

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

Arbeit angefertigt unter der Leitung von
Univ.-Prof. Dr. med. vet. Dr. habil. Ralf S. Müller

**Intralymphatische allergen-spezifische Immuntherapie bei Hunden mit
atopischer Dermatitis**

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

von
Kathrin Hatzmann
aus Hutthurm

München 2011

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

Dekan:	Univ.-Prof. Dr. Braun
Berichterstatter:	Univ.-Prof. Dr. Müller
Korreferent:	Univ.-Prof. Dr. Göbel

Tag der Promotion: 30.Juli 2011

Meinen Eltern.

INHALTSVERZEICHNIS

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	VIII
I EINLEITUNG.....	1
II LITERATURÜBERSICHT.....	3
1. ATOPISCHE DERMATITIS.....	3
2. ATOPIE DES MENSCHEN.....	6
2.1 Pathogenese.....	8
2.2 Klinik.....	12
2.3 Diagnose.....	12
2.4 Therapie.....	14
2.4.1 Basisbehandlung.....	16
2.4.2 Symptomatische Therapie.....	17
2.4.2.1 Phototherapie.....	17
2.4.2.2 Systemische Therapie.....	17
2.4.2.2.1 Antimikrobiell.....	17
a) Antibakteriell.....	17
b) Antiviral.....	18
c) Antimykotisch.....	18
2.4.2.2.2 Glukokortikoide.....	18
2.4.2.2.3 Antihistaminika.....	19
2.4.2.2.4 Essentielle Fettsäuren.....	19
2.4.2.2.5 Zyklosporin A.....	19
2.4.2.2.6 Azathioprin.....	20
2.4.2.3 Topische Medikamente.....	20
2.4.2.3.1 Präventiv.....	20
2.4.2.3.2 Emollentien.....	21
2.4.2.3.3 Glukokortikoide.....	21
2.4.2.3.4 Calcineurinantagonisten.....	22
2.4.2.3.5 Antimikrobiell.....	23
2.4.3 Allergen-spezifische Immuntherapie.....	23
2.4.3.1 Wirkungsweise.....	24
2.4.3.2 Durchführung.....	25

3.	KANINE ATOPISCHE DERMATITIS	26
3.1	<i>Pathogenese</i>	27
3.2	<i>Klinik</i>	32
3.3	<i>Diagnose</i>	33
3.3.1	Intrakutantest	36
3.3.2	Serumallergietest	37
3.4	<i>Therapie</i>	37
3.4.1	Symptomatische Therapie	38
3.4.1.1	Glukokortikoide	38
3.4.1.2	Antihistaminika.....	39
3.4.1.3	Essentielle Fettsäure.....	41
3.4.1.4	Topische Medikamente	42
3.4.1.5	Zyklosporin.....	43
3.4.2	Allergen-spezifische Immuntherapie	43
3.4.2.1	Wirkungsweise.....	45
3.4.2.2	Durchführung.....	47
3.4.2.3	Nebenwirkungen	47
4.	SPEZIELLE FORMEN DER ALLERGEN-SPEZIFISCHEN IMMUNTHERAPIE	48
4.1	<i>Subkutan</i>	48
4.2	<i>Rush-Immuntherapie</i>	48
4.3	<i>Sublingual / oral</i>	49
4.4	<i>Intralymphatisch</i>	50
III	MATERIAL UND METHODEN	53
1.	VORSTUDIE.....	53
2.	STUDIENDESIGN	56
3.	PATIENTEN.....	57
4.	EINLEITUNGSPHASE.....	57
4.1	<i>Intrakutantest</i>	58
4.2	<i>Serumallergietest</i>	60
4.3	<i>Allergenlösung</i>	62
5.	GRUPPENEINTEILUNG	63
5.1	<i>Kontrollgruppe</i>	63
5.2	<i>Versuchsgruppe</i>	64

6.	FOLGEUNTERSUCHUNGEN.....	64
6.1	<i>Juckreizskala</i>	65
6.2	<i>Läsionenbeurteilung (CADESI)</i>	65
6.3	<i>Medikamentenbewertung</i>	65
6.4	<i>Gesamtbeurteilung</i>	66
6.5	<i>Blutuntersuchung</i>	66
6.5.1	Differentialblutbild	66
6.5.2	Immunglobulin E.....	67
6.5.3	Immunologische Parameter.....	67
6.5.3.1	Interleukin 4.....	68
6.5.3.2	Interleukin 10.....	68
6.5.3.3	Transforming growth factor β 1.....	69
6.5.3.4	Interferon γ	69
7.	STATISTIK.....	70
IV	ERGEBNISSE.....	71
1.	VORSTUDIE.....	71
2.	PATIENTEN.....	72
2.1	<i>Altersverteilung</i>	72
2.2	<i>Geschlechtsverteilung</i>	72
2.3	<i>Rasseverteilung</i>	72
2.4	<i>Allergietest</i>	73
3.	UNTERSUCHUNGSDATEN	74
3.1	<i>Juckreizskala</i>	74
3.2	<i>Läsionenbewertung (CADESI)</i>	77
3.3	<i>Medikamentenbewertung</i>	79
3.4	<i>Gesamtbeurteilung</i>	81
3.5	<i>Blutuntersuchungen</i>	84
3.5.1	Differentialblutbild (Eosinophile Granulozyten).....	84
3.5.2	Immunglobulin E.....	86
3.5.3	Immunologische Parameter.....	89
3.5.3.1	Interleukin 4.....	89
3.5.3.2	Interleukin 10.....	91
3.5.3.3	Transforming growth factor β 1.....	91

3.5.3.4	Interferon γ	93
V	DISKUSSION	94
1.	ZUSAMMENFASSUNG.....	94
2.	PATIENTEN.....	95
3.	ALLERGIE TEST	96
4.	ALLERGENLÖSUNG.....	97
5.	JUCKREIZSKALA	98
6.	LÄSIONENBEWERTUNG (CADESI).....	99
7.	MEDIKAMENTENBEWERTUNG	99
8.	GESAMTBEURTEILUNG	100
9.	BLUTUNTERSUCHUNGEN	100
9.1	<i>Differentialblutbild</i>	100
9.2	<i>Immunglobulin E</i>	101
9.3	<i>Immunologische Parameter</i>	102
9.3.1	Interleukin 4	102
9.3.2	Interleukin 10.....	103
9.3.3	Transforming growth factor β 1	103
9.3.4	Interferon γ	105
VI	ZUSAMMENFASSUNG	106
VII	SUMMARY	108
VIII	LITERATURVERZEICHNIS	110
IX	ANHANG	133
1.	TABELLENVERZEICHNIS.....	133
2.	ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	134
3.	INJEKTIONSSCHEMA	135
4.	BESITZER EINVERSTÄNDNISERKLÄRUNG.....	136
5.	JUCKREIZSKALA	138
6.	CANINE ATOPIC DERMATITIS EXTENT AND SEVERITY INDEX (CADESI)	139
7.	MEDIKAMENTENBEURTEILUNG.....	140
8.	GESAMTBEURTEILUNG	141
X.	DANKSAGUNG	142

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

®	Registrierte Marke
Abb.	Abbildung
ACVD	American College of Veterinary Dermatology
AD	Atopische Dermatitis
APC	Antigen-präsentierende Zellen
ASIT	Allergen-spezifische Immuntherapie
CAD	Canine atopic dermatitis (= kanine atopische Dermatitis)
CADESI	Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index
CyA	Cyclosporin A
<i>D. farinæ</i>	<i>Dermatophagoides farinæ</i>
D.h.	Das heisst
DNA	Desoxyribonucleic acid (= Desoxiribonukleinsäure)
Dr.	Doktor
EA Einheiten	ELISA absorbance units
EBV	Epstein-Barr-Virus
Etc.	Et cetera
EFA	Essential fatty acid (= essentielle Fettsäuren)
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
Fc	Fragment crystalline (= kristallines Fragment)
FcεRI	Rekombinanter Fc Epsilon Rezeptor
Ggf.	Gegebenenfalls
H1-Antihistaminika	Antihistaminika, die am H1 Rezeptor angreifen
HCA	Hydrocortisonaceponat
HCl	Salzsäure
HEPES	2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl)-ethansulfonsäure (Puffer)
HRP	Horseradish peroxidase (= Meerrettichperoxidase)
ID	Intradermal
IDT	Intradermaltest
IFN-γ	Interferon γ
IgA	Immunglobulin A
IgE	Immunglobulin E

IgG	Immunglobulin G
IL-2	Interleukin 2
IL-4	Interleukin 4
IL-5	Interleukin 5
IL-10	Interleukin 10
IL-13	Interleukin 13
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
Ln.	Lymphonodus (Lymphknoten singular)
Lnn.	Lymphonodi (Lymphknoten plural)
mg	Milligramm
MHC	Major Histocompatibility Complex
ml	Milliliter
MRSA	Methicillin-resistenter <i>Staphylococcus aureus</i>
NaCl	Natriumchlorid
NaOH	Natronlauge
NK	Natürliche Killerzellen
PNU	Protein nitrogen units
RAST	Radioallergosorbent test
RNA	Ribonucleic acid (= Ribonukleinsäure)
SAT	Serumallergietest
Spp.	Spezies
TÄ	Tierärztin
Th0	T-Helfer-0-Zellen
Th1	T-Helfer-1-Zellen
Th2	T-Helfer-2-Zellen
TGF- β 1	Transforming growth factor β 1
TNF- β	Tumor necrosis factor β
USA	United States of America (= Vereinigte Staaten von Amerika)
Usw.	Und so weiter
UVA	Ultraviolettes Licht mit einer Wellenlänge von 380 – 315 nm
UVB	Ultraviolettes Licht mit einer Wellenlänge von 315 – 280 nm
V.a.	Vor allem

VARL	Liquid-phase immunoenzymatic assay
WHO	World Health Organisation (Weltgesundheitsorganisation)
z.B.	Zum Beispiel

I Einleitung

Die Bedeutung des Wortes Allergie leitet sich aus dem Altgriechischen von állos „anderer“ und érgon „Tätigkeit, Reaktion“ ab. Wörtlich übersetzt bedeutet das „Andersempfindlichkeit“.

Laut Clemens von Pirquet ist die Allergie „eine veränderte Fähigkeit des Körpers auf eine Fremdsubstanz zu reagieren“ (VON PIRQUET, 1906).

Heutzutage definiert man die Allergie als eine überschießende antikörper- oder zellvermittelte Abwehrreaktion des spezifischen Immunsystems auf körperfremde Allergene (HALLIWELL, 2006).

Die allergen-spezifische Immuntherapie (ASIT) ist eine Verabreichung von schrittweise gesteigerten Mengen an Allergenextrakt an einen Allergiker mit dem Ziel die Symptome, die durch die unerschwellige Exposition mit zugrundeliegendem Allergen entstehen, zu mildern (WHO Definition) (BOUSQUET et al., 1998; GRIFFIN & HILLIER, 2001).

Bei allergischen Individuen gibt es zwei verschiedene Therapieansätze. Die symptomatische Therapie mit verschiedenen juckreizlindernden und antiinfektiösen Medikamenten setzt ein großes Engagement der Tierbesitzer voraus, da die Applikation lebenslang regelmäßig durchgeführt werden muss (OLIVRY et al., 2010). Die ASIT stellt die einzige spezifische Behandlungsmöglichkeit der Umweltallergie dar, die beim Hund routinemäßig als Rush-Immuntherapie durchgeführt wird (GRIFFIN & HILLIER, 2001; MUELLER & BETTENAY, 2001). Dabei werden Allergene in Form einer Lösung unter die Haut appliziert. Am Starttag wird in neun Stufen die Allergenkonzentration der Injektionen auf die Erhaltungsdosis gesteigert, um danach durch regelmäßige subkutane Injektionen die Wirkung aufrecht zu erhalten (MUELLER & BETTENAY, 2001).

Da die Akzeptanz für regelmäßige Injektionen von Besitzer und Hunden nicht immer vorhanden ist, die Durchführbarkeit sich manchmal schwierig gestaltet und ein Erfolg der Immuntherapie teilweise erst nach einem Jahr Anwendungsdauer zu erwarten ist, werden in der Allergieforschung neue Ansätze für die ASIT

gesucht. Gute Erfolge der intralymphatischen Injektion wurden bei Mensch und Maus bei der Tumorthherapie, Vaccinierung und allergen-spezifischer Immuntherapie gesehen (MALOY et al., 2001; JOHANSEN et al., 2005; SENTI et al., 2008; MARTINEZ-GOMEZ et al., 2009). Gegenstand dieser Arbeit war es, die intralymphatische Applikationsmethode der ASIT beim Hund hinsichtlich einer möglichen verbesserten Sofortwirkung, Besserung der Akzeptanz bei Hund und Besitzer und Reduktion der Behandlungskosten zu untersuchen. Außerdem wurde die genauere Erforschung der Wirkungsweise der ASIT durch diverse Blutuntersuchungen angestrebt.

II Literaturübersicht

1. Atopische Dermatitis

Unter atopischer Dermatitis versteht man eine genetisch prädisponierende entzündliche und juckende Hauterkrankung, die mit einer überschießenden Produktion von Immunglobulin E (IgE) assoziiert und meist gegen Umweltallergene gerichtet ist (HALLIWELL, 2006). Nach erstmaligem Kontakt mit einem Allergen kommt es zu einer Sensibilisierung des Organismus. Erst nach wiederholter Exposition kann es zu einer allergischen Überempfindlichkeitsreaktion kommen. Im Fall der Atopie vermutet man als Ursache eine entgleiste Immunreaktion, die mit einer Hyperreaktivität von T-Zellen und einer überschießenden Produktion an IgE einher geht (HALLIWELL & GORMAN, 1989).

Eine Hypersensibilitätsreaktion aufgrund immunologischer Mechanismen kann in verschiedene Typen eingeteilt werden. Man unterscheidet vier verschiedene Reaktionstypen, die Gewebeschädigungen hervorrufen können (GELL & COOMBS, 1963; JANEWAY, 2002; RAJAN, 2003):

Die Reaktionen vom Typ eins bis drei stellen antikörpervermittelte Reaktionen dar. Untereinander unterscheiden sie sich durch die beteiligten Antigene und Antikörperklassen.

- Die Typ-1-Reaktion oder Reaktion vom Soforttyp ist durch eine überschießende IgE-Produktion charakterisiert, was zu einer Mastzelldegranulation und somit Ausschüttung von Histamin (Sofortreaktion), Leukotrienen (verzögerte Reaktion) und anderen Mediatoren führt. Klinisch sind allergische Atemwegserkrankungen ein typisches Erscheinungsbild dieser Reaktion.
- Als zytotoxische Reaktion bezeichnet man die Typ-2-Reaktion, die durch IgG vermittelt wird. Diese richtet sich gegen Zelloberflächen- und Matrixantigene. Es kommt hierbei zur Freisetzung von Anaphylotoxin (C5a), Anlockung von polymorphkernigen Leukozyten (PMNs) und zu Gewebeschädigungen durch

hydrophile neutrophile Enzyme. Beispiel für eine solche Reaktion sind die Vaskulitis oder manche Medikamentenallergien (z.B. gegen Penicillin).

- Eine Antigen-Antikörper-Bildung erfolgt bei der Typ-3-Reaktion. Sie ist ebenfalls IgG vermittelt und richtet sich gegen lösliche Antigene. Die entstehenden Immunkomplexe lagern sich in glomerulären und pulmonalen Membranen ab, schränken so die Funktion der Niere und Lunge ein und führen zu Gewebeschädigung. Als Beispiele können hier die Serumkrankheit und die Arthus-Reaktion aufgeführt werden.
- Bei der Typ-4-Reaktion kommt es zu einer verzögerten zellulären Immunantwort, die durch T-Zellen vermittelt ist. T-Zellen, Makrophagen, natürliche Killerzellen (NK) und andere Leukozyten infiltrieren betroffene Gewebe und führen zu einer Entzündungsreaktion, oft verbunden mit der Apoptose von Keratinozyten. Je nach auslösender Immunkomponente kann man drei Gruppen unterscheiden:
 - Die durch Th1-Zellen ausgelöste Immunreaktion bewirkt eine Aktivierung von Makrophagen, was zu einer Entzündungsreaktion führt. Diese Form kann bei einer Kontaktdermatitis oder bei der Tuberkulinreaktion beobachtet werden.
 - Sind Th2-Zellen für die Reaktion verantwortlich, beherrschen eosinophile Granulozyten das klinische Bild. Es kommt zur Gewebeschädigung aufgrund der aktivierten Entzündungszellen. Die Reaktion ist typisch für chronisches Asthma und chronische allergische Rhinitis.
 - Bei der dritten Gruppe wird die Schädigung der Zellen durch zytotoxische T-Zellen verursacht. Diese Form der Reaktion tritt bei Kontaktdermatitis auf.

Je nach Eintrittsweg des Allergens unterscheidet man verschiedene Formen der IgE-vermittelten allergischen Reaktion (JANEWAY, 2002) (Tabelle 1: IgE-vermittelte Reaktionen gegen externe Antigene):

Tabelle 1: IgE-vermittelte Reaktionen gegen externe Antigene

Syndrom	Verbreitete Allergene	Eintrittsweg	Reaktion
Systemische Anaphylaxie	Medikamente Sera Gifte Erdnüsse	intravenös (direkt oder nach oraler Absorption ins Blut)	Ödeme erhöhte Gefäßdurchlässigkeit Verschluss der Atemwege Kreislaufkollaps Tod
Akute Nesselsucht (erythematöse Quaddelbildung)	Insektenstiche Allergietests	subkutan	Lokale Gefäßerweiterung und -durchlässigkeit
Allergische Rhinitis (Heuschnupfen)	Pollen (Beifuß, Timotheusgras, Birke) Staubmilbenkot	durch Einatmen	Ödeme und Reizung der Nasenschleimhaut
Asthma	Reizungen (Katzenhaare) Pollen Staubmilbenkot	durch Einatmen	Zusammenziehen der Bronchien erhöhte Schleimsekretion Entzündungen der Atemwege
Nahrungsmittelallergie	Baumnüsse Erdnüsse Schalentiere Milch Eier Fisch	oral	Erbrechen Durchfall Hautjucken Urticaria (Nesselsucht) Anaphylaxie (selten)

Neben der Eintrittspforte ist auch die aufgenommene Allergendosis entscheidend für die auftretenden Symptome. Allen IgE-vermittelten Reaktionen ist die Degranulierung von Mastzellen gemeinsam (JANEWAY, 2002).

Die Atopie stellt sowohl in der Human- als auch in der Veterinärmedizin eine an Bedeutung zunehmende Krankheit dar (SCOTT et al., 2001; GRIZE et al., 2006).

Diese Erkrankung ist multifaktoriell, u.a. durch genetische Komponenten, Umwelteinflüsse, Abweichungen im Immunsystem und Unterschiede im Aufbau der Haut bedingt (COOKSON et al., 2001; WUTHRICH et al., 2007). Eine gestörte Barrierefunktion der Haut spielt sowohl bei der Atopie des Menschen als auch des Hundes eine entscheidende Rolle, da dadurch eine größere Anzahl an Allergenen durch die Haut penetriert und an IgE auf der Oberfläche von APC (Langerhans Zellen) binden kann (MUDDE et al., 1990; OLIVRY et al., 1996).

2. Atopie des Menschen

Beim Menschen äußert sich eine Atopie als Triade mit Asthma, Heuschnupfen und atopischer Dermatitis. Letztere ist durch Symptome wie trockene Haut, Entzündungen und Juckreiz gekennzeichnet. Bei 10 bis 20 % aller Kinder und 3 bis 5 % aller Erwachsenen tritt eine Atopie auf (BIEBER, 2008).

In den letzten Jahrzehnten konnte eine Steigerung des Auftretens besonders in Stadtgebieten und in höheren sozialen Schichten ermittelt werden (SCHMID-GRENDELMEIER & BALLMER-WEBER, 2010). Die Prävalenz von atopischen Erkrankungen (Asthma, Dermatitis, Rhinitis) ist in den letzten Jahrzehnten v.a. in den höher entwickelten Ländern auf 30 % gestiegen (GRIFFIN & DEBOER, 2001). Es wurden verschiedene Hypothesen aufgestellt, um den Anstieg der Prävalenz zu erklären. Einige Autoren geben jeweils eine Teilschuld der höheren Luftverschmutzung, einer größeren Konzentration von Allergenen in Innenräumen, kleineren Familien, weniger mikrobieller Belastung und frühkindlichem Kontakt zu Krankheitserregern, der Vergrößerung von Städten und Änderungen der Essgewohnheiten (BOGUNIEWICZ & LEUNG, 1998; VON MUTIUS, 1999, 2000; HILLIER & GRIFFIN, 2001). Außerdem scheinen verschiedene genetische Komponenten einen Einfluss auf die höhere Prävalenz zu

haben (BOGUNIEWICZ & LEUNG, 1998), wengleich den Umweltfaktoren ein größeres Gewicht in der Entwicklung der atopischen Erkrankungen beigemessen wird (HILLIER & GRIFFIN, 2001).

Einen Überbegriff für Allergien beim Menschen stellt der sogenannte atopische Formenkreis dar. Dazu zählen Neurodermitis, Asthma, allergische Rhinokonjunktivitis und bestimmte Nahrungsmittelallergien. Diesen Krankheiten ist gemeinsam, dass es zu einer überschießenden Reaktion des Körpers auf bestimmte Umwelt- und/oder Nahrungsmittelallergene kommt (SCHMID-GRENDELMEIER & BALLMER-WEBER, 2010).

Man unterscheidet die intrinsische und die extrinsische Form der atopischen oder Neurodermitis. Bei der intrinsischen Form, die häufig bei Kindern vorkommt, bilden sich keine IgE-Antikörper und es kommt zu keiner Beteiligung des Atemtraktes (SCHMID-GRENDELMEIER et al., 2001).

Im Jahr 1980 definierten HANIFIN und RAJKA zum ersten Mal 27 Kriterien zur Diagnose einer allergisch bedingten Hauterkrankung (Neurodermitis). Da die Spezifität dieser Kriterien zu niedrig war, wurde später ein anderes Diagnosesystem validiert (SCHMID-GRENDELMEIER & BALLMER-WEBER, 2010). Dabei kommen ein Hauptkriterium (Juckreiz) und fünf Nebenkriterien (Beteiligung von Hautfalten, Vorgeschichte von Asthma oder Heuschnupfen, vorberichtlich trockene Haut, Dermatitis in den Gelenkbeugen, Ausbruch der Erkrankung vor einem Alter von zwei Jahren) zum Einsatz. Um eine Neurodermitis diagnostizieren zu können, müssen das Hauptkriterium und mindestens drei Nebenkriterien beim jeweiligen Patienten vorhanden sein (WILLIAMS, 1996).

Als Differentialdiagnosen beim Menschen kommen v.a. Kontaktallergien, mikrobiell verursachte Ekzeme, Windeldermatitis und das seborrhoische Ekzem in Frage. Seltener muss an ein kutanes T-Zell-Lymphom oder eine Infektion mit Räude milben gedacht werden. Andere Hautausschläge können oft durch ihr Erscheinungsbild diagnostiziert werden (Hautpilz und Schuppenflechte). Wenn keine eindeutige Klassifizierung der Hauterkrankung möglich ist, kann durch bakterielle oder mykologische Kulturen, Hautabstriche und Biopsien eine Diagnose erzielt werden (SCHMID-GRENDELMEIER & BALLMER-WEBER,

2010).

2.1 Pathogenese

Die Atopie entsteht bei genetisch prädisponierten Individuen nach erstem Allergenkontakt durch Bildung von IgE Antikörpern und deren Bindung an IgE Fc Rezeptoren (FcεRI) von basophilen Granulozyten im Blut und Mastzellen in Haut und Schleimhaut. Durch einen wiederholten Allergenkontakt kommt es zu einer zweiphasigen Reaktion (sofortige Überempfindlichkeitsreaktion (Typ 1) und Spätreaktion (Typ 4)) (ROLLAND et al., 2009).

Bei der Typ-1-Reaktion verbindet ein Allergenmolekül zwei mastzellgebundene spezifische IgE Antikörper, und dieses "crosslinking" führt zu einer Ausscheidung von Entzündungsmediatoren wie Histamin, Serinproteasen, Leukotriene, Prostaglandine, Plättchenaktivatoren und Zytokinen (ROLLAND et al., 2009). Durch ein erneutes Freiwerden von Entzündungsmediatoren aus Zellinfiltraten (eosinophilen, neutrophilen und basophilen Granulozyten, Makrophagen und CD4⁺ T-Zellen) entsteht die Typ-4-Reaktion (ROLLAND et al., 2009).

In der folgenden Abbildung (Abbildung 1: Unterscheidung Sofortphase und Spätphase) ist der Verlauf einer asthmatischen Reaktion schematisch dargestellt. Sie bewirkt eine Verengung der Atemwege. Die Sofortreaktion beginnt innerhalb von Sekunden, wohingegen die Spätreaktion nach acht bis zwölf Stunden auftritt. FEV1 steht in dieser Grafik für die „Einsekundenkapazität“, was die schnelle Abnahme des forcierten expiratorischen Volumens pro Sekunde angibt. Die Sofortreaktion führt zu einer raschen Verengung der Atemwege, die nach kurzer Zeit wieder nachlässt. Bei der Spätreaktion kommt es zu einer weniger heftigen Reaktion, die allerdings länger anhält (JANEWAY, 2002). Die Sofortreaktion entsteht v.a. durch die Wirkung von Histamin. Für die Spätreaktion sind eingewanderte Leukozyten verantwortlich, die durch aus Mastzellen freigesetzte Mediatoren angelockt werden (JANEWAY, 2002).

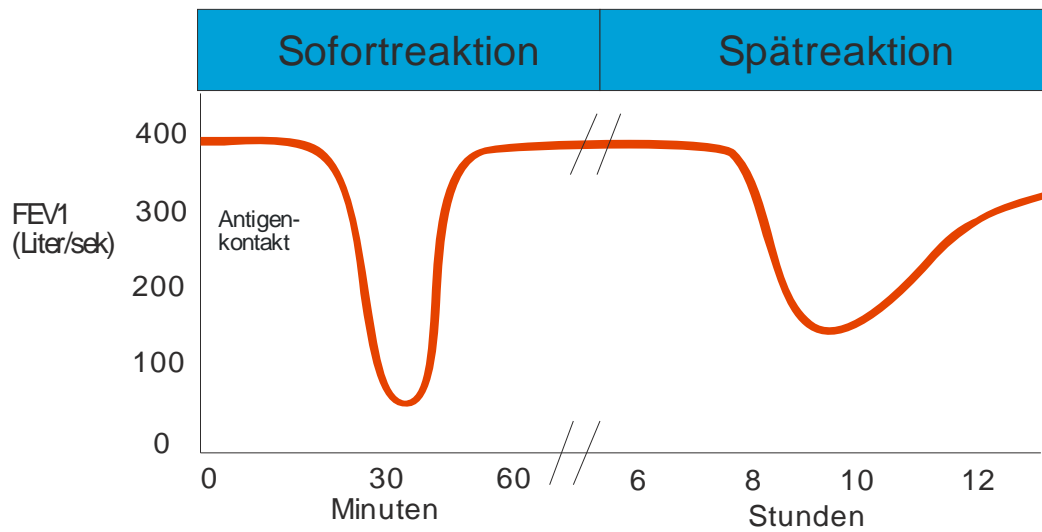


Abbildung 1: Unterscheidung Sofortphase und Spätphase, modifiziert nach (JANEWAY, 2002)

Immunglobulin E kommt vor allem in Geweben vor, wo es durch den FcεRI Rezeptor fest an die Oberfläche von Mastzellen gebunden ist. Eine allergische Reaktion entsteht, wenn ein eingedrungenes Allergen zwei sich an FcεRI Rezeptoren der Mastzelle befindende IgE-Molekül quervernetzt. Da auch basophile und aktivierte eosinophile Zellen diesen spezifischen Rezeptor exprimieren, können sie an der Hypersensibilitätsreaktion mitwirken. Im Folgenden kommt es zu einer Aktivierung der Mastzellen, die Entzündungsreaktionen auslösen, indem sie degranulieren und chemische Mediatoren freisetzen. Bei der Allergie erfolgt diese Reaktion auch gegen harmlose Antigene, die keinen zu bekämpfenden Krankheitserreger darstellen. Die Symptome sind bei jedem Individuum, abhängig von Dosis und Eintrittsweg der Allergene, sehr unterschiedlich. Sie reichen von Heuschnupfen bis zu systemischer Anaphylaxie. Die allergische Reaktion besteht aus Sofortreaktion und Spätreaktion (JANEWAY, 2002):

- Die Mastzelldegranulation bewirkt im Magen-Darm-Trakt eine erhöhte Flüssigkeitssekretion und Peristaltik, wodurch es zu Erbrechen und Durchfall kommt.
- Im Atemtrakt führt die Ausschüttung von Granula zu einem verringerten

Volumendurchmesser und einer erhöhten Schleimsekretion. Durch Blockierung der Atemwege kommt es zu Keuchen und Husten. Zusammen mit Schwellung und Schleimabsonderung stellt dies die klinisch beobachtbaren klassischen Symptome des Heuschnupfens dar.

- Degranulierte Mastzellen bewirken eine Erweiterung und eine erhöhte Durchlässigkeit der Gefäße. Dadurch kommt es zu einem verstärkten Fluss von Lymphe Richtung Lymphknoten, zu mehr Zellen und Proteinen und einer verstärkten Effektorreaktion im Gewebe (JANEWAY, 2002).

Die Bezeichnung Mastzellen geht auf Paul Ehrlich zurück, der sie als gemästete Zellen in Mesenterien von Kaninchen beschrieb. Sie sind hochspezifisch und werden hauptsächlich in Schleimhaut- und Epithelgewebe in der Nähe von Kapillaren gefunden. Sie exprimieren dauerhaft den FcεRI Rezeptor und eine Vernetzung von an diese Rezeptoren gebundene IgE-Moleküle führt innerhalb von Sekunden zur Degranulation. Es wird dabei unter anderem Histamin frei, was zu einer erhöhten lokalen Durchblutung und Gefäßdurchlässigkeit führt (JANEWAY, 2002).

Immunglobulin E Moleküle liegen im Körper v.a. in gebundener Form vor. Im Blut sind sie an den FcεRI Rezeptor der basophilen und eosinophilen Granulozyten und im Gewebe an den der Makrophagen gebunden (JANEWAY, 2002).

Ursachen für die Neurodermitis des Menschen sind multifaktoriell (genetische Prädisposition, verändertes Immunsystem, geschädigte Hautbarriere, Umweltfaktoren, neurogene Faktoren) (SCHMID-GRENDELMEIER & BALLMER-WEBER, 2010).

Für eine genetische Komponente spricht, dass Kinder, deren beide Elternteile an Neurodermitis erkrankt sind, ein höheres Risiko (60 – 80 %) haben, ebenfalls an Neurodermitis zu erkranken (SCHMID-GRENDELMEIER & BALLMER-WEBER, 2010).

Eine Mutation im FLG Gen führt mit einer hohen Wahrscheinlichkeit zu einer Asthmaerkrankung oder zu atopischer Dermatitis. Dieses Gen kodiert für Filaggrin, welches eine bedeutende Rolle bei der Differenzierung der

Keratinocyten zu squamösen Korneocyten spielt. Filaggrin führt zu einer Vernetzung zwischen den Korneocyten durch Transglutaminasen, wodurch sich eine kompakte Hornschicht bildet. Diese wirkt als Barriere gegen Pathogene und Allergene und beugt einem transepithelialen Wasserverlust vor (VICKERY, 2007).

Für den Juckreiz bei der Neurodermitis sind mehrere Faktoren verantwortlich: Histamin, veränderte Neuropeptide, Erhöhung von IL-31, Opioidrezeptoren und Temperaturdifferenzen (VALET et al., 2008; SCHMID-GRENDELMEIER & BALLMER-WEBER, 2010).

Begünstigend für die Entwicklung einer Neurodermitis beim Erwachsenen wirkt eine Allergie gegen Hausstaubmilben. Auch eine Beteiligung einer Katzenhaarallergie ist wahrscheinlich (BISGAARD et al., 2008). Eine kürzlich veröffentlichte Studie zeigte, dass die Haltung von Hunden keinen negativen Einfluss, vielleicht sogar einen positiven Einfluss, auf die Neurodermitis hat (BUFFORD et al., 2008).

Verschiedene Mikroben, wie z.B. Staphylokokken, können negative Einflüsse auf die Neurodermitis haben. Sie verstärken zum einen durch ihre Anwesenheit die Immunreaktion des Körpers, zum anderen werden Staphylokokken-spezifische IgE-Antikörper gebildet. Es kommt zur proinflammatorischen Zytokin- und T-Zellstimulation. Durch die verminderte Konzentration von Defensinen und Cathelicinen wird das Bakterienwachstum auf der Haut begünstigt (ONG et al., 2002).

Bei Neurodermitispatienten kommt es häufig zu einer Sensibilisierung gegen einen Hefepilz (*Malassezia sp.*). Dies wird durch eine verminderte Hautbarriere und eine erhöhte Bereitschaft zur IgE-Bildung verursacht (SCHMID-GRENDELMEIER et al., 2006). Die pathogenetische Rolle der Malassezienbesiedlung ist noch unklar (SCHMID-GRENDELMEIER & BALLMER-WEBER, 2010).

Ekzeme auf der Haut begünstigen die Besiedlung mit Viren (insbesondere Herpesviren) (SCHMID-GRENDELMEIER & BALLMER-WEBER, 2010).

2.2 Klinik

Beim Menschen stellt Juckreiz die primäre klinische Erscheinung der atopischen Dermatitis dar. Betroffene Personen haben trockene, spröde Haut, wozu sich sekundär Ekzeme entwickeln können. Prädilektionsstellen treten symmetrisch auf. Beim Kleinkind sind v.a. Gesicht und Streckseiten der Extremitäten betroffen, wohingegen beim Erwachsenen Beugeseiten von Ellbogen und Knie verändert sind. Außerdem kann es zur Beteiligung von Finger- und Zehenspitzen (Pulpitis sicca), Gesicht und Nase kommen (SCHMID-GRENDELMEIER & BALLMER-WEBER, 2010).

Laut AKDIS (2006) unterscheidet sich die Klinik der AD nach Alter der betroffenen Personen (AKDIS et al., 2006):

- Säuglinge sind von juckenden, erythematösen Papeln und Vesikeln im Gesichtsbereich (Stirn, Backen, Kopfhaut) betroffen.
- Kinder im Alter von zwei Jahren bis zur Pubertät zeigen eine eher chronische Form der AD, die mit lichenifizierten Papeln und Plaques an Händen, Füßen, Handgelenken, Knöcheln, Ellbogenbeugen und Kniekehlen einher geht.
- AD bei Erwachsenen ab der Pubertät ist charakterisiert durch trockene, schuppige, gerötete Papeln und Plaques und großflächige lichenifizierte Stellen, v.a. an Beugeseiten der Gelenke, Gesicht, Nacken, proximal an den Armen und dem Rücken und an den Dorsalseiten von Händen, Füßen, Fingern und Zehen.

2.3 Diagnose

Zur Diagnose der Neurodermitis stellt eine ausführliche Anamnese mit Heranziehen der familiären Erkrankungen einen wichtigen Schritt dar. Hierbei werden sowohl genetische Prädispositionen, als auch Umgebungsfaktoren analysiert (SCHMID-GRENDELMEIER & BALLMER-WEBER, 2010).

Anschließend ist eine gründliche klinische Evaluierung vonnöten. Die Neurodermitiskriterien nach Williams können zur Diagnose herangezogen werden (WILLIAMS, 1996). Mögliche Differentialdiagnosen werden ggf. ausgeschlossen

(SCHMID-GRENDELMEIER & BALLMER-WEBER, 2010).

Als nächster Schritt kann durch den sogenannten Prickhauttest die Beteiligung verschiedenster Allergene überprüft werden (SCHMID-GRENDELMEIER & BALLMER-WEBER, 2010). Bei diesem Test werden einzelne Tropfen verschiedener auszutestender Allergene auf die Haut aufgetragen und mittels Stichen mit einer Lanzette oder Nadel in die Haut eingebracht. Durch das eindringende Antigen werden Mastzellen aktiviert, indem es mit IgE Antikörpern auf den Zelloberflächen interagiert. In der Folge kommt es zum Freiwerden von Histamin und anderen Substanzen und zur Entwicklung von Erythem und Quaddeln (KIM & MUN, 2010).

Durch Untersuchung des Blutes auf spezifische IgE Antikörper (z.B. Hausstaubmilben, Malassezien) können die beteiligten Allergene ebenfalls identifiziert werden (SCHMID-GRENDELMEIER & BALLMER-WEBER, 2010). Eine Bestimmung des Gesamt-IgE ist wenig sinnvoll, da eine Erhöhung auch bei nicht atopischen Patienten vorliegen kann (SCHMID-GRENDELMEIER & BALLMER-WEBER, 2010).

Der sogenannte Patch-Test wurde in letzter Zeit zunehmend in der Forschung eingesetzt. Bei diesem Test werden Nahrungsmittel- oder Umweltallergene mittels kleiner Kammern auf die Haut aufgebracht (Epikutantest). Die ausgelöste Ekzemreaktion lässt auf eine Allergie schließen. Zur Diagnose einer beteiligten Kontaktallergie scheint der Patch-Test von großem Nutzen zu sein (DARSOW & RING, 2003; SCHMID-GRENDELMEIER & BALLMER-WEBER, 2010).

Die Ergebnisse der Blut- und Hauttests müssen bei jedem einzelnen Patienten durch Provokation überprüft werden, da die Therapie oder Vermeidung der Allergie eine große Einschränkung für den Patienten bedeutet (SCHMID-GRENDELMEIER & BALLMER-WEBER, 2010).

Zum Ausschluss einer Beteiligung von Nahrungsmittelallergenen kann eine Eliminationsdiät über vier bis sechs Wochen durchgeführt werden (SCHMID-GRENDELMEIER & BALLMER-WEBER, 2010).

2.4 Therapie

Man kennt drei unterschiedliche Herangehensweisen an die Behandlung einer Umweltallergie: Vermeidung, symptomatische Therapie und allergen-spezifische Immuntherapie (NESBITT et al., 1984). Die Therapie wird je nach Alter, Schweregrad, Chronizität, Lokalisation und Leidensdruck individuell dem Patienten angepasst (WILLIAMS & GRINDLAY, 2009; SCHMID-GRENDELMEIER & BALLMER-WEBER, 2010).

AKDIS (2006) und SCHMID-GRENDELMEIER & BALLMER-WEBER (2010) teilen die Neurodermitis je nach Hautzustand in vier Stufen ein, wobei die Stufe über die Therapieform entscheidet (Tabelle 2: Einteilung der Neurodermitis nach Hautzustand):

Tabelle 2: Einteilung der Neurodermitis nach Hautzustand

Stufe 1	Trockene Haut, geringer Pruritus
	<ul style="list-style-type: none"> - Allergenvermeidung - Therapie mit Emollientien (Hautpflegemittel) - Reduktion von Hautirritation
Stufe 2	Vereinzelte, gelegentliche Ekzemherde, einige Tage anhaltend
	<ul style="list-style-type: none"> - Stufe 1 Behandlung - Topikale Steroide - Orale Antihistaminika
Stufe 3	Anhaltende, ausgedehnte Ekzemherde, kaum freie Intervalle
	<ul style="list-style-type: none"> - Stufe 2 Behandlung - Phototherapie - Desinfektionsmittel - Ggf. systemische Antibiose - Ggf. antimykotische Behandlung - ASIT
Stufe 4	Exzerbierete, generalisierte, nahezu permanente Ekzeme, Erythrodermie
	<ul style="list-style-type: none"> - Systemische Steroidtherapie über einige Tage - Zyklosporin - Immunsuppressiva (Azathioprin, Methotrexat, Mycophenolat) - Biologicals (Omalizumab, Efalizumab, Rituximab)

(AKDIS et al., 2006; SCHMID-GRENDELMEIER & BALLMER-WEBER, 2010)

2.4.1 Basisbehandlung

Die Meidung der an einer Allergie beteiligten auslösenden Substanzen stellt die einfachste Therapieform dar. Allerdings gestaltet sich die Meidung verschiedenster Pollen- oder Milbenarten meist so schwierig, dass sie keine Alternative zur medikamentösen Therapie darstellen (SCHMID-GRENDELMEIER & BALLMER-WEBER, 2010). Allergenvermeidung von Umwelt-, Nahrungsmittel- und Kontaktallergenen sollte so weit es möglich ist praktiziert werden (AKDIS et al., 2006).

Es gibt bestimmte Faktoren, die einen Ausbruch der Neurodermitis begünstigen (SCHMID-GRENDELMEIER & BALLMER-WEBER, 2010):

- Irritation der Haut, z.B. durch Textilien, Schwitzen, Tabakrauch
- mechanische Reizung der Haut
- rasche Temperaturänderungen
- psychischer Stress
- hormonelle Faktoren (Schwangerschaft, Menstruation)

Diese haben einen individuell unterschiedlichen Einfluss auf die betroffene Person. Durch Vermeidung dieser Provokationsfaktoren kann eine Linderung der Symptome erreicht werden (SCHMID-GRENDELMEIER & BALLMER-WEBER, 2010).

Durch eine angepasste Körperhygiene können die Symptome einer Neurodermitis gemildert werden. Es wird empfohlen, nicht länger als 15 Minuten ein Bad zu nehmen und dabei die Temperatur von 37 °C nicht zu überschreiten. Beim Duschen sollte auf einen weichen Wasserstrahl geachtet werden. Diese Vorsorgemaßnahmen vermeiden eine unnötige Reizung der Haut und somit eine Schwächung der Hautbarriere (SCHMID-GRENDELMEIER & BALLMER-WEBER, 2010). Verwendete Seifen sollten einen physiologischen pH-Wert aufweisen (5,5 – 6,0), um den Säuremantel der Haut aufrecht zu erhalten (AKDIS et al., 2006). Beim Abtrocknen sollte ein Reiben auf der Haut vermieden werden, da dies zu einer verstärkten Durchblutung der Haut und somit einer Zunahme des Juckreizes führen kann (SCHMID-GRENDELMEIER & BALLMER-WEBER,

2010). Das Baden im Schwimmbad hat wegen des chlorhaltigen Wassers negative Einflüsse auf die Haut des Allergikers. Durch anschließendes ausgiebiges Duschen und rückfettende Lotionen kann einer Verschlimmerung der Symptomatik vorgebeugt werden (SCHMID-GRENDELMEIER & BALLMER-WEBER, 2010). Es sollte Kleidung gewählt werden, die nicht reibt, kratzt oder die Haut irritiert. Vermieden werden sollte Bekleidung aus Wolle oder reizendem synthetischen Material (AKDIS et al., 2006). Durch Emollientien kann die Haut feucht gehalten werden, was sich günstig auf den Juckreiz und die Hautbarriere auswirkt (AKDIS et al., 2006). Die Vermeidung von Katzenhaltung stellt eine Möglichkeit der Symptomlinderung bei katzenallergischen Patienten dar (BISGAARD et al., 2008).

2.4.2 Symptomatische Therapie

2.4.2.1 Phototherapie

UVB und Hochdosis-UVA-1 Therapie stellen bei Erwachsenen eine gute Behandlungsmöglichkeit bei akuten Neurodermitisschüben dar. Sie sollte nicht bei Kindern unter zwölf Jahren angewendet werden. Eine Kombination mit Calcineurin-Inhibitoren, Mycophenolat und Azathioprin sollte vermieden werden (SCHMID-GRENDELMEIER & BALLMER-WEBER, 2010).

Es sind noch keine Daten zu Langzeitnebenwirkungen bekannt (AKDIS et al., 2006).

2.4.2.2 Systemische Therapie

2.4.2.2.1 Antimikrobiell

a) Antibakteriell

Systemische antibakterielle Therapie ist bei auf weite Hautareale ausgedehnten Sekundärinfektionen anzuwenden. Am wirksamsten gegen *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), den hierbei bedeutendsten Keim, haben sich Cephalosporine der ersten und zweiten Generation und Penicilline bei einer Anwendungsdauer von

sieben bis zehn Tagen erwiesen. Bei Allergien auf die genannten Antibiotika empfiehlt sich die Anwendung von Clindamycin oder Fusidinsäure. Nach Absetzen der antimikrobiellen Therapie kommt es sehr häufig zur erneuten Infektion. Eine Langzeittherapie mit Antibiotika ist wegen der Gefahr der Resistenzbildung allerdings abzulehnen (AKDIS et al., 2006). Lokale Therapien mit antibakteriellen Mitteln werden ebenfalls empfohlen (SCHMID-GRENDELMEIER & BALLMER-WEBER, 2010).

b) Antiviral

Bei einer Infektion mit *Herpes simplex* in der Form eines Ekzema herpeticum ist eine systemische antivirale Therapie von Nöten. Diese Infektion stellt eine lebensbedrohliche Komplikation der Neurodermitis dar. Es kommen Acyclovir oder Valacyclovir zum Einsatz und eine Hospitalisierung des Patienten wird empfohlen (AKDIS et al., 2006; SCHMID-GRENDELMEIER & BALLMER-WEBER, 2010).

c) Antimykotisch

Hefepilze und Dermatophyten können eine Komplikation bei der Neurodermitis darstellen (AKDIS et al., 2006). Antimykotische Therapie kann bei mit Pilzen infizierten Patienten mit Neurodermitis einen günstigen Einfluss haben (SCHMID-GRENDELMEIER & BALLMER-WEBER, 2010). Laut AKDIS (2006) ist allerdings eine günstige Auswirkung von antimykotischer Therapie auf die Symptomatik noch nicht sicher nachgewiesen. Es sind weitere Studien erforderlich (AKDIS et al., 2006).

2.4.2.2.2 Glukokortikoide

Systemisch angewendete Glukokortikoide haben einen mildernden Effekt auf Juckreiz und Entzündungssymptome. Bei Langzeittherapie treten allerdings häufig Nebenwirkungen wie Wachstumsstörung, Osteoporose, Lymphopenie und Katarakt auf. Daher sollte die Anwendung von oralen Glukokortikoiden bei

akuten Schüben auf eine kurze Dauer beschränkt bleiben. Eine Anwendung bei Kindern ist abzulehnen (AKDIS et al., 2006). Bei leichter bis mäßig ausgeprägter Neurodermitis ist die Verabreichung eines starken Glukokortikoids für eine kurze Dauer effektiv (WILLIAMS & GRINDLAY, 2008).

2.4.2.2.3 Antihistaminika

Antihistaminika werden in der Humanmedizin zur antipruriginösen Therapie eingesetzt. Es werden hierbei H1-Antihistaminika ohne sedativen Effekt verwendet. Sie führen zu einer mäßigen Reduktion des Juckreizes, können aber nicht zur alleinigen Therapie verwendet werden, da sie nachweislich keine Verbesserung des Hautbildes erzielen (AKDIS et al., 2006; SCHMID-GRENDELMEIER & BALLMER-WEBER, 2010).

Antihistaminika mit sedativem Effekt haben größere Wirkung bei akuten Schüben der AD (AKDIS et al., 2006).

Weitere Studien zu Antihistaminika sind wünschenswert.

2.4.2.2.4 Essentielle Fettsäuren

Der Einsatz von Nachtkerzenöl kann zu einer Verbesserung der Neurodermitis beitragen. Es bedarf allerdings noch weiterer Studien, um die Wirksamkeit zu validieren (SCHMID-GRENDELMEIER & BALLMER-WEBER, 2010).

2.4.2.2.5 Zyklosporin A

In mehreren Studien konnte eine hohe Wirksamkeit in einer Dosis von 1 bis 1,5 mg/kg Körpergewicht (KG) nachgewiesen werden. Bei dieser Dosierung treten sehr selten Nebenwirkungen auf (SCHMID-GRENDELMEIER & BALLMER-WEBER, 2010).

CyA greift in calcineurinabhängige Stoffwechselwege ein und mindert die Produktion von proinflammatorischen Zytokinen wie IL-2 und IFN- γ . In mehreren Studien wurde die Wirksamkeit von CyA bei atopischer Dermatitis

gesichert. Die Anwendung sollte allerdings wegen der potentiellen Nierentoxizität auf schwere Fälle der AD beschränkt bleiben und durch vorherige Laboruntersuchungen und Blutdruckmessungen abgesichert werden. Dabei können auch manchmal abhängig vom Patienten hohe Dosierungen (3 – 5 mg/kg KG pro Tag) verwendet werden (AKDIS et al., 2006).

2.4.2.2.6 Azathioprin

Azathioprin wirkt immunsuppressiv, indem es die DNA- und RNA-Synthese in den proliferierenden Lymphozyten hemmt und die Coenzymbildung und -funktion stört. Azathioprin wird vom Thiopurin-Methyltransferase verstoffwechselt. Daher sollte vor Therapiebeginn die Konzentration dieses Enzyms bei jedem Patienten bestimmt werden. Allgemein werden Dosen von 1 bis 3mg/kg KG pro Tag empfohlen, wobei eine Anpassung an die Enzymkonzentration erfolgen muss. Azathioprin findet unter anderem Anwendung in der Therapie der AD. Dabei ist zu beachten, dass es einige Nebenwirkungen hervorrufen kann: Myelosuppression, Hepatotoxizität, gastrointestinale Beschwerden, erhöhtes Infektionsrisiko, mögliche Entwicklung von Hautkrebs. Während der Therapie sind regelmäßige Blutuntersuchungen angezeigt. Ein Wirkungseintritt kann nach zwei bis drei Monaten erwartet werden (AKDIS et al., 2006).

2.4.2.3 Topische Medikamente

2.4.2.3.1 Präventiv

Als präventive topische Therapie ist die Anwendung von Tacrolimuspräparaten an zwei Tagen pro Woche beschrieben. Dies führt nachweislich bei regelmäßiger Anwendung auch in schubfreien Intervallen zu weniger Ausbrüchen der AD (WOLLENBERG & BIEBER, 2009; SCHMID-GRENDELMEIER & BALLMER-WEBER, 2010).

Ebenso ist das topische Glukokortikoid Fluticasonpropionat wirksam in der präventiven Anwendung. Ein Problem bei dessen Anwendung stellt die mangelhafte Akzeptanz bei den Behandelten dar (BERTH-JONES et al., 2003;

SCHMID-GRENDELMEIER & BALLMER-WEBER, 2010).

2.4.2.3.2 Emollientien

Die Behandlung mit topischen Hautpflegemitteln soll zu einer Stärkung der angegriffenen Hautbarriere führen und dem transepithelialen Wasserverlust entgegenwirken. Atopische Patienten leiden oft unter trockener Haut, was zu Juckreiz und erhöhtem Infektionsrisiko führt. In der Humanmedizin sind Emollientien in Form von Lotionen, Cremes, Badezusätzen, Duschgels usw. erhältlich. Bei der Anwendung ist es wichtig, dass sie kontinuierlich, d.h. auch bei Abwesenheit von Symptomen, durchgeführt wird. Emollientien sollen durch verschiedene Mechanismen den Juckreiz mildern (AKDIS et al., 2006; SCHMID-GRENDELMEIER & BALLMER-WEBER, 2010) (Tabelle 3: Emollientien):

Tabelle 3: Emollientien

Paraffin	Okklusionswirkung, die den Wasserverlust der Haut minimiert
Harnstoff	Verbesserte Bindung von Wasser in der Haut
Hydrophile Cremes	Addition von zusätzlichem Wasser auf der Haut
Salizylsäure	Gegen chronische hyperkeratotische Läsionen
Polidocanol	Gegen Juckreiz

(AKDIS et al., 2006; SCHMID-GRENDELMEIER & BALLMER-WEBER, 2010)

2.4.2.3.3 Glukokortikoide

Bei akuten Hautekzemen helfen lokal aufgetragene Glukokortikoide (DARSOW et al., 2005; AKDIS et al., 2006). Sie wirken intrazellulär durch eine Hemmung der Bildung proinflammatorischer Zytokine. Nebenwirkungen bei der topischen Glukokortikoidtherapie stellen Atrophie der Haut, Teleangiektasien (Erweiterung der Kapillargefäße der Haut), sekundäre Infektionen, periorale Dermatitis, Rosazea (akneartige Erkrankung) oder Striae distensae (Dehnungsstreifen) dar (SCHMID-GRENDELMEIER & BALLMER-WEBER, 2010).

Je nach Potenz des Glukokortikoids erfolgt eine Einteilung in vier Gruppen (Tabelle 4: Einteilung der Glukokortikoide):

Tabelle 4: Einteilung der Glukokortikoide

Gruppe 1	mild
Gruppe 2	moderat
Gruppe 3	stark
Gruppe 4	sehr stark

(DARSOW et al., 2005)

Bei der Anwendung ist zu beachten, dass Gruppe drei und vier schneller Nebenwirkungen hervorrufen als Gruppe eins und zwei (DARSOW et al., 2005).

Neue Glukokortikoide wie Prednicarbat, Mometasonfuroat, Fluticasonpropionat (VAN DER MEER et al., 1999) und Methylprednisolonaceponat haben geringere Nebenwirkungen (AKDIS et al., 2006).

Die Anwendung auf bestimmte Hautbezirke wie genital, fazial und intertriginös sollte auf wenige Tage beschränkt bleiben (AKDIS et al., 2006).

Es gibt verschiedene Behandlungsprotokolle, wobei die intermittierende Behandlung eines davon darstellt. Die initiale Therapie mit hoch dosierten Glukokortikoiden und anschließender Reduktion, entweder der Konzentration oder der Frequenz, stellt eine empfohlene Herangehensweise dar (AKDIS et al., 2006).

2.4.2.3.4 Calcineurinantagonisten

Pimecrolimus und Tacrolimus sind eine Alternative zur Glukokortikoidtherapie (HULTSCH et al., 2005). Sie wirken antiinflammatorisch und immunmodulierend, ohne dabei Langerhanszellen und dendritische Zellen zu beeinflussen (HULTSCH et al., 2005; AKDIS et al., 2006). Einprozentiges Pimecrolimus hat im Vergleich zu 0,1-prozentigem Tacrolimus eine geringere Wirkungspotenz. Es kann bei der Anwendung von Calcineurin-Inhibitoren zu

vorübergehendem Brennen auf der Haut kommen. Im Gegensatz zu lokalen Kortikoiden kommt es nicht zu einer Hautatrophie, daher sind die Calcineurin-Inhibitoren geeignet zur Therapie empfindlicher Areale (AKDIS et al., 2006).

Wegen eines Fehlens von Langzeitstudien hat die United States Food and Drug Administration eine Warnung bezüglich kanzerogenem Potential von Tacrolimus (Protopic ®; Astellas Pharma, München, Deutschland) und Pimecrolimus (Elidel ®; Novartis, Basel, Schweiz) ausgesprochen (AKDIS et al., 2006).

2.4.2.3.5 Antimikrobiell

Bei Patienten mit Hautinfektionen ist eine antimikrobielle Therapie angezeigt. Das häufigste Hautbakterium beim Menschen ist *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). Eine antiseptische Therapie mit Chlorhexidin oder Triclosan führt zu einer Minderung der Hautinfektion und der Atopiesymptome. Es liegt eine geringe Resistenz von *S. aureus* gegen diese Wirkstoffe vor. Besteht eine Sekundärinfektion, ist eine topische Antibiotika-Therapie angezeigt. Als wirksam gegen *S. aureus* hat sich hierbei Fusidinsäure und Mupirocin erwiesen. Fusidinsäure hat eine hervorragende hautpenetrierende Eigenschaft und benötigt dadurch eine geringe Konzentration, um seine Wirkung zu entfalten. Mupirocin wird als Nasensalbe zur Eradikation von MRSA bei besiedelten Menschen erfolgreich verwendet. Auf das früher oft verwendete Erythromycin haben die meisten *S. aureus* Stämme bereits Resistenzen entwickelt. Die topische Anwendung von Antibiotika sollte auf wenige Wochen beschränkt bleiben, da es sonst zur Resistenzbildung kommen kann (AKDIS et al., 2006; SCHMID-GRENDELMEIER & BALLMER-WEBER, 2010).

Eine Reinigung der Haut mit desinfizierenden Bädern oder antibakteriellen Salben bringt den Patienten durch eine Verminderung der Bakterienkonzentration Linderung (HUANG et al., 2009).

2.4.3 Allergen-spezifische Immuntherapie

Die allergen-spezifische Immuntherapie ist eine Verabreichung von schrittweise

gesteigerten Mengen an Allergenextrakt an einen Allergiker, mit dem Ziel die Symptome, die durch die unterschwellige Exposition mit zugrundeliegendem Allergen entstehen, zu mildern (WHO Definition) (BOUSQUET et al., 1998; GRIFFIN & HILLIER, 2001).

Zum ersten Mal kam diese Form der Therapie gegen Heuschnupfen im Jahr 1911 zum Einsatz (NOON, 1911; DES ROCHES et al., 1997; GRIFFIN & HILLIER, 2001).

Heute wird ASIT beim Menschen erfolgreich eingesetzt zur Therapie von allergischer Rhinitis, Konjunktivitis, Insektenstichallergie und Asthma (FREW, 1993; GRIFFIN & HILLIER, 2001; FREW, 2010).

Es gibt einige wenige Studien und Fallberichte, die eine Effektivität der ASIT im Falle einer AD belegen (LOEWENSTEIN & MUELLER, 2009). VIDAL und Mitarbeiter (2008) beschreiben die Wirksamkeit der subkutanen ASIT bei einem chronisch betroffenen Patienten (VIDAL et al., 2008). In einer randomisierten Doppelblind-Studie konnte die dosisabhängige Wirkung durch Reduktion benötigter Glukokortikoide belegt werden (WERFEL et al., 2006). Bei BUSSMANN und Mitarbeitern (2007) konnte ein signifikanter Rückgang von Hautläsionen nachgewiesen werden (BUSSMANN et al., 2007). Als effektiv für die Behandlung der durch Staubmilben verursachten Neurodermitis stellte sich eine Desensibilisierung gegen Hausstaubmilben heraus (SCHMID-GRENDELMEIER & BALLMER-WEBER, 2010).

Die Wirksamkeit bei atopischen Ekzemen wird kontrovers diskutiert (BREHLER et al., 1997; NELSON, 2003). Ebenso bedarf es bei dem Einsatz der ASIT bei Nahrungsmittelallergien weiterer Forschung (NELSON et al., 1997).

2.4.3.1 Wirkungsweise

Die genaue Wirkungsweise der ASIT ist noch nicht vollständig aufgeklärt. Es wird weiter an der ASIT geforscht, um die Effektivität, Sicherheit, Schnelligkeit und Dauerhaftigkeit zu verbessern (LOEWENSTEIN & MUELLER, 2009; FREW, 2010).

Mögliche Mechanismen der Immuntherapie nach FREW (2010) sind in folgender Tabelle dargestellt (FREW, 2010) (Tabelle 5: Mechanismen der Immuntherapie):

Tabelle 5: Mechanismen der Immuntherapie

- Reduktion spezifischer IgE Werte
- Induktion spezifischer IgG Antikörper
- Reduzierte Chemotaxis von Effektorzellen
- Verschiebung des Gleichgewichts von Th2 zu Th1 Helferzellen
- Induktion von regulatorischen T-Zellen

(FREW, 2010)

Neuere Studien zeigen, dass der Schlüsselmechanismus der ASIT in der Induktion einer T-Zellenanergie liegt. Sie wird durch IL-10 und den daraus aktivierten Zytokinen ausgelöst und resultiert in einer Normalisierung der Immunität (AKDIS & BLASER, 2000).

2.4.3.2 Durchführung

Es gibt verschiedene Protokolle zum Beginn einer ASIT:

Bei der klassischen Immuntherapie werden die verabreichten Dosen zu Beginn wöchentlich gesteigert, bis man die Erhaltungsdosis erreicht hat. Diese wird dann im Intervall von vier bis sechs Wochen über einen Zeitraum von drei bis fünf Jahren unter die Haut injiziert (FREW, 2010).

Beim sogenannten Cluster-Protokoll werden in wöchentlichen Abständen mehrere Dosierungsschritte in einem Tag durchlaufen (FREW, 2010).

Bei der Rush-Immuntherapie durchläuft man die gesamte Dosierungserhöhung bis zur Erhaltungsdosis in einem Tag. Der Nachteil besteht darin, dass häufig adverse Reaktionen auf diese Immuntherapie auftreten. Von Vorteil ist der schnellere Wirkungseintritt bei diesem Therapieprotokoll (FREW, 2010).

3. Kanine atopische Dermatitis

HALIWELL (2006) definiert die kanine atopische Dermatitis als eine genetisch prädisponierte, entzündliche und juckende allergische Hauterkrankung mit charakteristischen klinischen Merkmalen, die meist mit gegen Umweltallergene gerichtete IgE-Antikörper assoziiert sind (HALLIWELL, 2006; OLIVRY et al., 2010). OLIVRY und Mitarbeiter (2001) definieren die Atopie als genetisch prädisponierte Neigung eine IgE-medierte Allergie auf Umweltallergene zu entwickeln (OLIVRY et al., 2001b).

Das erste Mal wurde im Jahr 1941 von WITTICH über die klinische Manifestation von kaniner Atopie bei einem Hund in Form von saisonaler Rhinitis berichtet (WITTICH, 1941). PATTERSON (1960) berichtete von einem Hund mit Konjunktivitis, gesteigerter Tränenproduktion und Juckreiz (PATTERSON, 1960). Im Jahr 1971 wurden zum ersten Mal die Symptome der CAD beschrieben (HALLIWELL, 1971).

Zur Prävalenz der kaninen atopischen Dermatitis liegen keine ausreichenden Daten vor. In Studien mit kleinen Patientenzahlen lag die Prävalenz zwischen drei und 15 % (CHAMBERLAIN, 1974; REEDY et al., 1997; SCOTT et al., 2001). Im Jahre 1999 zeigten LUND und Mitarbeiter in einer Studie mit 31484 Hunden, dass bei 8,7 % aller untersuchten Hunde in Privatpraxen eine atopische oder allergische Dermatitis, Allergie oder Atopie diagnostiziert wurde (LUND et al., 1999).

Wie bei den atopischen Erkrankungen des Menschen werden verschiedene Gründe für eine erhöhte Inzidenz der CAD in der Umwelt der Hunde gesehen. Hunde verbringen heutzutage mehr Zeit im Haus als draußen und werden so vermehrt „Haus“-Allergenen ausgesetzt (v.a. Hausstaubmilben). Insgesamt hat die Zahl der Impfungen bei Welpen zugenommen, was möglicherweise zu einem Anstieg von IgE Antikörpern führt. Außerdem könnte die häufigere Anwendung von Endo- und Ektoparasitika zu einer höheren Prävalenz führen (HILLIER & GRIFFIN, 2001).

3.1 Pathogenese

Die Atopie stellt eine häufige, in der Bedeutung zunehmende, allergische Erkrankung bei Hund und Katze dar (SCOTT et al., 2001). Für die Entstehung einer Umweltallergie sind der vorherige Kontakt zu den Allergenen und eine anschließende Sensibilisierung dagegen Voraussetzung (SCOTT, 1981; GOSSELIN et al., 1983). Die Häufung der CAD innerhalb bestimmter Rassen lässt auf eine genetische Komponente schließen (SOUSA & MARSELLA, 2001; MARSELLA & OLIVRY, 2003).

Obwohl bei der AD klassischerweise eine Hypersensibilitätsreaktion vom Typ-1 vorliegt, scheinen laut SCOTT und Mitarbeiter (2001) noch andere Komponenten des Immunsystems beteiligt zu sein. Die exakte Pathogenese der Atopie beim Hund ist noch nicht völlig geklärt und bedarf weiterer Studien. In akuten Phasen der AD sind die epidermalen Grenzmechanismen zur Umwelt gestört und ein Eindringen von Allergenen ist dadurch erleichtert (SCOTT et al., 2001; OLIVRY, 2004). Das Eindringen der Allergen ist in folgender Abbildung schematisch dargestellt (Abbildung 2: Eindringen von Antigenen).

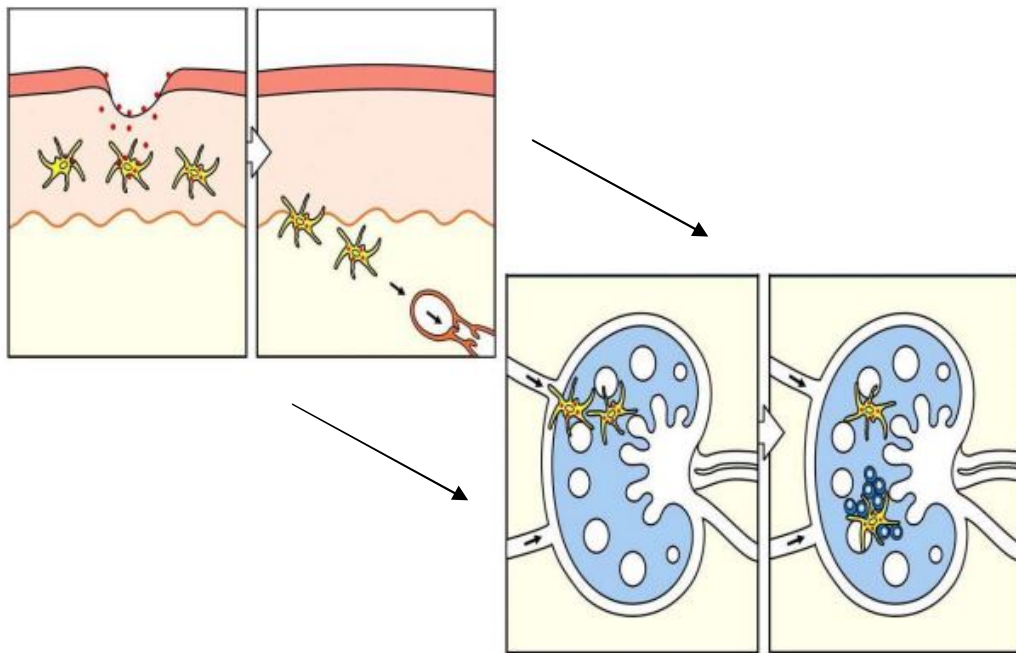


Abbildung 2: Eindringen von Antigenen modifiziert nach (JANEWAY, 2005)

Immunglobulin E wird auf der Oberfläche von Mastzellen präsentiert. Eindringende Antigene werden an IgE und an der Oberfläche von kutanen antigenpräsentierenden Zellen (APC) gebunden. APC werden auch als dendritische Zellen oder Langerhans Zellen bezeichnet. Sie binden und beseitigen Fremdanigene, indem sie diese dem Immunsystem präsentieren und somit eine immunologische Reaktion einleiten. Mittels antigenpräsentierender Zellen werden die Allergene an IgE gebunden und so zur Dermis und regionalen Lymphknoten transportiert (Siehe Abbildung 2: Eindringen von Antigenen). Daraus entstehende Entzündungsmediatoren aktivieren Keratinozyten, wodurch weitere Chemokine und Zytokine entstehen. Bei Allergenkontakt werden Histamin, Proteasen, Chemokine und Zytokine von dermalen Mastzellen sezerniert. Vorher eingewanderte eosinophile Granulozyten degranulieren und setzen gewebeschädigende Proteine frei. Durch Typ-2 T-Helferzellen werden Zytokine produziert, die zu einem Überleben von Eosinophilen und einer gesteigerten Produktion von IgE führen. Es wird vermutet, dass Neuromediatoren, selbst zugefügtes Trauma und Mikroorganismen eine Rolle bei chronischen Hauterkrankungen spielen (OLIVRY et al., 2005; MARSELLA & SAMUELSON, 2009; OLIVRY et al., 2010).

Andere Theorien zur Pathogenese der AD bestehen in einer humoralen Desensibilisierung (Reduktion von IgE), zellulären Desensibilisierung (reduzierte Aktivität von Mastzellen und basophilen Granulozyten), Immunisierung (Induktion von blockierenden Antikörpern), Toleranz (Entstehen von allergenspezifischen Suppressorzellen) und Kombinationen der einzelnen Theorien (REEDY & MILLER, 1989; KEPPEL et al., 2008).

Die CAD ist häufig mit einem erhöhten IgE-Serumspiegel verbunden (OLIVRY et al., 2001b), allerdings steht die IgE-Konzentration nicht unbedingt in direktem Zusammenhang mit dem Auftreten von Krankheitssymptomen (MARSELLA & OLIVRY, 2003). Verdeutlicht wird diese Tatsache durch die häufigen positiven Hauttestreaktionen auf Hausstaubmilben bei gesunden Hunden (LIAN & HALLIWELL, 1998). IgE-Antikörper können auf der Oberfläche von epidermalen und dermalen dendritischen antigenpräsentierenden Zellen nachgewiesen werden. Daher kann angenommen werden, dass IgE eine Rolle bei der Allergenbindung und/oder Antigen-Präsentation spielt. Die Anzahl dendritischer Zellen, die IgE-Moleküle auf ihrer Oberfläche gebunden haben, korreliert mit den vorhandenen IgE-Spiegeln (OLIVRY et al., 1996). Eine Beteiligung von IgG an der Pathogenese der CAD konnte bisher nicht belegt werden (HALLIWELL & DEBOER, 2001).

Eosinophile Granulozyten besitzen mehrere Effekte. Zum einen schütten sie nach ihrer Aktivierung durch Mikroorganismen oder Parasiten toxische Granula und freie Radikale aus, die diese töten sollen. Entsteht diese Aktivierung allerdings durch eine Allergie, kommt es zu Schäden im infiltrierten Gewebe. Zum anderen werden von den aktivierten Granulozyten Mediatoren synthetisiert, welche Prostaglandine, Leukotriene und Zytokine freisetzen, wodurch die Entzündungsreaktion noch verstärkt wird (JANEWAY, 2002). Bei einer allergischen Reaktion kommt es durch die Mastzelldegranulation und Th2-Aktivierung zu einer Aktivierung und Ansammlung von eosinophilen Granulozyten. Charakteristisch für eine chronische Allergie ist eine Eosinophilie. Die Ansammlung dieser Granulozyten im Gewebe wird für die verursachten Gewebeschäden verantwortlich gemacht (JANEWAY, 2002).

Zytokine werden im Körper durch verschiedene Aktivierungsreize freigesetzt und binden an verschiedene Rezeptoren, wodurch sie eine Reaktion des Körpers

auslösen. Die Bezeichnung Interleukin wurde gewählt, um eine Gruppe von Zytokinen zusammenzufassen, die von Leukozyten sezerniert werden oder auf diese wirken (JANEWAY, 2002). Proinflammatorische Zytokine und Chemokine lösen an infiltrierten Stellen Hautläsionen aus (LEUNG et al., 2004).

Verschiedene Zytokine spielen eine Rolle bei der Regulation des Immunsystems, indem Sie T-Zellen hemmend oder aktivierend beeinflussen. Man teilt die T-Zellen ein in Th1 und Th2. Th1-Zellen führen zu einer Sekretion von IL-2, IFN- γ und TNF- β , welche mit der zellmedierten Immunität (Entzündung, Zytotoxizität, Immunreaktionen vom verzögerten Typ) in Zusammenhang stehen. Th2-Zellen produzieren IL-4, IL-5 und IL-13, welche mit Antikörperbildung und Eosinophilie verbunden sind (JUTEL et al., 2003). Bei der AD ist das Verhältnis von Th1 zu Th2 in Richtung Th2 verschoben. Durch diese Verschiebung (v.a. durch erhöhte IL-4 und IL-13 Konzentration) kommt es zu einer Erhöhung von allergenspezifischen IgE-Antikörpern im Blut (BIEDERMANN & ROCKEN, 1999; JUTEL et al., 2003). Interleukin-5-Ausschüttung führt zu einer längeren Lebensdauer von eosinophilen Granulozyten und somit zur Eosinophilie (JUTEL et al., 2003).

Interleukin 4 wird von T-Zellen und Mastzellen produziert und wirkt aktivierend auf die B-Zellen, hemmend auf die Th1-Zellen und bewirkt einen IgE-Wechsel (JANEWAY, 2002).

Interleukin 10 wird von T-Zellen, Makrophagen, von Epstein-Barr-Virus (EBV)-transformierenden B-Zellen und aktivierten Monozyten produziert (JANEWAY, 2002; KJELGAARD-HANSEN et al., 2007). Es hat mehrere potentielle antiallergene Wirkungen: Es wirkt inhibitorisch auf die Makrophagenfunktion, die eosinophilen Granulozyten und die T-Zell-Antwort und bewirkt einen B-Zell-Klassenwechsel in Richtung IgG 4 (JANEWAY, 2002; TILL et al., 2004). Es führt außerdem eine Unterdrückung der Immunantwort und Entzündung herbei (KJELGAARD-HANSEN et al., 2007).

TGF wird durch T-Zellen produziert und wirkt regulatorisch auf das Immunsystem. Verschiedene nahe verwandte Moleküle werden zu TGF zusammengefasst und als TGF- β 1, TGF- β 2 und TGF- β 3 bezeichnet. Das Zytokin TGF- β 1 wird hauptsächlich von Zellen des Immunsystems synthetisiert. TGF- β

inhibiert die Proliferation und Differenzierung von T-Zellen, aktiviert Makrophagen, hemmt proinflammatorische Zytokine und hat einen Einfluss auf die Wirkung von neutrophilen Granulozyten und endothelialen Zellen. Allgemein formuliert inhibiert TGF- β Entzündungsreaktionen und immunologische Vorgänge. Zusätzlich stimuliert TGF- β durch „class switching“ von Immunglobulinen die Produktion von IgA (JANEWAY, 2002).

IFN- γ wird durch T-Zellen und natürliche Killerzellen produziert und hat eine Vielzahl von Wirkungen. Es aktiviert Makrophagen, erhöht die Expression von Major Histocompatibility Complex (MHC)-Molekülen und Komponenten des Antigenprozessierungssystems, führt zu einem Ig-Klassenwechsel und hemmt Th2-Zellen (JANEWAY, 2002).

Die folgende Abbildung (Abbildung 3: Pathogenese der atopischen Dermatitis) veranschaulicht die Pathogenese der CAD: Eine gestörte Barrierefunktion der Haut führt zum Eindringen der Allergene (1). Dort werden sie an antigenpräsentierende Zellen (APC) gebunden (2). Im Folgenden immigrieren diese in den Lymphknoten (3), wo sie den T-Zellen präsentiert werden (4) und anschließend zu Th2-Zellen proliferieren, welche dann IL-4, IL-5 und IL-13 sezernieren (5). Die freigesetzten Zytokine bewirken eine Aktivierung von eosinophilen Granulozyten und einen Isotypen-Wechsel und die IgE-Produktion in B-Zellen. Allergene binden außerdem an Mastzellen in der Haut, die dadurch degranulieren (6). Daraufhin werden endotheliale Zellen aktiviert und exprimieren adhäsive Moleküle (7), welche die Bindung und Exozytose von Entzündungszellen ermöglichen. T-Zellen sezernieren Zytokine und eosinophile Granula werden frei (8), was zu Entzündung und klinischen Symptomen führt (LOEWENSTEIN & MUELLER, 2009).

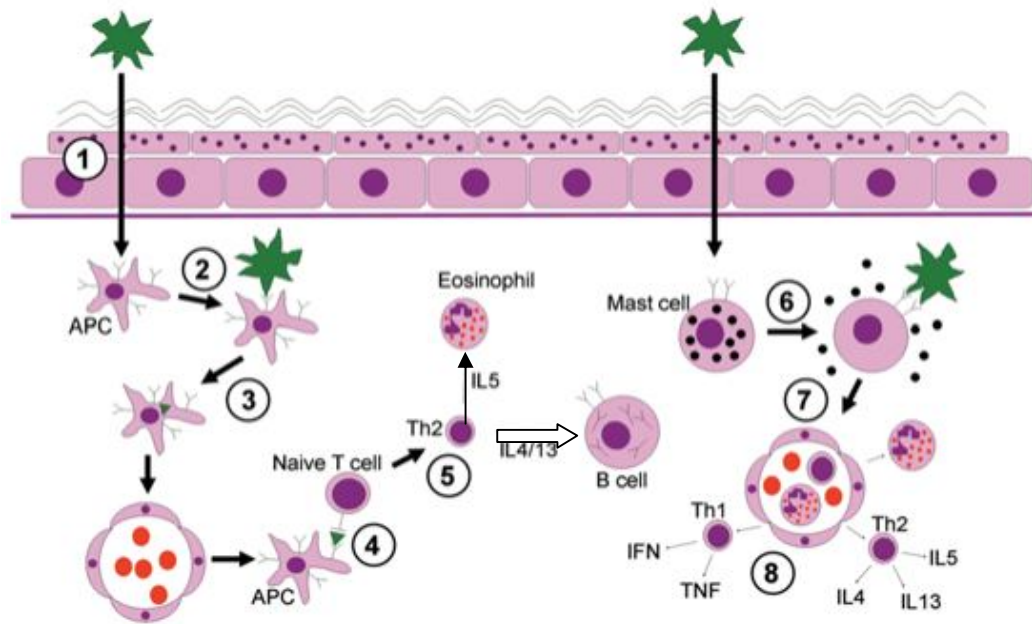


Abbildung 3: Pathogenese der atopischen Dermatitis modifiziert nach (LOEWENSTEIN & MUELLER, 2009)

3.2 Klinik

Beim Hund sind Juckreiz und Erythem primäre klinische Anzeichen für eine Atopie. Sekundär entstehen oft Pyodermien, Seborrhoe (43,4 %) und durch Kratzen oder Reiben verursachte Alopezie (73,7 %) (GOSSELIN et al., 1983). Der häufigste Befund beim Hund wie auch beim Menschen mit atopischer Dermatitis ist Juckreiz (GRIFFIN & DEBOER, 2001). Weitere klinische Präsentationen bestehen aus Papeln, Pusteln, Lichenifikation, Exkoriationen und Hyperpigmentation. Die am häufigsten betroffenen Körperareale sind Gesicht, konkave Pinnae, ventraler Hals, Inguinalbereich, Abdomen, Perineum, ventraler Schwanz, Beugeseiten und medial an den Extremitäten, dorsal und palmar/plantar an den Pfoten, externer Ohrkanal, Konjunktiva und Nasenschleimhaut (OLIVRY et al., 2010). Die Verteilung der Läsionen am Körper ist unabhängig von der Art der Allergenexposition (oral, epikutan, Inhalation). Dabei scheint die epidermale Allergeneinwirkung die größte klinische Bedeutung zu haben (MARSELLA et al., 2006). Etwa 60 % der atopischen Hunde sind von Otitis externa betroffen (ZUR et al., 2002a). Die Hälfte aller atopischen Hunde leidet an Konjunktivitis (SCOTT, 1981). Fast 70 % der betroffenen Hunde leiden unter sekundären Pyodermien

(GRIFFIN, 1993). Die CAD kann auch in Verbindung mit einer Futtermittel- oder Flohspeichelallergie auftreten (ZUR et al., 2002a).

In 80 % aller Fälle beginnen die Symptome in einem Alter von sechs bis 36 Monaten, wobei 42,9 % der Patienten bereits mit unter einem Jahr erkranken (GOSSELIN et al., 1983). Nach ZUR und Mitarbeitern (2002) tritt die atopische Dermatitis bei 95 % der Hunde erstmals vor dem fünften Lebensjahr auf (ZUR et al., 2002a).

Je nach dem, welche Allergene auslösend für die Atopie sind, stellt sich die Symptomatik saisonal (11,7 %) oder asaisonal (das ganze Jahr gleichbleibend stark) (78,3 %) dar (GOSSELIN et al., 1983). Anfängliche klinische Symptome sind bei 42 bis 75 % der Patienten saisonal. Allerdings kann die Krankheit abhängig von den involvierten Allergenen auch von Beginn an ganzjährig auftreten (HALLIWELL, 1971; SCOTT, 1981).

Es lässt sich eine Rasseprädisposition für Deutsche Schäferhunde, Terrier, Pudel, Collies und Spaniels erkennen (GOSSELIN et al., 1983). Am häufigsten wird nach ZUR und Mitarbeitern (2002) die Krankheit beim Labrador Retriever, Golden Retriever, Deutschen Schäferhund, Cocker Spaniel und West Highland White Terrier diagnostiziert (ZUR et al., 2002a). Außerdem gibt es Hinweise auf genetische Komponenten der Umweltallergie und somit familiäre Häufung der atopischen Dermatitis (KIRK RW, 1976; SCOTT, 1981).

3.3 Diagnose

Die atopische Dermatitis lässt sich durch die typische Symptomatik und Ausschluss anderer Differentialdiagnosen feststellen (SCOTT et al., 2001). Es kommen einige Differentialdiagnosen zur kaninen atopischen Dermatitis in Frage (MUELLER, 2000a; MUELLER, 2000b; SCOTT et al., 2001):

Dermatophytose, Malasseziendermatitis, Pyodermie, Follikulitis, Sarkoptesmilben, Cheyletiellen, Flohbefall, Futtermittelallergie, Kontaktallergie, Flohspeichelallergie, Pelodera Dermatitis, Hakenwurmdermatitis, Autoimmunerkrankungen, systemische Erkrankungen (MUELLER, 1993; MUELLER & BETTENAY, 1996; SCOTT et al., 2001; OLIVRY et al., 2010).

Flohspichelallergie stellt die häufigste Form der Allergie beim Hund dar. Um diese auszuschließen, stehen verschiedene Spot-on Präparate (Frontline[®], Merial; Stronghold[®], Pfizer; Advantage[®], Bayer; Advantix[®], Bayer; Advocate[®], Bayer; Exspot[®], Essex), sowie Nitenpyram Tabletten (Capstar[®], Novartis) und Umgebungsbehandlung mit Permethrin und Pyriproxyfen (Indorex[®], Spray Virbac) zur Verfügung. Wurde die Flohprophylaxe regelmäßig und zusätzlich konsequent bei allen Kontakttieren durchgeführt und eine Besserung der Symptomatik ist ausgeblieben, so kann diese Allergie ausgeschlossen werden (SCOTT et al., 2001).

Die Allergie auf bestimmte Futtermittel (meist bestimmte Fleischproteine) muss durch eine vorangegangene Eliminationsdiät ausgeschlossen werden. Dazu muss dem betreffenden Tier eine völlig neue Protein- und Kohlenhydratquelle angeboten werden. Bei Vorliegen einer Futtermittelallergie ist nach sechs bis acht Wochen mit einem Rückgang der Symptomatik zu rechnen. Sind der Juckreiz und das Erythem weiterhin vorhanden (bei Abwesenheit einer sekundären Pyodermie), ist die Diagnose Futtermittelallergie ausgeschlossen (GRIFFIN & HILLIER, 2001; SCOTT et al., 2001). Die Task Force für kanine atopische Dermatitis unterstützt die These, dass Futtermittelallergien bei akuten Schüben der atopischen Dermatitis eine Rolle spielen können. Bei der Futtermittelallergie kann es zusätzlich zu den typischen Symptomen der atopischen Dermatitis zu Urtikaria, Juckreiz ohne Läsionen oder Juckreiz mit Läsionen an untypischen Stellen (z.B. Flanken, Rücken, Perineum, Lippen) kommen (OLIVRY et al., 2010).

Eine Sarcoptesräude führt bei betroffenen Tieren zu extrem starkem Juckreiz. Als Diagnosemöglichkeit steht das oberflächliche Hautgeschabsel zur Verfügung. Wegen der allergischen Reaktion auf den Milbenbefall sind nur wenige Milben nötig, um starken Juckreiz auszulösen, daher kann ein negatives Geschabsel nicht zum Ausschluss der Räude herangezogen werden (MUELLER et al., 2001). Bei starkem Verdacht auf Sarcoptesbefall und negativem Geschabsel wird auf eine diagnostische Therapie mit akariziden Medikamenten wie z.B. Stronghold[®] (Pfizer) zurückgegriffen, (CURTIS, 2004).

Um die atopische Dermatitis des Hundes zu diagnostizieren, wurde kürzlich eine Symptom-Checkliste entwickelt

Tabelle 6: Favrot's 2010 Kriterien für kanine atopische Dermatitis). Es bleibt dabei zu bedenken, dass etwa 20 % der Hunde falsch diagnostiziert werden, wenn man ausschließlich die Checkliste zur Diagnosestellung zu Rate zieht (FAVROT et al., 2010; OLIVRY et al., 2010).

Tabelle 6: Favrot's 2010 Kriterien für kanine atopische Dermatitis

1	Entwickeln von Symptomen in einem Alter unter drei Jahren
2	Vorwiegend im Haus lebender Hund
3	Glukokortikoid-responsiver Juckreiz
4	Zu Beginn Juckreiz ohne Läsionen
5	Vorderbeine betroffen
6	Ohrränder nicht betroffen
7	Dorso-lumbal Region nicht betroffen
Sind fünf Kriterien erfüllt, liegt eine Sensitivität von 85 % und eine Spezifität von 79 % vor, dass ein atopischer Hund von Hunden mit chronischem oder wiederkehrendem Juckreiz ohne atopische Dermatitis unterschieden werden kann. Bei sechs erfüllten Kriterien verändern sich die Sensitivität (58 %) und die Spezifität (89 %).	

(FAVROT et al., 2010)

Um die beteiligten Stoffe auszumachen, bedient man sich in der Veterinärdermatologie des Intrakutantests oder des Serumtests auf allergenspezifisches IgE (GRIFFIN & HILLIER, 2001; SCOTT et al., 2001). Dabei gilt es zu beachten, dass weder der Haut- noch der Serumtest für eine Diagnose geeignet sind, da Studien mit atopischen und gesunden Hunden gezeigt haben, dass viele gesunde Hunde positive Hauttestreaktionen und allergen-spezifisches Serum-IgE gegen Milbenantigene zeigen (CODNER & LESSARD, 1993; MUELLER et al., 2005b). Die Tests dienen lediglich zur Identifizierung der Allergene, um daraus eine Allergenlösung für die spätere Desensibilisierung zu erstellen (OLIVRY et al., 2010).

3.3.1 Intrakutantest

Beim Intrakutantest werden verschiedene Allergenlösungen sowie Positiv- (Histamin) und Negativ-Kontrolle (Kochsalzlösung) intradermal (jeweils 75 PNU) appliziert. Jeweils nach 15 und nach 30 Minuten werden Reaktionen anhand von Erythem- und Ödembildung beurteilt. Verglichen mit der Positiv- und Negativkontrolle werden Reaktionen konventionell von null bis vier eingeteilt, wobei null keine Reaktion und vier eine Reaktion wie die Positivkontrolle darstellen. Dieser Test dient als Grundlage zur Herstellung einer spezifisch auf den Patienten angepassten Allergenlösung und anschließender Desensibilisierung. Er kann allerdings genauso wie der Serumtest auf allergen-spezifisches IgE nicht zur Diagnose herangezogen werden, da falsch positive Reaktionen nicht selten sind. Dies lässt sich darauf zurückführen, dass Antikörper gegen das Allergen vorhanden sind, die keine klinischen Konsequenzen haben (SCOTT, 1981; GOSSELIN et al., 1983).

Das Allergen reagiert in der Haut mit den auf den Mastzellen gebundenen IgE-Molekülen, wobei es zur Degranulation und Quaddelbildung kommt (REEDY et al., 1997; OLIVRY et al., 2001b). Diese Reaktion erfolgt innerhalb von 30 Minuten, weshalb sie Sofortreaktion genannt wird. Es kann beim Intrakutantest außerdem eine Spätreaktion auftreten, welche durch Freiwerden von chemotaktischen Mediatoren aus Mastzellen zu einer Infiltration der Dermis mit Entzündungszellen führt (OLIVRY et al., 2001b).

Die am häufigsten positiv reagierenden Allergene sind nach GOSSELIN (1983) Hausstaubmilben (88.9 %), Baumwolle (59.3 %), Schimmelpilze (53.1 %), beißende Insekten (47.0 %), Federn (37.0 %), Kapok (35.8 %) und Gräser (35.8 %) (GOSSELIN et al., 1983).

Aus den identifizierten Allergenen kann eine Lösung hergestellt werden, um damit eine ASIT zu beginnen (MUELLER et al., 1999).

Der Intrakutantest wurde lange Zeit als Goldstandard zur Identifizierung der Atopie auslösenden Allergene angesehen (REEDY et al., 1997).

3.3.2 Serumallergietest

Neben dem Intrakutantest steht der Serumallergietest zur Identifikation der beteiligten Allergene zur Verfügung. Hierbei gibt es verschiedene Testprinzipien. „Radioallergosorbent test“ (RAST), „enzyme-linked immunosorbent assay“ (ELISA) und „liquid-phase immunoenzymatic assay“ (VARL) beruhen auf einer Messung der relativen Menge an allergen-spezifischen IgE im Serum (REEDY et al., 1997).

Die Ergebnisse von Serumallergietest und Intrakutantest stimmen oft nicht überein (CODNER & LESSARD, 1993).

Die häufigeren positiven Reaktionen in ELISA und RAST wurden als höhere Sensitivität interpretiert (SOUSA & NORTON, 1990). Andere Autoren interpretierten diese Tatsache als falsch positive Ergebnisse, da auch Hunde ohne Atopiesymptome häufig positive Testergebnisse aufwiesen (GRIFFIN et al., 1990).

Beim Serumallergietest werden im Serum spezifische IgE-Antikörper auf verschiedene Allergene (Gräser, Getreide, Bäume, Milben) bestimmt. Hierbei hat sich der Immunodot ELISA auf monoklonale anti-IgE Antikörper als höchst spezifisch erwiesen (MUELLER et al., 1999). Der monoklonale D9 ELISA hat sich für die Identifizierung von *Dermatophagoides farinae*, *Acarus siro*, *Tyrophagus putrescentiae*, Ambrosie, Beifuß und *Lepidoglyphus destructor* als nützlich erwiesen und liefert verlässliche Ergebnisse (TARPATAKI et al., 2008).

Die Ergebnisse einiger Studien empfehlen eine Kombination von Serumallergietest und IDT (ROSSER, 2004).

3.4 Therapie

Um eine Umweltallergie zu therapieren gibt es zwei unterschiedliche Ansätze: Symptomatische und spezifische Therapie. Welche Form der Therapie für einen bestimmten Hund und Halter gewählt wird, muss individuell nach Schwere der Symptome des Tieres, Zeit- und Geldaufwand für den Besitzer usw. ausgewählt werden. Eine Kombination beider Methoden ist ebenfalls möglich. Die

symptomatische Therapie ist bei der AD lebenslang durchzuführen. Die einzige spezifisch die Allergieursache bekämpfende Therapie stellt die ASIT dar. Sie wird schon seit Jahrzehnten erfolgreich beim Hund zur Behandlung der AD angewendet (GRIFFIN & HILLIER, 2001). Das Management bei der CAD muss in vielen Fällen jedoch eine Kombination von Allergenvermeidung, ASIT, antibakterieller und entzündungshemmender Therapie beinhalten (OLIVRY & MUELLER, 2003).

Die beste Methode zur Therapie stellt die Allergenmeidung dar. Hierbei kommt es zur Verbesserung der Symptomatik, ohne weitere Medikamente einsetzen zu müssen (BEVIER, 1990). Häufig ist allerdings die Meidung nicht realisierbar (NESBITT et al., 1984; BEVIER, 1990). Hilfreich kann hier häufiges Baden, vor allem nach dem Spazierengehen, sein, um an der Haut anhaftende Allergene abzuwaschen. Stellt die Allergenvermeidung sich als schwierig dar, sollte eine entzündungshemmende Therapie erfolgen. Die häufig sekundär zur CAD auftretenden Infektionen müssen ggf. mittels antibakterieller Medikamente behandelt werden (OLIVRY & SOUSA, 2001a). Spielt die Flohspeichelallergie bei dem betroffenen Hund eine Rolle, kann eine regelmäßige Flohprophylaxe zu einer Symptomlinderung beitragen (MARSELLA & SOUSA, 2001).

3.4.1 Symptomatische Therapie

Es gibt verschiedene Möglichkeiten der symptomatischen Therapie. Neben oraler oder parenterealer Medikamenteneingabe kann eine topikale Therapie durchgeführt werden.

3.4.1.1 Glukokortikoide

Glukokortikoide werden sehr häufig bei der Behandlung von AD beim Hund angewendet (BEVIER, 1990; MUELLER & BETTENAY, 1996; OLIVRY & MUELLER, 2003). Diese Stoffklasse wirkt entzündungs- und juckreizhemmend und ist damit in vielen Fällen wirksam gegen die Symptome der kaninen atopischen Dermatitis. Es können Erfolgsraten von 57 – 100 % bezüglich Hautläsionen und Juckreiz erzielt werden (OLIVRY & MUELLER, 2003).

Der antiinflammatorische Effekt beruht auf dem Zusammenspiel mit verschiedenen Transkriptionsfaktoren (BARNES, 1998; DE BOSSCHER et al., 2000). Dadurch wird die Expression zahlreicher proentzündlicher Gene (Zytokine, Enzyme, Rezeptoren, Adhäsionsmoleküle) unterdrückt (BARNES, 1998).

Der Nachteil der Anwendung liegt in dem relativ häufigen Auftreten von Nebenwirkungen wie Polyurie, Polydispsie, Polyphagie, Gewichtszunahme, gastrointestinale Störungen und Hautinfektionen (OLIVRY & MUELLER, 2003). Außerdem beobachteten BEVIER (1990), KIETZMANN (1995) und MUELLER und JACKSON (2003) Sekundärinfektionen, zentral nervös bedingte Störungen (Depression, Exzitation, Aggression), Muskel- und Knochenveränderungen, Veränderungen am Auge, Veränderungen der Blutwerte und Abweichen in normalen endokrinen Vorgängen als Nebenwirkung (BEVIER, 1990; KIETZMANN, 1995; MUELLER & JACKSON, 2003). Es können aber auch lebensbedrohliche Zustände durch Pankreatitis, gastrointestinale Ulzera oder Infektionen mit opportunistischen Keimen eintreten (OLIVRY & SOUSA, 2001b).

Prednisolon stellt ein sehr wirksames Mittel gegen Juckreiz dar. Beim Hund wird eine Dosierung von 0,5 – 1 mg/kg KG angewendet, bis es zu einem Abklingen der Symptome kommt. Bei stark von der Atopie betroffenen Hunden kann eine Dauertherapie mit Glukokortikoiden angezeigt sein. Dabei sollte man versuchen, die Dosis auf ein Minimum zu beschränken, um mögliche Nebenwirkungen zu reduzieren. Das Auftreten von Nebenwirkungen steht in direkter Korrelation zu Dosierung, Dauer der Anwendung und Potenz des gewählten Glukokortikoids (OLIVRY et al., 2010).

3.4.1.2 Antihistaminika

Hunde sprechen sehr unterschiedlich auf verschiedene Antihistaminika an (BEVIER, 1990; MUELLER, 1993; SCOTT & MILLER, 1999). Nach SCOTT und Mitarbeitern (1992, 2001) kann jedes Individuum auf ein anderes Antihistaminikum ansprechen, weshalb bei Versagen eines Medikaments zunächst ein weiteres versucht werden sollte (SCOTT et al., 1992; SCOTT et al., 2001). OLIVRY und Mitarbeiter (2003) machen unterschiedliche Angaben zur

Wirksamkeit einzelner Antihistaminika bei Hunden (OLIVRY & MUELLER, 2003). SCOTT und BUERGER (1988) und PATERSON (1994) konnten eine Wirksamkeit von Hydroxyzin, Chlorpheniramin und Diphenhydramin auf den Juckreiz von Hunden nachweisen (SCOTT & BUERGER, 1988; PATERSON, 1994). Laut DEBOER und Mitarbeitern (2001) kann es ein bis zwei Wochen bis zum Wirkungseintritt dauern (DEBOER & GRIFFIN, 2001). Durch eine zusätzliche Supplementation von essentiellen Fettsäuren konnte eine Wirkungssteigerung von Antihistaminika beim Hund erzielt werden (PATERSON, 1995). Zeigten einige Hunde auf essentielle Fettsäuren oder Antihistaminika keine Juckreizminderung, so konnte bei Kombination von beiden Wirkklassen eine Milderung der Symptomatik beobachtet werden (SCOTT & MILLER, 1990).

Antihistaminika wirken durch eine Blockade von spezifischen Histaminrezeptoren, vor allem H1- und H2-Rezeptoren. H1-Rezeptoren führen bei Anwesenheit von Histamin zu Juckreiz, Schmerz und erhöhter Gefäßpermeabilität. Eine verstärkte Magensäureproduktion und erhöhte vaskuläre Permeabilität sind Effekte der H2-Rezeptoren. Das Wirkungsprinzip von Antihistaminika beruht auf einem H1-Rezeptor-Antagonismus und damit der Beeinflussung von Juckreiz und erhöhter Gefäßpermeabilität (DEBOER & GRIFFIN, 2001).

Im Gegensatz zur Gruppe der Glukokortikoide kommt es bei Antihistaminika selten zu Nebenwirkungen. Am häufigsten wird von einer vorübergehenden Müdigkeit der behandelten Hunde (für drei bis fünf Tage) berichtet (MUELLER, 1993; SCOTT & MILLER, 1999). Bei Antihistaminika der 2. Generation, wie Terfenadin und Astemizol, kann es zu kardialen Arrhythmien kommen (BEVIER, 1990; SCOTT & MILLER, 1999; OLIVRY & MUELLER, 2003). Außerdem wird von anticholinergischen Effekten wie Zittern, Ataxie, Hyperästhesie, vermehrtem Speicheln, erhöhtem Juckreiz, Hecheln und Erregung berichtet (DEBOER & GRIFFIN, 2001).

Zur Therapie von akuten Allergieschüben sind Antihistaminika ungeeignet. Sie wirken, indem sie Histaminrezeptoren blockieren, welche im Falle eines akuten Schubes bereits mit Histamin belegt sind (OLIVRY et al., 2010).

3.4.1.3 Essentielle Fettsäure

Beim Hund konnte eine Wirksamkeit von essentiellen Fettsäuren gegen Juckreiz und Entzündungsreaktionen der Haut in einigen Studien nachgewiesen werden (SCOTT et al., 2001; MUELLER et al., 2004). Verschiedene Omega-3- (Gammalinolensäure, Linolsäure) und Omega-6-Fettsäuren (Eicosapentensäure, Docosahexensäure) führten in verschiedenen Kombinationen und Dosierungen zu einer Verbesserung des klinischen Bildes. Dabei sind das ideale Verhältnis von Omega-3- zu Omega-6-Fettsäuren, wie auch die optimale Dosis nicht bekannt (MUELLER et al., 2004).

Bei der Kombination von EFA mit Antihistaminika treten synergistische Effekte auf (PATERSON, 1995). Außerdem konnten SCOTT und Mitarbeiter (2001) einen Medikamentensparenden Effekt bei Kombination von EFA mit Glukokortikoiden nachweisen (SCOTT et al., 2001).

Essentielle Fettsäuren wirken durch eine Modulation der Leukotrien- und Prostaglandin-Produktion, sowie durch Veränderung des Abbaus und der Funktion der epidermalen Lipidbarriere. Zudem hemmen sie die zelluläre Aktivierung und Zytokinsekretion (OLIVRY et al., 2001a). Gamma-Linolensäure, Eikosapentaensäure und Dokosahexaensäure wirken entzündungshemmend und immunmodulatorisch auf die Haut. Sie konkurrieren mit der Arachidonsäure um die Enzyme Cyclooxygenase und Lipoxygenase in der Arachidonsäurekaskade. Dadurch kommt es zu einer verstärkten Produktion von antiinflammatorischen Leukotrienen und Prostaglandinen. Essentielle Fettsäuren hemmen des weiteren die Synthese proinflammatorischer Zytokine und die Proliferation und Aktivierung von Lymphozyten (ABBA et al., 2005). STEHLE und Mitarbeiter (2010) konnten bei atopischen Hunden eine direkte Proliferationshemmung von Lymphozyten nachweisen (STEHLE et al., 2010).

Bei Fettsäuren ist die am häufigsten beschriebene Nebenwirkung Durchfall, der v.a. bei zu schneller Steigerung der Supplementationsmenge auftritt. Ein Auftreten von Pankreatitis ist selten beschrieben worden (SCOTT et al., 2001).

3.4.1.4 Topische Medikamente

Durch die topische Anwendung von Medikamenten kann eine Linderung der Atopiesymptome erzielt werden. Dadurch kann der Einsatz von systemischen Medikamenten stark eingeschränkt werden. Shampoos stellen eine wichtige Grundlage in der Therapie dar. Sie bewirken eine Reduktion von Bakterien- und Hefekonzentrationen auf der Haut und entfernen Umweltallergene, die im Fell oder auf der Haut haften. Für atopische Hunde bedeutet der kühlende Effekt auf die Haut eine Linderung ihrer Symptome. Außerdem können Shampoos zu einer Rehydrierung des Stratum corneum beitragen (BEVIER, 1990). Zur Behandlung atopischer Hauterkrankungen stehen spezielle tiermedizinische Shampoos zur Verfügung. Bei der Anwendung wird eine minimale Kontaktzeit von zehn Minuten mit der erkrankten Haut empfohlen. Um eine Rehydratation des Stratum corneum zu bewirken, sollte die Haut der Hunde insgesamt mindestens 20 Minuten benetzt bleiben. In einigen Studien konnte gezeigt werden, dass 24 Stunden nach Shampootherapie der höchste juckreizlindernde Effekt auftrat (SCOTT & PARADIS, 1990; SCOTT et al., 2001; MUELLER, 2002; LÖFLATH et al., 2007).

Die Applikation von Glukokortikoiden in Form von Salben kann zu einer Linderung des Juckreizes führen und ist mit relativ wenig Nebenwirkungen verbunden (OLIVRY & MUELLER, 2003). Bei längerfristiger Anwendung kann es allerdings durch Resorption zu systemischen Nebenwirkungen kommen. Daher sollte die Indikation und Anwendungsdauer in jedem Fall individuell überprüft werden (BEVIER, 1990). Lokal angewendete Glukokortikoide führen bei Langzeittherapie zu Hautatrophie, Ulzerationen, Teleangiektasien, Alopezie, Calcinosis cutis, Komedonen und Beeinträchtigung des adrenalen Hormonhaushalts (OLIVRY & SOUSA, 2001b; BRAZZINI & PIMPINELLI, 2002).

NUTTALL und Mitarbeiter (2009) untersuchten ein Hydrocortisonaceponat Spray (HCA, Cortavance®, Virbac SA, Carros, France) in einer klinischen Studie. Dabei wurden eine deutliche Linderung des Juckreizes und eine Verbesserung des Hautbildes bei regelmäßiger Anwendung (einmal täglich) erzielt. Durch die Formulierung des HCA wirkt es lokal in der Haut und systemische Nebenwirkungen werden vermieden. Um die Langzeittherapie zu evaluieren

bedarf es noch weiterer Studien (NUTTALL et al., 2009).

Tacrolimus ist ein lokal anzuwendender Calcineurininhibitor, der in seiner Wirkungsweise vergleichbar mit Cyclosporin ist. Es konnte eine gute Wirksamkeit bei der CAD mit wenig Nebenwirkungen beobachtet werden (MARSELLA, 2005).

3.4.1.5 Cyclosporin

Eine Behandlung mit Cyclosporin erwies sich in Studien als effektiv bei der Therapie der CAD. Beim Hund wird es in einer Dosierung von 5 mg/kg KG zur Behandlung der atopischen Dermatitis angewendet (OLIVRY & MUELLER, 2003). Es wirkt entzündungshemmend, indem es vor allem die Aktivierung verschiedener Zellen unterdrückt, die am kutanen allergischen Entzündungsgeschehen beteiligt sind (Mastzellen, eosinophile Granulozyten, Lymphozyten, Langerhans-Zellen und Keratinozyten) (MARSELLA & OLIVRY, 2001; MARSELLA, 2005). Cyclosporin ist ein Calcineurininhibitor, auf dessen Wirkung therapeutische und toxische Effekte beruhen (HO et al., 1996). Außerdem werden die Proliferation und Aktivierung von T-Zellen gehemmt (SCHREIBER & CRABTREE, 1992).

Als häufigste Nebenwirkung dieser Therapie sind gastrointestinale Symptome, wie Durchfall und Erbrechen beschrieben. In höheren Dosierungen kommen Gingivahyperplasie, Lahmheiten, Gewichtsverlust und vermehrtes Krallen- und Haarwachstum beim Hund vor (MUELLER & JACKSON, 2003).

3.4.2 Allergen-spezifische Immuntherapie

Die allergen-spezifische Immuntherapie stellt die einzige spezifische Therapie bei der CAD dar (GRIFFIN & HILLIER, 2001). Andere Behandlungsmethoden lindern lediglich die Symptomatik (SCOTT et al., 2001). Definitionsgemäß handelt es sich bei der ASIT um die Verabreichung graduell steigender Dosen eines Allergenextrakts an einen allergischen Patienten, um die Symptome, die mit einer Allergenexposition verbunden sind, zu mildern (BOUSQUET et al., 1998).

Die erste erfolgreiche Therapie von saisonalem Heuschnupfen mittels ASIT beim Hund wurde von Wittich 1941 beschrieben (GRIFFIN & HILLIER, 2001). Seit Ende 1960 wird diese Behandlungsform erfolgreich bei der CAD eingesetzt (WALTON ANGARANO & MACDONALD, 1992; ZUR et al., 2002b). Laut der Taskforce für CAD des American College of Veterinary Dermatology ist eine Immuntherapie bei jedem Hund indiziert, bei dem eine Umweltallergie diagnostiziert wurde und die beteiligten Allergene identifiziert werden konnten (GRIFFIN & HILLIER, 2001).

Basierend auf den Ergebnissen des Intrakutan- oder/und Serumallergietests wird eine speziell für den Patienten angefertigte Allergenlösung hergestellt. Die am häufigsten inkludierten Allergene sind Hausstaubmilben, Pollen und Schimmelpilze (ANDERSON, 1975; THODAY, 1980; SCOTT, 1981; GOSSELIN et al., 1983). Die Auswahl der Allergene hat entscheidende Auswirkungen auf den Therapieerfolg (WILLEMSE et al., 1984). Es liegen widersprüchliche Aussagen über die Zahl der inkludierbaren Allergene und die Dosis in der Lösung vor. Ebenso gibt es in einzelnen Studien kontroverse Ergebnisse hinsichtlich dem Einfluss des Alters bei Therapiebeginn, des Alters bei Allergiebeginn, der Dauer der Erkrankung bis zum Beginn der Immuntherapie, der Anzahl der positiven IDT-Ergebnisse, der Stärke der positiven Reaktionen im Hauttest und der Art der Allergene, auf die das Individuum allergisch reagiert (LOEWENSTEIN & MUELLER, 2009). Berichte zeigen, dass eine Kombination von Pollenallergenen mit Pilzsporen in einer Lösung zu einer Inaktivierung von Kräuter- und Gräserpollen führen kann (ROSENBAUM et al., 1996). Allergensuspensionen gibt es mit verschiedenen Lösungsmitteln versetzt: wässrig, Aluminium-adsorbiert, Propylenglykol-Suspension, mit Glycerin oder Mineralöl versetzt (GRIFFIN & HILLIER, 2001). Die wässrigen Lösungen werden häufig in den USA eingesetzt und haben den Nachteil, dass eine hohe Frequenz an Injektionen mit niedriger Dosis nötig ist. Die Emulsionsallergene (Propylenglykol, Glycerin, Mineralöl) werden langsamer adsorbiert und es bedarf deshalb geringerer Applikationshäufigkeit. Aluminium-Adsorbate nehmen eine Zwischenstellung ein (MUELLER & JACKSON, 2003).

Da die Immuntherapie in den Ablauf der Allergie eingreift, wird vermutet, dass die Entwicklung von neuen Allergien durch die Therapie verhindert werden kann

(GRIFFIN & HILLIER, 2001). Beim Tier liegen diesbezüglich noch keine Untersuchungen vor (SCOTT et al., 2001). Bei Kindern mit Asthma und/oder allergischer Rhinitis konnte eine Verhinderung von weiteren Sensibilisierungen gegen Umweltallergene nachgewiesen werden (INAL et al., 2007). Bei einigen konnte eine Heilung von Asthma erreicht und eine Entwicklung von neuen Allergien verhindert werden (FREW, 2010).

Gegenüber der symptomatischen Therapie bietet die ASIT folgende Vorteile: Weniger häufige Applikation, weniger zeit- und arbeitsintensiv, kein Risiko von Langzeitnebenwirkungen, billiger (v.a. bei großen Hunden), bessere Akzeptanz als bei oraler Applikation, mögliche Heilung von der Allergie und wenige Nebenwirkungen (GRIFFIN & HILLIER, 2001).

3.4.2.1 Wirkungsweise

Literaturangaben belegen eine klinisch signifikante Reaktion auf die Hyposensibilisierung bei 60 bis 80 % der behandelten Hunde (WILLEMSE et al., 1984; MUELLER & BETTENAY, 1996; ZUR et al., 2002a; ZUR et al., 2002b; LOEWENSTEIN & MUELLER, 2009). Bei 23,5 % der behandelten Patienten konnte der Juckreiz ohne zuvor benötigte Glukokortikoide unter Kontrolle gehalten werden, wohingegen bei 53 % die Dosis reduziert werden konnte. Die Wirkung der Immuntherapie trat bis sechs Monate nach Beginn der Therapie ein (SCOTT, 1981).

Als Gründe für ein Versagen oder mangelhafte Wirkung der Immuntherapie geben GOSELIN und Mitarbeiter (1983) eine falsche Durchführung (Intervall und Menge der verabreichten Lösung), nicht in die Lösung inkludierte aber beteiligte Allergene, nicht behandelte Futtermittel- oder Flohspeichelallergie und Immundefizit an (GOSELIN et al., 1983).

Das Prinzip der antigen-spezifischen Immuntherapie besteht darin, dass die Art, wie das Antigen dem Körper präsentiert wird, die Art der Reaktion darauf bestimmt. Bei der CAD kommt es durch epikutanen Kontakt mit dem Allergen zu Symptomen an der Haut. Wird dem allergischen Individuum das Antigen auf eine andere Art präsentiert, kann man eine pathogene Reaktion dagegen verhindern

(JANEWAY, 2002). Die Reaktion des Immunsystems auf den zugefügten Reiz (Allergenextrakt) wird im drainierenden Lymphknoten erzeugt. Spezialisierte APCs präsentieren dort die Antigene den Lymphozyten. Da im Lymphknoten eine hohe Anzahl an APCs zu finden ist, erscheint eine intralymphatische Applikation am effektivsten (MALOY et al., 2001; JOHANSEN et al., 2005).

Bis vor kurzem war die genaue Wirkungsweise der Immuntherapie beim Hund unbekannt (GRIFFIN & HILLIER, 2001). Es gibt Berichte über einen signifikanten Anstieg von allergen-spezifischem IgG nach sechs Monaten der Immuntherapie (HITES et al., 1989; GRIFFIN & HILLIER, 2001). Diese Antikörper werden als „blockierende Antikörper“ (Serum IgG4 oder IgA Antikörper auf Schleimhäuten) bezeichnet, die das Allergen in der Zirkulation binden sollen, bevor es sich mit mastzellgebundenen IgE-Antikörpern vernetzt und somit zur Freisetzung von Histamin und anderen juckreizauslösenden Mediatoren kommt (ZUR et al., 2002b). WALTON ANGARANO und MACDONALD (1992) und NUTTAL und Mitarbeiter (1998) stellten die Theorie der Induktion von Suppressorzellen, Reduktion des IgE-Levels und eine Verminderung von Basophilen, Mastzellen und Mediatorenfreisetzung auf (WALTON ANGARANO & MACDONALD, 1992; NUTTALL et al., 1998). Eine Veränderung des Th1/Th2-Verhältnisses und eine Produktion von antiidiotyphen Antikörpern werden von WALTON ANGARANO und MACDONALD (1992) und ZUR und Mitarbeiter (2002) beschrieben, wobei ZUR und Mitarbeiter (2002) außerdem eine verminderte Endorganaktivität und eine Kombination aus den genannten Mechanismen vermutet (WALTON ANGARANO & MACDONALD, 1992; ZUR et al., 2002b).

Neuere Studien befassen sich mit möglichen Veränderungen in der Zytokinkonzentration während der Immuntherapie. In einigen Studien konnte gezeigt werden, dass die Konzentration von Interleukin 4 im Blut während der ASIT sinkt (BIEDERMANN & ROCKEN, 1999). In einer anderen Studie zeigten KEPPEL und Mitarbeiter (2008), dass, ebenso wie beim Menschen, ein Anstieg von IL-10 während der Immuntherapie nachzuweisen war (TILL et al., 2004; KEPPEL et al., 2008; LOEWENSTEIN & MUELLER, 2009). Beim Menschen wird dieser Anstieg mit dem Erfolg der Immuntherapie in Verbindung gebracht (JUTEL et al., 2003; KEPPEL et al., 2008). TGF- β stieg bei der von JUTEL und

Mitarbeitern (2003) durchgeführten Studie in Folge der ASIT an (JUTEL et al., 2003). Ein Anstieg der IFN- γ Konzentration konnte im Zusammenhang einer Erleichterung der Allergiesymptome gefunden werden (JUTEL et al., 2003).

3.4.2.2 Durchführung

Die Durchführung der Immuntherapie setzt sich aus zwei Phasen zusammen: Initialphase und Erhaltungsphase. Bei der Initialphase wird durch langsame Steigerung der Allergenmenge in unterschiedlichen Abständen (je nach verwendetem Protokoll) eine Maximaldosis erreicht. Ist diese Dosis erreicht, wird die Erhaltungsmenge an Allergen regelmäßig verabreicht. Die applizierte Menge und die Injektionsabstände sind je nach Protokoll und Allergenformulierung unterschiedlich (SCOTT et al., 2001).

Durch individuelle Anpassung des jeweilig verwendeten Protokolls an den Patienten konnte die Erfolgsrate der Immuntherapie verbessert werden (ROSSER, 1998).

3.4.2.3 Nebenwirkungen

Nebenwirkungen treten selten auf und beschränken sich meistens auf eine vorübergehende Verstärkung des Juckreizes von mehreren Stunden bis zu einigen Tagen oder zu lokalen Reaktionen, wie Ödemen, Schmerzen und Juckreiz (NUTTALL et al., 1998; SCOTT et al., 2001). Diese Symptome lassen sich durch Dosisanpassung abmildern (ROSSER, 1998). Bei der ASIT kann es v.a. zu Beginn mit steigender Allergenmenge zu anaphylaktischen Reaktionen kommen. Beim Hund liegt die Inzidenz der Anaphylaxie deutlich unter der des Menschen (GRIFFIN & HILLIER, 2001). Die Probleme bei der Durchführung der Desensibilisierung liegen neben der Anaphylaxiegefahr auch in der zeitintensiven Schulung und Betreuung der Patientenbesitzer und darin, dass manche Hunde keine Injektionen tolerieren (GRIFFIN & HILLIER, 2001).

4. Spezielle Formen der allergen-spezifischen Immuntherapie

Vor allem in der Humanmedizin gibt es verschiedene Applikationsformen der Immuntherapie. Die meisten Studien beschäftigen sich mit der subkutanen Injektion. Es gibt allerdings Berichte über orale oder sublinguale und lokale (intra bronchial, intranasal) Applikationen (PASSALACQUA et al., 1998; MASTRANDREA et al., 2000; GRIFFIN & HILLIER, 2001).

4.1 Subkutan

Die subkutane Applikation stellt den Standard in der Veterinärdermatologie dar (GRIFFIN & HILLIER, 2001). Auch in der Humanmedizin erfolgt die klassische ASIT mittels subkutaner Injektionen. Die Dosis wird zu Beginn langsam gesteigert, bis die individuelle Erhaltungsdosis erreicht ist (LOEWENSTEIN & MUELLER, 2009). Bei der ASIT des Menschen erfolgt in der Initialphase zweimal wöchentlich bis alle zwei Wochen eine Allergeninjektion unter die Haut (EAACI, 1993; LOEWENSTEIN & MUELLER, 2009). Die Behandlungsregimes in der Veterinärmedizin variieren bei der Initialphase von Injektionen alle zwei bis sieben Tage (REEDY, 1979; SCOTT et al., 2001) und in der Erhaltungsphase von einer Injektion alle fünf bis 20 Tage (REEDY, 1979; SCOTT et al., 2001), alle drei bis fünf Monate (WILLEMSE, 1994) oder alle ein bis zwölf Monate (SCOTT, 1981). Die Wahl des Regimes und dessen Anpassung richtet sich individuell nach dem behandelten Tier. Bei einem Anstieg des Juckreizes nach einer Allergeninjektion soll die Dosis reduziert werden, wohingegen bei einem Anstieg des Juckreizes vor der nächsten Injektion das Intervall der Behandlungen verkürzt werden soll (ROSSER, 1998).

4.2 Rush-Immuntherapie

In der Humanmedizin stellen die Rush-Immuntherapie oder das Cluster Protokoll verkürzte Therapieregimes der ASIT dar. Ziel der Verkürzung ist ein schnelleres Erreichen der Erhaltungsdosis und somit ein schnellerer Wirkungseintritt (LOEWENSTEIN & MUELLER, 2009). Bei dem Cluster Protokoll wird die

Frequenz der Injektionen bei wöchentlicher Therapie auf zwei bis dreimal täglich erhöht. Die Rush-Immuntherapie variiert von acht Injektionen über drei Tage bis zu acht Injektionen pro Tag (SHARKEY & PORTNOY, 1996; BOUSQUET et al., 1998). In verschiedenen Studien erwiesen sich das Cluster Protokoll (SERRANO et al., 2004; TABAR et al., 2005; PFAAR & KLIMEK, 2006) und die Rush-Immuntherapie (COX, 2006; SMITS et al., 2007) als effektiv bei der Atopiebehandlung.

Mehrere Fallberichte und Studien beschäftigen sich mit der sogenannten Rush-Immuntherapie beim Hund (MACDONALD, 1999; PATTERSON & HARRIS, 1999; MUELLER & BETTENAY, 2001; MUELLER et al., 2005c). Darunter versteht man das Erreichen der Erhaltungsdosis von 1,0 ml (20000 PNU/ml) innerhalb von sechs Stunden. Zu diesem Zweck werden an einem Tag mehrere Injektionen subkutan oder intradermal mit steigenden Allergenkonzentrationen in Abständen von jeweils 20 oder 30 Minuten verabreicht. Der Vorteil dieser raschen Steigerung der Allergendosis liegt in dem schnelleren Erreichen der Wirkung (MUELLER & BETTENAY, 2001). Wurde die Rush-Immuntherapie intradermal verabreicht führte dies zu einem höheren Vorkommen von Nebenwirkungen (MUELLER & BETTENAY, 2001). Eine doppelt-geblindete, kontrollierte Studie zum Vergleich von konventioneller und Rush-Immuntherapie ergab keinerlei Nebenwirkungen der ASIT bei subkutaner Anwendung (MUELLER et al., 2005a).

Bereits dokumentierte mögliche Nebenwirkungen stellen anaphylaktische Reaktionen und eine Steigerung des Juckreizes dar. Im Gegensatz zum Menschen führt die Rush-Immuntherapie beim Hund sehr selten zu adversen Reaktionen (MUELLER & BETTENAY, 2001).

4.3 Sublingual / oral

Beim Hund führte die orale Desensibilisierung nur teilweise zu Allergentoleranz (DEPLAZES et al., 1995; LOEWENSTEIN & MUELLER, 2009).

Bei Mäusen hingegen konnte durch die lokale Applikation von Allergenen eine Aufnahme der Allergene durch dendritische Zellen in die Schleimhaut und die

Präsentation an T-Zellen zusammen mit IL-12 beobachtet werden. Dies führte zur Verschiebung des Gleichgewichtes von Th1 zu Th2 (FREW, 2010).

In der Humanmedizin konnte eine Wirksamkeit der sublingualen Immuntherapie bei allergischer Rhinitis nachgewiesen werden (O'HEHIR et al., 2007). Die Induktion der sublingualen Immuntherapie beim Menschen erfolgt rasch. Eine Erhaltung des Wirkungsspiegels erfolgt durch tägliche oder dreimal wöchentliche Allergenapplikation. Die Allergene werden als Flüssigkeit oder als sich rasch lösende Tabletten verabreicht. Bisherige Studien in der Humanmedizin reichen nicht aus um eine verlässliche Aussage über die Wirksamkeit der sublingualen Anwendung zu erlangen. Verglichen mit einer ASIT durch Injektionen wird bei der sublingualen Immuntherapie in der Humanmedizin eine 40 bis 100fach höhere Allergendosis benötigt (FREW, 2010).

4.4 Intralymphatisch

Die Theorie der intralymphatischen Injektion beruht auf dem Pathomechanismus zur Entstehung einer überschießenden Immunreaktion. Der auslösende Faktor (Allergen) muss Kontakt zu einem spezifischen Lymphozyten erlangen, um eine Immunantwort auslösen zu können. Da die Konzentration von B- und T-Lymphozyten in den peripheren lymphatischen Organen höher ist als im umliegenden Gewebe, ist die Wahrscheinlichkeit dort eine Reaktion des Immunsystems zu erreichen größer (KUNDIG et al., 1995; ZINKERNAGEL et al., 1997; ZINKERNAGEL, 2000; SENTI et al., 2009). Die Lymphdrainage von Pathogenen erfolgt abhängig von der Teilchengröße unterschiedlich effektiv. Sehr kleine Partikel (< 200 nm) und Viren werden effektiv über die afferenten Lymphgefäße zu den peripheren Lymphknoten transportiert, während größere Partikel (500 – 2000 nm) mittels dendritischer Zellen und Makrophagen transportiert werden. Nicht-partikuläre Antigene werden ineffektiv transportiert und nur ein kleiner Anteil ($10^{-3} - 10^{-6}$) einer Injektion kommt im Lymphknoten an. Da die meisten erhältlichen Allergenlösungen nicht korpuskulär sind, ist zu erwarten, dass die Effektivität durch eine direkte intralymphatische Injektion gesteigert werden kann (MALOY et al., 2001; JOHANSEN et al., 2005; MANOLOVA et al., 2008; SENTI et al., 2008; MARTINEZ-GOMEZ et al.,

2009).

Intralymphatische Injektionen haben sich bereits im Vorfeld im Bereich der Impfung gegen Viruskrankheiten und der Tumortherapie als effektiver als andere Applikationsweisen erwiesen. Die intralymphatische Applikation erreichte eine 10^6 mal höhere immunogene Aktivität als die zuvor verwendete subkutane Injektion. Außerdem wurden eine stärkere T-Zell-Antwort und eine Produktion von IFN- γ erreicht, was eine lang anhaltende Immunität gegen Infektionen und Tumore verleiht (JOHANSEN et al., 2005). In einer weiteren Studie konnte gezeigt werden, dass bei der subkutanen Applikationsweise einer Vakzine die 10^4 mal höhere Dosis nötig war, um eine Immunität zu erreichen, als im Vergleich zur intralymphatischen Injektion (MALOY et al., 2001; JOHANSEN et al., 2005).

Zum ersten Mal beschäftigte sich JUILLARD im Jahr 1983 mit der intralymphatischen Applikation bei der Umweltallergie des Hundes. Eingeschlossen in die Studie wurden Hunde, bei denen eine konventionelle Immuntherapie (subkutan) versagt hatte. Die Tiere wurden gegen Umweltallergene desensibilisiert. Von den 14 behandelten Hunden zeigten acht eine vollständige Remission, die zwischen zwei Monaten und zwei Jahren anhielt. Vier Hunde zeigten eine teilweise Minderung der Allergiesymptome und zwei Tiere sprachen nicht auf die intralymphatische Infusion an (JUILLARD & BUBBERS, 1983).

In den Jahren 2008 bis 2009 beschäftigte sich eine Forschungsgruppe in der Schweiz mit der direkten Applikation von Allergenen in einen Lymphknoten. Getestet wurde diese Applikationsform an einer (zuvor sensibilisierten) Mäusepopulation, die gegen Katzenhaare und Bienengift desensibilisiert wurden. Dabei stellte sich heraus, dass diese Applikationsform die allergen-spezifische IgG Produktion und die T-Zellen Antwort stärker stimulierte als bei der subkutanen Injektion. Außerdem kam es zu einer vermehrten Produktion von Th1-abhängigen IgG2a, welches mit einem besseren Schutz gegen anaphylaktische Allergenreaktionen im Zusammenhang steht. Aus dieser Studie ging hervor, dass man durch eine Applikation in den Lymphknoten die Allergenmenge und die Häufigkeit der Allergenapplikation reduzieren kann (MARTINEZ-GOMEZ et al., 2009).

Nachdem sich im Mausmodell die Applikation in den Lymphknoten bewährt hatte, wurde eine Studie am Menschen mit drei Jahren Dauer durchgeführt. Die Patienten wiesen Allergien gegen Gräser und Pollen auf und zeigten Symptome einer allergischen Rhinitis. Es wurden zwei Versuchsgruppen gebildet. Die Kontrollgruppe erhielt über drei Jahre insgesamt 54 subkutane Injektionen, während die Versuchsgruppe innerhalb der ersten zwei Monate drei Injektionen in einen *Ln. inguinalis* erhielten. Dabei zeigte sich, dass bei der intralymphatischen Gruppe die Symptome rascher abgemildert wurden als bei der subkutanen Gruppe. Außerdem hielt der Effekt der Immuntherapie bei der intralymphatischen Gruppe bis zu drei Jahre an. Es konnte somit die Zahl der Injektionen und die Menge an benötigter Allergenlösung reduziert werden, was zu einer Erleichterung der Immuntherapie für die betroffenen Personen führte (SENTI et al., 2008).

Auf Grund der vielversprechenden Resultate der vorhergehenden Studien wurde diese Doktorarbeit ins Leben gerufen.

III Material und Methoden

1. Vorstudie

Um eine bestmögliche Injektion in das Lymphsystem zu erreichen, wurde mittels Ultraschall der *Lnn. poplitei*, *Lnn. cervicales craniales*, *Lnn. mandibulares* und *Lnn. inguinales* bei einigen Hunden die Lage, Fixierbarkeit und Größe der einzelnen Lymphknoten evaluiert. Diese Untersuchung und die Injektionen der Allergenlösung mittels Ultraschall wurde durch Ultraschallspezialisten der Medizinischen Kleintierklinik durchgeführt.

In einer Vorstudie wurden drei Hunde mit atopischer Dermatitis nach dem Studienprotokoll behandelt und erhielten neben den subkutanen Injektionen jeweils drei Injektionen in den Lymphknoten.

In den folgenden Abbildungen ist der *Ln. mandibularis* im Verlauf der Injektion dargestellt (Abbildung 4: Ultraschalldarstellung *Ln. mandibularis*, Abbildung 5: Ultraschalldarstellung *Ln. mandibularis* während Injektion, Abbildung 6: Ultraschalldarstellung nach Injektion).

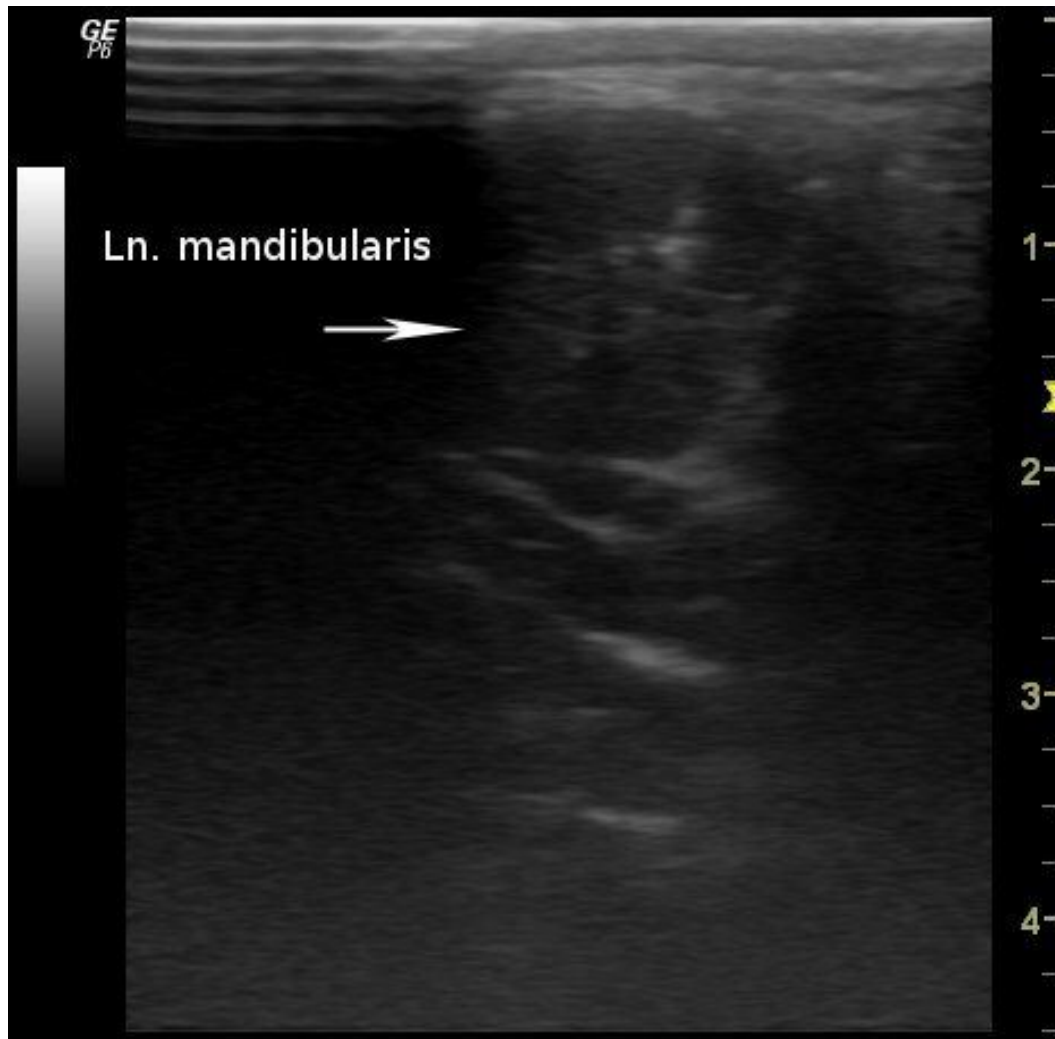


Abbildung 4: Ultraschalldarstellung Ln. mandibularis

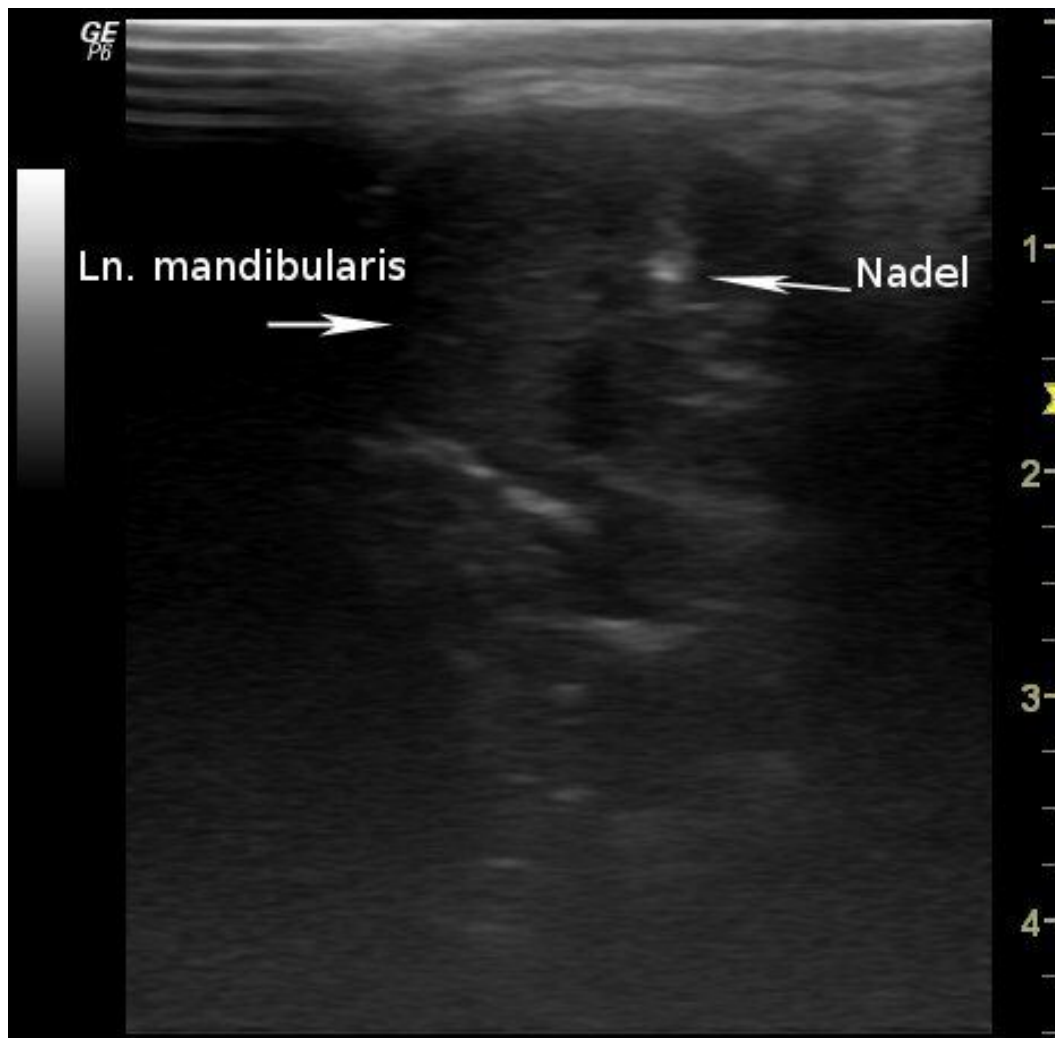


Abbildung 5: Ultraschalldarstellung Ln. mandibularis während Injektion

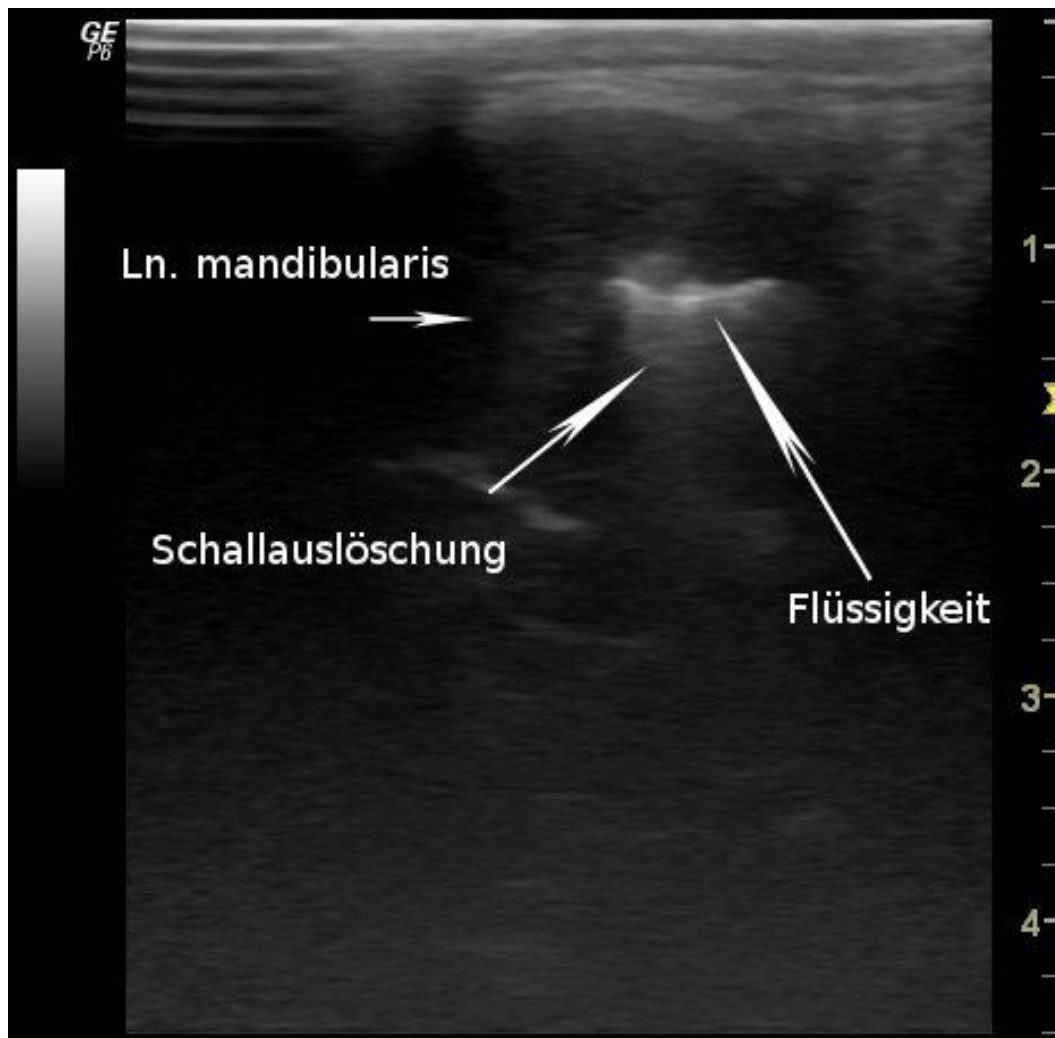


Abbildung 6: Ultraschalldarstellung nach Injektion

Zur Bestimmung von kaninem IL-10, IL-4 und IFN- γ wurde ein multiplex ELISA (Quantikine® Immunoassay, R&D Systems, Wiesbaden-Nordenstadt, Deutschland) benutzt. Dieser ELISA wurde in einer vorhergehenden Studie benutzt und validiert (ROSTAHER et al., Manuskript zur Veröffentlichung eingereicht).

2. Studiendesign

Die Studie wurde randomisiert, doppelt geblindet und multizentrisch durchgeführt. Es wurde eine vorher festgelegte Randomisierungstabelle (Schema: AABAAABAABBBABBABABBBABBAABAABBAA, wobei A =

Kontrollgruppe und B = Versuchsgruppe) verwendet, mit deren Hilfe die Patienten in die verschiedenen Gruppen eingeteilt wurden. Die doppelte Blindung wurde erreicht, indem weder Patientenbesitzer noch der beurteilende Tierarzt wussten, in welche Gruppe der Patient eingeteilt wurde.

3. Patienten

Insgesamt wurden 33 Patienten aus dem Patientenstamm der Medizinischen Kleintierklinik der LMU München in die Studie eingeschlossen. Die Besitzer erhielten zu Beginn eine Aufklärung über die Studie und mussten eine Einverständniserklärung unterzeichnen (Siehe Anhang Besitzer Einverständniserklärung). Die Diagnose Umweltallergie (atopische Dermatitis) stellte das Einschlusskriterium für die Studie dar. Andere Ursachen für den vorhandenen Juckreiz wie Pyodermie und oberflächliche Milben (*Sarcoptes scabiei*) wurden durch Zytologie, Hautgeschabsel und ggf. Versuchstherapien ausgeschlossen. Weitere Differentialdiagnosen wie Flohspeichelallergie und Futterunverträglichkeit wurden durch monatliche Ektoparasitenprophylaxe (Frontline® Spot on, Stronghold® Spot on, Exspot® Spot on) und durch Eliminationsdiät (Fütterung einer völlig neuen Protein- und Kohlenhydratquelle über mindestens sechs bis acht Wochen) ausgeschlossen. Bestanden diese Allergien zusätzlich zu einer Umweltallergie, mussten die Patienten weiterhin monatliche Ektoparasitenprophylaxe und ihre Eliminationsdiät erhalten.

4. Einleitungsphase

Die an der atopischen Dermatitis beteiligten Antigene wurden durch einen Intrakutantest oder/und einen Serumallergietest identifiziert. Vor Durchführung dieser Tests durften die Patienten mindestens vier Wochen lang kein systemisches Kortisonpräparat und mindestens zwei Wochen lang kein Antihistaminikum erhalten haben. Lokale Therapien wie Shampoo und Fettsäuren waren erlaubt.

4.1 Intrakutantest

Bei diesem Test wurden verschiedene Allergene in flüssiger Form in die Haut injiziert. Bei diesem Test verwendete Allergene sind in Tabelle 7 dargestellt.

Dazu wurde ein Feld von ca. 20 x 10 cm an der seitlichen Brustwand geschoren. Bei unruhigen Hunden wurde eine Sedierung zur Ruhigstellung verwendet (Medetomidin (Cepetor KH 1 mg/ml (cp-pharma Handelsgesellschaft mbH, Burgdorf, Deutschland)). Die Allergene wurden intradermal injiziert und jeweils nach zehn und 25 Minuten durch einen erfahrenen Dermatologen abgelesen. Die einzelnen Reaktionen wurden mit einer Positivkontrolle (Histamin Phosphat (Center Laboratories, Port Washington, NY, USA)) und einer Negativkontrolle (physiologische Kochsalzlösung 0,9 % (B.Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland)) verglichen und von null bis vier bewertet, wobei eine mit vier bewertete Reaktion vergleichbar war mit der nach Histamininjektion gesehenen Reaktion. Als null wurden die negative Kontrolle und vergleichbare Reaktionen gewertet. Beurteilt wurden Rötung, Schwellung und Ödematisierung. Nach Durchführung des Tests wurde eine Hydrokortisonhaltige Creme (Ebenol 0,25 % (Strathmann AG & Co. KG, Hamburg, Deutschland) auf das Testfeld aufgetragen, um anschließendem Juckreiz vorzubeugen. Je nach Vorhandensein der Allergene in der Umgebung des Patienten, z.B. bestimmte Bäume und Gräser in der näheren Umgebung, sowie nach der Saisonalität der Symptomatik, wurde die Zusammensetzung der spezifischen Allergenlösung ausgewählt (HILLIER & DEBOER, 2001)

Tabelle 7: Intrakutantest

Negativ Kontrolle	physiologische Kochsalzlösung 0,9 % (B.Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland)	
Positiv Kontrolle	Histamin	
Kräutermischung 1	Spitzwegerich	<i>Plantago lanceolata</i>
	Glaskraut	<i>Parietaria</i>
	Kali-Salzkraut	<i>Kali soda</i>
	Margarite	<i>Chrysanthemum leucanthemum</i>
Kräutermischung 2	Beifuß	<i>Artemisia spp.</i>
	Brennessel	<i>Urtica dioica</i>
	Ambrosie	<i>(Ambrosia artemisiifolia)</i>
	Sauerampfer	<i>(Rumex crispus)</i>
Kräutermischung 3	Weißer Gänsefuß	<i>Chenopodium sp.</i>
	Löwenzahn	<i>Taraxacum sect. Ruderalia</i>
	Raps	<i>Brassica napus</i>
Beifuß	<i>Artemisia spp.</i>	
Spitzwegerich	<i>Plantago lanceolata</i>	
Ambrosie	<i>Ambrosia artemisiifolia</i>	
Glaskraut	<i>Parietaria</i>	
Gräsermischung	Ruchgras	<i>Anthoxanthum odoratum</i>
	Knäulgras	<i>Dactylis glomerata</i>
	Wiesenlieschgras	<i>Phleum pratense</i>
	Wiesenrispengras	<i>Poa pratensis</i>
Birke	<i>Betula</i>	
Eiche	<i>Quercus</i>	
Weide	<i>Salix</i>	
Küchenschabe	<i>Blatella germanica</i>	
Hausstaubmilbe	<i>Dermatophagoides farinae</i>	
Hausstaubmilbe	<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	
Futtermilbe	<i>Tyrophagus putrescentiae</i>	
Futtermilbe	<i>Acarus siro</i>	

Möbel-/ Hausmilbe	<i>Glycyphagus domesticus</i>
Vorratsmilbe	<i>Lepidoglyphus</i>
Schimmelpilz	<i>Alternaria alternata</i>
Schimmelpilz	<i>Cladosporium herbarum</i>
Haselstrauch	<i>Corylus</i>
Pappel	<i>Populus</i>
Buche	<i>Fagus sylvatica</i>
Esche	<i>Fraxinus</i>
Erle	<i>Alnus</i>
Katzenepithel	

4.2 Serumallergietest

Es wird bei diesem Test im Serum der Patienten die spezifische IgE-Konzentration für einzelne Allergene bestimmt. Zu diesem Zweck wurde den Hunden Blut mittels Punktion der *Vena jugularis* entnommen und anschließend das Serum abzentrifugiert und versandt. Für die Einzelallergenbestimmung mittels Serumtest Allercept® (IDEXX, VetMedLabor, Ludwigsburg, Deutschland) wurden je 0,5 ml Serum mittels ELISA untersucht. Dabei wurden die spezifischen IgE-Konzentrationen folgender Allergene bestimmt (Tabelle 8: Serumallergietest):

Tabelle 8: Serumallergietest

Milben/ Schimmelpilze/ Flohspeichel		
Schimmelpilz	<i>Penicillium notatum</i>	
Schimmelpilz	<i>Aspergillus fumigatus</i>	
Schimmelpilz	<i>Cladosporium herbarum</i>	
Schimmelpilz	<i>Alternaria alternata</i>	
Kakerlake	<i>Blatella germanica</i>	
Flohspeichel	Diverse Spezies	
Katzenepithelien		
Futtermilbe	<i>Acarus siro</i>	
Vorratsmilbe	<i>Lepidoglyphus</i>	
Futtermilbe	<i>Tyrophagus putrescentiae</i>	
Hausstaubmilbe	<i>Dermatophagoides farinae</i>	
Hausstaubmilbe	<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	
Gräser/ Kräuter		
6-Gräser-Mix	Knäuelgras	<i>Dactylis glomerata</i>
	Wiesenschwingel	<i>Festuca pratensis</i>
	Kentucky blue	<i>Poa pratensis</i>
	Lolchgras	<i>Lolium perenne</i>
	Wiesenlieschgras	<i>Phleum pratense</i>
	Wolliges Honiggras	<i>Holcus lanatus</i>
Straußgras	<i>Agrostis alba</i>	
Hundszahngras	<i>Cynodon dactylon</i>	
Hirse	<i>Sorghum halpense</i>	
Sauerampfer	<i>Rumex crispus</i>	
Beifuß	<i>Artemisia spp.</i>	
Spitzwegerich	<i>Plantago lanceolata</i>	
Weißer Gänsefuß	<i>Chenopodium sp.</i>	
Brennessel	<i>Urtica dioica</i>	
Traubenkraut	<i>Ambrosia sp.</i>	
Glaskraut	<i>Parietaria jud.</i>	

Kali-Salzkraut	<i>Kali soda</i>
Bäume	
Birke	<i>Betula</i>
Erle	<i>Alnus</i>
Eiche	<i>Quercus</i>
Zypresse	<i>Cupressus</i>
Haselstrauch	<i>Corylus</i>
Ulme	<i>Ulmus</i>
Buche	<i>Fagus sylvatica</i>
Pappel	<i>Populus</i>
Ahorn	<i>Acer</i>
Weide	<i>Salix</i>
Olive	<i>Olea</i>
Zeder	<i>Cedrus</i>

Je nach Empfehlung des Labors und nach Vorhandensein der Allergene in der Umgebung des Patienten wurde die individuelle Lösung zusammengestellt.

4.3 Allergenlösung

Die Allergenlösung wurde nach Ergebnis des Intrakutantests oder/und des Serumallergietests individuell zusammengestellt. Dabei wurden die Testergebnisse der (ggf. zwei) Tests, die Klinik und die Umwelt der Patienten berücksichtigt. Bei verstärktem Juckreiz im Winter lag der Schwerpunkt auf im Haus vorkommenden Allergenen (z.B. *D. farinae*), während bei stärkeren Symptomen im Sommer die Gräser, Bäume und Kräuter mehr in den Mittelpunkt rückten. Die Lösung wurde von Laboklin GmbH & Co KG (Bad Kissingen, Deutschland) bezogen. Die Startlösung bestand aus zwei Ampullen:

- Ampulle 1 (2.000 PNU)
- Ampulle 2 (20.000 PNU)

Eine Fortsetzungslösung wurde je nach individueller Anpassung der Frequenz und Menge der Injektionen nach ca. fünf Monaten benötigt. Die Konzentration dieser Lösung betrug 20.000 PNU.

Die Lösungen wurden gekühlt versandt und bei zwei bis acht Grad Celsius bis zur Verwendung gelagert.

5. Gruppeneinteilung

Es wurden zwei Gruppen mit 16 (Versuchsgruppe) und 17 (Kontrollgruppe) Patienten gebildet. Zum Zweck der Blindung erhielten beide Gruppen dasselbe Schema und identische Anzahl an Injektionen. Beide Patientengruppen erhielten somit sowohl intralymphatische als auch subkutane Injektionen (Siehe Anhang Injektionsschema).

Zeigten die Patienten adverse Reaktionen auf die Injektionen, schieden sie aus der Studie aus.

Die Gesamtpunktzahl pro Besuch und Patient setzt sich zusammen aus:

$(\text{Juckreizpunktezahl} \times 5) + \text{Medikamentenpunktezahl} + \text{CADESI}$

5.1 Kontrollgruppe

Die Kontrollgruppe erhielt die herkömmliche Variante der Immuntherapie subkutan. Eine Rush-Immuntherapie stellte den Beginn dar, wobei dem Patienten an einem Tag neun Injektionen in aufsteigender Konzentration der Allergienlösung in halbstündigem Abstand unter die Haut injiziert wurden. Zur Erhaltung der Wirkung wurden während der ersten zwei Monate die Lösungen im zweiwöchigen Abstand unter die Haut injiziert. Anschließend wurden die Dosierung und das Intervall individuell an den jeweiligen Patienten angepasst. Stieg der Juckreiz schon vor Injektion der nächsten Erhaltungsdosis wieder an, wurde das Intervall verkürzt. Steigerte sich der Juckreiz direkt nach der Injektion und besserte sich dann wieder, wurde die Dosis erniedrigt. Um die Verblindung zu gewährleisten erhielt diese Gruppe zusätzlich intralymphatische Injektionen

mit Placebo (physiologische Kochsalzlösung 0,9 % (B.Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland)).

5.2 Versuchsgruppe

An dieser Patientengruppe wurde die neue Applikationsform der intralymphatischen Injektion durchgeführt. Die Hunde bekamen insgesamt drei Injektionen in den *Ln. mandibularis* in monatlichem Abstand. Um die Injektion kontrolliert durchführen zu können wurden die Hunde mit 5 µg/kg KG Medetomidin (Cepetor KH 1 mg/ml (cp-pharma Handelsgesellschaft mbH, Burgdorf, Deutschland)) sediert. Über dem Lymphknoten wurde eine ausreichend große Fläche im Fell geschoren und Alkohol appliziert, um guten Kontakt mit dem Ultraschallkopf herstellen zu können. Unter Ultraschallkontrolle (LOGIQ P6 (GE Medical Systems Deutschland GmbH & Co. KG, Solingen, Deutschland)) wurden anschließend 0,08 ml (2000 PNU) der Allergenlösung in den Lymphknoten appliziert. Die Hunde erhielten nach Durchführung der Injektion Atipamezol (Revertor 5 mg/ml (cp-pharma Handelsgesellschaft mbH, Burgdorf, Deutschland)) zur Antagonisierung der Sedation. Anschließend standen die Patienten für 2 Stunden unter Beobachtung, um anaphylaktische Reaktionen ausschließen zu können.

6. Folgeuntersuchungen

Die Patienten wurden am Tag Null, nach zwei, vier und acht Wochen und anschließend ein halbes Jahr nach Therapiebeginn vorgestellt. Bei jedem Besuch mussten die Besitzer Juckreiz, Gesamtzustand im Vergleich zum letzten Besuch und Medikamente, die bis zwei Wochen vor dem Besuch verabreicht wurden, bewerten. Zusätzlich wurde eine Bewertung des Hautbildes mit Hilfe eines CADESI (Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index) von einem erfahrenen Dermatologen durchgeführt. Bei jedem Besuch wurden außerdem klinische und zytologische Kontrollen der Haut durchgeführt. Ggf. erhielten Patienten eine individuelle Therapieanpassung. Es wurde versucht, an der

bestehenden Therapie möglichst wenig zu verändern, um eine Verfälschung der Studienergebnisse auszuschließen. Es kam lediglich bei Pyodermie oder extremem Juckreiz zu einer Therapieanpassung.

6.1 Juckreizskala

Die Besitzer mussten bei jedem Besuch auf einer visuellen Skala von null bis zehn markieren, wie sie den momentanen Juckreiz ihres Hundes einschätzen. Zur besseren Einordnung wurden Erklärungen zu den einzelnen Juckreizstufen gegeben (Siehe Anhang Juckreizskala).

6.2 Läsionenbeurteilung (CADESI)

Ein erfahrener Dermatologe beurteilte die an der Haut sichtbaren Auswirkungen der atopische Dermatitis mit einem validierten Läsionenscore (Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index = CADESI). Dabei wurden Veränderungen wie Rötung (Erythem), Abschürfung (Exkoration), Haarlosigkeit (Alopezie) und Hautverdickung (Lichenifikation) an 62 verschiedenen Körperstellen mit einer Punktezahl von null bis fünf bewertet, wobei fünf die größtmögliche und null keine Veränderung bedeutete (Siehe Anhang Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index (CADESI)).

6.3 Medikamentenbewertung

Relevant für die Studie waren die Medikamente, die zwei Wochen vor dem jeweiligen Versuch verabreicht wurden. Wurden keine Medikamente verwendet, wurden null Punkten vergeben. Ausschließlich lokale Therapie wie z.B. Shampoos oder Salben zählten fünf Punkte. Verabreichung von Antihistaminika und/oder Fettsäuren (topisch oder systemisch) bekamen eine Bewertung von zehn Punkten. Bei einer Verwendung von Glukokortikoiden, wurden diese nach täglicher Dosis eingestuft. Eine Dosis von > 1 mg/kg KG erhielt 40 Punkte, $0,5 - 1$ mg/kg KG 30 Punkte, $0,2 - 0,5$ mg/kg KG 20 Punkte und $< 0,2$ mg/kg KG 10

Punkte. Der Einsatz von Zyklosporinen wurde analog den Glukokortikoiden nach täglicher Dosis beurteilt (Siehe Anhang Medikamentenbeurteilung).

6.4 Gesamtbeurteilung

Die Patientenbesitzer sollten den Zustand ihres Hundes im Vergleich zu ihrem letzten Besuch in der Klinik beurteilen. Verschlechterung wurde mit null Punkten bewertet, keine Veränderung mit einem Punkt, milde Verbesserung erhielt zwei Punkte, zufriedenstellende Verbesserung drei Punkte und vollständiger Rückgang der Problematik wurde mit vier Punkten gewertet (Siehe Anhang Gesamtbeurteilung).

6.5 Blutuntersuchung

Bei jedem Patienten wurden zu Beginn der Studie, nach zwei und acht Wochen und anschließend nach einem halben Jahr Blutproben entnommen. Die Entnahme wurde an der *Vena jugularis* durchgeführt. War dies nicht möglich, wurde die *Vena cephalica antebrachii* zur Punktion verwendet. Es wurden dabei ca. 12 ml Blut entnommen und auf Serum- und EDTA-Röhrchen aufgeteilt. Bei vorzeitigem Ausscheiden der Patienten aus der Studie, wurde zu diesem Zeitpunkt eine abschließende Blutprobe gewonnen.

6.5.1 Differentialblutbild

Es wurde ein EDTA-Blutröhrchen verwendet, das sofort nach Gewinnung zur Weiterverarbeitung in das klinikeigene Labor verbracht wurde. Dort wurde mittels Cell-Dyn 3700 (Abbot AG, Baar, Schweiz) die absolute Zahl an Entzündungszellen gemessen. Weiterhin wurde ein Blutausschrieb angefertigt, der anschließend mit einer Wright's Färbung behandelt wurde. Es erfolgte eine manuelle Auszählung der Entzündungszellen (neutrophile, eosinophile, basophile Leukozyten).

6.5.2 Immunglobulin E

Zur Bestimmung des allergen-spezifischen IgE wurde Serum an das Heska Labor in Fribourg geschickt. Mittels eines auf den rekombinanten FcEpsilon Rezeptor basierenden ELISA wurde IgE gegen die wichtigsten Umweltallergene bestimmt (Allercept®, Heska AG, Fribourg, Schweiz).

Das Testverfahren zur Bestimmung des spezifischen IgE mittels FcεR1α arbeitet nach folgendem Prinzip: Damit eine allergische Reaktion ablaufen kann, muss der IgE Antikörper an Rezeptoren auf der Oberfläche von Mastzellen oder basophilen Granulozyten binden. Dies erfolgt mittels des Fc-Teils 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-Teil des IgE Moleküls. Diese Bindung ist hoch spezifisch, d.h., dass andere Antikörper (IgG, IgM, IgA), auch wenn sie mit einem Allergen reagieren, nicht an diesen Rezeptor binden. Ansonsten läuft das Verfahren wie ein üblicher ELISA ab. Die Böden der Mikrotiter-Platte sind mit einem Test-Allergen beschichtet. An dieses binden allergen-spezifische IgE und IgG aus dem Patientenserum. Anschließend werden IgE Rezeptoren zugegeben und binden sich nur an IgE. Zuletzt wird ein Substrat zugefügt, welches einen farbigen Komplex bei Bindung an IgE bildet (STEDMAN et al., 2001).

6.5.3 Immunologische Parameter

Das Blut wurde in Serumröhrchen aufgefangen und innerhalb von 15 Minuten zentrifugiert. Dies erfolgte für fünf Minuten bei 4000 Umdrehungen pro Minute. 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.

Die Röhrchen wurden beschriftet und bei – 80 °C bis zur Weiterverarbeitung eingefroren.

6.5.3.1 Interleukin 4

Die Konzentration von IL-4 im Serum der untersuchten Hunde wurde mittels quantitativem Sandwich-ELISA bestimmt. Es wurde das Canine Interleukin 4 (IL-4) ELISA Kit (Cusabio Biotech Co., Newark, Deutschland) zur Messung von kaninem IL-4 verwendet. Der Nachweisbereich liegt zwischen 6,25 und 400 pg/ml, wobei die minimal nachweisbare Dosis bei diesem Test mit 1,56 pg/ml angegeben wird. Die Bestimmung wurde nach dem Auftauen der Proben unverzüglich durchgeführt. Dabei wurden wie nach Herstellerangaben die Standards und Proben in Duplikaten aufgetragen. Die gelieferte Mikrotiterplatte wurde vom Hersteller mit einem Antikörper, der spezifisch für IL-4 ist, beschichtet. Nach Bindung von IL-4 aus Standard und Proben an den Antikörper auf der Platte und Entfernung überschüssiger Substanz, wurde ein IL-4 spezifischer Biotin-konjugierter Antikörper aufgetragen. Nach Inkubation und Waschung wurde Avidin-konjugierte Meerrettich-Peroxidase hinzugefügt. Die zur Messung notwendige Färbung wurde durch Bindung von 3,3',5,5'-Tetramethyl-Benzidine Substratlösung sowohl an vorhandenes IL-4, den Biotin-konjugierten Antikörper, als auch an das Enzym-konjugierte Avidin erreicht. Die Messung der Extinktion erfolgte bei einer Wellenlänge von 450 (+/- 2) nm. Die Messwerte wurden durch Vergleich mit der Standardkurve ermittelt.

6.5.3.2 Interleukin 10

Die Konzentration von IL-10 im Serum der untersuchten Hunde wurde mittels quantitativem Sandwich-ELISA bestimmt. Es wurde der Quantikine® ELISA (R&D Systems, Minneapolis, USA) zur Messung von kaninem IL-10 verwendet. Der Messbereich dieses Tests liegt zwischen 15,6 und 1000 pg/ml, wobei die minimal messbare Dosis mit 20 pg/ml angegeben wird. Die Proben wurden vor Beginn aufgetaut und unverzüglich zweifach verdünnt. Die gelieferte Mikrotiterplatte wurde mit einem IL-10 spezifischen Antikörper beschichtet. Nach Doppelansatz von Standards und Proben auf der Platte und Bindung der Antigene an die Antikörper wurden Substanzüberschüsse abgewaschen. Anschließend wurde ein mit Enzym verknüpfter, für IL-10 spezifischer Antikörper hinzugefügt, inkubiert und anschließend überschüssiger Antikörper

wieder entfernt. Nach Auftragen der Substratlösung und Inkubation erfolgte eine Blaufärbung. Die Reaktion wurde mit einer Stopplösung angehalten und es erfolgte dabei ein Farbumschlag nach gelb. Die Platte wurde anschließend bei einer Wellenlänge von 450 nm gemessen. Die Messwerte wurden durch Vergleich mit der Standardkurve und unter Berücksichtigung der Verdünnung ermittelt.

6.5.3.3 Transforming growth factor β 1

Die Konzentration von TGF- β 1 im Serum der untersuchten Hunde wurde mittels ELISA bestimmt. Es wurde der Quantikine® ELISA (R&D Systems, Minneapolis, USA) zur Messung von Mäuse-, Ratten-, Schweine- und Hunde-TGF- β 1 verwendet. Die minimal messbare Dosis liegt bei diesem Test zwischen 1,7 und 15,4 pg/ml, bei einem Durchschnittswert von 4,61 pg/ml. Bei firmeninternen Tests konnte eine Konzentration von TGF- β 1 im Serum von Hunden zwischen 38 und 72 ng/ml gemessen werden. Die Serumproben müssen für diesen Test zuvor aktiviert werden. Dies erfolgt durch Zugabe von HCl, Neutralisation durch NaOH und HEPES und anschließender Verdünnung. Der Quantikine® ELISA stellt einen quantitativen Sandwich-ELISA dar. Das bedeutet, dass auf der Mikrotiterplatte bereits ein monoklonaler Antikörper, der für TGF- β 1 spezifisch ist, aufgetragen ist. Proben, Kontrollen und Standards werden im Doppelansatz auf die Platte pipettiert und reagieren mit dem bereits vorhandenen Antikörper. Überflüssige Substanz wird abgewaschen und ein polyklonaler Enzym-markierter Antikörper aufgetragen, der ebenso spezifisch für TGF- β 1 ist. Nach erneuter Waschung wird ein Substrat aufgebracht, das eine konzentrationsabhängige Färbung bewirkt. Die Substrat-Reaktion wird abgestoppt und ein Farbumschlag ist zu beobachten. Anschließend wird die optische Dichte der Proben auf der Platte bei einer Wellenlänge von 450 nm gemessen. Der Verdünnungsfaktor muss anschließend zur Bestimmung der Messwerte noch berücksichtigt werden.

6.5.3.4 Interferon γ

Die Konzentration von IFN- γ im Serum der untersuchten Hunde wurde mittels

quantitativem Sandwich-ELISA bestimmt. Es wurde der Quantikine® ELISA (R&D Systems, Minneapolis, USA) zur Messung von kaninem IFN- γ verwendet. Die minimal messbare Dosis liegt nach Herstellerangaben zwischen 8,0 und 60 ng/ml, mit einem Durchschnitt von 25 pg/ml. Nach herstellerinternen Versuchen konnte eine Konzentration von IFN- γ im Blut von Hunden mit einem Wert unterhalb dem niedrigsten Standardwert von 62,5 pg/ml gemessen werden. Für diesen Test werden monoklonale Antikörper von Mäusen, welche spezifisch für IFN- γ sind, auf die Mikrotiterplatte aufgebracht. Serumproben, Standards und Kontrollen werden im Doppelansatz in die Vertiefungen pipettiert. Alles vorhandene kanine IFN- γ wird an die Maus-Antikörper gebunden. Nach Abwaschen von überschüssiger Substanz wird ein Biotin-angereicherter monoklonaler Maus-Antikörper, ebenso spezifisch für kanines IFN- γ , aufgetragen. Nach erneuter Waschung wird Streptavidin konjugiert mit HRP hinzugefügt. Die ungebundenen Bestandteile werden abgewaschen und ein Substrat bewirkt die konzentrationsabhängige Färbung von Proben und Standards. Die blaue Farbe schlägt nach gelb um, sobald die Reaktion abgestoppt wird. Anschließend wird die Messung der Proben bei 450 nm durchgeführt.

7. Statistik

Um die Juckreiz- und CADESI-Werte und die Medikamentenbewertung im Verlauf des Versuches innerhalb der Patientengruppen zu vergleichen, wurde der Wilcoxon Rang Summentest benutzt. Die Auswertung erfolgte mittels einer „Intention to treat“-Analyse, bei der bei Hunden, die aus der Studie ausgeschlossen wurden, die letzten gemessenen Werte bis zum Ende der Studie fortgeschrieben und statistisch ausgewertet wurden. Zum statistischen Vergleich der Zytokine (IL-4, IL-10, IFN- γ , TNF- β), eosinophiler Granulozyten und IgE-Werten wurde ebenfalls der Wilcoxon Rang Summentest eingesetzt. Ein p-Wert unter 0,05 wurde hierbei als signifikant angesehen. Die statistischen Analysen wurden mit den Programmen Graphpad Prism 5.0 und InStat 3.06 (Graphpad Software, San Diego, USA) erstellt.

IV Ergebnisse

1. Vorstudie

Auf Grund der Vorstudie zur Evaluierung der besten Implantationsroute von Allergenlösung in das Lymphsystem wurden zu Beginn die *Lnn. poplitei* für die intralymphatische Injektion gewählt, da sie bei den meisten Hunden tastbar waren und eine geringe Abwehrreaktion erwartet wurde. Es stellte sich im Folgenden heraus, dass die Fixation dieser Lymphknoten für die Injektion nicht effektiv war. Bei manueller Fixation konnte keine ausreichende Darstellung der Ln. poplitei für eine korrekte Injektion erreicht werden. Nach der Evaluierung aller oberflächlich gelegenen Lymphknoten und Injektionsversuchen, erwiesen sich die *Lnn. mandibulares* als am besten geeignet. Sie liegen oberflächlich und können mittels Ultraschall gut dargestellt werden. Durch manuelle Fixation konnte unter Ultraschallkontrolle eine sichere intralymphatische Injektion durchgeführt werden.

Vor Studienbeginn erhielten drei Hunde intralymphatische Injektionen. Alle Hunde litten unter kaniner atopischer Dermatitis. Zu Beginn wurde physiologische Kochsalzlösung in die Lymphknoten von zwei Hunden instilliert. Nach erfolgreicher Durchführung wurde bei einem Hund die Allergenlösung intralymphatisch appliziert. Anaphylaktische Reaktionen blieben dabei aus.

Es konnte nach den intralymphatischen Injektionen sowohl bei Placebo als auch bei Allergenlösung eine Vergrößerung der jeweiligen Lymphknoten beobachtet werden. Sie vergrößerten sich von ca. 2 mm auf 5 mm bis 1,5 cm (abhängig von der Größe des Hundes). Die Vergrößerung hielt individuell unterschiedlich lange an. Ein Rückgang konnte nach einer bis vier Wochen festgestellt werden.

Bei Hunden mit einem Körpergewicht unter 10 kg KG ergaben sich Probleme bei der Lymphknoteninjektion. Waren die Lymphknoten nicht reaktiv vergrößert, stellte dies ein Problem bei der Injektionsgenauigkeit dar. Die *Lnn. mandibulares* konnten bei einem Durchmesser von 2 mm oder kleiner schwierig fixiert werden.

2. Patienten

Es wurden insgesamt 33 Hunde in die Studie eingeschlossen. Die Einteilung in die Gruppen erfolgte mittels Randomisierungstabelle.

2.1 Altersverteilung

Es wurden 17 Patienten in die Kontrollgruppe eingeschlossen. Das Alter der Hunde reichte von zwei bis elf Jahren bei Therapiebeginn, bei einem Durchschnittsalter von vier Jahren und elf Monaten. Das Alter bei erstem beobachtetem Auftreten von Allergiesymptomen lag in der Kontrollgruppe zwischen unter einem Jahr und neun Jahren. Der durchschnittliche Allergiebeginn konnte in dieser Gruppe auf ein Alter von zwei Jahren und acht Monaten festgelegt werden.

Die 16 Patienten in der Versuchsgruppe waren bei Therapiebeginn zwei bis zwölf Jahre alt mit einem Durchschnittsalter von fünf Jahren und drei Monaten. Die atopische Dermatitis begann in einem Alter zwischen unter einem Jahr und sechs Jahren, durchschnittlich mit drei Jahren und einem Monat.

Zwischen den beiden Gruppen gab es keine Unterschiede im Alter bei Therapiebeginn und bei Allergiebeginn.

2.2 Geschlechtsverteilung

Insgesamt waren 13 Hunde in der Studie weiblich und 20 männlich. Innerhalb der Kontrollgruppe lag die Verteilung bei zehn weiblichen und sieben männlichen Tieren. Innerhalb der Versuchsgruppe waren drei weibliche und dreizehn männliche.

2.3 Rasseverteilung

Die Studienpatienten gehörten insgesamt 13 verschiedenen Rassen an. Von den Patienten waren zehn Mischlinge unterschiedlicher Rassen. Die Verteilung ist in

Tabelle 9 dargestellt.

Tabelle 9: Rasse der untersuchten Hunde sowie deren jeweilige Anzahl

Rasse	Anzahl der Hunde
Mischlingshunde	10
Labrador Retriever	4
Französische Bulldogge	3
West Highland White Terrier	3
Boxer	2
Golden Retriever	2
Neufundländer	2
Bolonka Zwetna	1
Bullterrier	1
Cavalier King Charles Spaniel	1
Deutscher Schäferhund	1
Magyar Vizsla	1
Mops	1
Parson Jack Russel	1

2.4 Allergietest

Es wurden insgesamt 19 Serumtests und 28 Intrakutantests durchgeführt. In der Kontrollgruppe wurden beteiligte Allergene bei fünf Hunden mittels Serumallergietest, bei neun Hunden mittels Intrakutantest und bei drei Hunden durch Kombination beider Tests ermittelt. In der Versuchsgruppe wurden drei Serumallergietests und 16 Intrakutantests durchgeführt. Bei den drei Hunden mit Serumallergietest lag ebenso ein Hauttestergebnis vor.

Insgesamt traten am häufigsten positive Reaktionen auf bei (Anzahl der positiven Reaktionen): *Dermatophagoides farinae* (32), *Tyrophagus putrescentiae* (26),

Acarus siro (25), *Dermatophagoides pteronyssinus* (22), Getreidemix (15), *Lepidoglyphus* (13). In der Kontrollgruppe reagierten am häufigsten positiv (Anzahl der positiven Reaktionen in der Kontrollgruppe): *Acarus siro* (15), *Dermatophagoides farinae* (15), *Tyrophagus putrescentiae* (12) und *Dermatophagoides pteronyssinus* (10). In der Versuchsgruppe reagierten am häufigsten positiv (Anzahl der positiven Reaktionen in der Versuchsgruppe) *Dermatophagoides farinae* (17), *Dermatophagoides pteronyssinus* (12), *Tyrophagus putrescentiae* (14), *Acarus siro* (10) positiv.

Die Allergenlösungen wurden aus zwei bis 13 Bestandteilen zusammengestellt. In der Kontrollgruppe wurden zwei bis 13 Allergene eingeschlossen, während in der Versuchsgruppe zwei bis zwölf Allergene in der Allergenlösung vorhanden waren. Die am häufigsten verwendeten Allergene waren *Dermatophagoides farinae* (28), *Dermatophagoides pteronyssinus* (21), Sauerampfer (10), Spitzwegerich (9), Roggen (8) und Knäulgras (8).

3. Untersuchungsdaten

Im Rahmen des Versuches wurden die Hautläsionen der Hunde bezüglich des Schweregrades der Veränderungen mit Hilfe eines CADESI, der aktuelle Juckreiz anhand einer visuellen Analogskala und die verwendeten Medikamente anhand einer Medikamentenbewertung beurteilt.

3.1 Juckreizskala

Der von den Patientenbesitzern bei jedem Besuch angegebene Juckreiz ihres Hundes verschlechterte sich in der Kontrollgruppe von durchschnittlich 20,29 auf 22,00 Punkte leicht. Diese Verschlechterung verlief innerhalb des beobachteten Zeitraums von zwei Monaten stetig. Die Juckreizpunktezah der Kontrollgruppe ist in Abbildung 7 grafisch dargestellt.

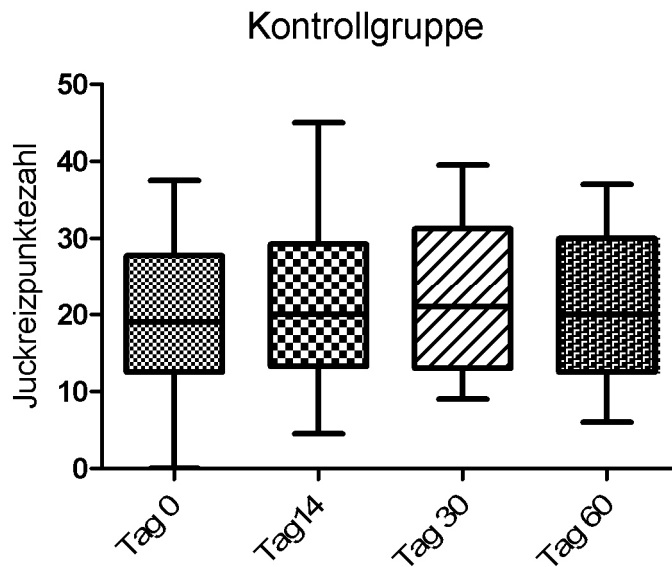


Abbildung 7: Juckreizskala Kontrollgruppe

Der angegebene Juckreiz in der Versuchsgruppe besserte sich hingegen von 24,63 auf 17,72 Punkte. Bei dem dritten Besuch konnte eine kurzzeitige Erhöhung der Juckreizpunktezah auf 19,25 Punkten im Vergleich zum zweiten Besuch (17,84) dargestellt werden. In Abbildung 8 ist die Verteilung der Juckreizpunktezah der Versuchsgruppe veranschaulicht.

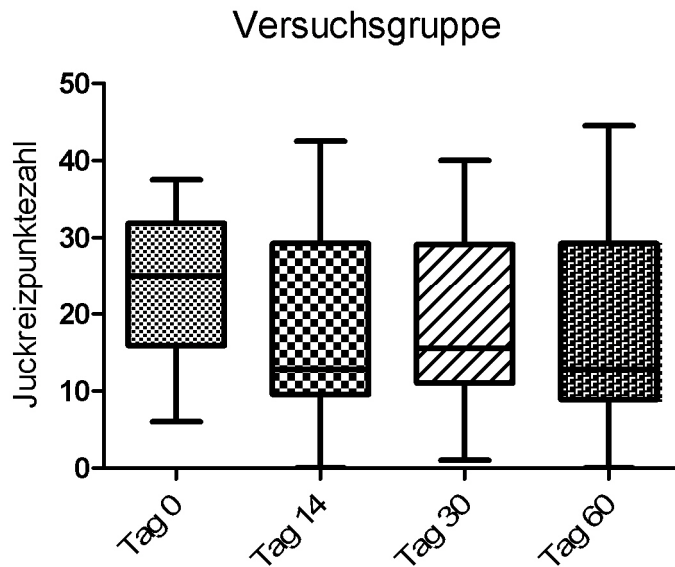


Abbildung 8: Juckreizskala Versuchsgruppe

Beide Gruppen wurden verglichen. Dabei ergab sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen (Kruskal-Wallis Test, $p = 0,5877$) oder zwischen den einzelnen Besuchen (Friedman-Test, subkutane Gruppe mit $p = 0,8931$ und intralymphatische Gruppe mit $p = 0,4915$).

Die Juckreizwerte vor Beginn der Studie und nach zwei Monaten änderten sich innerhalb der Gruppen nicht signifikant (Wilcoxon Rangsummentest, intralymphatische Gruppe $p = 0,1167$ und subkutane Gruppe $p = 0,6441$). Mittelwerte, obere und untere 95% Konfidenzintervalle der Juckreizauswertung sind in Tabelle 10 aufgeführt.

Tabelle 10: Ergebnisse Juckreizskala

	Tag 0	Tag 14	Tag 30	Tag 60
Kontrollgruppe				
Mittelwert	20,29	21,85	22,35	22,00
Unteres 95% Konfidenzintervall	14,99	16,06	17,13	16,94
Oberes 95% Konfidenzintervall	25,60	27,64	27,58	27,06
Versuchsgruppe				
Mittelwert	24,63	17,84	19,25	17,72
Unteres 95% Konfidenzintervall	19,44	10,77	13,12	10,87
Oberes 95% Konfidenzintervall	29,81	24,91	25,38	24,57

3.2 Läsionenbewertung (CADESI)

Der bei jedem Besuch durchgeführte CADESI der Läsionen von jedem Patienten blieb in der Kontrollgruppe von durchschnittlich 33,82 Punkten vor Studienbeginn bis nach zwei Monaten gleich. Innerhalb dieser zwei Monate ergab sich ein Tiefpunkt in der CADESI-Punktezah von 21,00 Punkten beim dritten Besuch, mit einem erneuten Anstieg zum Viertbesuch (nach zwei Monaten). Die Verteilung der CADESI-Punktezah bei der Kontrollgruppe und der Versuchsgruppe sind in Abbildungen 9 und 10 dargestellt.

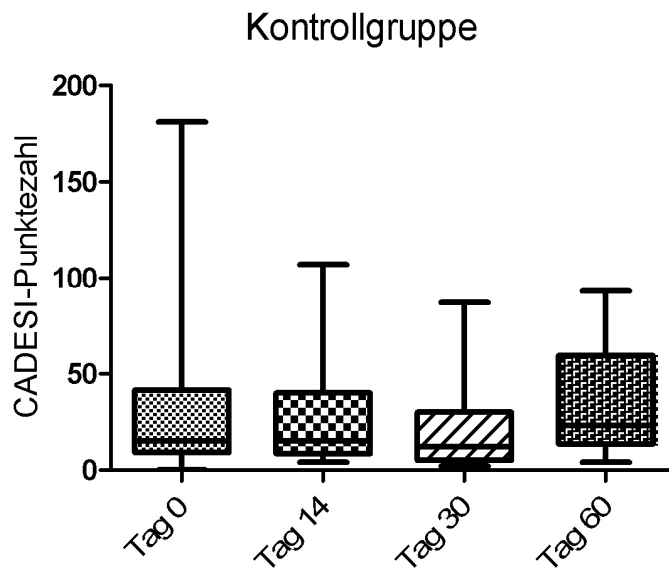


Abbildung 9: CADESI Kontrollgruppe

In der Versuchsgruppe konnte ein Abfall der durchschnittlichen Punktezahl von 29,31 auf 20,25 Punkten dargestellt werden.

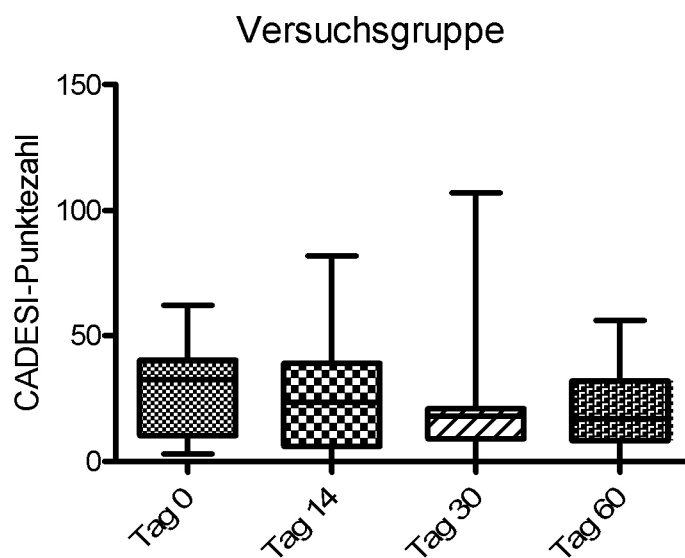


Abbildung 10: CADESI Versuchsgruppe

Ein Vergleich beider Gruppen miteinander ergab keinen signifikanten Unterschied (Kruskal-Wallis Test, $p = 0,4210$). Die Besuche der Gruppen wurden jeweils untereinander mittels Friedman-Test verglichen (Versuchsgruppe $p = 0,07$ und Kontrollgruppe $p = 0,0088$). Bei der Evaluierung der signifikanten Ergebnisse der Kontrollgruppe mittels Dunn post Test ergaben sich signifikante Unterschiede zwischen Tag 0 und 30 und zwischen Tag 30 und 60.

Die CADESI-Punkte vor Studienbeginn und nach zwei Monaten waren in jeder Gruppe statistisch nicht signifikant unterschiedlich.

Tabelle 11 zeigt die Ergebnisse der Läsionenbewertung mittels CADESI.

Tabelle 11: Ergebnisse CADESI

	Tag 0	Tag 14	Tag 30	Tag 60
Kontrollgruppe				
Mittelwert	33,82	30,65	21,00	33,82
Unteres 95% Konfidenzintervall	10,95	12,95	8,89	19,94
Oberes 95% Konfidenzintervall	56,70	48,34	33,11	47,71
Versuchsgruppe				
Mittelwert	29,31	27,56	21,31	20,25
Unteres 95% Konfidenzintervall	19,40	14,40	8,24	11,77
Oberes 95% Konfidenzintervall	39,22	40,72	34,38	28,73

3.3 Medikamentenbewertung

Die bei den einzelnen Patienten verwendeten Medikamente ergaben in der Kontrollgruppe eine Punktezahl von 16,76 bis 22,50. Abbildung 11 zeigt die Verteilung der verwendeten Medikamente in der Kontrollgruppe.

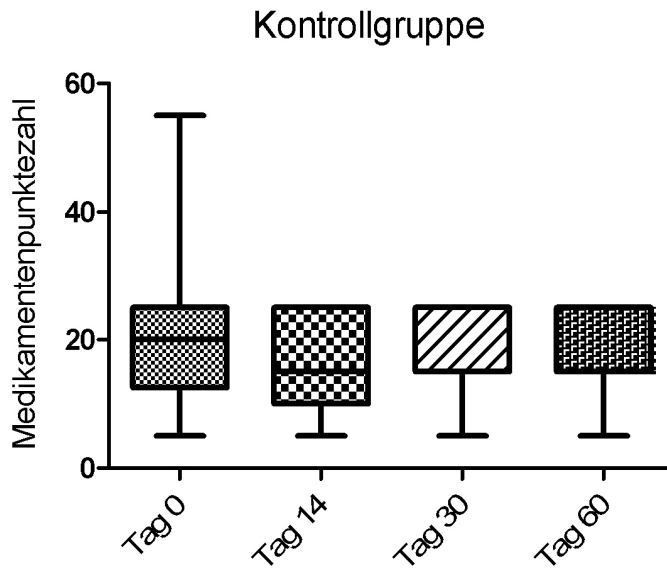


Abbildung 11: Medikamentenbewertung Kontrollgruppe

In der Versuchsgruppe lagen die Werte bei 11,56 bis 15,94 (Abbildung 12: Medikamentenbewertung Versuchsgruppe).

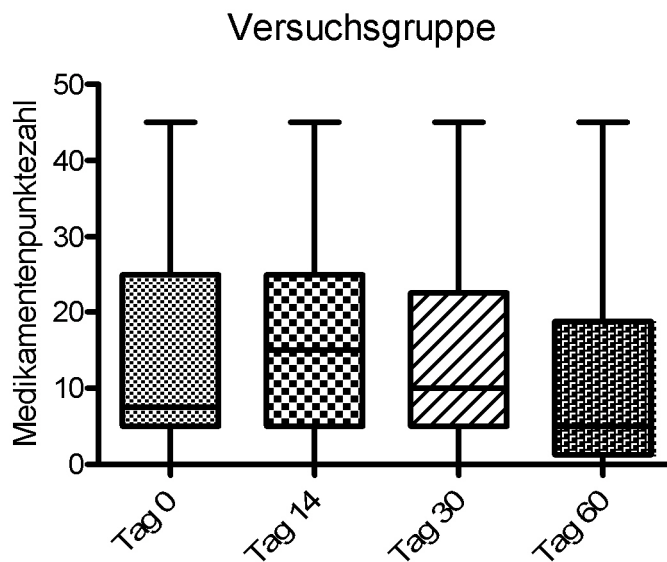


Abbildung 12: Medikamentenbewertung Versuchsgruppe

Beide Gruppen wurden verglichen. Dabei ergab sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen (Kruskal-Wallis Test, $p = 0,0684$) oder den einzelnen Besuchen (Friedman-Test, Kontrollgruppe $p = 0,5164$ und Versuchsgruppe $p = 0,5222$).

Die Medikamentenbewertungen vor Beginn der Studie und nach zwei Monaten innerhalb der Gruppen änderten sich nicht signifikant (Wilcoxon Rangsummentest, intralymphatische Gruppe $p = 0,5781$ und subkutane Gruppe $p = 0,2661$, Tabelle 12: Ergebnisse Medikamentenbewertung).

Tabelle 12: Ergebnisse Medikamentenbewertung

	Tag 0	Tag 14	Tag 30	Tag 60
Kontrollgruppe				
Mittelwert	20,88	16,76	19,12	17,35
Unteres 95% Konfidenzintervall	14,57	12,81	15,34	14,19
Oberes 95% Konfidenzintervall	27,20	20,72	22,89	20,52
Versuchsgruppe				
Mittelwert	13,13	15,94	14,06	11,56
Unteres 95% Konfidenzintervall	6,33	9,54	6,58	4,91
Oberes 95% Konfidenzintervall	19,93	22,33	21,55	18,21

3.4 Gesamtbeurteilung

Die Gesamtpunktezahl variiert zwischen den einzelnen Patienten von acht bis 223,5 Punkten. Zwischen den beiden Gruppen variiert die Durchschnittspunktezahl von 49,53 bis 75,00 Punkten. Insgesamt konnte eine Verbesserung (Sinken der Gesamtpunktezahl von 75,00 auf 71,59) in der Kontrollgruppe im Verlauf von zwei Monaten bemerkt werden. Dabei kam es zu

einem Tiefpunkt bei dem Drittbesuch von 62,47. Die Werte der Kontrollgruppe sind in Abbildung 13 veranschaulicht.

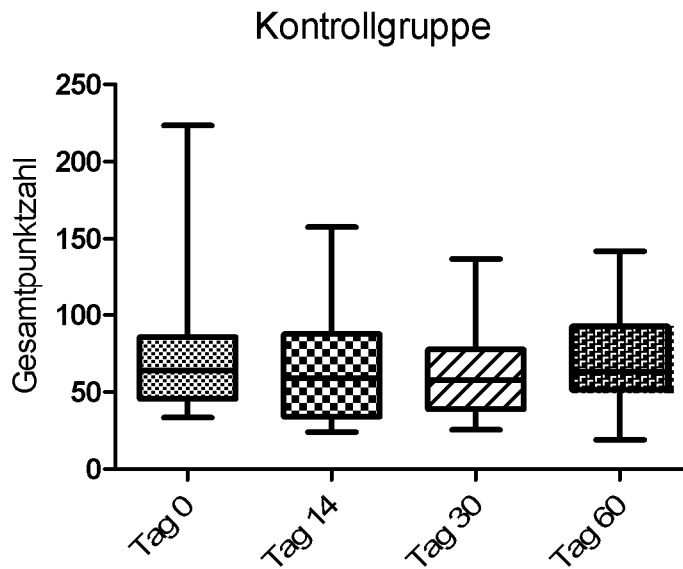


Abbildung 13: Gesamtpunktezahl Kontrollgruppe

Innerhalb der Versuchsgruppe sank die Gesamtpunktezahl von 67,06 Punkten auf 49,53 Punkte stetig ab. Die Variation der Gesamtpunktezahl innerhalb der Versuchsgruppe sind in Abbildung 14 aufgeführt.

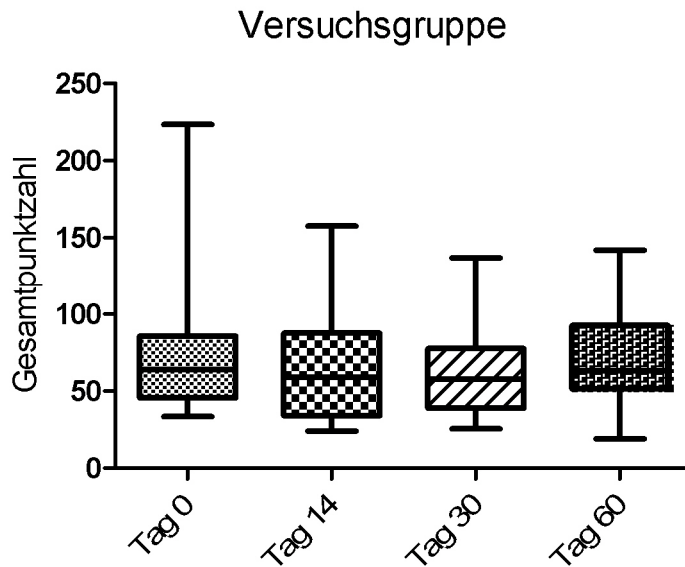


Abbildung 14: Gesamtpunktezahl Versuchsgruppe

Beide Gruppen wurden verglichen. Dabei ergab sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen (Kruskal-Wallis Test, $p = 0,3160$) oder den einzelnen Besuchen (Friedman-Test, Kontrollgruppe $p = 0,4026$ und Versuchsgruppe $p = 0,3319$).

Werte vor Studienbeginn und nach zwei Monaten wurden innerhalb der Gruppen mittels Wilcoxon Rangsummentest verglichen und unterschieden sich nicht ($p = 0,999$ in der Kontrollgruppe und $p = 0,0534$ in der Versuchsgruppe). Die Mittelwerte der Gesamtpunktezahl sind in Tabelle 13 aufgeführt.

Tabelle 13: Ergebnisse Gesamtpunktzahl

	Tag 0	Tag 14	Tag 30	Tag 60
Kontrollgruppe				
Mittelwert	75,00	69,26	62,47	71,59
Unteres 95% Konfidenzintervall	50,21	48,03	46,88	54,81
Oberes 95% Konfidenzintervall	99,79	90,50	78,06	88,37
Versuchsgruppe				
Mittelwert	67,06	57,71	54,63	49,53
Unteres 95% Konfidenzintervall	56,21	37,71	35,29	32,56
Oberes 95% Konfidenzintervall	77,92	77,72	73,96	66,50

3.5 Blutuntersuchungen

3.5.1 Differentialblutbild (Eosinophile Granulozyten)

Insgesamt reichte die Anzahl an eosinophilen Granulozyten von 0,00 bis $2,00 \times 10^9/l$. Innerhalb der Kontrollgruppe wurde ein Wert zwischen 0,00 und $2,00 \times 10^9/l$ erreicht, während die Werte sich innerhalb der Versuchsgruppe zwischen 0,00 und $1,18 \times 10^9/l$ bewegen. Der Referenzbereich für eosinophile Granulozyten liegt zwischen 0,04 und $0,6 \times 10^9/l$. Ein Wert über 0,6 gilt also als erhöht. In der Kontrollgruppe stieg der Wert innerhalb der zwei Monate stetig von 0,29 auf $0,47 \times 10^9/l$. Hingegen stieg die Anzahl der eosinophilen Granulozyten in der Versuchsgruppe zunächst leicht von 0,24 auf $0,29 \times 10^9/l$ an, um danach insgesamt auf $0,22 \times 10^9/l$ abzusinken. Die Verteilung der Eosinophilen Konzentration der Kontrollgruppe und Versuchsgruppe sind in Abbildungen 15 und 16 dargestellt.

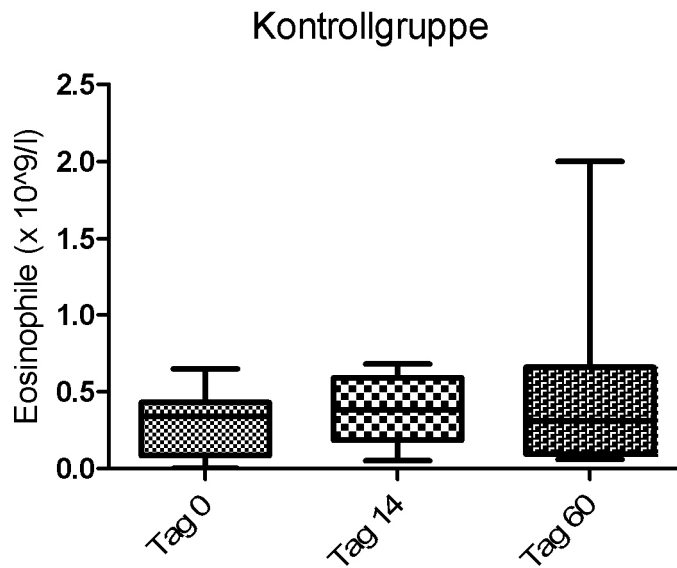


Abbildung 15: Eosinophile Kontrollgruppe

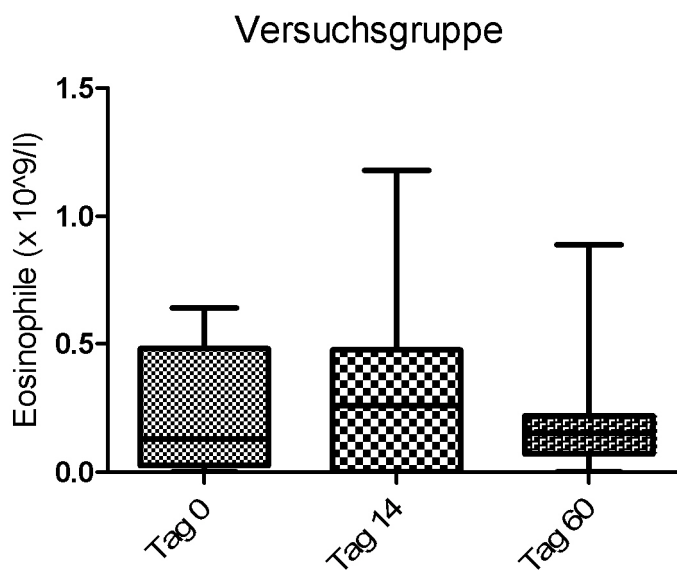


Abbildung 16: Eosinophile Versuchsgruppe

Die beiden Gruppen zeigten keine unterschiedlichen Werte (Kruskal-Wallis Test, $p = 0,2892$). In der subkutanen Gruppe und der intralymphatischen Gruppe war jeweils zwischen den einzelnen Besuchen kein Unterschied (Wilcoxon

Rangsummentest, Kontrollgruppe $p = 0,2319$ und Versuchsgruppe $p = 0,7062$). Mittelwerte, untere und obere 95% Konfidenzintervalle der eosinophilen Granulozyten Konzentration sind in Tabelle 14 aufgeführt.

Tabelle 14: Ergebnisse eosinophile Granulozyten

	Tag 0	Tag 30	Tag 60
Kontrollgruppe			
Mittelwert	0,29	0,36	0,47
Unteres 95% Konfidenzintervall	0,17	0,24	0,17
Oberes 95% Konfidenzintervall	0,42	0,48	0,76
Versuchsgruppe			
Mittelwert	0,24	0,29	0,22
Unteres 95% Konfidenzintervall	0,10	0,08	0,07
Oberes 95% Konfidenzintervall	0,38	0,51	0,37

3.5.2 Immunglobulin E

Insgesamt reichten der Ig-E Werte von 0 bis 2930 EA Einheiten. Es wurden bei jedem Patienten von jedem Besuch 36 verschiedene Allergene getestet (Siehe Tabelle 8: Serumallergietest). Innerhalb der Kontrollgruppe wurden Werte von 0 bis 2865 EA Einheiten erreicht. Bei der intralymphatischen Gruppe wurde ein Wert zwischen 0 und 2930 EA Einheiten gemessen.

In der Kontrollgruppe fiel der Gesamt-IgE Wert innerhalb eines halben Jahres leicht ab, während er in der Versuchsgruppe leicht anstieg. Insgesamt lag die IgE Konzentration in der Kontrollgruppe höher als in der Versuchsgruppe.

Die Werte wurden innerhalb der Versuchsgruppen mit einem Mann-Whitney Test verglichen. In der Kontrollgruppe ergab sich ein p Wert von 0,2932 und in der

Versuchsgruppe $p = 0,9926$. Es wurde kein statistisch signifikantes Ergebnis ermittelt.

Die Verteilungen der Testergebnisse sind in Abbildungen 17 und 18 grafisch dargestellt.

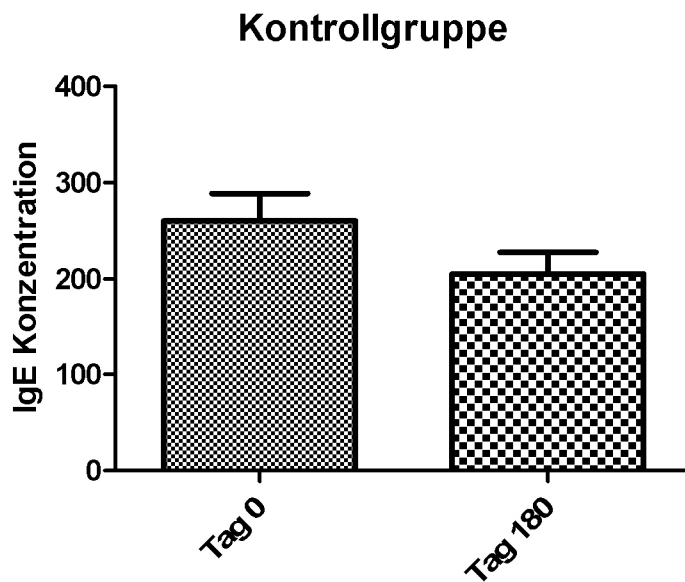


Abbildung 17: IgE Kontrollgruppe

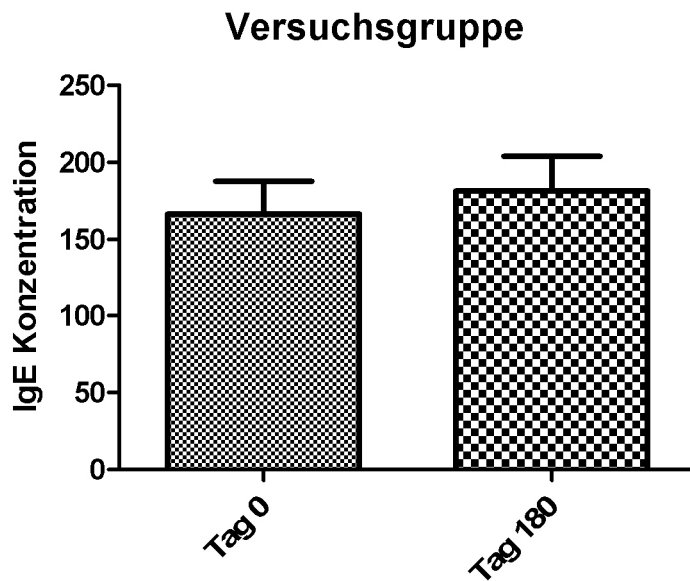


Abbildung 18: IgE Versuchsgruppe

Die Ergebnisse der IgE Messwerte sind in folgender Tabelle veranschaulicht (Tabelle 15: Ergebnisse IgE).

Tabelle 15: Ergebnisse IgE

	Tag 0	Tag 180
Kontrollgruppe		
Mittelwert	260,5	205,3
Unteres 95% Konfidenzintervall	204,7	160,9
Oberes 95% Konfidenzintervall	316,3	249,8
Versuchsgruppe		
Mittelwert	166,7	181,6
Unteres 95% Konfidenzintervall	125,0	137,4
Oberes 95% Konfidenzintervall	208,3	225,8

3.5.3 Immunologische Parameter

3.5.3.1 Interleukin 4

Die gemessenen IL-4 Werte bewegten sich zwischen 1,684 und 138,611 pg/ml. Innerhalb der Kontrollgruppe lagen die Werte zwischen 9,325 und 79,521 pg/ml. Die Messungen in der Versuchsgruppe ergaben 1,684 bis 138,611 pg/ml.

Insgesamt konnte ein geringer Abfall der Werte von 30,759 auf 30,066 pg/ml innerhalb der Kontrollgruppe verzeichnet werden. In der Versuchsgruppe sanken die Werte von 35,600 auf 28,065 pg/ml, wobei der Wert bei dem Zweitbesuch (17,660 pg/ml) deutlich niedriger war als bei dem Viertbesuch.

Zwischen beiden Gruppen und verschiedenen Zeitpunkten der Messung konnte kein statistisch signifikanter Unterschied festgestellt werden ($p = 0,7206$).

Die Verteilung der Messwerte wird auf Grund der geringen Probenzahl als Punktwolke mit einer Linie für den Mittelwert dargestellt (Abbildung 19: IL-4 Kontrollgruppe, Abbildung 20: IL-4 Versuchsgruppe).

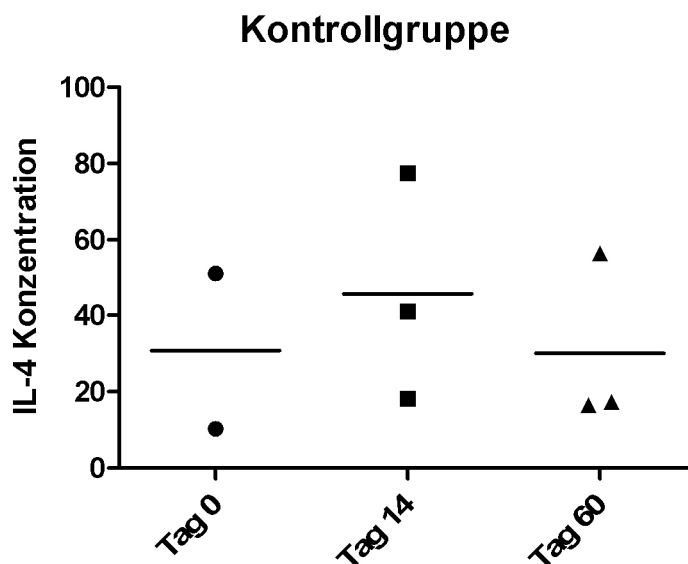


Abbildung 19: IL-4 Kontrollgruppe

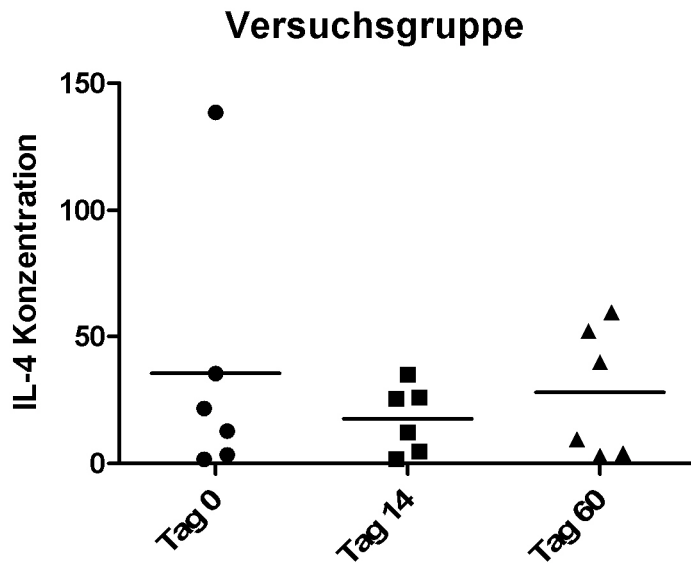


Abbildung 20: IL-4 Versuchsgruppe

Die Ergebnisse der IL-4 Messung werden in folgender Tabelle aufgelistet (Tabelle 16: Ergebnisse IL-4).

Tabelle 16: Ergebnisse IL-4

	Tag 0	Tag 14	Tag 60
Kontrollgruppe			
Mittelwert	30,76	45,63	30,07
Unteres 95% Konfidenzintervall	- 229,60	- 28,87	- 26,65
Oberes 95% Konfidenzintervall	291,10	120,10	86,78
Versuchsgruppe			
Mittelwert	35,60	17,66	28,06
Unteres 95% Konfidenzintervall	- 18,96	3,73	1,30
Oberes 95% Konfidenzintervall	90,16	31,59	54,83

3.5.3.2 Interleukin 10

In nur zwei Proben waren die Konzentrationen von IL-10 oberhalb der Untergrenze des Messbereichs des ELISA. Beide Gruppen lieferten jeweils einen auswertbaren Patienten, damit war eine statistische Auswertung der Resultate nicht sinnvoll.

3.5.3.3 Transforming growth factor β 1

Die Messwerte von TGF- β 1 bewegen sich insgesamt zwischen 11822,610 und 95771,062 pg/ml. Innerhalb der Kontrollgruppe lagen die Werte zwischen 19062,994 und 56769,420 pg/ml. Die Messungen in der Versuchsgruppe ergaben 17988,770 bis 95771,062 pg/ml.

Die Werte innerhalb der Kontrollgruppe stiegen im Zeitraum von zwei Monaten von 26937,854 auf 39397,263 pg/ml an, wobei beim Zweitbesuch der höchste Wert (41612,764 pg/ml) erreicht wurde. In der Versuchsgruppe konnte insgesamt ein Abfall der Messwerte von 40584,189 auf 38398,386 pg/ml erkannt werden. Der Wert nach zwei Wochen erreichte allerdings einen höheren Level (51560,026 pg/ml).

Die Werte zwischen beiden Gruppen und zwischen den einzelnen Besuchen wurden mittels Kruskal-Wallis Test verglichen und ergaben keinen statistisch signifikanten Unterschied ($p = 0,5869$).

Abbildungen 23 und 24 stellen die Verteilung der TGF- β 1 Messwerte als Punktwolke mit einer Linie für den Mittelwert dar. Grund für diese Art der Darstellung ist die geringe Probenanzahl.

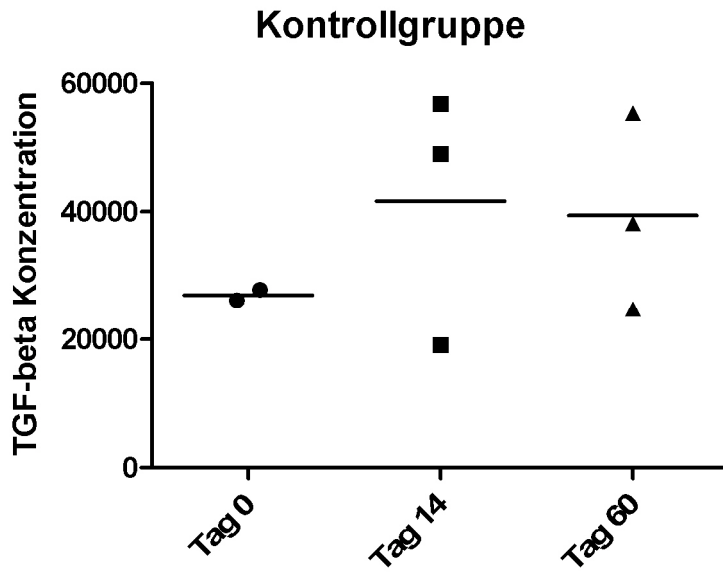


Abbildung 21: TGF-beta Kontrollgruppe

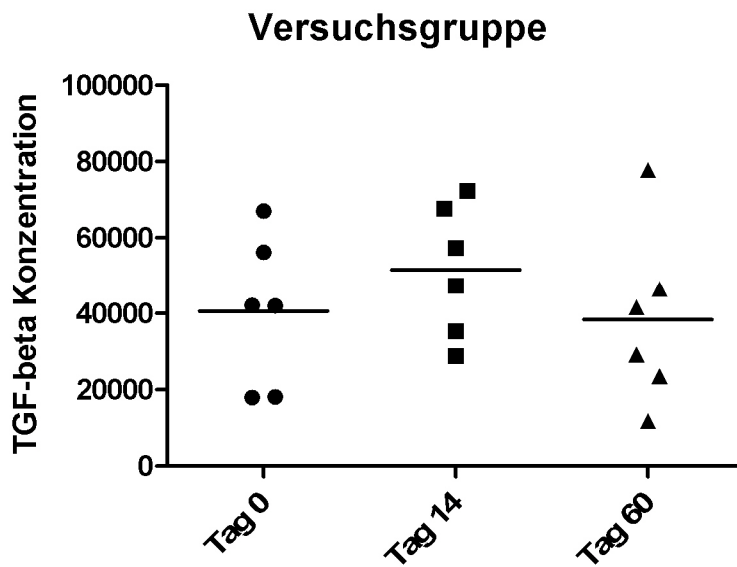


Abbildung 22: TGF-beta Versuchsgruppe

Die Tabelle zeigt die Ergebnisse des Konzentrationsvergleichs von TGF- β 1 innerhalb der beiden Gruppen (Tabelle 17: Ergebnisse TGF-beta).

Tabelle 17: Ergebnisse TGF-beta

	Tag 0	Tag 14	Tag 60
Kontrollgruppe			
Mittelwert	26938	41613	39397
Unteres 95% Konfidenzintervall	16387	- 7848	1305
Oberes 95% Konfidenzintervall	37489	91074	77490
Versuchsgruppe			
Mittelwert	40584	51560	38398
Unteres 95% Konfidenzintervall	19791	33274	14290
Oberes 95% Konfidenzintervall	61378	69847	62507

3.5.3.4 Interferon γ

Es wurde bei der Analyse der Proben kein messbares Ergebnis erzielt.

V Diskussion

1. Zusammenfassung

Dreiunddreißig Hunde mit atopischer Dermatitis wurden in die Studie zur intralymphatischen Immuntherapie eingeschlossen, um herauszufinden, ob die neue Applikationsform der Allergenlösung in einen Lymphknoten zu einer Verbesserung der ASIT-Erfolgsquote und/oder schnelleren Symptomlinderung und somit zu einer verbesserten Akzeptanz durch Hunde und Besitzer führt. Außerdem sollten durch Untersuchung von Zytokinen und IgE im Serum immunologische Vorgänge der CAD beleuchtet werden. Unmittelbar vor Beginn der Studie, nach zwei, vier und acht Wochen wurden Blutproben von den Hunden entnommen und die Zytokinexpression und IgE-Konzentration mittels ELISA bestimmt. Zu jedem Kontrolltermin wurden die Läsionen der CAD anhand eines CADESI und der Juckreiz mit Hilfe einer visuellen Analogskala beurteilt. Außerdem wurden bei jedem Besuch die in den vorangegangenen zwei Wochen verwendeten Medikamente bewertet.

Mit dem erstmaligen Versuch der Allergenapplikation in den Lymphknoten sollten auch mögliche Nebenwirkungen wie anaphylaktische Reaktionen untersucht werden. Es wurden bei insgesamt 33 Hunden je drei intralymphatische Injektionen durchgeführt. In der Kontrollgruppe wurden diese mit physiologischer Kochsalzlösung durchgeführt, während die Versuchsgruppe Allergenlösung in den Lymphknoten verabreicht bekam. In keinem der untersuchten Fälle kam es nach einer Lymphknoteninjektion zu negativen Wirkungen. Es konnte nach jeder Lymphknoteninjektion eine Reaktion des jeweiligen Lymphknotens in Form einer geringen Vergrößerung (von etwa 2 mm auf 5 mm bis 1,5 cm) festgestellt werden. Diese Vergrößerung trat auch bei den Hunden der Kontrollgruppe auf, die lediglich physiologische Kochsalzlösung injiziert bekamen. Die Schwellung hielt je nach Hund ein bis vier Wochen nach Therapiegabe an. Der Applikationsform in den Lymphknoten waren auch Grenzen gesetzt. Bei sehr kleinen Hunden (< 10 kg KG) waren die Durchmesser der Lymphknoten sehr gering (oft < 2 mm). Deswegen bereitete die Injektion, die nach Fixierung des Lymphknotens und

unter Ultraschallkontrolle erfolgte, in einigen Fällen Schwierigkeiten. Konnte der *Ln. mandibularis* nicht ausreichend fixiert werden, wurde auf den *Ln. popliteus* zurückgegriffen. Dieser liegt im Gegensatz zum *Ln. mandibularis* in einer Fettkapsel, was die punktgenaue Injektion erschwert. Mittels Ultraschall konnte eine adäquate intralymphatische Injektion sichergestellt werden. In dieser Studie wurden die Hunde zur Ultraschalluntersuchung der Lymphknoten und Applikation sediert. Da sich die Lymphknoteninjektion allerdings als nicht schmerzhaft herausgestellt hat, ist eine Sedierung bei den meisten Hunden nicht vonnöten.

Dem vorliegenden Versuch sind einige Grenzen gesetzt. Aufgrund der vergleichsweise geringen Probenanzahl müssen die Ergebnisse mit Vorsicht interpretiert werden. Da es sich um eine Orientierungsstudie handelte, wurden den atopischen Hunden entweder eine intralymphatische oder subkutane ASIT verabreicht. Dabei bestand jede Gruppe nur aus 17 (Kontrollgruppe) und 16 (Versuchsgruppe) Hunden. Es war oft nicht möglich, anhand dieser kleinen Gruppen einen statistisch signifikanten Unterschied in den beiden Behandlungsregimes nachzuvollziehen. Wenn man sich die einzelnen Zahlen bei den Patientengruppen ansieht, wird eine Tendenz in Richtung intralymphatischer Immuntherapie deutlich. Es ist daher anzuraten weitere Studien mit der ASIT-Applikation in das Lymphsystem durchzuführen, um diese Hypothese zu bestätigen oder zu widerlegen.

2. Patienten

Die Studienpatienten wurden mittels Randomisierungstabelle in eine Versuchs- und eine Kontrollgruppe unterteilt. Die Altersverteilung erfolgte somit zufällig. Laut WILLEMSE und VAN DEN BROM (1983) entwickeln 75,5 % der atopischen Hunde ihre Erkrankung in einem Alter von unter drei Jahren (WILLEMSE & VAN DEN BROM, 1983; FRASER et al., 2008). Das Durchschnittsalter bei Allergiebeginn lag im Falle der Versuchsgruppe bei knapp über drei Jahren. Einzelne Hunde (sowohl in der subkutanen, als auch in der intralymphatischen Gruppe) begannen mit Symptomen der atopischen Dermatitis erst mit einem Alter von über drei Jahren. Eine mögliche Erklärung für den späten

Allergiebeginn ist, dass die Besitzer erste Symptome nicht erkannt haben oder dass die Allergie tatsächlich nach dem Durchschnittsalter begonnen hat.

Einschlusskriterien bildeten eine Diagnose der CAD, die mittels Ausschlussdiagnose gestellt wurde. Einige der Patienten litten zusätzlich zur Umweltallergie an weiteren Allergien wie z.B. einer Futtermittel- oder Flohspeichelallergie. Diese Störfaktoren für den Erfolg der ASIT wurden durch regelmäßige Ektoparasitenprophylaxe und entsprechende Diäten beseitigt (MUELLER, 2000a; SCOTT et al., 2001).

3. Allergietest

Bei den meisten Hunden wurde ein Intrakutantest zur Identifikation der an der Allergie beteiligten Allergene durchgeführt. In manchen Fällen führte ein Serumallergietest auf allergen-spezifische IgE zur Zusammenstellung der Allergenlösung. Bei sechs Patienten wurden beide Tests veranlasst, was als Goldstandard in der Veterinärdermatologie zu betrachten ist (ROSSER, 2004). Bei den restlichen Patienten wurde entweder Intrakutan- oder Serumallergietest zur Identifikation der Allergene herangezogen.

Der Serumallergietest kann falsch positive Ergebnisse liefern. Die CAD ist zwar häufig mit einem erhöhten IgE-Spiegel verbunden (OLIVRY et al., 2001b), allerdings steht die IgE-Konzentration nicht unbedingt im Zusammenhang mit den Symptomen (MARSELLA & OLIVRY, 2003). Folglich kann bei Hunden mit einer Flohspeichel- oder Futtermittelallergie häufig auch ein erhöhter IgE Spiegel auf Umweltallergene gemessen werden. LIAN und Mitarbeiter (1998) konnten in ihrer Studie zeigen, dass auch bei gesunden Hunden positive Resultate beim Intrakutantest erkennbar waren (LIAN & HALLIWELL, 1998). Es wird daher deutlich, dass ein vorheriger Ausschluss der Differentialdiagnosen Flohspeichel- und Futtermittelallergie essentiell für den Erfolg der ASIT ist. Für die Diagnose der zugrundeliegenden Allergien ist die Mitarbeit von Besitzer und Hund vonnöten. Wird die Eliminationsdiät nicht korrekt durchgeführt, kann es zu keiner Diagnose der Futtermittelallergie kommen. Ebenso müssen die Besitzer regelmäßig eine geeignete Ektoparasitenprophylaxe betreiben, um eine

Flohspeichelallergie sicher ausschließen zu können.

Versagen der Immuntherapie oder ungenügende Besserung der Symptomatik kann ebenso auf eine Nicht-Identifikation aller beteiligten Allergene zurückgeführt werden. In den kommerziell erhältlichen Allergietests können nur eine eingeschränkte Zahl von Antigenen getestet werden. Dadurch ist es möglich, dass ein für den Patienten relevantes Allergen nicht getestet wird (Siehe: Tabelle 7: Intrakutantest, Tabelle 8: Serumallergietest). Außerdem können sowohl SAT als auch IDT falsch positive und falsch negative Ergebnisse liefern (HILL & DEBOER, 2001). Daher sollte immer die Klinik (z.B. ganzjährige oder saisonale Symptomatik) mit in die Diagnose und Auswahl der Allergene einbezogen werden, um ein optimales Zusammenstellen der Allergenlösung zu erreichen.

In einigen Fällen kann eine Desensibilisierung auf Umweltallergene trotz nicht erkannter weiterer Allergien oder Allergene zum Erfolg führen. Dies kann anhand der Juckreizschwelle erklärt werden. Klinische Symptome treten erst auf, wenn eine gewisse Schwelle überschritten ist. Sind mehrere Allergien vorhanden, addieren sich diese und führen irgendwann zum Überschreiten der Schwelle und somit zu klinischen Symptomen. Werden durch die ASIT eine oder mehrere beteiligte Allergien bekämpft, kann die Summe insgesamt unter die Juckreizschwelle sinken und die Krankheitssymptome klingen ab (MARSELLA & SOUSA, 2001).

4. Allergenlösung

In der vorliegenden Studie wurden wässrige Allergenlösungen verwendet. Es ist möglich, dass die nur vorübergehende Besserung der Symptomatik bei den Versuchshunden darauf zurückzuführen ist. Aluminium-präzipitierte Lösungen bieten den Vorteil, dass sie die Wirkstoffe (Allergene) langsamer abgeben und somit eine länger anhaltende Wirkung bieten (MUELLER & JACKSON, 2003). Durch Anlagern der Antigene an Aluminiumpartikel können die antigen-präsentierenden Zellen (z.B. Makrophagen) die Allergenlösung schneller aufnehmen. Außerdem wird die Immunogenität der löslichen Proteine durch die Bindung ein wenig erhöht (JANEWAY, 2002). Eine Konjugation der Allergene

an CpG(Cytosin-Phosphat-Guanin)-Oleukleotide stellt eine zusätzlich Chance auf höhere Effektivität der Immuntherapie dar (Rostaher et al., Manuskript zur Veröffentlichung eingereicht) (MUELLER et al., 2005a). Es wurden bereits einige Studien zur Immunmodulation bei Vaccinierungen und Immuntherapien mit CpG-Molekülen durchgeführt, welche vielversprechende Ergebnisse lieferten (DE VRIES et al., 2011; KIGASAWA et al., 2011). VON BEUST und Mitarbeiter (2005) zeigten eine höhere Effektivität der intralymphatischen Injektion mit CpG-Konjugaten bei der Antitumor-Therapie in Mäusen (VON BEUST et al., 2005). Es ist wünschenswert, Folgestudien mit Aluminium-präzipitierten und CpG-konjugierten Allergenlösungen mit intralymphatischer Applikationsweise durchzuführen, um die Erfolgsquote weiter zu erhöhen.

5. Juckreizskala

Der Juckreiz der Hunde in der Kontrollgruppe hat sich leicht verschlechtert. Dies kann auf einen relativ späten Wirkungseintritt der Desensibilisierung hindeuten. Laut MUELLER und Mitarbeitern (2001) tritt die Wirkung der Rush-Immuntherapie bei einigen Hunden bereits nach vier Wochen Therapie ein. Meistens jedoch dauert es vier bis sechs Monate, bis eine positive Wirkung der ASIT zu erkennen ist. Bei einigen Hunden kann es sogar acht bis zwölf Monate bis zur Therapieantwort dauern (MUELLER & BETTENAY, 2001). Es wird daher empfohlen die Immuntherapie mindestens für ein Jahr durchzuführen, um die Wirkung evaluieren zu können.

Anders als bei der Kontrollgruppe besserte sich der Juckreiz in der Versuchsgruppe bereits in den ersten zwei Monaten der Therapie. Dies ist in Einklang mit der Hypothese der in der Humanmedizin durchgeführten Studie, dass es zu einer schnelleren Symptomlinderung kommt. Um das längere Anhalten der Wirkung laut SENTI und Mitarbeitern (2008) zu evaluieren, sind Langzeitstudien vonnöten. (SENTI et al., 2008).

6. Läsionenbewertung (CADESI)

Der CADESI ist ein in der Veterinärdermatologie weithin akzeptierter und erst kürzlich validierter Punktwert für die Beurteilung von Läsionen, die durch die atopische Dermatitis verursacht werden (OLIVRY et al., 2007; OLIVRY et al., 2008). Insgesamt führte die ASIT in dieser Studie zu einer Reduktion der CADESI-Werte, wenn man alle Hunde zusammen gruppiert. In der Versuchsgruppe konnte ein stärkerer Abfall der CADESI-Punktezahl als bei der Kontrollgruppe verzeichnet werden. Dieser Abfall war allerdings nicht statistisch signifikant. Ob die intralymphatische Applikation der ASIT schneller zum Wirkungseintritt führt als die konventionelle Methode, wie beim Menschen gezeigt, muss also in längerdauernden Studien genauer untersucht werden (SENTI et al., 2008). Die Reduktion der Hautläsionen in der Kontrollgruppe passt nicht zur Juckreizbewertung der Besitzer. Dies kann damit zusammenhängen, dass die häufigen Kontrollen, die mit der Studienteilnahme verknüpft waren, und die daraus resultierende Therapieanpassung zu einer Verbesserung des Hautbildes geführt haben, ohne den Juckreiz positiv zu beeinflussen.

7. Medikamentenbewertung

Die Medikamentenbewertung stellt laut HILLIER und KWOCHKA (2002) eine nützliche semiquantitative Beurteilungsform für die Allergiesymptome und somit für die Bewertung des ASIT-Erfolges dar (HILLIER & KWOCHKA, 2002). In der hier durchgeführten Studie kam es bei beiden Gruppen in den ersten zwei Monaten der Therapie zu einem abnehmenden Einsatz von Medikamenten. Dies deutet auf eine Verbesserung der klinischen Symptomatik hin. Es wurden in dieser Studie Medikamente beurteilt, die den Juckreiz und die Entzündungssymptome lindern. Therapien gegen Hautinfektionen wie Antibiotika und Antimykotika wurden nicht evaluiert. Es kam bei einigen Hunden zu wiederkehrenden Hautinfektionen, die in Form des CADESI in die Bewertung mit einfließen. Ein Grund für die Reduktion der Medikamente kann neben der ASIT-Wirkung ebenso in den häufig durchgeführten klinischen und zytologischen Kontrollen der Patienten und der jeweiligen Therapieanpassung liegen. Ebenso

war wahrscheinlich die gesteigerte Motivation der Besitzer durch die Studienteilnahme ein entscheidender Faktor, da Besitzer ihrem Hund und seiner Therapie dadurch einen größeren Stellenwert einräumten.

8. Gesamtbeurteilung

Die Gesamtpunktezahl setzt sich zusammen aus der Summe von Juckreizpunktezahl multipliziert mit fünf (da Juckreiz maximal 10 Punkte erzielen konnte und ein schwerer Allergiker das fünf- bis sechsfache an Punkten im CADESI erzielt), Medikamentenpunktezahl und CADESI-Punkten. Die Gesamtpunktezahl sank insgesamt über zwei Monate ab. Sowohl innerhalb der Kontrollgruppe, als auch innerhalb der Versuchsgruppe konnte ein Abfall der Gesamtpunktezahl beobachtet werden. Das bedeutet einen Rückgang von Juckreiz, Medikamenteneinsatz und Hautläsionen. Vergleicht man die Zahlen zwischen Kontroll- und Versuchsgruppe wird der stärkere Rückgang der Gesamtpunktezahl in der intralymphatischen Gruppe deutlich. Dies lässt auf eine stärkere Symptomlinderung der intralymphatisch behandelten Hunde innerhalb der ersten zwei Monate schließen, was wiederum mit den Ergebnissen der humanmedizinischen Studie (bessere und schnellere Wirkung der intralymphatischen ASIT) in Einklang steht (SENTI et al., 2008).

9. Blutuntersuchungen

Die Beurteilung der EDTA-Blutproben wurde unverzüglich durchgeführt. Eine Schädigung der Blutzellen und somit ein verfälschtes Ergebnis ist damit auszuschließen. Die IgE- und Zytokin-Konzentrationen wurden nach einer Aufbewahrung bei – 80°C durchgeführt.

9.1 Differentialblutbild

Die Konzentration der eosinophilen Granulozyten lag innerhalb des Referenzbereichs. Es konnte keine abnormale Erhöhung bei atopischen Patienten

in dieser Studie festgestellt werden. Beobachtet man den Verlauf der Werte innerhalb beider Gruppen, so wird erkennbar, dass die Eosinophilen-Konzentration in der Versuchsgruppe abfiel, während sie in der Kontrollgruppe leicht anstieg.

Die CAD ist durch das verschobene Verhältnis von Th1- und Th2-Zellen mit einer Eosinophilie verknüpft. Diese entsteht durch die verlängerte Lebensdauer der eosinophilen Granulozyten durch die Wirkung von IL-5 (JUTEL et al., 2003). Der Abfall der Eosinophilen-Konzentration in der Versuchsgruppe deutet somit auf eine Verschiebung des Gleichgewichts in Richtung Th1-Zellen und somit auf die Wirkung gegen die CAD hin.

9.2 Immunglobulin E

Die CAD ist definiert als eine genetisch prädisponierte entzündliche und juckende allergische Hauterkrankung mit charakteristischen klinischen Merkmalen, die meist mit gegen Umweltallergene gerichtete IgE-Antikörper assoziiert sind (HALLIWELL, 2006; OLIVRY et al., 2010). Daraus ergibt sich, dass bei den Studienpatienten zu Beginn der Therapie ein oder mehrere spezifische IgE-Werte erhöht waren. Bei einigen wenigen Patienten konnten keine positiven Reaktionen im Serumallergietest und somit keine erhöhte IgE-Serumwerte gemessen werden. Dies kann damit zusammenhängen, dass ein Serumallergietest auch falsch negative Ergebnisse liefern kann (HILL & DEBOER, 2001).

Im Verlauf der Immuntherapie kam es bei KEPPEL et al. (2008) innerhalb eines Jahres zu einem Abfall der allergen-spezifischen IgE-Serumkonzentration bei teilnehmenden Hunden. Er betonte in seinem Artikel, dass trotz geringem oder ausbleibendem Abfall der IgE-Konzentration eine klinische Besserung eintreten kann (KEPPEL et al., 2008). AKDIS & AKDIS (2007) berichten von einem während der ASIT zunächst zunehmenden IgE-Spiegel. Der später im Verlauf der Immuntherapie folgende Abfall der Gesamt-IgE Konzentration kann erst nach Jahren festgestellt werden (AKDIS & AKDIS, 2007). Daher ist der leicht ansteigende Wert in der Versuchsgruppe innerhalb des halben Jahres nicht gleichzusetzen mit einem Versagen der Immuntherapie. Es ist möglich, dass der

Anstieg, wie von AKDIS & AKDIS (2007) beschrieben, die frühe Phase der Immuntherapie darstellt, bei der die Gesamt-IgE Konzentration zunächst zunimmt (AKDIS & AKDIS, 2007). Ein Abfall der IgE Werte durch die ASIT kann möglicherweise erst nach einigen Jahren gemessen werden. Der Abfall der Werte innerhalb eines halben Jahres in der Kontrollgruppe können auf jahreszeitliche Schwankungen hindeuten oder bereits die späte Phase der ASIT darstellen (AKDIS & AKDIS, 2007).

Da der Serumallergietest sowohl falsch positive als auch falsch negative Ergebnisse liefern kann, ein Ansprechen der IgE Konzentration meist erst nach Jahren zu erwarten ist, und Veränderungen nicht statistisch signifikant waren, sollten die hier gefundenen Messwerte nicht überinterpretiert werden (GRIFFIN et al., 1990; HILL & DEBOER, 2001; AKDIS & AKDIS, 2007).

9.3 Immunologische Parameter

Da die Pathophysiologie der atopischen Dermatitis noch nicht völlig geklärt ist, wurden verschiedene in vorherigen Studien abweichende Parameter näher untersucht.

9.3.1 Interleukin 4

Bei MUELLER et al (2005) konnte ein Zusammenhang zwischen verbessertem Juckreiz und einem Abfall der IL-4-Konzentration nach erfolgter Immuntherapie erkannt werden (MUELLER et al., 2005a). Ebenso zeigte sich ein Abfall der IL-4-Konzentration im Verlauf der Immuntherapie bei SECRIST et al. (1993) (SECRIST et al., 1993). Im Zusammenhang mit der geringeren Anzahl von IL-4 wird ein Rückgang der allergen-spezifischen IgE-Konzentration erwartet (JANEWAY, 2002). In dieser Studie ist kein klarer Einfluß der Therapie auf die IL-4-Konzentration festzustellen, was auf die geringe Probandenzahl zurückzuführen sein könnte. Alternativ könnte es möglich sein, dass der Zeitpunkt der letzten Messung noch zu früh war, um signifikante Änderungen festzustellen.

9.3.2 Interleukin 10

Interleukin 10 verhält sich sehr stabil bei Temperaturen unter $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ und übersteht Einfrieren und Auftauen unbeschädigt (KENIS et al., 2002; KJELGAARD-HANSEN et al., 2007). In vorangegangenen Studien lag die Konzentration von IL-10 bei Hunden unter 50 ng/l (QUARANTA et al., 2006; KJELGAARD-HANSEN et al., 2007). Es wurde berichtet, dass sechs Stunden nach einer Stimulation der Effekt messbar wurde. Ein Maximum der Konzentration wurde nach 24 Stunden gefunden (BJERRE et al., 2004). Bei KEPPEL und Mitarbeitern (2008) ergab die Messung der IL-10 Konzentration bei teilnehmenden Hunden im Verlauf der Immuntherapie einen deutlichen Anstieg, während in der Kontrollgruppe (gesunde Hunde ohne Immuntherapie) keine Veränderung sichtbar wurde (KEPPEL et al., 2008). BELLINGHAUSEN und Mitarbeiter zeigten 1997 eine Erhöhung von IL-10 durch eine ASIT gegen Insektenstichallergie (BELLINGHAUSEN et al., 1997). Die Erhöhung der IL-10-Konzentration durch die ASIT führt potentiell zu einer Unterdrückung der Gesamt- und allergen-spezifischen IgE Konzentration (AKDIS et al., 1998; JUTEL et al., 2003). Eine Erhöhung von IL-10 konnte bei FRANCIS und Mitarbeitern (2008) innerhalb von zwei bis vier Wochen nach Beginn der ASIT gegen Graspollen verzeichnet werden (FRANCIS et al., 2008).

Es ist möglich, dass auf Grund der Blutentnahme vor der Allergeninjektion und somit mindestens zwei Wochen nach letzter Allergeninjektion keine messbaren Werte von IL-10 im Serum der Hunde erreicht wurden. Daraus könnten sich die meist unter dem messbaren Bereich liegenden Konzentrationen in diesem Versuch erklären. Die beiden Hunde mit Messergebnissen sind für eine statistische Auswertung nicht ausreichend.

9.3.3 Transforming growth factor β 1

In der Literatur sind verschiedene Einflüsse von TGF- β beschrieben. ARKWRIGHT (2001) fand bei Kindern mit einem wenig TGF- β 1 produzierenden Genotyp Hinweise auf ein erhöhtes Risiko an atopischer Dermatitis zu erkranken (ARKWRIGHT et al., 2001). Bei lokal in die Haut von Mäusen injiziertem TGF- β

konnte eine Linderung von Atopie-ähnlichen Hautläsionen beobachtet werden (SUMIYOSHI et al., 2002). In der Veterinärmedizin konnte ein Zusammenhang zwischen der sinkenden Inzidenz des Auftretens von Insektenbisshypersensitivität und einem Ansteigen der TGF- β 1 Konzentration festgestellt werden (HAMZA et al., 2008).

TGF- β 1 änderte sich nicht signifikant. Ein Anstieg der Konzentration von TGF- β 1 konnte in einer humanmedizinischen Studie während der ASIT (innerhalb von 70 Tagen) verzeichnet werden. Gleichzeitig zu der Erhöhung der TGF- β Konzentration wurde ein Abfall der IgE Konzentration festgestellt (JUTEL et al., 2003). JUTEL und AKDIS zeigten im Jahr 2008, dass es während der ASIT zu einem Anstieg von IL-10 und TGF- β und somit (durch deren unterdrückende Wirkung) zum Abfall der IgE-Konzentration kommt. Gleichzeitig erfolgt ein Anstieg von IgG4 und IgA (JUTEL & AKDIS, 2008). In einer humanmedizinischen Studie wurde die Serum-TGF- β 1 Konzentration bei Asthmapatienten und einer gesunden Kontrollgruppe gemessen. Die TGF- β 1 Konzentration fiel in der am stärksten von Asthma betroffenen Gruppe am höchsten aus, während die gesunde Gruppe sehr niedrige Werte aufwies. Die Autoren sahen in diesen Ergebnissen einen Hinweis auf die Mukosazellerneuerung bei hohem TGF- β 1 (MANUYAKORN et al., 2008).

In der Studie von YE und Mitarbeitern (2006) konnte bei einer ASIT mit einer Dauer von 3 Jahren ein Abfall der TGF- β 1-Konzentration im Zusammenhang mit einer Verbesserung der Symptome, Abfall der IgE-Konzentration, Abfall der IL-10-Konzentration und Besserung der Hauttestergebnisse beobachtet werden. Er sieht den Grund für den Abfall in einer Umlagerung der TGF- β 1 und IL-10 Zytokine in Allergiebetreffene Gewebe und somit zu einer Immunmodulation an diesen Stellen (YE et al., 2006). Diese Studie ist die einzige, die einen Zusammenhang zwischen Symptomlinderung und Abfall der TGF- β 1-Konzentration sieht. Andere Studien beschreiben bei akuten Allergieschüben eine hohe Konzentration, die bei Besserung wieder abnimmt. Daher kann keine gesicherte Aussage über das Verhalten der TGF- β 1-Konzentration im Verlauf der ASIT und einem Zusammenhang mit der Stärke der Symptome getroffen werden.

9.3.4 Interferon γ

In vorangegangenen Studien konnte ein Anstieg von IFN- γ mit einer Linderung der Allergiesymptomatik in Verbindung gebracht werden (DURHAM et al., 1996; JUTEL et al., 2006). Eine weitere Studie zeigte einen Anstieg der IFN- γ -Konzentration von atopischen Hunden nach erfolgter Immuntherapie (SHIDA et al., 2004). Es wäre als Ergebnis der hier durchgeführten Forschungsarbeit ein Anstieg der IFN- γ -Konzentration im Verlauf der ASIT zu erwarten gewesen. Dass in diesem Versuch keine messbaren Ergebnisse erreicht wurden, kann sowohl an einem Fehler bei der Gewinnung, Bearbeitung und Aufbewahrung der Blutproben, als auch in der Durchführung des ELISA liegen.

VI Zusammenfassung

Placebo-kontrollierte, multizentrische Doppelblindstudie zur Evaluierung der Wirkung von intralymphatischer allergen-spezifischer Immuntherapie bei Hunden mit atopischer Dermatitis

Die weltweit zunehmende Prävalenz von allergischen Erkrankungen stellt die Medizin vor neue Herausforderungen. Die Ätiologie und die Pathogenese der Umweltallergie sind nicht vollständig aufgeklärt. Zusätzlich stellt auch die Therapie des atopischen Formenkreises ein wichtiges Forschungsgebiet dar. Die allergen-spezifische Immuntherapie ist die einzige ursachenbekämpfende Behandlungsmethode der Atopie. Sie wird bereits mit gutem Erfolg in der Behandlung von Asthma und allergischer Rhinitis eingesetzt.

In der Kleintiermedizin nimmt die Behandlung der atopischen Hunde einen immer größeren Stellenwert ein. Inzwischen entwickeln etwa 10 % der Hundepopulation eine atopische Dermatitis. In den letzten Jahren etablierte Therapiemodelle zur allergen-spezifischen Immuntherapie lieferten gute Erfolge, wobei nicht allen betroffenen Hunden damit geholfen werden konnte. Diese Modelle stellen, durch den aus den häufig notwendigen Tierarztbesuchen resultierenden Zeitaufwand und Stress, ein Problem für Hund und Besitzer dar. Neueste Forschungen befassen sich mit verschiedenen Modulationen und alternativen Verabreichungsmöglichkeiten der Immuntherapie, dabei liegt in der intralymphatischen Applikation ein vielversprechender Ansatz. Bei dieser Verabreichungsform soll durch die direkt in den Lymphknoten injizierte Allergenlösung die Konzentration von Antigenen im Lymphknoten erhöht werden um eine vermehrte Aktivierung von T-Zellen zu erreichen.

Die Wirkung der intralymphatischen allergen-spezifischen Immuntherapie bei Hunden mit atopischer Dermatitis sollte durch diese Placebo-kontrollierte und randomisierte Doppelblindstudie klinisch beurteilt werden. Zusätzlich wurden Blutuntersuchungen zur Feststellung von Zytokin- und Immunglobulin E-Konzentrationen durchgeführt.

In diese Studie wurden 33 Hunde mit diagnostizierter atopischer Dermatitis eingeschlossen. Die Hunde wurden in eine Kontrollgruppe (17 Hunde) und eine Versuchsgruppe (16 Hunde) eingeteilt, wobei beide Gruppen nach dem selben Injektionsschema behandelt wurden. Die Kontrollgruppe erhielt die Allergenlösung mittels subkutaner Injektionen nach dem Schema der Rush-Immuntherapie, wohingegen die Versuchsgruppe die Therapie dreimalig im Abstand von je einem Monat in einen Lymphknoten appliziert bekam. Die Kontrollgruppe erhielt ebenfalls intralymphatische Injektionen, diese allerdings subkutan mit physiologischer Kochsalzlösung. Der Versuchsgruppe wurde die physiologische Kochsalzlösung subkutan verabreicht.

Teilnehmende Tiere wurden am Tag 0, 14, 30 und 60 vorgestellt und von einem Dermatologen untersucht. Bei jedem Besuch wurden momentaner Juckreiz, verwendete Medikamente, Läsionen und Blutwerte evaluiert. Die Patientenbesitzer bewerteten den Juckreiz ihres Hundes mittels einer analogen Juckreizskala (0 – 10). Es wurden die zwei Wochen vor dem Besuch verwendeten Medikamente ermittelt und anhand eines Punktesystems bewertet. Eine objektive Läsionenbewertung erfolgte mittels CADESI (Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index), bei dem Läsionen (Erythem, Exkoration, Lichenifikation, Alopezie) mit Punkten von 0 – 5 an 62 verschiedenen Körperstellen bewertet werden. Von den Patienten entnommene Blutproben an Tag 0, 14 und 60 wurden auf eosinophilen Granulozyten und Konzentration von Interleukin 4, Interleukin 10, Interferon γ , Transforming growth factor β und Immunglobulin E (nur Tag 0 und 60) untersucht.

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass die intralymphatische allergenspezifische Immuntherapie eine Alternative zur subkutanen Applikation darstellt, die gut toleriert wird. Es konnte ein größerer Abfall von Juckreizpunktezah (Juckreizskala), CADESI (Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index)-Punktezah und Gesamtbewertung in der Versuchsgruppe verzeichnet werden, allerdings waren diese Unterschiede nach zwei Monaten nicht statistisch signifikant.

VII Summary

Placebo-controlled and multicentre double-blinded study evaluating intralymphatic allergen-specific immunotherapy in dogs with atopic dermatitis

The worldwide increasing prevalence of atopic diseases is a new challenge for human medicine. The exact etiology and pathogenesis of environmental diseases is not completely clear yet. Furthermore the therapy of atopic diseases represents an important field of research. Allergen-specific immunotherapy is the only causative treatment of the disease and has been used with good results for asthma and allergic rhinitis.

In small animal medicine atopic dermatitis seems to be increasing. Approximately 10 % of dogs develop atopic dermatitis. Therapeutic protocols for allergen-specific immunotherapy established over the last years were reasonably efficacious, although treatment failures occurred. However, frequent visits to the veterinary office result in financial and timely efforts and stress for dogs and owners. Newest research explores different protocols and application methods of immunotherapy, and intralymphatic application is a promising approach. The direct injection of allergen-solution into the lymph node is supposed to increase the antigen-concentration in the lymph node and thus to cause an augmented activation of T-cells.

The goal of this study was to assess the safety and effect of intralymphatic allergen-specific immunotherapy in dogs with atopic dermatitis with a placebo-controlled, randomised, double-blinded study. Additionally serum concentrations of immunoglobulin E and selected cytokines were assessed.

In this study 33 dogs with diagnosed atopic dermatitis were included. 17 dogs were included in the control group and 16 dogs in the trial group. Dogs in the control group received the allergen extract subcutaneously as rush-immunotherapy, whereas dogs in the trial group received the injections intralymphatically three times one month apart. The control group received

intralymphatic injections with physiologic saline, whereas the trial group received the physiologic saline subcutaneously.

Participating animals were presented on day 0, 14, 30 and 60 and evaluated by a certified dermatologist. At each visit pruritus, medications, and lesions were evaluated and serum samples obtained. The owners appraised the pruritus of their dogs on an analogue pruritus scale (0 – 10). Medications used in the two weeks prior to the visit were determined. Lesions were evaluated by CADESI (Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index), in which the lesions (erythema, excoriation, lichenification, alopecia) are scored from 0 to 5 at 62 different body sites. Blood samples from the patients taken on day 0, 14 and 60 were evaluated for eosinophilic granulocyte numbers, concentrations of interleukin 4, interleukin 10, interferon γ , transforming growth factor β and immunoglobulin E (only day 0 and 60).

This study showed that intralymphatic allergen-specific immunotherapy is an interesting and safe alternative to subcutaneous administration. A more prominent decrease of pruritus score, CADESI (Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index) and total score was noted in the trial group, but after 2 months was not statistically significant.

VIII Literaturverzeichnis

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 Anim Nutr (Berl)* 2005; 89: 203-7.

Akdis CA, Blesken T, Akdis M, Wuthrich B, Blaser K. Role of interleukin 10 in specific immunotherapy. *J Clin Invest* 1998; 102: 98-106.

Akdis CA, Blaser K. Regulation of specific immune responses by chemical and structural modifications of allergens. *Int Arch Allergy Immunol* 2000; 121: 261-9.

Akdis CA, Akdis M, Bieber T, Bindslev-Jensen C, Boguniewicz M, Eigenmann P, Hamid Q, Kapp A, Leung DY, Lipozencic J, Luger TA, Muraro A, Novak N, Platts-Mills TA, Rosenwasser L, Scheynius A, Simons FE, Spergel J, Turjanmaa K, Wahn U, Weidinger S, Werfel T, Zuberbier T. Diagnosis and treatment of atopic dermatitis in children and adults: European Academy of Allergology and Clinical Immunology/American Academy of Allergy, Asthma and Immunology/PRACTALL Consensus Report. *Allergy* 2006; 61: 969-87.

Akdis M, Akdis CA. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 119: 780-91.

Anderson W (1975) Canine allergic inhalant dermatitis. Ralston Purina Company, St. Louis, Missouri

Arkwright PD, Chase JM, Babbage S, Pravica V, David TJ, Hutchinson IV. Atopic dermatitis is associated with a low-producer transforming growth factor beta(1) cytokine genotype. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 108: 281-4.

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

Bellinghausen I, Metz G, Enk AH, Christmann S, Knop J, Saloga J. Insect venom immunotherapy induces interleukin-10 production and a Th2-to-Th1 shift, and changes surface marker expression in venom-allergic subjects. *Eur J Immunol* 1997; 27: 1131-9.

Berth-Jones J, Damstra RJ, Golsch S, Livden JK, Van Hooteghem O, Allegra F, Parker CA. Twice weekly fluticasone propionate added to emollient maintenance treatment to reduce risk of relapse in atopic dermatitis: randomised, double blind, parallel group study. *BMJ* 2003; 326: 1367.

Bevier DE. Long-term management of atopic disease in the dog. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1990; 20: 1487-507.

Bieber T. Atopic dermatitis. *N Engl J Med* 2008; 358: 1483-94.

Biedermann T, Rocken M. Th1/Th2 balance in atopy. *Springer Semin Immunopathol* 1999; 21: 295-316.

Bisgaard H, Simpson A, Palmer CN, Bonnelykke K, McLean I, Mukhopadhyay S, Phipper CB, Halkjaer LB, Lipworth B, Hankinson J, Woodcock A, Custovic A. Gene-environment interaction in the onset of eczema in infancy: filaggrin loss-of-function mutations enhanced by neonatal cat exposure. *PLoS Med* 2008; 5: e131.

Bjerre A, Brusletto B, Hoiby EA, Kierulf P, Brandtzaeg P. Plasma interferon-gamma and interleukin-10 concentrations in systemic meningococcal disease compared with severe systemic Gram-positive septic shock. *Crit Care Med* 2004; 32: 433-8.

Boguniewicz M, Leung DY. Atopic dermatitis: a question of balance. *Arch Dermatol* 1998; 134: 870-1.

Bousquet J, Lockey R, Malling H-J. Allergen immunotherapy: Therapeutic

vaccines for allergic diseases A WHO position paper. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 102: 558-62.

Brazzini B, Pimpinelli N. New and established topical corticosteroids in dermatology: clinical pharmacology and therapeutic use. *Am J Clin Dermatol* 2002; 3: 47-58.

Brehler R, Hildebrand A, Luger TA. Recent developments in the treatment of atopic eczema. *J Am Acad Dermatol* 1997; 36: 983-94.

Bufford JD, Reardon CL, Li Z, Roberg KA, DaSilva D, Eggleston PA, Liu AH, Milton D, Alwis U, Gangnon R, Lemanske RF, Jr., Gern JE. Effects of dog ownership in early childhood on immune development and atopic diseases. *Clin Exp Allergy* 2008; 38: 1635-43.

Bussmann C, Maintz L, Hart J, Allam JP, Vrtala S, Chen KW, Bieber T, Thomas WR, Valenta R, Zuberbier T, Sager A, Novak N. Clinical improvement and immunological changes in atopic dermatitis patients undergoing subcutaneous immunotherapy with a house dust mite allergoid: a pilot study. *Clin Exp Allergy* 2007; 37: 1277-85.

Chamberlain KW. Atopic (allergic) dermatitis. *Vet Clin North Am* 1974; 4: 29-39.

Codner EC, Lessard P. Comparison of intradermal allergy test and enzyme-linked immunosorbent assay in dogs with allergic skin disease. *J Am Vet Med Assoc* 1993; 202: 739-43.

Cookson WO, Ubhi B, Lawrence R, Abecasis GR, Walley AJ, Cox HE, Coleman R, Leaves NI, Trembath RC, Moffatt MF, Harper JI. Genetic linkage of childhood atopic dermatitis to psoriasis susceptibility loci. *Nat Genet* 2001; 27: 372-3.

Cox L. Accelerated immunotherapy schedules: review of efficacy and safety. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2006; 97: 126-37; quiz 37-40, 202.

Curtis CF. Current trends in the treatment of *Sarcoptes*, *Cheyletiella* and *Otodectes* mite infestations in dogs and cats. *Vet Dermatol* 2004; 15: 108-14.

Darsow U, Ring J. [Atopic patch test. Atopic eczema and allergy]. *Hautarzt* 2003; 54: 930-6.

Darsow U, Lubbe J, Taieb A, Seidenari S, Wollenberg A, Calza AM, Giusti F, Ring J. Position paper on diagnosis and treatment of atopic dermatitis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2005; 19: 286-95.

De Bosscher K, Vanden Berghe W, Haegeman G. Mechanisms of anti-inflammatory action and of immunosuppression by glucocorticoids: negative interference of activated glucocorticoid receptor with transcription factors. *J Neuroimmunol* 2000; 109: 16-22.

De Vries IJ, Tel J, Benitez-Ribas D, Torensma R, Figdor CG. Prophylactic vaccines mimic synthetic CpG oligonucleotides in their ability to modulate immune responses. *Mol Immunol* 2011; 48: 810-7.

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

Deplazes P, Penhale WJ, Greene WK, Thompson RC. Effect on humoral tolerance (IgG and IgE) in dogs by oral administration of ovalbumin and Der pI. *Vet Immunol Immunopathol* 1995; 45: 361-7.

Des Roches A, Paradis L, Menardo JL, Bouges S, Daures JP, Bousquet J. Immunotherapy with a standardized *Dermatophagoides pteronyssinus* extract. VI. Specific immunotherapy prevents the onset of new sensitizations in children. *J*

Allergy Clin Immunol 1997; 99: 450-3.

Durham SR, Ying S, Varney VA, Jacobson MR, Sudderick RM, Mackay IS, Kay AB, Hamid QA. Grass pollen immunotherapy inhibits allergen-induced infiltration of CD4+ T lymphocytes and eosinophils in the nasal mucosa and increases the number of cells expressing messenger RNA for interferon-[gamma]. J Allergy Clin Immunol 1996; 97: 1356-65.

EAACI. Position paper: Immunotherapy. (EAACI) The European Academy of Allergology and Clinical Immunology. Allergy 1993; 48: 7-35.

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

Francis JN, James LK, Paraskevopoulos G, Wong C, Calderon MA, Durham SR, Till SJ. Grass pollen immunotherapy: IL-10 induction and suppression of late responses precedes IgG4 inhibitory antibody activity. J Allergy Clin Immunol 2008; 121: 1120-5 e2.

Fraser MA, McNeil PE, Girling SJ. Prediction of future development of canine atopic dermatitis based on examination of clinical history. J Small Anim Pract 2008; 49: 128-32.

Frew AJ. Injection immunotherapy. British Society for Allergy and Clinical Immunology Working Party. BMJ 1993; 307: 919-23.

Frew AJ. Allergen immunotherapy. J Allergy Clin Immunol 2010; 125: S306-13.

Gell PGH, Coombs RRA (1963) The classification of allergic reactions underlying disease. In: Clinical Aspects of Immunology

Gosselin Y, Malo D, Papageorges M, Chalifoux A. Intradermoreaction and Hyposensitization in Canine Atopy. *Can Vet J* 1983; 24: 101-4.

Griffin CE, Moriello KA, DeBoer KJ. The effect of serum IgE test on an in vitro ELISA test in the normal canine. In: *Advances in Veterinary Dermatology*. Tschärner C, Halliwell REW, eds. London: Bailliere Tindall 1990: 137-44.

Griffin CE. Canine atopic disease. In: *Current Veterinary Dermatology*. Griffin CE, Kwochka KW, MacDonald JM, eds. St. Louis: Mosby 1993: 99-120.

Griffin CE, Hillier A. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XXIV): allergen-specific immunotherapy. *Vet Immunol Immunopathol* 2001; 81: 363-83.

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

Grize L, Gassner M, Wuthrich B, Bringolf-Isler B, Takken-Sahli K, Sennhauser FH, Stricker T, Eigenmann PA, Braun-Fahrlander C. Trends in prevalence of asthma, allergic rhinitis and atopic dermatitis in 5-7-year old Swiss children from 1992 to 2001. *Allergy* 2006; 61: 556-62.

Halliwell R. Revised nomenclature for veterinary allergy. *Vet Immunol Immunopathol* 2006; 114: 207-8.

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

Halliwell REW, Gorman N. Atopic diseases. In: *Veterinary clinical immunology*. Halliwell REW, Gorman N, eds. Philadelphia: Saunders, W.B. Co 1989: 232-52.

Halliwell REW, DeBoer DJ. The ACVD task force on canine atopic dermatitis

(III): the role of antibodies in canine atopic dermatitis. *Vet Immunol Immunopathol* 2001; 81: 159-67.

Hamza E, Wagner B, Jungi TW, Mirkovitch J, Marti E. Reduced incidence of insect-bite hypersensitivity in Icelandic horses is associated with a down-regulation of interleukin-4 by interleukin-10 and transforming growth factor-beta1. *Vet Immunol Immunopathol* 2008; 122: 65-75.

Hill PB, DeBoer DJ. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (IV): environmental allergens. *Vet Immunol Immunopathol* 2001; 81: 169-86.

Hillier A, DeBoer DJ. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XVII): intradermal testing. *Vet Immunol Immunopathol* 2001; 81: 289-304.

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

Hillier A, Kwochka KW. Allergen-specific immunotherapy in dogs with atopic dermatitis and house dust mite hypersensitivity: use of symptom/medication scores. *Vet Dermatol* 2002; 13: 211-29.

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, Nourse J, Crabtree GR. The mechanism of action of cyclosporin A and FK506. *Clin Immunol Immunopathol* 1996; 80: S40-5.

Huang JT, Abrams M, Tlougan B, Rademaker A, Paller AS. Treatment of *Staphylococcus aureus* colonization in atopic dermatitis decreases disease severity. *Pediatrics* 2009; 123: e808-14.

Hultsch T, Kapp A, Spergel J. Immunomodulation and safety of topical calcineurin inhibitors for the treatment of atopic dermatitis. *Dermatology* 2005; 211: 174-87.

Inal A, Altintas DU, Yilmaz M, Karakoc GB, Kendirli SG, Sertdemir Y. Prevention of new sensitizations by specific immunotherapy in children with rhinitis and/or asthma monosensitized to house dust mite. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2007; 17: 85-91.

Janeway CA (2002) *Immunologie*, 5. edn. Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Heidelberg, Berlin

Janeway CA (2005) *Immunologie*, 6. edn. Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Heidelberg, Berlin

Johansen P, Häffner AC, Koch F, Zepter K, Erdmann I, Maloy K, Simard JJ, Storni T, Senti G, Bot A, Wüthrich B, Kündig TM. Direct intralymphatic injection of peptide vaccines enhances immunogenicity. *Eur J Immunol* 2005; 35: 568-74.

Juillard GJF, Bubbers. Experimental Intralymphatic Immunotherapy (ILI) of Canine Allergic Disease. *Fed Proc* 1983; 42

Jutel M, Akdis M, Budak F, Aebischer-Casaulta C, Wrzyszc M, Blaser K, Akdis CA. IL-10 and TGF-beta cooperate in the regulatory T cell response to mucosal allergens in normal immunity and specific immunotherapy. *Eur J Immunol* 2003; 33: 1205-14.

Jutel M, Akdis M, Blaser K, Akdis CA. Mechanisms of allergen specific immunotherapy--T-cell tolerance and more. *Allergy* 2006; 61: 796-807.

Jutel M, Akdis CA. T-cell regulatory mechanisms in specific immunotherapy. *Chem Immunol Allergy* 2008; 94: 158-77.

Kenis G, Teunissen C, De Jongh R, Bosmans E, Steinbusch H, Maes M. Stability of interleukin 6, soluble interleukin 6 receptor, interleukin 10 and CC16 in human serum. *Cytokine* 2002; 19: 228-35.

Keppel KE, Campbell KL, Zuckermann FA, Greeley EA, Schaeffer DJ, Husmann RJ. 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.

Kietzmann M. [Pharmacotherapeutic use of antipruritic drugs in skin diseases]. *Tierarztl Prax* 1995; 23: 218-23.

Kigasawa K, Kajimoto K, Nakamura T, Hama S, Kanamura K, Harashima H, Kogure K. Noninvasive and efficient transdermal delivery of CpG-oligodeoxynucleotide for cancer immunotherapy. *J Control Release* 2011;

Kim B-J, Mun S-K. Objective Measurements Using the Skin Prick Test in Allergic Rhinitis. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2010; 136: 1104-6.

Kirk RW MG (1976) *Small animal dermatology*, 2nd edn. W.B. Saunders Company, Philadelphia

Kjelgaard-Hansen M, Luntang-Jensen M, Willesen J, Jensen AL. Measurement of serum interleukin-10 in the dog. *Vet J* 2007; 173: 361-5.

Kundig TM, Bachmann MF, DiPaolo C, Simard JJ, Battegay M, Lothar H, Gessner A, Kuhlcke K, Ohashi PS, Hengartner H, et al. Fibroblasts as efficient antigen-presenting cells in lymphoid organs. *Science* 1995; 268: 1343-7.

Leung DY, Boguniewicz M, Howell MD, Nomura I, Hamid QA. New insights into atopic dermatitis. *J Clin Invest* 2004; 113: 651-7.

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

Loewenstein C, Mueller RS. A review of allergen-specific immunotherapy in human and veterinary medicine. *Vet Dermatol* 2009; 20: 84-98.

Löflath A, Von Voigts-Rhetz A, Jaeger K, Schmid M, Kuechenhoff H, Mueller RS. The efficacy of a commercial shampoo and whirlpooling in the treatment of canine pruritus – a double-blinded, randomized, placebo-controlled study. *Vet Dermatol* 2007; 18: 427-31.

Lund EM, Armstrong PJ, Kirk CA, Kolar LM, Klausner JS. Health status and population characteristics of dogs and cats examined at private veterinary practices in the United States. *J Am Vet Med Assoc* 1999; 214: 1336-41.

MacDonald JM (1999) Rush hyposensitization in the treatment of canine atopy. 15th Annual Meeting of AAVD/ACVD. Maui. 95-7

Maloy KJ, Erdmann I, Basch V, Sierro S, Kramps TA, Zinkernagel RM, Oehen S, Kundig TM. Intralymphatic immunization enhances DNA vaccination. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 3299-303.

Manolova V, Flace A, Bauer M, Schwarz K, Saudan P, Bachmann MF. Nanoparticles target distinct dendritic cell populations according to their size. *Eur J Immunol* 2008; 38: 1404-13.

Manuyakorn W, Kamchaisatian W, Atamasirikul K, Sasisakulporn C, Direkwattanachai C, Benjaponpitak S. Serum TGF-beta1 in atopic asthma. *Asian Pac J Allergy Immunol* 2008; 26: 185-9.

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

Marsella R, Olivry T. Animal models of atopic dermatitis. *Clin Dermatol* 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, Nicklin C, Lopez J. Studies on the role of routes of allergen exposure in high IgE-producing beagle dogs sensitized to house dust mites. *Vet Dermatol* 2006; 17: 306-12.

Marsella R, Samuelson D. Unravelling the skin barrier: a new paradigm for atopic dermatitis and house dust mites. *Vet Dermatol* 2009; 20: 533-40.

Martinez-Gomez JM, Johansen P, Erdmann I, Senti G, Crameri R, Kundig TM. Intralymphatic Injections as a New Administration Route for Allergen-Specific Immunotherapy. *Int Arch Allergy Immunol* 2009; 150: 59-65.

Mastrandrea F, Serio G, Minelli M, Minardi A, Scarcia G, Coradduzza G, Parmiani S. Specific sublingual immunotherapy in atopic dermatitis. Results of a 6-year follow-up of 35 consecutive patients. *Allergol Immunopathol (Madr)* 2000; 28: 54-62.

Mudde GC, Van Reijssen FC, Boland GJ, de Gast GC, Bruijnzeel PL, Bruijnzeel-Koomen CA. Allergen presentation by epidermal Langerhans' cells from patients with atopic dermatitis is mediated by IgE. *Immunology* 1990; 69: 335-41.

Mueller RS. Diagnosis and management of canine atopic disease. *Aust Vet Pract* 1993; 23: 20-7.

Mueller RS, Bettenay SV. Long-term immunotherapy of 146 dogs with atopic dermatitis - a retrospective study. *Aust Vet Pract* 1996; 26: 128-32.

Mueller RS, Burrows A, Tsohalis J. Comparison of intradermal testing and serum testing for allergen-specific IgE using monoclonal IgE antibodies in 84 atopic dogs. *Aust Vet J* 1999; 77: 290-4.

Mueller RS (2000) *Dermatologie für den Kleintierpraktiker*, Renate Egner edn. VetVerlag Babenhausen

Mueller RS, Bettenay SV. Evaluation of the safety of an abbreviated course of injections of allergen extracts (rush immunotherapy) for the treatment of dogs with atopic dermatitis. *Am J Vet Res* 2001; 62: 307-10.

Mueller RS, Bettenay SV, Shipstone M. Value of the pinnal-pedal reflex in the diagnosis of canine scabies. *Vet Rec* 2001; 148: 621-3.

Mueller RS. Topical dermatological therapy. In: *Small Animal Clinical Pharmacology*. Maddison JE, Page SW, Church D, eds. London: Saunders, W.B. 2002: 535-45.

Mueller RS, Jackson H. Atopy and food adverse reaction. In: *BSAVA Manual of Small Animal Dermatology*. Foster AP, Foil CS, eds. Quedgeley: British Small Animal Association 2003: 125-36.

Mueller RS, Fieseler KV, Fettman MJ, Zabel S, Rosychuk RA, Ogilvie GK, Greenwalt TL. Effect of omega-3 fatty acids on canine atopic dermatitis. *J Small Anim Pract* 2004; 45: 293-7.

Mueller RS, Veir J, Fieseler KV, Dow SW. Use of immunostimulatory liposome-nucleic acid complexes in allergen-specific immunotherapy of dogs with refractory atopic dermatitis - a pilot study. *Vet Dermatol* 2005a; 16: 61-8.

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

Mueller RS, Fieseler KV, Zabel S, Rosychuk RAW. Conventional and rush immunotherapy in canine atopic dermatitis. In: *Advances in Veterinary Dermatology V*. Hillier A, Foster AP, Kwochka KW, eds. Oxford: Blackwell Publishing 2005c: 60-9.

Nelson HS, Lahr J, Rule R, Bock A, Leung D. Treatment of anaphylactic sensitivity to peanuts by immunotherapy with injections of aqueous peanut extract. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99: 744-51.

Nelson HS. Immunotherapy for inhalant allergens. In: *Allergy Principles and Practice*. Middleton JE, Adkinson JNF, Yunginger JW, Busse WW, Bochner BS, Holgate ST, Simons FE, eds. Philadelphia: Mosby 2003: 1455-73.

Nesbitt GH, Kedan GS, Caciolo P. Canine Atopy. Part II. Management. *Compend Contin Educ Pract Vet* 1984; 6: 264-78.

Noon L. Prophylactic inoculation against hay fever. *Lancet* 1911; 177: 1572-3.

Nuttall T, Mueller R, Bensignor E, Verde M, Noli C, Schmidt V, Reme C. Efficacy of a 0.0584% hydrocortisone aceponate spray in the management of canine atopic dermatitis: a randomised, double blind, placebo-controlled trial. *Vet Dermatol* 2009; 20: 191-8.

Nuttall TJ, Thoday KL, van den Broek AH, Jackson HA, Sture GH, Halliwell RE.

Retrospective survey of allergen immunotherapy in canine atopy. *Vet Rec* 1998; 143: 139-42.

O'Hehir RE, Sandrini A, Anderson GP, Rolland JM. Sublingual allergen immunotherapy: immunological mechanisms and prospects for refined vaccine preparation. *Curr Med Chem* 2007; 14: 2235-44.

Olivry T, Moore PF, Affolter VK, Naydan DK. Langerhans cell hyperplasia and IgE expression in canine atopic dermatitis. *Arch Dermatol Res* 1996; 288: 579-85.

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

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

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

Olivry T, DeBoer DJ, Griffin CE, Halliwell REW, Hill PB, Hillier A, Marsella R, Sousa CA. The ACVD task force on canine atopic dermatitis: forewords and lexicon. *Vet Immunol Immunopathol* 2001b; 81: 143-6.

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

Olivry T. Pathogenesis of canine atopic dermatitis: 2004 hypothesis. *Vet Dermatol* 2004; 15: 1.

Olivry T, Marsella R, Pucheu-Haston CM, al. E. Mechanism of lesion formation

in canine atopic dermatitis: 2004 hypothesis. In: *Advances in Veterinary Dermatology*. Hillier A, Foster AP, Kwochka KW, eds. Oxford, UK: Blackwell Publishing 2005: 10-6.

Olivry T, Marsella R, Iwasaki T, Mueller R. 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.

Olivry T, DeBoer DJ, Favrot C, Jackson HA, Mueller RS, Nuttall T, Prélaud P, for the International Task Force on Canine Atopic D. Treatment of canine atopic dermatitis: 2010 clinical practice guidelines from the International Task Force on Canine Atopic Dermatitis. *Vet Dermatol* 2010; 21: 233-48.

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

Passalacqua G, Albano M, Fregonese L, Riccio A, Pronzato C, Mela GS, Canonica GW. Randomised controlled trial of local allergoid immunotherapy on allergic inflammation in mite-induced rhinoconjunctivitis. *Lancet* 1998; 351: 629-32.

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

Paterson S. Additive benefits of EFAs in dogs with atopic dermatitis after partial response to antihistamine therapy. *J Small Anim Pract* 1995; 36: 389-94.

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

Patterson R, Harris KE. Rush immunotherapy in a dog with severe ragweed and grass pollen allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1999; 83: 213-6.

Pfaar O, Klimek L. [Cluster immunotherapy in allergic rhinoconjunctivitis: review of a new therapeutic approach]. *Hautarzt* 2006; 57: 875-80.

Quaranta A, Siniscalchi M, Frate A, Iacoviello R, Buonavoglia C, Vallortigara G. Lateralised behaviour and immune response in dogs: relations between paw preference and interferon-gamma, interleukin-10 and IgG antibodies production. *Behav Brain Res* 2006; 166: 236-40.

Rajan TV. The Gell-Coombs classification of hypersensitivity reactions: a re-interpretation. *Trends Immunol* 2003; 24: 376-9.

Reedy LM. Canine atopy. In: *Compendium of Continuing Education for the Practicing Veterinarian*: 1979: 550-6.

Reedy LM, Miller WH (1989) *Allergic Skin Diseases of Dogs and Cats*. Saunders, W.B. 320 pp

Reedy LM, Miller WH, Jr., Willemsse A (1997) *Allergic Skin Diseases of dogs and cats*, 2 edn. Saunders, W. B., Philadelphia

Rolland JM, Gardner LM, O'Hehir RE. Allergen-related approaches to immunotherapy. *Pharmacol Ther* 2009; 121: 273-84.

Rosenbaum MR, Esch RE, Schwartzman RM. Effects of mold proteases on the biological activity of allergenic pollen extracts. *Am J Vet Res* 1996; 57: 1447-52.

Rosser EJ. Aqueous hyposensitization in the treatment of canine atopic dermatitis: a retrospective study of 100 cases. In: *Advances in Veterinary Dermatology*. Kwochka KW, Willemse T, von Tscharner C, eds. Oxford: Butterworth-Heinemann 1998: 128-32.

Rosser EJ. Evaluation of a rapid, qualitative, allergen-specific IgE screening immunoassay as an aid in the diagnosis of atopic dermatitis in dogs. *Vet Dermatol* 2004; 15: 3.

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

Schmid-Grendelmeier P, Scheynius A, Cramer R. The role of sensitization to *Malassezia sympodialis* in atopic eczema. *Chem Immunol Allergy* 2006; 91: 98-109.

Schmid-Grendelmeier P, Ballmer-Weber BK. [Atopic dermatitis - current insights into path physiology and management]. *Ther Umsch* 2010; 67: 175-85.

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

Scott DW. Observations on canine atopy. *J Am Anim Hosp Assoc* 1981; 17: 91-100.

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

Scott DW, Miller WH, Jr. Nonsteroidal management of canine pruritus: chlorpheniramine and a fatty acid supplement (DVM Derm Caps) in combination,

and the fatty acid supplement at twice the manufacturer's recommended dosage. *Cornell Vet* 1990; 80: 381-7.

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

Scott DW, Miller WH, Jr., Decker GA, Wellington JR. Comparison of the clinical efficacy of two commercial fatty acid supplements (EfaVet and DVM Derm Caps), evening primrose oil, and cold water marine fish oil in the management of allergic pruritus in dogs: a double-blinded study. *Cornell Vet* 1992; 82: 319-29.

Scott DW, Miller WH, Jr. Antihistamines in the management of allergic pruritus in dogs and cats. *J Small Anim Pract* 1999; 40: 359-64.

Scott DW, Miller WH, Griffin CE. Dermatologic therapy. In: Muller's and Kirk's Small Animal Dermatology, 6th edn. Saunders WB, ed. Philadelphia: 2001: 217-34.

Secrist H, Chelen CJ, Wen Y, Marshall JD, Umetsu DT. Allergen immunotherapy decreases interleukin 4 production in CD4+ T cells from allergic individuals. *J Exp Med* 1993; 178: 2123-30.

Senti G, Prinz Vavricka BM, Erdmann I, Diaz MI, Markus R, McCormack SJ, Simard JJ, Wuthrich B, Cramer R, Graf N, Johansen P, Kundig TM. Intralymphatic allergen administration renders specific immunotherapy faster and safer: a randomized controlled trial. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 17908-12.

Senti G, Johansen P, Kundig TM. Intralymphatic immunotherapy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2009; 9: 537-43.

Serrano P, Algorta J, Martinez A, Gonzalez-Quevedo T, Velazquez E, Diaz M. Prospective safety study of immunotherapy administered in a cluster schedule. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2004; 14: 312-9.

Sharkey P, Portnoy J. Rush immunotherapy: experience with a one-day schedule. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1996; 76: 175-80.

Shida M, Kadoya M, Park SJ, Nishifuji K, Momoi Y, Iwasaki T. Allergen-specific immunotherapy induces Th1 shift in dogs with atopic dermatitis. *Vet Immunol Immunopathol* 2004; 102: 19-31.

Smits WL, Giese JK, Letz KL, Inglefield JT, Schlie AR. Safety of rush immunotherapy using a modified schedule: a cumulative experience of 893 patients receiving multiple aeroallergens. *Allergy Asthma Proc* 2007; 28: 305-12.

Sousa CA, Norton AL. Advances in methodology for diagnosis of allergic skin disease. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1990; 20: 1419-27.

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

Stedman K, Lee K, Hunter S, Rivoire B, McCall C, Wassom D. Measurement of canine IgE using the alpha chain of the human high affinity IgE receptor. *Vet Immunol Immunopathol* 2001; 78: 349-55.

Stehle ME, Hanczaruk M, Schwarz SCN, Göbel TW, Mueller RS. Effects of polyunsaturated fatty acids on isolated canine peripheral blood mononuclear cells and cytokine expression (IL-4, IFN- γ , TGF- β) in healthy and atopic dogs. *Vet Dermatol* 2010; 21: 113-8.

Sumiyoshi K, Nakao A, Ushio H, Mitsuishi K, Okumura K, Tsuboi R, Ra C, Ogawa H. Transforming growth factor-beta1 suppresses atopic dermatitis-like

skin lesions in NC/Nga mice. *Clin Exp Allergy* 2002; 32: 309-14.

Tabar AI, Echechipia S, Garcia BE, Olaguibel JM, Lizaso MT, Gomez B, Aldunate MT, Martin S, Marcotegui F. Double-blind comparative study of cluster and conventional immunotherapy schedules with *Dermatophagoides pteronyssinus*. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 116: 109-18.

Tarpataki N, Bigler B, Vajdovich P, Voros K. Comparison between an intradermal skin test and allergen-specific IgE-ELISA for canine atopic dermatitis. *Schweiz Arch Tierheilkd* 2008; 150: 117-22.

Thoday KL. Canine pruritus: an approach to diagnosis. Stages III and IV. *Allergy and Idiopathy. J Small Anim Pract* 1980; 21: 483-93.

Till SJ, Francis JN, Nouri-Aria K, Durham SR. Mechanisms of immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113: 1025-34; quiz 35.

Valet M, Pfab F, Sprenger T, Woller A, Zimmer C, Behrendt H, Ring J, Darsow U, Tolle TR. Cerebral processing of histamine-induced itch using short-term alternating temperature modulation--an FMRI study. *J Invest Dermatol* 2008; 128: 426-33.

Van Der Meer JB, Glazenburg EJ, Mulder PG, Eggink HF, Coenraads PJ. The management of moderate to severe atopic dermatitis in adults with topical fluticasone propionate. The Netherlands Adult Atopic Dermatitis Study Group. *Br J Dermatol* 1999; 140: 1114-21.

Vickery BP. Skin barrier function in atopic dermatitis. *Curr Opin Pediatr* 2007; 19: 89-93.

Vidal D, Calvet R, Smandia JA. [Specific immunotherapy with house dust mite allergens in an adult with severe atopic dermatitis]. *Actas Dermosifiliogr* 2008;

99: 746-7.

von Beust BR, Johansen P, Smith KA, Bot A, Storni T, Kundig TM. Improving the therapeutic index of CpG oligodeoxynucleotides by intralymphatic administration. *Eur J Immunol* 2005; 35: 1869-76.

von Mutius E. Allergy and the environment. *Allergy* 1999; 54 Suppl 56: 16-7.

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

von Pirquet C. Allergie. *Münchener Medizinische Wochenschrift* 1906: 1457-8.

Walton Angarano D, MacDonald JM. Immunotherapy in canine atopy. In: *Current Veterinary Therapy*. Kirk RW, ed. Philadelphia: W B Saunders 1992: 505-8.

Werfel T, Breuer K, Rueff F, Przybilla B, Worm M, Grewe M, Ruzicka T, Brehler R, Wolf H, Schnitker J, Kapp A. Usefulness of specific immunotherapy in patients with atopic dermatitis and allergic sensitization to house dust mites: a multi-centre, randomized, dose-response study. *Allergy* 2006; 61: 202-5.

Willemse A, van den Brom WE. Investigations of the symptomatology and the significance of immediate skin test reactivity in canine atopic dermatitis. *Res Vet Sci* 1983; 34: 261-5.

Willemse A, Van den Brom WE, Rijnberk A. Effect of hyposensitization on atopic dermatitis in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1984; 184: 1277-80.

Willemse A (1994) Hyposensitization of dogs with atopic dermatitis based of the results of in vivo and in vitro (IgGd ELISA) diagnostic tests. Annual Meeting of AAVD/ACVD. Charleston. 61

Williams HC. Diagnostic criteria for atopic dermatitis. *Lancet* 1996; 348: 1391-2.

Williams HC, Grindlay DJ. What's new in atopic eczema? An analysis of the clinical significance of systematic reviews on atopic eczema published in 2006 and 2007. *Clin Exp Dermatol* 2008; 33: 685-8.

Williams HC, Grindlay DJ. What's new in atopic eczema? An analysis of systematic reviews published in 2007 and 2008. Part 2. Disease prevention and treatment. *Clin Exp Dermatol* 2009; 35: 223-7.

Wittich FW. Spontaneous allergy (atopy) in the lower animal: Seasonal hay fever (fall type) in a dog. *Journal of Allergy* 1941; 12: 247-51.

Wollenberg A, Bieber T. Proactive therapy of atopic dermatitis--an emerging concept. *Allergy* 2009; 64: 276-8.

Wuthrich B, Cozzio A, Roll A, Senti G, Kundig T, Schmid-Grendelmeier P. Atopic eczema: genetics or environment? *Ann Agric Environ Med* 2007; 14: 195-201.

Ye YM, Lee SK, Kim SH, Nahm DH, Suh CH, Park HS. Changes of serum cytokines after the long term immunotherapy with Japanese hop pollen extracts. *J Korean Med Sci* 2006; 21: 805-10.

Zinkernagel RM, Ehl S, Aichele P, Oehen S, Kundig T, Hengartner H. Antigen localisation regulates immune responses in a dose- and time-dependent fashion: a geographical view of immune reactivity. *Immunol Rev* 1997; 156: 199-209.

Zinkernagel RM. Localization dose and time of antigens determine immune reactivity. *Semin Immunol* 2000; 12: 163-71; discussion 257-344.

Zur G, Ihrke PJ, White SD, Kass PH. Canine atopic dermatitis: a retrospective

study of 266 cases examined at the University of California, Davis, 1992-1998. Part I. Clinical features and allergy testing results. *Vet Dermatol* 2002a; 13: 89-102.

Zur G, White SD, Ihrke PJ, Kass PH, 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* 2002b; 13: 103-11.

IX Anhang

1. Tabellenverzeichnis

<i>Tabelle 1: IgE-vermittelte Reaktionen gegen externe Antigene.....</i>	<i>5</i>
<i>Tabelle 2: Einteilung der Neurodermitis nach Hautzustand</i>	<i>15</i>
<i>Tabelle 3: Emollentien.....</i>	<i>21</i>
<i>Tabelle 4: Einteilung der Glukokortikoide.....</i>	<i>22</i>
<i>Tabelle 5: Mechanismen der Immuntherapie.....</i>	<i>25</i>
<i>Tabelle 6: Favrot´s 2010 Kriterien für kanine atopische Dermatitis.....</i>	<i>35</i>
<i>Tabelle 7: Intrakutantest.....</i>	<i>59</i>
<i>Tabelle 8: Serumallergietest</i>	<i>61</i>
<i>Tabelle 9: Rasse der untersuchten Hunde sowie deren jeweilige Anzahl.....</i>	<i>73</i>
<i>Tabelle 10: Ergebnisse Juckreizskala.....</i>	<i>77</i>
<i>Tabelle 11: Ergebnisse CADESI</i>	<i>79</i>
<i>Tabelle 12: Ergebnisse Medikamentenbewertung.....</i>	<i>81</i>
<i>Tabelle 13: Ergebnisse Gesamtpunktzahl.....</i>	<i>84</i>
<i>Tabelle 14: Ergebnisse eosinophile Granulozyten.....</i>	<i>86</i>
<i>Tabelle 15: Ergebnisse IgE.....</i>	<i>88</i>
<i>Tabelle 16: Ergebnisse IL-4.....</i>	<i>90</i>
<i>Tabelle 17: Ergebnisse TGF-beta</i>	<i>93</i>

2. Abbildungsverzeichnis

<i>Abbildung 1: Unterscheidung Sofortphase und Spätphase, modifiziert nach (JANEWAY, 2002)</i>	<i>9</i>
<i>Abbildung 2: Eindringen von Antigenen modifiziert nach (JANEWAY, 2005).....</i>	<i>28</i>
<i>Abbildung 3: Pathogenese der atopischen Dermatitis modifiziert nach (LOEWENSTEIN & MUELLER, 2009)</i>	<i>32</i>
<i>Abbildung 4: Ultraschalldarstellung Ln. mandibularis.....</i>	<i>54</i>
<i>Abbildung 5: Ultraschalldarstellung Ln. mandibularis während Injektion.....</i>	<i>55</i>
<i>Abbildung 6: Ultraschalldarstellung nach Injektion.....</i>	<i>56</i>
<i>Abbildung 7: Juckreizskala Kontrollgruppe</i>	<i>75</i>
<i>Abbildung 8: Juckreizskala Versuchsgruppe</i>	<i>76</i>
<i>Abbildung 9: CADESI Kontrollgruppe.....</i>	<i>78</i>
<i>Abbildung 10: CADESI Versuchsgruppe</i>	<i>78</i>
<i>Abbildung 11: Medikamentenbewertung Kontrollgruppe</i>	<i>80</i>
<i>Abbildung 12: Medikamentenbewertung Versuchsgruppe</i>	<i>80</i>
<i>Abbildung 13: Gesamtpunktezahl Kontrollgruppe.....</i>	<i>82</i>
<i>Abbildung 14: Gesamtpunktezahl Versuchsgruppe.....</i>	<i>83</i>
<i>Abbildung 15: Eosinophile Kontrollgruppe.....</i>	<i>85</i>
<i>Abbildung 16: Eosinophile Versuchsgruppe.....</i>	<i>85</i>
<i>Abbildung 17: IgE Kontrollgruppe.....</i>	<i>87</i>
<i>Abbildung 18: IgE Versuchsgruppe.....</i>	<i>88</i>
<i>Abbildung 19: IL-4 Kontrollgruppe.....</i>	<i>89</i>
<i>Abbildung 20: IL-4 Versuchsgruppe.....</i>	<i>90</i>
<i>Abbildung 21: TGF-beta Kontrollgruppe</i>	<i>92</i>
<i>Abbildung 22: TGF-beta Versuchsgruppe</i>	<i>92</i>

3. Injektionsschema

Zeit	Kontrollgruppe		Testgruppe			
	Allergenlösung	Kochsalz	Allergenlösung	Kochsalz		
Tag 0	Klinische Untersuchung, Blutabnahme					
Tag 0 – 0 min	0,1 ml s.c.	2000 PNU	0,08 ml i.l.	2000 PNU	0,1 ml s.c.	
Tag 0 – 30 min	0,2 ml s.c.		-		-	0,2 ml s.c.
Tag 0 – 60 min	0,4 ml s.c.		-		-	0,4 ml s.c.
Tag 0 – 90 min	0,6 ml s.c.		-		-	0,6 ml s.c.
Tag 0 – 120 min	0,8 ml s.c.		-		-	0,8 ml s.c.
Tag 0 – 150 min	0,2 ml s.c.	20000 PNU	-	-	0,2 ml s.c.	
Tag 0 – 180 min	0,4 ml s.c.		-	-	0,4 ml s.c.	
Tag 0 – 210 min	0,6 ml s.c.		-	-	0,6 ml s.c.	
Tag 0 – 240 min	0,8 ml s.c.		-	-	0,8 ml s.c.	
Tag 15	0,8 ml s.c.		-	-	0,8 ml s.c.	
Tag 15	Klinische Untersuchung, Blutabnahme					
Tag 30	0,8 ml s.c.	0,08 ml i.l.	0,08 ml i.l.	0,8 ml s.c.		
Tag 30	Klinische Untersuchung					
Tag 45	0,8 ml s.c.	-	-	0,8 ml s.c.		
Tag 60	0,8 ml s.c.	0,08 ml i.l.	0,08 ml i.l.	0,8 ml s.c.		
Tag 60	Klinische Untersuchung, Blutabnahme					
Tag 75	0,8 ml s.c.	-	-	0,8 ml s.c.		
Tag 90	0,8 ml s.c.	-	-	0,8 ml s.c.		
Tag 105	0,8 ml s.c.	-	-	0,8 ml s.c.		
Tag 120	0,8 ml s.c.	-	-	0,8 ml s.c.		
Tag 135	0,8 ml s.c.	-	-	0,8 ml s.c.		
Tag 150	0,8 ml s.c.	-	-	0,8 ml s.c.		
Tag 165	0,8 ml s.c.	-	-	0,8 ml s.c.		
Tag 180	0,8 ml s.c.	-	-	0,8 ml s.c.		
Tag 180	Klinische Untersuchung, Blutabnahme					

4. **Besitzer Einverständniserklärung**

Hiermit bestätige ich, dass ich über die Studie „Intralymphatische allergenspezifische Immuntherapie beim Hund“ aufgeklärt wurde. Ich verstehe, dass mein Tier an einem klinischen Versuch teilnimmt. Diese Studie bewertet eine neue Art der Applikation der Allergene und mein Hund wird entweder diese neue Applikationsart oder die klassische Therapie erhalten, allerdings wissen weder der Tierarzt noch ich, welche. Entsprechend dem Studienprotokoll werden meinem Hund 3 Injektionen in einen Lymphknoten im Abstand von je 1 Monat und eine Rushimmuntherapie verabreicht werden, jedoch enthält nur eine der beiden Therapievarianten dabei den Wirkstoff.

Zusätzlich gebe ich mein Einverständnis, dass bei meinem Hund am ersten Besuch, nach 2 Wochen und nach 2 und 6 Monaten jeweils 10 ml Blut entnommen werden.

Ich wurde über potentielle Risiken (v.a. anaphylaktische Reaktion) 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 2, 4 und 8 Wochen und ein halbes Jahr nach Studienbeginn zu Kontrolluntersuchungen vorstellen und die Injektionen unter die Haut innerhalb dieses Zeitraumes regelmäßig (alle 2 bis 4 Wochen) durchführen lassen.

Mir wird weder für die Hospitalisierung zur Rushimmuntherapie noch für diese Therapie selbst etwas berechnet, auch der Ultraschall zur Bestimmung der Lymphknoten ist kostenfrei, solange ich den Anforderungen der Studie nachkomme. 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, Desensibilisierungslösung etc.) übernommen. Sollte ich aus der Studie ausscheiden, wird mir für die Rushimmuntherapie sowie die Kontrollbesuche eine Rechnung zugeschickt.

Ich bin mit den hier genannten Bedingungen einverstanden.

Name, Vorname _____

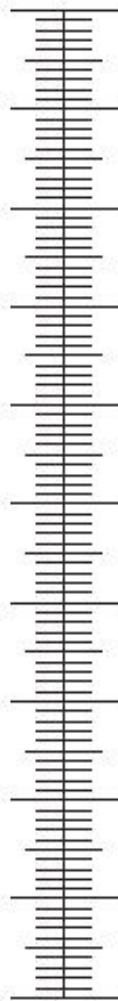
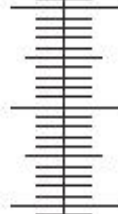
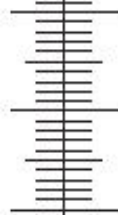
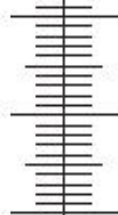


Tiername _____

Datum _____

Unterschrift _____

5. Juckreizskala

Markieren Sie bitte die durchschnittliche Juckreizstärke Ihres Hundes auf der folgenden Skala von 0 bis 10. Juckreiz kann sich äußern als: Kratzen, beißen, kauen, lecken, scheuern und knabbern.

	<p>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)</p>
	<p>Heftiges Kratzen / langanhaltende Episoden Kratzen bei Nacht (wenn beobachtet) und beim Fressen, Spielen, Spazieren gehen oder bei Ablenkung</p>
	<p>Moderates Kratzen / episodewise Kratzt bei Nacht (wenn beobachtet), aber nicht beim Fressen, Spielen, Spazieren gehen oder bei Ablenkung</p>
	<p>Mildes Kratzen / etwas vermehrt Kratzt nicht nachts, beim Fressen, Spielen, Spazieren gehen oder bei Ablenkung</p>
	<p>Sehr mildes Kratzen / nur gelegentliche Episoden Der Hund kratzt sich nur etwas mehr als zu der Zeit bevor die Hautproblematik begonnen hat</p>
	<p>Normaler Hund- ich glaube nicht, dass das Kratzen ein Problem darstellt</p>

6. Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index (CADESI)

SITE \ CLINICAL SIGNS		Erythema	Lichenification	Excoriations	Alopecia	TOTAL
Face	Preauricular					
	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					
Flank	Left					
	Right					
Front Limb	Left	Medial				
		Lateral				
		Antebrachial				
		Carpal Flexure				
	Right	Medial				
		Lateral				
		Antebrachial				
		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					
				TOTAL	Score	(1240)

grade each sign at each location as follows: 0 (none), 1 (mild), 2, 3 (moderate), 4, 5

7. Medikamentenbeurteilung

Welche Art der Therapie hat Ihr Hund in den letzten zwei Wochen erhalten?

- keine Medikamente
- äußerliche Behandlung (Shampoo, Salbe, Cortavance-Spray)
Welche: _____
- Antihistaminika (Histacalmine, Cetirizin, Fenistil)
Welche: _____
- Fettsäuren (Viacutan, Öl ins Futter, Dermoscent Spot-on oder Spray, Douxo Spot-on)
Welche: _____
- Kortison (Prednisolon)
Dosierung: _____
- Zyklosporin (Atopica)
Dosierung: _____

8. Gesamtbeurteilung

Bitte beurteilen Sie den Gesamtzustand Ihres Hundes im Vergleich zum letzten Besuch.

- Verschlechterung
- keine Veränderung
- leichte Verbesserung
- zufriedenstellende Verbesserung
- vollständiger Rückgang der Symptomatik

X Danksagung

Sehr herzlich möchte ich mich bei Professor Ralf Müller für die Bereitstellung dieses interessanten Themas bedanken. Herausragend waren seine wirklich jederzeit gewährte Hilfe und Unterstützung sowie die gute und freundliche Zusammenarbeit während der Verfassung dieser Arbeit.

Frau Dr. Karin Weber danke ich vielmals für die Zusammenarbeit und Hilfestellung in Laborfragen. Ihren Rat bei jeglichen Fragestellungen habe ich sehr geschätzt.

Herrn Dr. Stefan Unterer und Frau Dr. Bianka Schulz danke ich für ihre Unterstützung bei der Ultraschalluntersuchung und -darstellung der Lymphknoten.

Frau Professor Katrin Hartmann danke ich für die Möglichkeit, diese Arbeit in der Medizinischen Kleintierklinik der Ludwig-Maximilians-Universität München erstellen zu dürfen.

Bei Heska Laboratories bedanke ich mich für die IgE-Analyse der Blutproben.

Beim American College of Veterinary Dermatology und European College of Veterinary Dermatology bedanke ich mich für die gewährten Stipendien, wodurch die Fertigstellung dieser Arbeit ermöglicht wurde.

Lieben Dank möchte ich auch an Dr. Britta Schnabl, Dr. Ana Rostaher und Dr. Cornelia Johansen aussprechen, die mein Interesse an der Veterinärdermatologie vergrößert und gefördert haben und mir stets beratend zur Seite standen.

Vielmals möchte ich mich auch bei meinen Kollegen aus der Klinik bedanken. Mein Dank richtet sich vor allem an Frau Amelie von Voigts-Rhetz, Frau Svenja Budach, Frau Simone Betlehem, Frau Paz Schamber, Frau Claudia Horstmann, Frau Isabell Kloos, Frau Juliane Schilling, Frau Petra Litzlbauer und Frau Michaela Blaskovic für die schöne Zusammenarbeit und allzeit gewährte Hilfeleistung.

Ein ganz lieber Dank geht an Lilly, Tamira, Pepino, Luna, Timmy, Bobby,

Charly, Fuzzi, Melodie, Julius, Menelik, Robby, Mimi, Eddie, Bosko, Mocca, Pitty, Sunny, Karlchen, Cato, Balou, Linda, Wendy, Sunny, Amy, Jonas, Jenny, Balu, Schila, Lucky, Don Carlos, Johnny, Chiaro sowie deren Besitzer, ohne die es diese Dissertation nie gegeben hätte. Sie haben diese wissenschaftliche Studie bedingungslos unterstützt und bereichert sowie dazu beigetragen in der Zukunft neue Therapiemöglichkeiten für die canine atopische Dermatitis zu eröffnen. Sie werden mir alle in liebevoller Erinnerung bleiben.

Meinen Freunden Susanne Kehrlé, Felix Hiltwein, Barbara Hüsken und Alexandra Hampp und meinem Bruder Florian Hatzmann möchte ich ganz herzlich für den seelisch, moralischen Beistand in guten und schlechten Zeiten während der Anfertigung meiner Dissertation und das stets offene Ohr für Klagen, Sorgen, aber auch fröhliche Momente danken. Ich werde euch für immer dankbar sein.

Von ganzem Herzen möchte ich mich bei meinen Eltern für ihre liebevolle, ausdauernde und großzügige Unterstützung während der Zeit des Studiums und der Anfertigung der Dissertation bedanken. Mit viel Liebe haben sie mir jederzeit ermöglicht, meinen Lebensweg zu finden, diesen zu verfolgen und dabei selber auf Vieles verzichtet. Sie haben mir die Flügel gegeben, die ich brauchte um zu fliegen. Ich liebe euch. Danke, dass ihr immer an mich geglaubt habt.

Von ganzem Herzen möchte ich mich bei dem wichtigsten Menschen in meinem Leben, meinem Partner und besten Freund Andreas bedanken, der mir jederzeit durch alle Krisen während dieser Arbeit geholfen hat. Für seine liebevolle Unterstützung, seine unendliche Geduld, sein grenzenloses Verständnis in stressigen Zeiten, seine motivierende und aufbauende Art, sein großes Vertrauen in mich und meine Fähigkeiten und vor allem für seine Liebe und die Kraft, die ich daraus schöpfe, werde ich immer unendlich dankbar sein.