzig Minuten in Xylol abgestellt, anschließend erfolgte eine Rehydrierung der Schnitte durch

wiederholtes Eintauchen in einer absteigenden Ethanolreihe:

Begonnen wurde mit 100%igem Ethanol 2x, gefolgt von 96%igem Ethanol 2x, daraufhin 1x in 70%igem Ethanol und zuletzt in Aqua destilata.

3.2.11.3.1. H.E. Färbung

Die Abkürzung H.E. steht für Hämatoxylin-Eosin. Diese Färbung stellt, wie der Doppelname vermuten lässt, genau genommen zwei Färbungen dar. Hämatoxylin muss zunächst zu Hämalaun aufbereitet werden, um seine färbenden Eigenschaften zu entwickeln. Hämalaun färbt alle basophilen Strukturen blau, somit vor allem Zellkerne wegen der darin enthaltenen DNA. Erst nach Spülen mit Leitungswasser und dem damit verbundenen Ansteigen des pH-Wertes erscheinen die Färbungen im typischen Blauviolett.

Anschließend folgt durch die Färbung in einer alkoholischen Lösung von Eosin die Anfärbung des Zytoplasmas. Nun ist eine Dehydrierung mit Hilfe der Spülung in einer Alkohollösung in aufsteigender Konzentration nötig. Letztlich erfolgt die Klärung in Xylol und wiederum das Eindecken der Schnitte mit Eukitt (Roti®-Histokitt II, Carl Roth® GmbH & Co.KG, Karlsruhe, Deutschland).

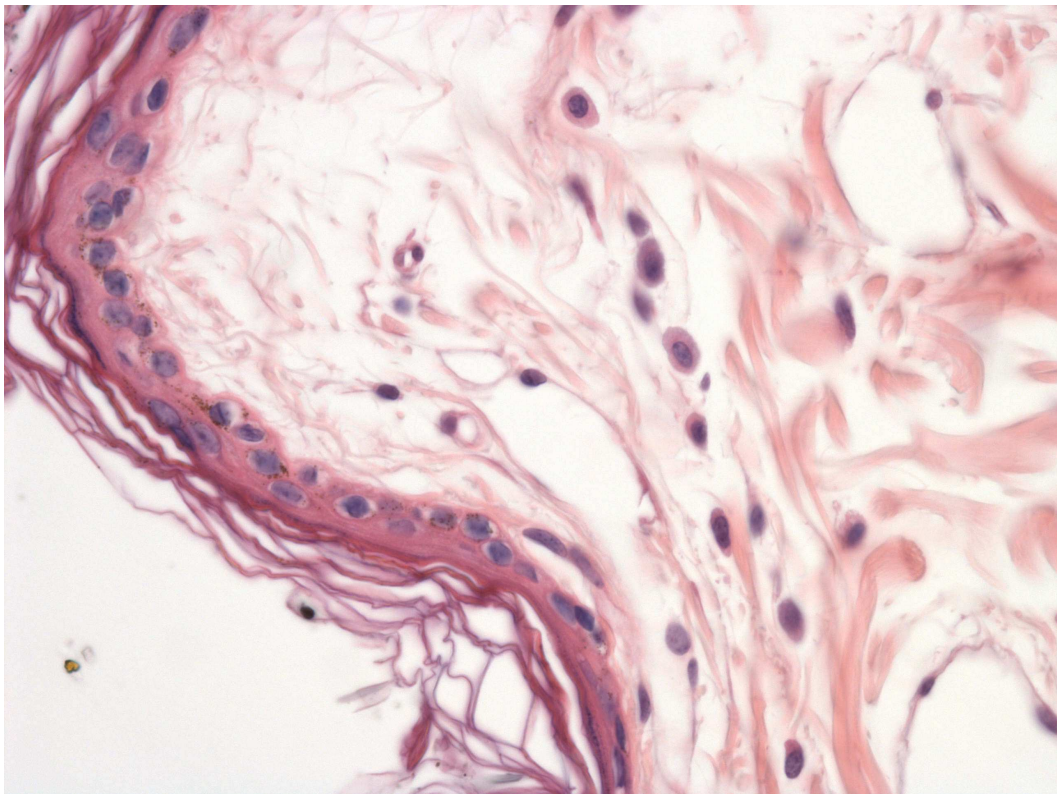


Abb. 2: H.E. Färbung eines histologischen Schnittes

3.2.11.3.2. Giemsa-Färbung

Die Intensivität dieser Färbung hängt von der genauen Zusammensetzung der Giemsa-Lösung ab. Zellkerne erscheinen durch Komplexbildungen der Farbstoffe mit der KernDNA purpurrot, das Zytoplasma wird meist bläulich angefärbt. Die Granula von eosinophilen Granulozyten erscheinen rot, Mastzellen hingegen stellen sich eher rotviolett dar.

Die Färbung erfolgt nach diesem Schema:

Giemsa-Gebrauchslösung bei 65 °C:	1 Stunde
Aqua dest. Spülung:	3 Sekunden
Differenzierung in Essigsäure 0,5 % bis zum Farbumschlag von Blau nach Rot:	1 Sekunde
Ethanol 96 %:	2 Sekunden
2 x Ethanol 100 %:	je 2 Sekunden
Dehydrierung: Aqua dest.:	1 Sekunde
Ethanol 70 %:	1 Sekunde
Ethanol 96 %:	2 x 1 Sekunde
Ethanol 100 %:	2 x 1 Sekunde
Xylol in mehreren Portionen (Isomerengemisch):	insgesamt 1 Minute

Zuletzt wurden die Schnitte mit Eukitt (Roti®-Histokitt II, Carl Roth® GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) eingedeckt.

3.2.11.3.3. Luna-Färbung

Diese Färbung ist besonders geeignet um eosinophile Granulozyten darzustellen. Vor Beginn der eigentlichen Luna-Färbung musste die Hämatoxylin-Biebrich-Scharlach-Gebrauchslösung aus der Weigerts-Eisen-Hämatoxylin-Gebrauchslösung und einer 1%igen Biebrich-Scharlach-Lösung hergestellt werden.

Das Schema der Luna-Färbung war Folgendes:

Hämatoxylin-Biebrich-Scharlach-Gebrauchslösung:	5 Minuten
Differenzierung in 1%iger saurer Alkohollösung bis die Kerne sich gut darstellen:	8 x 1 Sekunde
Abspülen mit Leitungswasser (zum Entfernen des sauren Alkohols):	1 Minute
0,5 % Lithiumkarbonat-Lösung (bis zum Farbumschlag nach Blau):	5 x 1 Sekunde
Abspülen unter fließendem Wasser:	2 Minuten
Dehydrierung: Aqua dest.:	1 Sekunde
Ethanol 70 %	1 Sekunde
Ethanol 96 %	2 x 1 Sekunde
Ethanol 100 %	2 x 1 Sekunde
Xylol in mehreren Portionen (Isomerengemisch):	insgesamt 1 Minute

Zuletzt wurden die Schnitte mit Eukitt (Roti®-Histokitt II, Carl Roth® GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) eingedeckt.

3.2.11.3.4. Immunhistochemische Färbung

Die Immunhistochemie ist eine Methode, bei der Proteine mit spezifischen Antikörpern zusammengebracht und diese mit Hilfe von konjugierten Enzymen farblich sichtbar gemacht werden, indem in einem weiteren Schritt den Enzymen Substrate angeboten werden, welche unter Bildung eines Farbstoffes mit dem Enzym reagieren.

Antigen + Antikörper mit Enzym + Substrat = Farbe

Für Antikörperfärbungen, die vor allem in der Medizin und Biologie zum Einsatz kommen, wird fixiertes Gewebe wie zum Beispiel Mikrotomschnitte verwendet. Bei der indirekten Immunfluoreszenz wird im ersten Schritt ein spezifischer Antikörper (Primärantikörper) auf das zu untersuchende Gewebe aufgetragen und nach Abwaschen der nicht gebundenen Antikörper wird im zweiten Schritt ein weiterer Antikörper aufgetragen, der sich gegen den ersten Antikörper richtet, der so genannte Sekundärantikörper. Dieser ist wiederum mit einem Enzym gekoppelt und löst durch Enzym-Substrat-Reaktionen die Farbentstehung aus. Es entsteht also ein sichtbarer Farbstoff.

Die in dieser Studie zur Anwendung gebrachte immunhistochemische Untersuchung mit Hilfe des polyklonalen CD-3Antikörpers A045201 (DAKO Diagnostika GmbH, Hamburg, Deutschland, Nr. A045201) aus dem Kaninchen dient dem Nachweis von spezifischen Antigenen von T-Zellen in der Haut von atopischen Hunden. Zur Sichtbarmachung und dadurch ermöglichten Zählung wurde der Avidin-Biotin-Komplex (Vectastain: PK-6100, Linaris Biologische Produkte GmbH, Wertheim, Deutschland) entsprechend der Herstellerangaben verwendet.

Die Durchführung erfolgte folgendermaßen: Wie bereits in den oberen Abschnitten beschrieben wurde eine Einbettung in Paraffin und Schnittherstellung durchgeführt mit dem einzigen Unterschied, dass die Schnitte für die Immunhistochemie auf silanisierte Objektträger (StarFrost, VWR International, Darmstadt, Deutschland) aufgezogen wurden. Dann mussten die Schnitte ebenfalls entparaffiniert werden.

Im Anschluss folgte die Rehydrierung durch mehrmaliges kurzes Eintauchen in eine absteigende Ethanolreihe und das Demaskieren der Schnitte (Mikrowelle: 10 mM Citratpuffer pH 6,0 bei 700 Watt für 2 x 10 Minuten). Alternativ zur

Behandlung mit der Mikrowelle wurden die Schnitte zunächst in einer Target-Retrieval-Lösung (pH 9,9, DAKO Diagnostika GmbH, Hamburg, Deutschland, Nr. S3308) im vorgewärmten Wasserbad 20 Minuten bei 95,0-98,0°C behandelt. Danach mussten die Schnitte 20 Minuten bei Raumtemperatur abkühlen und wurden vor der weiteren Bearbeitung kurz in Aqua dest. gespült.

Die immunhistochemische Färbung erfolgte nach diesem Schema:

Blockierung der endogenen Peroxidase durch 1%iges

H₂O₂: 15 Minuten

Spülen in TBS (0,05 M, pH 7,6): 10 Minuten

Blockierung der unspezifischen Bindungsstelle im

Gewebe mit Ziegennormalserum, 1:10 verdünnt mit TBS: 30 Minuten

Inkubation (Raumtemperatur) mit dem Primärantikörper

(Rb a CD3, DAKO Diagnostika GmbH, Hamburg,

Deutschland, Nr. A045201), 1:100 verdünnt mit TBS: 1 Stunde

Spülen in TBS: 10 Minuten

Inkubation (Raumtemperatur) mit dem Sekundärantikörper

(biotinylierte Ziege a Kaninchen-IgG, VECTOR: BA-

1000, Linaris Biologische Produkte GmbH, Wertheim,

Deutschland), 1:200 verdünnt mit TBS: 1 Stunde

Spülen in TBS: 10 Minuten

Inkubation mit dem Avidin-Biotin-Komplex, 1:100

verdünnt mit TBS: 30 Minuten

Spülen in TBS: 10 Minuten

Chromogenreaktion mit Substrat DAB-Lösung (Biotrend

Chemikalien GmbH, Köln, Deutschland, Nr. 4170): 5 Minuten

Spülen in fließendem Leitungswasser: 5 Minuten

Gegenfärben mit Mayers Hämalan (AppliChem GmbH,

Darmstadt, Deutschland, Nr. A0884):	1 Minute
Spülen in fließendem Leitungswasser:	5 Minuten
Entwässern: Aqua dest.:	1 Sekunde
Ethanol 70 %:	1 Sekunde
Ethanol 96 %:	2 x 1 Sekunde
Ethanol 100 %:	2 x 1 Sekunde
Xylol in mehreren Portionen (Isomeregemisch):	insgesamt 1 Minute

Zuletzt wurden die Schnitte mit Eukitt (Roti®-Histokitt II, Carl Roth® GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) eingedeckt

3.2.11.4. Auswertung

Lediglich bei den Hunden, von welchen von Tag-0 und Endbesuch der Studie Biopsien vorlagen, wurden Schnitte der Biopsien angefertigt, lichtmikroskopisch untersucht und mit Hilfe der analySIS FIVE Software (Olympus Imaging Europa GmbH, Hamburg, Deutschland) beurteilt.

3.2.11.4.1. Bestimmung der Zellzahl

Befanden sich auf den Objektträgern mehrere Anteile von Hautbiopsien, wurde ein repräsentativer Anteil ausgewählt und versucht, den entsprechenden Anteil auch in den verschiedenen Färbungen auszuwählen. Die gesamte Länge des ausgewählten Biopsieanteiles wurde mit Hilfe einer an das Mikroskop angeschlossenen Kamera (ColorView III, Olympus Soft Imaging Solutions GmbH, Münster, Deutschland) abfotografiert und im analySIS Programm dokumentiert. Anschließend wurde die Fläche der Dermis und Epidermis des Schnittes mittels analySIS Five in der Einheit μm^2 bestimmt. Dann wurden in den verschiedenen Färbungen die jeweils zu bestimmenden Zellen ausgezählt. Für Mastzellen geschah dies in der Giemsa-Färbung, für eosinophile und neutrophile Granulozyten in der Luna-Färbung und H.E. Färbung und für Lymphozyten in der CD3 Färbung. Um zu verhindern, dass einzelne Zellen mehrfach gezählt werden, wurden bereits erfasste Zellen markiert. Am Ende der Auszählung wurde

mit Hilfe des Programms analySIS FIVE die Summe der Zellen ermittelt. Die Fläche des Schnittes und die bestimmte Zahl an Zellen wurde in eine Microsoft Excel Tabelle übertragen und NA (number of profiles per area), die Zellzahl pro Fläche (cm²) ermittelt (GUNDERSEN et al., 1989).

Zellzahl

NA= ————— (dimensionslos)

Fläche

3.2.12. Gewinnung und Lagerung der infektiösen Helminthenstadien

Die embryonierten Eier von *T. vulpis* wurden der Medizinischen Kleintierklinik vom Institut für Parasitologie, Zentrum für Infektionsmedizin, der Tierärztlichen Hochschule Hannover zur Verfügung gestellt und fertig suspendiert und dosiert in Leitungswasser zugesandt.

3.2.12.1. *Trichuris vulpis*

Zunächst mussten für die Gewinnung von embryonierten Eiern von *T. vulpis* patent infizierte Hunde anthelmintisch mit Pyranthel in therapeutischer Dosierung behandelt werden. Anschließend wurden an fünf darauf folgenden Tagen die Tageskotmengen dieser Tiere gesammelt und auf adulte Würmer durchsucht. Die weiblichen Helminthen wurden isoliert und diejenigen mit gefüllten Uteri aussortiert. Die Uteri wurden herausgelöst und zerkleinert und die dabei entstandene Uterus-Ei-Suspension auf das Vorhandensein entwickelter Eier mit Hilfe eines Mikroskopes untersucht. Fanden sich Uteri mit unreifen Eiern, so wurden diese verworfen. Dann wurden die Uterus-Ei-Suspensionen über ein Drahtnetz (Retsch GmbH & Co.KG, Haan, Deutschland) und einen silikonisierten Trichter (DURAN Group GmbH, Mainz, Deutschland) in einen silikonisierten Standzylinder (DURAN Group GmbH, Mainz, Deutschland) gespült und bei Raumtemperatur für 24 Stunden sedimentiert. Der Überstand wurde abgesaugt und die gewonnene konzentrierte Eisuspension in Petrischalen (DURAN Group GmbH, Mainz, Deutschland) mit einer dünnen Leitungswasserschicht gegeben. Für die Embryonierung brauchten die Eier etwa vier bis fünf Wochen bei konstant 26,0 °C. Zur Optimierung der Entwicklung wurden die Eier einmal wöchentlich mit einer Einmalpipette (Carl Roth® GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) belüftet. Mit Hilfe eines Mikroskops wurde anhand der beweglichen Larven im Ei

der Embryonierungserfolg überprüft. Fiel dieser Test positiv aus, so wurden die Petrischalen mit Leitungswasser und den darin enthaltenen Eiern bei 4,0-8,0 °C im Kühlschrank gelagert. Die Vitalität der Eier wurde einmal wöchentlich überprüft und dabei die Eier belüftet.

3.2.13. Aufbewahrung der Wurmeier in der Klinik

Die Wurmeier waren mit Leitungswasser suspensiert und bereits in kleinen Röhrchen auf eine Zahl von 2500 pro Röhrchen dosiert. Diese Röhrchen wurden in einem Kühlschrank bei 4,0-8,0 °C aufbewahrt. Einmal wöchentlich wurde den Röhrchen mit einer Spritze mit aufgesetzter Kanüle Sauerstoff zugesetzt.

3.2.14. Kotuntersuchung mittels Flotationsverfahren

Alle von den Besitzern mitgebrachten Kotproben wurden mittels eines Flotationsverfahrens auf das Vorhandensein von Endoparasiten, im Speziellen von *Trichuris vulpis* untersucht. Die Flotation wurde mit dem kommerziellen Parasiten-Diagnose-System der Firma Janssen (Janssen Animal Health, Janssen-Cilag GmbH, Neuss, Deutschland) im Labor der Medizinischen Kleintierklinik der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München vom Laborpersonal durchgeführt. Dies ist ein Komplett-Set zur In-vitro-Untersuchung von Kotproben auf Parasiteneier und Oozysten im Flotationsverfahren. Die Funktion beruht auf dem Prinzip, dass Nematoden mit einem niedrigeren spezifischen Gewicht als 1,2 nach oben flotieren, wohingegen die anderen Bestandteile des Kotes, die sich ebenfalls in der Suspension aus Kot und dem Flotationsmedium 29,5%igem Natriumnitrat befinden, nach unten absinken. Der Dichtegradient von *Trichuris vulpis* beträgt 1,1453 (DAVID & LINDQUIST, 1982). Bei der Flotation ist wichtig, dass die Flotationslösung die richtige Dichte besitzt und dass die angesetzte Kotprobe lange genug Zeit bekommt zum Flotieren (DRYDEN et al., 2005). Auf das Flotationsgefäß wird ein Deckgläschen aufgebracht und die nach oben flotierenden angereicherten Parasiteneier haften daran an. Zunächst wurde in einem Gefäß zu einer Sammelkotprobe bis zur Hälfte die Flotationslösung (Flotationsmedium zusammen mit anderen inerten Bestandteilen) aufgefüllt. Nachdem der Inhalt des Gefäßes mit einem Holzstäbchen ordentlich durchmischt wurde, wurde ein Spezial-Diagnose-Filter in den Sammelbehälter eingelegt. Dann wurde weitere Flotationslösung zugegeben, bis sich ein konvexer Meniskus am inneren oberen Filterrand formte. Auf diesen

wurde ein Deckglas aufgesetzt (20,0 x 22,0 mm) (Spicker Laborbedarf GmbH, Schwandorf, Deutschland). Für 15 Minuten wurde nun das Gemisch stehen gelassen, um den Wurmeiern genügend Zeit zum Flotieren und Anheften am Deckglas zu geben. Dieses wurde auf einen Objektträger (Glaswarenfabrik Karl Hecht KG, Sondheim, Deutschland) aufgebracht. Unter Zuhilfenahme eines Mikroskops und bei geringem Licht mit 100-facher Vergrößerung wurde der Objektträger nun auf das Vorhandensein von Parasiten untersucht.

3.2.15. Statistik

Zum Vergleich der Juckreiz- und CADESI-Werte innerhalb einer Patientengruppe am Anfang und am Ende der Studie wurde der Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test angewandt. Die Auswertung erfolgte zweifach, einmal mit einer „Intention to treat“-Analyse (bei der bei Hunden, die auf Grund von Nebenwirkungen durch die Studie oder einer extremen Verschlechterung der Hautproblematik vorzeitig aus der Studie ausgeschlossen wurden, die letzten gemessenen Werte bis zum Ende der Studie fortgeschrieben und statistisch ausgewertet wurden) und einmal mit einer Per Protokoll Analyse, bei der nur Daten von Hunden ausgewertet wurden, welche die Studie tatsächlich abgeschlossen hatten. Die Juckreiz und CADESI Werte beider Gruppen wurden untereinander mittels Kruskal Wallis und Dunn post Test verglichen. Außerdem wurde untersucht ob ein Zusammenhang zwischen IgE Werten und CADESI bzw. Juckreizwerten besteht. Dafür wurde der Spearman Test heran gezogen. Als statistisch signifikant wurde ein P-Wert unter 0,05 angesehen. Mit den Programmen Graphpad Prism 5.0 und Instat 3.06 (Graphpad Software, San Diego, USA) wurden die statistischen Analysen erstellt.

Auf Grund der geringen Probenzahl wurde für die histologische Auswertung der Zellzahlen keine statistische Auswertung durchgeführt.

IV. ERGEBNISSE

4.1. Hunde

An dieser Studie nahmen insgesamt 21 Hunde teil, welche an Hand einer Randomisationstabelle zu Beginn der Studie in zwei verschiedene Gruppen aufgeteilt wurden. In Gruppe A, welche embryonierte Eier von *Trichuris vulpis* erhielten, befanden sich 11 Hunde, in Gruppe B, welche Plazebo erhielt, lediglich 10 Hunde. Insgesamt acht der teilnehmenden Hunde mussten vorzeitig aus der Studie genommen werden, die letzten ihrer Werte wurden jedoch für die „Intention to treat“-Analyse weitergeschrieben und in die statistische Auswertung einbezogen. Der Grund für das vorzeitige Ausscheiden aus der Studie war bei einem Hund blutiger Durchfall, sechs weitere Hunde wurden wegen einer zu starken Verschlechterung der klinischen Symptomatik der Haut aus der Studie genommen. Ein weiterer Hund wurde nicht mehr zur Studie vorgestellt, da er von einem Auto überfahren wurde. Von den Hunden, welche auf Grund der Verschlechterung des klinischen Bildes vorzeitig ausschieden, waren jeweils drei Hunde in Gruppe A und drei Hunde in Gruppe B. Der blutige Durchfall trat bei einem Hund aus Gruppe A auf und auch der verunglückte Hund befand sich in Gruppe A.

4.1.1. Altersverteilung

Das Alter der teilnehmenden Hunde variierte von 10 Monaten bis hin zu 14 Jahren. Der Altersdurchschnitt lag bei 6,5 Jahren (Median 6 Jahre).

4.1.2. Geschlechtsverteilung

Insgesamt nahmen geringfügig mehr Rüden an der Studie teil als Hündinnen. Es waren 12/21 Hunden männlich, was 57,1% entspricht.

4.1.3. Rasseverteilung

Es waren verschiedene Rassen unter den 21 teilnehmenden Hunden vertreten.

Rasse	Anzahl an Hunden
Bichon Frise	1
Bolonka Zwetna	1
Boxer	1
Bulldogge	1
Deutscher Schäferhund	2
Deutscher Wachtelhund	1
Golden Retriever	2
Labrador	2
Mischling	7
Mittelspitz	1
West Highland White Terrier	2

Tabelle 1: Teilnehmende Hunderassen und Zahl der zugehörigen Tiere

4.2. Datenauswertung

Während der Studie wurden regelmäßig das Verteilungsmuster und der Schweregrad der Hautveränderungen von Veterinärdermatologen an Hand des Läsionsscores CADESI untersucht. Der Juckreiz der Hunde wurde ebenso regelmäßig von den jeweiligen Hundebesitzern an Hand einer visuellen Juckreizskala dokumentiert.

4.2.1. CADESI

Der Schweregrad und die Verteilung der Hautläsionen wurden an Tag 0, 30, 60 und 90 mittels eines CADESI Wertes bestimmt. Weder in der behandelten Gruppe

mit embryonierten *Trichuris vulpis* Eiern noch in der Plazebo Gruppe gab es eine signifikante Verbesserung der CADESI Werte. Bei der Plazebo Gruppe kam es zu einer geringfügigen, jedoch nicht signifikanten Verschlechterung. Die Ergebnisse der „Per Protocol“-Analyse und die der „Intention to treat“-Analyse stimmten überein, daher werden im Folgenden nur die Werte der „Intention to treat“-Analyse aufgeführt. Bei der „Intention to treat“-Analyse ergab der Kruskal Wallis & Dunn post test einen p-Wert von 0,4686 beim Vergleich beider Gruppen, es gab also keinen signifikanten Unterschied. Der Wilcoxon matched pairs test ergab einen p-Wert von 0,8203 beim Vergleich der Hunde, die *Trichuris vulpis* Eier erhalten hatten, zu Beginn und am Ende der Studie. Wurde dieser Test für die Plazebo Gruppe durchgeführt ergab sich ein p-Wert von 0,1094. Es kam also weder bei den Hunden, welchen Helminthen verabreicht wurden, noch bei den Plazebohunden zu einer signifikanten Veränderung der CADESI-Werte.

Eine signifikante Korrelation von IgE Konzentration und CADESI Werten mittels des Spearman Rank Correlation Tests wurde bei der Helminthen Gruppe weder zu Anfang der Studie ($r=0,009$, $p=0,979$) noch am Ende der Studie festgestellt ($r=0,132$, $p=0,756$).

	CADESI vorher	CADESI nachher
Mittelwert Gruppe A	39,6	25,6
Mittelwert Gruppe B	12,1	27,9

Tabelle 2: Vergleich der CADESI Werte vor und nach der Studie

Bei insgesamt acht Hunden kam es bis zum Ende der Studie unabhängig von der Gruppenzugehörigkeit zu einer Verbesserung der CADESI Werte. Davon stammten sechs Hunde aus Gruppe A, welche mit Helminthen behandelt wurden, und zwei Hunde aus der Gruppe B. Bei fünf Hunden der Gruppe A betrug die Verbesserung des CADESI Wertes mehr als 50% des Anfangswertes. Zu einer Verschlechterung der CADESI Punktezahl kam es bei drei Hunden der Gruppe A und sechs Hunden der Plazebo-Gruppe. Prozentual gesehen war die Verschlechterung der CADESI Scores bis auf eine Ausnahme bei den Hunden der Plazebo Gruppe stärker als bei den Hunden, welche mit Helminthen therapiert

wurden. Bei jeweils zwei Hunden einer jeden Gruppe kam es zu keinerlei Beeinflussung der CADESI Werte.

Insgesamt betrachtet konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Behandlungsgruppe fest gestellt werden (Abb.3).

CADESI Werte vor und nach Therapie mit *T. vulpis* und Plazebo

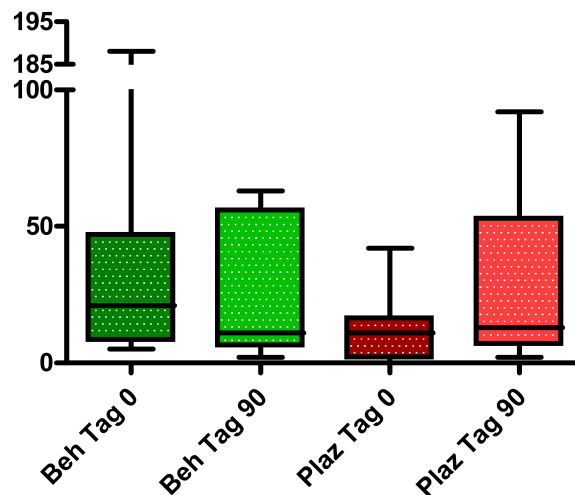


Abb. 3: CADESI Werte vor und nach der Behandlung mit *Trichuris vulpis* und der Eingabe von Plazebo

4.2.2. Juckreiz

Die Besitzer wurden bei Eintritt ihrer Hunde in die Studie gebeten, den aktuellen Juckreiz ihres Tieres an Hand einer Skala mit erklärenden Juckreizschweregraden von 0-10 zu beurteilen, wobei 0 einem Hund entsprach, welcher sich überhaupt nicht kratzt, wohingegen der Wert 10 einem Hund entsprach, der sich Tag und Nacht kratzt und für diese Tätigkeit sogar das Fressen oder Spielen unterbricht. Auch bei der Auswertung des Juckreizes kam es zu keiner signifikanten Verbesserung, hier trat ebenfalls eine geringfügige Verschlechterung in der Plazebo Gruppe ein. Bei der „Intention to treat“-Analyse ergab der Kruskal Wallis Test einen p-Wert von 0,4534 beim Vergleich beider Gruppen. Stellt man den Vergleich der Hunde, welche in Gruppe A waren, zwischen Studienbeginn und Studienende an, dann ergab sich im Wilcoxon Matched Pairs Test ein p von 0,8457. Wurde derselbe Vergleich in der Plazebogruppe durchgeführt ergab sich ein p von 0,0977. In beiden Gruppen erfolgte demnach keine signifikante Veränderung der Juckreizwerte. Auch für den Juckreiz wurde eine mögliche

Korrelation der Ausgangs- und End- IgE Werte mit den Juckreizwerten der Helminthengruppe mittels Spearman Rank Correlation Test untersucht. Auch in diesem Falle wurde keine statistisch signifikante Korrelation nachgewiesen (Anfangswerte: $r=0,079$, $p=0,818$; Endwerte: $r=0,578$, $p=0,133$).

	Juckreiz vorher	Juckreiz nachher
Mittelwert Gruppe A	4,5	4,6
Mittelwert Gruppe B	3,1	4,6

Tabelle 3: Werte der Juckreizskala beider Hundegruppen zu Beginn (vorher) am Ende (nachher) der Studie

Pruritus Werte vor und nach Therapie mit *Trichuris vulpis* oder Plazebo

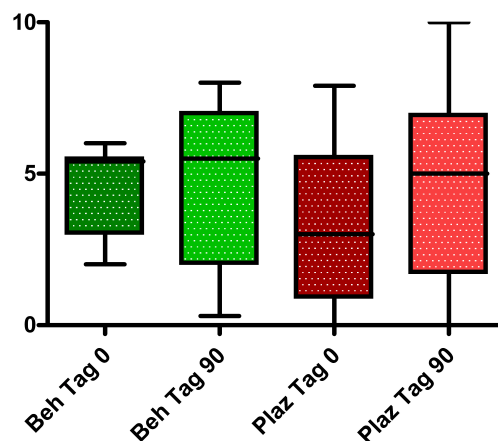


Abb. 4: Juckreiz Werte vor und nach der Behandlung mit *Trichuris vulpis* und der Eingabe von Plazebo

Zu einer Verbesserung des Juckreizes kam es bei sieben Hunden, wobei fünf dieser Hunde in der Helminthengruppe waren und lediglich zwei Hunde in Gruppe B, welche Plazebo als Therapie erhielten. Dies entspricht einer Juckreizverbesserung bei 45% der Hunde aus Gruppe A im Gegensatz zu 20% der Hunde aus Gruppe B. Bei 12 Hunden gaben die Besitzer eine Verschlechterung des Juckreizes an, wovon fünf Hunde in der Gruppe A waren. Bei jeweils einem

Hund jeder Gruppe fand keine Veränderung des Juckreizes laut Besitzer statt.

Auch bei der Beurteilung der Juckreizveränderungen konnten keine signifikanten Veränderungen zwischen Gruppe A und B fest gestellt werden (Abb.4).

4.2.3. Histologische Auswertung

Von lediglich 4 Hunden war es möglich, Biopsien vor Beginn und am Ende der Studie zu entnehmen. Es stammten jeweils 2 Hunde aus Gruppe A und Gruppe B.

4.2.3.1. Eosinophile Granulozyten

Die Bestimmung der Anzahl der eosinophilen Granulozyten erfolgte in der Luna-Färbung. Jedoch in keinem der Schnitte wurden eosinophile Granulozyten im Gewebe außerhalb von Blutgefäßen gefunden.

4.2.3.2. Neutrophile Granulozyten

Die Auszählung der neutrophilen Granulozyten erfolgte in der H.E. Färbung, da sich bereits in der Luna Färbung zeigte, dass keine Unterscheidung zwischen neutrophilen und eosinophilen Granulozyten nötig war.

	Neutrophile vorher Zellzahl/cm²	Neutrophile nachher Zellzahl/cm²
Patient 2 (<i>T. vulpis</i>)	0	0,0188
Patient 3 (Plazebo)	0,0025	0
Patient 6 (Plazebo)	0,0071	0,0055
Patient 11 (<i>T. vulpis</i>)	0,0056	0,0081

Tabelle 4: Neutrophile Granulozytenzahlen pro cm² zu Beginn und am Ende der Studie

4.2.3.3. Mastzellen

Die Auswertung der histologischen Schnitte für die Mastzellen wurde in der Giemsa-Färbung vollzogen.

	Mastzellen vorher Zellzahl/cm²	Mastzellen nachher Zellzahl/cm²
Patient 2 (<i>T. vulpis</i>)	0,0146	0,0115
Patient 3 (Plazebo)	0,0259	0,0359
Patient 6 (Plazebo)	0,0174	0,0238
Patient 11 (<i>T. vulpis</i>)	0,0094	0,0329

Tabelle 5: Mastzellen pro cm² zu Beginn und am Ende der Studie

4.2.3.4. Lymphozyten

Nach der immunhistochemischen CD-3 Färbung wurde die Auswertung der Lymphozyten durchgeführt.

	Lymphozyten vorher Zellzahl/cm²	Lymphozyten nachher Zellzahl/cm²
Patient 2 (<i>T. vulpis</i>)	0,1053	0,0043
Patient 3 (Plazebo)	0,0042	0,0086
Patient 6 (Plazebo)	0,0846	0,0238
Patient 11 (<i>T. vulpis</i>)	0,0070	0,0253

Tabelle 6: Lymphozyten pro cm² zu Beginn und am Ende der Studie

4.2.4. Blutwerte

Von insgesamt 11 Hunden der Studie wurden Blutwerte von Beginn und Ende der Studie zur Auswertung in das Heska Labor nach Freiburg in der Schweiz gesandt.

4.2.4.1. Bestimmung des spezifischen IgE

Die Bestimmung des spezifischen IgE der Blutsera der Hunde erfolgte, wie bereits unter Punkt 3.2.9. beschrieben, im Heska Labor in der Schweiz. Da das Serum der Hunde nicht direkt nach Abnahme verschickt wurde, sondern zunächst bei -20°C in einem KÜhlschrank der Medizinischen Kleintierklinik zwischen gelagert wurde, erfolgte die Bestimmung der IgE Werte erst nach Abschluss der Studie und es konnte vorab eine Entschlüsselung der Randomisierungstabelle erfolgen, wodurch ersichtlich war, welcher Hund lediglich Plazebo erhielt, bzw. *Trichuris vulpis* verabreicht bekam. Zunächst wurden lediglich die Seren der drei Hunde aus der Helminthengruppe mit der größten Verbesserung der CADESI bzw. Juckreizwerte und weitere Seren der drei Hunde aus der Plazebogruppe mit der stärksten Verschlechterung in CADESI oder Juckreizwerten an das Heska Labor gesandt. Dem Laborpersonal war nicht ersichtlich, um welche Behandlungsgruppe es sich bei den einzelnen Sera handelte.

Bei den Proben der Hunde aus der Plazebogruppe ergab sich kein Unterschied in den spezifischen IgE Levels vor und nach der Studie. Die Proben der mit *Trichuris vulpis* therapierten Hunde hingegen wiesen einen signifikanten Anstieg in den spezifischen IgE Konzentrationen vom Beginn zum Ende der Studie hin auf ($P < 0,0001$).

Aus diesem Grund wurden auch die restlichen fünf Sera der Hunde aus Gruppe A zur Bestimmung der spezifischen IgE Levels verschickt. Von den drei restlichen Hunden, welche mit Helminthen therapiert wurden, war es lediglich möglich, zu Beginn der Studie Blut zu entnehmen, da diese entweder auf Grund zu starker Verschlechterung der Symptome frühzeitig aus der Studie genommen werden mussten oder die Untersuchung auf Grund eines tödlichen Autounfalls nicht beendet werden konnte.

Zum Vergleich der spezifischen IgE Werte von Beginn und Ende der Studie wurde jeweils eine Summe der Einzel IgE Werte gebildet und diese miteinander verglichen.

Die Tendenz, dass es zu einem Anstieg der IgE Werte bei den Hunden der Gruppe

A kam, konnte durch vier der zusätzlichen eingesandten Proben bestätigt werden. Bei einem Hund kam es zu einem Absinken des Wertes. Allerdings war der Anstieg der gemessenen Serumwerte aller Hunde nicht signifikant (Abb.5).

IgE Serumkonzentrationen vor und nach Therapie mit *Trichuris vulpis*

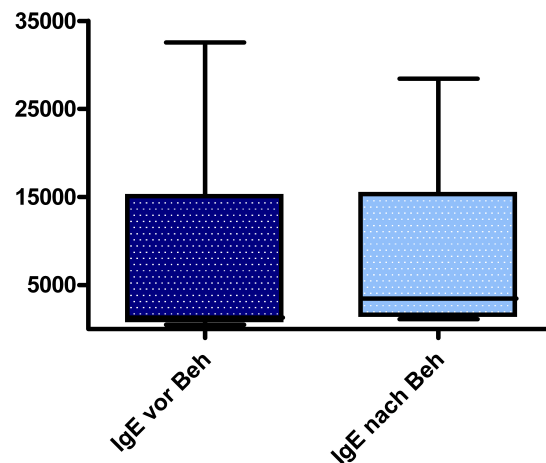


Abb. 5: Summen der allergen-spezifischen IgE Serumkonzentrationen vor und nach der Therapie mit *Trichuris vulpis* gemessen in EA Units (ELISA absorbierende Einheiten)

4.2.5. Kotuntersuchung

In keiner der eingereichten Kotproben am Ende der Studie konnten Eier von *Trichuris vulpis* nachgewiesen werden.

4.2.6. Nebenwirkungen und Ausschluss von Patienten

Es beendeten insgesamt 13 Hunde die Studie in der vorgeschriebenen Zeit von drei Monaten an Tag-90. Auf Grund von Nebenwirkungen oder Verschlechterung des Hautzustandes mussten sieben Hunde frühzeitig aus der Studie ausgeschlossen werden. Für die Auswertung der Studienergebnisse wurde in diesen Fällen eine „Intention to treat“ Analyse angewandt, bei der die letzten bestimmten Werte bis zum eigentlichen Studienende weiter geschrieben wurden. Ein Hund hatte im Laufe der Studie einen tödlichen Autounfall und die Daten wurden ebenfalls für die „Intention to treat“ Analyse weitergeführt.

Lediglich ein Hund wurde auf Grund des verstärkten Juckreizes aus der Studie genommen, da laut Studienprotokoll die symptomatische Therapie nicht verändert werden durfte und somit ein weiteres Verbleiben in der Studie nicht zu vertreten

war. Dieser Hund stammte aus der Plazebo Gruppe. Auf Grund einer mit einer bakteriellen Sekundärinfektion verbundenen Verschlechterung des Hautzustandes mussten fünf Hunde die Studie frühzeitig verlassen, dies war bei drei Hunden aus Gruppe A und zwei Hunden der Gruppe B der Fall. Probleme mit dem Gastrointestinaltrakt traten bei sieben Hunden auf, wobei sechs Hunde der Helminthengruppe entstammten und lediglich ein Hund aus der Plazebo Gruppe war. Der Hund aus Gruppe B entwickelte schleimigen Durchfall. Vier der Hunde aus der Helminthengruppe zeigten lediglich weicheren Kot, welcher mit einer kurzzeitigen Schonkostfütterung in den Griff zu bekommen war. Einer der Hunde aus Gruppe A entwickelte Durchfall und Erbrechen, welches aber ebenfalls symptomatisch therapiert wurde. Bei einem Hund der Helminthengruppe war blutiger Durchfall der Grund, ihn vorzeitig aus der Studie zu nehmen. Da es sich um ein relativ junges Tier einer kleinen Rasse handelte, wurde auf Wunsch der Besitzerin von einem symptomatischen Therapieversuch abgesehen und sofort die Entwurmung durchgeführt.

Es konnte kein Zusammenhang festgestellt werden zwischen dem Auftreten von gastrointestinalen Problemen und der Verschlechterung des Hautzustandes.

V. DISKUSSION

5.1. Zusammenfassung der Studie

In diese Studie wurden 21 Hunde mit atopischer Dermatitis eingeschlossen, um an Hand einer doppelt verblindeten Plazebo-kontrollierten Studie die Ergebnisse der Pilotstudie von Helmer 2008 möglichst objektiv zu überprüfen. In dieser im Vorfeld durchgeführten Pilotstudie schien die Gabe von Helminthen das klinische Bild der atopische Dermatitis bei Hunden zu verbessern. An Hand der Ergebnisse aus der Vorläuferstudie wurde bei dieser Studie der Einsatz von 2500 embryonierten *Trichuris vulpis* Eiern im Vergleich zu einem Plazeboprodukt untersucht.

Die teilnehmenden Hunde wurden in zwei Gruppen nach dem Zufallsprinzip aufgeteilt und ihnen wurde monatlich oral entweder 2500 embryonierte Eier von *Trichuris vulpis* oder ein Plazebo verabreicht und deren Auswirkungen auf das klinische Bild der atopischen Dermatitis, die Ausschüttung von spezifischem IgE im Blut und auf die zelluläre kutane Infiltration überprüft.

Es ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen der Gruppe, welche Helmintheneier erhielt, und der Gruppe, welche mit Plazebo behandelt wurde, weder bei den CADESI Werten, noch im Bezug auf den Juckreiz.

Bei den Blutwerten fiel auf, dass es in der Gruppe der Hunde, welche embryonierte Eier des Helminthen *Trichuris vulpis* erhielten, zu keinem signifikanten Anstieg der Summe der spezifischen IgE Werte kam.

Die histologische Auswertung der Biopsien ergab keinen offensichtlichen Unterschied vor und nach der Behandlung, allerdings war auf Grund der geringen Zahl der Hunde eine statistische Auswertung nicht sinnvoll.

In keiner der untersuchten Kotproben konnten am Ende der Studie *T. vulpis* Eier nachgewiesen werden. Bei mehreren der Hunde in der Wurmgruppe kam es jedoch zu geringgradigen gastrointestinalen Veränderungen, wie Veränderung der Kotkonsistenz bis hin zum Durchfall.

Die Patientenzahl pro Gruppe konnte im Vergleich zur Pilotstudie mehr als verdreifacht werden, was eine größere Aussagekraft der Ergebnisse erbringt.

5.2. Nebenwirkungen

Auf Grund der Ergebnisse und Erfahrungen aus der Pilotstudie erwarteten wir bei der verwendeten Helminthenart in der Dosierung von 2500 embryonierten Eiern keinerlei schwerwiegende Nebenwirkungen. Auch auf Grund der Erfahrungen aus der Hundekolonie der Parasitologie in Hannover wurde lediglich mit leichteren Fällen von Durchfall gerechnet, was sich in der Studie bestätigt hat, da nur im Falle eines Hundes das Auftreten von blutigem Durchfall das frühzeitige Ausscheiden aus der Studie zur Folge hatte, wobei diese Entscheidung vor allem auf Grund des geringen Körpergewichtes und Alters des Hundes getroffen wurde und eine symptomatische Therapie durchaus in Erwägung war.

5.3. Zoonosegefahr

Dadurch, dass sich die infektiösen Stadien von *Trichuris vulpis* relativ langsam entwickeln, ist es unwahrscheinlich, dass während der Studie eine Ausscheidung infektiöser Stadien mit dem Kot erfolgte. Somit war die Gefahr der Ansteckung des Menschen gering und konnte durch das Einhalten gewisser Hygieneregeln weiterhin eingeschränkt werden. Den Besitzern der an der Studie teilnehmenden Hunden wurde geraten, zumindest während der Studiendauer ein Belecken des Gesichtes durch ihren Hund zu vermeiden, den Hundekot im Garten und wenn möglich auch beim Spaziergehen zu entfernen, um die Ansteckung anderer Hunde zu verhindern und auf ein regelmäßiges Händewaschen verschärft zu achten. Außerdem sollte der direkte Kontakt mit dem Kot des Hundes vermieden werden.

5.4. Einfluss von *Trichuris vulpis* auf die klinische Symptomatik von Hunden mit atopischer Dermatitis

Vergleicht man die Ergebnisse der beiden Behandlungsgruppen untereinander, so kam es zu keinem signifikanten Unterschied, was die Beurteilung des Hautzustandes mittels CADESI und die Bewertung des Juckreizes der Hunde angeht. In der Placebogruppe ist eine leichte Verschlechterung dieser Größen im Laufe der Studie merkbar, jedoch nicht in signifikantem Maße.

Es scheint daher nicht zu einer generellen Modulation des Immunsystems durch die Verabreichung von Helminthenantigenen bei den atopischen Hunden gekommen zu sein. Zumindest ist keine positive Beeinflussung der klinischen Symptomatik dieser Erkrankung auf Grund der Wechselwirkung des kaninen

Organismus mit den Parasitenantigenen objektiv feststellbar, wenn die gesamte Gruppe bewertet wird. Diese Hypothese bekräftigt auch die Studie von Araujo, welche ebenfalls zu dem Fazit kommt, dass zwar die Sofortreaktion im Hauttest durch *S. mansoni* beeinflusst wird, es aber zu keiner gleich starken positiven Beeinflussung der klinischen Symptomatik kommt (ARAUJO et al., 2000).

Es konnte auch keinerlei Korrelation zwischen auftretenden Nebenwirkungen und einer Verbesserung oder Verschlechterung von Hautbild oder Juckreiz festgestellt werden.

Nun ist zu überlegen, was der Grund dafür sein kann, dass in der plazebo-kontrollierten Doppelblindstudie nicht die gleichen positiven Ergebnisse erbracht wurden wie in der voraus gegangenen Pilotstudie. Möglicherweise kann der positive Einfluss der Helminthen in der Vorstudie damit begründet werden, dass dort die Durchführung der Studie ihren Anfang im Herbst nahm und im Frühjahr geendet hat. Es handelte sich zwar ebenso wie in der vorgelegten Studie laut den Einschlusskriterien um nicht-saisonale Atopiker, dennoch kann bei vielen Hunden, welche Atopie mit ganzjähriger Symptomatik zeigen, eine gewisse Verbesserung in den Wintermonaten festgestellt werden. Bei Tieren, welche allergisch auf ganzjährige Allergene wie Staubmilben und gleichzeitig auf Gräser und Pollen reagieren, ist diese winterliche Verbesserung erklärlich. Bei dieser plazebo-kontrollierten Doppelblind-Studie wurde darauf geachtet, dass gleichmäßig über das ganze Jahr neue Hunde in die Studie aufgenommen wurden, um diese Möglichkeit der Datenbeeinflussung auszuschließen.

Im Gegensatz zur Pilotstudie wurde in dieser neu-angelegten Studie die Verabreichung der Helminthen bzw. des Plazebo-Produktes monatlich wiederholt. In der Studie von Summers (SUMMERS et al., 2005b), bei der *Trichuris suis* alle zwei Wochen an die Patienten verabreicht wurde, konnte ein Erfolg bei der Therapie von Morbus Crohn erzielt werden. Dabei ist davon auszugehen, dass beim Menschen *T. suis* eine sehr schnelle Darmpassage durchmacht und es zu keiner Anlagerung und damit Anreicherung des Parasiten im Magen-Darmtrakt kommt. Andere Autoren haben ebenfalls die Möglichkeit in Betracht gezogen, mit einer erhöhten Wurmbelastung einen positiven Effekt der Helminthen auf die Atopie zu erzielen (YAZDANBAKHSI et al., 2001; MEDEIROS JR et al., 2003; WÖRDEMANN et al., 2008). In dieser Studie konnte jedoch kein Beweis für die These erbracht werden, dass eine mehrmalige Gabe der Parasiteneier und damit

eine höhere Wurmbelastung mit einer Verbesserung der klinischen Symptomatik der Umweltallergie beim Hund einher geht.

Ein wichtiger Punkt, der bei der Bewertung der Ergebnisse in Betracht gezogen werden muss, ist die Tatsache, dass alle in die Studie eingeschlossenen Hunde zum Zeitpunkt des Eintrittes lediglich an milden klinischen Symptomen litten (nur ein einziger CADESI Wert lag über 120, ab welchem Wert man erst von schwerer Atopie spricht). Eventuell sind die positiven Effekte der Pilotstudie damit zu erklären, dass in der damaligen Studie stärker betroffene Tiere involviert waren, was in der jetzigen Untersuchung auf Grund der Plazebogruppe nicht praktikabel und ethisch schwer zu vertreten war. Bei einem massiveren Entzündungsgeschehen im Körper mag die Wirkung der Helminthen auf das Immunsystem ausgeprägter sein. Wie bereits Olivry in einer Studie beschrieb, sollte der Schweregrad der Läsionen bei den atopischen Patienten bestimmt werden, wodurch die Patienten in Untergruppen wie Remission, milde, moderate und schwere Atopiker eingeteilt werden können (OLIVRY et al., 2008). Dadurch ist besser ersichtlich, für welchen Schweregrad der Erkrankung das zu untersuchende Medikament geeignet sein könnte. Bei Studien zum therapeutischen Einsatz von essentiellen Fettsäuren bei atopischer Dermatitis zeigte sich beispielsweise, dass diese Hunden mit akuter atopischer Dermatitis besser helfen konnten als bei Hunden, welche unter schwereren und chronischen Läsionen litten (ABBA et al., 2005).

Die Tatsache, dass es sich jetzt um eine plazebokontrollierte Studie handelte, die zudem doppelt geblindet war, ist nicht selten mit einem negativeren Ergebnis verbunden. In einem ähnlichen Fall, bei dem die Wirkung von Misoprostol auf kanine atopische Dermatitis überprüft wurde, wurde ebenfalls in einer Pilotstudie ein deutlich besseres Ergebnis erzielt als in der darauf folgenden randomisierten plazebokontrollierten Studie (OLIVRY et al., 1997; OLIVRY et al., 2003). Dies betont, wie wichtig es ist, vielversprechende Behandlungsmethoden in plazebo-kontrollierten Doppelblindstudien zu überprüfen.

5.5. Beeinflussung des zellulären entzündlichen Infiltrates

Die Ergebnisse der histologischen Untersuchung sind auf Grund der sehr geringen Stückzahl wenig aussagekräftig. Genauso wie bei Olivry 1999 beschrieben, fand sich bei allen vier Hunden zu Beginn und am Ende der Studie ein Infiltrat, das

vorwiegend aus Mastzellen und Lymphozyten bestand (OLIVRY et al., 1999). Insgesamt waren die Zellzahlen sehr niedrig, was wiederum damit zusammenhängt, dass lediglich mild bis moderat betroffene Hunde in die Studie aufgenommen wurden. Die Tatsache, dass die klinischen Symptome der in die Studie aufgenommenen Hunde lediglich mild bis moderat waren, spielte sicherlich eine entscheidende Rolle bei der Überlegung, weshalb im Vergleich zur Pilotstudie nur wenige Besitzer einverstanden waren, bei ihren Hunden Biopsien entnehmen zu lassen. Die meisten Besitzer wollten ihren Hunden den zusätzlichen Stress, welcher mit der Biopsientnahme verbunden ist, ersparen und äußerten Bedenken, dass die Hunde sich an den Entnahmestellen belecken könnten, was beispielsweise durch das Aufsetzen eines Halskragens hätte vermieden werden müssen. Wenn der Juckreiz und der Schweregrad der Hautläsionen des Hundes höher ist und die bisher angewandten Therapien keinen durchschlagenden Erfolg erbrachten, wie dies in der Pilotstudie vermehrt der Fall war, ist die Bereitschaft der Patientenbesitzer, sich auf unkonventionelle Therapiewege und damit einhergehende Biopsieentnahmen einzulassen, sicherlich höher, als dies bei lediglich milder oder moderater klinischer Symptomatik der Fall ist.

Ausschlaggebend für die Entscheidung vieler Patientenbesitzer, keine Biopsien entnehmen zu lassen, war sicherlich auch die Tatsache, dass die Möglichkeit bestand, dass der eigene Hund in die Placebogruppe kam. In diesem Fall wären dem Hund die Hautstücke entnommen worden, ohne überhaupt die Option einer Verbesserung der klinischen Symptomatik durch die Helminthentherapie zu haben.

5.6. Beeinflussung des spezifischen IgE

Bei alleiniger Betrachtung der drei Hunde der Therapie-Gruppe A mit der größten klinischen Verbesserung hatten wir den Eindruck, als sei eine signifikante Erhöhung der Summe der Einzel-IgE Werte ausschlaggebend für diese Entwicklung. Diese Beobachtung wäre durchaus nachvollziehbar gewesen, da durch die Anwesenheit des Parasiten die Produktion von IgE gesteigert wird und durch diesen Anstieg der IgE Konzentration möglicherweise eine Sättigung der FcεRI Rezeptoren an Mastzellen und Basophilen erfolgt, wodurch die klinische Symptomatik der atopischen Dermatitis verbessert werden könnte. Des Weiteren wäre auch vorstellbar, dass die Erhöhung der IgE Konzentration einen Marker für andere immunmodulatorische Faktoren wie zum Beispiel IL-10 darstellt, die

ihrerseits zu einer Verbesserung der klinischen Symptome führen könnten (COOPER et al., 2003). Werden jedoch alle verfügbaren spezifischen IgE Werte der Hunde aus der Helminthengruppe überprüft, wird klar, dass keine statistisch signifikante Erhöhung der Werte vorliegt. Dieser Befund entspricht vorherigen Studien beim Menschen. Araujo stellte in seiner Studie ebenfalls keinen Zusammenhang zwischen den gemessenen IgE Werten und einer Verbesserung der Atopie fest (ARAUJO et al., 2000).

5.7. Ergebnisse der Kotuntersuchung

Es konnten keine Entwicklungsstadien von *Trichuris vulpis* in einer der Kotproben festgestellt werden, die gemäß der Herstellerangaben des kommerziellen Parasiten-Diagnose-Systems der Firma Janssen-Cilag im Labor der Medizinischen Kleintierklinik ordnungsgemäß untersucht wurden. Das ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass der Studienzeitraum zu kurz war, auf Grund der langen Präpatenzzeit des Parasiten Geschlechtsprodukte von *Trichuris vulpis* nachweisen zu können. Ein anderer Grund für die negativen Kotuntersuchungen könnte die intermittierende Ausschüttung der Eier dieses Helminths sein, wobei die Untersuchung von Sammelkotproben von drei aufeinander folgenden Tagen dieses Risiko minimieren sollte.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

Plazebo-kontrollierte Doppelblindstudie über den Einfluss von *Trichuris vulpis* auf die kanine atopische Dermatitis

Atopische Dermatitis ist eine weltweit auftretende multifaktorielle Hauterkrankung, deren Prävalenz seit dem zweiten Weltkrieg in Europa stetig zu steigen scheint. In den letzten Jahren geht die sogenannte Hygiene-Hypothese davon aus, dass Kinder mit einem erhöhten Infektionsdruck weniger gefährdet sind, an atopischer Dermatitis zu erkranken. Die festgestellte negative Korrelation zwischen dem Auftreten von Helmintheninfektionen und Atopie unterstützt diese Hypothese. Daher liegt die Überlegung nahe, ob gegebenenfalls die Infektion mit einem Darmparasiten durch Wechselwirkung mit dem Immunsystem einen gewissen Schutz vor einer Umweltallergie bieten kann.

Auch beim Hund, dessen Umweltallergie als Modell für den Menschen dienen kann, geht man davon aus, dass die Prävalenz dieser Erkrankung in den letzten Jahren angestiegen ist. Vor zwei Jahren wurde bereits eine Pilotstudie zu dem Thema der möglichen Immunmodulation der kaninen atopischen Dermatitis durch Helminthen mit vielversprechenden Ergebnissen durchgeführt, allerdings ohne eine mit Plazebo behandelte Vergleichsgruppe.

Die mögliche Beeinflussung der kaninen atopischen Dermatitis durch die Parasiten sollte an Hand des klinischen Bildes, der spezifischen IgE Levels im Blut und des entzündlichen zellulären Infiltrates der Haut mit dieser plazebo-kontrollierten, doppelt verblindeten randomisierten Studie objektiver beurteilt werden.

In die Studie wurden 21 nicht saisonal atopische Hunde aufgenommen, welche an Hand einer Randomisationstabelle auf zwei Gruppen verteilt wurden. Gruppe A erhielt 2500 embryonierte Eier von *Trichuris vulpis* monatlich. Dieser Helminth hatte in der Pilotstudie zu den besten Ergebnissen mit den geringsten Nebenwirkungen bei den Hunden geführt. Die Hunde der Gruppe B erhielten ein Plazeboprodukt. Die orale Eingabe erfolgte an Tag-0, Tag-30 und Tag-60. Am Ende der Studie nach drei Monaten wurden alle teilnehmenden Hunde entwurmt.

Die Hunde wurden bei jedem Besuch für die Studie (Tag-0, Tag-30, Tag-60 und

Tag-90) untersucht und es wurde durch einen Dermatologen der Schweregrad der Hautveränderungen mittels eines CADESI-Wertes festgelegt. Eine Beurteilung des Juckreizes durch den Besitzer erfolgte zeitgleich durch visuell analoge Juckreizskala von 0-10.

Zu Beginn und am Ende der Studie wurde den Hunden Blut entnommen und die allergen-spezifischen IgE Konzentrationen bestimmt

Bei den Hunden, bei welchen die Besitzer ihre Einwilligung gaben, wurden ebenfalls an Tag-0 und Tag-90 unter lokaler Anästhesie drei Hautbiopsien entnommen, welche dann zur Anfertigung histologischer Schnitte und zur Färbung in die Tierpathologie der Ludwig Maximilians Universität München gegeben wurden. Die Bestimmung der Eosinophilen- und Neutrophilenzahlen erfolgte in der Luna-Färbung, die Mastzellzahl wurde in der Giemsa-Färbung bestimmt und die Lymphozyten wurden in der immunhistochemischen CD-3 Färbung ausgezählt.

Es kam zu keinem signifikanten Unterschied, was CADESI- und Juckreizwerte zwischen den beiden Behandlungsgruppen angeht. Auch die allergen-spezifischen IgE-Konzentrationen zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen der Helminthen- und der Plazebo-Gruppe. Da nur vier Besitzer ihr Einverständnis zur Hautbiopsie gaben (zwei in der Behandlungs- und zwei in der Plazebogruppe), wurde auf eine statistische Auswertung verzichtet.

Die Ergebnisse dieser Studie sprechen dafür, dass es zu keiner allgemeinen positiven Beeinflussung der kaninen atopischen Dermatitis durch *Trichuris vulpis* kommt. Es bleibt zu überlegen, ob der Schweregrad der atopischen Dermatitis der zu behandelnden Hunde eine Rolle spielt für die Beeinflussung des Immunsystems durch Helminthen, da die zwei Hunde, die sich am ausgeprägtesten verbesserten, Patienten mit den höchsten CADESI Scores waren.

VII. SUMMARY

Placebo-controlled double-blind-study on the influence of *Trichuris vulpis* in canine atopic dermatitis

Atopy is a multifactorial skin disease occurring worldwide with rising prevalence in Europe. In recent years the so-called “hygiene hypothesis” was developed and assumes that children with an increased risk of infection are at less risk of suffering from atopic dermatitis. A negative correlation between the occurrence of helminth infections and atopic diseases has been reported. Therefore it seems feasible, that an infection with an intestinal parasite may decrease clinical signs of atopy by interaction with the immune system.

Canine atopic dermatitis, which may serve as a model for its human counterparts and its prevalence also seems to have increased. Two years ago a pilot study on possible immunomodulation of canine atopic dermatitis by helminths was conducted with small patient numbers and encouraging results, but, without a placebo group.

In this placebo-controlled, double-blinded study the possible influence of *Trichuris vulpis* on clinical signs of canine atopic dermatitis, histopathologic changes and allergen-specific serum IgE was evaluated.

21 nonseasonal atopic dogs took part in the study and were randomly distributed into two groups. Group A received 2500 embryonated eggs of *T. vulpis* orally once monthly. This had led to the best results with the least side effects in dogs in the pilot study. Dogs in group B were administered a placebo product (NaCl) once monthly. Administration of placebo or helminths occurred on day-0, day-30 and day-60. At the end of the study after three months all participating dogs were dewormed.

The dogs were examined at each visit (day-0, day-30, day-60 and day-90) and the severity of the lesions were evaluated by a dermatologist using the CADESI. At the same time an assessment occurred by the owner with a visual analog scale from 0 to 10.

At the beginning and end of the study blood samples were obtained and later sent

to Heska laboratory in Switzerland to determine the specific IgE values.

In dogs, for which the owners gave their consent, three skin biopsies were taken under local anaesthesia on day-0 and day 90. Eosinophile and neutrophile counts were determined with the Luna stain, mast cell numbers were determined with Giemsa stain and the lymphocytes were counted using an immunohistochemical stain with anti-CD3 antibodies.

There was no significant difference in terms of CADESI and pruritus scores between the two treatment groups. The same was true for the IgE concentrations.

The results of this study suggest that there is no general positive effect on canine atopic dermatitis by *Trichuris vulpis*. However, it may be that the severity of the disease plays a role in the degree of improvement, as the two dogs with the highest CADESI scores were also the two dogs with the most prominent improvement.

VIII. LITERATURVERZEICHNIS

Aalberse RC, van der Gaag R, van Leuwen J. Serologic aspects of IgG4 antibodies. I. Prolonged immunization results in an IgG4- restricted response. *J Immunol* 1983; 130: 722-6.

Abba C, Mussa PP, Vercelli A, Raviri G. Essential fatty acids supplementation in different-stage atopic dogs fed on a controlled diet. *J Anim Physiol Animal Nutr* 2005; 89: 203-7.

Aberg N, Hesselmar B, Aberg B, Eriksson B. Increase of asthma, allergic rhinitis and eczema in Swedish schoolchildren between 1979 and 1991. *Clin Exp Allergy* 1979; 25: 815-9.

Abramovits W. Atopic dermatitis. *J Am Acad Dermatol* 2005; 53: S86-93.

Akdis CA, Blesken T, Akdis M, Alkan SS, Wüthrich B, Heusser CH, Blaser K. Induction and differential regulation of bee venom phospholipase A2-specific human IgE and IgG4 antibodies in vitro requires allergen-specific and nonspecific activation of T and B cells. *J Allergy Clin Immunol* 1997a; 99: 345-53.

Akdis M, Akdis CA, Weigl L, Disch R, Blaser K. Skin homing, CLA1 memory T cells are activated in atopic dermatitis and regulate IgE by IL-13 dominated cytokine pattern. IgG4 counter-regulation by CLA2 memory T cells. *J Immunol* 1997b; 159: 4611-9.

Akdis M, Trautmann A, Klunker S, Blaser K, Akdis CA. Cytokine network and dysregulated apoptosis in atopic dermatitis. *Acta Odontol Scand* 2001; 59: 178-82.

Akdis M, Blaser K, Akdis CA. T regulatory cells in allergy: Novel concepts in the pathogenesis, prevention, and treatment of allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 116: 961-8.

Araujo MI, Lopes AA, Medeiros M. Inverse association between skin response to aeroallergens and *Schistosoma mansoni* infection. *Int Arch Allergy Immunol* 2000; 123: 145-8.

Araujo MI, Hoppe B, Medeiros MJ, Alcantara L, Almeida MC, Schriefer A, et al. Impaired T helper 2 response to aeroallergen in helminth-infected patients with asthma. *J Infect Dis* 2004; 280: 277-83.

Arruda L.K. SAB. Immunologic responses to common antigens in helminthic infections and allergic disease. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2005; 5: 399-402.

Asadullah K, Sterry W, Trefzer U. Cytokines: interleukin and interferon therapy in dermatology. *Clin Exp Dermatol* 2002; 27: 578-84.

Babu S, Blauvelt CP, Kumaraswami V, Nutman TB. Regulatory networks induced by live parasites impair both Th1 and Th2 pathways in patent lymphatic filariasis: implications for parasite persistence. *J Immunol* 2006; 176(5):3248-56

Bach JF. The Effect of Infections on Susceptibility to Autoimmune and Allergic Diseases. *N Engl J Med* 2002; 347: 911-20.

Bager P, Arved J, Ronborg S, Wohlfahrt J, Poulsen LK, Westergaard T, Petersen HW, Kristensen B, Thamsborg S, Roepstorff A, Kapel C, Melbye M. *Trichuris suis* ova therapy for allergic rhinitis: A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 125: 123-30.

Barnes PJ. Anti-inflammatory actions of glucocorticoids : molecular mechanisms. *Clin Sci* 1998; 94: 557-72.

Barnetson RS, Rogers M. Childhood atopic eczema. *BMJ* 2001; 324: 1376-9.

Barrios C, al e. Neonatal and early life immune responses to various forms of

vaccine antigens qualitatively differ from adult responses: predominance of a TH2-biased pattern which persists after adult boosting. *Eur J Immunol* 1996; 26: 1489-96.

Barthlott T, Kassiotis G, Stockinger B. T cell regulation as a side effect of homeostasis and competition. *J Exp Med* 2003; 197: 451-60.

Barutzki D, Schaper R. Endoparasites in Dogs and Cats in Germany 1999 – 2002. *Parasitol Res* 2003; 90 Suppl 3: S148-50.

Bashir ME, Andersen P, Fuss IJ, Shi HN, Nagler-Anderson C. An enteric helminth infection protects against an allergic response to dietary antigen. *J Immunol* 2002; 169: 3284-92.

Bazaraal M, Ovgel H, Hamburger R. The influence of serum IgE levels of selected recipients, including patients with allergy, helminthiasis and tuberculosis, on the apparent P-K titer of a reaginic serum. *Clin Exp Immunol* 1973; 14: 117-25.

Bergman RL, Edenharter G, Bergmann KE, Forster J, Bauer CP, Wahn V, et al. Atopic dermatitis in early infancy predicts allergic airway disease at 5 years. *Clin Exp Allergy* 1998; 28: 965-70.

Bieber T, Novak N. Pathogenesis of Atopic Dermatitis: New Developments. *Current Allergy and Asthma Reports* 2009; 9: 291-4.

Bjorksten B, Naaber P, Sepp E, Mikelsaar M. The intestinal microflora in allergic Estonian and Swedish 2- year-old children. *Clin. Exp. Allergy* 1999; 29: 342-6.

Boguniewicz M, Leung DYM. Atopic Dermatitis. In Middleton Jr. E. (Ed): *Allergy: Principles and Practice* Mosby, St Louis 1988: pp. 1123-34.

Böhme M, Wickman M, Lennart NS, Svartengren M, Wahgren C. Family history and risk of atopic dermatitis in children up to 4 years. *Clin Exp Allergy* 2003; 33:

1226-31.

Boluda L, Fernandez-Caldas E, Berens L. The role of IgG in Type-1 allergy: an unsolved problem. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol* 1997; 7: 205-10.

Bond R, Lloyd DH. A double-blind comparison of olive oil and a combination of evening primrose oil and fish oil in the management of canine atopy *Veterinary Record* 1992; 131 558-60.

Bratton DL, Hamid QA, Boguniewicz M, Doherty DE, Kailey JM, Leung DYM. Granulocyte macrophage colony-stimulating factor contributes to enhanced monocyte survival in chronic atopic dermatitis. *J Clin Invest* 1995; 95: 211-8.

Bremner S, Carey I, DeWilde S, et al. Early-life exposure to antibacterials and the subsequent development of hayfever in childhood in the UK: case control studies using the General Practice Research Database and the Doctors' Independent Network. *Clin Exp Allergy* 2003; 33: 1518-25.

Breuhahn K, Mann A, Muller G, Wilhelmi A, Schirmacher P, Enk A, et al. Epidermal overexpression of granulocytemacrophage colony-stimulating factor induces both keratinocyte proliferation and apoptosis. *Cell Growth Differ* 2000; 11: 111-21.

Bruijnzeel PL, Kuijper PH, Rihs S, Betz S, Warringa RA, Koenderman L. Eosinophil migration in atopic dermatitis. I: Increased migratory responses to N-formyl-methionyl-leucylphenylalanine, neutrophil-activating factor, platelet-activating factor, and platelet factor 4. *J Invest Dermatol* 1993; 100: 137-42.

Burd PR, Thompson WC, Max EE, Mills FC. Activated Mast Cells Produce Interleukin 13. *J Exp Med* 1995; 181: 1373-80.

Carballido J, Carballido-Perrig N, Oberli-Schrämml A, Heusser C, Blaser K. Regulation of IgE and IgG4 responses by allergen-specific T-cell clones to bee

venom phospholipase A2 in vitro. *J Allergy Clin Immunol* 1994; 93: 758-67.

Carballido JM, Carballido-Perrig N, Kägi MK, Meloen RH, Wüthrich B, Heusser CH, Blaser K. T cell epitope specificity in human allergic and non-allergic subjects to bee venom phospholipase A2. *J Immunol* 1993; 150: 3582-91.

Carvalho EM, Bastos LS, Araújo MI. Worms and allergy. *Parasite Immunol* 2006; 28: 525-34. Review.

Catapani WR, Pinto PLS, Amato-Netto V, Mendes E. Prevalence of allergic diseases in patients with schistosomiasis mansoni. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 100: 142.

Chesney C. Measurement of skin hydration in normal dogs and in dogs with atopy or a scaling dermatosis. *Small anim Pract* 1995; 36: 305-9.

Cho SH, Strickland I, Tomkinson A, Fehringer AP, Gelfand EW, Leung DY. Preferential binding of *Staphylococcus aureus* to skin sites of Th2-mediated inflammation in a murine model. *J Invest Dermatol* 2001; 116: 658-63.

Chu DH, Haake AR, Holbrook K, Loomis CA (2003) Structure and development of skin. pp. 58-88

Commitee TISOaaAiCI. Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and atopic eczema: ISAAC. *The Lancet* 1998; 351: 1225-32.

Cooper P. Can intestinal helminth infections (geohelminths) affect the development and expression of asthma and allergic disease? *Clin Exp Immunol* 2002; 128: 398-404.

Cooper P, Chico M, Rodrigues L, Strachan D, Anderson H, Rodriguez E, Gaus D, Griffin G. Risk factors for atopy among school children in a rural area of Latin

America. *Clin Exp Allergy* 2004; 34(6):845-52

Cooper PJ, Chico ME, Rodrigues LC, Ordonez M, Strachan D, Griffin GE, Nutman TB. Reduced risk of atopy among school-age children infected with geohelminth parasites in a rural area of the tropics. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111(5):995-1000

Cooper PJ. The potential impact of early exposures to geohelminth infections on the development of atopy. *Clin ev Allergy Immunol* 2004; 26(1):5-14. Review

Cooper PJ. Intestinal worms and human allergy. *Parasite Immunol* 2005; 26: 455-67. Review.

Croese J, O'Neil J, Masson J, Cooke S, Melrose W, Pritchard D, Speare R. A proof of concept study establishing *Necator americanus* in Crohn's patients and reservoir donor. *Gut* 2006; 55: 136-7.

Cullinan P, Harris JM, Mills P, al e. Early prescriptions of antibiotics and the risk of allergic disease in adults: a cohort study. *Thorax* 2004; 59: 11-5.

Dagoye D, Bekele Z, Woldemichael K, Nida H, Yimam M, Hall A, et al. Wheezing, Allergy, and Parasite Infection in Children in Urban and Rural Ethiopia. *Am J resp Crit Care Med* 2003; 167: 1369-73.

David ED, Lindquist WD. Determination of the Specific Gravity of Certain Helminth Eggs Using Sucrose Density Gradient Centrifugation. *J Parasitol* 1982; 68: 916-9.

De Boer D, Hill P. Serum immunoglobulin E concentrations in West Highland White Terrier puppies do not predict development of atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 1999; 10: 275-81.

De Waal Malefyt R, Abrams J, Bennett B, Figdor CG, De Vries JE. Interleukin 10

(IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes. *J Exp Med* 1991; 174: 1209-20.

DeBoer D, Hillier A. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XVI): laboratory evaluation of dogs with atopic dermatitis with serum-based "allergy" test. *Vet Immunol Immunopathol* 2001a; 81 (3-4): 277-87.

DeBoer D, Hillier A. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XV): fundamental concepts in clinical diagnosis. *Vet Immunol Immunopathol*. 2001b; 81 271-6.

DeBoer D, Marsella R. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XII): the relationship of cutaneous infections to the pathogenesis and clinical course of canine atopic dermatitis. *Vet Immun* 2001; 81: 239-49.

DeBoer D, Schafer J, Salsbury C, Blum J, Beale K, Vitale C, et al. Multiple-center study of reduced-concentration triamcinolone topical solution for the treatment of dogs with known or suspected allergic pruritus. *Am J Vet Res* 2002; 63: 408-13.

DeBoer DJ, Griffin CE. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XXI): antihistamine pharmacotherapy. *Vet Immunol Immunopathol*. 2001; 81 (3-4): 323-9.

Del Prete G, Maggi E, Paola P, Ghretien I, Tiri A, Macchia D, Banchereau J, De Vries JE, Romagnani S. IL-4 is an essential factor for the IgE synthesis induced in vitro by human T cell clones and their supernatants. *J Immunol* 1988; 140: 4193-8.

Del Prete G, De Carli M, Almerigogna F, Giudizi MG, Biagiotti R, Romagnani S. Human IL-10 is Produced by Both Type 1 Helper (Th1) and Type 2 Helper (Th2) T Cell Clones and Inhibits Their Antigen-Specific Proliferation and Cytokine Production. *J Immunol* 1993; 150: 353-60.

De Mora F, Garcia G, Puigdemont A, Arboix M, Ferrer L. Skin mast cell releasability in dogs with atopic dermatitis. *Inflamm Res* 1996; 45: 424-7.

Domae M, Sagara H, M. S, Fukuda T, Kamikawa Y. The antiallergic drug oxatomide promotes human eosinophil apoptosis and suppresses IL-5-induced eosinophil survival. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111: 567-72.

Donnelly S, Dalton J, Loukas A. Proteases in helminth and allergen-induced inflammatory responses. *Chem Immunol Allergy* 2006; 90: 45-64.

Dryden MW, Payne PA, Ridley R, Smith V. Comparison of common fecal flotation techniques for the recovery of parasite eggs and oocysts. *Vet Ther* 2005; 6: 15-28.

Eckert J, Freidhoff KT, Zahner H, Deplazes P. *Lehrbuch der Parasitologie für die Tiermedizin*. 2005: 323-6.

Elliott DE, Li J, Blum A, Metwali A, Qadir K, Urban JF, Jr., et al. Exposure to schistosome eggs protects mice from TNBS-induced colitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003; 284: 385-91.

Elliott DE, Setiawan T, Metwali A, Blum A, Urban JFJ, Weinstock JV. *Heligmosomoides polygyrus* inhibits established colitis in IL-10-deficient mice. *Eur J Immunol* 2004; 34: 2690-8.

Ellis CN, Drake LA, Prendergast MM, Abramovits W, Boguniewicz M, Daniel CR, et al. Cost of atopic dermatitis and eczema in the United States. *J Am Acad Dermatol* 2002; 46: 361-70.

Esche C, de Benedetto A, Beck LA. Keratinocytes in atopic dermatitis: inflammatory signals. *Curr Allergy Asthma Rep* 2004; 4: 276-84.

Falcone FH, Pritchard DI. Parasite role reversal: worms on trial. *Trends Parasitol*

2005; 21: 157-60.

Fallon PG, Ballantyne SJ, Mangan NE, Barlow JL, Dasvarma A, Hewett DR, McIlgorm A, Jolin HE, McKenzie AN. Identification of an interleukin (IL)-25-dependent cell population that provides IL-4, IL-5, and IL-13 at the onset of helminth expulsion. *J Exp Med* 2006; 203(4):1105-16

Fatasch M (1994) Atopic dermatitis and other skin diseases. In: Elsner, P, Beradesca, E, Maibach, HI (eds.), *Bioengineering of the Skin: Water and the Stratum Corneum*. pp. 87-94

Favrot C, Steffan J, Seewald W, Picco F. A prospective study on the clinical features of chronic canine atopic dermatitis and its diagnosis. *Veterinary Dermatology* 2010; 21: 23-31.

Finkelman FD, Shea-Donohue T, Goldhill J, et al. Cytokine regulation of host defense against parasitic gastrointestinal nematodes: lessons from studies with rodent models. *Annu Rev Immunol* 1997; 15: 505-33.

Finkelman FD, Shea-Donohue T, Morris SC, Gildea L, Strait R, Madden KB, et al. Interleukin-4- and interleukin-13-mediated host protection against intestinal nematode parasites. *Immunol Rev* 2004; 201: 139-55.

Fiorentino DF, Zlotnik A, Mosmann TR, Howard M, O'Garra A. IL-10 inhibits cytokine production by activated macrophages. *J Immunol* 1991; 147: 3815-22.

Flores-Villanueva PO, Zheng XX, Strom TB, Stadecker MJ. Recombinant IL-10 and IL-10/Fc treatment down-regulate egg antigen-specific delayed hypersensitivity reactions and egg granuloma formation in schistosomiasis. *J Immunol* 1996; 156: 3315-20.

Galli E, Cicconi R, Rossi P, Casati A, Brunetti E, Mancino G. Atopic dermatitis: molecular mechanisms, clinical aspects and new therapeutical approaches. *Curr*

Mol Med 2003; 3: 127-38.

Galli S, Nakae S, Tsai M. Mast cells in the development of adaptive immune responses. *Nat Immunol* 2005; 6: 135-42.

Giménez JCM. Atopic dermatitis. *Allergol Immunol Clin* 2000; 15: 279-95.

Girolomoni G, Pastore S. The role of keratinocytes in the pathogenesis of atopic dermatitis. *J Am Acad Dermatol* 2001; 45(Suppl): S25-8.

Graham SP, Trees AJ, Collins RA. Down-regulated lymphoproliferation coincides with parasite maturation and with the collapse of both gamma interferon and interleukin-4 responses in a bovine model of onchocerciasis. *Infect Immun* 2001; 69: 4314-19.

Grewe M, Czech W, Morita A, Werfel T, Klammer M, Kapp A, et al. Human Eosinophils Produce Biologically Active IL-12: Implications for Control of T Cell Responses. *J Immunol* 1998a; 161: 415-20.

Grewe M, Bruijnzeel-Koomen CA, Schopf E, Thepen T, Langeveld-Wildschut AG, Ruzicka T, et al. A role for Th1 and Th2 cells in the immunopathogenesis of atopic dermatitis. *Immunology Today* 1998b; 19: 359-61.

Griffin CE, DeBoer DJ. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIV): clinical manifestation. *Vet Immunol Immunopathol.* 2001; 81 255-69.

Griffin CE, Hillier A. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XXIV): allergen-specific Immunotherapy. *Vet Immunol Immunopathol.* 2001; 81 363-2.

Groux H, O'Garra A, Bigler M, Rouleau M, Antonenko S, de Vries JE, et al. ACD4+ T-cell subset inhibits antigen-specific T-cell responses and prevents colitis. *Nature* 1997; 389: 737-42.

Gueument JM. Bronchial asthma, spasmodic coryza and parasitic diseases. *Nouv Presse Med* 1973; 2: 2125.

Gundersen HJG, Jensen EB, Osterby R. Recent stereological developments for pathology. *J Microsc* 1989; 148: 378-93.

Gupta M, Gupta A, Schork N, Ellis C. Depression modulates pruritus preception a study of pruritus in proriasis, atopic dermatitis, and chronic idiopathic urticaria. *Psychosom Med* 1994; 56: 36-40.

Gustafsson D, Sjoberg O, Foucard T. Development of allergies and asthma in infants and young children with atopic dermatitis— a prospective follow-up to 7 years of age. *Allergy* 2000; 55: 240-5.

Hagel I, Lynch NR, Perez M, Di Prisco MC, Lopez R, Rojas E. Modulation of the allergic reactivity of slum children by helminthic infection. *Parasite Immunol* 1993; 15: 311-5.

Halliwell R, Schwartzmann R. Atopic disease in the dog. *Vet. Rec.* 1971; 89: 209-14.

Halliwell RE, DeBoer DJ. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (III): the role of antibodies in canine atopic dermatitis. 2001; 81 (3-4): 159-67.

Hara J, Higuchi K, Okamoto R, Kawashima M, Imokawa G. High-expression of sphingomyelin deacylase is an important determinant of ceramide deficiency leading to barrier disruption in atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 2000; 115: 406-13.

Harnett W. Molecules of Infectious Agents as Immunomodulatory Drugs. *Curr Top Med Chem* 2004;

Harnett W, Harnett MM, Leung BP, Gracie JA, McInnes IB. The Anti-

inflammatory Potential of the Filarial Nematode Secreted Product, ES-62. *Curr Top Med Chem* 2004; 4: 553-9.

Harnett W, Harnett MM. Molecular basis of worm-induced immunomodulation. *Parasite Immunol* 2006; 28: 535-43.

Harris JM, Cullinan P, Williams HC, Mills P, Moffat S, White C, et al. Environmental associations with eczema in early life. *Br J Dermatol* 2001; 144: 795-802.

Hartmann S, Lucius R. Modulation of host immune responses by nematode cystatins. *Int J Parasitol* 2003; 33: 1291-302.

Harvey RG. A blinded, placebo-controlled study of the efficacy of borage seed oil and fish oil in the management of canine atopy. *The Veterinary Record* 1999; 405-7.

Hashimoto SI, Komuro I, Yamada M, Akagawa KS. IL-10 inhibits granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-dependent human monocyte survival at the early stage of the culture and inhibits the generation of macrophages. *J Immunol* 2001; 167: 3619-25.

Helmer M, Epe C, Mueller R. The effect of helminth administration on canine atopic dermatitis - a pilot study. *Vet Dermatol* 2008; 19: 34.

Herbert DR, Holscher C, Mohrs M, Arendse B, Schwegmann A, Radwanska M, et al. e. Alternative Macrophage Activation Is Essential for Survival during Schistosomiasis and Downmodulates T Helper 1 Responses and Immunopathology. *Immunity* 2004; 20: 623-35.

Hesse M, Piccirillo CA, Belkaid Y, Prufer J, Mentink-Kane M, Leusink M, et al. The Pathogenesis of Schistosomiasis Is Controlled by Cooperating IL-10-Producing Innate Effector and Regulatory T Cells. *J Immunol* 2004; 172: 3157-

66.

Hill P, Moriello K, DeBoer D. Concentrations of total serum IgE, IgA and IgG in atopic and parasitized dogs. *Vet Immunol Immunopathol.* 1995; 44: 105-13.

Hill P, Hillier A, Olivry T. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (VI): IgE mediated and late-phase reactions. *Vet Immunol Immunopathol.* 2001; 81 (3-4): 199-204.

Hill P, Lau P, Rybnicek J. Development of an owner-assessed scale to measure the severity of pruritus in dogs. *Vet Dermatol* 2007; 18: 301-8.

Hillier A, Griffin CE. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (X): is there a relationship between canine atopic dermatitis and cutaneous adverse food reactions? *Vet Immunol Immunopathol.* 2001a; 81 (3-4): 227-31.

Hillier A, Griffin CE. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (I): incidence and prevalence *Vet Immun Immunop* 2001b; 81 (3-4): 147-51.

Hites MJ, Kleinbeck ML, Loker JL, Lee KW. Effect of Immunotherapy on the Serum Concentrations of Allergen-Specific IgG Antibodies in Dog Sera. *vet Immunol Immunopathol.* 1989; 22: 39-51.

Ho S, Clipstone N, Timmermann L, Northrop J, Graef I, Fiorentino D, et al. The Mechanism of Action of Cyclosporin A and FK506. *Clin Immunol* 1996; 80: 40-5.

Hotez PJ, Brindley PJ, Bethony JM, King CH, Pearce EJ, Jacobson J. Helminth infections: the great neglected tropical diseases. *J Clin Invest* 2008; 118: 1311-21.

Hsu D-H, Moore KW, Spits H. Differential effects of interleukin- 4 and -10 on interleukin-2 induced interferon-g synthesis and lymphokine activated killer activity. *Int Immunol* 1992; 4: 563-9.

Hurst MH, Lola SG, Lindberg R. Immunomodulation of the hepatic egg granuloma in *Schistosoma japonicum*-infected pigs. *Parasite Immunol* 2006; 28: 681-6.

Ihrke PJ, Norton AL, Ling GV, Stannard AA. Urinary tract infection associated with long-term corticosteroid administration in dogs with chronic skin diseases. *J Am Vet Med Assoc* 1985; 186: 43-6.

Imokawa G. Lipid abnormalities in atopic dermatitis. *J Am Acad Dermatol* 2001; 45(Suppl): S29-32.

Infante-Rivard C. Young maternal age: a risk factor for childhood asthma? *Epidemiology* 1996; 6: 178-80.

Inman AO, Olivry T, Dunston SM, Monteiro-Riviere NA, Gatto H. Electron Microscopic Observations of Stratum Corneum Intercellular Lipids in normal and Atopic Dogs. *Vet Pathol* 2001; 38: 720-3.

Jeannin P, Lecoanet S, Delneste Y, Gauchat JF, Bonnefoy JY. IgE Versus IgG4 Production Can Be Differentially Regulated by IL-10. *J Immunol* 1998; 160: 3555-61.

Jelinek DF. Regulation of b lymphocyte differentiation. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2000; 84: 375-85.

Jones SM. Triggers of atopic dermatitis. *Immunol Allergy Clin North Am* 2002; 22: 55-72.

Jurgens M, Wollenberg A, Hanau D, de la Salle H, Bieber T. Activation of human epidermal Langerhans cells by engagement of the high affinity receptor for IgE, FcεRI. *J Immunol* 1995; 155: 5184-9.

Jutel M, Akdis M, Budak F, Aebischer-Casaulta C, Wrzyszc M, Blaser K, et al.

IL-10 and TGF- I cooperate in the regulatory T cell response to mucosal allergens in normal immunity and specific immunotherapy. *Eur J Immunol* 2003; 33: 1205-14.

Kagey-Sabotka A, Franklin R, Adkinson JN, Valentine M, Bauer H, Lichtenstein L. Allergy to insect sting. II. Phospholipase A: the major allergen in honey bee venom. *J Allergy Clin Immunol* 1976; 57: 29-40.

Kapp A. The role of eosinophils in the pathogenesis of atopic dermatitis—eosinophil granule proteins as markers of disease activity. *Allergy* 1993; 48: 1-5.

Kay J, Gawkrödger D, Mortimer M, Jaron A. The prevalence of childhood atopic eczema in a general population. *J Am Acad Dermatol* 1994; 30: 35-9.

Kayhan B, Telatar H, Karacadag S. Bronchial asthma associated with intestinal parasites. *Am J Gastroenterol* 1978; 69: 605-6.

Keppel K, Campbell K, Zuckermann F, Greeley E, Schaeffer D, Husmann R. Quantitation of canine regulatory T cell populations, serum interleukin-10 and allergen-specific IgE concentrations in healthy control dogs and canine atopic dermatitis patients receiving allergen-specific immunotherapy. *Vet Immunol Immunopathol.* 2008; 123: 337-44.

Kerkhof M, Wijga A, Brunekreef B, Smit H, de Jongste J, Aalberse R, Hoekstra M, Gerritsen J, D. Effects of pets on asthma development up to 8 years of age: the PIAMA study. *Allergy* 2009; 64: 1202-8.

Khan W, Blennerhasset P, Varghese A, Chowdhury S, Omsted P, Deng Y, et al. Intestinal Nematode Infection Ameliorates Experimental Colitis in Mice. *Infect Immun* 2002; 70: 5931-7.

Koning H, Neijens H, Baert M, Oranje A, Savelkoul H. T cells subsets and cytokines in allergic and non-allergic children. II. Analysis and IL-5 and IL-10

mRNA expression and protein production. *Cytokine* 1997; 9: 427-36.

Kreider T, Anthony R, Urban JJ, Gause W. Alternatively activated macrophages in helminth infections. *Immunology* 2007; 19: 448-53.

Kuroha M, Kuze Y, Shimoda M, et al. In vitro characterization of the inhibitory effects of ketokonazole on metabolic activities of cytochrome P-450 in canine hepatic microsomes. *Am J Vet Res* 2002; 63: 900-5.

Küster W, Petersen M, Christophers E, Goos M, Sterry W. A family study of atopic dermatitis. Clinical and genetic characteristics of 188 patients and 2,151 family members. *Arch Dermatol Res* 1990; 282: 98-102.

La Flamme A, Ruddenklau K, Backstrom B. Schistosomiasis decreases central nervous system inflammation and alters the progression of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Infect Immun* 2003; 71: 4996-5004.

Laberge S, O G, Boguniewicz M, Center D, Leung D, Hamid Q. Association of increased CD41 T-cell infiltration with increased IL-16 gene expression in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 102: 645-50.

Langley J, Kariuki H, Hammersley A, Ouma J, Butterworth A, Dunne D. Human IgG subclass responses and subclass restriction to *Schistosoma mansoni* egg antigens. *Immunology* 1994; 83: 651-8.

Larsen F, Hanifin J. Epidemiology of atopic dermatitis. *Immunol Allergy Clin North Am* 2002; 22: 1-24.

Lau S, Illi S, Sommerfeld C, et al. Early exposure to house-dust mite and cat allergens and development of childhood asthma: a cohort study. Multicentre Allergy Study Group. *Lancet* 2000; 356: 1392-7.

Leung D. Atopic dermatitis: the skin as a window into the pathogenesis of chronic

allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 96: 302-18.

Leung D. Pathogenesis of atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104: S99-108.

Leung D. Atopic dermatitis: new insights and opportunities for therapeutic intervention. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105: 860-76.

Leung D, Soter N. Cellular and immunologic mechanisms in atopic dermatitis. *J Am Acad Dermatol* 2001; 44(Suppl): S1-12.

Leung D, Bieber T. Atopic dermatitis. *The Lancet* 2003; 361: 151-60.

Lewis-Jones S. Atopic dermatitis in Childhood. *Hosp Med* 2001; 62: 136-43.

Leyden J, Marples, RR, Kligman, AM. *Staphylococcus aureus* in the lesions of atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 1974; 90: 525-30.

Lian T, Halliwell R. Allergen-specific IgE and IgGd antibodies in atopic and normal dogs. *Vet Immunol Immunopathol.* 1998; 66: 203-23.

Lima C, Perini A, Garcia M, Martins M, Teixeira M, Macedo M. Eosinophilic inflammation and airway hyper-responsiveness are profoundly inhibited by a helminth (*Ascaris suum*) extract in a murine model of asthma. *Clin Exp Allergy* 2002; 32 (11): 1659-66.

Linna O, J K, Lahtela P, Tammela O. Ten-year prognosis for generalized infantile eczema. *Acta Paediatr* 1992; 81: 1013-6.

Lippert U, Kruger-Krasagakes S, Moller A, Kiessling U, Czarnetzki B. Pharmacological modulation of IL-6 and IL-8 secretion by the H1-antagonist decarboethoxyloratadine and dexamethason by human mast and basophilic cell lines. *Exp Dermatology* 1995; 4: 272-6.

Loveless M. Immunological studies of Pollinosis. *J Immunol* 1943; 47: 165-80.

Lu FM, Chou C, Chiang B, Hsieh K. Immunologic changes during immunotherapy in asthmatic children: increased IL-13 and allergen-specific IgG4 antibody levels. *Ann Allergy asthma Immun* 1998; 80: 419-23.

Lucas A. IgG subclass restricted immune responses to allergens. *Semin. Immunopathol* 1990; 12: 385-420.

Luster A, Tager A. T-cell trafficking in asthma: lipid mediators grease the way. *Nat Rev Immunol* 2004; 4: 711-24.

Lynch N, Lopez R, Di Prisco-Fuenmayor M, Hagel I, Medouze L, Viana G, et al. Allergic reactivity and socio-economic level in a tropical environment. *Clin Allergy* 1987; 17: 199-207.

Lynch N, Hagel I, Perez M, Di Prisco M, Lopez R, Alvarez N. Effect of anthelmintic treatment on the allergic reactivity of children in a tropical slum. *J Allergy Clin Immunol* 1993; 92: 404-11.

Lynch N, Palenque M, Hagel I, DiPrisco M. Clinical improvement of asthma after anthelmintic treatment in a tropical situation. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 50-4.

Lynch N, Hagel I, Palenque M, Di Prisco M, Escudero J, Corao L, Sandia J, Ferreira L, Botto C. Relationship between helminthic infection and IgE response in atopic and nonatopic children in a tropical environment. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 101: 217-21.

Macedo M, Faquim-Mauro E, Ferreira A, Abrahamsohn I. Immunomodulation induced by *Ascaris suum* extract in mice: effect of anti-interleukin-4 and anti-interleukin-10 antibodies. *Scand J Immunol* 1998; 47: 10-8.

Madison K, Howard E. Ceramides are transported through the Golgi apparatus in human keratinocytes in vitro. *J Invest Dermatol* 1996; 106: 1030-5.

Madison K, Sando G, Howard E, True C, Gilbert D, Swartzendruber D, et al. Lamellar granule biogenesis: a role for ceramide glucosyltransferase, lysosomal enzyme transport, and the Golgi. *J Invest Dermatol Symp Proc* 1998; 3: 80-6.

Maizels R. Infections and allergy - helminths, hygiene and host immune regulation. *Curr Opin Immunol* 2005; 17: 656-61.

Mangan N, Fallon R, Smith P, van Rooijen N, McKenzie A, Fallon P. Helminth Infection Protects Mice from Anaphylaxis via IL-10-Producing B Cells. *J Immunol* 2004; 173: 6346-56.

Mansfield L. Enhancement of disease and pathology by synergy of *Trichuris suis* and *Campylobacter jejuni* in the colon of immunologically naive swine. *Am J Trop Med Hyg* 2003; 68: 70-80.

Marone G, Triggiani M, Genovese A, Paulis A. Role of human mast cells and basophils in bronchial asthma. *Adv Immunol* 2005; 88: 97-160.

Marsella R, Nicklin C, Munson J, Roberts S. Pharmacokinetics of pentoxifylline in dogs after oral and intravenous administration. *Am J Vet Res* 2000; 61: 631-7.

Marsella R, Olivry T. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XXII): nonsteroidal anti-inflammatory pharmacotherapy. *Vet Immunol Immunopathol.* 2001; 81 331-45.

Marsella R, Sousa C. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIII): threshold phenomenon and summation of effects. *Vet Immunol Immunopathol.* 2001; 81 251-4.

Marsella R, Olivry T. Animal models of atopic dermatitis. *Clin Dermatologie*

2003; 21: 122-33.

Marsella R. Calcineurin inhibitors: a novel approach to canine atopic dermatitis. *J Am Anim Hosp Assoc* 2005; 41: 92-7.

Marsella R, Olivry T, Nicklin C, Lopez J. Pilot investigation of a model for canine atopic dermatitis: environmental house dust mite challenge of high-IgE-producing beagles, mite hypersensitive dogs with atopic dermatitis and normal dogs. *Vet Dermatol* 2006; 17: 24-35.

Masuda Y, Kishimoto T, Ito H, Tsuji M. Visceral larva migrans caused by *Trichuris vulpis* presenting as a pulmonary mass. *Thorax* 1987; 42: 990-1.

Matthys H, Seeger W (2008) *Klinische Pneumologie*

McDermott R, Ziylan U, Spohner D, Bausinger H, Lipsker D, Mommaas M, et al. Birbeck granules are subdomains of endosomal recycling compartment in human epidermal Langerhans cells, which form where Langerin accumulates. *Mol Biol Cell* 2002; 13: 317-35.

McEwan N. Adherence by *Staphylococcus intermedius* to canine keratinocytes in atopic dermatitis. *Res Vet Sci* 2000; 68: 279-83.

McGreal E, Miller J, Gordon S. Ligand recognition by antigen-presenting cell C-type lectin receptors. *Curr Opin Immunol* 2005; 17: 18-24.

Medeiros Jr M, Figueiredo J, Almeida M, Matos M, Araujo M, Cruz A, et al. *Schistosoma mansoni* infection is associated with a reduced course of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111: 947-51.

Metz M, Grimaldeston M, Nakae S, Piliponsky A, Tsai M, Galli S. Mast cells in the promotion and limitation of chronic inflammation. *Immunol Rev* 2007; 217: 304-28.

Mihm M, Soter N, Dvorak H, Austen K. The structure of normal skin and the morphology of atopic eczema. *J Invest Dermatol* 1989; 67: 305-12.

Miller C, Tang W, Ziboh V, Fletcher M. Dietary supplementation with ethyl ester concentrates of fish oil (n-3) and borage oil (n-6) polyunsaturated fatty acids induces epidermal generation of local putative antiinflammatory metabolites. *Journal of Investigative Dermatology* 1991; 96: 98-103.

Minvielle M, Pezzani B, Basualdo, Farjat J. Frequency of finding helminths eggs in canine stool sampels collected in public places in the La Plata city, Argentina. *Bol Chil Parasitol* 1993; 48: 63-5.

Moncayo A, Cooper P. Geohelminth infections: impact on allergic diseases. *Int J Biohemie Cell Biol* 2006; 38: 1031-5.

Mortimer K, Brown A, Feary J, Jagger C, Lewis S, Antoniak M, Pritchard D, Britton J. Dose-ranging study for trials of therapeutic infections with necator americanus in humans. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2006; 75: 914-20.

Mudde G, van Reijssen F, Boland G, De Gast G, Bruijnzeel P, Bruijnzeel C. Allergen presentation by Langerhans' cells from patients with atopic dermatitis is mediated by IgE. *Immunology* 1990; 69: 335-41.

Mueller R, Bettenay S, Shipstone M. Value of the pinnal-pedal reflex in the diagnosis of canine scabies. *Vet Record* 2001; 148 621-3.

Mueller R, Fieseler K, Fettman M, Zabel S, Rosychuk R, Ogilvie G, et al. Effect of omega-3 fatty acids on canine atopic dermatitis. *J Small Anim Prac* 2004; 45: 293-7.

Mueller R, Fieseler K, Rosychuk R, Greenwalt T. Intradermal testing with the storage mite *Tyrophagus putrescentiae* in normal dogs and dogs with atopic dermatitis in Colorado. *Vet Dermatol* 2005; 16 27-31.

Müller U, Dudler T, Schneider T, Cramer R, Fischer H, Skrbic D, Maibach R, Blaser K, Suter M. Type 1 skin reactivity to native and recombinant phospholipase A2 from honey bee venom is similar. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 96: 395-402.

Nagler-Anderson. Helminth-induced immunoregulation of an allergic response to food. *Chem Immunol Allergy* 2006; 90: 1-13.

Nassar B, Huang Y, Horrobin D. Response of tissue phospholipid fatty acid composition to dietary (n-6) and replacement with marine (n-3) and saturated fatty acids in the rat. *Nutritional Research* 1986a; 6: 1397-409.

Nassar B, Huang Y, Manku M, Das U, Morse N, Horrobin D. The influence of dietary manipulation with n-3 and n-6 fatty acids on liver and plasma phospholipid fatty acids in rats. *Lipids* 1986b; 21: 652-6.

Naus C, Kimani G, Ouma J, Fulford A, Webster M, van Dam G, et al. Development of Antibody Isotype Responses to *Schistosoma mansoni* in an Immunologically Naive Immigrant Population: Influence of Infection Duration, Infection Intensity, and Host Age. *Infect Immun* 1999; 67: 3444-51.

Nauta A, Engels F, Knippels L, Garssen J, Nijkamp F, Redegeld F. Mechanisms of allergy and asthma. *Eur J Pharmacol* 2008; 585: 354-60.

Nomura I, Goleva E, Howell M, Hamid Q, Ong P, Hall C, et al. Cytokine Milieu of Atopic Dermatitis, as Compared to Psoriasis, Skin Prevents Induction of Innate Immune Response genes1. *J Immunol* 2003; 171: 3262-9.

Novak N, Bieber T, Leung D. Immune mechanisms leading to atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 112: S128-39.

Novak N, Valenta R, Bohle B, Bausinger H, Lipsker D, Mommaas M, et al. FcεpsilonRI engagement of Langerhans cell-like dendritic cells and inflammatory

dendritic epidermal cell-like dendritic cells induces chemotactic signals and different T-cell phenotypes in vitro. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113: 949-57.

Nuttall T, Knight P, McAleese S, Lamb J, Hill P. Expression of Th1, Th2 and immunosuppressive cytokine gene transcripts in canine atopic dermatitis *Clinical and Experimental Allergy* 2002; 2: 789-95.

Oh J, Seroogy C, Meyer E, Akbari O, Berry G, Fathman C, et al. CD4 T-helper cells engineered to produce IL-10 prevent allergen-induced airway hyperreactivity and inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 110: 460-8.

Olesen A, Ellingsen A, Larsen F, Larson P, Veien N, Thestrup-Pedersen K. Atopic dermatitis may be linked to whether the child is first- or second-born and/or the age of the mother. *Acta Derm Venereol* 1996; 76: 457-60.

Olivry T, Naydan D, Moore P. Characterization of the cutaneous inflammatory infiltrate in canine atopic dermatitis. *Am J Dermatopathol* 1997; 19: 477-86.

Olivry T, Dean G, Tompkins M, Dow J, Moore P. Toward a canine model of atopic dermatitis: amplification of cytokine-gene transcripts in the skin of atopic dogs. *Exp Dermatology* 1999; 8: 204-11.

Olivry T, Sousa C. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XX): glucocorticoid pharmacotherapy. *Vet Immunol Immunopathol.* 2001a; 81 317-22.

Olivry T, Hill P. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (IX): the controversy surrounding the route of allergen challenge in canine atopic dermatitis. *Vet Immunol Immunopathol* 2001; 81 219-25.

Olivry T, Marsella R, Hillier A. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XXIII): are essential fatty acids effective? *Vet Immunol Immunopathol.* 2001; 81: 347-62.

Olivry T, Sousa C. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIX): general principles of therapy. *Vet Immunol Immunopathol.* 2001b; 81 311-6.

Olivry T, Mueller R, Dermatitis. TITFoCA. Evidence-based veterinary dermatology: a systematic review of the pharmacotherapy of canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2003; 14: 121-46. Review.

Olivry T, Marsella R, Iwasaki T, Mueller R, Dermatitis. ITFOCA. Validation of CADESI-03, a severity scale for clinical trials enrolling dogs with atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2007; 18: 78-86.

Olivry T, Mueller R, Nuttall T, Favrot C, Prelaud P. Determination of CADESI-03 thresholds for increasing severity levels of canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2008; 19: 115-9.

Ong P, Ohtake T, Brandt C, Strickland I, Boguniewicz M, Ganz T, et al. Endogenous antimicrobial peptides and skin infections in atopic dermatitis. *N Engl J Med* 2002; 347: 1151-60.

Owen W, Rothenberg M, Silberstein D, et al. Regulation of human eosinophil viability, density and function by granulocyte/macrophage colony stimulating factor in the presence of 3T3 fibroblasts. *J Exp Med* 1987; 166: 129-41.

Palmer L, Celedon J, Weiss S, Wang B, Fang Z, Xu X. *Ascaris lumbricoides* infection is associated with increased risk of childhood asthma and atopy in rural China. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165: 1489-93.

Paradis M, Lemay S, Scott D. The efficacy of clemastine (Tavist), a fatty acid containing product (Derm-Caps), and the combination of both products in the management of canine pruritus. *Vet Dermatol* 1991; 2: 17-20.

Paterson. Use of antihistamines to control pruritus in atopic dogs. *J Small Anim Prac* 1994; 35: 415-9.

Patterson R. Investigations of spontaneous hypersensitivity of the dog. *J Allergy* 1960; 31: 351-63.

Pedersen S, Saeed I. Acquired immunity to *Trichuris suis* infection in pigs. *Parasitology* 2001; 123: 95-101.

Pritchard D, Brown A. Is *Necator americanus* approaching a mutualistic symbiotic relationship with humans? *Trends Parasitol.* 2001; 17: 169-72.

Pucheu-Haston CM JH, Olivry T, Dunston SM, Hammerberg B. Epicutaneous sensitization with *Dermatophagoides farinae* induces generalized allergic dermatitis and elevated mite-specific immunoglobulin E levels in a canine model of atopic dermatitis. *Clin Exp Allergy* 2008; 38 (4)

Rajka G. Itch duration of the uninvolved skin of atopic dermatitis (prurigo Besnier). *Acta Derm Venereol* 1968; 48: 320-1.

Ramsey C, Celedon J. The hygiene hypothesis and asthma. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2005; 11: 14-20.

Reese G, Ayuso R, Lehrer S. Tropomyosin: an invertebrate pan-allergen. *Int Arch Allergy Immunol* 1999; 119: 247-58.

Reich K, Hugo, Middel, Blaschke V, Heine, Gutgesell C, et al. Evidence for a role of Langerhans cell-derived IL-16 in atopic dermatitis. *Clin Immunol* 2002; 109: S62-S.

Riedler J, Braun-Fahrlander C, Eder W, al e. Exposure to farming in early life and development of asthma and allergy: a cross-sectional survey. *Lancet* 2001; 358: 1129-33.

Robert C, Kupper T. Inflammatory skin diseases, T cells, and immune surveillance. *N Engl J Med* 1999; 341: 1817-28.

Rosenbaum M, Esch R, Schwartzmann R. Effects of mold proteases on the biological activity of allergen pollen extracts. *American Journal of Veterinary Research* 1996; 57: 1447-52.

Rosewicz S, McDonald A, Maddux B, Godne I, Miesfeld R, Logsdon C. Mechanism of glucocorticoid receptor downregulation by glucocorticoids. *J Biol Chem* 1988; 263: 2581-4.

Rosser Jr E. Diagnosis of food allergy in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1993; 203: 259-62.

Royer B, Varadaradjalou S, Saas P, Guillosion J, Kantelip J, Arock M. Inhibition of IgE-induced activation of human mast cells by IL-10. *Clin Exp Allergy* 2001; 31: 694-704.

Rudikoff D, Lebowitz M. Atopic dermatitis. *Lancet* 1998; 351: 1715-21.

Rybnicek J, Lau-Gillard P, Harvey R, Hill P. Further validation of a pruritus severity scale for use in dogs. *Journal compilation ESVD and ACVD* 2008;

Ryffel B. The carcinogenicity of ciclosporin. *Toxicology* 1992; 73: 1-22.

Saevik B, Bergvall K, Holm B, Saijonmaa-Koulumies L, Hedhammar A, Larsen S, et al. A randomized, controlled study to evaluate the steroid sparing effect of essential fatty acid supplementation in the treatment of canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2004; 15: 137-45.

Sagar M, Padol I, Khan W, Bonin R, Blennerhassett P, Hunt R. Establishment of T-Helper-2 immune response based gerbil model of enteric infection. *Scand J Gastroenterol* 2004; 39: 668.

Sakano T, Hamamoto K, Kobayashi Y, Sakata Y, Tsuji M, T U. Visceral larva migrans caused by *Trichuris vulpis*. *Arch Dis Child* 1980; 55: 631-6.

Sales V, Rodrigues C, Trombone A, et al. Infection with *Ascaris lumbricoides* in pre-school children: role in wheezing and IgE responses to inhalant allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 109: S27.

Schmid-Grendelmeier S, Simon D, Simon H, Akdis C, Wuthrich B. Epidemiology, clinical features, and immunology of the "intrinsic" (non-IgE-mediated) type of atopic dermatitis (constitutional dermatitis). *Allergy* 2001; 56: 841-9.

Schnabl B, Bettenay SV, Dow K, Mueller RS. Results of allergen-specific immunotherapy in 117 dogs with atopic dermatitis. *Vet Rec* 2006; 158: 81.

Schreiber S, Crabtree G. The mechanism of action of cyclosporin A and FK506. *Immunol Today* 1992; 13: 136-42.

Schuller E, Teichmann B, Haberstok J, Moderer M, Nieber T, Wollenberg A. In situ expression of the costimulatory molecules CD80 and CD86 on Langerhans cells and inflammatory dendritic epidermal cells (IDEC) in atopic dermatitis. *Arch Dermatol Res* 2001; 293: 448-54.

Schultz-Larsen F, Holm K, Henningsen K. Atopic dermatitis: a genetic-epidemiologic study in a population-based twin sample. *J Am Acad Dermatol* 1986; 15: 487-94.

Schultz L. Atopic dermatitis: a genetic epidemiologic study in a population-based twin sample. *J Am Acad Dermatol* 1993; 28: 719-23.

Scott D, Buerger R. Nonsteroidal antiinflammatory agents in the management of canine pruritus. *J Am Anim Hosp Assoc* 1988; 24: 425-8.

Scott D, Paradis M. A survey of canine and feline skin disorders seen in a university practice: Small Animal Clinic, University of Montréal, Saint-Hyacinthe, Québec (1987-1988). *Can Vet J.* 1990; 31: 830-5.

Scott D, Miller WJ. Nonsteroidal anti-inflammatory agents in the management of canine allergic pruritus. *J S Afr Vet Assoc.* 1993; 64: 52-6.

Scott D, Miller Jr W, Griffin C (2000) *Muller and Kirk's Small Animal Dermatology*, 6th Edition

Scrivener S, Yemaneberhan H, Zebenigus M, D T, Girma S, Ali S, et al. Independent effects of intestinal parasite infection and domestic allergen exposure on risk of wheeze in Ethiopia: a nested casecontrol study. *The Lancet* 2001; 358: 1493-9.

Sears M. Growing up with asthma. *BMJ* 1994; 309: 72-3.

Sears M. Epidemiology of childhood asthma. *The Lancet* 1997a; 350: 1015-20.

Sears M. Descriptive epidemiology of asthma. *The Lancet* 1997b; 350: S1-S4.

Shin J, et al. Does whipworm increase the pathogenicity of *Campylobacter jejuni*? A clinical correlate of an experimental observation. *Can. J. Gastroenterol.* 2004; 18: 175-7.

Silveira M, Nunes K, Cara D, et al. Infection with *Strongyloides venezuelensis* induces transient airway eosinophilic inflammation, an increase in immunoglobulin E, and hyperresponsiveness in rats. *J Infect Immun* 2002; 70: 6263-72.

Simons F. Prospective, long-term safety evaluation of the H1-receptor antagonist cetirizine in very young children with atopic dermatitis, ETAC Study Group: early treatment of the atopic child. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104: 433-40.

Simou C, Thoday K, Forsythe P, Hill P. Adherence of *Staphylococcus intermedius* to corneocytes of healthy and atopic dogs: effect of pyoderma, pruritus score, treatment and gender. *Vet Dermatol* 2005; 16: 385-91.

Smith P, Walsh C, Mangan N, Fallon R, Sayers J, McKenzie A, Fallon P. *Schistosoma mansoni* worms induce anergy of T cells via selective up-regulation of programmed death ligand 1 on macrophages. *J Immunol* 2004; 173: 1240-8.

Smith P, Mangan N, Walsh C, Fallon R, McKenzie A, van Rooijen N, Fallon P. Infection with a helminth parasite prevents experimental colitis via a macrophage-mediated mechanism. *J Immunol* 2007; 178: 4557-66.

Somani. A study of allergen-specific IgE antibodies in Indian patients of atopic dermatitis. *Indian J dermatol Venereol Leprol.* 2008; 74: 100-4.

Sousa C, Halliwell R. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XI): the relationship between arthropod hypersensitivity and atopic dermatitis in the dog. *Vet Immunol Immunopathol.* 2001; 81 233-7.

Sousa C, Marsella R. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (II): genetic factors. *Vet Immunol Immunopathol.* 2001; 81: 153-7.

Spergel J, Paller A. Atopic dermatitis and the atopic march. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 112: S118-27.

Steffan J, Favrot C, Mueller RS. Evidence-based veterinary dermatology: a systematic review of the pharmacotherapy of canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2006; 17: 3-16. Review.

Stick S, Burton P, Gurrin L, Sly P, LeSouef P. Effects of maternal smoking during pregnancy and a family history of asthma on respiratory function in newborn infants. *Lancet* 1996; 348: 1060-64.

Stone K. Atopic disease of childhood. *Curr Opin Pediatr* 2002; 14: 634-46.

Strachan D. Hay fever, hygiene, and household size. *Br Med J* 1989; 299: 1259-60.

Summers R, Elliott D, Qadir K, Urban JJ, Thompson R, Weinstock J. *Trichuris suis* Seems to Be Safe and Possibly effective in the Treatment of Inflammatory Bowel Disease. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 2034-41.

Summers R, Elliott D, Urban JJ, Thompson R, Weinstock J. *Trichuris suis* Therapy for Active Ulcerative Colitis: A Randomized Controlled Trial. *Gastroenterology* 2005a; 128: 825-32.

Summers R, Elliott D, Urban F, Thompson R, Weinstock J. *Trichuris suis* therapy in Crohn's disease. *Gut* 2005b; 54

Summers R, Elliott D, Weinstock J. Therapeutic colonization with *Trichuris suis*. *Arch Pathol Lab Med* 2006; 130: 1753.

Taylor P, Martinez-Pomares L, Stacey M, Lin H, Brown G, Gordon S. Makrophage Receptors and Immune Recognition. *Annu Rev Immunol* 2005; 23: 901-44.

Thelen A, Mueller R, Linek M, Peters S, Stechmann K, Steffan J. Influence of food intake on the clinical response to cyclosporin A in canine atopic dermatitis. *Vet Rec* 2006; 159: 854-6.

Thom N, Neiger R, Linek M. Diagnostische Spezifität des Fcε-Rezeptor-Allergie-Screening-Tests. *Tierärztliche Praxis* 2009: 239-43.

Thomas P, Harn DJ. Immune biasing by helminth glycans. *Cell Microbiol.* 2004; 6: 13-22.

Trautmann A, Akdis M, Blaser K, Akdis C. Role of dysregulated apoptosis in atopic dermatitis. *Apoptosis* 2000; 5: 425-9.

Trottein F, Pavelka N, Vizzardelli C, Angeli V, Zouain C, Pelizzola M, Capozzoli M, Urbano M, Capron M, Belardelli F, Granucci F, Ricciardi-Castagnoli P. A

Type I IFN-Dependent Pathway Induced by *Schistosoma mansoni* Eggs in Mouse Myeloid Dendritic Cells Generates an Inflammatory Signature. *J Immunol* 2004; 172: 3011-7.

Trujillo-Vargas CM, Werner-Klein M, Wohlleben G, Polte T, Hansen G, Ehlers S, Erb K. Helminth-derived products inhibit the development of allergic responses in mice. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 175: 336-44.

Umeche N. Helminth ova in soil from children's playgrounds in Calabar, Nigeria. *Cent Afr J Med* 1989; 35: 432-4.

Umetsu D, DeKruyff R. T.1 and T.2 CD4 + cells in human allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 100: 1-6.

van den Biggelaar A, van Ree R, Rodrigues L, Lell B, Deelder A, Kremsner P, et al. Decreased atopy in children infected with *Schistosoma haematobium*: a role for parasite-induced interleukin-10. *Lancet* 2000; 356: 1723-7.

van den Biggelaar A, Lopuhaa C, van Ree R, van der Zee J, Jans J, Hoek A, et al. The Prevalence of Parasite Infestation and House Dust Mite Sensitization in Gabonese Schoolchildren. *Int Arch Allergy Immunol* 2001; 126: 231-8.

van den Biggelaar A, Rodrigues L, van Ree R, van der Zee J, Hoeksma-Kruize Y, Souverijn J, et al. Long-term treatment of intestinal helminths increases mite skin-test reactivity in Gabonese schoolchildren. *J Infect Dis* 2004; 189: 892-900.

van der Kleij D, Latz E, Brouwers J, Kruize Y, Schmitz M, Kurt-Jones E, et al. A novel host-parasite lipid cross-talk. Schistosomal lyso-phosphatidylserine activates toll-like receptor 2 and affects immune polarization. *J Biol Chem* 2002; 277: 48122-9.

van Die I, Cummings R. Glycans modulate immune responses in helminth infections and allergy. *Chem Immunol Allergy* 2006; 90: 91-112. Review.

van Reijssen F, Bruijnzeel-Koomen C, Kalthoff F, Maggi E, Romagnani S, Westland J, et al. Skin-derived aeroallergen-specific T-cell clones of Th2 phenotype in patients with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1992; 90: 184-93.

Vliagoftis H, Befus A. Mast Cells At Mucosal Frontiers. *Curr Mol Med* 2005; 5: 573-89.

von Mutius E. The rising trends in asthma and allergic disease. *Clin Exp Allergy* 1998; 28 (Suppl 5): 45-9, discussion 50-1.

von Mutius E. The environmental predictors of allergic disease. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105: 9-19.

Wahn U, Lau S, Bergmann R, Kulig M, Forster J, Bergmann K, et al. Indoor allergen exposure is a risk factor for sensitization during the first three years of life. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99: 763-69.

Walker C, Virchow JJ, Bruijnzeel P, Blaser K. T cell subsets and their soluble products regulate eosinophilia in allergic and nonallergic asthma. *J Immunol* 1991; 146: 1829-35.

Wallace J, Adcock I, Barnes P. Retinoic acid potentiates the inhibitory effects of dexamethasone on AP-1 DNA binding in epithelial cells. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153: A209.

Wang H, Steeds J, Motomura Y, Deng Y, Verma-Gandhu M, El-Sharkawy R, McLaughlin J, Grecis R, Khan W. CD4+ T cell-mediated immunological control of enterochromaffin cell hyperplasia and 5-hydroxytryptamine production in enteric infection. *Gut* 2007; 56: 949-57.

Wassom DL, Grieve RB. In vitro measurement of canine and feline IgE: a review of FcεR1agr-based assays for detection of allergen-reactive IgE *Veterinary*

Dermatology 1998; 9: 173-8(6).

Welle M, Olivry T, Grimm S, Suter M. Mast cell density and subtypes in the skin of dogs with atopic dermatitis. *J Comp Pathol* 1999; 120: 187-97.

Werner Y. The water content of the stratum corneum in patients with atopic dermatitis. Measurement with the Corneometer CM 420. *Acta Derm Venereol* 1986; 66: 281-4.

Willemse T. Atopic skin disease: a review and reconsideration of diagnostic criteria. *J Small Anim Prac* 1986; 27: 771-8.

Willemse T. Atopic dermatitis in the dog: new diagnostic criteria. *Tijdschr. Diergeneesk* 1988; 113: 74-9.

Williams C, Galli S. The diverse potential effector and immunoregulatory roles of mast cells in allergic disease. *J All Clin Imm* 2000; 105: 847-59.

Williams H, Robertson C, Stewart A, Ait-Khaled N, Anabwani G, Anderson R, et al. Worldwide variations in the prevalence of symptoms of atopic eczema in the International Study of Asthma and Allergies in Childhood. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103: 125-38.

Wills-Karp M, Santeliz J, Karp C. The germless theory of allergic disease: revisiting the hygiene hypothesis. *Nat Rev Immunol* 2001; 1: 69-75.

Wittich F. Spontaneous allergy (atopy) in the lower animal - seasonal hay fever (fall type) in a dog. *J Allergy* 1941; 12: 247-51.

Wollenberg A, Kraft S, Hanau D, T B. Immunomorphological and ultrastructural characterization of Langerhans cells and a novel, inflammatory dendritic epidermal cell (IDEC) population in lesional skin of atopic eczema. *J Invest Dermatol* 1996; 106: 446-53.

Wollenberg A, Sharma S, von Bubnoff D, et al. Topical tacrolimus (FK 506) leads to profound phenotypic and functional alterations of epidermal antigen-presenting dendritic cells in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 107: 519-25.

Wollenberg A, Mommaas M, Opiel T, Schottdorf E, Gunther S, Moderer M. Expression and function of the mannose receptor CD206 on epidermal dendritic cells in inflammatory skin diseases. *J Invest Dermatol* 2002; 118: 327-34.

Woolcock A, Peat J, Trevillion L. Is the increase in asthma linked to increase in allergen load? *Allergy* 1995; 50: 935-40.

Wördemann M, Diaz R, Heredia L, Madurga A, Espinosa A, Prado R, et al. Association of atopy, asthma, allergic rhinoconjunctivitis, atopic dermatitis and intestinal helminth infections in Cuban children. *Trop Med int Health* 2008; 13: 180-6.

Wright L, Cammisuli S, Baboulene L, Fozzard J, Adcock I, Barnes P. Cyclosporin A and glucocorticoids interact synergistically in T lymphocytes: implications for asthma therapy. *Am J Resp Crit Care Med* 1995; 151: A675.

Yazdanbakhsh M, van den Biggelaar A, Maizels R. Th2 responses without atopy: immunoregulation in chronic helminth infections and reduced allergic disease. *Trends Immunol* 2001; 22: 372-7. Review.

Yazdanbakhsh M, Kremsner P, van Ree R. Allergy, Parasites, and the Hygiene Hypothesis. *Science* 2002; 296: 490-95.

Yazdanbakhsh M, Wahyuni S. The role of helminth infections in protection from atopic disorders. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2005; 5: 386-91.

Zaccone P, Fehervari Z, Phillips J, Dunne D, Cooke A. Parasitic worms and inflammatory diseases. *Parasite Immunol* 2006; 28: 515-23.

Ziboh V, Chapkin R. Metabolism and function of skin lipids. *Progress in Lipid Research* 1988; 27: 81-105.

Zur G, White S, Ihrke P, Kass P, Toebe N. Canine atopic dermatitis: a retrospective study of 169 cases examined at the University of California, Davis, 1992-1998. Part II. Response to hyposensitization. *Vet Dermatol* 2002; 13: 103-11.

IX. ANHANG

9.1. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Embryoniertes Ei von <i>Trichuris vulpis</i>	58
Abbildung 2: H.E. Färbung eines histologischen Schnittes	70
Abbildung 3: CADESI Werte vor und nach der Behandlung mit <i>Trichuris vulpis</i> und der Eingabe von Plazebo	82
Abbildung 4: Juckreiz Werte vor und nach der Behandlung mit <i>Trichuris vulpis</i> und der Eingabe von Plazebo	83
Abbildung 5: Summen der allergen-spezifischen IgE Serumkonzentrationen vor und nach der Therapie mit <i>Trichuris vulpis</i>	87

9.2. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Teilnehmende Hunderassen und Zahl der zugehörigen Tiere	80
Tabelle 2: Vergleich der CADESI Werte vor und nach der Studie	81
Tabelle 3: Werte der Juckreizskala beider Hundegruppen zu Beginn (vorher) und am Ende der Studie (nachher)	83
Tabelle 4: Neutrophile Granulozytenzahlen pro cm ² zu Beginn und am Ende der Studie	84
Tabelle 5: Mastzellen pro cm ² zu Beginn und am Ende der Studie	85
Tabelle 6: Lymphozyten pro cm ² zu Beginn und am Ende der Studie	85

9.3. Besitzereinverständniserklärung**Besitzer Einverständniserklärung**

Ich stimme der Teilnahme meines Tieres an der Studie „**Immunmodulation der caninen atopischen Dermatitis**“ zu, in der die Beeinflussung des Immunsystems durch Würmer untersucht wird. Ich verstehe, dass mein Tier an einem klinischen Versuch teilnimmt. Entsprechend dem Studienprotokoll werden meinem Hund entweder Wurmeier von *Trichuris vulpis* oder ein Plazebo-Produkt verabreicht werden. Zusätzlich gebe ich mein Einverständnis, dass bei meinem Hund am ersten und letzten Besuch (nach 3 Monaten) jeweils 3 Hautbiopsien (6mm-Stanzen) unter lokaler Betäubung und 10ml Blut entnommen werden.

Ich wurde über potentielle Risiken (v.a. gastrointestinale Symptome) und Nutzen der Studie (Verbesserung der therapeutischen Behandlungsmöglichkeiten bei Allergien) aufgeklärt. Weiterhin werde ich im Rahmen der mir zur Verfügung stehenden Möglichkeiten die Vorgaben der Studie erfüllen. Ich werde mein Tier monatlich zu Kontrolluntersuchungen vorstellen und Kotproben zu den Kontrollbesuchen mitbringen. Die Kosten der sich wiederholenden Untersuchungen und Behandlungen (z.B. abschließende Entwurmung) innerhalb der Studie, werden von der Abteilung für Dermatologie der Medizinischen Kleintierklinik München übernommen. Für über das Studienprotokoll hinaus gehende Untersuchungen und Behandlungen werden keine Kosten übernommen. Ebenso wenig werden Kosten für während der Studie weitergeführte Therapien (Antihistaminika, Fettsäuren, Shampoos, Desensibilisierung etc.) übernommen.

 Unterschrift

 Datum

 Zeuge

 Datum

9.4. Studienprotokoll

Die Immunmodulation der caninen atopischen Dermatitis durch Helminthen
Plazebo kontrollierte Doppel-Blind-Studie

- vertraulich -

Individuelles Patienten – Protokoll

Fall Nr. _____

Die Immunmodulation der caninen atopischen Dermatitis durch Helminthen
Plazebo kontrollierte Doppel-Blind-Studie

- vertraulich -

Individuelles Patienten – Protokoll

Fall Nr.: **Tag 0 (Aufnahme in die Studie):**

Name des Besitzers:

Name des Hundes:

Patientennummer (MTK):

Rasse:

Alter:

Geschlecht:

Gewicht:

Die Immunmodulation der caninen atopischen Dermatitis durch Helminthen
Plazebo kontrollierte Doppel-Blind-Studie

- vertraulich -

Individuelles Patienten – Protokoll: Tag 0 (Besuch 1)

Fall Nr.: Tag 0 (Aufnahme in die Studie):

Name des Besitzers:

Name des Hundes: Patientenummer (MTK):

Rasse: Alter: Geschlecht:

Gewicht:

Erfüllung der Einschlusskriterien:

- Vorliegen einer Atopie diagnostiziert nach den Kriterien nach Willemse und nach Ausschluss von klinisch infrage kommenden Differentialdiagnosen
- Hunde > 6 Monate
- sekundäre bakterielle und Malassezien-Infektionen: behandelt und beseitigt (vor Aufnahme in die Studie)
- keine parasitären Erkrankungen
- kein Vorliegen von immunsupprimierenden systemischen Krankheiten (z.B. Hyperadrenokortizismus, Hypothyreose, Diabetes mellitus)
- seit 6 Wochen keine Glukokortikoide (jegliche Präparate)
- derzeit keine Antibiotika
- negative Kotuntersuchung (Sammelprobe) direkt vor Aufnahme in die Studie
- unterschriebene Einverständniserklärung des Besitzers

Zusätzliche Therapien während der Studie:

Fettsäuren können weitergeführt werden, wenn sie schon **mehr als 3 Monate (12 Wochen)** vor Beginn der Studie begonnen wurden.

Antihistaminika können weitergeführt werden, wenn sie schon **mehr als 4 Wochen** (idealerweise > 3 Monate) vor Beginn der Studie begonnen wurden (selbe(s) Präparat(e)!).

Monatliche **Flohkontrolle mit Frontline®** (für Hunde mit Flohspeichelallergie), darf weitergeführt werden, wenn sie schon **mehr als 4 Wochen** (idealerweise > 3 Monate) vor Beginn der Studie begonnen wurde; wird eine Flohprophylaxe mit Stronghold® durchgeführt, dann muss mindestens 1 Monat vor Beginn der Studie auf Frontline gewechselt worden sein!

Diät darf weitergeführt werden, wenn sie schon **mehr als 3 Monate (12 Wochen)** vor Beginn der Studie begonnen wurde.

Shampootherapie kann weitergeführt werden, wenn sie schon **mehr als 2 Wochen** vor Beginn der Studie begonnen wurde (selbe(s) Präparat(e)!).

Allergen-spezifische Immuntherapie (Desensibilisierung) kann weitergeführt werden, wenn Sie schon **12 Monate vorher** begonnen wurde.

Während der Studie darf an zusätzlichen Therapien (Fettsäuren, AH, Flohkontrolle, Diät, Shampootherapie, Desensibilisierung, etc.) nichts verändert werden!

=> somit darf _____ folgende Therapien fortsetzen (KEINE Veränderungen innerhalb der Studie):

- Fettsäuren: Präparat: Dosierung:
- Antihistaminikum: Präparat: Dosierung:
- Frontline® (monatlich)
- Diät mit:
- Shampootherapie: Präparat: Häufigkeit:
- Allergen-spezifische Immuntherapie (seit:)

Die Immunmodulation der caninen atopischen Dermatitis durch Helminthen
Plazebo kontrollierte Doppel-Blind-Studie

- vertraulich -

Juckreizskala

10	Extrem heftiges Kratzen/fast ununterbrochen Egal was passiert, das Kratzen wird nicht unterbrochen, auch im Behandlungszimmer (der Hund muss z.B. durch Halskragen am Kratzen gehindert werden)
9	
8	Heftiges Kratzen/langanhaltende Episoden Kratzen bei Nacht (wenn beobachtet) und beim Fressen, Spielen, Spazieren gehen oder bei Ablenkung
7	
6	Moderates Kratzen/episodenweise Kratzt bei Nacht (wenn beobachtet), aber nicht beim Fressen, Spielen, Spazieren gehen oder bei Ablenkung
5	
4	Mildes Kratzen/etwas vermehrt Kratzt nicht nachts, beim Fressen, Spielen, Spazieren gehen oder bei Ablenkung
3	
2	Sehr mildes Kratzen/nur gelegentliche Episoden Der Hund kratzt sich nur etwas mehr als zu der Zeit bevor die Hautproblematik begonnen hat
1	
0	Normaler Hund- ich glaube nicht, dass das Kratzen ein Problem darstellt

**Hautbiopsien fakultativ
(6mm, 3x)**

Entnahmestelle(n):

Blutproben

10ml Serum

Medikamenteneingabe orale Medikation eingegeben

Examiner:

SITE \ CLINICAL SIGNS		Erythema	Lichenification	Excoriations	Alopecia	TOTAL
Face	Presauricular					
	Periorcular					
	Perilabial					
	Muzzle					
Head	Chin					
	Dorsal					
Ear Pinna	Left	Convex				
		Concave				
	Right	Convex				
		Concave				
Neck	Dorsal					
	Ventral					
	Lateral	Left				
		Right				
Axilla	Left					
	Right					
Sternum						
Thorax	Dorsal					
	Lateral	Left				
		Right				
Inguinal	Left					
	Right					
Abdomen						
Lumbar	Dorsal					
	Left					
Flank	Right					
Front Limb	Left	Medial				
		Lateral				
		Antebrachial Flexure				
		Carpal Flexure				
	Right	Medial				
		Lateral				
		Antebrachial Flexure				
		Carpal Flexure				
Front Foot	Left	Metacarpal Flexure				
		Dorsal Metacarpal				
		Palmar				
		Dorsal Interdigital				
	Right	Metacarpal Flexure				
		Dorsal Metacarpal				
		Palmar				
		Dorsal Interdigital				
Hind Limb	Left	Medial				
		Lateral				
		Stifle Flexure				
		Tarsal Flexure				
	Right	Medial				
		Lateral				
		Stifle Flexure				
		Tarsal Flexure				
Hind Foot	Left	Metatarsal Flexure				
		Dorsal Metatarsal				
		Plantar				
		Dorsal Interdigital				
	Right	Metatarsal Flexure				
		Dorsal Metatarsal				
		Plantar				
		Dorsal Interdigital				
Perianal						
Perigenital						
Tail	Ventral					
	Dorsal					
grade each sign at each location as follows: 0 (none), 1 (mild), 2, 3 (moderate), 4, 5 (severe)						TOTAL Score (1240 maximum)

Die Immunmodulation der caninen atopischen Dermatitis durch Helminthen
Plazebo kontrollierte Doppel-Blind-Studie

- vertraulich -

Individuelles Patienten – Protokoll: Tag 30
(Besuch 2)

Fall Nr.: Tag 30 (2. Besuch nach 1 Monat):

Name des Besitzers:

Name des Hundes: Patientenummer (MTK):

Gewicht:

Auftreten von unerwünschten Wirkungen durch die Verabreichung der

Wurmeier:

ja nein Details:

Ausschluss aus der Studie: ja nein

**Kotprobe (Sammelprobe) zum 2. Besuch mitgebracht und Kotunter-
suchung eingeleitet**

Medikamenteneingabe

orale Medikation eingegeben

Juckreizskala

10	Extrem heftiges Kratzen/fast ununterbrochen Egal was passiert, das Kratzen wird nicht unterbrochen, auch im Behandlungszimmer (der Hund muss z.B. durch Halskragen am Kratzen gehindert werden)
9	
8	Heftiges Kratzen/langanhaltende Episoden Kratzen bei Nacht (wenn beobachtet) und beim Fressen, Spielen, Spazieren gehen oder bei Ablenkung
7	
6	Moderates Kratzen/episodenweise Kratzt bei Nacht (wenn beobachtet), aber nicht beim Fressen, Spielen, Spazieren gehen oder bei Ablenkung
5	
4	Mildes Kratzen/etwas vermehrt Kratzt nicht nachts, beim Fressen, Spielen, Spazieren gehen oder bei Ablenkung
3	
2	Sehr mildes Kratzen/nur gelegentliche Episoden Der Hund kratzt sich nur etwas mehr als zu der Zeit bevor die Hautproblematik begonnen hat
1	
0	Normaler Hund- ich glaube nicht, dass das Kratzen ein Problem darstellt

Examiner:

SITE \ CLINICAL SIGNS		Erythema	Lichenification	Excoriations	Alopecia	TOTAL
Face	Presauricular					
	Periocular					
	Perilabial					
	Muzzle					
Head	Chin					
	Dorsal					
Ear Pinna	Left	Convex				
		Concave				
	Right	Convex				
		Concave				
Neck	Dorsal					
	Ventral					
	Lateral	Left				
		Right				
Axilla	Left					
	Right					
Sternum						
Thorax	Dorsal					
	Lateral	Left				
		Right				
Inguinal	Left					
	Right					
Abdomen						
Lumbar	Dorsal					
	Left					
Flank	Left					
	Right					
Front Limb	Left	Medial				
		Lateral				
		Antebrachial Flexure				
		Carpal Flexure				
	Right	Medial				
		Lateral				
		Antebrachial Flexure				
		Carpal Flexure				
Front Foot	Left	Metacarpal Flexure				
		Dorsal Metacarpal				
		Palmar				
		Dorsal Interdigital				
	Right	Metacarpal Flexure				
		Dorsal Metacarpal				
		Palmar				
		Dorsal Interdigital				
Hind Limb	Left	Medial				
		Lateral				
		Stifle Flexure				
		Tarsal Flexure				
	Right	Medial				
		Lateral				
		Stifle Flexure				
		Tarsal Flexure				
Hind Foot	Left	Metatarsal Flexure				
		Dorsal Metatarsal				
		Plantar				
		Dorsal Interdigital				
	Right	Metatarsal Flexure				
		Dorsal Metatarsal				
		Plantar				
		Dorsal Interdigital				
Perianal						
Perigenital						
Tail	Ventral					
	Dorsal					
grade each sign at each location as follows: 0 (none), 1 (mild), 2, 3 (moderate), 4, 5 (severe)						TOTAL Score (1240 maximum)

Die Immunmodulation der caninen atopischen Dermatitis durch Helminthen
Plazebo kontrollierte Doppel-Blind-Studie

- vertraulich -

Individuelles Patienten – Protokoll: Tag 60
(Besuch 3)

Fall Nr.: Tag 60 (3. Besuch nach 2 Monaten):

Name des Besitzers:

Name des Hundes: Patientenummer (MTK):

Gewicht:

Auftreten von unerwünschten Wirkungen durch die Verabreichung der

Wurmeier:

ja nein Details:

Ausschluss aus der Studie: ja nein

**Kotprobe (Sammelprobe) zum 3. Besuch mitgebracht und Kotunter-
suchung eingeleitet**

Medikamenteneingabe

orale Medikation eingegeben

Juckreizskala

10	Extrem heftiges Kratzen/fast ununterbrochen Egal was passiert, das Kratzen wird nicht unterbrochen, auch im Behandlungszimmer (der Hund muss z.B. durch Halskragen am Kratzen gehindert werden)
9	
8	Heftiges Kratzen/langanhaltende Episoden Kratzen bei Nacht (wenn beobachtet) und beim Fressen, Spielen, Spazieren gehen oder bei Ablenkung
7	
6	Moderates Kratzen/episodenweise Kratzt bei Nacht (wenn beobachtet), aber nicht beim Fressen, Spielen, Spazieren gehen oder bei Ablenkung
5	
4	Mildes Kratzen/etwas vermehrt Kratzt nicht nachts, beim Fressen, Spielen, Spazieren gehen oder bei Ablenkung
3	
2	Sehr mildes Kratzen/nur gelegentliche Episoden Der Hund kratzt sich nur etwas mehr als zu der Zeit bevor die Hautproblematik begonnen hat
1	
0	Normaler Hund- ich glaube nicht, dass das Kratzen ein Problem darstellt

Examiner:

SITE \ CLINICAL SIGNS		Erythema	Lichenification	Excoriations	Alopecia	TOTAL
Face	Presauricular					
	Periocular					
	Perilabial					
	Muzzle					
Head	Chin					
	Dorsal					
Ear Pinna	Left	Convex				
		Concave				
	Right	Convex				
		Concave				
Neck	Dorsal					
	Ventral					
	Lateral	Left				
		Right				
Axilla	Left					
	Right					
Sternum						
Thorax	Dorsal					
	Lateral	Left				
		Right				
Inguinal	Left					
	Right					
Abdomen						
Lumbar	Dorsal					
	Left					
Flank	Left					
	Right					
Front Limb	Left	Medial				
		Lateral				
		Antebrachial Flexure				
		Carpal Flexure				
	Right	Medial				
		Lateral				
		Antebrachial Flexure				
		Carpal Flexure				
Front Foot	Left	Metacarpal Flexure				
		Dorsal Metacarpal				
		Palmar				
		Dorsal Interdigital				
	Right	Metacarpal Flexure				
		Dorsal Metacarpal				
		Palmar				
		Dorsal Interdigital				
Hind Limb	Left	Medial				
		Lateral				
		Stifle Flexure				
		Tarsal Flexure				
	Right	Medial				
		Lateral				
		Stifle Flexure				
		Tarsal Flexure				
Hind Foot	Left	Metatarsal Flexure				
		Dorsal Metatarsal				
		Plantar				
		Dorsal Interdigital				
	Right	Metatarsal Flexure				
		Dorsal Metatarsal				
		Plantar				
		Dorsal Interdigital				
Perianal						
Perigenital						
Tail	Ventral					
	Dorsal					
grade each sign at each location as follows: 0 (none), 1 (mild), 2, 3 (moderate), 4, 5 (severe)						TOTAL Score (1240 maximum)

Die Immunmodulation der caninen atopischen Dermatitis durch Helminthen
Plazebo kontrollierte Doppel-Blind-Studie

- vertraulich -

Individuelles Patienten – Protokoll: Tag 90
(Besuch 4, letzter Besuch)

Fall Nr.: Tag 90 (4. Besuch nach 3 Monaten):

Name des Besitzers:

Name des Hundes: Patientenummer (MTK):

Gewicht:

**Auftreten von unerwünschten Wirkungen durch die Verabreichung der
Wurmeier:**

ja nein Details:

Ausschluss aus der Studie: ja nein

**Kotprobe (Sammelprobe) zum 4. Besuch mitgebracht und Kotunter-
suchung eingeleitet**

entwurmt

Die Immunmodulation der caninen atopischen Dermatitis durch Helminthen
Plazebo kontrollierte Doppel-Blind-Studie

- vertraulich -

Juckreizskala

10	Extrem heftiges Kratzen/fast ununterbrochen Egal was passiert, das Kratzen wird nicht unterbrochen, auch im Behandlungszimmer (der Hund muss z.B. durch Halskragen am Kratzen gehindert werden)
9	
8	Heftiges Kratzen/langanhaltende Episoden Kratzen bei Nacht (wenn beobachtet) und beim Fressen, Spielen, Spazieren gehen oder bei Ablenkung
7	
6	Moderates Kratzen/episodenweise Kratzt bei Nacht (wenn beobachtet), aber nicht beim Fressen, Spielen, Spazieren gehen oder bei Ablenkung
5	
4	Mildes Kratzen/etwas vermehrt Kratzt nicht nachts, beim Fressen, Spielen, Spazieren gehen oder bei Ablenkung
3	
2	Sehr mildes Kratzen/nur gelegentliche Episoden Der Hund kratzt sich nur etwas mehr als zu der Zeit bevor die Hautproblematik begonnen hat
1	
0	Normaler Hund- ich glaube nicht, dass das Kratzen ein Problem darstellt

Hautbiopsien fakultativ (6mm, 3x)

Entnahmestelle(n):

Blutproben

10 ml Serum

Examiner:

SITE \ CLINICAL SIGNS		Erythema	Lichenification	Excoriations	Alopecia	TOTAL
Face	Presauricular					
	Periorcular					
	Perilabial					
	Muzzle					
Head	Chin					
	Dorsal					
Ear Pinna	Left	Convex				
		Concave				
	Right	Convex				
		Concave				
Neck	Dorsal					
	Ventral					
	Lateral	Left				
		Right				
Axilla	Left					
	Right					
Sternum						
Thorax	Dorsal					
	Lateral	Left				
		Right				
Inguinal	Left					
	Right					
Abdomen						
Lumbar	Dorsal					
Flank	Left					
	Right					
Front Limb	Left	Medial				
		Lateral				
		Antebrachial Flexure				
		Carpal Flexure				
	Right	Medial				
		Lateral				
		Antebrachial Flexure				
		Carpal Flexure				
Front Foot	Left	Metacarpal Flexure				
		Dorsal Metacarpal				
		Palmar				
		Dorsal Interdigital				
	Right	Metacarpal Flexure				
		Dorsal Metacarpal				
		Palmar				
		Dorsal Interdigital				
Hind Limb	Left	Medial				
		Lateral				
		Stifle Flexure				
		Tarsal Flexure				
	Right	Medial				
		Lateral				
		Stifle Flexure				
		Tarsal Flexure				
Hind Foot	Left	Metatarsal Flexure				
		Dorsal Metatarsal				
		Plantar				
		Dorsal Interdigital				
	Right	Metatarsal Flexure				
		Dorsal Metatarsal				
		Plantar				
		Dorsal Interdigital				
Perianal						
Perigenital						
Tail	Ventral					
	Dorsal					
grade each sign at each location as follows: 0 (none), 1 (mild), 2, 3 (moderate), 4, 5 (severe)						TOTAL Score (1240 maximum)

X. DANKSAGUNG

Sehr großer und besonders herzlicher Dank gilt meinem Doktorvater Professor Dr. Ralf Müller, unter dessen Betreuung ich meine Doktorarbeit anfertigen durfte. Schon während meiner Zeit als Studentin der Tiermedizin hegte ich den Wunsch, in der dermatologischen Abteilung meine Doktorarbeit anfertigen zu dürfen. Zum einen wegen der Begeisterung für das Fach, zum anderen, da ich mir keinen besseren Mentor als Professor Müller vorstellen konnte. Bereits in seinen Vorlesungen überzeugte er durch seine kompetente, freundliche und zugleich menschliche Art. Und eben diese charakterlichen Stärken schätzte ich an ihm sehr während meiner gesamten Doktorandenzeit. Ich danke ihm sehr, dass er zu jeder Zeit für jede erdenkliche Frage ein Ohr hatte und durch seine unkomplizierte Art das Arbeiten an der Doktorarbeit nie zur Qual wurde. Außerdem schätze ich sehr seine optimistische und motivierende Art, die es einem stets ermöglichte, an das Gelingen der Arbeit zu glauben. Ich bin sehr froh, dass ich die Möglichkeit hatte, Teil seines Teams zu sein und hoffe, dass wir auch weiterhin in Kontakt bleiben werden.

Frau Professor Kathrin Hartmann danke ich sehr, dass ich bereits die Möglichkeit hatte meine Famulatur in der Klinik zu absolvieren und nun auch meine Doktorarbeit in der Medizinischen Kleintierklinik München anfertigen konnte.

Mein ausdrücklicher Dank geht an die Gesellschaft für kynologische Forschung, welche durch ein Stipendium die finanzielle Umsetzung meiner Studie gesichert hat.

Herzlich bedanken möchte ich mich bei Dr. Monir Majzoub aus der Tierpathologie München für die Anfertigung und Färbung der histologischen Schnitte.

Herrn Donald Wassom vom Heska Labor in Fribourg möchte ich für die Bearbeitung meiner Blutsera danken.

Besonders herzlich möchte ich bei Herrn Detlev Goj von der Firma Ovamed bedanken, der mir sehr freundlich und unkompliziert bei verschiedenen Fragen zu Helminthen weitergeholfen hat.

Für die Bereitstellung der Helmintheneier danke ich Frau Sonja Wolken von der

Parasitologie in Hannover.

Danken möchte ich auch dem Laborpersonal der Medizinischen Kleintierklinik für die Bearbeitung der Kotproben meiner Studie.

Besonderer Dank gebührt ebenfalls allen an meiner Studie Teil nehmenden Hunden und ihren Besitzern, ohne deren Unterstützung meine Studie nicht möglich gewesen wäre.

Vielmals möchte mich auch bei allen Mitarbeitern der Klinik bedanken. Ganz besonders wichtig für das Gelingen meiner Studie war die Unterstützung durch Britta Schnabl und Ana Rostaher. Von ihnen habe ich sehr viel gelernt und sie haben sich immer Zeit genommen, meine Studiehunde zu begutachten. Weiterer Dank gilt Nina Glos und Sonya Bettenay, welche mich bei der Suche nach Patienten unterstützt haben. Ganz herzlich danke ich Amelie Voigt-Rhetzs, Svenja Budach, Simone Schäfer, Paz Schamber, Claudia Horstmann, Kathrin Hatzmann und Isabell Kloos für ihre Mithilfe bei der Versorgung meiner Patienten und für die schöne gemeinsame Zeit. Besonderer Dank gebührt meiner Mitstreiterin Sandra Tretter, die im Laufe unserer gemeinsamen Klinikzeit zu einer guten Freundin geworden ist.

Der größte Dank gebührt natürlich meinen Eltern, welche mir das gesamte Studium und die Anfertigung dieser Doktorarbeit ermöglicht haben. Vielen Dank, dass es euch gibt und dass ihr mich in allem unterstützt, was ich tue und mir immer den nötigen Rückhalt gebt. Ich liebe euch.

Bedanken möchte ich mich bei meiner ganzen Familie, die immer hinter mir steht und mir immer das Gefühl gibt geliebt zu werden. Besonders sei auch mein Onkel Ekkehard erwähnt, der sich dazu bereit erklärt hat, das Korrekturlesen meiner Arbeit zu übernehmen.

Der letzte Dank geht an meine Xanadu, die der eigentliche Grund für mich war Tiermedizin zu studieren. Leider hat sie Abgabe meiner Doktorarbeit nicht mehr erlebt, aber im Herzen ist sie immer bei mir.