

Aus der Klinik für Pferde
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Vorstand: Prof. Dr. H. Gerhards

Arbeit angefertigt unter der Leitung von PD Dr. Bettina Wollanke

**Evaluierung von Stressparametern
beim Pferd
im Zusammenhang mit dem Klinikaufenthalt**

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

Von
Anna May
aus Hamburg

München 2007

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. E. P. Märtlbauer

Referent: Priv. Doz. Dr. Wollanke

Korreferent/en: Univ.-Prof. Dr. Erhard
Priv. Doz. Dr. Maierl
Univ.-Prof. Dr. Potschka
Univ.-Prof. Dr. Dr. h.c. Stolle

Tag der Promotion: 20. Juli 2007

Für meine Eltern

1	EINLEITUNG	4
2	LITERATUR	7
2.1	Das Phänomen Stress	7
2.1.1	Die Hypothalamo-Hypophysär-Adrenale Achse (HHA-Achse)	8
2.1.2	Stress beim Pferd	11
2.1.3	Stress und seine Bewältigung	11
2.1.4	Stress und das Immunsystem.....	14
2.2	Besondere Stresssituationen im Zusammenhang mit dem Klinikaufenthalt	16
2.2.1	Stress durch Transport.....	16
2.2.2	Stress durch körperliche Belastung.....	17
2.2.3	Stress durch individuelle Faktoren.....	18
2.2.4	Stress durch psychische Belastung	19
2.2.5	Intraoperativer Stress	21
2.2.6	Postoperative Komplikationen	23
2.3	Colitis X.....	24
2.4	Stressparameter beim Pferd.....	27
2.4.1	Klinische Parameter	28
2.4.1.1	Herzfrequenz.....	28
2.4.1.2	Körpertemperatur	29
2.4.2	IgA und andere Immunglobuline.....	29
2.4.3	Hämatokrit und Gesamteiweiß	31
2.4.4	Leukozyten und das Verhältnis neutrophiler Granulozyten zu Lymphozyten (N:L-Verhältnis)	33
2.4.5	Kortisol.....	35
2.4.6	Freie Radikale.....	38
2.4.6.1	Antioxidative Schutzsysteme.....	40
2.4.6.2	Oxidativer Stress	41
2.4.6.3	Radikalassozierte Erkrankungen beim Pferd.....	42
2.4.6.4	Nachweis der Freien Radikale	45
2.4.7	Glukose.....	46

2.4.8	Laktat.....	47
2.4.9	Unspezifische Immunabwehr und Paramunitätsinducer	48
2.4.9.1	Unspezifische Immunabwehr.....	48
2.4.9.2	Paramunitätsinducer	49
2.4.9.3	Zylexis®	50
2.5	Zusammenfassung der Literaturrecherche.....	51
3	MATERIAL UND METHODEN	54
3.1	Tiere	54
3.1.1	Kontrollgruppe.....	54
3.1.2	Patienten	54
3.1.3	Haltung und Pflege	55
3.1.4	Gesundheitszustand.....	56
3.2	Methoden	56
3.2.1	Klinische Untersuchung der Patienten.....	56
	Interpretation des Blutes und des Allgemeinbefindens der Pferde	56
3.2.2	Kotuntersuchung.....	58
3.2.2.1	Voruntersuchung/ Kotprobenentnahme zur Bestimmung des IgA-Gehalts	58
3.2.2.2	Entwicklung des ELISA zur IgA-Bestimmung im Kot.....	59
3.2.2.3	Kotentnahme bei den Patienten der Klinik für Pferde	60
3.2.2.4	Der Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA).....	60
3.2.3	Blutuntersuchung	62
3.2.3.1	Voruntersuchung.....	62
3.2.3.2	Testzeitpunkte	63
3.2.3.3	Handhabung der Blutproben.....	65
3.2.3.4	Versuchsablauf.....	65
3.2.3.5	Untersuchung des Blutbildes	66
3.2.3.6	Klinisch-chemische Untersuchungen des Blutes	67
3.3	Hypothesen.....	72
3.3.1	Arbeitshypothese der vorliegenden Arbeit.....	72
3.3.2	Nullhypothese der vorliegenden Arbeit	72

3.4	Statistische Analyse und Darstellung der Ergebnisse	72
4	ERGEBNISSE	74
4.1	Vorversuch.....	74
4.1.1	Kotprobenentnahme zur Bestimmung der IgA-Konzentration	74
4.1.1.1	Untersuchungen zu den verschiedenen Entnahmestellen.....	74
4.1.1.2	Einfluss der Einfrierperiode auf den IgA-Gehalt im Kot.....	74
4.1.1.3	Ermittlung eines Normwerts für die IgA-Konzentration im Kot von Pferden anhand der Werte der Kontrollgruppe.....	75
4.1.1.4	Durchführung des ELISA mit anderen Sekreten	75
4.1.2	Versuche zum zirkadianen Rhythmus der Kortisolkonzentration	76
4.1.3	Ergebnisse der Blut- und Kotwerte der Kontrollgruppe (n = 14).....	76
4.2	Hauptversuch.....	78
4.2.1	Klinische Parameter	78
4.2.2	Charakter der Pferde	84
4.2.3	IgA-Gehalt im Kot	84
4.2.4	Rotes Blutbild	90
4.2.5	Gesamteiweiß	91
4.2.6	Weißes Blutbild	91
4.2.6.1	Gesamtleukozyten	91
4.2.6.2	Differentialblutbild.....	93
4.2.7	Kortisol.....	100
4.2.8	Freie Sauerstoffradikale	104
4.2.9	Glukose.....	105
4.2.10	Laktat.....	109
4.2.11	pH-Wert, Blutgase und Farbe des Blutes	111
4.2.12	Zylexis®	111
5	DISKUSSION	115
5.1	Diskussion der Methode	115
5.1.1	Testzeitpunkte.....	115

5.1.2	Blutentnahme als möglicher Auslöser von Stress beim Pferd.....	116
5.1.3	Auswahl der Parameter	117
5.2	Diskussion der Ergebnisse	118
5.2.1	Klinische Parameter	118
5.2.2	Bestimmung von IgA im Kot	118
5.2.3	Hämatokrit und Gesamteiweiß	122
5.2.4	Weißes Blutbild	123
5.2.4.1	Gesamtleukozyten	123
5.2.4.2	Leukozytose	123
5.2.4.3	Verhältnis neutrophiler Granulozyten zu Lymphozyten (N:L-Verhältnis)	124
5.2.5	Bestimmung vom Kortisol-Gehalt im Serum.....	125
5.2.6	Bestimmung des oxidativen Stresses	127
5.2.7	Glukose als Stressparameter	128
5.2.8	Laktat-ein rein physischer Parameter?.....	130
5.2.9	Eigenschaften von Zylexis® und Paramunitätsinducern.....	132
5.2.10	Beantwortung der Haupt- und Detailfragen aus 1	133
5.2.10.1	Hauptfrage.....	133
5.2.10.2	Detailfragen.....	134
5.2.11	Schlussfolgerungen	138
5.2.12	Weiterführende Untersuchungen	139
6	ZUSAMMENFASSUNG	140
7	SUMMARY.....	143
8	LITERATURVERZEICHNIS	146
9	ANHANG.....	188

Abkürzungen: (Glossar und Verzeichnis der in Text und Abbildungen verwendeten Abkürzungen)

µg	Mikrogramm
Abb.	Abbildung
ACTH	Adrenokortikotropes Hormon
ad libitum	lateinisch: nach Belieben
Antigen	Ein Fremdstoff, der eine Immunantwort induziert
ATP	Adenosintriphosphat (Energieförderer bei zahlreichen Zellfunktionen)
BSA	Bovines Serumalbumin
CBG	Corticosteroid Binding Globulin (Bindungsprotein des Kortisols)
CRH	Corticotropin Releasing Hormon
dl.	Deziliter (100 ml)
DNA	Desoxyribonukleinsäure (Träger des genetischen Materials)
EDTA	Ethylen-Diamin-Tetra-Acetat
EGS	Equine Grass Sickness
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay (Enzym-gekoppelter Immunadsorptionstest)
ERU	Equine Rezidivierende Uveitis
et al.	et alii, lateinisch: und andere
Fa.	Firma
FR	Freie (Sauerstoff-) Radikale
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
GABA	Gamma-Amino-Buttersäure
GE	Gesamteiweiß
ggr.	geringgradig
hgr.	hochgradig
HHA	Hypothalamo-hypophysär-adrenal
Hkt	Hämatokrit
HVL	Hypophysenvorderlappen
IgA	Immunglobulin A
IBR	Infektiöse Bovine Rhinotracheitis
IL	Interleukin
intra	lateinisch: innerhalb, während

KFZ	Kapilläre Füllungszeit
LH	Luteotropes Hormon
LMU	Ludwig-Maximilians-Universität
MALT	Mucosa associated lymphoid tissue (Schleimhaut-assoziiertes lymphatisches Gewebe)
mg	Milligramm
mgr.	mittelgradig
Min.	Minute
ml	Milliliter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
n	Anzahl der Probanden
NADH	Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid (Elektronendonator, der Wasserstoff in die Atmungskette einschleust)
N:L	Verhältnis neutrophiler Granulozyten zu Lymphozyten
nm	Nanometer
nmol	Nanomol
NNR	Nebennierenrinde
OD ₄₅₀	optische Dichte (im Photometer bei einer Wellenlänge von 450 nm gemessen)
OP	Operation
PaCO ₂	Kohlendioxidpartialdruck
PaO ₂	Sauerstoffpartialdruck
peri	lateinisch: um, herum
pH	negativer dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionenkonzentration
POMC	Proopiomelanocortin
post	lateinisch: nach
prä	lateinisch: vor
PVN	Nucleus Paraventricularis
RAO	Recurrent Airway Obstruction
rpm	rounds per minute
s	Standardabweichung
SOD	Superoxiddismutase
STH	Somatotropes Hormon (Somatotropin, Wachstumshormon)
Tab.	Tabelle

TSH	Thyreotropin
U/Min.	Umdrehungen/Min.
V./v.	vena, lateinisch: Vene
vgl.	vergleiche
\bar{x}	Mittelwert

Stress ist ein gefährliches und nutzloses Wort. Es scheint nützlich zu sein, weil es ein Sammelbegriff ist, es sammelt aber unser Unwissen lieber als unser Wissen.

Zanchetti (1972)

1 Einleitung

Das Fluchttier Pferd ist in der heutigen Haltung in der Obhut des Menschen während seines Lebens verschiedenen Stressfaktoren ausgesetzt. Während bei einigen Pferden bereits kleine, ungewohnte Umstände im heimatlichen Stall zu Stress führen, bedarf es bei anderen Pferden etwas mehr, um das seelische und damit auch das körperliche Wohlbefinden zu beeinträchtigen. Spätestens in der Klinik wird klar, inwieweit die Pferdepatienten die ungewohnten Manipulationen und Belastungen unbeschadet wegstecken. Die erhöhte Belastung beginnt mit der Krankheit und dem unterschiedlich weiten Transport in die Klinik und setzt sich mit der Umstellung in eine fremde Haltungsumgebung mit unbekanntem Artgenossen, der Medikamenten-Einwirkung, der Narkose und der anschließenden Aufstiegsphase fort.

Nach den Operationen kommt es durch das möglicherweise geschwächte Immunsystem häufiger zu Stress-assoziierten Erkrankungen im Zusammenhang mit der Hospitalisierung, die einigen Pferden im Verlauf sogar das Leben kosten können. Zu den bei Pferden gefürchteten, durch Stress hervorgerufenen Krankheiten gehören beispielsweise Magenulzera, Enteritiden, sowie eitrige Pneumonien nach normalerweise harmlos verlaufenden Virusinfektionen. Eine besonders gefürchtete Erkrankung ist die so genannte Colitis X, die meist zwei bis drei Tage nach Stresssituationen auftritt (VAUGHAN 1973; WOLLANKE und GERHARDS 2003).

Ziel dieser Arbeit war es, herauszufinden, ob bei den Pferden der klinisch erkennbare Stress mit Veränderungen verschiedener messbarer Blutparameter einhergeht und inwieweit der Charakter der Pferde die Stressantwort beeinflussen kann. Darüber hinaus sollte überprüft werden, ob bestimmte Umstände oder Erkrankungen/Operationen zu besonderem Stress bei den Pferde-Patienten führen und ob es verlässliche Parameter gibt, durch die Stress mit relativ geringem materiellen und finanziellen Aufwand evaluiert werden kann. Dies wäre von großem Nutzen für die Durchführung elektiver Operationen, für die Erholung der Pferde in

der postoperativen Phase, sowie für eine schnelle und komplikationslose Genesung. Denn gegebenenfalls können rechtzeitig prophylaktische Maßnahmen ergriffen werden, wie z.B. das Verschieben einer Operation, die Verabreichung von Paramunitätsinducern oder weitere Maßnahmen nach einem Besitzergespräch. Manche Pferde profitieren in fremder Umgebung von Besuchen des Besitzers oder Bringen eines Stallgenossen.

Da die Evaluierung des Stresses bei Pferden ein Problem darstellt, sollten in der vorliegenden Arbeit zusätzlich weitere und bisher nicht untersuchte Parameter erfasst werden. Es sollten freie Sauerstoffradikale gemessen werden, um herauszufinden, welche Informationen sie über das Ausmaß von Stress beim hospitalisierten Pferd geben können. Um der Frage nach dem Entstehen der Colitis X weiter nachzugehen, sollte außerdem versucht werden, den IgA-Gehalt im Kot zu bestimmen, um festzustellen, ob der Stress und die daraufhin gemessenen Blutparameter mit einem Absinken dieser lokalen Immunglobuline einhergehen. Sollte der IgA-Gehalt im Kot nach Stresssituationen deutlich absinken, wäre dies eine Erklärung dafür, warum Stress die Pferde für Colitis X und andere Enteritiden prädisponiert.

Zuletzt sollte geprüft werden, ob die Verabreichung von Paramunitätsinducern den „Stressverlauf“ bei den in der Klinik eingestellten Pferden günstig beeinflussen kann.

Konkret sollte folgenden Fragen nachgegangen werden:

Hauptfrage:

Gibt es verlässliche klinische oder Labor-Parameter beim Pferd, mit deren Hilfe „Stress“ bei Pferden frühzeitig bestimmt und dadurch möglicherweise lebensbedrohliche Folgeerkrankungen verhindert oder abgemildert werden können?

Detailfragen:

*Geht der klinisch anhand der Allgemeinuntersuchung erkennbare Stress mit Veränderungen verschiedener messbarer Blutparameter einher?

*Gibt es bestimmte Erkrankungen bzw. Operationen, die zu besonderem Stress bei den Pferde-Patienten führen?

*Gibt es die Möglichkeit, gegebenenfalls rechtzeitig prophylaktische Maßnahmen zu ergreifen, um Folgeerkrankungen zu verhindern? Wenn ja, welche?

*Kann durch Paramunitätsinducer ein Abfall des lokalen Antikörperschutzes (IgA) im Darm nach der Operation verhindert werden?

*Geht kurzfristiger Stress auch mit einer Erhöhung der freien Radikale („oxidativem Stress“) einher?

*Gibt es einen Unterschied bei akuten oder chronischen Erkrankungen?

*Stimmt das Verhältnis neutrophiler Granulozyten zu Lymphozyten mit den Kortisolkonzentrationen überein?

*Reagieren „nervöse, sensible Charaktere“ empfindlicher auf den auf sie einwirkenden Stress?

2 Literatur

2.1 Das Phänomen Stress

Was ist eigentlich Stress?

Stress kann definiert werden als die Summe der nicht spezifischen biologischen Phänomene, die durch widrige äußere Einflüsse ausgelöst werden (DIETZ und HUSKAMP 1999). Abnorme oder extreme Reaktionen im physischen und/oder psychischen Bereich zur Anpassung oder Neutralisation dieser widrigen Einflüsse bedingen die Stresssituation. Einzelne Faktoren in diesem komplexen, medizinisch wichtigen Geschehen werden als Stressoren bezeichnet. Man unterteilt sie in **endogene** und **exogene Stressoren**. Als endogen werden beispielsweise Infektionen bezeichnet, die als innere Prozesse auf den Körper einwirken. Als exogen werden die den Organismus von außen beeinflussenden Gegebenheiten (z.B. Lärm, grelles Licht) bezeichnet. Über die Summe der Stressoren entwickelt sich dann Stress, wenn daraus unphysiologische und extreme Anforderungen resultieren.

Bei der Analyse des Phänomens Stress lassen sich verschiedene Ebenen für die Betrachtung differenzieren: die Stressoren selbst, die Unterschiede der individuellen Bedingungen und die eigentlichen Stressreaktionen (LADEWIG 1994).

Der Physiologe Claude Bernard erkannte 1878 als einer der ersten Wissenschaftler die Bedeutung eines relativ konstanten inneren Milieus für den Körper in einer sich ständig verändernden Umwelt. Er benutzte den Begriff „Homöostase“ noch nicht, doch erkannte er, dass der Körper ständig daran arbeitet, Körpertemperatur, Blutfluss und -druck, Energieverfügbarkeit, Sauerstoffkonzentrationen und andere lebenswichtige Funktionen möglichst konstant zu halten (CHROUSOS 1997).

Der amerikanische Physiologe Walter Cannon benutzte bereits den Begriff Homöostase, um die so genannte „flight or fight“-Theorie zu erklären (CANNON 1927; 1928; 1929). Er fand heraus, dass eine Bedrohung des Organismus zu einem erhöhten Adrenalinpiegel im venösen Blut der Nebenniere führt. Diese Theorie wird heute als sympatho-adrenerge Reaktion beschrieben und ist die Komponente der Stressantwort, die einem Menschen oder Tier ermöglicht, sofort auf einen Stressor zu reagieren, indem u.a. die Herz- und Lungentätigkeit verstärkt wird und eine vermehrte Freisetzung von Glukose und freien Fettsäuren erfolgt.

Durch die daraus resultierende gesteigerte Sauerstoff- und Energieversorgung der Skelettmuskulatur und des Gehirns mit gleichzeitiger Ableitung des Blutes von den nicht-essentiellen Organen, wird das Tier in die Lage versetzt, sich optimal gegen eine Gefahr verteidigen zu können (MARTINEZ et al. 1988).

Es war der ungarische Arzt Hans Selye, der den Begriff „Stress“ prägte und entdeckte, dass viele, nicht unmittelbar miteinander in Beziehung stehende Stimuli einen „Stresszustand“ in einem Lebewesen hervorrufen können und dass alle Stimuli über die Aktivierung der hypothalamo-hypophysär-adrenalen Achse (HHA) wirken (SELYE 1950; SELYE 1981).

Die HHA-Achse ist das bedeutendste, einen Stressor beantwortende System, daneben werden dazu noch die endogenen opioiden Peptide (Endorphine, Dynorphine und Enkephaline) sowie das sympatho-adrenomedulläre-System (Adrenalin und Noradrenalin) und andere Hypophysenhormone gezählt (AMIR et al.1980).

2.1.1 Die Hypothalamo-Hypophysär-Adrenale Achse (HHA-Achse)

Der Hypothalamus ist der basale Teil des Zwischenhirns, der zum Hirnstamm gehört.

Die Hypophyse ist über ihr Infundibulum sowohl morphologisch als auch funktionell mit dem Hypothalamus verbunden. Man kann sie in eine Neurohypophyse und Adenohypophyse unterteilen (NICKEL et al. 1992). Die Hormone der Neurohypophyse (Vasopressin und Oxytocin) werden im Hypothalamus gebildet und an die Neurohypophyse abgegeben, in der sie gespeichert, freigesetzt und über die Blutbahn an verschiedene Zielorgane abgegeben werden. Die Hormone der Adenohypophyse werden von spezialisierten Epithelzellen gebildet. Zu diesen zählen Somatotropin (STH) und Melanotropin als direkt wirkende Effektorhormone, sowie die indirekt wirkenden, so genannten glandotropen Hormone FSH (follikelstimulierendes Hormon), LH (luteotropes Hormon), Prolaktin, Thyreotropin (TSH) und ACTH (adrenokortikotropes Hormon, Corticotropin) (NICKEL et al.1992; MATTERI et al. 2000).

Das im Hypothalamus gebildete Corticotropin-Releasing Hormon (CRH) gilt als der wichtigste zentrale Regulator der endokrinen Belastungsreaktionen des Körpers, des Weiteren ist es als Modulator von Verhaltensweisen bekannt (DE WIED 1980). Zentrale Neurotransmitter regulieren die Sekretion von CRH: Noradrenalin und Gamma-Amino-

Buttersäure (GABA) hemmen die Freisetzung, Acetylcholin und 5-Hydroxytryptamin regen sie an (THUN und SCHWARZ-PORSCHKE 1994). CRH ist im gesamten zentralen Nervensystem nachzuweisen, wobei die höchsten Konzentrationen u.a. in den Kerngebieten des Hypothalamus (im Nucleus paraventricularis, PVN) anzutreffen sind. Aus dem PVN gelangt das CRH in das venöse Portalsystem des Hypophysenvorderlappens (HVL) und stimuliert dort die Sekretion von ACTH, β -Endorphin und anderen Proopiomelanocortin (POMC)-Derivaten. Eine Regulation der CRH-Ausschüttung bzw. Rückkopplung zu den übergeordneten Zentren erfolgt über die Glukokortikoidkonzentration im Plasma, wobei ein ansteigender Glukokortikoidspiegel über negative Feedbackmechanismen hemmend auf die CRH-Konzentration wirkt (THUN und SCHWARZ-PORSCHKE 1994; MATTERI et al. 2000).

Die Kortisolfreisetzung wird von ACTH, einem Hormon des HVL, gesteuert, das seinerseits der Kontrolle des hypophysären Releasinghormons CRH unterliegt.

Über das Kreislaufsystem gelangt ACTH zur Nebennierenrinde (NNR) und stimuliert dort die Sekretion der Glukokortikoide (SAPOLSKY et al. 1986). Kortisol wiederum inhibiert die Freisetzung von ACTH. Die Plasmakonzentration unterliegt tageszeitlichen Schwankungen mit den höchsten Werten am Morgen (THUN 1987; THUN und SCHWARZ-PORSCHKE 1994). Diese Rhythmik wurde auch beim Pferd gezeigt (ALEXANDER und IRVINE 1996). Auch Adrenalinfreisetzung scheint die ACTH-Sekretion zu stimulieren, dies ist bei der initialen Reaktion der HHA-Achse von Bedeutung. Des Weiteren erhöht die sympathische Aktivierung die Sensibilität der NNR gegenüber ACTH (CHARLTON 1990; DELBENDE et al. 1992).

Die Ausschüttung von Glukokortikoiden aus der NNR bildet bei physischer und psychischer Belastung des Organismus den letzten Schritt einer neuroendokrinen Kaskade, die im Hypothalamus angefangen hat (ALLEN et al. 1973; CHASTAIN et al. 1986). Bei dieser Reaktion ist ACTH der wichtigste physiologische Regulator der Nebennierenrindenfunktion und der Ausschüttung von Glukokortikoiden aus der Zona fasciculata (mittlerer Rindenabschnitt der Nebenniere). Die Freisetzung von ACTH ist deshalb als die signifikanteste und konsistenteste Antwort des Körpers auf Stress anzusehen (HARBUSZ und LIGHTMAN 1992; DONALD et al. 1995; ALEXANDER und IRVINE 1998; SAPOLSKY 1999). Es bedingt in der peripheren Zirkulation eine Freisetzung von Glukokortikoiden aus der Nebennierenrinde (ROOZEN und MAGNUSSON 1996). Diese wiederum erhöhen die

verfügbare Glukose im Körper, indem sie Protein, Glykogen und Fett abbauen (BIRBAUMER und SCHMIDT 1991).

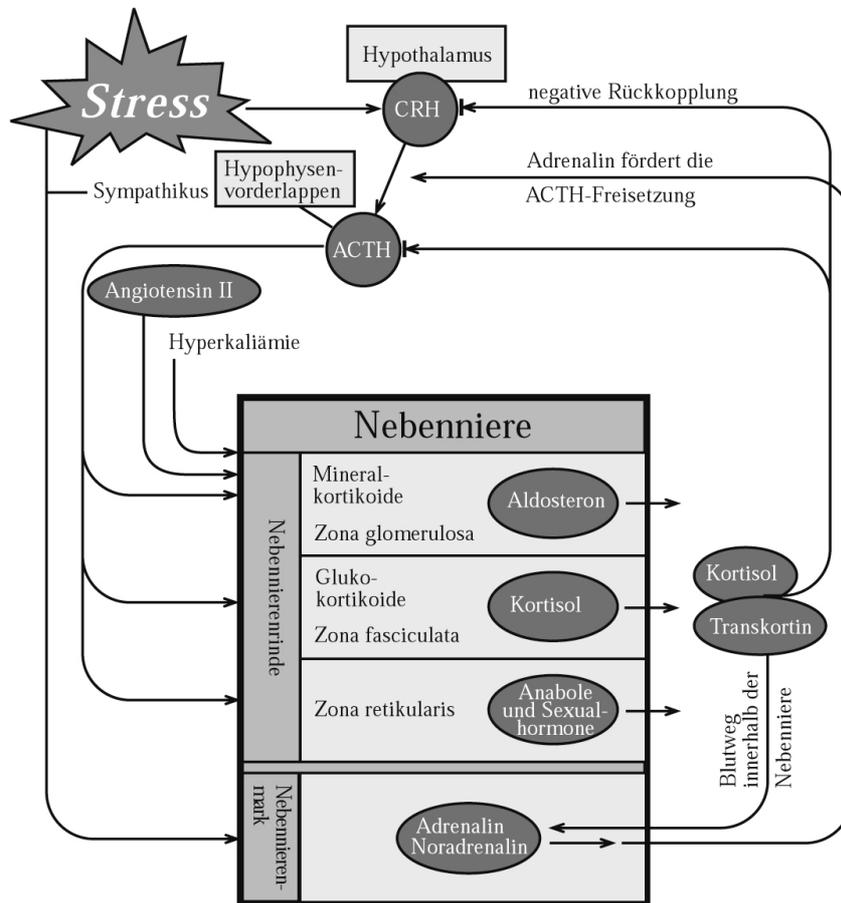


Abb. 2.1 Stress führt zu einer Freisetzung von CRH, das wiederum zu einer gesteigerten Sekretion von ACTH führt. Die Glukokortikoide (z.B. Kortisol) unterliegen der Kontrolle von ACTH und werden bei Bedarf aus der Nebennierenrinde freigesetzt. Sie erhöhen die Glukosekonzentration, indem sie Protein, Glykogen und Fett abbauen.

Modifiziert nach KLINKE und SILBERNAGL (2001)

Da die NNR keine großen Glukokortikoidmengen speichern kann, reagiert sie bei erhöhtem Bedarf mit vermehrter Biosynthese (THUN und SCHWARZ-PORSCHKE 1994). Weil Glukokortikoide in der Lage sind, das Nebennierenmark zu erhöhter Produktion und Sezernierung von Katecholaminen (v.a. Adrenalin) in den Kreislauf zu stimulieren, kommt es auf der Ebene der Nebennieren zu einer gegenseitigen positiven Beeinflussung der sympathischen und kortikoiden Belastungsantwort (VOIGT 1995).

In Belastungssituationen kann es über die Aktivierung der HHA-Achse zu einer gesteigerten Kortisolsekretion und damit zu einem Aussetzen der biologischen Rhythmik kommen (ALEXANDER und IRVINE 1998). Hierbei wird Kortisol auch in diesen Situationen in kurzen und raschen Schüben sezerniert. Eine zuverlässige Aussage über die Aktivität der NNR in Ruhe- und in Belastungssituationen ist daher nur mittels belastungsarmer und wiederholter oder kontinuierlicher Blutentnahme möglich (THUN 1987; LADEWIG 1994).

Die HHA-Antwort, die meist nicht mit einer sofortigen Flucht- oder Angriffsreaktion verbunden ist, kann für eine lange Zeitperiode aufrechterhalten werden und kann dadurch zerstörerische Effekte auf den Körper ausüben (BATEMAN et al.1989).

2.1.2 Stress beim Pferd

Das Pferd als „geborenes“ Fluchttier zählt von Natur aus zu den stressanfälligen Tieren.

McCLURE und Mitarbeiter (2005) belegten in einer Studie, dass sogar die vom Pferdehalter als normal angesehenen Aktivitäten wie kurze Transporte, fremde Einstallung und leichte Arbeit in einer unbekanntem Umgebung bei Pferden zu vermehrtem Stress und damit zu einer erhöhten Inzidenz von Magenulzera führen.

Das Pferd kann mit zwei Reaktionsmustern auf akuten Stress reagieren. Die erste Form ist die oben genannte „fight or flight“-Reaktion, in deren Folge eine Aktivierung des sympathischen Systems mit einer Freisetzung von Katecholaminen zu verzeichnen ist. Die zweite Form ist die Wachsamkeitsreaktion mit einer Aktivierung der Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse und einer Freisetzung von Hormonen der Nebennierenrinde, vor allem ACTH (ALEXANDER und IRVINE 1998).

2.1.3 Stress und seine Bewältigung

Es fällt in diesem Zusammenhang besonders auf, dass Stress in der Literatur vorwiegend im negativen Sinne als schädliche Einwirkung und als krankhafte Reaktion des Organismus gedeutet wurde. Dies entspricht jedoch nicht den ursprünglichen Vorstellungen von SELYE, der zwischen einem „**Eustress**“, das heißt, einer normalen Abweichung von der Homöostase und deren Regulierung, und einem „**Disstress**“ unterschied. Bei dem letzteren handelt es sich um einen Zustand, bei dem der Körper ausgeprägt reagieren muss, um wieder den stabilen

Ausgangsstatus zu erreichen, da die Reize als unangenehm, bedrohlich oder überfordernd gewertet werden (SELYE 1950; SELYE 1956).

SELYE (1936) verstand unter Stress die „unspezifische Reaktion des Organismus auf jede Form von Anforderung“. Die unspezifische Anpassungsreaktion, der meist noch spezifische Reaktionen folgen, weist nach SELYE einen dreiphasigen Verlauf auf: erstens die Alarmreaktion, zweitens das Widerstandsstadium und drittens das Erschöpfungsstadium, in dem die Regulationsmechanismen wieder auf ihren normalen Gleichgewichtszustand zurückkehren. Dieser physische Verlauf stellt eine gesunde Anpassungsreaktion dar, die bei wiederholtem Auftreten die Leistungs- und Anpassungsfähigkeit des Organismus erhöht. Dies schließt nicht aus, dass unter bestimmten Bedingungen auch pathologische Ausprägungen der Stressreaktion auftreten können. Aus diesem Grunde unterschied SELYE zwischen „Disstress“ und „Eustress“. Letzterer wird als angenehm empfunden, treibt den Körper aber trotzdem in unphysiologische Bereiche (SELYE 1936). Der Stressor ist in diesem Fall zwar belastend, weil er zu plötzlich oder zu intensiv auftritt, befähigt den Körper jedoch zu einer Adaptationsreaktion (FINDEISEN und PICKENHAIN 1990).

Stress (ob Stressor, Stressreaktion oder ihre Interaktion) ist in diesem Sinne also nicht immer negativ zu sehen. Ohne eine gewisse Menge an Stress wird das Leben für Mensch und Tier langweilig (KAISER et al. 2006). Außerdem sind die darauf folgenden Körperreaktionen für das Überleben des Organismus unbedingt notwendig, da man z.B. bei Menschen festgestellt hat, dass wiederholter Stress häufig zu positiven Emotionen (beispielsweise Bewältigungsgefühlen) führt, Angst reduziert und gegen psychische und physische Erkrankungen „immunisiert“ (BIRBAUMER und SCHMIDT 1991).

Wie ein Tier seine Umwelt erlebt, ist für den Menschen derzeit nicht wirklich nachvollziehbar. In der angewandten Ethologie können objektiv erhobene ethologische und physiologische Daten jedoch Anhaltspunkte dafür liefern, auf welche Art und Weise ein Tier seine Umwelt verarbeitet (DANTZER und MORMEDE 1983; ÖDBERG 1989; DANTZER 1991). Eine zentrale Rolle bei den gegenwärtigen Diskussionen zum Tierschutz spielen neben ethologischen Untersuchungen vor allem auch die Nachweise endokriner Stressreaktionen (LADEWIG 1994). Daraus folgt, dass die Beurteilung einer möglichen Stresssituation nur unter Beachtung mehrerer Kriterien durchgeführt werden kann.

„Extraindividuelle Ereignisse“, die zu Stressreaktionen führen, können sowohl nach qualitativen als auch nach quantitativen Kriterien eingeteilt werden. Qualitative Stressoren sind durch physikalische Eigenschaften (thermisch, chemisch, elektrisch etc.) gekennzeichnet oder die „Gesamtsituation“ betreffend (z.B. Immobilisation und soziale Isolation). Hinsichtlich quantitativer Kriterien sind die Stressoren nach der Intensität (z.B. in Grad etc.), der Dauer (akut, chronisch, chronisch intermittierend) und ihrer Einwirkung zu begutachten. Zum einen ist diese Unterteilung zur Beurteilung des Stressreizes sinnvoll und notwendig, da die jeweiligen Stressreaktionen davon abhängen (SELYE 1950; MYRTEK und SPITAL 1986). Andererseits beinhaltet sie auch Schwierigkeiten, da sowohl mehrere qualitative Faktoren gleichzeitig auftreten, als auch unterschiedliche Stressoren die gleiche Reaktion hervorrufen können. Im Vergleich zu Angaben über die Stressorqualität sind nach LADEWIG (1994) solche über die Dauer eines Stressors für die induzierten Stressreaktionen von größerer Bedeutung, da z.B. ein Schaf auf einen milden Elektroschock erheblich intensiver reagiert, wenn es sozial isoliert ist, als wenn es in einer sozialen Gruppe gehalten wird. Entsprechend wird in den meisten Untersuchungen zwischen akutem und chronischem Stress unterschieden, obwohl die Grenze zwischen den beiden Kategorien nicht eindeutig zu definieren ist (HARBUSZ und LIGHTMAN 1992).

Aus der Praxis wie aus der Grundlagenforschung ist bekannt, dass Tiere auf Belastungen mit unterschiedlichem Verhalten reagieren (BROSSHOT et al. 1992; JENSEN 1996; BACHMANN 2003). Allerdings sind die Untersuchungsmethoden in der Regel wenig objektiv und führen oft zu widersprüchlichen Ergebnissen, weil individuelle Unterschiede sowohl von der genetisch bedingten Prädisposition als auch von früher im Leben erworbenen Erfahrungen bestimmt werden (STEPHENS 1980). In Untersuchungen an Ratten wurde beispielsweise gezeigt, dass ein frühes „handling“ zu einer dauerhaften Erhöhung der Anzahl der Glukokortikoidrezeptoren im Hippocampus führt, die den Effekt zirkulierender Kortikosteroide im negativen Feedback verstärkt. Die Wirkung dieser Rezeptorzunahme besteht darin, dass später die NNR-Reaktion auf akute Stressoren geringer ausfällt als bei Ratten, die in der neonatalen Periode keinem Stressor ausgesetzt waren (MEANEY et al. 1989).

Zudem können bestimmte physiologische Zustände eines Tieres (z.B. Trächtigkeit) das Stressempfinden beeinflussen, wenn nicht kognitiv, dann auf der Basis von physiologischen

Disstress-Parametern (HICKS et al. 1998; KOMESAROFF 1998). Dies bedeutet ein gravierendes Problem bei der Evaluierung von Stressparametern.

Eine eindeutige physiologische Unterscheidung zwischen den verschiedenen Stresszuständen ist demnach kaum möglich. Aus diesen Gründen ist es schwierig festzustellen, ob die Menge an Stressfaktoren, die auf ein Tier einwirken, exzessiv ist und deshalb die Produktion oder das Wohlbefinden beeinflussen kann (ODBERG 1987; DANTZER 1991).

2.1.4 Stress und das Immunsystem

Seit langer Zeit ist bekannt, dass die Komponenten der HHA-Achse einen zerstörerischen Effekt auf die Immunfunktion haben können. Die Forschung in diesem Bereich wurde vorangetrieben, nachdem man beobachtete, dass Menschen in Stresssituationen häufiger krank wurden (CROISET et al. 1987; ÖDBERG 1989; ALEXANDER und IRVINE 1998). Bei Tieren wurden Stressoren wie Transport oder Handling mit Krankheiten assoziiert; das bekannteste Beispiel hierfür ist wohl das „Shipping Fever“ bei Rindern und Pferden.

Die negativen Effekte der Glukokortikoide auf Makrophagen, periphere mononukleäre Zellen, neutrophile Granulozyten, natürliche Killerzellen und fast alle Komponenten des Immunsystems sind bekannt (COMSA et al. 1982; CALABRESE et al. 1987; GRIFFIN 1989; KHANSARI et al. 1990; MAES et al. 1999; MOBERG 2000; ENGLER et al. 2004). Sie hemmen die Zytokin-Synthese und blockieren damit weitere Schritte der Immunabwehr.

Kortisol verursacht eine drastische Unterdrückung des Aufbaus und der Aktivität des lymphatischen Gewebes. Die Lymphozyten und die eosinophilen Granulozyten des Blutes werden vermindert (SAUER et al. 1995; COHEN et al. 1997). Auch die Produktion von Antikörpern wird reduziert. Damit wird die allgemeine Infektabwehr geschwächt (BIRBAUMER und SCHMIDT 1991). Wir wissen heute außerdem, dass die immungeprägten Lymphozyten Membranrezeptoren für Kortisol besitzen und hohe Kortisolkonzentrationen zur Unterdrückung der Funktionen des Immunsystems führen können (BESEDOVSKY und DEL REY 1989a, 1989b; BESEDOVSKI et al. 1989a, 1989b).

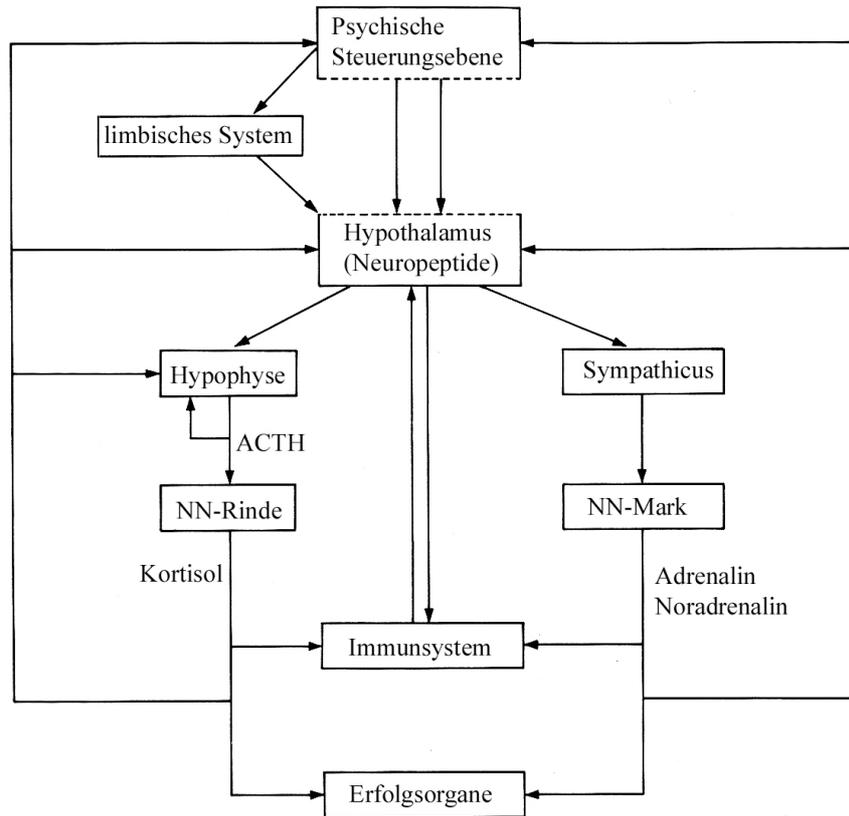


Abb. 2.2: Zusammenhänge zwischen der Psyche, der Ausschüttung von Kortisol aus der Nebennierenrinde bzw. Adrenalin und Noradrenalin aus dem Nebennierenmark und dem Immunsystem.

Modifiziert nach FINDEISEN und PICKENHAIN (1990)

BESEDOVSKI und Mitarbeiter (1985; 1986) entdeckten eine enge Beziehung zwischen dem Immunsystem und der HHA-Achse. Dies führte zu der Erkenntnis, dass die zwei Systeme über eine negative Rückkoppelungs-Schleife miteinander verbunden sind, um das Immunsystem zu kontrollieren. Wenn das Tier also mit einem Pathogen in Berührung kommt und Makrophagen aktiviert werden, setzen sie ein Zytokin (Interleukin-1) frei, das die Freisetzung von CRH aus dem Hypothalamus bewirkt und damit zu einer Erhöhung des Glukokortikoidspiegels führt, welcher wiederum regulierend auf die Makrophagen einwirkt, um das Immunsystem in Schach zu halten. BESEDOVSKI und Mitarbeiter (1989) fanden außerdem heraus, dass neben IL-1 auch IL-6 und der Tumor-Nekrose-Faktor eine Stimulation der HHA bewirken. Diese proinflammatorischen Zytokine verändern Verhalten und Stimmung, was sich beispielsweise in Müdigkeit, verringertem Appetit und mangelndem Interesse für normale Aktivitäten zeigt. Dieses sind typische Charakteristika für kranke Individuen (MOBERG 1985).

2.2 Besondere Stresssituationen im Zusammenhang mit dem Klinikaufenthalt

Während des Klinikaufenthalts wirken verschiedene Stresssituationen auf die Pferde ein. Dazu gehören der Transport in die Klinik, die psychischen Belastungen bei Einstallung in die fremde Umgebung sowie die Einwirkungen der Allgemeinanästhesie, der Operation und der verabreichten Medikamente.

2.2.1 Stress durch Transport

Stress wird als Ursache für Immunsuppression vermutet, die in einer erhöhten Empfänglichkeit für Krankheiten resultieren kann (WONG et al. 1992). Gerade beim Transport ist diese Problematik als „Shipping Fever“ bekannt. Pferde und Rinder tragen nach Transportstress und der Exposition von anderen Faktoren wie Staub, Zugluft, Überhitzung/Unterkühlung, Abgase und falscher Körperhaltung oft Infektionen des Atmungstraktes davon (ANDERSON et al. 1985; LEADON et al. 1990; RACKLYEFT 1991; SMITH et al. 1996). JAKAB (1974) fand heraus, dass dabei virale Infektionen des Respirationstraktes Mäuse und andere Spezies für bakterielle Pneumonien prädisponieren. Transportstress führte in Studien zu einer Verringerung der Anzahl der pulmonären Alveolar-Makrophagen von Rindern (ANDERSON et al. 1985).

Nach dem Transport war in verschiedenen Untersuchungen die Anzahl der peripheren Blutleukozyten und der Neutrophilen erhöht (LEADON et al. 1990; YAMUACHI et al. 1993) und bei Pferden zeigte sich eine erhöhte rektale Temperatur (RAIDAL 1997).

LINDEN und Mitarbeiter (1991) deuteten erhöhte Plasma-Kortisol-Werte bei den transportierten Pferden als Anzeichen für Stress.

Verschiedene Studien belegen, dass die Körperhaltung der transportierten Pferde entscheidend dafür ist, in welchem Maß das Pferd Stress ausgesetzt ist. Auf beiden Seiten angebundene Pferde zeigten nach 24 Stunden Transport signifikant höhere Stressparameter (Herz- und Atemfrequenz, Kortisol) als Pferde, die frei auf dem Hänger transportiert wurden (STULL und RODIEK 2002). Pferde nehmen oft eine unnatürlich hohe Kopfhaltung an, um in einem sich bewegenden Fahrzeug die Balance zu halten (CLARK et al. 1993; WARAN 1993).

FRIEND und Mitarbeiter (1998) transportierten 30 gesunde Pferde unangebunden in einem LKW und stellten dabei keinen physiologischen Parameter fest, der besonderen Stress oder kritische Situationen bei den so transportierten Pferden anzeigte.

Bei Pferden, die beim Transport auf beiden Seiten angebunden sind und nicht die Möglichkeit haben, ihren Kopf frei zu bewegen, wurde nachgewiesen, dass es zu einer Depression des Immunsystems kommt (RAIDAL et al. 1995; RAIDAL 1996).

Während des Transports sind die Pferde in den nicht-klimatisierten Anhängern auch häufig Umgebungs-Bedingungen ausgesetzt, die sich außerhalb ihrer thermoneutralen Reichweite bewegen. In diesem Zusammenhang ist besonders der Pferdetransport in einem geschlossenen Pferdetransporter bei hohen Umgebungstemperaturen zu erwähnen. Untersuchungen über die physiologische Antwort auf thermalen Stress beziehen oft die Erhöhung der Glukokortikoid-Antwort mit ein (COLLINS und WEINER 1968; CHRISTISON und JOHNSON 1972; INGRAM und KACIUBA-USCILKO 1980; GOULD und SIEGEL 1985; McGLONE et al. 1987; MORROW-TESCH et al. 1994; ZULKIFLI et al. 1994; ISHIZAKI und KARIYA 1999).

Andere Blutparameter werden durch thermischen Stress dagegen weniger beeinflusst. HICKS und Mitarbeiter (1998) setzten Absatz-Ferkel extremer Hitze und Kälte aus und fanden heraus, dass weder Hitze- noch Kälte-Stress einen Einfluss auf Leukozyten-Zahlen, Hämatokrit oder Hämoglobin hatten.

2.2.2 Stress durch körperliche Belastung

Bei Pferden werden Sporeinsätze oder andere physische Verausgabungen für mikrobielle Infektionen, insbesondere des Respirationstraktes, verantwortlich gemacht (OWEN 1975; OWEN et al. 1983; ANDERSON et al. 1985). WONG und Mitarbeiter (1992) fanden heraus, dass intensives Training einen zerstörerischen Effekt auf Alveolarmakrophagen und ihre Rolle in der Verteidigung der Bronchien bzw. Lunge hat.

Bei dem Versuch, Rennpferde auf dem Laufband jeweils bis zu ihrem individuellen Limit zu bewegen, zeigte sich durch einen Anstieg des Verhältnisses der neutrophilen Granulozyten zu Lymphozyten (N:L-Verhältnis) und des Serum-Kortisol-Gehalts, dass die Pferde Stress ausgesetzt waren (WONG et al. 1992). Diese Beziehung zwischen N:L-Verhältnis und

Kortisolkonzentration war ähnlich zu dem von ROSSDALE und Mitarbeitern (1982) ermittelten.

Zwei stress-aktivierte Systeme, das autonome Nervensystem und die HHA-Achse, werden durch körperliche Belastung verändert (GALBO 1986). Die Aktivität dieser beiden Systeme zeigt sich durch Anstiege der Plasma-Konzentrationen von ACTH, Kortisol, Adrenalin und Noradrenalin. Die endokrinen Antworten von Pferden auf Belastung wurden bereits vielfach untersucht (SNOW et al. 1983; THORNTON 1985; JIMENEZ et al. 1998; HADA et al. 2003).

Die Messung der Lymphozytenfunktionen durch die Beurteilung der Blastogenese wurde schon oft genutzt, um die Zell-mediierte Immunantwort auf Stress zu untersuchen. Lymphozyten reagieren sehr sensibel auf Faktoren wie Kortikosteroid- und Prostaglandin-Ausschüttung, die durch Stress verursachende Ereignisse ausgelöst werden können (SINGH et al. 1994; PEDERSEN et al. 1997). WONG und Mitarbeiter (1992) fanden heraus, dass die Lymphozyten-Funktion bei Pferden nicht durch intensives Training verändert wird. Außerdem hatte das intensive Training keinen Effekt auf Serum- IgG-, IgM- und IgA-Level. Pferde, die einer einzigen, intensiven Belastung ausgesetzt waren, reagierten mit erhöhter Stress-assoziiierter Hormonproduktion und signifikanten Veränderungen in der Zell-mediierten Immunantwort. Dies beinhaltete die Unterdrückung der proliferativen Antwort auf Equine Influenza-Virus-Antigene und erhöhte Kapazität, Lymphokin-aktivierte Killerzellen zu generieren (KEADLE et al. 1993). Der Schweregrad dieser Veränderungen hing von der Intensität der Belastung und des vorbereitenden Trainings ab.

2.2.3 Stress durch individuelle Faktoren

Über den Einfluss der individuellen psychischen Faktoren auf die Stressantwort ist beim Pferd noch nicht viel bekannt.

Auch die Rolle, die das Alter für das Immunsystem spielt, ist noch nicht völlig geklärt (RALSTON 1988; WOLF et al. 1994). Immunfunktionen nehmen mit steigendem Alter ab, so dass das Risiko einer Infektion, der Tumorentwicklung und von Autoimmunkrankheiten steigt (HIROKAWA 1997). Bei Studien an Pferden wird das Altern beispielsweise mit einer verminderten Fähigkeit, auf kommerzielle Influenza-Vakzine zu reagieren, in Verbindung

gebracht (GOTO et al. 1993). Altersbedingte Veränderungen in der Immunkompetenz können durch Stressoren noch verstärkt werden (FIATARONE et al 1989; GRAZZI et al. 1993; MAZZEO 1994; SHEPHARD und SHEK 1995; RINCON et al. 1996; KANNO et al. 1997).

Es bestehen signifikante Unterschiede hinsichtlich der Kortisol-Produktion als Antwort auf Belastungen bei alten und jungen Pferden. Jüngere Pferde produzierten größere Mengen an Kortisol bei ebenfalls im Vergleich mit älteren Pferden höheren Herzfrequenzen (HOROHOV et al 1999). Die Produktion und Sekretion von Kortisol sinkt mit dem Alter, da die Menge der Kortikosteroid-Rezeptoren im Feed-Back-Zentrum des Hippocampus bei älteren Tieren abnimmt (SAPOLSKI et al. 1986). Im Gegensatz zu älteren Tieren anderer Spezies hatten ältere Pferde aber weder erhöhte basale Plasma-Kortisol-Konzentrationen noch eine größere Kortisol-Antwort auf Belastung als jüngere Pferde (HOROHOV et al. 1999).

2.2.4 Stress durch psychische Belastung

Es ist unklar, welche Menge an physischem Stress ein Tier in den Distress treibt. Hitze, Zugluft, ungeeignete Aufstallung (zu klein, ungeeignete Aufteilung) und auch der Untergrund sowie die Fütterung stellen Faktoren dar, die zu Stress beitragen können. Die psychische Stress-Komponente ist beim Pferd insgesamt noch relativ wenig erforscht (MOBERG 1985; LADEWIG 1994).

Während eines Klinikaufenthalts ist das Pferd verschiedenen psychischen Stressfaktoren ausgesetzt, wie beispielsweise fremden Artgenossen, der vorübergehende Verlust der Bezugsperson und der vertrauten Umgebung.

Bei den in der Klinik nötigen Prozeduren wird bei den Pferden unterschiedlich viel Stress hervorgerufen. So ist beispielsweise das ganz normale Aufhalftern und „Handling“ für einen Jährling, der kaum Kontakt zu Menschen hat, Stress und wird mit einem Anstieg an Kortisol, Herzfrequenz, Atemfrequenz und Abwehrbewegungen beantwortet.

Eine einmal als Angst erlebte Situation kann permanente physiologische Veränderungen bewirken. Eine Studie mit Ratten belegte, dass Glukokortikoide die Tendenz der Tiere erhöhten, einen Stimulus mit einer Angst-Situation zu assoziieren, und damit die Langzeit-Angst-Reaktion zu einem aversiven Stimulus bestärkten (CORDERO und SANDI 1998).

Andere Untersuchungen zeigten, dass die HHA-Achse gegen chronische Stressoren resistent werden kann, aber trotzdem wieder von Neuem reagiert, wenn ein akuter, unbekannter Stressor auf sie einwirkt (KVETNANSKY et al. 1984; JENSEN et al. 1996).

Direktes physisches Handling ist jedoch nicht allein für psychologischen Stress verantwortlich. Situationen, in denen die Komfort-Zone (oder „Flucht-Zone“) eines Tieres betreten wird, führen ebenfalls zu einer Erhöhung der Herz-Frequenz, von Kortisol und der Fluchtantwort. Pferde formen in der Regel eine Rangordnung. Wenn dies nicht ermöglicht wird, wie beispielsweise durch Aufstallung in Boxen, die keinen direkten Kontakt ermöglichen, kann die ungeklärte Aggression ebenfalls zu Disstress führen.

Studien an Menschen und Nagern belegten, dass psychologischer Stress im Vergleich mit physiologischem Stress der potentere Stressor ist (DANTZER 1996).

MAES und Mitarbeiter (1999) fanden bei der Untersuchung von Studenten in Prüfungssituationen heraus, dass psychologischer Stress in engem Zusammenhang mit einer verminderten Immunantwort steht. Trotzdem werden die negativen Effekte auf die Immunfunktion oft überinterpretiert und vereinfacht, denn die Effekte von Stress sind ziemlich komplex und beinhalten neben Immunsuppression auch Aktivierung des Immunsystems (DANTZER 1995). In der Studie von MAES und Mitarbeitern (1999) wurde deutlich, dass Studenten, die bei Prüfungsstress eine starke psychologische Reaktion zeigten, auch Anzeichen einer Immunaktivierung hatten. Die wichtigsten Veränderungen bei den Blutparametern waren dabei ein Anstieg der Leukozyten. Im Gegensatz dazu zeigten Studenten ohne psychologische Reaktion auf den Prüfungsstress auch keine deutlichen Veränderungen in den Leukozyten-Fractionen.

Es war zudem aufschlussreich, dass die stressinduzierten Veränderungen bei manchen Immunindikatoren (z.B. den Lymphozyten) nicht durch eine baldige Rückkehr auf den Level vor der Stresseinwirkung gefolgt wurden, während andere Variable sich wieder normalisierten (z.B. die Anzahl der Monozyten) oder zumindest einen Trend in Richtung der Normalisierung zeigten (z.B. die neutrophilen Granulozyten). Diese Resultate belegen, dass keine rapide Normalisierung der stressinduzierten Veränderungen nach Beendigung der psychologischen Stressoren stattfindet (MAES et al. 1999).

2.2.5 Intraoperativer Stress

Stress, der durch eine Allgemeinanästhesie verursacht ist, wird dem physischen Stresstyp zugerechnet. Die Aufwachphase dahingegen bedingt bei Pferden eher psychischen Stress (HALL und CLARKE 1991).

Obwohl es oft schwierig ist, die Stresstypen zu differenzieren, kann man sagen, dass mentaler Stress mit der Freisetzung von Adrenalin aus dem Nebennierenmark und Kortisol aus der Nebennierenrinde einhergeht, während kurzfristiger physischer Stress das sympathische Nervensystem aktiviert und zur Freisetzung von Noradrenalin führt (MUIR 1990).

Die gegensätzlichen Effekte von Adrenalin, Kortisol und Noradrenalin vergrößern die Komplexität der Stressantwort. Adrenalin und Kortisol erhöhen die verfügbaren Körpersubstrate durch Glykogenolyse und Glukoneogenese.

Das sympathische Nervensystem hingegen hat einen größeren Effekt auf das kardiovaskuläre System, was zu Veränderungen in Hämodynamik, Blutfluss und zu Milzkontraktionen führt. Noradrenalin senkt außerdem die Insulinausschüttung und damit auch die Glukoseverfügbarkeit (MUIR 1990).

Das Pferd, auch aufgrund der Lagerung und Patientengröße, ist besonders anfällig für Komplikationen während der Narkose, die für die Verursachung von Stress verantwortlich sein können. Komplikationen treten bei 0,9 Prozent der in Narkose verbrachten Pferde auf (MUIR 1990b; WOLLANKE und GERHARDS 2004). Im Vergleich dazu sind es beim Kleintier lediglich 0,1 Prozent (WOLLANKE und GERHARDS 2004) und beim Menschen nur noch 0,01 Prozent (JOHNSTON et al. 1995).

Eines der Hauptprobleme während der Narkose stellt für das Pferd die arterielle **Hypoxämie** dar (pO_2 unter 80 mmHg). Die meisten Narkosezwischenfälle beim Pferd ereignen sich aufgrund von Hypoxien (SCHATZMANN 1995). Diese treten bei Pferden auch bei assistierter Atmung auf, da diese in Rücken- oder Seitenlage regelmäßig Atelektasen und starke Veränderungen der Ventilation aufweisen (NYMAN und HEDENSTIERNA 1989; MUIR 1991; MUIR und HUBBELL 1991). Durch das hohe Gewicht der inneren Organe wird die Lunge besonders bei der Lagerung auf dem Rücken stark komprimiert, so dass das Blut, welches durch die Lunge fließt, nicht mehr vollständig oxygeniert werden kann (TAYLOR und CLARKE 2003). Trotzdem gibt es keine Anhaltspunkte dafür, dass diese Tatsache zu der

im Verhältnis höheren Mortalität bei dieser Spezies beiträgt (JOHNSTON 1995a; JOHNSTON et al 1995b).

Das Pferd ist an Hypoxie während der Bewegung gut angepasst und kann möglicherweise niedrige Sauerstoffwerte besser als andere Spezies ertragen (ART und LEKEUX 1995).

TAYLOR (1998) fand heraus, dass sich der Hämatokrit bei den Pferden, die ein Stadium der Hypoxie durchliefen, erhöhte. Dies sei möglicherweise eine Antwort auf die erhöhte sympathische Aktivität. Des Weiteren kam es zu einer deutlichen Erhöhung der Glukose- und Laktat-Konzentration im Blut, während Plasma-Kortisol sowohl bei der nicht-hypoxischen als auch bei der hypoxischen Gruppe nach der Anästhesie deutlich erhöht war (TAYLOR 1987).

Wenn die Sauerstoff-Versorgung im Gewebe nicht mehr ausreicht, geht der Körper auf den anaeroben Stoffwechsel über. Gewebe unterscheiden sich in ihrer Fähigkeit, anaerobe Glykolyse als Energiequelle zu nutzen, und besonders die Gehirnrinde und das Myokard sind anfällig für Hypoxien (SCHATZMANN 1995). Die Erhöhung der Laktat-Konzentration ist Folge von einer Zunahme des anaeroben Stoffwechsels.

Die höhere Glukosekonzentration der hypoxischen Gruppe im Vergleich zur normoxischen Gruppe war ein Zeichen für die vermehrte sympathische Aktivität und für eine stärkere Stress-Antwort.

TAYLOR (1998) fand keine Unterschiede in der Erholungsphase und dem post-operativen Allgemeinzustand zwischen den hypoxischen und normoxischen Gruppen. Dies widerspricht teilweise den Versuchen von STEFFEY und Mitarbeitern (1992a; 1992b), die über eine etwa 24-stündige Benommenheit nach verlängerter Anästhesie mit Hypoxiephase berichteten.

Sauerstoff ist lebensnotwendig und daher zählt die Hypoxie zu den Stressoren, die sowohl das adreno-medulläre System als auch das HHA-System anregen (BLOOM et al. 1976; TAYLOR 1999).

GANN und LILLY (1983) sowie KEHLET (1984) mutmaßten, dass Hypoxie einen zusätzlichen Stimulus für die metabolische Stressantwort des Körpers auf Anästhesie und Operation darstellt und diese Antwort verstärkt. Sie stellten fest, dass Hypoxie während der Anästhesie möglicherweise weit schädlicher ist als Hypoxie beim wachen Pferd.

Das Ausbleiben eines weiteren Anstiegs der Kortisol-Konzentration bei den Pferden, die einer Hypoxie, Operation oder Hyperkapnie ausgesetzt waren, zeigte, dass die Narkose selbst eine

maximale adrenokortikoide Antwort bedingt und dass die Operation selber keine wesentliche Veränderung der Blutparameter zur Folge hat (TAYLOR 1989; 1998).

Im Gegensatz zu Versuchen an Hunden und Menschen (HALL 1985; OYAMA und WAKAYAMA 1988), bei denen die Operationen, nicht aber die Allgemeinanästhesie alleine, zu einer Stressantwort führten, zeigten die Pferde bereits bei der Narkose signifikante Anstiege des Serum-Kortisols als Hinweis auf Stress (CULLEN und VAN BELLE 1975; FRAGEN et al. 1984; KRUSE-ELLIOTT et al. 1987; ROBERTSON 1987; NAPOLITANO und CHERNOW 1988; DZIKITI 2003). Ähnliche Ergebnisse zeigten auch Studien an Rindern (MUDRON et al 1994a; 1994b).

Eine weitere unerwünschte Narkosewirkung, die bei den meisten Pferden auftritt, ist die **Hypotension**, auch wenn kein Blutverlust, Dehydratation oder Endotoxämie vorliegen (MUIR 1990). Unabhängig von der Ursache kann eine Hypotension eine deutliche Stressantwort provozieren und wird von einigen Autoren direkt mit einer postoperativen Myopathie in Zusammenhang gebracht (GRANDY et al. 1987).

Eine **Hypovolämie** durch z.B. Blutungen, Flüssigkeitsverlust bei Bauchhöhlenchirurgie oder die relative Zunahme des Gefäßvolumens durch medikamentenbedingte Vasodilatation verstärkt das klinische Bild noch zusätzlich.

Auch Schmerzen können besonders verheerende Folgen für das anästhesierte Tier haben, indem sie das ZNS aktivieren und eine Zentralisation des Blutflusses oder arterielle Hypertension bewirken (MUIR 1990). Wenn die anästhesiebedingten respiratorischen und hämodynamischen Störungen den Sauerstofftransport zu den oberflächlichen Geweben einschränken, kann es zu Gewebhypoxie, Ischämie und Laktatazidose mit anderen metabolischen Prozessen kommen, die das Risiko postoperativer Komplikationen erhöhen (MUIR 1990).

2.2.6 Postoperative Komplikationen

Nach schweren Traumen und Operationen entstehen häufig Infektionen, die mit dem Posttraumatischen/-operativen Immundefektsyndrom in Verbindung stehen (GROB et al. 1987). Gründe dafür sollen sowohl der Anfall von Gewebsdebris, Endotoxinen und auch

Mikroorganismen, die eliminiert werden müssen, als auch Stress, Malnutrition und therapeutische Maßnahmen sein.

Vor allem die Folgen des assoziierten Stresses mit Freisetzung verschiedener Hormone wie adrenokortikoider Substanzen, Kortisol, Adrenalin, Glukagon, Opioidpeptiden und anderen Mediatoren spielen dabei eine entscheidende Rolle (BLAZAR et al. 1986). GROB und Mitarbeiter (1987) stellten fest, dass der folgende Immundefekt umso gravierender ausfällt, je schwerer das Ereignis (z.B. die Operation) ist.

2.3 Colitis X

Die Colitis X ist meistens eine perakut auftretende, oft fatal verlaufende Durchfallerkrankung, die mit rasch fortschreitenden Schocksymptomen einhergeht (ROONEY et al 1963; 1966). Die Erkrankung tritt bei Pferden aller Altersklassen auf. Der Beginn der Symptome steht meistens in direktem Zusammenhang mit Stress (anstrengendes Training, Operationen oder Atemwegserkrankungen) typischerweise zwei bis drei Tage vor der Erkrankung (WOLLANKE und GERHARDS 2003; BARTMANN et al. 2004; GERBER und STRAUB 2004; WOLLANKE und GERHARDS 2006). Ausgeprägte Depression des Allgemeinbefindens, Tachykardie, Hyperpnoe, schnell progressierende Dehydratation, hypovolämischer Schock, metabolische Azidose, Leukopenie (3000 bis 1500 Leukozyten/ μ l), degenerative Linksverschiebung, oft kombiniert mit wässrigem, stinkenden Durchfall und Koliksymptomen, charakterisieren die Erkrankung (TASKER 1966; VAUHAN 1973; WHITLOCK 1986; WOLLANKE und GERHARDS 2003; WOLLANKE und GERHARDS 2006).

Das Ausmaß der klinischen Symptome steht in direktem Zusammenhang mit dem Grad des hypovolämischen Schocks.

Die Entstehung der Erkrankung ist noch immer nicht vollständig geklärt (WEESE et al. 2001). Colitis X könnte eine unspezifische Antwort auf verschiedene pathogene Stimuli sein. ROONEY und Mitarbeiter (1963) stellten fest, dass Colitis X eine Manifestation des „Erschöpfungsschocks“ ist. Nach längerer Exposition zu stressigen Stimuli kommt es zu einer totalen Dekompensation, die die natürliche Widerstandskraft des Pferdes übersteigt.

Enterotoxämie durch intestinale Pathogene, wie z.B. Clostridium perfringens Typ A, wurde von den meisten Autoren als die am meisten plausible Pathogenese angesehen (WIERUP 1977; SCHIEFER 1981).

In letzter Zeit ist bei Pferden, die an Colitis erkrankten, vermehrt *Clostridium difficile* aus dem Kot isoliert worden. *Clostridium difficile* ist ein Gram-positives, anaerobes Bakterium, welches sich als Ursache für Darmerkrankungen bei Menschen und Tieren herausgestellt hat. Das Bakterium wurde 1935 erstmals aus dem Kot von Kindern isoliert (HALL und O'TOOLE 1935), aber ignoriert bis 1978, als es mit Bakterien-assoziierte Diarrhoe und pseudo-membranöse Colitis beim Menschen in Verbindung gebracht wurde (LARSON et al. 1978). Über die Rolle von *C. difficile* beim Pferd wurde erstmals von JONES und Mitarbeitern (1987) berichtet.

C. difficile produziert mindestens fünf Toxine, wobei nur die Effekte der Toxine A und B näher untersucht sind (BORRIELLO 1998). Diese beiden Toxine werden meistens simultan produziert (HERHOLZ et al. 1999). Enterotoxin A verursacht eine Flüssigkeitsansammlung im Darmlumen in Modellen von Darmschlingen (LYERLY et al. 1985; WEESE et al. 2001). Zytotoxin B ist 100- bis 1000-fach toxischer für Zellkulturen als Zytotoxin A (LYERLY et al. 1982). Die beiden Toxine binden an Rezeptoren der intestinalen Epithelzellen und schädigen das Zytoskelett und die Funktion der „Tight Junctions“. Infolgedessen kommt es zu Mukosa-Schädigung, akuter Entzündung und Flüssigkeitssekretion (BARBUT 2001). Studien bei Fohlen ergaben, dass ein Zusammenhang zwischen dem Erreger und Durchfallerkrankungen besteht (ROBINSON 2003).

BEIER und Mitarbeiter (1994) fanden einen hohen Prozentsatz an *C. difficile* oder seinem Zytotoxin in Durchfallpferden nach Antibiotika-Behandlung. In vielen weiteren Untersuchungen wurden Clostridien als Darm-Pathogen im Zusammenhang mit Antibiotika-Behandlung, vor allem β -Lactam-Antibiotika, nachgewiesen (BEIER et al. 1994; COSMETATOS et al. 1994; MADEWELL et al. 1995; BAVERUD et al. 1997; GUSTAFSSON et al. 1997; BAVERUD et al. 1998). Man geht außerdem davon aus, dass zwischen dem Beginn des Auftretens der Colitis X Ende 1950 und der Entdeckung der Tetracycline Anfang 1950 ein Zusammenhang bestehen könnte (VAUGHAN 1973).

Eine Studie von BAVERUD und Mitarbeitern (2003) zeigt, dass ungefähr 30 Prozent der gesunden Fohlen in den ersten 13 Tagen post partum positive *C. difficile*-Kulturen hatten, während in der Altersgruppe von 1 bis 6 Monaten alle Fohlen negativ waren. Dies ist analog

zu Kindern oder Hundewelpen, die auch eine hohe Träger-Rate aufwiesen (MERIDA 1986; TULLUS et al. 1989; PERRIN et al. 1993).

Bakterien-Selektiv-Kulturen alleine sind zur Diagnose der Colitis X nicht aussagekräftig, weil ungefähr 5 bis 25 Prozent der *C. difficile* Stämme nicht pathogen und klinisch irrelevant sind (FEKETY und SHAH 1993). WEESE und Mitarbeiter (2001) stellten fest, dass ein Nachweis des Toxins aus Kotproben bei Pferden mit klinischen Symptomen für eine positive Diagnose nötig ist.

Bei Menschen wird *C. difficile* als eines der nosokomialen Hauptpathogene angesehen und ist das am häufigsten vorkommende Darmpathogen bei Menschen in Krankenhäusern (McFARLAND 1995). Die Resultate der Studie von BAVERUD und Mitarbeitern (2003) belegen, dass *C. difficile* bei Pferden ebenfalls ein nosokomiales Problem darstellt. Wie in der Humanmedizin können Tierkliniken als Reservoir für die Bakterien dienen (McFARLAND et al. 1989). Ergebnisse von BAVERUD und Mitarbeitern (2003) zeigen, dass die Haltungsumwelt oder gesunde Pferde als potentielles Reservoir für toxische *C. difficile* fungieren können. Des Weiteren konnte festgestellt werden, dass *C. difficile* mindestens vier Jahre in Pferdekot in der Umwelt und im Stall überleben kann.

Die Pathogenität von *C. difficile* beim Pferd ist noch nicht hinreichend erforscht. Pferde können entweder mit den vegetativen Zellen von *C. difficile* oder den Sporen anderer infizierter Pferde, durch kontaminierte Umgebung oder Menschen infiziert werden. Eine andere mögliche Infektions-Route wäre die Proliferation von *C. difficile*, die in niedriger Konzentration im Gastrointestinal-Trakt subklinischer Trägertiere auftreten (WOLLANKE und GERHARDS 2006).

HENTGES (1990) fand heraus, dass es durch Stress (wie beispielsweise dem Transport in die Klinik, dem Klinikaufenthalt selber, Operationen oder medikamenteller Behandlung) und Antibiotikaapplikation, die die Stabilität der residenten Darmflora stören, zur Ansiedlung und Vermehrung dieser, zum Anteil der Intestinalflora gehörenden, Clostridien kommen kann.

Die normale intestinale Mikroflora hat einen protektiven Effekt gegen exogene Pathogene und auch gegen Proliferation von endogenen opportunistischen Bakterien. Wenn die normale intestinale Mikroflora durch antimikrobielle Therapie und möglicherweise andere Stress-

faktoren zerstört wird, kann es zu einer Festsetzung und Proliferation von *C. difficile* im Darmtrakt kommen (BAVERUD 2004).

Bei Menschen führen gastrointestinale Manipulationen, die die Mikroflora des Darms beeinträchtigen, wie z.B. Operationen, Peristaltika oder Nasenschlundsonden, zu einem erhöhten Risiko, an bakterieller Colitis zu erkranken.

Die Leukopenie bei Colitis X tritt 24 Stunden nach dem Stress auf und hält etwa fünf Tage an, während die Diarrhoe sich zwischen drei und neun Tagen nach dem Stress entwickelt (WHITLOCK 1986). Demzufolge ist bei Auftreten der Diarrhoe nicht zwangsläufig auch mit dem klinischen Auftreten einer Leukopenie zu rechnen. Wenn davon ausgegangen wird, dass das Pferd Stress ausgesetzt war, können regelmäßige Leukozyten-Bestimmungen helfen, das Risiko einer Enteritis oder Diarrhoe einzuschätzen (OWEN et al. 1983). Nach einer Studie von DORN und Mitarbeitern (1975) entwickelten die meisten Pferde zwischen dem vierten und siebten Tag nach Einstellung in die Klinik Durchfall. Dies führte zu der Annahme, dass Pferde mit normalen Blutwerten, die für elektive Operationen vorgesehen sind, in den ersten 24 bis 48 Stunden nach Einstellung operiert werden sollten oder die Eingriffe um eine ganze Woche verschoben werden sollten.

2.4 Stressparameter beim Pferd

Für eine möglichst objektive Beurteilung der Stressbelastung, der Pferde während des Klinikaufenthalts ausgesetzt sind, können neben ethologischen Untersuchungen vor allem physiologische Indikatoren herangezogen werden. So zeigen beispielsweise erhöhte Kortisol- und Blutglukosespiegel eine Aktivierung der HHA-Achse an, während eine erhöhte Herzfrequenz und andere klinische Parameter eine Aktivierung des sympatho-adrenomedullären Systems reflektieren (TARRANT und GRANDIN 2000).

Neben anerkannten Stressparametern wurden in dieser Studie auch noch Freie Sauerstoff-Radikale und lokale Immunglobuline A im Kot bestimmt, um den Stresseinfluss auf die Pferde näher zu untersuchen.

2.4.1 Klinische Parameter

2.4.1.1 Herzfrequenz

Das Herz wird durch sympathische und parasympathische Nervenendigungen innerviert (SELLER 1996).

Dem Kreislauf fällt in Belastungssituationen die wichtige Aufgabe zu, dem Organismus für die „fight or flight“-Reaktion schnell Sauerstoff und Substrate des Energiestoffwechsels bereitzustellen. Eine zentrale Stellung nimmt dabei die Herzleistung ein, die in Stresssituationen, beeinflusst durch das autonome Nervensystem, mit Veränderungen der Herzfrequenz reagiert (WIEPKEMA 1985; MOBERG 2000).

Nicht nur auf humoralem Wege wird Einfluss auf die Herzfrequenz genommen. Die übergeordnete Regulation erfolgt beispielsweise in emotionalen Belastungssituationen in neokortikalen Strukturen des Gehirns, wobei aufgrund einer Zunahme der sympathischen und einer Abnahme der parasympathischen Aktivität eine Erhöhung der Herzfrequenz zu beobachten ist (SHAPIRO et al. 1993).

Die Herzfrequenz beim Pferd liegt in Ruhe zwischen 28 und 40 Schlägen pro Minute (DIETZ und HUSKAMP 1999; WISSDORF et al. 2002).

Problematisch bei der Beurteilung der Belastung anhand der Herzfrequenz sind die großen individuellen Schwankungen, die hierbei auftreten. So kann der gleiche äußere Reiz bedingt durch verschiedene individuelle Verhaltensmuster, frühere Erfahrungen, physische Unterschiede etc. gänzlich unterschiedliche Veränderungen der durchschnittlichen Herzfrequenz hervorrufen.

Aus diesem Grund sollte dieser Parameter nicht als einzelner Durchschnittswert beurteilt werden, da er erst in Relation zu anderen erhobenen Parametern erheblich an Aussagekraft gewinnt. BROOM (2000) fand heraus, dass eine bessere Interpretierbarkeit der Daten zu erzielen ist, wenn Verlauf und Abweichungen der kardialen Reaktion als einzelne Mittelwerte verglichen werden.

2.4.1.2 Körpertemperatur

Die Körpertemperatur steht aufgrund des Zusammenspiels physiologischer Regelkreise in enger Beziehung zur Thermoregulation, zur Wasseraufnahme, zum Energiestoffwechsel und zur motorischen Aktivität. Der physiologische Bereich beim Pferd liegt zwischen 37,0 und 38,0°C (WISSDORF et al. 2002).

Werden an den Organismus erhöhte Anforderungen gestellt, so wird über Mechanismen zur erhöhten Wärmeabgabe, wie beispielsweise Schwitzen, versucht, die Erhöhung der Körpertemperatur zu begrenzen. Sind die Anforderungen zu groß (beispielsweise durch lang andauernde motorische und psychische Belastung), so kann die Regelgrenze überschritten werden und Hyperthermie die Folge sein (JESSEN 2000).

Bei Ratten steigt die Körpertemperatur beispielsweise schon, wenn diese aus dem Käfig genommen werden. Nach einigen Wiederholungen kommt es zu einer Gewöhnung an diese Prozedur. Diese Gewöhnung bei Wiederholung und der Anstieg bei neuen Reizen sprechen für eine stressbedingte Hyperthermie (BRIESE und DE QUIJADA 1970). Bei Pferden zeigte sich nach längeren Stressoren, wie dem Transport, eine erhöhte Körpertemperatur (RAIDAL 1997).

2.4.2 IgA und andere Immunglobuline

IgA lässt sich neben anderen Schutzmechanismen in hohen Konzentrationen in Speichel, Darmflüssigkeit, nasalem und trachealem Sekret, Tränen, Milch und Kolostrum, Urin und den Sekreten des Urogenitaltrakts nachweisen (TIZARD 1987).

In der Literatur gibt es keine Angaben zu der IgA-Konzentration bei Pferden im Kot (HUSBAND und GOWANS 1978; HUSBAND 1982; 1985).

Über die ungefähren Konzentrationen des Immunglobulins in den anderen Körpersekreten liegen Informationen vor (siehe Tab. 2.1; TIZARD 1987). IgA kommt beim Pferd in allen Körpersekreten in großer Menge vor (STAHL und DORNER 1982).

Tab. 2.1: Ungefähre IgA-Konzentrationen (mg/100 ml) in den verschiedenen Sekreten der Tiere

*keine Angabe

Tierart	Serum	Kolostrum	Milch	Nasensekret	Speichel	Tränenflüssigkeit
Pferd	170	1000	130	160	140	150
Rind	30	400	10	200	56	260
Schwein	200	1000	500	*	*	*
Hund	50	1500	400	*	*	*

(nach TIZARD 1987)

Beim Pferd macht IgA ungefähr fünf bis zehn Prozent des Gesamt-Serum-Immunglobulingehalts aus. Während IgA im menschlichen Serum der zweithäufigste Antikörper ist, spielt er beim Pferd als Antikörper der systemischen Immunantwort nur eine untergeordnete Rolle (HALLIWELL und GORMAN 1989). Vielmehr ist er bei Monogastriern und damit auch beim Pferd der wichtigste Antikörper der lokalen Immunantwort (TIZARD 1987).

Die epitheliale Barriere trennt die Immunzellen in der Lamina propria von den im Darmlumen befindlichen Antigenen. Schleimhautverletzungen, primäre Störungen der Epithelzellen, Störungen der aus Muzinen gebildeten Schleimschicht und weiterer Schutzfaktoren, die zum Beispiel für die Restitution von Epithelläsionen wichtig sind, können zu einem unphysiologischen Einstrom von Antigenen in die Darmwand führen und somit eine Entzündung auslösen oder verstärken.

Mit der Darmschleimhaut in Kontakt tretende Pathogene oder andere für den Körper schädliche Substanzen erfordern eine effiziente Immunantwort mit dem Ziel der Neutralisation oder Elimination des schädlichen Agens. Um destruirende Effekte auf körpereigene Gewebe hierbei zu vermeiden oder zu minimieren, hat sich das B-Zellsystem im Darm auf einzigartige Weise an die Notwendigkeit angepasst, eine protektive Immunantwort ohne ausgeprägte Entzündungsreaktion auszubilden. Dies ist möglich durch die vorwiegende Produktion neutralisierender und in der Regel nicht entzündungsvermittelnder Antikörper vom Typ IgA (NEWBY und STOKES 1984). Aber auch Makrophagen, neutrophile Granulozyten und Lymphozyten, von denen zahlreiche im Verlauf des entzündlichen Prozesses in das Darmgewebe wandern, sind an Entzündungsprozessen im Darm entscheidend beteiligt.

Das Immunglobulin A wird von den Plasmazellen der intestinalen Mukosa gebildet und bindet anschließend an einen Rezeptor an der Innenfläche der Epithelzellen. Der IgA-Rezeptor-Komplex wird dann in einen Vesikel endozytiert und durch die Epithelzelle transportiert. Wenn dieser Vesikel die Außenfläche der Epithelzelle erreicht, fusioniert er mit der Plasmamembran und gibt IgA in das Darmlumen frei (TIZARD 1987).

IgA wird von den Plasmazellen der Submukosa als Antwort auf lokale Antigen-Stimulation synthetisiert. Es wirkt nicht bakterizid, bindet nicht an Makrophagen und beschleunigt auch keine Phagozytose. Es kann aber einige Viren sowie virale und bakterielle Enzyme neutralisieren. Seine wichtigste Aufgabe ist es, die Anheftung von Bakterien und Viren an die Epitheloberfläche zu verhindern und Entzündungseffekte zu mildern (McGHEE und MESTECKY 1990). Des Weiteren verhindert es die Bildung potentiell gefährlicher zirkulierender Immunkomplexe. Dies wurde aus Untersuchungen bei Menschen mit IgA-Defizienz geschlossen, bei denen Immunkomplexkrankheiten auftraten (CUNNINGHAM-RUNDLES et al. 1979).

Im Mucosa Associated Lymphoid Tissue (MALT) synthetisieren 65 bis 90 Prozent aller Immunglobulin-produzierenden Zellen IgA. Damit ist IgA das im Magen-Darmtrakt des Pferdes am häufigsten vorkommende Immunglobulin (McGHEE und MESTECKY 1990).

Aus humanmedizinischen Studien ist bekannt, dass die Konzentrationen der Immunglobuline IgG, IgA und IgM innerhalb einiger Stunden nach Operationen oder Traumata abfallen und sich erst nach drei bis zehn Tagen normalisieren (KINNAERT et al. 1980; NOHR et al. 1984; GLINZ et al. 1985; TVEDE et al. 1989).

IgA lässt sich im Kot mittels ELISA nachweisen und diese Methode stellt bei Ratten eine gute, nicht invasive und verlässliche Methode zur Bestimmung von Stress dar (HAU et al. 2001).

2.4.3 Hämatokrit und Gesamteiweiß

Der **Hämatokrit** gibt Auskunft über den Anteil der zellulären Bestandteile an der Blutflüssigkeit (Erythrozyten). Dabei stellt der Hämatokrit immer nur das Verhältnis Blutkörperchen zu Plasma dar, da die tatsächliche Blutmenge nicht bekannt ist.

Verschiedene Studien stellten fest, dass ein großer Teil der Erythrozyten in der Milz gespeichert wird (IRVINE 1958; GREGERSEN und RAWSON 1959; GARTNER et al. 1965; GERHARDS 1983) und das Speicher-Volumen der Milz etwa ein Drittel des Gesamt-Zell-Volumens beträgt (SCHEUNERT und MÜLLER 1926; WOLF 1938; HEUSSER 1952; TORTEN und SCHALM 1964). Das Milzreservoir dient als Puffer, falls erhöhte Anforderungen an die Sauerstofftransportkapazität gestellt werden (HODKIN 1822). Dazu gehören beispielsweise Stresssituationen, Asphyxien und Blutungen (BARCROFT und STEPHENS 1927; OPPERMAN 1947; CHERNIACK et al. 1970). Nicht nur bei körperlicher Arbeit, sondern auch infolge von Aufregung und Stress erfolgt, bedingt durch die Adrenalinausschüttung, eine Freisetzung der Erythrozyten aus der Milz (KRYZWANEK und BERGE 1933; HEUSSER 1952; PERSSON 1967, 1969; PERSSON et al. 1973a, 1973b; JEFFCOTT 1977).

Alle im Serum auftretenden Proteine und Proteide werden als **Gesamteiweiß** bezeichnet. Gebildet werden die Serumproteine in der Leber, nur die Immunglobuline werden erst auf Anforderung von den lymphatischen Organen (Milz, Knochenmark) produziert (KRAFT und DÜRR 1999).

Für den Körper erfüllen die Serumproteine wichtige Funktionen. Sie transportieren wasserunlösliche Verbindungen, halten den kolloidosmotischen Druck aufrecht und wirken als Enzyme und Inhibitoren, Gerinnungs- und Fibrinolysefaktoren, Komponenten des Komplementsystems, Immunglobuline, Hormone, Puffersubstanzen und Schutzkolloide (KRAFT und DÜRR 1999).

Als Hyper- oder Hypoproteinämie bezeichnet man quantitative Veränderungen der Plasmaproteine, die ihre Ursache entweder in einer echten Vermehrung oder Verminderung des Proteingehalts haben (absolute), oder aber durch eine Änderung im Wassergehalt des Gefäßsystems vorgetäuscht werden können (relative). Eine absolute Verminderung des Gesamteiweißgehalts deutet auf eine reduzierte Proteinbiosynthese infolge von beispielsweise Enteropathien hin. Erst durch eine Hämatokritbestimmung wird eine Differenzierung möglich. Die beiden Parameter sind folglich immer in direktem Zusammenhang zu betrachten (KRAFT und DÜRR 1999).

2.4.4 Leukozyten und das Verhältnis neutrophiler Granulozyten zu Lymphozyten (N:L-Verhältnis)

Die Leukozyten stellen keine einheitliche Zellpopulation dar (ZEILE et al. 1983).

Unterschiede in Gestalt und Funktion rechtfertigen eine Unterteilung in folgende Fraktionen: Neutrophile, eosinophile und basophile Granulozyten, Lymphozyten und Monozyten.

Beim Warmblüter bestehen 20 bis 45 Prozent des Differentialblutbildes aus Lymphozyten, das entspricht etwa 1500 bis 4000 Lymphozyten/ μ l bzw. 1,5 bis 4 G/l Blut.

Vollblüter zeigen häufig eine Tendenz zu einem höheren Lymphozyten- als neutrophile Granulozyten-Gehalt (KRAFT und DÜRR 1999).

Seit 1974 hat sich die Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft in Zusammenarbeit mit anderen Gremien im deutschsprachigen Raum um eine gemeinsame Festlegung von Referenzwerten für die Laboratoriumsdiagnostik bemüht. Im Jahre 1981 hat man sich schließlich auf Arbeitswerte für über 3 Jahre alte, ausgeruhte, klinisch gesunde Warmblutpferde geeinigt (DVG 1982).

Demnach weist das weiße Blutbild bei adulten Pferden etwa 5 bis 10 G/l Blut (bzw. 5000 bis 10000 Leukozyten/ μ l Blut) auf, wobei ab Werten unter 5 G/l von einer Leukozytopenie zu sprechen ist.

Die Gesamtzahl der Leukozyten unterliegt üblicherweise von Tag zu Tag, sowie jahreszeitlichen und haltungsbedingten, erheblichen Schwankungen. KRAFT und DÜRR (1999) stellten fest, dass die Untersuchung der absoluten und relativen Leukozytenzahlen im peripheren Blut immer nur eine „Momentaufnahme“ aus einem sich ständig verändernden Bewegungsablauf sein kann.

Die neutrophilen Granulozyten können sich an die Gefäßwand anheften. In einer Ruhe-Blutprobe sind die Leukozytenzahlen nicht repräsentativ für den totalen intravaskulären Pool, da dieser sowohl aus den zirkulierenden als auch aus den marginalen Pools, die in den Kapillarbetten und der Milz sequestriert sind, besteht (SCHALM et al. 1975). Diese Pools befinden sich in einem dynamischen Gleichgewicht, wobei der marginale Pool in der Regel größer als der zirkulierende Pool ist. Alle Faktoren, die eine Mobilisation der Zellen vom marginalen Pool bewirken, wie beispielsweise Training, Transport oder verstärkte Herzarbeit

durch Angst, erhöhen gleichzeitig den zirkulierenden Pool und verändern das neutrophile Granulozyten zu Lymphozyten-Verhältnis (HARTMANN et al. 1973; SIMENSEN et al. 1980; KENT und EWBANK 1983). SCHALM und Mitarbeiter (1975) haben dieses Phänomen Pseudoleukozytose genannt und sehen es als physiologisch an, da keine Bildung neuer Zellen stattgefunden hat.

Man nimmt an, dass die Rückverteilung der Immunzellen unter dem Einfluss der akuten Stressoren eine wichtige Rolle bei der physiologischen Stressantwort spielt, mit der ein Organismus an Umweltbedürfnisse adaptieren kann (DHABHAR und McEWEN 1997). Wie von SNOW und Mitarbeitern (1983) vermutet wird, ist diese Reaktion evolutionär sinnvoll, weil ein Tier, das sich in einer „fight or flight“-Situation befindet, in großer Gefahr ist, verwundet und damit bakteriell infiziert zu werden. Insbesondere in der frühen Reaktion auf eine Attacke stellt die Aktivierung der sofortigen Immunantwort und die Verteilung der Zellen, die für die Sofortantwort wichtig sind (z.B. neutrophile Granulozyten und Monozyten), zu den Stellen des potentiellen Antigen-Kontakts eine wichtige adaptive Veränderung dar (ENGLER et al. 2004). Das Pferd hat, im Vergleich mit anderen Spezies, eine relativ kleine Leukozytenreserve (SCHALM 1965; LOEB 1972). Deshalb ist das Hämogramm als wichtiger klinischer Indikator für Infektionen und Endotoxämien anzusehen. JEFFCOTT hat bereits 1977 die Leukozytenantwort auf verschiedene pathologische Prozesse im Pferdekörper beschrieben, zu denen am häufigsten Entzündungen, bakterielle und virale Infektionen oder intestinale Parasiten zählen.

Verschiedene Studien haben gezeigt, dass wiederholte Exposition zu sozialem Stress die Leukozytenfraktionen verändern (LYTE et al. 1990; MORROW-TESCH et al. 1994; STEFANSKI und ENGLER 1998; ZURI et al. 1998; GRYAZEVA et al. 2001; STEFANSKI 2001a, 2001b; AVITSUR et al. 2002a, 2002b), was zu einer Dysregulation der Immunfunktion führen und in hyperinflammatorischen Zuständen resultieren kann. Diese manifestieren sich in vermehrter Immunpathologie, hochgradiger Gewebeschädigung und verringerter Lebenserwartung (SHERIDAN et al. 2000; QUAN et al. 2001).

Die Leukozytenantwort auf Stress wurde bereits von anderen Autoren durch Injektion von ACTH untersucht (OSBALDISTON und JOHNSON 1972; SCHALM et al. 1975; BURGUEZ et al. 1983). Es kam zu einer temporären Leukozytose mit Neutrophilie und

geringgradiger Lymphopenie, also einer Erhöhung des Neutrophilen zu Lymphozyten-Verhältnisses. Auch bei anderen Untersuchungen an Menschen und Pferden wurden vergleichbare Ergebnisse erzielt (DALTON und SELYE 1939; ROSSDALE et al. 1982; McCARTHY und DALE 1988; WONG et al. 1992; PEDERSEN et al. 1994, 1997). ROSSDALE und Mitarbeiter (1982) sowie DOUGHERTY und WHITE (1944) fanden in ihren Studien heraus, dass die N:L-Veränderungen durch ACTH-Gabe und Belastung identisch waren, nach der Belastung aber schneller wieder auf den Ausgangswert zurückkehrten. In beiden Fällen erhöhte sich die Neutrophilenzahl im Blut, während ein geringer Rückgang der Lymphozyten zu erkennen war.

Auch die Wirkung von Narkose auf die Leukozytenfraktionen wurde untersucht (PARK und BRODY 1971a; PARK et al. 1971b; CULLEN et al. 1972). Aufgrund der Tatsache, dass Steroide die Lymphozytentransformation hemmen (DORIAN et al. 1982; MINTON et al. 1995) und die Depression nach komplizierten Operationen mit „Stress“ und Leukozytose am ausgeprägtesten war, geht man davon aus, dass die unmittelbar postoperative Depression der Lymphozytentransformation den erhöhten Serum-Kortisol-Werten zuzuschreiben ist (CULLEN et al. 1972; CULLEN und CHRETIEN 1973; OYAMA und WAKAYAMA 1973; CULLEN und VAN BELLE 1975). Es ist außerdem bekannt, dass hohe Kortisolkonzentrationen zu einer Lysis von Lymphozyten bei einigen Spezies führen können (CLAMAN 1972). Nach Verabreichung von Dexamethason kommt es für eine längere Periode zu Leukozytose, Neutrophilie und Lymphopenie (OSBALDISTON und JOHNSON 1972).

2.4.5 Kortisol

Kortisol ist der wichtigste Vertreter der Glukokortikoide, die in der Nebennierenrinde gebildet werden. Das Hormon wird in der Zona fasciculata der Nebenniere produziert und in nicht gebundener Form ins Blut sezerniert. Dort sind die Glukokortikoide bei Ratten und Menschen zu mehr als 90 Prozent (HAMMOND et al. 1990) an ein spezifisches Bindungsprotein, das „Corticosteroid-Binding-Globulin“ (CBG) gebunden (STAHL et al. 1979). Bei den Tieren, inklusive den Pferden, bewegt sich die Menge des an CBG gebundenen Kortisols zwischen 67 und 87 Prozent (GAYRARD et al. 1996). Biologisch wirksam ist jedoch nur freies, nicht an Protein gebundenes Kortisol (ROSNER 1990, 1991). Man geht davon aus, dass nur die nicht

an Plasmaproteine gebundene Menge in das Zielgewebe eindringen und an intrazelluläre Rezeptoren binden kann (SIITERI et al. 1982).

Die Bindungskapazität und somit der an Plasmaproteine gebundene Kortisolanteil zeigt Schwankungen bedingt durch Alter (IRVINE und ALEXANDER 1987), Fütterung (HAOURIGUI et al. 1993, 1995), akuten (FLESHNER et al. 1995; MARTI und ARMARIO 1997; MARTI et al. 1997; TANNENBAUM et al. 1997) oder chronischen Stress (KATTESH et al. 1980).

Der Abbau der adrenalen Steroide erfolgt vorwiegend in der Leber, kann aber auch teilweise in den Nieren und Speicheldrüsen stattfinden. Die Regulation der Kortisolkonzentration im Plasma erfolgt durch negatives Feedback (THUN und SCHWARZ-PORSCHE 1994).

Glukokortikoide wirken auf den Kohlenhydrat-, Eiweiß- und Fettstoffwechsel, sie verfügen über entzündungshemmende und immunsuppressive Eigenschaften. So fördern sie die Glukoneogenese in der Leber und hemmen die Glukoseutilisation in der Peripherie. Im Proteinstoffwechsel haben die Glukokortikoide eine katabole Wirkung, d.h. sie fördern den Proteinabbau im peripheren Gewebe und wirken hemmend auf die Proteinsynthese. Den Fettstoffwechsel betreffend verfügen sie über lipolytische Eigenschaften, was zu einer vermehrten Zirkulation von Fettsäuren im Blut führt.

Aufgrund ihrer vielfältigen Effekte im Körper kommt den Glukokortikoiden im Stressgeschehen eine wichtige Funktion zu und Plasma-Kortisolkonzentrationen werden oft experimentell als Hauptparameter bestimmt, um die Stressempfindungen von Tieren in bestimmten Situationen zu messen. Aufgrund der Rolle, die das Gehirn bei der Steuerung der Kortisolausschüttung spielt, wird die Kortisolkonzentration gerne als Indikator für den psychologischen Zustand eines Tieres in bestimmten Situationen interpretiert (THUN und SCHWARZ-PORSCHE 1994). Bei Betrachtungen der stressbedingten Aktivierung der HHA-Achse gilt es jedoch zu bedenken, dass die Hormone nicht kontinuierlich, sondern episodisch sezerniert werden. Kortisol weist beim Pferd einen zirkadianen Rhythmus auf. Die Plasma-Konzentrationen im Ruhezustand sind im Allgemeinen morgens um 10.00 Uhr am höchsten und fallen zum Abend hin (20.00 Uhr) ab (HOFFSIS und MURDICK 1970; HOFFSIS et al. 1970). Während der zirkadiane Rhythmus beim Pferd mittlerweile als erwiesen gilt, wurde in einer Studie von EVANS und Mitarbeitern (1974) ein ultradianer Kortisolrhythmus beim

Pferd entdeckt. Die einzelnen Perioden dauerten dabei etwa 25 bis 35 Minuten. Demnach ist es nicht ungewöhnlich, einen drei- bis vierfachen Anstieg und Abfall der Kortisolkonzentration über eine Zeitspanne von sechs bis acht Stunden zu beobachten.

Zwar können große individuelle Schwankungen des Kortisolspiegels auftreten, trotz dieser Variabilität bleibt aber dennoch eine charakteristische Tagesrhythmik erhalten. Eine stressbedingte Aktivierung der HHA-Achse, die zu einer gesteigerten Kortisolsekretion führt, kann dann jedoch die zirkadianen Schwankungen unterbrechen (IRVINE und ALEXANDER 1994). Generell gilt, dass die stressbedingte erhöhte Kortisolausschüttung einer großen Variabilität unterliegt, da zahlreiche Faktoren (Spezies, Alter, Geschlecht, genetische Komponenten, individuelle Einflüsse etc.) die endokrinen Veränderungen beeinflussen.

So wurden Erhöhungen des Plasma-Kortisols bei Schweinen in falscher Haltung nachgewiesen (JANSSENS et al. 1995), während LEY und Mitarbeiter 1994 über eine Erhöhung, in einer früheren Studie (1991) aber über ein Absinken der Konzentration bei Schafen mit chronischer Klauenentzündung berichtet hatten.

Mehrere Studien stellten fest, dass chronischer Stress zu einer Depression des Kortisolspiegels führt. Der exakte Mechanismus ist dabei unbekannt, es soll zu der Produktion eines zentralen ACTH-Inhibitor-Faktors kommen (ALEXANDER et al. 1988, 1996). Auch HOFFSIS und MURDICK (1970) stellten fest, dass Pferde mit akuten Erkrankungen, wie Frakturen, Kolik und Schock, erhöhte Serum-Kortisolkonzentrationen aufwiesen, während Pferde mit chronischen Krankheiten eher erniedrigte Werte hatten (DONALD et al. 1995). Man nimmt an, dass die Krankheitsdauer eine wichtige Rolle bei der Regulierung der HHA-Achse spielt. Möglicherweise führt die längere Krankheitsdauer zu einer Depression der Kortisol-Ausschüttung (MILLS et al. 1997).

Die Erhöhung von Plasma-Kortisol wird häufig im Zusammenhang mit Stressreaktionen aufgrund physiologischer und pathophysiologischer Stimuli wie Transport, Training, Verletzung oder Krankheit beobachtet (HARTMANN et al. 1973; SIMENSEN et al. 1980; KENT und EWBANK 1983; SNOW et al. 1983; THORNTON 1985; GALBO 1986; ITOH et al. 1992; TAIRA et al. 1992; MUDRON et al. 1994b; MILLS et al. 1997; JIMENEZ et al. 1998; NAGATA et al. 1999). Nach Beseitigung des Stressors normalisieren sich die Kortisolkonzentrationen sehr schnell wieder (STULL und RODIEK 2002). Diese Ergebnisse finden Bestätigung in anderen Studien, in denen Hengste eine halbe bis eine Stunde nach der Samen-

gewinnung erhöhte Speichelkortisolwerte zeigten. Nach 50 Minuten waren Spitzenwerte erreicht, aber bereits nach 80 Minuten wieder Vorversuchswerte (LEBELT et al. 1996).

CHURCH und Mitarbeiter (1994) untersuchten die Wirkung von Narkose und Operationen auf die Plasma-Kortisolkonzentrationen bei 25 gesunden Hunden. Dabei stellten sie fest, dass die Narkose alleine keine signifikanten Veränderungen der Kortisolkonzentration bewirkte, während alle Formen von operativen Eingriffen die Plasma-Kortisolkonzentrationen signifikant erhöhten und erst nach 24 Stunden wieder auf den Normalwert absinken ließen. Diese Studie steht im Kontrast zu anderen Untersuchungen, bei denen die Allgemein-anästhesie die Plasma-Kortisolkonzentrationen bei Menschen und anderen Spezies signifikant veränderte (FRAGEN et al. 1984; KRUSE-ELLIOTT et al. 1987; NAPOLITANO und CHERNOW 1988).

Es ist mehrfach belegt worden, dass erhöhte Kortikosteroid-Konzentrationen die Immun-Aktivität auf verschiedenen Stufen vermindern (BATEMAN et al. 1989; KHANSARI et al. 1990; HARBUZ und LIGHTMAN 1992). Des Weiteren sind keine großen Erhöhungen in der Kortisolkonzentration vonnöten, um einen deutlichen Effekt auf den Körper auszuüben. Bei Versuchen mit Ratten wurde gezeigt, dass bereits kleine Erhöhungen der Kortisolwerte durch akuten oder chronischen Stress maßgebliche Auswirkungen auf das Tier haben und sogar von erniedrigtem Thymus-Gewicht und generellem Kümern begleitet sind (STEFANSKI und ENGLER 1998; STEFANSKI 2001b). Aus der Kortisolkonzentration ist allerdings kein Rückschluss auf das Ausmaß der Belastung möglich (MUDRON et al. 1994a, 1994b). Des Weiteren lässt sich auch nicht ableiten, welche Stressursache (psychische Belastung, Schmerz oder Blutung) dem Geschehen zugrunde lag.

2.4.6 Freie Radikale

Freie Radikale sind instabile, aggressive, reaktionsfreudige Moleküle. In biologischen Systemen sind sie hauptsächlich als reaktive Sauerstoffspezies vertreten: als Hydroxylradikal (OH), Superoxidradikal ($O_2^{\cdot-}$), Hydrogenperoxid (H_2O_2), Singulett-Sauerstoff (O_2) und Ozon (O_3).

Sauerstoff kommt normalerweise in der Form O_2 vor, da Atome oder ihre Verbindungen nur dann stabil sind, wenn um ihren Kern zwei Elektronen kreisen. Da Sauerstoffatome jeweils

nur ein Elektron besitzen, treten sie stets in Verbindung mit einem weiteren Sauerstoffatom auf, so dass die Atome den Mangel gegenseitig ausgleichen können.

Freie Radikale sind deshalb instabil, weil sie auf der äußeren Schale ein einzelnes ungepaartes Elektron aufweisen. Ungepaarte Elektronen versuchen, ihren stabilen Ausgangszustand wieder zu erreichen, indem sie andere Moleküle angreifen und diese verändern, indem sie ihnen das fehlende Elektron entreißen. Dieser Prozess wird Oxidation genannt (CHEESEMAN und SLATER 1993).

Die reaktiven Sauerstoffspezies werden im Körper im Rahmen des normalen Zellstoffwechsels als Abfallprodukte sowie nach Exposition gegenüber ungünstigen Umweltbedingungen gebildet. Vor allem bei der Energiegewinnung im Rahmen der Atmungskette entstehen durch die notwendige Spaltung des Sauerstoffs die meisten Radikale (SIES 1991; OHLENSCHLÄGER 2000; STOHRER et al. 2002).

Diese lebenswichtige Reaktion, die die Energie zur ATP-Produktion liefert, läuft sorgfältig kontrolliert in mehreren Zwischenstufen in den Mitochondrien ab. Von NADH, Sukzinat und anderen Elektronendonatoren werden Elektronen über mehrere Redoxkomplexe auf Sauerstoff übertragen, wobei schließlich Wasser entsteht. Etwa drei Prozent des Elektronentransfers kann dabei „rückwärts“ laufen und zur Bildung von Sauerstoffradikalen und anderen reaktiven Sauerstoffprodukten (wie beispielsweise H_2O_2) führen. Bei Säugetieren werden schon in den Mitochondrien die meisten Sauerstoffradikale entgiftet. Nur zwei bis vier Prozent der freigesetzten Radikale gelangen ins Zytosol und werden dort von weiteren antioxidativen Schutzsystemen abgefangen (JENKINS 1988). Allerdings nimmt beispielsweise bei maximaler Muskelarbeit der Sauerstoffverbrauch in den Mitochondrien bis auf das 100fache des Ruhewerts zu. Die parallel vermehrte Freisetzung von Sauerstoffradikalen ins Zytosol übersteigt dann leicht die Kapazität der antioxidativen Schutzsysteme.

Auch schädliche Umweltfaktoren wie beispielsweise Zigarettenrauch, Ozonbelastung, Luftverschmutzung, Umweltgifte, schädigende Strahlung und auch bestimmte Medikamente (z.B. Chloramphenicol) tragen zur Bildung freier Radikale bei (DEBERNARDI et al. 2004). Sportliche Aktivität (Training) erhöht ebenfalls das Gefahrenpotential durch die reaktiven Sauerstoffspezies, da körperliche Bewegung zu einem gesteigerten Sauerstoffverbrauch und somit auch zu einer vermehrten Bildung freier Radikale führt (KIRSCHVINK 2002b;

CLARKSON und THOMPSON 2000; JENKINS 2000; LEEUWENBURGH und HEINECKE 2001; STOHRER et al. 2002). Dies kann zu oxidativen Schädigungen mit der möglichen Folge von Muskelverletzungen führen (MILLS et al. 1996). Dennoch besitzt Bewegung positive Auswirkungen auf die Gesundheit, indem sie eine Erhöhung des Superoxid-Dismutase-Spiegels bewirkt und so das antioxidative Schutzsystem stärkt (DAVIES et al. 1982; JENKINS 1988; DUTHIE et al. 1990; CHIARADIA et al. 1998).

2.4.6.1 Antioxidative Schutzsysteme

Der Organismus verfügt über zwei Verteidigungssysteme zum Schutz vor Sauerstoffradikalen, ein körpereigenes antioxidatives Enzymsystem und antioxidative Vitalstoffe, die er über die Nahrung aufnimmt, um freie Radikale zu neutralisieren.

Zu diesen antioxidativ wirkenden Stoffen zählen die Vitamine E und C, Beta-Carotin, Coenzym Q10 und sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe (Karotinoide und Bioflavonoide).

Die körpereigene antioxidative Abwehr besteht aus zwei Enzymsystemen: das Superoxid-Dismutase (SOD)/Katalase-System und das Glutathionperoxidase-System.

SOD wandelt die überaus reaktionsfreudigen Sauerstoff-Radikale, die während der Energiegewinnung entstehen, in harmloseres Wasserstoffperoxid um. Diese „aktivierte“, immer noch sehr reaktive Verbindung aus Wasserstoff und Sauerstoff wird dann in einem zweiten Schritt durch das Enzym Katalase unschädlich gemacht. Anschließend folgt die Umsetzung zu Wasser und O₂.

Das Enzym Glutathionperoxidase schützt vor allem die Zellmembranen vor freien Radikalen (OHLENSCHLÄGER 2000).

Der überwiegende Teil der freigesetzten Radikale wird durch die antioxidativen Schutzmechanismen abgefangen und an der Verursachung von Schädigungen gehindert. Die meisten Zellen können sogar ein geringes Maß an oxidativem Stress tolerieren, da die Zellen über Reparationssysteme verfügen, die in der Lage sind, geschädigte Zellen zu erkennen und zu ersetzen oder zu reparieren (OHLENSCHLÄGER 2000).

Unter bestimmten Umständen werden freie Radikale sogar gezielt von Körperzellen gebildet, um deren zerstörerische Eigenschaften zur Bekämpfung von Krankheitserregern zu nutzen. Bei Entzündungsprozessen und im Rahmen der Immunabwehr werden verstärkt Sauerstoff-

radikale freigesetzt. Bei längerfristigen bzw. chronischen Entzündungen kommt es durch eine Überproduktion von freien Radikalen leicht zu einem Zustand der Dekompensation. Dieser wird als „oxidativer Stress“ bezeichnet.

2.4.6.2 Oxidativer Stress

Oxidativer Stress entsteht als Folge eines Ungleichgewichts zwischen dem pro- und antioxidativen Status eines Individuums und zeigt, dass die Fähigkeit des Körpers, sich mit Hilfe des antioxidativen Schutzsystems selbst zu schützen, überschritten ist (STOHRER et al. 2002). Dieser Zustand wird sowohl bei erhöhter Bildung von Radikalen im Gewebe als auch bei Unterversorgung mit niedermolekularen Antioxidantien oder Hemmung der antioxidativen Enzymsysteme erreicht (HALLIWELL 1996).

Wird der Körper häufig oxidativem Stress ausgesetzt, werden Veränderungen in den Körperzellen ausgelöst, die zur Entstehung bestimmter Erkrankungen beitragen können. Denn freie Radikale reagieren mit körpereigenen Substanzen, beispielsweise Membranen. Das Radikal lagert sich an ein Molekül in der Zelle an und überträgt sein Elektronendefizit auf dieses, das damit selbst zum freien Radikal wird. Dieses Radikal sucht nun seinerseits wieder einen Reaktionspartner und lässt somit weitere Radikale entstehen. Es kommt damit zu einer Kettenreaktion, in deren Verlauf viele Verbindungen und Zellstrukturen geschädigt werden. Die entstehenden Spezies schädigen nahezu alle Biomoleküle (Fette, Proteine, Lipoproteine, Glykoproteine, DNA) oxidativ und provozieren auf zellulärer Ebene Mutationen und Funktionsverluste („leaky membranes“). Das Gehirn ist beispielsweise per se, infolge hohen Sauerstoffbedarfs einem erhöhten oxidativen Stress ausgesetzt. Der Anteil an oxidationsempfindlichen mehrfach ungesättigten Fettsäuren ist in den Membranen der Nervenzellen besonders hoch, was ebenfalls eine weitere Gefährdung durch freie Radikale birgt. Schließlich ist die Funktionsfähigkeit der neuronalen Membranen eine wesentliche Voraussetzung für die Reizleitung. Werden die Membranen durch den oxidativen Angriff modifiziert und geschädigt, ist eine synaptische Transmission nicht mehr oder nur noch eingeschränkt möglich (SIMONIAN und COYLE 1996).

Besondere Angriffspunkte für freie Radikale sind ungesättigte Fettsäuren in Zellmembranen, Cholesterin und Eiweißstrukturen. Untersuchungen haben zudem gezeigt, dass freie Radikale

nicht nur Zellmembranen und Proteine schädigen können, sondern auch direkt an der DNA Schäden anrichten, die letztlich in einer Entartung der Zelle münden können. Entsprechend werden auch der Verlust kognitiver Leistungen, Demenzen und neuropathologische Vorgänge mit der Bildung von freien Radikalen assoziiert (SIMONIAN und COYLE 1996; SUREDA et al. 2005; LEKEUX 2006).

Oxidativer Stress stellt damit die biologische Grundlage vieler chronischer Erkrankungen dar. Zu den Krankheiten, bei denen neben anderen Faktoren eine Beteiligung freier Radikale wissenschaftlich erwiesen ist, gehören beim Menschen beispielsweise die chronische Polyarthrit, Colitis ulcerosa und andere entzündliche Darmerkrankungen, Diabetes mellitus, Entzündungen, Ischämien, die Katarakt, verschiedene Krebs- und Tumorerkrankungen, Arteriosklerose und auch die kardialen Myopathien. Außerdem wird die Reaktivität phagozytischer Zellen verringert und beim physiologischen Alterungsprozess spielen Sauerstoffradikale eine entscheidende Rolle. Oxidative Schädigung trägt maßgeblich zu altersassoziiertem zellulärem und systemischem Organversagen bei (MARTIN et al. 1996; FINKEL und HOLBROOK 2000; GUARENTE und KENYON 2000).

Studien haben gezeigt, dass Mäuse, die mit einem Mangel des antioxidativen Enzyms Superoxid-Dismutase geboren werden, innerhalb weniger Lebenswochen sterben. Das zeigt, wie bedeutsam eine Einschränkung der Produktion freier Radikale für die Langlebigkeit ist (MARTIN et al. 1996; GUARENTE und KENYON 2000).

2.4.6.3 Radikalassozierte Erkrankungen beim Pferd

Bei der Spezies Pferd ist die Auswirkung der Sauerstoffradikale auf den Organismus insgesamt relativ wenig erforscht, aber die „Equine Motor Neuron Disease“ (EMND) wird mit oxidativem Stress in Verbindung gebracht. Die betroffenen Tiere weisen hohe Serumkonzentrationen an Kupfer (pro-oxidative Eigenschaften) und erniedrigte Vitamin E-Konzentrationen auf. Des Weiteren besteht ein Mangel an Selen, das Bestandteil des antioxidativen Enzyms Glutathionperoxidase ist (KARLSON et al. 1994; DIVERS et al. 2006).

Oxidativer Stress könnte außerdem eine Rolle in der Pathogenese der „Recurrent Airway Obstruction“ (RAO) (ART et al. 1998, 1999; KIRSCHVINK et al. 2001b, 2002a, 2002b), bei Gelenkerkrankungen, wie beispielsweise Knorpeldefekten bei der Osteochondrosis, und bei

der „Grass sickness“ spielen (McGORUM et al. 2003). Pflanzen von Wiesen, auf denen „Equine Grass Sickness“ (EGS) aufgetreten war, wiesen reduzierte antioxidative und erhöhte pro-oxidative Eigenschaften auf (McGORUM et al. 2000). Daraus wurde geschlossen, dass Pferde, die auf diesen Weiden grasen, einem erhöhten diätetischen oxidativen Stress ausgesetzt sind.

Auch belastungsinduzierte Myopathien und Hämolysen bei Pferden können auf Veränderungen in der Lipid-Peroxidation durch Radikale zurückgeführt werden (MATSUKI et al. 1991; AVELLINI et al. 1995). In der Pathogenese vieler neurologischer Erkrankungen spielt eine Imbalance zwischen pro-oxidativen Stoffen und Antioxidantien eine Rolle (SIMONIAN und COYLE 1996; ARUOMA und HALLIWELL 1998).

McFARLANE und CRIBB (2005) fanden heraus, dass der Verlust von Neuronen bei Pferden mit Cushing Syndrom vermutlich mit oxidativem Stress zusammenhängt.

Ein Anstieg von 3-Nitrotyrosin, einem Marker für oxidativen Stress, der bei diesen Pferden vorlag, wurde in der Humanmedizin ebenfalls bei Patienten mit Parkinson, Alzheimer und multipler Sklerose beobachtet. Außerdem gibt es einige Individuen, deren Neuronen stärker durch freie Radikale geschädigt werden können. Bei Menschen, mit familiärer Parkinson-Erkrankung liegt eine Mutation der Nervenproteine vor, so dass diese Neuronen leichter durch oxidative Substanzen zerstört werden (SPENCER et al. 1996).

Bei Menschen ist schon länger bekannt, dass freie Radikale an der Pathogenese verschiedener Lungenerkrankungen beteiligt sind (HEFFNER und REPINE 1989), wie z.B. das Akute Respiratorische Disstress Syndrom (BALDWIN et al. 1986), Asthma (BARNES 1990) und chronische Bronchitis (CANTIN und CRYSTAL 1985). So führen die Sauerstoffspezies zum Beispiel zur Erhöhung der Schleimproduktion durch epitheliale Zellen und zu einer Erniedrigung der Zilien-Funktion. Außerdem stimulieren sie die Thromboxan-Formation, reduzieren die Surfactant-Aktivität, schädigen Fibroblasten und haben verschiedene andere Effekte, die die Lungenmechanik stören und die Reparationsmechanismen verschlechtern (BARNES 1990). ART und Mitarbeiter (1999) stellten fest, dass oxidativer Stress mit Erkrankungen der unteren Atemwege assoziiert ist, wie sie bei Pferden, die an RAO leiden, vorkommen.

Auch beim Herzmuskel geht man davon aus, dass freie Radikale eine bedeutende Rolle im Infarktgeschehen spielen (KAMINSKI et al. 2002). Die so genannten Reperfusionsschäden nach anhaltender Ischämie werden durch sie mitverursacht (GARLICK et al. 1987; ZWEIER et al. 1988; SNYDER 1989; JOHNSTON et al. 1991; WILKINS et al. 1994).

Man nimmt an, dass die bei der Wiederdurchblutung vom Herzmuskel gebildeten Radikale zur Peroxidation von Membranlipiden führen (AMBROSIO et al. 1991; PARADIES et al. 1999).

Oxidative Stressreaktionen in Verbindung mit radikalbedingter Lipidperoxidation werden für eine Mitwirkung bei der Entstehung chronischer intestinaler Erkrankungen verantwortlich gemacht (PARKS et al. 1984).

Die Hauptfunktion des Darmepithels besteht in der Resorption von Nährstoffen und Wasser und der Errichtung einer effektiven Barriere gegenüber Schadstoffen zwischen dem Darmlumen und dem übrigen Körper. Oxidativer Stress stört diese empfindliche Barrierefunktion (ARGENZIO und HINTZ 1970; SNYDER 1989).

Dickdarmepithelzellen sind unterschiedlichen Sauerstoffpartialdrücken ausgesetzt. Das bedeutet, dass unterschiedlich ausgeprägte oxidative Belastungen in den einzelnen Segmenten des Gastrointestinaltraktes vorliegen.

Auch im Intestinaltrakt kam es insbesondere nach der Reperfusion zu Zellschädigungen und nicht während der anhaltenden Ischämie (AMES et al. 1968; PARKS und GRANGER 1986a, 1986b).

Bei Pferden, die an postanästhetischer Myositis litten, konnte ebenfalls ein signifikanter Anstieg der Anti-Perferryl-Aktivität nachgewiesen werden, insbesondere sobald das Gewicht von dem Muskel entfernt wurde (SERTEYN et al. 1990). In den betroffenen Muskeln könnten deshalb während der Reperfusion starke Radikale gebildet werden, die zu einer Lipid-Peroxidation an den Membranen führen. Individuelle Variationen in der Effektivität der antioxidativen Mechanismen könnten das Auftreten von unerwarteten postanästhetischen Myositiden erklären (SERTEYN et al. 1990). Als Trigger-Faktor wird die Präsenz von halogenierten anästhetischen Agenzien in Kombination mit der Muskel-Ischämie durch Hypotension und Kompression angesehen (LINDSAY et al. 1980; GRANDY et al. 1987; SERTEYN et al. 1987).

Überraschenderweise konnte bisher keine Studie Beweis für systemischen oxidativen Stress im Zusammenhang mit Belastung erbringen (BALOGH et al. 2001; KIRSCHVINK et al. 2001b; DEATON et al. 2002; MARLIN et al. 2002). Allerdings konnte deutlicher Belastungs-assoziiertes systemischer oxidativer Stress bei Pferden nachgewiesen werden, die unter thermischen Stressbedingungen gearbeitet wurden (MILLS et al. 1996; HARGREAVES et al. 2002).

Viele Studien berichteten bereits über den Effekt von Belastung auf die Oxidantien-Antioxidantien-Balance bei Menschen und Tieren (SEN und PACKER 2000).

Bei Sportpferden wurde festgestellt, dass oxidativer Stress während der Belastung auftritt und von Belastungsintensität und -dauer sowie der Umgebungstemperatur abhängt (MILLS et al. 1996). Die Induktion von oxidativem Stress könnte auch mit anderen begünstigenden Faktoren wie Fütterung, Dauer, Art und Intensität des Trainings, subklinischer Erkrankung und Trainingszustand zusammenhängen (DEATON et al. 2005).

Oxidativer Stress und seine Bekämpfung spielen auch in der Pferdefütterung eine immer größere Rolle (CHOW 1991; AVELLINI et al. 1999; KIRSCHVINK et al. 2002a). Untersuchungen an Reit- und Rennpferden haben gezeigt, dass oxidativer Stress durch Verfütterung antioxidativer Substanzen wie Vitamin C und E positiv beeinflusst werden konnte (BUTENANDT et al. 2002).

2.4.6.4 Nachweis der Freien Radikale

Bislang konnten freie Radikale nur über Elektronenspinresonanz-Spektrometrie (ESR), ein sehr aufwändiges und teures Verfahren ermittelt werden. Mit der Entwicklung eines photometrischen Verfahrens, welches mit dem FORM-Photometer (d-ROMs Free Oxygen Radicals Monitor, Callegari 1930) der Firma Callegari S.p.A. (Parma, Italien) praktische Anwendung erfährt, ist die Bestimmung des oxidativen Status eines Patienten einfach und schnell möglich geworden.

Der mit dieser Methode ermittelte obere Normalwert der Freien Radikale liegt beim Pferd bei etwa 200 Carratelli Einheiten (Carr. Units), also deutlich unter dem des Menschen mit 320 Carr. Units (REKITT et al. 2001).

2.4.7 Glukose

Die Glukosekonzentrationen im Blut werden durch Glukoneogenese aufrechterhalten, die vor allem in der Leber stattfindet und durch Glukagon, Kortisol und andere gegenregulierende Hormone kontrolliert wird. Diese regulierenden Hormone erhöhen die Glukose-Syntheserate, wenn die Glukose-Konzentration im Blut sinkt (MENGOZZI und GHEZZI 1991; ALEXANDER et al. 1997).

Erhöhte Blutglukosespiegel sind als Folge der Wirkung von Katecholaminen und Glukokortikoiden anzusehen (MOBERG 1985; HARBUZ und LIGHTMAN 1992; MUDRON et al. 1994a, 1994b). Diese Reaktion versetzt den Organismus in die Lage, die Energie vor allem für einen erhöhten Stoffwechselbedarf der Erythrozyten und des Gehirns bereitzustellen (NOCKELS 1990). RAND und Mitarbeiter (2002) berichten, dass bei Katzen bereits plötzliche Stresssituationen, wie sie beim Handling und Fixieren des Tieres beispielsweise bei der Blutabnahme auftreten, zu stressinduzierter transienter Hyperglykämie führen können. Bei Pferden ist über einen solchen Zusammenhang bisher nicht berichtet worden.

Der Referenzbereich beim Pferd liegt zwischen 4,4 und 6,7 mmol/l (KRAFT und DÜRR 1999). Bei Pferden werden Glukosekonzentrationen durch sehr viele Faktoren beeinflusst. Eine einzelne Blutprobe, die ohne Miteinbeziehung dieser Faktoren gewonnen wird, ist deshalb als diagnostisches Mittel nicht von Nutzen. Als Faktoren gelten beispielsweise die Länge der Fastenperiode vor der Blutentnahme, die Zeit seit der letzten Fütterung, Training (EVANS 1971), diurnale Unterschiede im Kortisol-Level, Futterzusammensetzung (glykämischer Index des Futters), Aufregung oder Stress, Reproduktionsstatus, Krankheit, genetische Faktoren und Körpergewicht (Mastigkeit) (RALSTON 2002; GILL et al. 1972).

Obwohl die letzte Nahrungsaufnahme besonders bei den Fleischfressern von großer Bedeutung ist, spielt sie laut KRAFT und DÜRR (1999) auch beim Pferd eine Rolle. Andere Autoren stellten fest, dass Pferde, die anschließend für 12 bis 24 Stunden gefastet wurden, sogar nach mäßiger, längerer oder kurzer, intensiver Arbeit relativ konstant in ihren Blutglukosekonzentrationen blieben (LAWRENCE et al. 1995; PAGAN und HARRIS 1999).

EVANS und Mitarbeiter (1974) stellten in einer Untersuchung bei fünf von sechs Pferden einen zirkadianen Glukose-Rhythmus fest, bei denen der höchste Wert morgens um 10.00 Uhr und der niedrigste abends um 20.00 Uhr gemessen wurde.

2.4.8 Laktat

Laktat wird unter natürlichen Bedingungen neben den Muskeln als Hauptlieferant auch in Erythrozyten, im Gehirn und im Nierenmark gebildet und stellt ein Stoffwechselprodukt anaerober Vorgänge im Körper dar.

Es gibt verschiedene Faktoren, die die Laktatkonzentration im Blut von Pferden beeinflussen können. Dazu gehören auch Arzneimittel und Wirkstoffe, die, individuell verschieden, die Laktatkonzentration erhöhen oder erniedrigen können (GABEL et al. 1983; STAINSBY et al. 1984; SERTEYN et al. 1987; GREENHAFF et al. 1991; PLUMMER et al. 1991). Auch der Zeitpunkt der Blutentnahme nach Belastung ist von Bedeutung (MARLIN et al. 1991; LINDNER et al. 1992b).

Über einen Konzentrationsanstieg des Laktats im Blut wurde auch im Zusammenhang mit Myopathien berichtet (KRAFT und DÜRR 1999).

Im Gegensatz zu anderen wissenschaftlichen Quellen behauptet LINDNER (1997), dass die Bildung von Laktat in der Muskulatur bei Belastung nicht durch einen Sauerstoffmangel hervorgerufen wird. Laktat wird seiner Meinung nach konstant in der Muskelzelle (und anderen Zellen) gebildet und abgebaut. Deshalb ist im Blut von Pferden ohne körperliche Belastung auch immer Laktat messbar, nach LINDNER (1997) sogar bis zu 1,5 mmol/l, je nach Art des vorangegangenen Ereignisses und der angewandten Analyseverfahren. Seit einigen Jahren ist bekannt, dass der Sauerstoffpartialdruck in der gesunden Muskelzelle nie so niedrig ist, als dass Laktat zur Aufrechterhaltung der Energieversorgung produziert werden müsste (LINDNER et al. 1992a). Zu einem Anstieg der Laktatkonzentration im Muskel über den Ruhewert kommt es dadurch, dass die Arbeit der Muskelzelle in dem Moment mehr Energie benötigt, als die langsameren, Sauerstoff verbrauchenden Stoffwechselwege (aerober Stoffwechsel) zu liefern imstande sind. Infolgedessen kommt es besonders bei schnellen, kurzzeitigen Belastungen zu einer vermehrten Laktatproduktion.

Rinder hatten nach Labmagenoperationen signifikant erhöhte Plasmalaktat Spiegel (MUDRON et al. 1994b). Die Untersucher schlossen daraus, dass die operative Belastung offensichtlich von einer Hypoxie peripherer Gewebe begleitet wird (HOFMANN 1992). Dies kann durch eine Ausschüttung von Katecholaminen, die eine periphere Vasokonstriktion und Glykogenolyse bedingen, erklärt werden (KEHLET 1984; ROBERTSON 1987; OYAMA und WAKAYAMA; LUNA et al. 1996).

2.4.9 Unspezifische Immunabwehr und Paramunitätsinducer

2.4.9.1 Unspezifische Immunabwehr

Während der Kontakt mit Antigen, wie beispielsweise bei einer Impfung, im Impfling die humorale und zelluläre Abwehrleistung aktiviert, die den Erreger spezifisch eliminieren kann, verfügt der Körper auch über Abwehrsysteme, die es ihm ermöglichen, sich erreger- bzw. antigenunspezifisch gegen Mikroorganismen zu wehren.

Zu diesen unspezifischen Abwehrsystemen zählen beispielsweise Mikro- und Makrophagen, natürliche Killerzellen, Komplement-, Opsonin- und Properdinsystem sowie eine große Zahl löslicher Mediatoren (wie Interferone und Interleukine). Diese Systeme sind phylogenetisch älter als die erst später in der Evolution erworbenen antigenspezifischen Schutzmechanismen, reagieren sehr schnell, bestehen aus zellulären und humoralen Mechanismen und modulieren zum Teil die zeitlich später einsetzende spezifische Immunität (MÜLLER-BRUNECKER et al. 1986).

Das Immunsystem ist nicht autonom. Es ist eng verbunden mit dem Hormon-, Kreislauf-, Stoffwechsel- und Nervensystem und es fungiert als Sinnesorgan (MAYR 1991). Die Interaktionen zwischen dem Immunsystem und anderen lebensnotwendigen Systemen laufen fast durchweg auf der Achse des paraspezifischen Teils des Immunsystems ab (MAYR 1991). Bei der unspezifischen Abwehr fehlt die Sensibilisierung. Sie kann deshalb sofort und nicht erst nach Tagen tätig werden (JANEWAY 1989; MAYR 1992). Die paraspezifische Abwehr des Organismus kann auf diese Weise bei Infektionen mit besonders virulenten Pathogenen die Zeit bis zur Ausbildung der spezifischen Immunität (Antikörper, Immunzellen) überbrücken.

Unter Paramunität versteht MAYR (1993) den Zustand eines gut regulierten und optimal funktionierenden unspezifischen Abwehrsystems, verbunden mit einem schnell entstandenen, zeitlich limitierten erhöhten Schutz gegenüber einer Mehrzahl unterschiedlicher Erreger, Antigene und anderer Noxen. Dabei können die Phagozytoserate, die Funktion der spontanen zellvermittelten Zytotoxizität (Natürliche Killerzellen) und die Aktivität sonstiger lymphoretikulärer Zellen erhöht sein.

2.4.9.2 Paramunitätsinducer

Unter Paramunisierung versteht man die medikamentöse Stimulierung der zellulären Anteile des paraspezifischen Immunsystems und der damit verbundenen Bildung von Zytokinen. Dies hat das Ziel, Dysfunktionen zu beheben, den nicht erreger- und nicht antigenspezifischen Schutz eines Individuums schnell zu erhöhen, eine durch Stressfolgen oder anderweitig (z.B. medikamentös) entstandene Immunsuppression oder Immunschwäche zu beseitigen und regulatorisch zwischen Immun-, Hormon- und Nervensystem zu wirken (MAYR 1993). Paramunitätsmediatoren sind außerdem keine präformierten Bestandteile von Zellen, sondern werden erst nach Reiz synthetisiert und abgegeben. Dies unterscheidet sie grundlegend von den Mediatoren der Anaphylaxie und von Enzymen phagozytischer Zellen, die in Form von Granula in den Zellen schon gestapelt vorliegen und lediglich als Folge eines Reizzustandes abgegeben werden (MAYR und BÜTTNER 1984).

Paramunitätsinducer gewinnen nicht zuletzt durch das steigende Auftreten von multikausal bedingten Krankheiten an Bedeutung.

Pockenviren eignen sich besonders zur Herstellung pyrogenfreier und nicht toxischer Paramunitätsinducer. Seit Einführung der Schutzimpfung gegen die Variola mit einem vom Tier gewonnenen Impfstoff (Rind, Pferd) durch Edward Jenner im Jahre 1796 wird empirisch darüber berichtet, dass durch die Schutzimpfung andere Infektionskrankheiten, an denen die Impflinge zum Zeitpunkt der Impfung zufällig litten, überraschend schnell abheilten bzw. ohne Komplikationen verliefen (MAYR 1993).

2.4.9.3 Zylexis®

Bei Zylexis® handelt es sich um einen nicht immunisierenden, paraspezifischen Impfstoff aus attenuiertem und inaktiviertem Parapoxvirus ovis (Stamm D 1701). Für die immunstimulierende Wirkung sind Strukturproteine in der Virushülle verantwortlich.

Unter Paramunität versteht man die natürliche oder medikamentöse Steigerung der angeborenen Abwehrbereitschaft eines Körpers für kurze Zeit. Zylexis® wirkt durch eine Bildung und Freisetzung von Zytokinen, wie beispielsweise IF-alpha und beta, IL-1, -2 und -12. Des Weiteren werden die „natürlichen Killerzellen“ aktiviert, die Lymphozyten-Proliferation stimuliert und die Phagozytose-Aktivität gesteigert (THEIN et al. 1980, 1981).

Zylexis® wird nach Anweisung des Herstellers dazu verwendet, bei der Prophylaxe und Behandlung von Infektionen und stress-induzierter Erkrankungen zu unterstützen. Dazu zählen beispielsweise Transporte, enger Kontakt mit Artgenossen, körperliche Anstrengung und Unruhe, Infektionskrankheiten sowie chirurgische Eingriffe und Klinikaufenthalte.

Zur Prophylaxe bei erwarteter Stressbelastung oder hohem Infektionsdruck wird Zylexis® jeweils vier Tage und zwei Tage vor dem erwarteten Stressor angewendet. Für Pferde liegt laut Herstellerangaben die intramuskulär zu applizierende Menge bei 2 ml. Die Wirkungs-dauer nach einmaliger Gabe soll ca. 10 bis 14 Tage betragen. Entgegen dieser Herstellermeinung stellte RUSH (2001) fest, dass die immunstimulierende Aktivität nach Applikation eines inaktivierten Parapox-ovis-Präparates maximal 8 Tage anhält.

Es liegen nur wenige Studien zur Wirksamkeit von dem Zylexis® -Vorgänger Baypamun® (Fa. Bayer) mit Pferden vor. Das in dieser Studie verwendete Zylexis® ist lediglich ein neuer Produktname, der seit dem Übergang der Lizenz auf die Firma Pfizer eingeführt wurde.

In einer klinischen, Plazebo-kontrollierten Blindstudie mit zwischen vier und zehn Monate alten Pferden, die dem Stress von Absetzen, Transport und Neugruppierung ausgesetzt wurden, konnten signifikant bessere klinische Parameter (milderer Verlauf, weniger purulenter Nasenausfluss) bei den Tieren der Baypamun®-Gruppe festgestellt werden. In dieser Studie injizierte man den Pferden dreimal (am Tag 0, 2 und 9) jeweils 2 ml Baypamun® bzw. Plazebo intramuskulär. Tag 0 war der Tag, an dem die Pferde in einem neuen Stall gemeinsam eingestallt wurden (ZIEBELL et al. 1997).

In einer Studie von STRUBE und Mitarbeitern (1989) wurde die Wirksamkeit von Baypamun® im Hinblick auf die Abmilderung von experimentellen Infektionen mit dem Virus der Infektiösen Bovinen Rhinotracheitis (IBR) untersucht. Die paramunisierten Tiere erkrankten dabei weniger häufig, schieden über 99 Prozent weniger infektiöses IBR-Virus aus und reagierten bezüglich der Interferonsynthese schneller auf die Virusinfektion als die nicht-paramunisierten Tiere. Des Weiteren zeigte sich, dass die vollständige Etablierung des Schutzzustandes bis zu drei Tage benötigte, da erst zu diesem Zeitpunkt ein signifikanter Anstieg des Interferons im Blut zu vermerken war.

Therapeutisch eingesetztes Baypamun®, das heißt Applikation nach Auftreten der respiratorischen Symptome, beeinflusste die bereits etablierte Symptomatik jedoch nicht mehr (METZNER et al. 1999).

MAYR-BIBRACK (1980) berichtet vom Einsatz von PIND-AVI (Laborbezeichnung für das inaktivierte Avipoxvirus) auf acht Gestüten, bei denen durch Paramunisierung der Fohlen sofort nach der Geburt, sowie 8 und 24 Stunden später die Morbidität von 70 bis 90 Prozent der vorangegangenen Abfohlperioden auf sieben Prozent gesenkt werden konnte.

Der prophylaktische Einsatz von inaktiviertem Parapoxvirus ovis in einer Blindstudie reduzierte durch einmalige intramuskuläre Injektion innerhalb von vier bis sechs Tagen vor dem Absetzen das Auftreten von respiratorischen Erkrankungen bei den behandelten Fohlen (7,9 Prozent) im Vergleich zur Plazebogruppe (24 Prozent) (BÖTTCHER 1994).

2.5 Zusammenfassung der Literaturrecherche

Aus der umfangreichen Literaturübersicht ergibt sich, dass es sich bei dem Thema „Stress beim Pferd“ um eine wissenschaftlich bereits vielfältig bearbeitete Fragestellung handelt. Allerdings zeigen sich auch Widersprüche zwischen den Ergebnissen und Schlussfolgerungen verschiedener Autoren. Als gesichert kann nach dem heutigen Stand der Tiermedizin davon ausgegangen werden, dass das Pferd in einer ihm unbekanntem Umgebung wie der Klinik einem vielfältigen Stress ausgesetzt ist, der das Tier schädigen und in einen lebensbedrohlichen Zustand versetzen kann.

Dass dieser Stress Auswirkungen auf das Immunsystem haben kann, gilt als erwiesen. Inwieweit die Pferde in der Klinik davon betroffen sind, ist jedoch noch teilweise offen, sodass diese Frage in dieser Studie näher untersucht werden soll.

Des Weiteren liegen beim Pferd bisher keine gesicherten Angaben über die lokale intestinale Immunglobulin-Konzentration vor und ein eventueller Zusammenhang mit der Ätiologie der Colitis X wurde noch nicht hinreichend untersucht. Um diese Frage näher zu beleuchten, soll in dieser Studie besonderes Gewicht auf die Überprüfung der verschiedenen Einflüsse (Transport, Operation, fremde Umgebung etc.) auf den IgA-Gehalt im Kot gelegt werden.

Über das N:L-Verhältnis ist in der wissenschaftlichen Literatur schon häufiger berichtet worden. Da man sich dieses einfach zu bestimmenden „Parameters“ in der Pferde-Stressdiagnostik jedoch bisher kaum bedient hat, soll im Rahmen dieser Untersuchung festgestellt werden, inwieweit Stress mit Hilfe dieses Parameters verlässlich angezeigt und dieser somit für den klinischen Gebrauch eingesetzt werden kann.

Kortisol wird von den meisten Autoren als sehr stark beeinflussbarer Parameter dargestellt. Da er aber andererseits unmittelbar mit der Stresskaskade assoziiert wird, soll in dieser Studie herausgefunden werden, ob er parallel zu den anderen Parametern verläuft und inwiefern der Kortisol-Rhythmus durch den Klinikaufenthalt verändert wird.

Hinsichtlich der Radikal-Belastung bei Leistungspferden wurden Ergebnisse insbesondere im Rahmen von Untersuchungen in der Sportpferde-Diagnostik hervorgebracht.

Demnach führt körperlicher Stress offenkundig zu einer Konzentrationssteigerung der Freien Radikale. Da jedoch bisher unklar geblieben ist, ob psychischer oder anderer Klinik-assoziiertes Stress die Radikalkonzentration ebenfalls zu erhöhen vermag, soll dies in der vorliegenden Studie nun herausgefunden werden.

Glukose wird in der Literatur als sensibler Stressparameter bei Kleintieren besprochen. Inwieweit dies auch für das Pferd zutrifft, bedarf noch weiterführender Untersuchungen.

Auch die Zusammenhänge zwischen Laktatkonzentration und Stress sind noch nicht hinreichend aufgeklärt, sodass hier noch weitere Studien vonnöten sind.

Über die Laktatkonzentration beim Pferd ist ebenfalls noch relativ wenig bekannt, lediglich im Hinblick auf intestinale Erkrankungen und Myopathien existieren Studien. Obwohl Laktat in der Humanmedizin als anerkannter Parameter gilt, besteht in der Pferdeleistungsdiagnostik noch ein großer Forschungsbedarf.

Zylexis® wird in vielen Untersuchungen als sehr sinnvoll für die Prophylaxe von Stress-assoziierten Erkrankungen dargestellt. Ergänzend dazu soll in der vorliegenden Studie überprüft werden, inwieweit eine Gabe von Paramunitätsinducern im Rahmen der Stressverminderung während des Klinikaufenthalts sinnvoll ist.



Abb. 2.3: Pferd nach der Narkose in der Aufwachbox der Klinik für Pferde der LMU München.

3 Material und Methoden

Mittels klinischer Untersuchung sowie Kot- und Blutuntersuchungen wurden bei in der Klinik für Pferde eingestellten Patienten und einer Gruppe gesunder Pferde (Kontrolltiere) verschiedene Parameter untersucht, die Indikatoren für eine Stresssituation sein können.

Für die im Rahmen dieser Untersuchung erforderlichen Blutentnahmen wurde ein Tierversuch angezeigt (Aktenzeichen 55.2-1-54-2531.2-25/07).

3.1 Tiere

3.1.1 Kontrollgruppe

Für die Kontrollgruppe standen 14 Pferde eines Reitstalls bei München zur Verfügung (3 Stuten, 8 Wallache, 3 Hengste). Es handelte sich dabei um gesunde Pferde unterschiedlicher Rassen (11 Warmblüter, 2 Ponys, 1 Araber) und verschiedenen Alters, der Durchschnitt lag bei 11,4 Jahren. Die Kontrollgruppe wurde in den letzten sechs Wochen vor der Blutabnahme weder transportiert, tierärztlich behandelt noch wurden irgendwelche anderen Veränderungen an der Umgebung der Pferde vorgenommen. Die Pferde waren allesamt umgänglich und ließen sich problemlos und ohne äußerlich erkennbare Aufregung am Halfter Blut aus der V. jugularis entnehmen.

3.1.2 Patienten

Das Patientengut stammte aus der Klinik für Pferde der Ludwig-Maximilians-Universität (LMU) München. Die Untersuchung wurde an den in dem Zeitraum der Studie zufällig in die Klinik für Pferde eingelieferten Pferden durchgeführt. Dabei wurden verschiedene Routineoperationen, Notfalloperationen und konservativ behandelte Pferde miteinbezogen.

Es wurde darauf geachtet, eine möglichst gerechte Geschlechterverteilung zu erreichen und das normale Operationsspektrum einer Klinik zu erfassen. Außerdem wurden verschiedene Altersgruppen einbezogen. Die Pferde gehörten unterschiedlichen Rassen an.

Insgesamt wurden 110 Pferde, davon 48 Stuten, 18 Hengste und 44 Wallache, in die Studie einbezogen. Die meisten Pferde gehörten der Rasse „Warmblut“ an, nämlich genau 83 Tiere. Dadurch waren die Parameter der Pferde gut miteinander vergleichbar. Damit das normale Spektrum einer Klinik erfasst werden konnte, wurden auch andere Pferde einbezogen, wenn sie bestimmte Erkrankungen aufwiesen, die für die Studie von Bedeutung waren. Der Rest der Gruppe bestand aus Arabern (7), Vollblütern (4), Ponys (12) und Kaltblütern (4). Bei den jungen Pferden im Alter von 0 bis 5 Jahren bestand die Gruppe aus 36 Tieren, die Pferde mittleren Alters (6 bis 18 Jahre) waren mit 65 Tieren vertreten und bei den älteren Tieren (über 18 Jahre) gab es 9 Pferde. Das Durchschnittsalter betrug 8,9 Jahre.

Es wurde keine besondere Auswahl an Krankheiten getroffen, sondern versucht, alle Erkrankungen, die normalerweise in einer Klinik vertreten sind, einzubeziehen. Da an der Klinik für Pferde verhältnismäßig viele ophthalmologische Patienten behandelt werden, wurden einige dieser Patienten im fortgeschrittenen Stadium dieser Untersuchung nach dem Zufallsprinzip nicht mehr berücksichtigt.

Nachdem die Pferde eingehend klinisch untersucht und beurteilt worden waren, wurden sie zunächst in zwei Gruppen eingeteilt: Pferde, die in Narkose gelegt und operiert wurden und solche, die stationär behandelt wurden.

Für die Zylexis[®]-Studie (siehe Kap. 4.2.12) wurden an Equiner Rezidivierender Uveitis (ERU) erkrankte Pferde, die für eine Vitrektomie anstanden, ausgewählt, da diese an der LMU am häufigsten operiert werden und ein gutes Beispiel für eine leichte Operation (kurze Narkose, geringes Trauma, kaum postoperative Schmerzen) darstellen.

Die Erhebungen erstreckten sich von März bis Dezember 2006.

3.1.3 Haltung und Pflege

Die Tiere wurden in den Klinikboxen der LMU untergebracht, die eine Größe von mindestens neun Quadratmetern aufwiesen. Die Boxen waren reichlich mit Stroh oder Sägespänen eingestreut. Das Misten erfolgte durch die an der Universität angestellten Pfleger, die allesamt ruhig und erfahren im Umgang mit Pferden waren. Es wurde zweimal täglich Heu gegeben,

so dass die Pferde möglichst den ganzen Tag über Raufutter zu fressen hatten. Abends wurde jedem Pferd eine Portion Mash gefüttert. Wasser wurde ad libitum über eine Selbsttränke angeboten.

3.1.4 Gesundheitszustand

Die Pferde waren bei Ankunft in der Klinik in unterschiedlichem Gesundheitszustand. Es wurden sowohl akut als auch chronisch kranke Tiere in die Untersuchung einbezogen. Die Schweregrade der Erkrankungen reichten von geringgradig bis höchstgradig. In der Kontrollgruppe befanden sich ausschließlich klinisch gesunde Pferde.

3.2 Methoden

3.2.1 Klinische Untersuchung der Patienten

Die Pferdepatienten wurden bei Ankunft in der Klinik für Pferde einer gründlichen, klinischen Untersuchung unterzogen. Dabei wurden Verhalten, Herzfrequenz, Atemfrequenz, rektal gemessene Körpertemperatur, Ernährungs- und Pflegezustand, Schleimhäute/KFZ, sowie der Stress- und Schockzustand der Pferde berücksichtigt. Des Weiteren wurde der Charakter bzw. das Naturell der Tiere in den ersten Tagen nach der Einstellung beurteilt und ihr Verhalten im Hinblick auf die Aktivitäten in der Klinik beobachtet. Bei der Kontrollgruppe wurde nach dem gleichen Muster vorgegangen.

3.2.2 Interpretation des Blutes und des Allgemeinbefindens der Pferde

Die Pferde wurden anhand ihres Allgemeinbefindens und ihrer klinischen Parameter kategorisiert und der Grad der Schmerzen (siehe Tab. 3.2), des Schocks (siehe Tab. 3.4) und des Stresses (siehe Tab. 3.3) nach Augenschein bestimmt. Es sollte später anhand der Einteilung festgestellt werden, ob der subjektive Eindruck eines Pferdes parallel der Veränderungen im Blutbild verläuft. Anhand der Einteilung in die verschiedenen Gruppen wurde schließlich das „Allgemeinbefinden“ kategorisiert in geringgradig, mittelgradig oder hochgradig gestört.

Des Weiteren wurden die Pferde als „ruhig, gelassen“ oder „nervös, sensibel“ eingestuft.

Bei jeder Blutprobe wurde zunächst die Farbe anhand einer selbst entworfenen Farbskala beurteilt (siehe Tab. 3.1). Es sollte festgestellt werden, ob ein Zusammenhang zwischen der Farbe und dem Hämatokrit oder anderen Blutparametern besteht.

Tab. 3.1: Einteilung der Farbe des Blutes

Farbe 1	hell (wie arteriell)
Farbe 2	mittelrot
Farbe 3	dunkelrot
Farbe 4	sehr dunkel

Tab. 3.2: Grad der Schmerzen und die damit einhergehenden klinischen Veränderungen

Grad der Schmerzen	Klinische Veränderungen
1	Keine Schmerzzeichen
2	Geringgradige Schmerzen *nervös *ggr. erhöhte Pulsfrequenz
3	Mittelgradige Schmerzen *stark erhöhte Pulsfrequenz *Milde Kolikanzeichen
4	Hochgradige Schmerzen *Zähneknirschen *stärkere Kolikanzeichen *Schwitzen
5	Höchstgradige Schmerzen *nicht mehr ansprechbar *Puls kaum noch fühlbar

Tab. 3.3: Einteilung nach Grad des Stresses der Pferde bei Ankunft in der Klinik

Grad des Stresses	Verhalten
1	ruhig, aufmerksam
2	nervös, aufmerksam, ansprechbar
3	sehr nervös, apathisch, nicht ansprechbar

Tab. 3.4: Einteilung der Pferde in Schockgrade und damit einhergehende klinische Veränderungen

Grad des Schocks	Klinische Veränderungen
1	Nicht vorhanden/geringgradig *Hautturgor o.b.B *Schleimhäute blassrosa/ggr. gerötet *leichtes Schwitzen *Herzfrequenz normal/leicht erhöht
2	Mittelgradiger Schock *Hautturgor vermindert *Schleimhäute mgr. gerötet *stärkeres Schwitzen *Herzfrequenz erhöht
3	Hochgradiger Schock *Hautturgor hgr. vermindert *Schleimhäute hgr. gerötet/verwaschen *starker Schweißausbruch *Herzfrequenz stark erhöht, schneller, schwacher Puls

3.2.3 Kotuntersuchung

3.2.3.1 Voruntersuchung/ Kotprobenentnahme zur Bestimmung des IgA-Gehalts

Zur Erprobung und Auswahl geeigneter Methoden zur Immunglobulin-Bestimmung beim Pferd wurden zunächst Voruntersuchungen mit Tränenflüssigkeit durchgeführt.

Des Weiteren wurden die Normwerte für die IgA-Konzentration im Kot von Pferden ermittelt und geprüft, ob diese Werte natürlicherweise Schwankungen unterliegen. Dafür wurde den Kontrollpferden insgesamt dreimal Kot entnommen. Die Abstände entsprachen dabei denen der nicht operierten Pferde in der Klinik (Tag 1, Tag 3, Tag 7).

Um die IgA-Konzentrationen im Digestionstrakt zu messen, wurden Speichel und Kot in Erwägung gezogen. MOUTON und Mitarbeiter (1989) untersuchten die Immunantwort des Digestionstraktes und stellten fest, dass die IgA-Konzentration im Speichel nur einen schwachen Stressmarker darstellt.

Bei Ratten wird die IgA-Bestimmung aus dem Kot als gute und verlässliche Methode zur Stressbewertung angesehen (HAU et al. 2001). Um herauszufinden, ob die IgA-Bestimmung

als Methode zur Untersuchung von Stress bei Pferden überhaupt geeignet ist, wurden vorerst bei einigen Pferden an unterschiedlichen Stellen der Kothaufen Proben entnommen und mittels des entwickelten ELISA die IgA-Konzentration festgestellt.

3.2.3.1.1 Ermittlung eines Normwerts für den IgA-Gehalt im Kot von Pferden

Um einen Richtwert für die Konzentration von IgA im Kot von Pferden zu erhalten, wurde diese auch im Kot der Kontrollpferde ermittelt. Dabei wurde insbesondere darauf geachtet, inwieweit die Werte an den verschiedenen Tagen schwankten.

3.2.3.1.2 Einfluss der Einfrierperiode auf den IgA-Gehalt im Kot

Bei den Vorversuchen wurden die frischen und eingefrorenen Kotproben jeweils zu verschiedenen Zeitpunkten auf die ELISA-Platten verbracht, um festzustellen, ob ein IgA-Verlust durch den Einfrierprozess eintrat. Die Kotproben wurden sofort nach dem Sammeln bei -20°C eingefroren und lagerten im Allgemeinen etwa bis zu einer Woche, bevor sie weiterverwertet wurden.

3.2.3.1.3 Untersuchungen zu den verschiedenen Entnahmestellen

Um vorher festzustellen, ob die IgA-Werte auch innerhalb eines Kothaufens konstant waren, wurden in Voruntersuchungen Proben aus verschiedenen Teilen des Haufens entnommen und auch mit älteren Kothaufen desselben Tages verglichen. Da es bei angetrocknetem Kot zu Abweichungen kam, wurde nur frischer Kot für die Untersuchung verwendet.

3.2.3.2 Entwicklung des ELISA zur IgA-Bestimmung im Kot

Die Analyse der Kotproben erfolgte im Institut für Physiologie und Physiologische Chemie der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München unter der Leitung von Frau Prof. Dr. C. Deeg.

Die Entwicklung des Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) zur Bestimmung des IgA-Gehalts im Kot erfolgte in Anlehnung an den von HAU und Mitarbeitern (2001)

entwickelten ELISA zur Bestimmung von IgA im Kot von Ratten.

Um einen geeigneten ELISA zur Auswertung der Proben zu entwickeln, wurden verschiedene Methoden erprobt. Dabei kamen indirekte ELISAs, Sandwich-ELISAs und auch Versuche mit Speichel und Tränenflüssigkeit zum Einsatz, um zu überprüfen, ob der IgA-Gehalt in diesen Körperflüssigkeiten gleichzeitig mit der Kot-IgA-Konzentration absank. Da aber die Gewinnung einer genügenden Menge dieser Sekrete schwierig und mit Stress für die Tiere verbunden war, wurden für die vorliegende Arbeit letztendlich die einfacher zu gewinnenden Kotproben verwendet. Ihnen kommt auch für die Pathogenese der Colitis X eine größere Bedeutung zu.

3.2.3.3 Kotentnahme bei den Patienten der Klinik für Pferde

Die Kotproben wurden soweit möglich direkt bei Ankunft der Pferde nach dem Transport, am darauf folgenden Tag, sowie am Tag der Operation und an den Tagen 1 und 4 nach der Operation entnommen. Da die Pferde in der Klinik täglich das gleiche Futter erhielten war der Kot bezüglich Quantität und physikalisch-chemischer Qualität weitgehend identisch. Die meisten Pferde hatten gut geformten Kot von normaler Konsistenz. Der Kot wurde aus der Mitte der frischen Kothaufen entnommen, sobald die Pferde morgens Kot abgesetzt hatten. Anschließend wurde er in ein Röhrchen verpackt und sofort bei -20°C eingefroren. Bei einigen Kolikern, die über mehrere Tage nichts zu fressen erhalten hatten und keinen Kotabsatz zeigten, waren die Abstände länger, z.B. nach der Operation. Diese Pferde wurden dann für den jeweiligen Tag von der Berechnung ausgeschlossen.

3.2.3.4 Der Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA)

Die bei -20°C eingelagerten Kotproben wurden zunächst bei Zimmertemperatur aufgetaut und anschließend manuell vermischt. Dann wurden 9 g der Kotproben mit 18 ml PBS-Puffer (pH 7,2) suspendiert. Danach wurden die Proben dreimal für drei Minuten in der Handvortex manuell durchmischt und anschließend für zehn Minuten bei 4000 rpm zentrifugiert (Zentrifuge 5810 R, Fa. EPPENDORF). Der Überstand wurde vorsichtig abpipettiert, in kleine Röhrchen (Microtube 1,5 ml, Fa. SARSTEDT) überführt und nochmals zehn Minuten bei 13200 rpm zentrifugiert (Zentrifuge 5415 R, Fa. EPPENDORF). Die so gewonnenen Proben wurden sofort im ELISA getestet.

Der ELISA für die Untersuchung der aufgearbeiteten Kotproben entsprach in seinem Aufbau einem Festphasen-Enzymimmuntest.

Die Beschichtung der 96-Loch-Mikrotiterplatten (Screen Mates, Fa. MATRIX TECHNOLOGIES CORP.) erfolgte mit 100 µl der einzelnen Kotproben in einer 1:2-Verdünnung mit 100 µl Beschichtungspuffer pro Vertiefung. Der Auftrag der Kotproben erfolgte im Vierfach- bzw. im Zweifachansatz. Die so beschichteten Platten wurden über Nacht im Kühlschrank bei 4°C inkubiert. Es folgte dreimaliges Waschen der Platten mit PBS-Tween (200 µl/Vertiefung) in einem speziellen Waschgerät (Modell Columbs, Fa. TECAN) am Morgen danach. Anschließend wurden die verbleibenden Bindungsstellen mit 1%igem bovinem Serumalbumin blockiert (200 µl pro Delle) und die Platte für eine Stunde bei 37°C inkubiert. Nach erneuter dreimaliger Waschung mit PBS-Tween erfolgte der Auftrag des Antikörpers. Dabei handelte es sich um ein Anti-Pferd-IgA (1 mg/ml) der Fa. SEROTEC (Düsseldorf). Das Anti-IgA wurde in einer Verdünnung von 1:10000 bzw. 1:20000, jeweils im Doppelansatz mit 100 µl pro Vertiefung, verwendet. Im Anschluss daran wurde die Platte wieder für eine Stunde bei 37°C inkubiert.

Nach dreimaliger Waschung mit PBS-Tween wurde die unmittelbar vor der Zugabe frisch hergestellte Substratlösung aufgetragen. Diese bestand aus 332 µl Tetramethylbenzidin, 10 ml TMB-Puffer und 3,3 µl 30%igem H₂O₂. Die Lösung musste innerhalb von vier Minuten nach Zugabe des H₂O₂ verbraucht sein, in jede Delle wurden 100 µl gegeben. Danach wurde die Platte zehn Minuten im Dunkeln inkubiert, um einen Farbumschlag nach blau herbeizuführen. Das Abstoppen der Reaktion erfolgte mit je 50 µl H₂SO₄ pro Delle, wobei sich die Farbe in gelb wandelte. Unmittelbar nach Zugabe der Stopplösung wurde die optische Dichte der entstandenen Farblösung bei einer Messwellenlänge von 450 nm und einem Referenzfilter von 620 nm in einem Photometer (Sunrise, Fa. TECAN) gemessen.

3.2.3.4.1 Antikörper

Bei dem für die Entwicklung des ELISA benutzten Antikörper handelte es sich zunächst um einen vom Institut für Tierphysiologie entwickelten Japan-Anti-Pferd-IgA-Antikörper, der bereits einige Jahre alt war und in gefrorenem Zustand aufbewahrt worden war. Da es mit diesem Antikörper zunächst zu fragwürdigen Ergebnissen kam, wurde schließlich ein kommerziell erhältlicher Anti-Pferd-IgA-Antikörper verwendet. Dabei handelte es sich um

den GOAT ANTI EQUINE:HRP (AAI34P) der Firma SEROTEC in Düsseldorf in der Konzentration 1 mg/ml.

3.2.3.4.2 Kontrollen der Tests

Auf jeder ELISA-Testplatte wurde obligatorisch eine Kontrolle in Form des BLANK mitgeführt. Als solche wurde eine Vertiefung bezeichnet, die alle Verfahrensschritte durchlaufen hatte, aber statt der Probe nur PBS enthielt.

3.2.4 Blutuntersuchung

3.2.4.1 Voruntersuchung

Die Voruntersuchungen dienten dazu, geeignete Abstände der Blutentnahmen herauszufinden. Um festzustellen, ob es natürliche Schwankungen der Blutwerte gibt, die unabhängig von einem Aufenthalt in der Klinik sind, wurde die Kontrollgruppe (siehe Kap. 3.1.1) einbezogen. Dabei wurde insbesondere durch mehrmalige Blutabnahmen an einem Tag überprüft, ob es bei diesen Pferden den von IRVINE und ALEXANDER (1987) sowie ZOLOVICK und Mitarbeitern (1966) beschriebenen zirkadianen Rhythmus in der Kortisolkonzentration gibt, und inwieweit die Blutwerte mit den in der Literatur (KRAFT und DÜRR 1999; ROBINSON 2003) angegebenen Referenzwerten übereinstimmen.

Die erste Blut- und Kotentnahme erfolgte am ersten Tag um 9.00 Uhr. Nachmittags um 14.00 Uhr und abends um 20.00 Uhr wurde zur Untersuchung der zirkadianen Kortisol-Rhythmik das zweite und dritte Mal Blut entnommen, sowie an Tag 3 und Tag 7 jeweils Blut und Kot morgens um 9.00 Uhr. Das Blut wurde in die einzelnen Röhrchen gefüllt, gekühlt und sofort nach Rückkehr in die Klinik untersucht.

Die Radikalkonzentration konnte bei den Kontrollpferden nicht gemessen werden, da das Nativblut sofort nach Entnahme hätte untersucht werden müssen. Dafür gibt es Untersuchungen von REKITT und Mitarbeitern (2001), die mit dem in dieser Studie verwendeten Gerät durchgeführt wurden und die Normwerte für die Radikalkonzentration beim Pferd erfasst haben.

3.2.4.2 Testzeitpunkte

Allen anderen Pferden wurde im Laufe des Klinikaufenthalts fünf- bis sechsmal Blut entnommen. Aufgrund des unter normalen Umständen vorkommenden zirkadianen Rhythmus des Kortisol-Spiegels, war es wichtig, das Blut immer morgens zur gleichen Uhrzeit (9.00 Uhr) zu entnehmen.

Am Morgen nach dem Transport um 9.00 Uhr (in der Regel war dies direkt nach der Ankunft des Pferdes in der Klinik und kurzer Akklimatisierung in der Box, da die meisten Pferde morgens angeliefert wurden), um die Parameter zu überprüfen, die durch den Transport gegebenenfalls verändert wurden. Eine weitere Blutentnahme erfolgte am Morgen vor der Narkose um 9.00 Uhr bzw. direkt vor der Narkose (meist stimmten diese beiden Zeitpunkte überein, da die meisten Pferde morgens operiert wurden). Die Pferde waren zu diesem Zeitpunkt bereits an die neue Umgebung gewöhnt. Dadurch erhielt man einen Anhaltspunkt, inwieweit sich die Blutparameter nach einigen Tagen Gewöhnung an die neue Umgebung wieder normalisiert hatten.

Einigen Pferden wurde direkt nach der Operation Blut aus der noch vorhandenen Braunüle entnommen, um den Einfluss der Operation auf die hier untersuchten Parameter herauszufinden. Den anderen Pferden wurde jeweils direkt nach der Aufstehphase, die bei den Pferden unterschiedlich lange dauerte, in der Aufwachbox das dritte Mal Blut entnommen, um den „Stress“ des Aufstehens auf die verschiedenen Blutparameter zu untersuchen.

Als Zeitpunkt wurde der Moment gewählt, in dem die Pferde schon relativ sicher standen, aber noch nicht so trittsicher waren, dass sie in die Box verbracht werden konnten. Die vierte bzw. fünfte Blutentnahme erfolgte am Morgen nach der Narkose um 9.00 Uhr in der Box des Pferdes. Dies wurde als nächster Entnahmezeitpunkt gewählt, um herauszufinden, inwieweit sich Werte, die nach der Operation verändert waren, wieder normalisiert hatten. Vier Tage nach der Operation wurde den Pferden das letzte Mal Blut entnommen, um zu sehen, ob gegebenenfalls zuvor veränderte Blutparameter wieder auf ihren ursprünglichen Wert zurückgegangen waren.

Bei den Pferden, die in der Uniklinik stationär behandelt, aber nicht operiert wurden, erfolgten Blutabnahmen am ersten und dritten Tag sowie einen Tag vor Abholung. Bei Patienten, die lange Zeit in der Klinik behandelt worden waren, wurde zwischendurch noch mindestens einmal Blut entnommen, um den Verlauf besser beurteilen zu können.

Tab. 3.5: Plan der Probenentnahme bei den Pferden, die in der Klinik operiert wurden, und solchen, die nicht operiert wurden. (LZ = Leukozyten; HKT = Hämatokrit; GE = Gesamteiweiß; PaO₂venös, PaCO₂venös = Sauerstoff- bzw. Kohlendioxid-Partialdruck im venösen Blut)

	Zeitpunkt	LZ	HKT	GE	Laktat	Radikale	PaO ₂ venös	PaCO ₂ venös	pH-Wert	Glukose	Kortisol	IgA (Kot)
Pferde, die operiert wurden	Am ersten Morgen um 9.00 Uhr nach der Einlieferung	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	Am Tag der Narkose um 9.00 Uhr	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	Unmittelbar vor der Narkoseeinleitung	x	x	x	x	x	x	x	x	x		
	Nach der Aufstehphase	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
	1 Tag nach der OP am Morgen um 9.00 Uhr	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	4 Tage nach der OP am Morgen um 9.00 Uhr	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Pferde, die nicht operiert wurden	Am ersten Morgen um 9.00 Uhr nach der Einlieferung	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	3 Tage danach um 9.00 Uhr	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	Am Tag vor der Entlassung um 9.00 Uhr	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x

3.2.4.3 Versuchsablauf

Um die beschriebenen Parameter (s. Kap. 3.2.4.5) zu bestimmen, wurde den Pferden in bestimmten Abständen Blut aus der Jugularvene oder anderen geeigneten Venen [Bauchvenen (V. epigastrica cranialis superficialis, V. thoracica superficialis), Beinvene (V. cephalica), Venenplexus am Kopf (Sinus v. transversae faciei, Sinus v. profundae faciei)] entnommen und untersucht. Dabei wurde darauf geachtet, die Pferde bei der Blutentnahme möglichst nicht zu stressen, d.h. die Proben wurden in der Box am Halfter ohne jegliche Zwangsmaßnahmen gewonnen.

3.2.4.4 Handhabung der Blutproben

Die Blutproben wurden in der Regel aus der V. jugularis externa nach Hautdesinfektion mit SEPTODERM Hautdesinfektionsmittel (Dr. Schumacher GmbH) entnommen. Nach Stauung der V. jugularis durch Druck mit dem Finger im mittleren Drittel des Halses erfolgte eine Punktion der Vene mit einer sterilen Einmalinjektionskanüle (BD Microlance 3, 18 G 2", 1,2 x 50 mm, bei kleineren Pferden/Ponys wurden Kanülen der Größe 20 G 1 ½", 0,9 x 40 mm verwendet). Das gewonnene Blut wurde innerhalb von fünf Minuten in das klinikeigene Labor verbracht und dort verarbeitet. Zur weiteren Verwertung des Blutes wurden EDTA-, Serum- und Glukose-Röhrchen (alle von der Firma SARSTEDT) befüllt, sowie natives Blut direkt aus der Spritze verwendet. Die Glukose-, Kortisol- und Laktatmessungen fanden im Labor der I. Medizinischen Tierklinik der LMU statt.

Zur Gewinnung des Plasmas wurde das Blut für zehn Minuten bei 6000 U/Min zentrifugiert und anschließend in die vorbereiteten und beschrifteten Eppendorf-Cups pipettiert.

Tab. 3.6: Die für die Bestimmung der verschiedenen Blutparameter verwendeten Probegefäße

Parameter	Verwendete Probegefäße
Laktat	Glukose-Röhrchen
Freie Sauerstoffradikale	Nativblut
Glukose	Serum-Röhrchen
Kortisol	Serum-Röhrchen
Blutgase	Nativblut (heparinisierte Kapillaren)
Rotes und Weißes Blutbild	EDTA-Blut

3.2.4.5 Untersuchung des Blutbildes

3.2.4.5.1 Bestimmung mit Hilfe eines Automaten

Blutbilder wurden bei jeder Blutentnahme bestimmt. Die EDTA-Blutproben wurden in einem „Cell-Dyn“-Automaten (3500R, Fa. ABBOTT Diagnostics, Wiesbaden-Delkenheim) der I. Medizinischen Tierklinik der LMU München untersucht. In diesem Automaten wurden folgende Parameter bestimmt bzw. berechnet:

Gesamt-Leukozyten, Lymphozyten, neutrophile Granulozyten, eosinophile Granulozyten, basophile Granulozyten, Monozyten, Erythrozyten, Hämatokrit, mittleres Erythrozytenvolumen (MCV), mittlerer Hämoglobingehalt der Einzelerythrozyten (MCH), mittlere Hämoglobinkonzentration der Erythrozyten (MCHC) und Thrombozyten.

Bei Notfällen wurde der Leukozytengehalt mit dem „Celltac alpha“ (Fa. NIHON KOHDEN) aus der Chirurgischen Kleintierklinik bestimmt. Bei den ersten zehn Patienten wurden parallel Messungen an beiden Geräten durchgeführt, und festgestellt, dass beide Geräte annähernd gleiche Ergebnisse lieferten.

Der Referenzbereich für die Gesamt-Leukozyten liegt beim Pferd zwischen 5 und 10 G/l (bzw. 5000 und 10000 Leukozyten pro μ l Blut) (DVG 1982).

3.2.4.5.2 Manuelle Auswertung des Differentialblutbilds

Zur Untersuchung des Differentialblutbilds wurde den EDTA-Röhrchen mittels Pipette Vollblut entnommen, ein Tropfen Blut auf einen Objektträger überführt, ausgestrichen und luftgetrocknet. Die Blutausstriche wurden mit der Färbung nach Pappenheim gefärbt. Dies erfolgte direkt im Anschluss an die Blutentnahme im Labor der I. Medizinischen Tierklinik der LMU München. Die Ausstriche wurden bei 1000-facher Vergrößerung unter Verwendung von Immersionsöl mikroskopisch ausgewertet.

Bei den Proben, die am Wochenende ins Labor verbracht wurden, wurden die Röhrchen einige Tage „gerollt“ und das Differentialblutbild am darauf folgenden Montag bestimmt.

3.2.4.5.3 Manuelle Hämatokritbestimmung

Der physiologische Bereich für Pferde liegt nach Angaben von KRAFT und DÜRR (1999) bei 0,28 bis 0,38 l/l (bzw. 28 bis 38 Prozent).

Die Untersuchung des Hämatokritwertes erfolgte zusätzlich manuell mittels Vollblutentnahme aus einem EDTA-Röhrchen. Das Vollblut wurde in Hämatokrit-Kapillaren (Fa. BRAND) gefüllt, welche an einem Ende mit Versiegelungskitt (Fa. BRAND) verschlossen und bei 10000 Umdrehungen pro Min über einen Zeitraum von acht Minuten zentrifugiert wurden („Haematokrit 24“, Fa. HETTICH). Die Ablesung erfolgte manuell mit Hilfe einer Auswerteskala.

3.2.4.5.4 Gesamteiweiß

Für die Bestimmung des Gesamteiweißgehalts stand ein handgehaltenes Refraktometer (Fa. EICKEMEYER) zur Verfügung.

Der von ROBINSON (2003) angegebene Referenzbereich liegt bei 55-75 g/l (bzw. 5,5-7,5 g/dl).

3.2.4.6 Klinisch-chemische Untersuchungen des Blutes

3.2.4.6.1 Kortisol

Im Rahmen von Voruntersuchungen sollte herausgefunden werden, ob bei den Klinikpferden, wie von IRVINE und ALEXANDER (1987) festgestellt, ein Aussetzen des zirkadianen Rhythmus, dem Pferde in ihrer normalen Umgebung unterliegen, stattgefunden hatte. Deshalb wurde sowohl sieben ausgewählten Patienten als auch den Pferden der Kontrollgruppe dreimal täglich Blut (jeweils morgens um 9.00 Uhr, nachmittags um 14.00 Uhr und abends um 20.00 Uhr) zur Bestimmung der Kortisolkonzentration abgenommen.

Die Kortisolwerte wurden mit Hilfe von dem Gerät „Elecsys 1010“ (Fa. ROCHE Diagnostics GmbH, Mannheim) in der I. Medizinischen Tierklinik der LMU aus Serumproben ermittelt. Für die Kortisolanalyse eignen sich Plasma wie auch Serum, und es spielt keine Rolle, ob

EDTA oder Heparin als Antikoagulantien zugesetzt werden. Hingegen sollte die Probe nach der Blutentnahme möglichst rasch zentrifugiert werden, da nach mehrstündiger Lagerung von EDTA-Blut ohne Zentrifugation mit einem Kortisolverlust gerechnet werden muss. Es ist zu beachten, dass bei allen gebräuchlichen Methoden das gesamte Plasmakortisol, das heißt sowohl freies als auch an Protein (CBG, Albumin) gebundenes Kortisol gemessen wird (DÖCKE 1994).

Als Standardwerte fürs Pferd gibt DÖCKE (1994) in seinen Untersuchungen einen Bereich von 50 bis 190 nmol/l an. In dem Labor der I. Medizinischen Tierklinik der LMU München liegt der Referenzwert bei bis zu 230 nmol/l.

3.2.4.6.2 Glukose

Beim nüchternen Pferd bewegen sich die Serum-Glukosekonzentrationen zwischen 60 und 90 mg/dl (JACOBS und BOLTON 1982), andere Autoren gehen davon aus, dass der Serum-Glukose-Referenzbereich beim Pferd zwischen 4,4 und 6,7 mmol/l (bzw. 80 und 120 mg/dl) liegt (KRAFT und DÜRR 1999).

KRAFT und DÜRR (1999) stellten in Untersuchungen fest, dass die in Serum (Plasma) gemessene Glukose immer höher ist als im Vollblut. Die als Referenzbereich angegebenen Werte wurden für Serum ermittelt und in dieser Studie wurde die Glukose auch ausschließlich aus Serum bestimmt. Dadurch erhielt man vergleichbare Werte. Die Glukosekonzentrationen wurden im „Hitachi 911“ (Fa. ROCHE Diagnostics GmbH, Mannheim) der I. Medizinischen Tierklinik gemessen.

Bei den sieben Pferden, denen mehrmals täglich Blut zur Bestimmung von Kortisol abgenommen wurde, wurde ebenfalls die Glukosekonzentration bestimmt. Dadurch sollte ein zirkadianer Glukoserhythmus ausgeschlossen werden, über den EVANS und Mitarbeiter (1974) berichtet hatten.

3.2.4.6.3 Laktat

Für die Laktatmessung wurden ebenfalls die Glukose-Röhrchen verwendet. Die Messung erfolgte aus dem Plasma mit dem „Hitachi 911“ (Fa. ROCHE Diagnostics GmbH, Mannheim) der I. Medizinischen Tierklinik. An Wochenenden und bei Notfällen wurde die Laktatkonzentration aus dem Vollblut bestimmt und das klinikeigene Laktatmessgerät „Photometer LP 20“ verwendet.

Da die Erythrozyten selbst Laktat produzieren, ist es sehr wichtig, Laktat sofort nach der Probennahme zu messen, oder das Blut umgehend zu zentrifugieren, um Plasma zu erhalten. Allerdings wird dann die Laktatkonzentration im Plasma und nicht im Blut gemessen. Dies führt zu unterschiedlichen Werten, hat aber keine praktische Bedeutung, so lange man sich an die Art des Materials hält. Im Allgemeinen sind die gemessenen Werte im Plasma etwas höher als im Blut (LINDNER 1997).

Um die im Notfall in der Klinik für Pferde aus Vollblut gemessenen Werte mit den im Plasma gemessenen Werten zu vergleichen, wurden einige Proben parallel bearbeitet. Dabei konnte kein Unterschied festgestellt werden.

Der Referenzbereich wird in der I. Medizinischen Tierklinik mit bis zu 0,9 mmol/l angegeben.

3.2.4.6.4 Untersuchungen zur Beurteilung des oxidativen Stresses

Um die Radikalbelastung der Patienten herauszufinden, wurde den Pferden Nativblut entnommen, in welchem sofort mit Hilfe des FORM-Photometers die Radikalkonzentration gemessen wurde. Die Tests wurden nach Herstelleranleitung durchgeführt (siehe 3.2.4.6.5).

3.2.4.6.5 Messung der Freien Sauerstoffradikale mit dem FORM-Photometer

Die Messung der freien Radikale (FR) im Blut der Versuchstiere erfolgte mit dem FORM-Photometer. Derzeit ist der d-ROMs-Test der einzige Test, mit dem Wasserstoffperoxidkonzentrationen sowohl in biologischen als auch in nicht biologischen Proben

bestimmt werden können. LEKEUX stellte 2006 in einem Vortrag fest, dass das FORM-Photometer an sich eine geeignete Methode darstellt, um oxidativen Stress beim Pferd zu messen. Manchmal kommt es allerdings zu falsch-positiven/falsch-negativen Ergebnissen.

Das Testprinzip wurde durch FENTON (1894) entdeckt und durch HABER und WEISS (1932) weiterentwickelt. Die Forscher fanden heraus, dass ein Peroxid in Gegenwart eines Übergangsmetalls, welches als Katalysator wirkt, durch folgende Reaktion freie Radikale hervorbringt:



Das bedeutet, dass zweiwertiges Eisen mit dem Hydroperoxid reagiert, wobei dreiwertiges Eisen und das Alkoxyradikal (RO) freigesetzt werden.

Das dreiwertige Eisen reagiert mit dem Hydroperoxid (ROOH) und führt zur Freisetzung von zweiwertigem Eisen und dem Peroxidradikal.



Freie Radikale (FR) können minimalinvasiv mit nur einem Tropfen Blut (20 µl) in wenigen Minuten bestimmt werden. Die Methode beruht auf der Tatsache, dass Peroxide, wie sie bei der Oxidation von Fettsäuren („Lipidperoxidation“) als Zwischenprodukte entstehen, in Gegenwart von nicht-proteingebundenen Übergangsmetallen hochaggressive Hydroxylradikale bilden. Diese Reaktionsprodukte werden über einen Farbstoff (N,N-Diethylparaphenylendiamin, das so genannte „Chromogen“ mit einem pH-Wert von 4,8) sichtbar gemacht und photometrisch ausgewertet. Das heißt, mit Hilfe eines neutralisierenden Moleküls, das sich färbt, wenn es mit Radikalen in Berührung kommt (und diese dabei in stabile Ionen umwandelt), wird eine photometrische Messung ermöglicht. Die entstehende Färbung wird auf die Bildung des kationischen Aminradikals zurückgeführt, das sich bei Anwesenheit von Alkoxy- und Peroxygruppen bildet. Diese leiten sich aus der Reaktion der Peroxide in Anwesenheit von zwei- und dreiwertigen Eisen-Ionen her. Durch spektralphotometrische Messungen wird die Intensitätszunahme der roten Farbe ermittelt (ALBERTI et al. 2000).

Der oxidative Stress oder vielmehr die Intensität der Reaktion wird in wasserstoffperoxid-

äquivalenten Termen, den Carratelli-Einheiten (Carr. Units) ausgedrückt, wobei 1 Carr. Unit 8 mg H₂O₂/l entspricht.

Hydroperoxide (ROOH) stellen ein Zwischenprodukt im Rahmen der Lipidperoxidation dar, welches in der Reaktionsfolge vor der Bildung von Malondialdehyd (Ende des Abbauprozesses) auftritt. Da die Hydroperoxide in den Zellen freigesetzt werden, sind sie in biologischen Flüssigkeiten zu finden und können als stabiler Indikator für den oxidativen Stress bestimmt werden (CESARONE et al. 1999).

3.2.4.6.6 Blutgase

Die Blutgaswerte wurden aus venösem EDTA-Blut mit dem Gerät „NPT 7 Series“ (Fa. RADIOMETER COPENHAGEN) bestimmt.

Als Parameter wurden der pH-Wert, der PaO₂ (Sauerstoffpartialdruck) und der PaCO₂ (Kohlendioxidpartialdruck) untersucht, um herauszufinden, ob sie charakteristische Veränderungen zeigten.

3.2.4.6.7 Zylexis® und Dosierung des Paramunitätsinducers

Bei den Pferden, die in die Zylexis®-Studie einbezogen wurden, handelte es sich um Pferde, die an ERU erkrankt waren, ohne dass sie sich zu dem Zeitpunkt des Klinikaufenthalts in einem akuten Entzündungs-Schub befanden. Sie wurden deshalb nur mit den Pferden verglichen, die bei Einlieferung ebenfalls keinen akuten Schub hatten, da die Krankheit im akuten Schub sehr schmerzhaft sein kann und deshalb die Werte hätten verfälscht werden können.

Zwei bis drei Injektionen je einer Dosis werden laut Hersteller für jedes Tier empfohlen als Unterstützung in der Vorbeugung von infektiösen oder Stress-induzierten Erkrankungen.

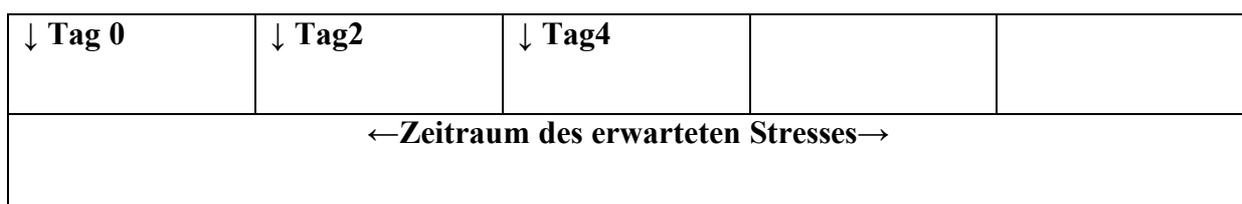


Abb. 3.1: Anwendungsintervalle von Zylexis® laut Herstellerbeschreibung in Erwartung eines mit Stress einhergehenden Zeitraums.

Falls das erwartete Auftreten des Hauptinfektionsdruckes innerhalb einer Woche nach der ersten Injektion liegt, sollten zwei oder drei Dosen in 48-Stunden-Intervallen (Tag 0, Tag 2 und Tag 4) gegeben werden.

Als Unterstützung bei der Vorbeugung von Stress-induzierten Erkrankungen wird die erste Dosis vorzugsweise drei bis einen Tag/e vor der möglichen Infektion oder dem erwarteten Stress-Ereignis verabreicht.

Die Pferde in dieser Studie erhielten jeweils 2 ml Zylexis® vier und einen Tag vor dem erwarteten Stressor (Operation).

Als Anwendungsgebiet wird in der Herstellerbeschreibung unter anderem auch Stress (z.B. Klinikaufenthalt, chirurgische Eingriffe) angegeben. Damit war die Art der Anwendung in dieser Studie in dem vom Hersteller vorgesehenen Rahmen.

3.3 Hypothesen

3.3.1 Arbeitshypothese der vorliegenden Arbeit

Die Pferde in der Klinik zeigen signifikante Erhöhungen der Stressparameter nach Transport und Operation, gekoppelt mit einem Abfall des IgA-Gehalts im Kot. Somit sind sie nach diesen Stressperioden anfälliger für opportunistische Infektionen, wie beispielsweise Enteritiden.

3.3.2 Nullhypothese der vorliegenden Arbeit

Die Pferde in der Klinik zeigen im Vergleich mit der Kontrollgruppe keine Veränderungen der Blutparameter, sind somit auch nicht „mehr gestresst“.

3.4 Statistische Analyse und Darstellung der Ergebnisse

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe von dem Programm SPSS für Windows Version 11.5. Für die Vergleiche der Mittelwerte und zur Berechnung der Signifikanzen wurden bei normalverteilten Werten T-Tests, für gepaarte oder unabhängige Stichproben Mann-Whitney-Tests, Kruskal-Wallis-Tests, Levene-Tests oder Wilcoxon-Tests verwendet. Korrelationen wurden nach Pearson oder nach Spearman durchgeführt.

Das Signifikanzniveau wurde wie folgt festgelegt:

$p > 0,05$	nicht signifikant
$p < 0,05$	signifikant
$p < 0,01$	hochsignifikant
$p < 0,001$	höchstsignifikant

Graphiken wurden mit Hilfe von SPSS und EXCEL 2003 erstellt. Zur Berechnung einiger Mittelwerte und Standardabweichungen wurden ebenfalls diese beiden Programme verwendet.

4 Ergebnisse

4.1 Vorversuch

4.1.1 Kotprobenentnahme zur Bestimmung der IgA-Konzentration

Der Kot wurde im Rahmen des Vorversuchs auf unterschiedliche Art und Weise im ELISA ausgewertet, um zu sehen, ob es bereits Schwankungen zwischen den verschiedenen Stellen des Kothaufens, zwischen den unterschiedlichen Kothaufen desselben Tages oder große Differenzen zwischen den einzelnen Pferden gibt. Des Weiteren wurde untersucht, ob verschiedene Einfrierperioden einen Einfluss auf die IgA-Konzentration hatten.

Die Ergebnisse werden in optischer Dichte, bestimmt in einem Photometer bei 450 nm, angegeben (OD₄₅₀).

4.1.1.1 Untersuchungen zu den verschiedenen Entnahmestellen

Tab. 4.1: Verschiedene Kot-Entnahmestellen innerhalb eines Kothaufens für die Bestimmung des IgA-Gehalts (in OD₄₅₀)

	Pferd 1 (in OD ₄₅₀)	Pferd 2 (in OD ₄₅₀)	Pferd 3 (in OD ₄₅₀)	Pferd 4 (in OD ₄₅₀)
Rand links	0,27	0,30	0,48	0,33
Mitte	0,28	0,31	0,47	0,32
Rand rechts	0,28	0,29	0,47	0,35

Es konnte festgestellt werden, dass weder die verschiedenen Entnahmestellen innerhalb eines Kothaufens (siehe Tab. 4.1) noch Proben unterschiedlicher Zeitpunkte eines Tages differente Werte aufwiesen. Abweichungen zeigten sich nur bei nicht frischen Kotproben z.B. aus der vorangegangenen Nacht. Diese wiesen etwas niedrigere IgA-Konzentrationen auf, als die frischen Kotproben.

4.1.1.2 Einfluss der Einfrierperiode auf den IgA-Gehalt im Kot

Auch die Einfrierdauer hatte keinen Einfluss auf die IgA-Konzentrationen im untersuchten Kot. Die Werte blieben dabei auch während längerer Einfrierperioden konstant. Selbst Lagerungszeiten von zwei oder drei Wochen, sowie ganz frische Verarbeitung ohne

vorheriges Einfrieren veränderten die IgA-Konzentration gegenüber der Verarbeitung nach einigen Tagen oder einer Woche nicht.

4.1.1.3 Ermittlung eines Normwerts für die IgA-Konzentration im Kot von Pferden anhand der Kontrollgruppe

In der Kontrollgruppe wurde insgesamt der Kot von elf Pferden untersucht (n = 11). Die mittlere IgA-Konzentration im Kot der Kontrollgruppen-Pferde betrug 0,30 OD₄₅₀ (± s 0,11). Dabei zeigte Pferd Nr. 11 die höchsten Werte mit im Mittel 0,57 OD₄₅₀ (siehe Tab. 4.2).

Tab. 4.2: Die Kot-IgA-Konzentrationen im Kot der Pferde aus der Kontrollgruppe (gemessen in OD₄₅₀)

Pferd Nr.	Probe 1 (in OD ₄₅₀)	Probe 2 (in OD ₄₅₀)	Probe 3 (in OD ₄₅₀)	Mittelwert (in OD ₄₅₀)
K1	0,39	0,31	0,33	0,34
K2	0,25	0,22	0,25	0,24
K3	0,31	0,24	0,40	0,32
K4	0,22	0,25	0,25	0,24
K5	0,25	0,26	0,27	0,26
K6	0,41	0,55	0,51	0,49
K7	0,34	0,32	0,36	0,34
K8	0,30	0,30	0,31	0,30
K9	0,29	0,23	0,22	0,24
K10	0,23	0,25	0,24	0,24
K11	0,47	0,59	0,64	0,57

4.1.1.4 Durchführung des ELISA mit anderen Sekreten

Der ELISA wurde ebenso mit Speichel und Tränenflüssigkeit durchgeführt. In diesen Sekreten waren ungleich höhere IgA-Konzentrationen messbar. Die Schwankungen verliefen parallel zu den IgA-Konzentrationen im Pferdekot. Der IgA-Gehalt in Speichel und Tränenflüssigkeit stieg aber nach dem Transport nicht so rapide an und war nach den Operationen nicht so stark erniedrigt wie im Kot und unterlag somit geringeren Schwankungen.

4.1.2 Untersuchungen zum zirkadianen Rhythmus der Kortisolkonzentration

Da geprüft werden sollte, ob es bei den in der Klinik eingestellten Pferden einen zirkadianen Rhythmus in der Kortisolsekretion gibt, wurde insgesamt sieben Pferden zu Beginn der Studie jeweils morgens (9.00 Uhr), nachmittags (14.00 Uhr) und abends (20.00 Uhr) Blut entnommen und die Kortisolkonzentrationen im Serum bestimmt. Es zeigte sich bei allen drei Entnahmen ein annähernd konstanter Wert (siehe Abb. 4.1).

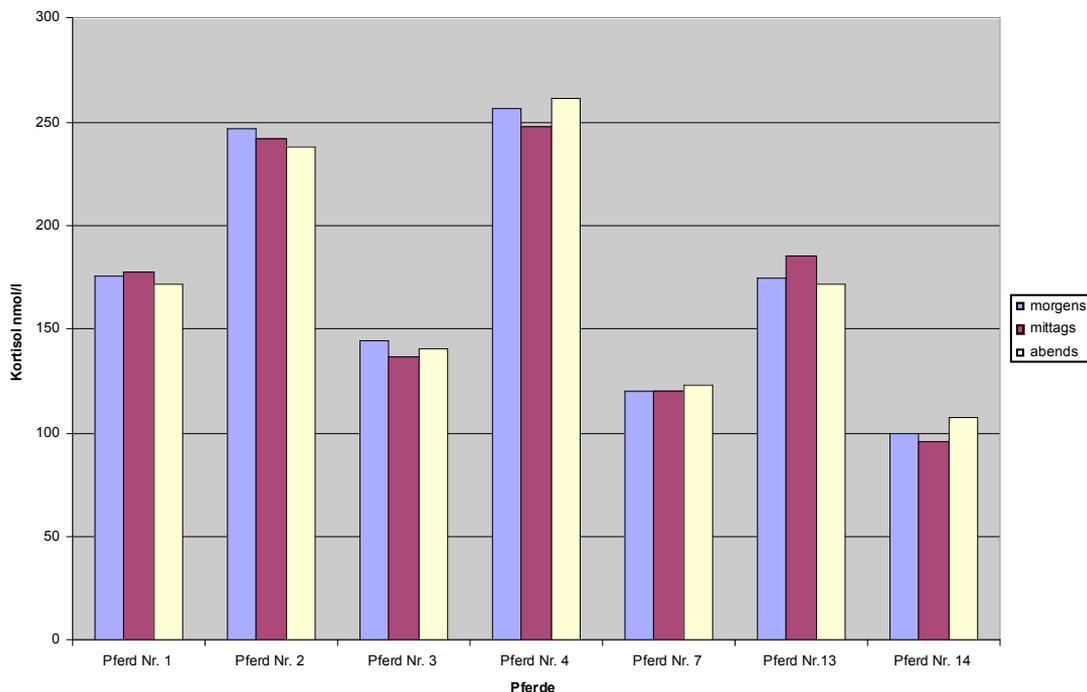


Abb. 4.1: Test zur zirkadianen Rhythmik des Kortisols bei in der Klinik eingestellten Pferden, Darstellung der Werte morgens um 9.00 Uhr, nachmittags um 14.00 Uhr und abends um 20.00 Uhr.

4.1.3 Ergebnisse der Blut- und Kotuntersuchungen der Kontrollgruppe (n = 14)

Damit herausgefunden werden konnte, ob es auch bei Pferden, die konstant in ihrem Heimatstall stehen, eine Veränderung oder Schwankung der Blutparameter und IgA-Konzentrationen im Kot gibt, wurde den Kontrolltieren ebenfalls Blut und Kot in definierten Abständen entnommen (siehe Kap. 3.2.3.1).

Dabei wurde festgestellt, dass die Kot-IgA-Konzentrationen immer im gleichen Bereich blieben [$\bar{X} = 0,30 \text{ OD}_{450}$, $s = \pm 0,11$; $n = 11$] (siehe Abb. 4.2) und nicht so stark schwankten wie bei den in der Klinik eingestellten Pferden (siehe Abb. 4.9).

Ergebnisse

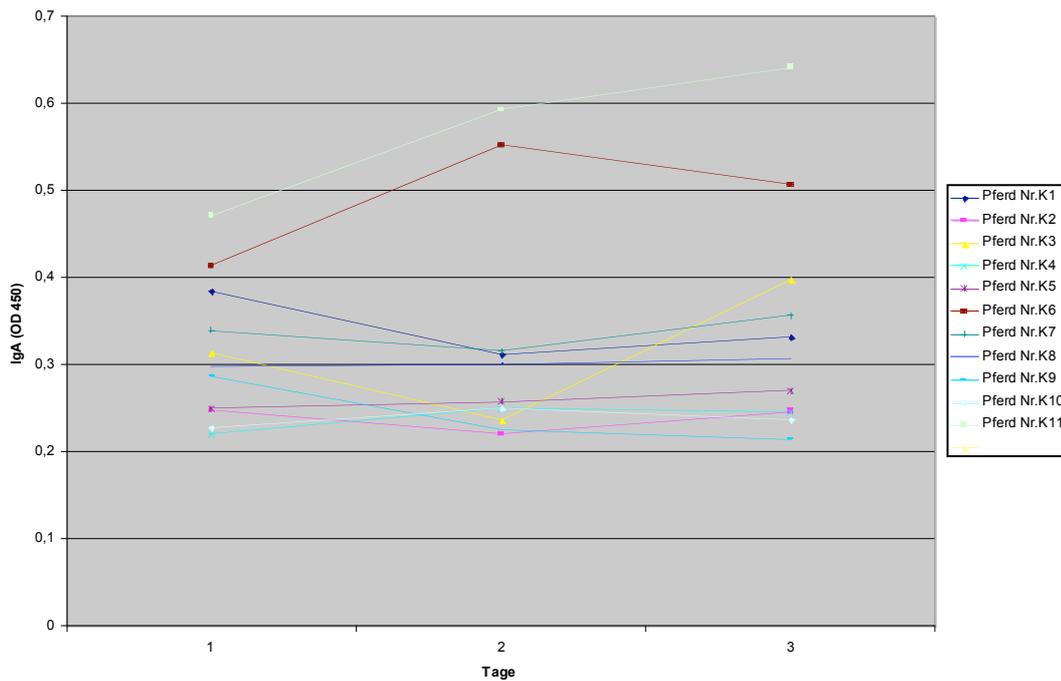


Abb. 4.2: Die IgA-Konzentrationen im Kot bei den Kontrollpferden an Tag 1, 3 und 7 jeweils morgens um 9.00 Uhr (gemessen in OD₄₅₀)

Die Kortisolwerte im Serum unterlagen bei den Kontrollpferden einem zirkadianen Rhythmus mit morgens höheren Werten (siehe Abb. 4.3).

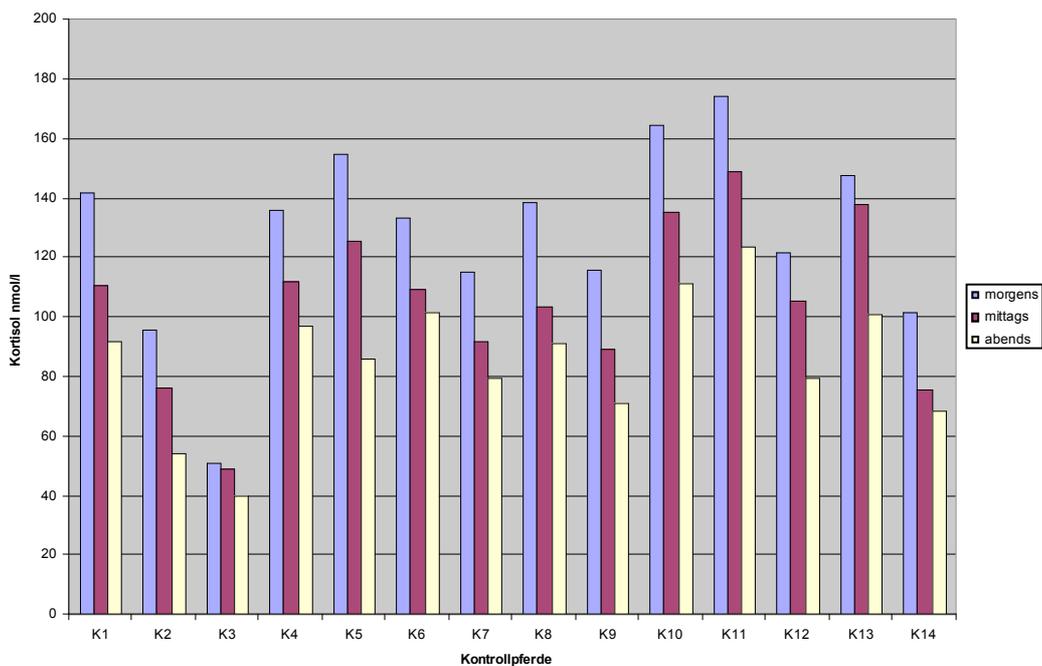


Abb. 4.3: Kortisolkonzentrationen bei den Kontrollpferden morgens um 9.00 Uhr, mittags um 14.00 Uhr und abends um 20.00 Uhr (in nmol/l).

Die Blutwerte dieser gesunden, nicht transportierten Kontrollgruppe wurden im folgenden mit den gesunden, transportierten Pferden verglichen, das heißt, Pferden, die beispielsweise für Kastrationen oder Kopper-Operationen in die Klinik eingeliefert wurden.

Dadurch bestand die Möglichkeit, festzustellen, inwieweit Hämatokrit, Gesamteiweiß, Leukozyten, das N:L-Verhältnis, Kortisol, Glukose, Laktat und die physiologischen Parameter bereits durch den Transport in die Klinik beeinflusst wurden.

4.2 Hauptversuch

4.2.1 Klinische Parameter

Bei allen Pferden, die in die Klinik für Pferde eingeliefert wurden, wurden im Zuge der Eingangs-Allgemeinuntersuchung verschiedene klinische Parameter bestimmt.

Zu ihnen gehörten die Körpertemperatur, Herzfrequenz und Atemfrequenz.

Bei der subjektiven Beurteilung der Schmerzen („Grad der Schmerzen“) fiel auf, dass die Temperatur signifikant mit dem Schmerzgrad angestiegen war (siehe Abb. 4.4).

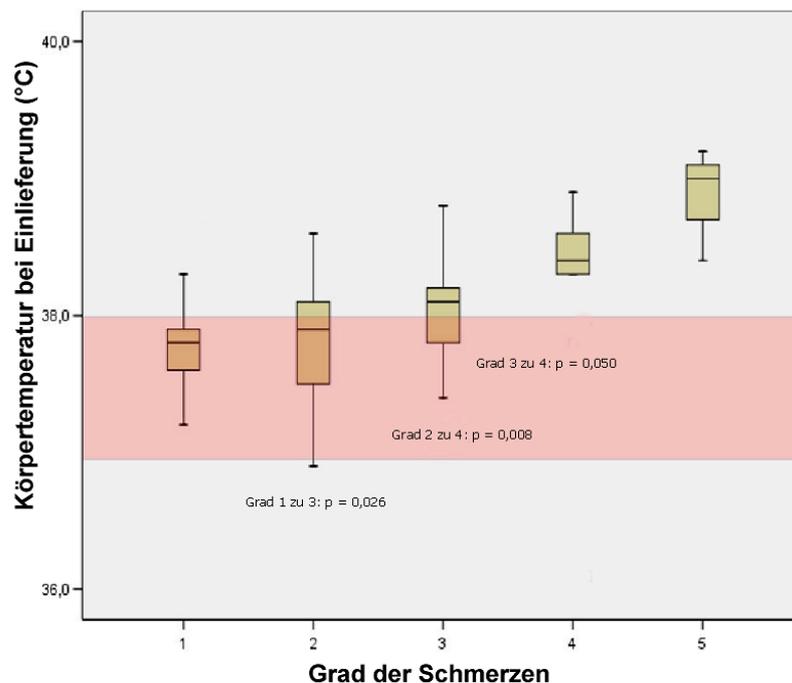


Abb. 4.4: Der Zusammenhang zwischen der Körpertemperatur und dem Grad der Schmerzen bei Einlieferung.

Signifikant sind die in der Graphik angegebenen Temperaturanstiege.

Rot unterlegt: Der Referenzbereich der Körpertemperatur beim Pferd nach WISSDORF et al. (2002).

Angaben in der Graphik sind die jeweiligen Medianwerte und die Minimum- und Maximumwerte der Pferde.

Demzufolge hatten Pferde mit stärkeren Schmerzen auch höhere Körpertemperaturen als Pferde, die weniger/keine Schmerzen hatten. Die Temperatur stieg bei den Pferden mit sehr großen Schmerzen (Schmerzgrad 5: $\bar{x} = 39,0^{\circ}\text{C}$; $s = \pm 0,42$; $n = 3$) um mehr als 1°C an im Vergleich mit den Pferden ohne Schmerzen (Schmerzgrad 1: $\bar{x} = 37,8^{\circ}\text{C}$; $s = \pm 0,26$; $n = 55$). Dieser Anstieg war höchstsignifikant ($p < 0,001$).

Die Pferde mit dem Schmerzgrad 4 ($n = 9$) wiesen im Mittel eine Temperatur von $\bar{x} = 38,4^{\circ}\text{C}$ ($s = \pm 0,87$) auf.

Des Weiteren zeigten die Pferde allein durch den Transport hochsignifikante Anstiege dieser klinischen Parameter (T-Test) (siehe Tab. 4.3).

Tab. 4.3: Veränderung der klinischen Parameter durch den Transport in die Klinik (n = Anzahl der Probanden; \bar{x} = Mittelwert; s = Standardabweichung).

	Signifikanz	Kontrollgruppe ($n = 14$)		Gesunde Pferde nach Transport ($n = 33$)	
		Mittelwert (\bar{x})	Standardabweichung (s)	Mittelwert (\bar{x})	Standardabweichung (s)
Temperatur ($^{\circ}\text{C}$)	$p = 0,005$	37,5	0,3	37,7	0,3
Atemfrequenz (Atemzüge/Min)	$p = 0,007$	12	2,3	16	7,1
Herzfrequenz (Schläge/Min)	$p = 0,002$	33	3,7	39	8,0

Auch wenn man die Pferde anhand des Ausmaßes der Störung des Allgemeinbefindens einteilte, fiel auf, dass die Pferde mit einer hochgradigen Störung des Allgemeinbefindens deutlich höhere Körpertemperaturen, Atemzüge pro Minute und Herzschläge pro Minute aufwiesen, als die Pferde mit einer geringen Störung des Allgemeinbefindens (siehe Abb. 4.5; 4.6; 4.7).

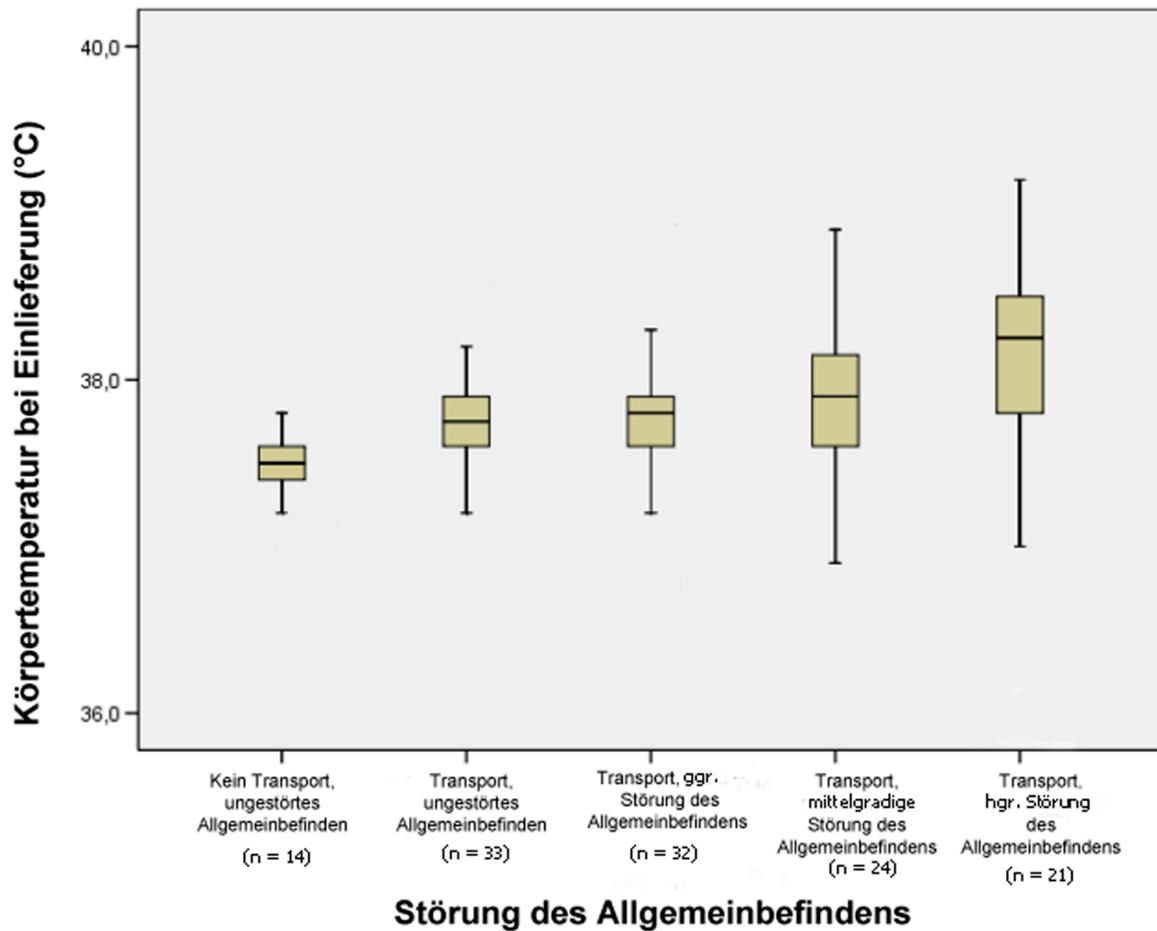


Abb. 4.5: Der Zusammenhang zwischen der Körpertemperatur (°C) und dem Ausmaß der Störung des Allgemeinbefindens bei transportierten und nicht transportierten Pferden.

Angegeben in der Graphik sind die jeweiligen Medianwerte und die Minimum- und Maximumwerte der Pferde.

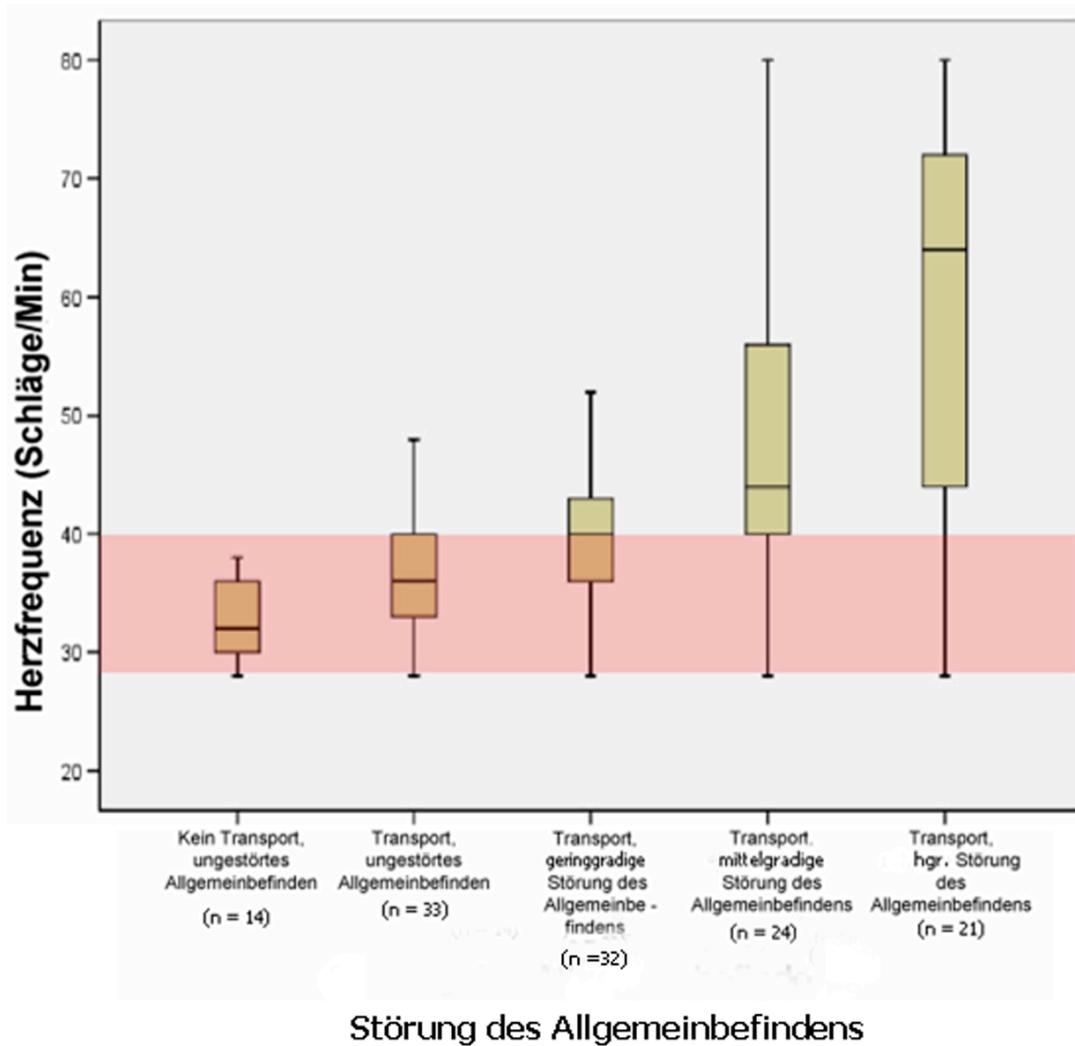


Abb. 4.6: Zusammenhang zwischen der Herzfrequenz (Schläge/Min) und dem Ausmaß der Störung des Allgemeinbefindens bei transportierten und nicht transportierten Pferden.

Rot unterlegt: Referenzbereich der Herzfrequenz beim Pferd nach DIETZ und HUSKAMP (1999) und WISSDORF et al. (2002). Angegeben in der Graphik sind die jeweiligen Medianwerte und die Minimum- und Maximumwerte der Pferde.

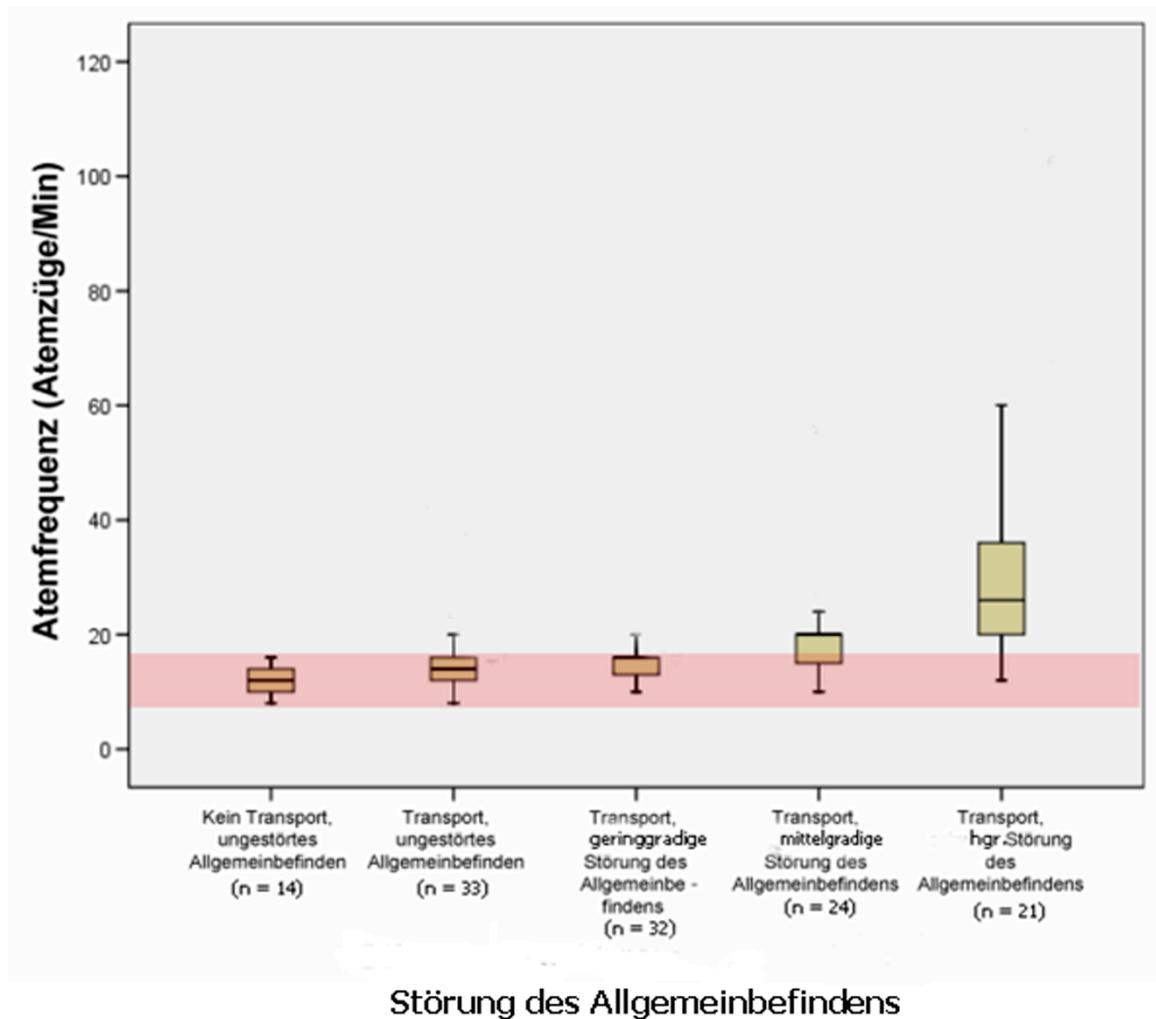


Abb. 4.7: Zusammenhang zwischen der Atemfrequenz (Atemzüge/Min) und dem Ausmaß der Störung des Allgemeinbefindens bei transportierten und nicht transportierten Pferden.

Rot unterlegt: Referenzbereich der Atemfrequenz beim Pferd nach WISSDORF et al. (2002).

Angegeben in der Graphik sind die jeweiligen Medianwerte und die Minimum- und Maximumwerte der Pferde.

Die Erhöhung der Herzfrequenz verhielt sich bei Betrachtung der verschiedenen Schmerzgrade ähnlich wie bei der Störung des Allgemeinbefindens. Je stärkere Schmerzen ein Pferd hatte, umso höher lag die Herzfrequenz (siehe Abb. 4.8).

Dabei hatten die Pferde, die wenig/gar keine Schmerzen zeigten ($n = 33$), eine Herzfrequenz von im Mittel 38 Schlägen pro Minute, während die Pferde mit sehr starken Schmerzen ($n = 23$) im Mittel 74 Schläge pro Minute, also fast doppelt so viele, aufwiesen.

Bei den Pferden mit wenig/gar keinen Schmerzen schwankte die Frequenz sehr stark, da einige durch Aufregung erhöhte Frequenzen aufwiesen.

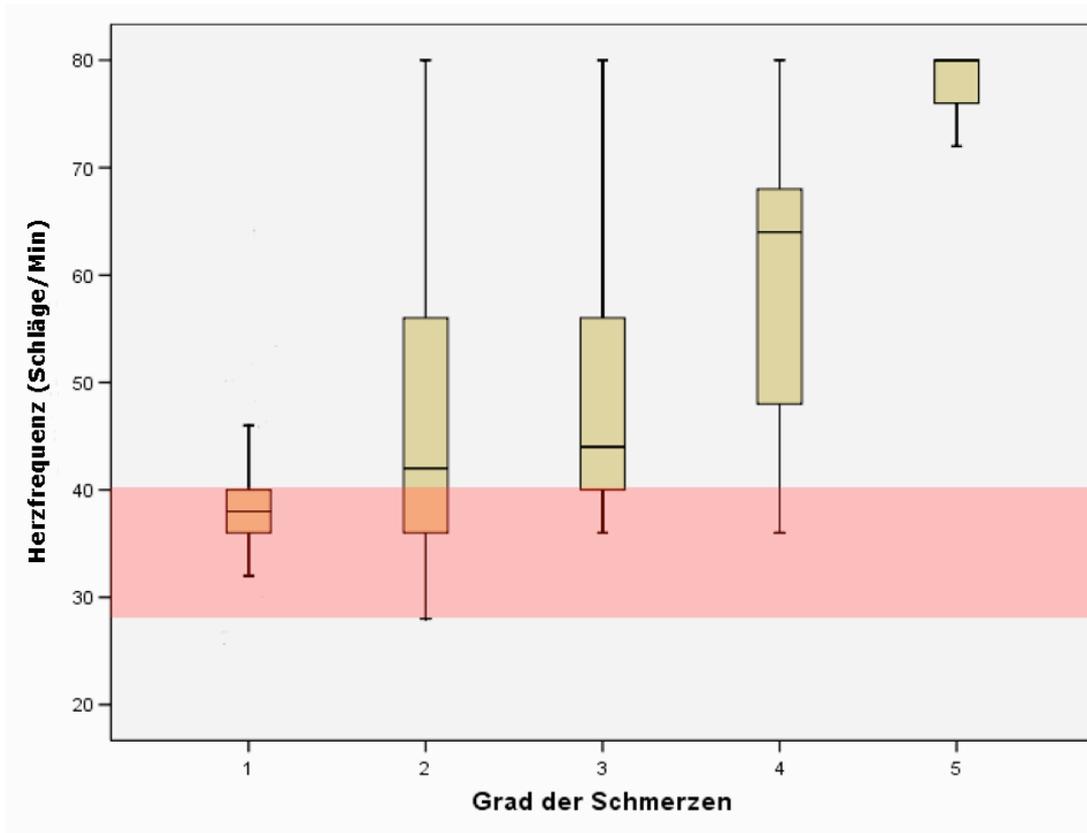


Abb. 4.8: Zusammenhang zwischen der Herzfrequenz (Schläge/Min) und dem Grad der Schmerzen bei Einlieferung.

Rot unterlegt: Referenzbereich der Herzfrequenz beim Pferd nach DIETZ und HUSKAMP (1999) und WISSDORF et al. (2002).

Angegeben in der Graphik sind die jeweiligen Medianwerte und die Minimum- und Maximumwerte der Pferde.

Die Atemfrequenz erhöhte sich bei den Pferden mit sehr starken Schmerzen ($n = 3$) um etwa das Doppelte gegenüber den Pferden ohne Schmerzen ($n = 33$). Mit im Mittel 34 Atemzügen/Minute lagen diese Pferde deutlich über dem für Pferde von DIETZ und HUSKAMP (1999) sowie WISSDORF und Mitarbeitern (2002) angegebenen Referenzbereich von 8 bis 16 Atemzügen/Minute. Der Parameter wies bei den Pferden mit wenigen bis leichten Schmerzen starke Variationen auf, da darunter auch die Pferde mit den schweren respiratorischen Erkrankungen zu finden waren (Pferd Nr. 84, Pferd Nr. 17, siehe Tab. im Anhang), die bei der Schmerzkategorisierung in die niedrigen Grade eingeteilt wurden (siehe Tab. 4.4).

Tab. 4.4: Atemfrequenzen in Abhängigkeit von dem Grad der Schmerzen (n = Anzahl der Probanden; \bar{x} = Mittelwert; s = Standardabweichung).

	Mittelwert (\bar{x})	Standardabweichung (s)
Schmerzgrad 1 ($n = 33$)	16 Atemzüge/Min	6,6
Schmerzgrad 5 ($n = 3$)	34 Atemzüge/Min	9,2

4.2.2 Charakter der Pferde

Bei den gesunden, transportierten Pferden gab es einige Unterschiede zwischen der Gruppe mit einem subjektiv beurteilten „ruhigen, gelassenen Naturell“ und denen, die eher dem „nervösen, sensiblen Typ“ entsprachen. Bei den nervösen Pferden wurden höhere Kortisolkonzentrationen im Serum und ein größerer Quotient des Verhältnisses der neutrophilen Granulozyten zu den Lymphozyten ermittelt. Dabei war aber nur die Differenz der Kortisolkonzentration statistisch signifikant (Levene-Test, $p = 0,016$).

Der Glukosegehalt im Serum und die IgA-Konzentrationen im Kot waren bei den Pferden mit dem nervösen Naturell dahingegen niedriger (siehe Tab. 4.5).

Tab. 4.5: Vergleich der Glukose- und Kortisolkonzentrationen im Serum sowie des Verhältnisses der neutrophilen Granulozyten zu den Lymphozyten und des IgA-Gehaltes im Kot von Pferden verschiedenen Charakters (T-Test).

(n = Anzahl der Probanden; \bar{x} = Mittelwert; s = Standardabweichung)

	Ruhiges Naturell (n = 18), ($\bar{x} \pm s$)	Nervöses Naturell (n = 15), ($\bar{x} \pm s$)	Signifikanz (Levene-Test)
Glukose Tag 1	6,1 mmol/l \pm s 1,2	6,0 mmol/l \pm s 1,2	p = 0,984
Kortisol Tag 1	132,1 nmol/l \pm s 46,1	195,7 nmol/l \pm s 91,3	p = 0,016
IgA Tag 1	0,32 OD ₄₅₀ \pm s 0,18	0,27 OD ₄₅₀ \pm s 0,11	p = 0,303
Verhältnis neutrophiler Granulozyten zu Lymphozyten	2,7 \pm s 1,3	2,9 \pm s 5	p = 0,447

4.2.3 IgA-Gehalt im Kot

Bei der Bestimmung des IgA-Gehalts im Kot wurde ein Abfall der lokalen IgA-Konzentration in den ersten Tagen nach dem Stressor (beispielsweise Operation) mit anschließendem Wiederanstieg erwartet. Es zeigte sich, dass dieses Phänomen nach der Operation auch eintrat, die lokale Immunglobulinkonzentration bei den meisten Pferden während der ersten Tage in der Klinik aber zunächst anstieg.

Nach dem Transport entsprach die IgA-Konzentration bei den gesund eingelieferten Pferden annähernd der der Kontrollpferde (gesunde, transportierte Pferde: $\bar{X} = 0,33$ OD₄₅₀, s = $\pm 0,20$; n = 18; Kontrollpferde: $\bar{X} = 0,31$ OD₄₅₀, s = $\pm 0,08$, n = 11) [T-Test, p = 0,707].

Die IgA-Konzentration im Kot stieg zunächst im Anschluss an den Transport (siehe Abb. 4.9). Der Anstieg auf $\bar{X} = 0,53 \text{ OD}_{450}$ ($s = \pm 0,14$; $n = 12$) war bei allen Pferden, die für leichte Operationen vorgesehen waren, hochsignifikant (T-Test, $p = 0,008$).

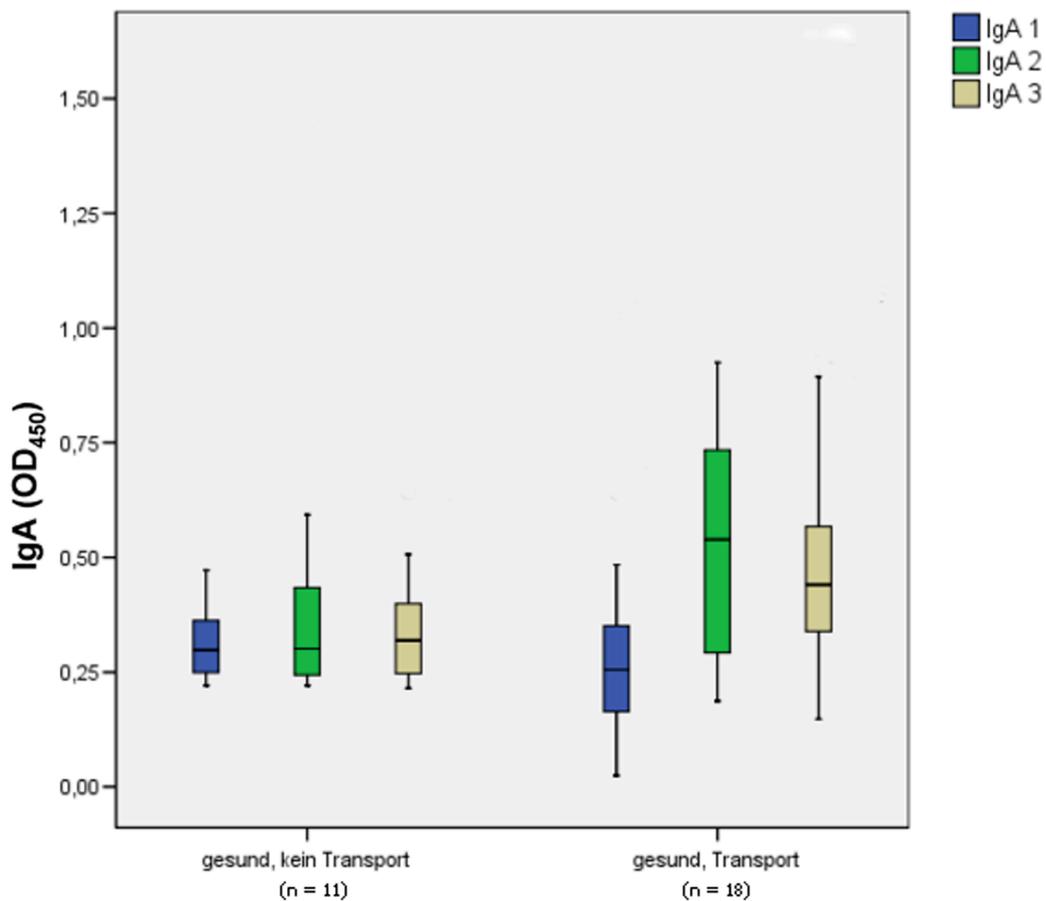


Abb. 4.9: Der IgA-Gehalt im Kot bei Pferden, die ein ungestörtes Allgemeinbefinden hatten und transportiert bzw. nicht transportiert wurden. Bei den Pferden, die in die Klinik transportiert wurden, wurde am Tag der Einlieferung, einen Tag danach und am Tag vor der Operation Kot entnommen (bzw. gleiche Abstände bei den nicht transportierten Pferden der Kontrollgruppe) (Mann-Whitney-Test).

Angegeben in der Graphik sind die jeweiligen Medianwerte und die Minimum- und Maximumwerte der Pferde.

Einen Tag nach leichten Operationen wiesen die Pferde mit $\bar{X} = 0,19 \text{ OD}_{450} \pm s 0,09$ ($n = 34$) deutlich niedrigere Werte als vor der Operation auf. Nach drei Tagen stiegen die Werte wieder auf $\bar{X} = 0,44 \text{ OD}_{450} \pm s 0,28$ ($n = 30$) (siehe Abb. 4.10).

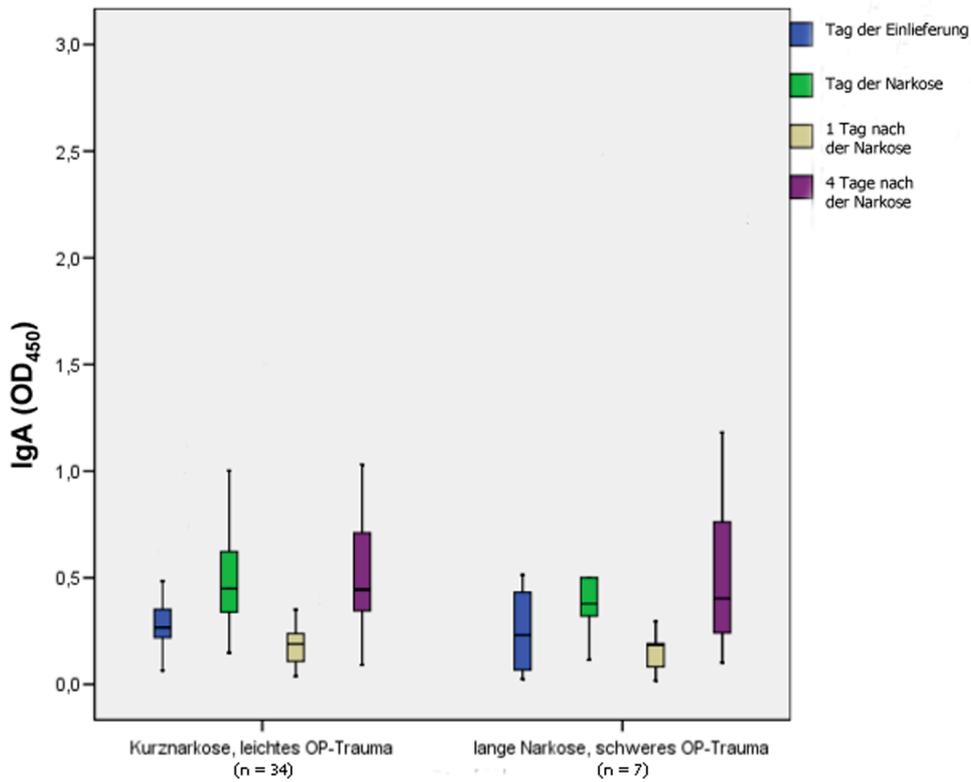


Abb. 4.10: Der Kot-IgA-Gehalt im Verlauf der verschiedenen Operationen (gemessen in OD₄₅₀). Der Konzentrationsabfall einen Tag nach der Narkose war in beiden Fällen signifikant ($p < 0,001$ bzw. $p = 0,043$).

Angegeben in der Graphik sind die jeweiligen Medianwerte und die Minimum- und Maximumwerte der Pferde.

Die IgA-Konzentrationen sanken signifikant ($p < 0,001$ nach kurzer Narkose, $p = 0,043$ nach langer Narkose) unabhängig von dem Operationstrauma, dem die Pferde ausgesetzt waren (Wilcoxon-Test; siehe Abb. 4.10). Im Mittel betrugen sie $\bar{X} = 0,18 \text{ OD}_{450}$ ($s = \pm 0,15$, $n = 7$) nach langer Narkose und schwerem Operationstrauma.

Zwei Pferde (Nr. 40 und Nr. 78) wurden nur einer Narkose im Rahmen einer Magnetresonanztomographie (MRI) unterzogen. Auch hier zeigte sich ein deutlicher IgA-Abfall nach der Allgemeinanästhesie.

Tab. 4.6: IgA-Konzentrationen von zwei Pferden, die nur in Narkose gelegt, aber nicht operiert wurden (gemessen in OD₄₅₀)

Pferd Nr.	IgA-Konzentration vor der Operation (in OD ₄₅₀)	IgA-Konzentration einen Tag nach der Operation (in OD ₄₅₀)	IgA-Konzentration vier Tage nach der Operation (in OD ₄₅₀)
40	0,46	0,10	0,32
78	1,58	0,08	0,55

Der Grad der Schmerzen schien einen gewissen Einfluss auf die IgA-Konzentration zu haben. So war bei den Pferden, die mit dem Schmerzgrad 4 in die Klinik eingeliefert wurden ($n = 3$), der IgA-Gehalt im Kot nach dem Transport mit im Mittel $\bar{x} = 0,09 \text{ OD}_{450}$ ($s = \pm 0,05$) niedriger als bei den Pferden mit dem Schmerzgrad 3 ($\bar{x} = 0,14 \text{ OD}_{450}$; $s = \pm 0,14$; $n = 7$).

Pferde mit dem Schmerzgrad 1 ($n = 29$) wiesen nach dem Transport mittlere IgA-Konzentrationen von $0,27 \text{ OD}_{450}$ auf ($s = \pm 0,14$) (siehe Abb. 4.11). Innerhalb aller Schmerzgrade waren die Unterschiede signifikant ($p = 0,013$; Kruskal-Wallis-Test). Beim Einzel-Gruppen-Vergleich stellte sich heraus, dass nur der Unterschied zwischen Grad 2 und Grad 4 statistisch signifikant war ($p = 0,040$).

Die Werte der schwerer erkrankten Tiere zeigten auch nach einigen Tagen Klinikaufenthalt und im Anschluss an die Operation die Tendenz, niedriger zu bleiben bzw. weniger stark zu steigen als bei den Pferden mit weniger starken Erkrankungen.

Da die Pferde mit dem Schmerzgrad 5 im Allgemeinen Koliker waren, die sofort nach Ankunft operiert wurden, waren bei ihnen die Messung bei Einlieferung und die Messung vor der Operation identisch.

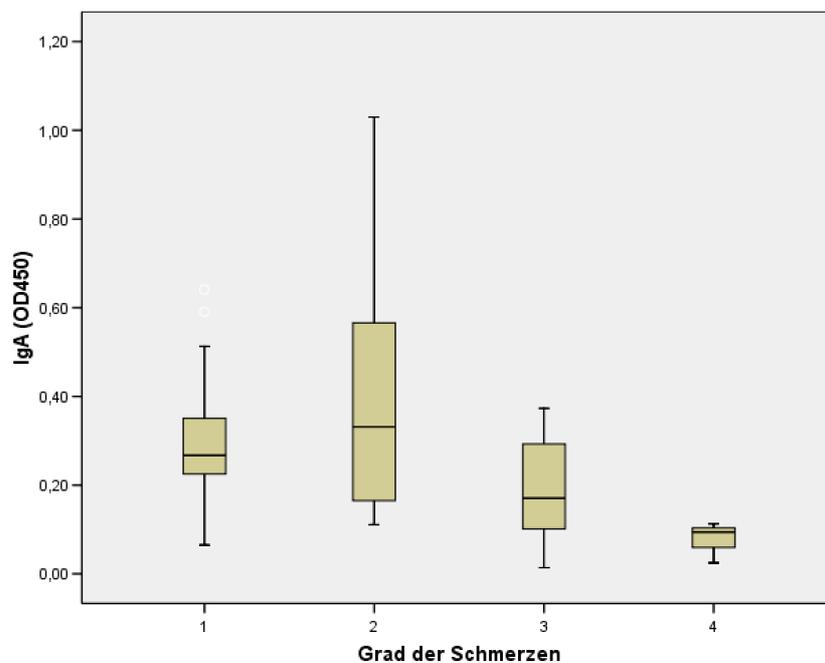


Abb. 4.11: Der IgA-Gehalt im Kot in Abhängigkeit vom Grad der Schmerzen der Pferde (gemessen in OD_{450}). Angegeben in der Graphik sind die jeweiligen Medianwerte und die Minimum- und Maximumwerte der Pferde.

Um festzustellen, welchen Einfluss die Serum-Kortisolkonzentration auf den IgA-Gehalt im Kot bei den Pferden ($n = 45$) hatte, wurde die Korrelation der beiden Parameter berechnet (siehe Abb. 4.12). Hierbei war die Korrelation allerdings sehr gering (0,113). Der signifikanteste Zusammenhang bestand dabei am Tag nach der leichten Operation: Je höher die Kortisolkonzentration nach der Operation war, desto niedriger waren die IgA-Werte im Kot (Korrelation nach Spearman, $p = 0,012$).

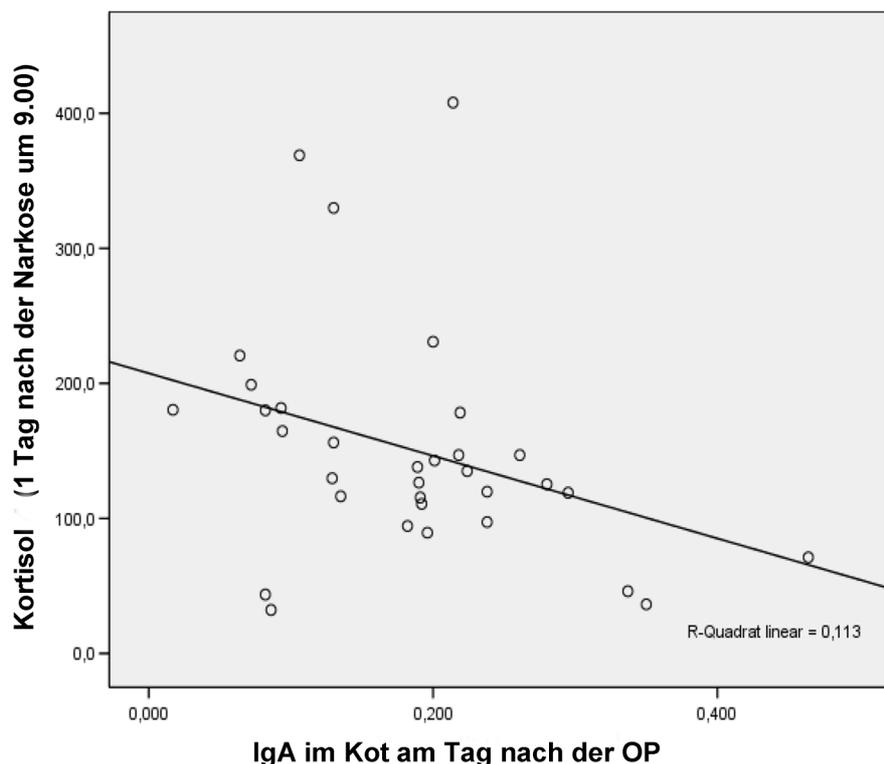


Abb. 4.12: Die Korrelation zwischen dem Serum-Kortisol-Gehalt (nmol/l) und dem Kot-IgA-Gehalt (OD_{450}) am Tag nach der leichten Operation.

Fälle außerhalb der Statistik

Bei den verschiedenen Darmerkrankungen schwankten die IgA-Konzentrationen insgesamt sehr stark. Einige Pferde hatten auffallend hohe IgA-Werte bereits bei Einstallung in die Klinik (Pferd Nr. 59 mit einer Torsio coli, IgA-Gehalt von 2,60 OD_{450}) (siehe Abb. 4.14).

Bei Pferd Nr. 89, das an Colitis X erkrankte, waren die IgA-Konzentrationen im Kot vor Auftreten der Erkrankung sehr niedrig (0,01 OD_{450}), erhöhten sich dann aber im Krankheitsverlauf auf 3,20 OD_{450} , um danach wieder auf 0,11 OD_{450} abzusinken. Der gleiche Verlauf trat bei Pferd Nr. 69 (Zäkumtympanie) auf, als eine Peritonitis hinzukam. Die Werte

stiegen in diesem Fall von 0,14 OD₄₅₀ auf 1,41 OD₄₅₀ (siehe Abb. 4.13). Bei Pferd Nr. 51, das mit einer Colitis eingeliefert wurde, waren die Konzentrationen anfangs ebenfalls hoch (0,93 OD₄₅₀), sanken dann aber ab auf 0,12 OD₄₅₀, um auch nach der durchgeführten Laparotomie auf einem niedrigen Level zu bleiben (0,09 OD₄₅₀) (siehe Abb. 4.13).

Nach der Operation stiegen die IgA-Konzentrationen bei einigen Pferden steil an. Ein gutes Beispiel dafür ist Pferd Nr. 82 (*Lipoma pendulans*). Die IgA-Werte stiegen in diesem Fall von 0,18 OD₄₅₀ bei Einlieferung auf 2,11 OD₄₅₀ nach der Operation (siehe Abb. 4.14). Bei anderen Pferden, die an intestinalen Erkrankungen litten, blieben die IgA-Konzentrationen konstant niedrig [Pferd Nr. 33 (*Hernia inguinalis incarcerata*, $\bar{x} = 0,09$ OD₄₅₀), Pferd Nr. 49 (*Obstipatio ilei*, $\bar{x} = 0,15$ OD₄₅₀)] (siehe Abb. 4.13 und 4.14).

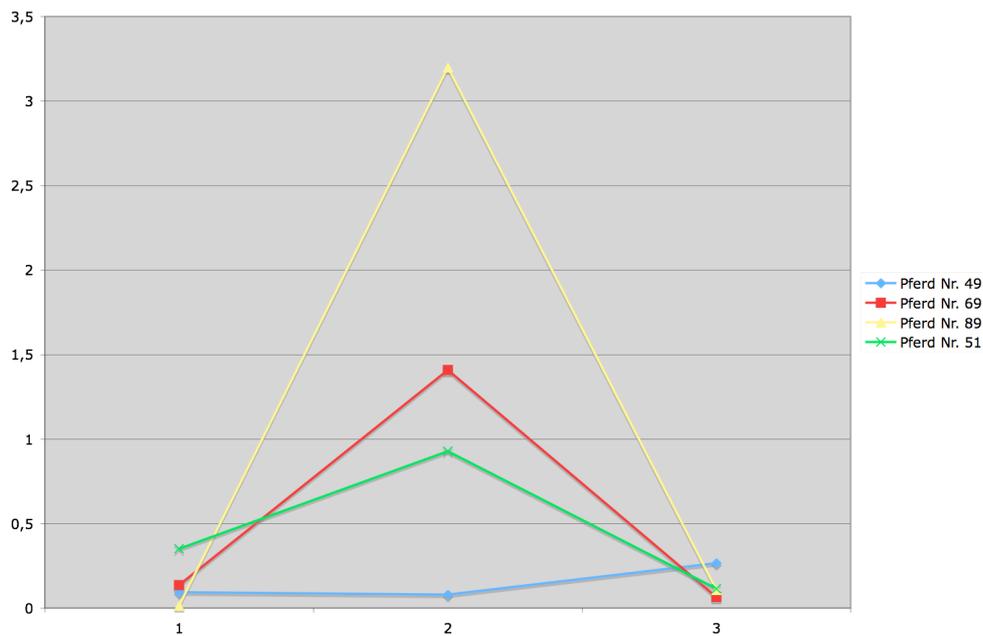


Abb. 4.13: Der Kot-IgA-Gehalt bei verschiedenen Pferden mit schweren intestinalen Erkrankungen (gemessen in OD₄₅₀). (1 = Probe nach Einlieferung; 2 = Probe am Tag 3; 3 = Probe am Tag 7).

Tab. 4.7: Der IgA-Gehalt im Kot bei Pferden mit unterschiedlichen intestinalen Erkrankungen (gemessen in OD₄₅₀). (Tag 1 = Probe nach Einlieferung; Tag 2 = Probe 2 Tage später; Tag 3 = Probe am Tag7)

Pferd Nr.	IgA Tag1 (in OD ₄₅₀)	IgA Tag3 (in OD ₄₅₀)	IgA Tag7 (in OD ₄₅₀)
49	0,09	0,08	0,27
51	0,35	0,93	0,12 → Tag4: 0,09
69	0,14	1,41	0,07
89	0,01	3,20	0,12

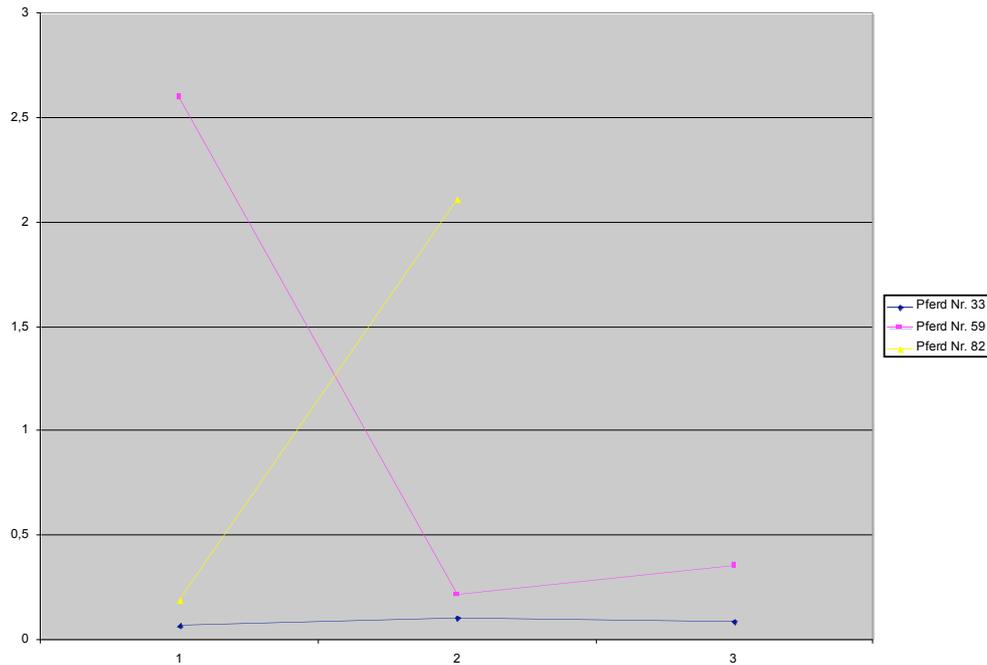


Abb. 4.14: Der Kot-IgA-Gehalt bei drei Pferden mit schweren intestinalen Erkrankungen (gemessen in OD₄₅₀).
(1 = Probe nach Einlieferung; 2 = Probe am Tag 3; 3 = Probe am Tag 7)

Tab. 4.8: Der IgA-Gehalt im Kot bei Pferden mit unterschiedlichen intestinalen Erkrankungen (gemessen in OD₄₅₀).

Pferd Nr.	IgA Tag1 (OD ₄₅₀)	IgA Tag3 (OD ₄₅₀)	IgA Tag7 (OD ₄₅₀)
33	0,06	0,10	0,09
59	2,60	0,21	0,36
82	0,18	2,11	/

4.2.4 Rotes Blutbild

Das „Rote Blutbild“ änderte sich bei den untersuchten Pferden im Verlauf des Klinikaufenthalts nicht. Nach dem Transport zeigten die Pferde geringgradig erhöhte Hämatokrit-Werte [$\bar{x} = 0,36$ l/l bei den gesund transportierten Pferden (n = 33), im Vergleich mit $\bar{x} = 0,34$ l/l bei den nicht transportierten Pferden (n = 14)]. Dieser Unterschied war aber nicht signifikant (T-Test, p = 0,247).

Bei den Pferden, die mit sehr schwerer Störung des Allgemeinbefindens in die Klinik eingeliefert wurden (n = 21), war ein weiterer Anstieg des Hämatokrits auf im Mittel 0,38 l/l zu vermerken. Die Werte schwankten dabei stark (s = ± 8,4).

Des Weiteren war nach der Operation bei den in dieser Studie untersuchten Pferden ein höchstsignifikanter Abfall des Hämatokrits festzustellen, der auf die intraoperativ verabreichten Infusionen zurückgeführt wurde. So zeigten die Pferde ($n = 59$) vor den leichten Operationen einen durchschnittlichen Hämatokrit-Wert von $0,35 \text{ l/l}$ ($s = \pm 5,2$) und nach der Operation im Mittel $0,31 \text{ l/l}$ ($s = \pm 4,4$; T-Test, $p < 0,001$).

4.2.5 Gesamteiweiß

Das Gesamteiweiß entsprach bei den schwer kranken Pferden ($n = 21$), die gleichzeitig eine Hämokonzentration, also einen erhöhten Hämatokrit-Wert aufwiesen, zum Zeitpunkt der Einlieferung mit im Mittel 68 g/l ($s = \pm 1,28$) der Konzentration der Kontrollpferde. Diese wiesen ebenfalls eine Gesamteiweißkonzentration von im Mittel 68 g/l ($s = \pm 0,45$) auf ($n = 14$).

Bei den gesunden Pferden ($n = 33$) war der Gesamteiweißgehalt im Serum niedriger (im Mittel 66 g/l ; $s = \pm 0,55$) als bei den Kontrollpferden. Das Ergebnis war allerdings nicht signifikant (T-Test, $p = 0,220$).

Bei allen Pferden sank die Gesamteiweißkonzentration nach der Operation durch die verabreichten Infusionen höchstsignifikant ab (T-Test, $p < 0,001$). Sie betrug bei den Pferden, an denen eine leichte Operation durchgeführt wurde ($n = 58$), vor der Narkose im Mittel 64 g/l ($s = \pm 0,62$) und sank nach der Operation auf durchschnittlich 60 g/l ($s = \pm 0,6$).

4.2.6 Weißes Blutbild

4.2.6.1 Gesamtleukozyten

Die Leukozyten wurden unter normalen Umständen in der I. Medizinischen Tierklinik der LMU bestimmt. Bei Notfällen wurde auch ein Gerät aus der Chirurgischen Tierklinik verwendet. Die Geräte wurden bei den ersten zehn Patienten parallel verwendet und zeigten annähernd gleiche Ergebnisse.

Je nach Schwere der Erkrankung waren die Leukozyten deutlich erhöht. Dabei fiel vor allem auf, dass bereits nach dem Transport die Leukozytenzahlen hochsignifikant (T-Test, $p = 0,003$) höher lagen [$\bar{X} = 6,8$ G/l (6750 Leukozyten/ μl , $s = \pm 1,8$) bei Pferden ohne Transport ($n = 14$), $\bar{X} = 8,7$ G/l (8747 Leukozyten/ μl , $s = \pm 2,1$) bei den transportierten, gesunden Pferden ($n = 33$)]. Die Pferde mit einer geringgradigen Störung des Allgemeinbefindens ($n = 32$) hatten annähernd gleiche Mittelwerte (8,3 G/l bzw. 8320 Leukozyten/ μl ; $s = \pm 2,9$). Pferde mit einer mittelgradigen Störung des Allgemeinbefindens ($n = 24$) hatten dahingegen stark erhöhte Gesamtleukozyten im Blut ($\bar{X} = 10,8$ G/l bzw. 10750 Leukozyten/ μl ; $s = \pm 2,6$). Diejenigen, die eine hochgradige Störung des Allgemeinbefindens zeigten ($n = 21$), hatten mit im Mittel 11,0 G/l (11000 Leukozyten/ μl , $s = \pm 4500$) annähernd gleich hohe Werte. Bei den Pferden mit hochgradiger Störung des Allgemeinbefindens streuten die Werte relativ stark (siehe Abb. 4.15).

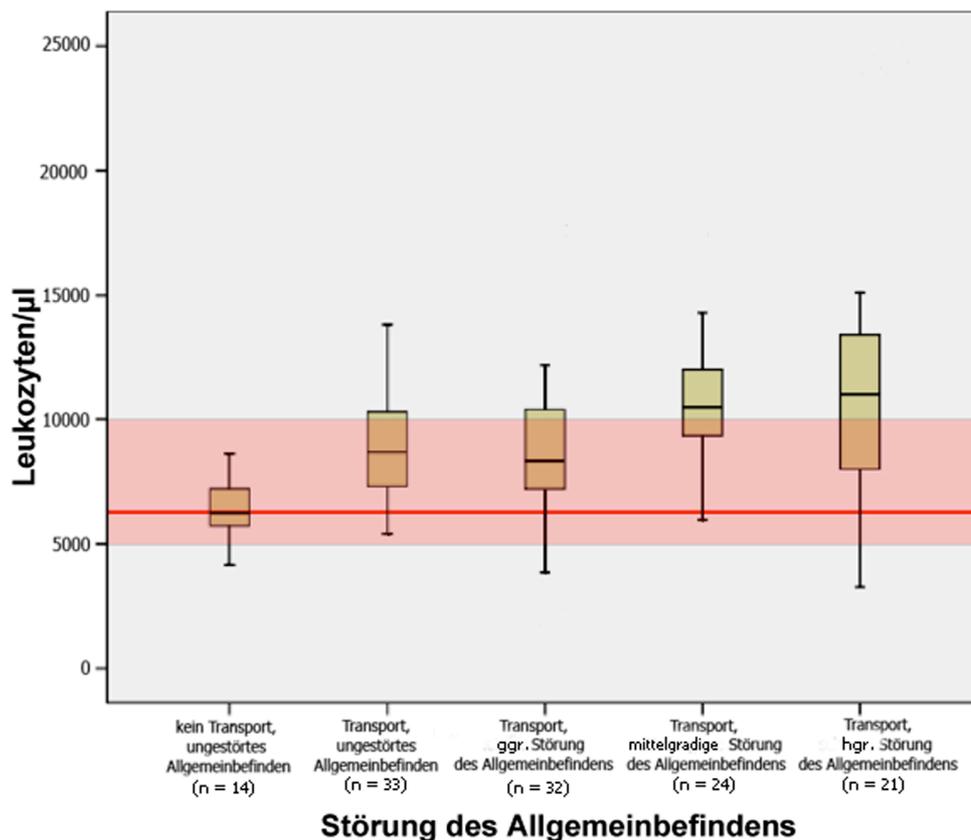


Abb. 4.15: Leukozytenzahlen bei Pferden mit unterschiedlichem Allgemeinbefinden mit und ohne vorhergegangenen Transport.

Rot unterlegt: Referenzbereich der Leukozytenkonzentrationen beim Pferd nach der DEUTSCHEN VETERINÄRMEDIZINISCHEN GESELLSCHAFT (1982).

Rote Linie: Mittlere Leukozytenkonzentration der Kontrollpferde.

Angegeben in der Graphik sind die jeweiligen Medianwerte und die Minimum- und Maximumwerte der Pferde.

Außerdem war auffällig, dass die Pferde mit einer geringgradigen Störung des Allgemeinbefindens ($n = 32$) im Mittel niedrigere Leukozytenzahlen (8,3 G/l bzw. 8320 Leukozyten/ μ l) aufwiesen, als diejenigen, die gesund in die Klinik transportiert wurden ($\bar{X} = 8,7$ G/l bzw. 8747 Leukozyten/ μ l; $n = 33$). Bei den gesund eingelieferten Pferden handelte es sich im Allgemeinen um junge, bisher wenig transportierte Tiere, die beispielsweise zur Kastration in die Klinik gebracht wurden.

Bei den gesund eingelieferten Tieren ging der Leukozytengehalt bis zum Tag der Operation hochsignifikant zurück ($\bar{X} = 7,4$ G/l bzw. 7364 Leukozyten/ μ l; $s = \pm 2170$; $n = 33$; T-Test, $p = 0,001$). Damit entsprachen die Konzentrationen wieder annähernd denen der gesunden, nicht transportierten Pferde [$\bar{X} = 6,8$ G/l bzw. 6750 Leukozyten/ μ l bei der Kontrollgruppe ($n = 14$)].

Einen höchstsignifikanten Anstieg (T-Test; $p < 0,001$) zeigten die Leukozytenzahlen nach der Aufstehphase nach leichten Operationen (siehe Tab. 4.9).

Tab. 4.9: Leukozytenzahlen vor und nach der Aufstehphase bei Pferden, die leichten Operationen unterzogen wurden ($n = 59$). (n = Anzahl der Probanden; \bar{x} = Mittelwert; s = Standardabweichung)

	Mittelwert (\bar{x})	Standardabweichung (s)
Leukozytenzahl/ μ l vor Aufstehphase	7922 (bzw. 7,9 G/l)	2560 bzw. 2,6
Leukozytenzahl/ μ l nach Aufstehphase	8335 (bzw. 8,3 G/l)	2583 bzw. 2,6

4.2.6.2 Differentialblutbild

4.2.6.2.1 Verhältnis neutrophiler Granulozyten zu Lymphozyten

Bei der Auswertung des Differentialblutbildes fiel eine Erhöhung der neutrophilen Granulozyten bereits nach dem Transport bei den gesund eingelieferten Pferden auf. Dabei kam es zu Verschiebungen des Verhältnisses der neutrophilen Granulozyten zu Lymphozyten (N:L-Verhältnis), ausgelöst durch die vermehrten neutrophilen Granulozyten und eine transiente Lymphopenie nach Belastung.

Bei den gesunden, transportierten Pferden war das Verhältnis neutrophiler Granulozyten zu Lymphozyten im Vergleich zur Kontrollgruppe bereits nach dem Transport signifikant höher [nicht transportierte Pferde: $\bar{x} = 1,5$ ($s = \pm 0,6$; $n = 14$), transportierte, gesunde Pferde: $\bar{x} = 2,8$ ($s = \pm 1,4$; $n = 33$)(T-Test, $p = 0,015$)].

Das N:L-Verhältnis der gesunden, transportierten Pferde sank vor der Operation auf einen Mittelwert von 2,4 ($n = 33$). Der Abfall zeigte aber nur eine Tendenz, da er statistisch nicht signifikant war (T-Test, $p = 0,915$). Wurden diese gesunden Pferde operiert, beispielsweise um kastriert zu werden, fiel auf, dass der primäre Anstieg des N:L-Verhältnisses direkt nach der Operation und der im weiteren Verlauf folgende Abfall träger vonstatten gingen als der Verlauf des Kortisolspiegels (siehe Kap. 4.2.7).

Das N:L-Verhältnis stieg erst einen Tag nach der Operation an, um sich nach spätestens vier Tagen wieder zu normalisieren.

Tab. 4.10: Das N:L-Verhältnis im Verlauf bei gesund eingelieferten und in der Klinik operierten Pferden ($n = 12$).

($n =$ Anzahl der Probanden; $\bar{x} =$ Mittelwert; $s =$ Standardabweichung)

	Mittelwert (\bar{x})	Standardabweichung (s)
N:L nach der Einlieferung	2,8	1,4
N:L vor der Operation	2,4	1,7
N:L direkt nach der Aufstehphase	2,5	2,3
N:L einen Tag nach der Operation	2,7	1,8
N:L vier Tage nach der Operation	1,4	1,5

Teilt man die Pferde nach der Schwere des Operationstraumas ein, fällt auf, dass nach leichten Operationen das N:L-Verhältnis höchstsignifikant stieg (T-Test, $p < 0,001$), von vor der Operation im Mittel 2,3 ($s = \pm 2,0$) auf 2,8 ($s = \pm 1,5$) nach der Aufstehphase ($n = 18$) (siehe Abb. 4.16).

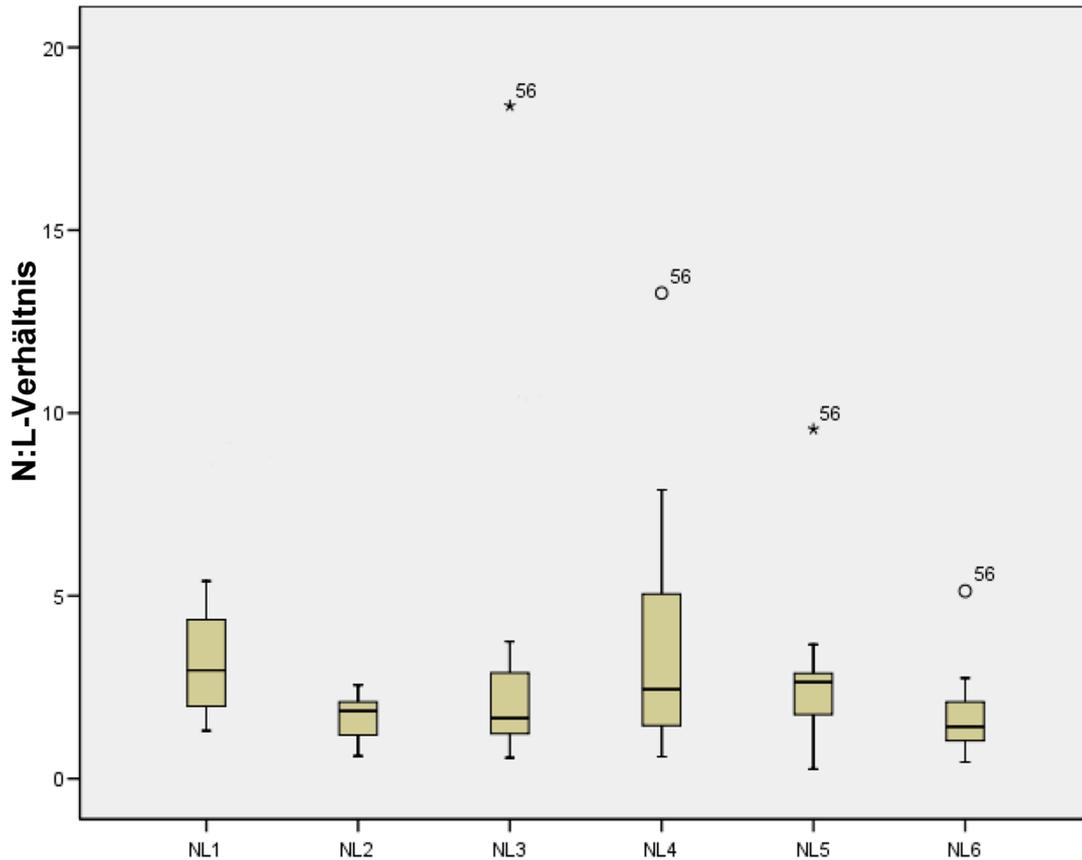


Abb. 4.16: Verhältnis der neutrophilen Granulozyten zu Lymphozyten vor und nach leichten Operationen (NL1 = Tag der Einlieferung, NL2 = 2. Tag, NL3 = morgens vor der OP, NL4 = direkt nach der Aufstehphase, NL5 = 1 Tag nach der OP, NL6 = 4 Tage nach der OP).

Angegeben in der Graphik sind die jeweiligen Medianwerte und die Minimum- und Maximumwerte der Pferde.

Der Unterschied in der Höhe des N:L-Verhältnisses zwischen den gesund operierten Pferden und denen, die leichten Operationen unterzogen worden waren, ergab sich daraus, dass zur Berechnung der leichten Operationen auch Pferde einbezogen wurden, die bei Einlieferung nicht gesund waren.

Betrachtet man das anhand einer Tabelle subjektiv beurteilte Allgemeinbefinden der verschiedenen Pferde bei Einlieferung in die Klinik, so fällt auf, dass die Pferde mit hochgradiger Störung des Allgemeinbefindens (beispielsweise Koliker, die zur sofortigen Operation eingeliefert wurden) insgesamt ein geringeres N:L-Verhältnis hatten (im Mittel bei 4,5; n = 21) als die Pferde mit mittelgradiger Störung des Allgemeinbefindens (im Mittel bei 5,8; n = 22) (siehe Abb. 4.17).

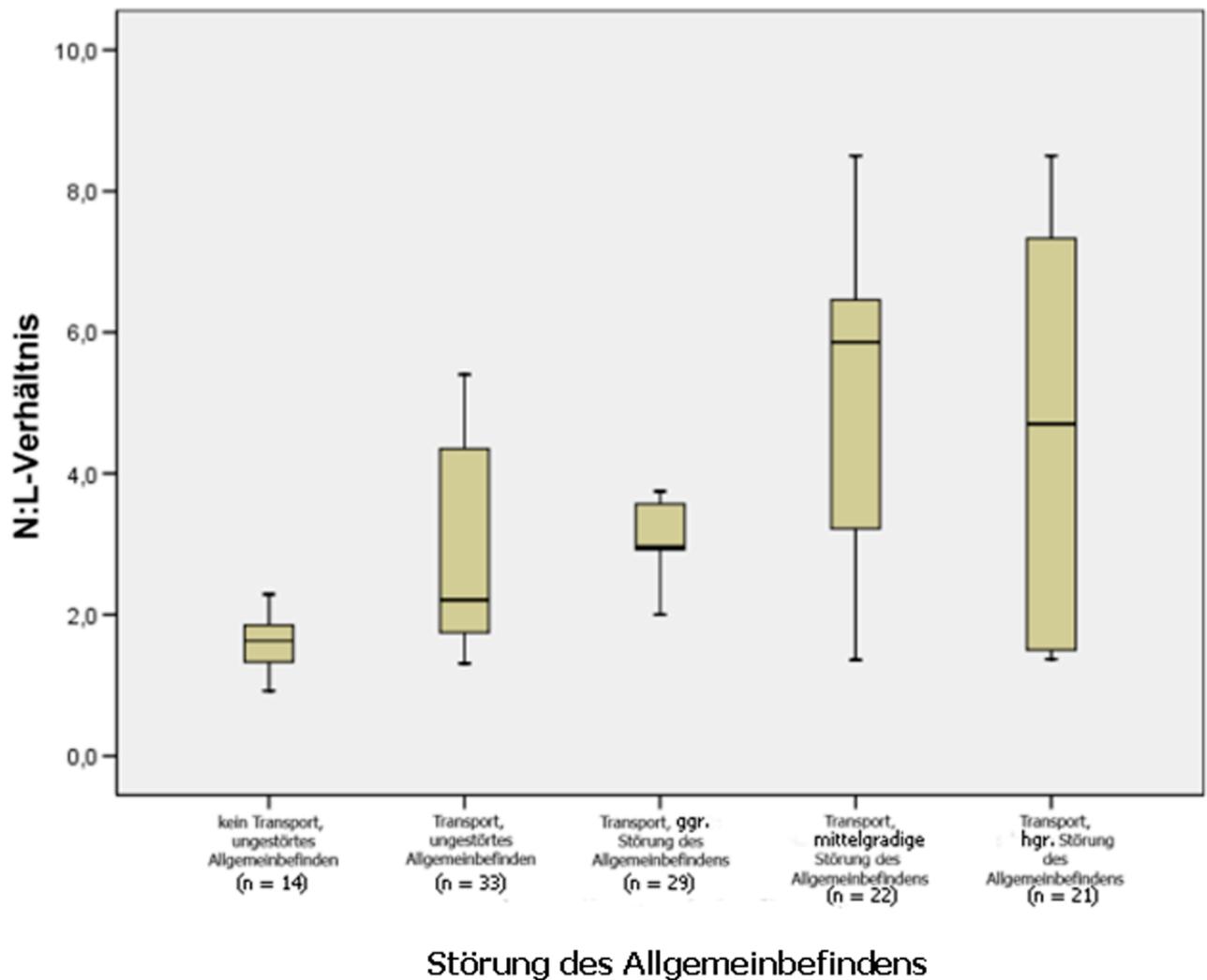


Abb. 4.17: Verhältnis der neutrophilen Granulozyten zu Lymphozyten der verschiedenen Gruppen bei Einlieferung. Angegeben in der Graphik sind die jeweiligen Medianwerte und die Minimum- und Maximumwerte der Pferde.

Bei Betrachtung der Pferde, die einer schweren Operation unterzogen worden waren, fiel auf, dass die Pferde (n = 6) ebenfalls mit einem deutlich erhöhten N:L-Verhältnis eingeliefert wurden (siehe Tab. 4.11).

Das N:L-Verhältnis sank bei den Pferden direkt nach der langen, schweren Operation zunächst ab (auf im Mittel 2,7, s = ± 0,9) und blieb auch einen Tag nach der Operation auf diesem Level (im Mittel 2,7, s = ± 1,3). Vier Tage später war das N:L-Verhältnis immer noch nicht auf den Normalwert zurückgekehrt, wie dies bei den Pferden, die leichten Operationen unterzogen wurden, der Fall war (siehe Tab. 4.11 und Abb. 4.18).

Vergleicht man die beiden Operationstypen, so fällt auf, dass das N:L-Verhältnis bei den Pferden, die für schwere Operationen eingeliefert wurden, einen Tag nach dem Transport deutlich sank (siehe Abb. 4.18). Bei dem schweren Operationstyp gab es allerdings wenige Pferde, die einige Tage vor der Operation eingeliefert wurden (n = 3).

Vor der Operation war das N:L-Verhältnis bei den Pferden, die für schwere Operationen vorgesehen waren, deutlich höher als bei den Pferden, die für leichte Operationen anstanden. Auch nach der schweren Operation blieb das N:L-Verhältnis bei den Pferden über einige Tage deutlich erhöht, während es sich bei den Pferden mit den leichten Operationen wieder normalisierte (siehe Tab. 4.11 und Abb. 4.18).

Tab. 4.11: Verlauf des N:L-Verhältnisses bei leichten und schweren Operationen im Vergleich.
(n = Anzahl der Probanden; \bar{x} = Mittelwert; s = Standardabweichung)

	Leichte Operationen (n = 18)		Schwere Operationen (n = 6)	
	Mittelwert (\bar{x})	Standardabweichung (s)	Mittelwert (\bar{x})	Standardabweichung (s)
N:L direkt nach Einlieferung	3,3	1,8	3,8 (n = 3)	0,1
N:L vor der Operation	2,3	2,0	3,3	2,0
N:L direkt nach der Operation	2,8	1,5	2,7	0,9
N:L vier Tage nach der Operation	1,5	0,6	3,1	2,9

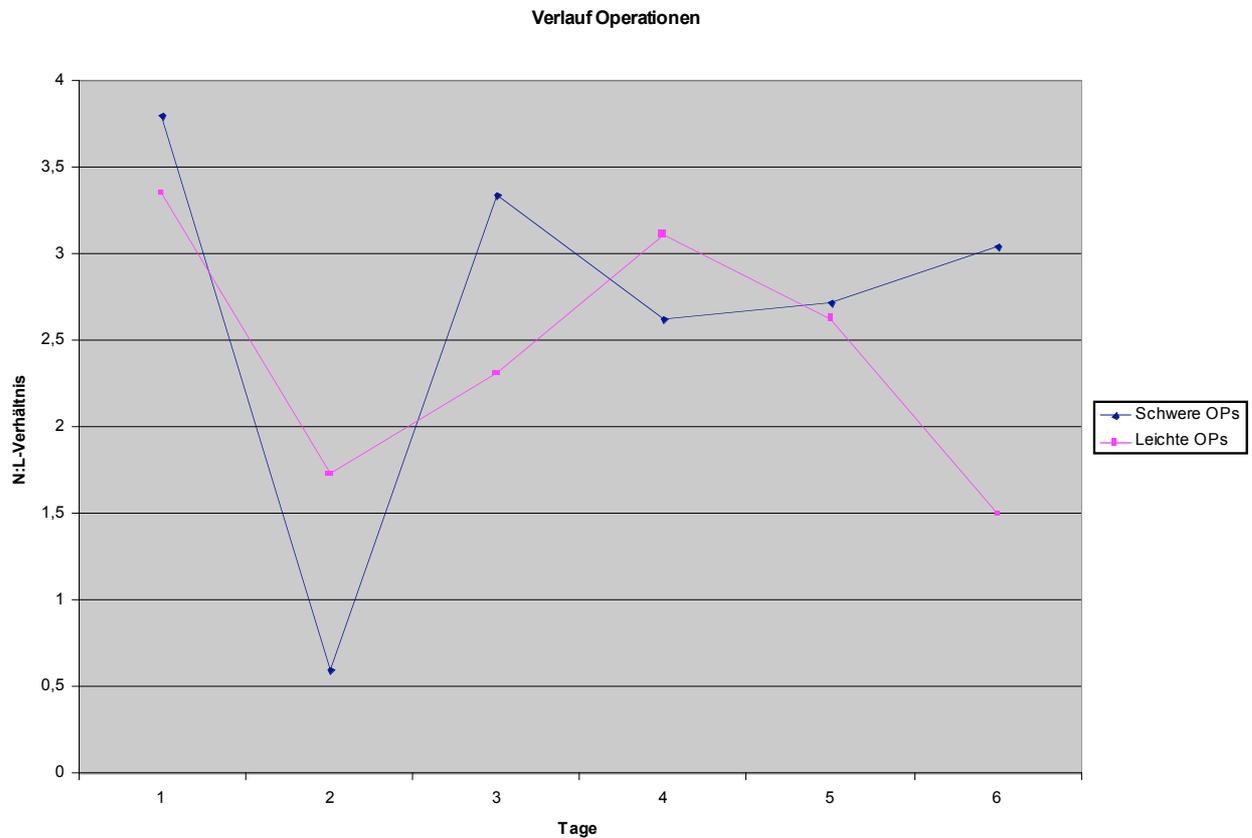


Abb. 4.18: Verhältnis der neutrophilen Granulozyten:Lymphozyten im Verlauf nach leichten und schweren Operationen. Der starke Abfall am Tag 2 bei den Pferden, die schweren Operationen unterzogen wurden, wird darauf zurückgeführt, dass nur drei Pferde in dieser Gruppe einige Tage in der Klinik standen, bevor sie operiert wurden. Diese wiesen intestinale Erkrankungen auf.

(1 = Einlieferungstag, 2 = 2. Tag (n = 3), 3 = vor der OP, 4 = direkt nach der Aufstehphase, 5 = Tag nach OP, 6 = 4 Tage nach OP)

Wurden die Pferde bei Einlieferung anhand der Schmerzen subjektiv in 4 Gruppen eingeteilt, wobei der Wert 4 den höchsten Schmerzgrad darstellte, zeigte sich, dass das N:L-Verhältnis mit Erhöhung des Schmerzgrades deutlich zunahm.

Dabei wiesen die Pferde mit wenigen Schmerzen (n = 14) im Mittel ein N:L-Verhältnis von 2,6 (s = ± 1,2) auf, während es bei den Pferden mit starken Schmerzen (n = 5) bis auf im Mittel 7,3 (s = ± 1,5) anstieg (siehe Abb. 4.19).

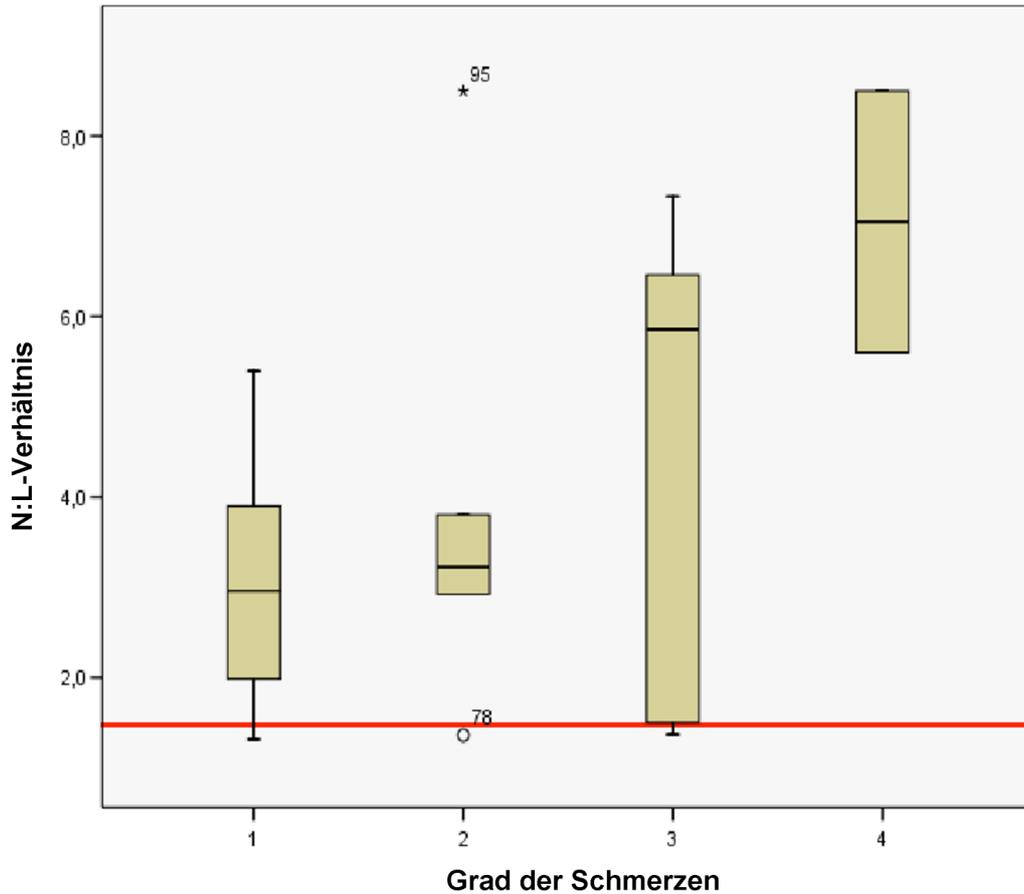


Abb. 4.19: Das Verhältnis der neutrophilen Granulozyten zu Lymphozyten (N:L-Verhältnis) bei Pferden mit unterschiedlich starken Schmerzen (Grad 1 bis 4).

Rote Linie: Das mittlere N:L-Verhältnis der Kontrollgruppe.

Angegeben in der Graphik sind die jeweiligen Medianwerte und die Minimum- und Maximumwerte der Pferde.

Bei Auswertung der Einzelergebnisse fiel Pferd Nr. 95 mit deutlich erhöhten Werten in der Schmerzgruppe 2 auf (N:L-Verhältnis 8,5). Dieser hatte bei Einlieferung und somit zum Zeitpunkt der Untersuchung schon einige Tage unter Schmerzen und Blutung aus dem Samenstrangstumpf gelitten.

4.2.6.2.2 Sonstige Leukozyten

Der Anteil an eosinophilen und basophilen Granulozyten sowie Monozyten befand sich bei nahezu allen Pferden im physiologischen Bereich und wurde nicht näher untersucht.

4.2.7 Kortisol

Bei den Pferden, die gesund in die Klinik eingeliefert wurden, war der Kortisolwert nach dem Transport höher als bei der nicht transportierten Kontrollgruppe (siehe Tab. 4.12). Dieser Unterschied erwies sich aber als nicht signifikant (T-Test, $p = 0,663$).

Tab. 4.12: Die Kortisolkonzentration bei der Kontrollgruppe und den gesund in die Klinik eingelieferten Pferden.
(n = Anzahl der Probanden; \bar{x} = Mittelwert; s = Standardabweichung)

	Mittelwert (\bar{x})	Standardabweichung (s)
Kortisolkonzentration bei den Kontrollpferden ($n = 14$)	149,8 nmol/l	88,6
Kortisolkonzentration bei den gesund eingelieferten Pferden nach Transport ($n = 33$)	161 nmol/l	76,2

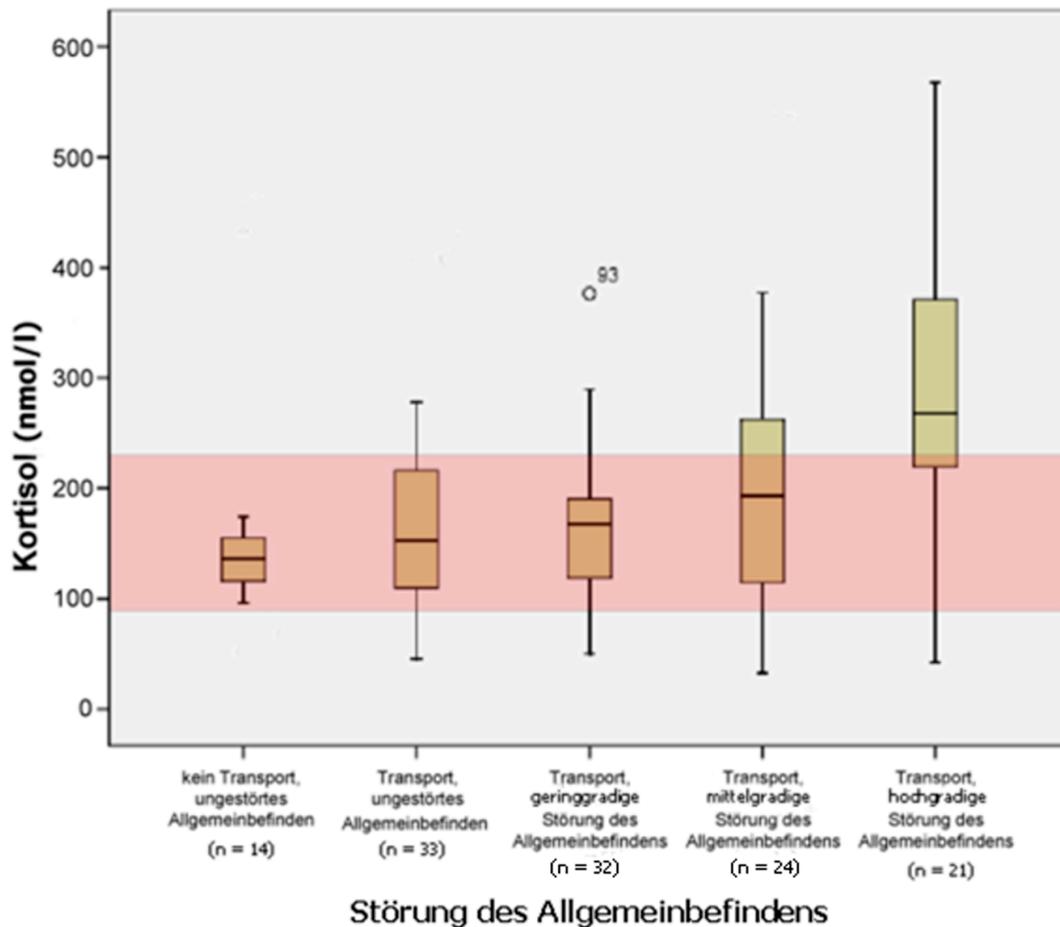


Abb. 4.20: Kortisolwerte (nmol/l) bei Pferden mit unterschiedlich starker Störung des Allgemeinbefindens.

Rot unterlegt: Referenzbereich von Kortisol beim Pferd nach DÖCKE (1994).

Angegeben in der Graphik sind die jeweiligen Medianwerte und die Minimum- und Maximumwerte der Pferde.

Beim Vergleich der Kortisolkonzentrationen direkt nach der Einlieferung fiel auf, dass der Kortisolwert mit dem Grad der Störung des Allgemeinbefindens deutlich anstieg (siehe Abb. 4.20). Die Pferde mit hochgradiger Störung des Allgemeinbefindens ($n = 21$) zeigten im Mittel eine Kortisolkonzentration von $267,8 \text{ nmol/l}$ ($s = \pm 135,2$).

Bei den Pferden, die leichte Erkrankungen hatten und an denen leichte, kurze Operationen durchgeführt wurden ($n = 29$), zeigte sich, dass die Kortisolkonzentration sowohl nach dem Transport (siehe Tab. 4.12; 161 nmol/l) als auch nach der Operation erhöht war (auf im Mittel $214,9 \text{ nmol/l}$; $s = \pm 81,7$) (siehe Abb. 4.21).

Der Wert sank aber postoperativ innerhalb eines Tages höchstsignifikant ($p < 0,001$) wieder auf das Normalniveau, das heißt unter den Einlieferungswert, ab ($\bar{X} = 137,2 \text{ nmol/l}$; $s = \pm 61,8$; $n = 45$) (siehe Abb. 4.21).

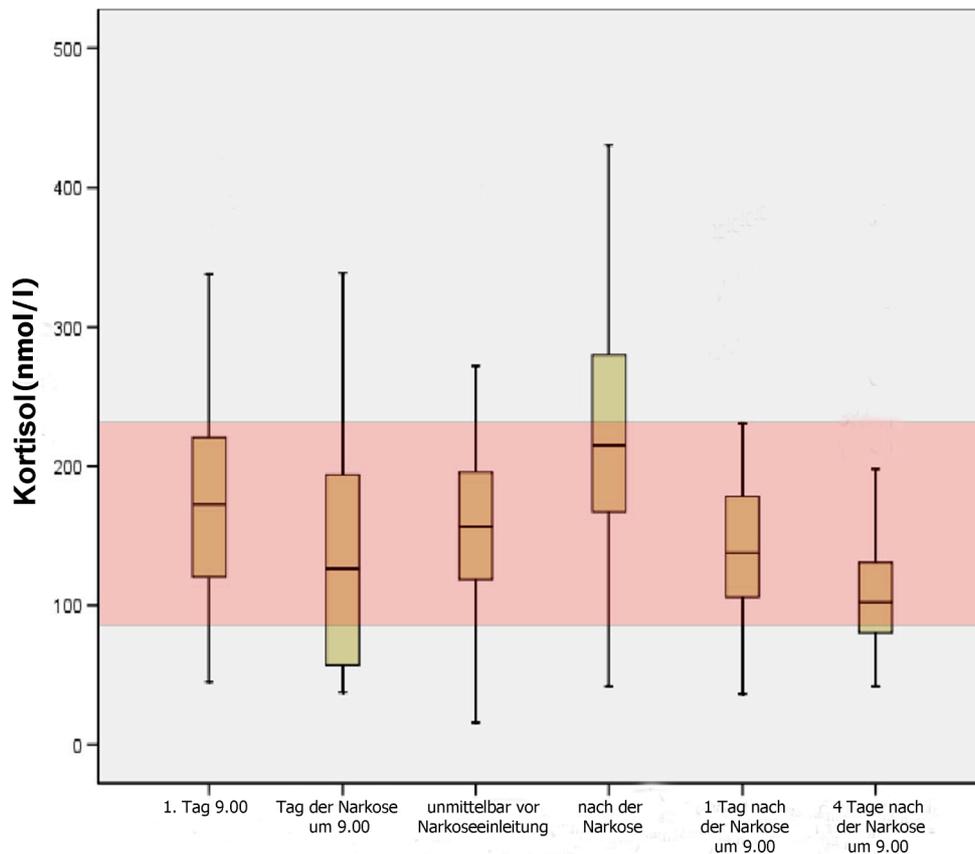


Abb. 4.21: Der Serum-Kortisol-Gehalt im Verlauf nach leichten Operationen (in nmol/l).

Rot unterlegt: Referenzbereich von Kortisol beim Pferd nach DÖCKE (1994).

Angegeben in der Graphik sind die jeweiligen Medianwerte und die Minimum- und Maximumwerte der Pferde.

Das gleiche Ergebnis zeigte sich im Verlauf nach schweren Operationen, wie beispielsweise Laparotomien (siehe Abb. 4.22). Die Kortisolkonzentrationen dieser Pferde (n = 10) waren dabei im Allgemeinen höher als im Verlauf nach den leichten Operationen. Des Weiteren zeigten sie im Mittel höhere Kortisolkonzentration direkt vor der Operation (264,1 nmol/l; s = ± 154,4).

Nach den langen Operationen stieg die Kortisolkonzentration noch einmal höchstsignifikant ($p < 0,001$) bis auf im Mittel 329,8 nmol/l (s = ± 82,2; n = 3), um dann aber bereits einen Tag nach der Operation wieder unter die Einlieferungskonzentration zu sinken ($\bar{x} = 149,7$ nmol/l; s = ± 116,8; n = 8) (siehe Abb. 4.22).

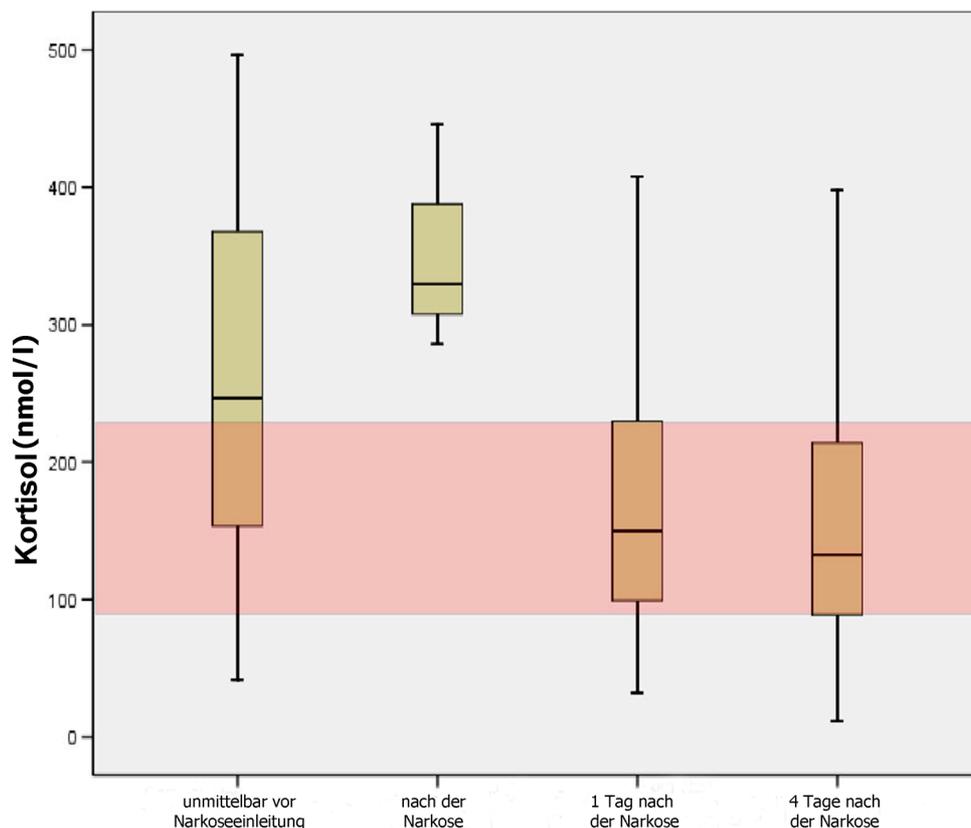


Abb. 4.22: Der Serum-Kortisol-Gehalt im Verlauf nach schweren Operationen (in nmol/l).

Rot unterlegt: Referenzbereich von Kortisol beim Pferd nach DÖCKE (1994).

Angegeben in der Graphik sind die jeweiligen Medianwerte und die Minimum- und Maximumwerte der Pferde.

Bei einigen Pferden wurde die Kortisolkonzentration direkt nach der Narkose vor der Aufstehphase gemessen. Bei allen gemessenen Pferden (n = 5) stieg die Konzentration bereits

nach der Narkose an, um nach der Aufstehphase noch höhere Konzentrationen aufzuweisen (siehe Tab. 4.13).

Tab. 4.13: Kortisolkonzentrationen bei fünf Pferden, denen Blut direkt nach der Narkose entnommen wurde, im Vergleich direkt nach der Operation und nach der darauf folgenden Aufstehphase.

(n = Anzahl der Probanden; \bar{x} = Mittelwert; s= Standardabweichung)

	Mittelwert (\bar{x} ; in nmol/l) (n= 5)	Standardabweichung (s)
Kortisolkonzentration vor der Operation	196,1	101,0
Kortisolkonzentration direkt nach der Operation	244,6	71,78
Kortisolkonzentration nach der Aufstehphase	286,6	55,35

Vergleicht man die verschiedenen Schmerzgrade, so zeigt sich auch bei der Kortisolkonzentration, dass sie umso höher war, je stärker die Schmerzen waren, die das Pferd erleiden musste (siehe Abb. 4.23). Dieser Zusammenhang erwies sich als höchstsignifikant ($p < 0,001$). Während bei den Pferden mit dem niedrigsten Schmerzgrad 1 (n = 54) das Kortisol im Mittel eine Konzentration von 149,1 nmol/l (s = ± 69,5) erreichte, waren es bei den Pferden mit dem Schmerzgrad 4 (n = 9) im Mittel 367,9 nmol/l (s = ± 112,8) und beim Schmerzgrad 5 (n = 3) durchschnittlich 431,7 nmol/l (s = ± 129,8), also etwa dreimal so viel.

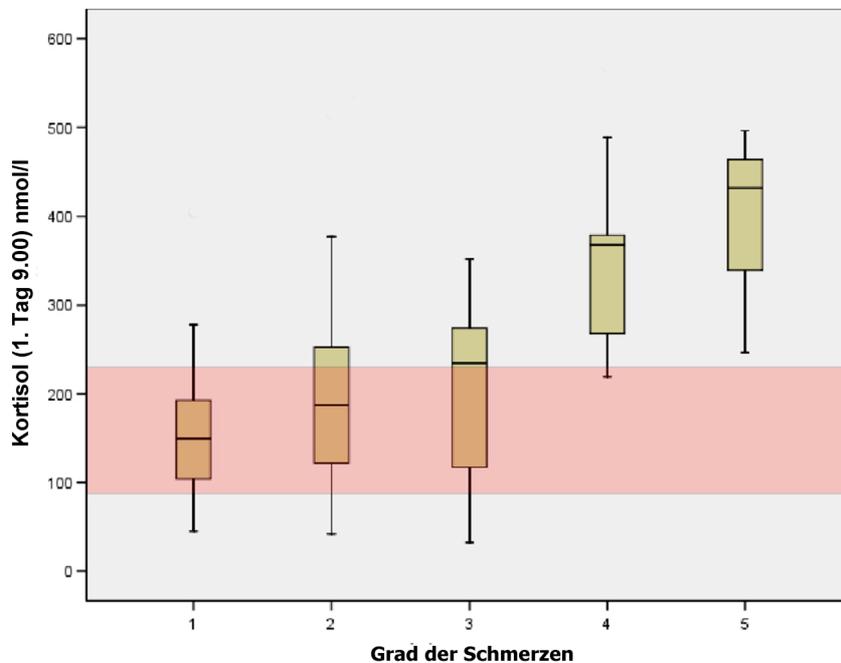


Abb. 4.23: Zusammenhang des Serum-Kortisol-Gehalts mit dem Grad der Schmerzen der Pferde bei Einlieferung in die Klinik. Die Unterschiede, die zwischen allen Schmerzgraden bestehen, sind höchstsignifikant ($p < 0,001$).

Rot unterlegt: Referenzbereich von Kortisol beim Pferd nach DÖCKE (1994).

Angegeben in der Graphik sind die jeweiligen Medianwerte und die Minimum- und Maximumwerte der Pferde.

4.2.8 Freie Sauerstoffradikale

Bei der photometrischen Bestimmung der freien Sauerstoffradikale aus dem Nativblut zeigte sich kein charakteristischer Verlauf.

Auffällig war, dass die Konzentrationen der chronisch erkrankten Tiere höchstsignifikant über den Werten der akut erkrankten Tiere lagen (Mann-Whitney-Test; $p < 0,001$). Zu diesen wurden Pferde gerechnet, die bis zu zwei Tage an ihrer Erkrankung gelitten hatten ($n = 47$). Diese hatten eine Radikalkonzentration von im Mittel 110 Carratelli Units ($s = \pm 78,4$), wobei 1 Carratelli Unit (Carr. Unit) 8 mg H_2O_2/l entspricht.

Die chronisch kranken Pferde ($n = 8$) hatten im Mittel 308,5 Carr. Units ($s = \pm 72,1$).

Die höchsten Radikal-Werte zeigte Pferd Nr. 60, das an „Equine Motor Neuron Disease“ (EMND) litt, mit durchschnittlich 460,8 Carr. Units. Bei Pferd Nr. 6 sanken die Radikalwerte rapide, nachdem ihm Antioxidantien (Vivozym® der Fa. Bayer) zugefüttert wurden (siehe Abb. 4.24).

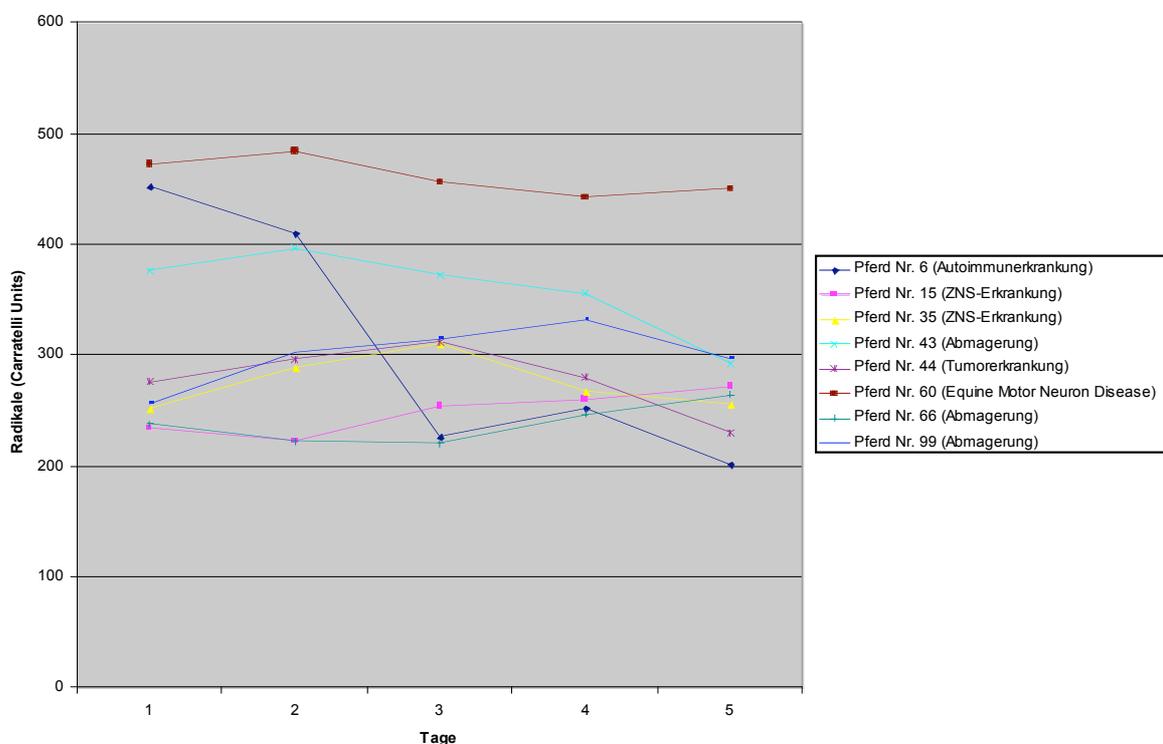


Abb. 4.24: Der Verlauf der im Blut gemessenen Sauerstoff-Radikale (Carr. Units) bei chronisch erkrankten Pferden ($n = 8$). Den Pferden wurde während des langen Klinikaufenthalts mehrmals Blut entnommen: Tag 1 = Tag der Einlieferung, Tag 2 = dritter Tag, Tag 3 = siebter Tag, Tag 4 = Zwischenwert, Tag 5 = Tag vor der Abholung der Pferde).

Bei Pferd Nr. 69 und Pferd Nr. 86 trat während der Behandlung in der Klinik Hufrehe auf. Auffallend war, dass die Radikalkonzentrationen einen Tag vor dem jeweiligen Hufrehe-Beginn (bzw. dem Beginn der klinischen Symptomatik) deutlich gestiegen waren (siehe Abb. 4.25).

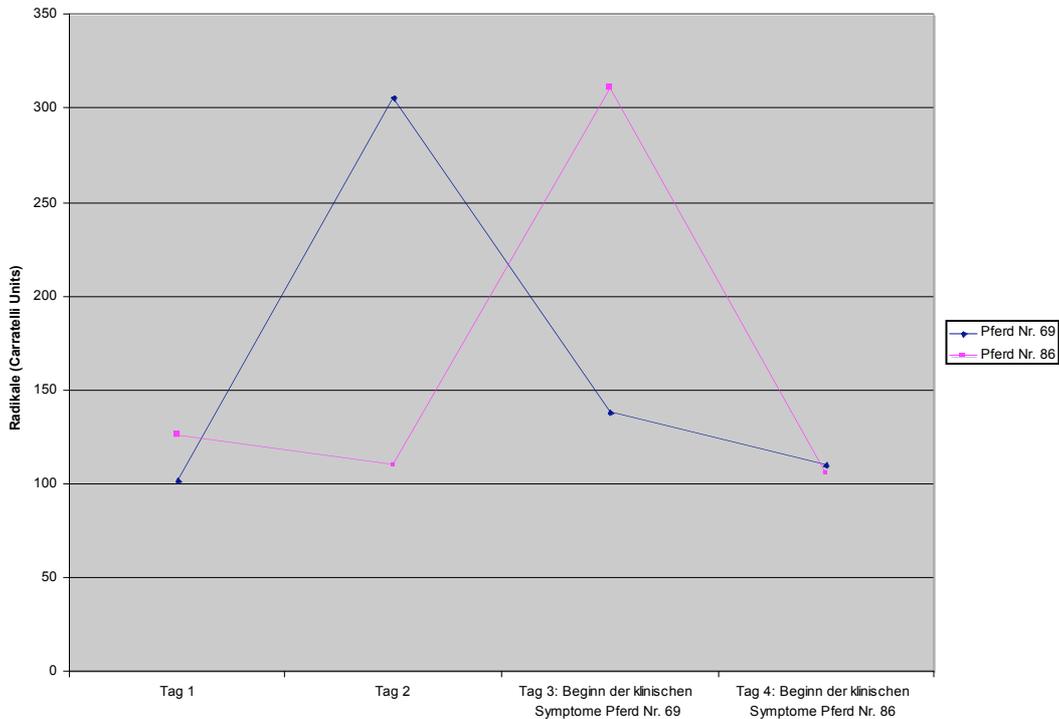


Abb. 4.25: Der Verlauf der im Blut gemessenen Radikale (Carr. Units) bei zwei Pferden, bei denen während des Klinikaufenthalts Hufrehe auftrat. Die Radikale stiegen jeweils einen Tag vor Beginn der klinischen Symptomatik an.

4.2.9 Glukose

Auch die Glukose war ein Parameter, der sich bereits nach dem Transport hochsignifikant veränderte (T-Test, $p = 0,001$). So hatte die Kontrollgruppe ($n = 14$) im Mittel eine Serum-Glukosekonzentration von $4,79 \text{ mmol/l}$ ($s = \pm 0,8$) und die gesunde, transportierte Gruppe ($n = 33$) hatte im Mittel $6,04 \text{ mmol/l}$ Glukose im Serum ($s = \pm 1,2$).

Wurden die Pferde anhand dem Grad der Störung des Allgemeinbefindens bewertet, so zeigten die Pferde mit hochgradiger Störung des Allgemeinbefindens ($n = 21$) bei Einlieferung die höchsten Glukosekonzentrationen mit im Mittel $7,2 \text{ mmol/l}$ ($s = \pm 2,9$) (siehe Abb. 4.26).

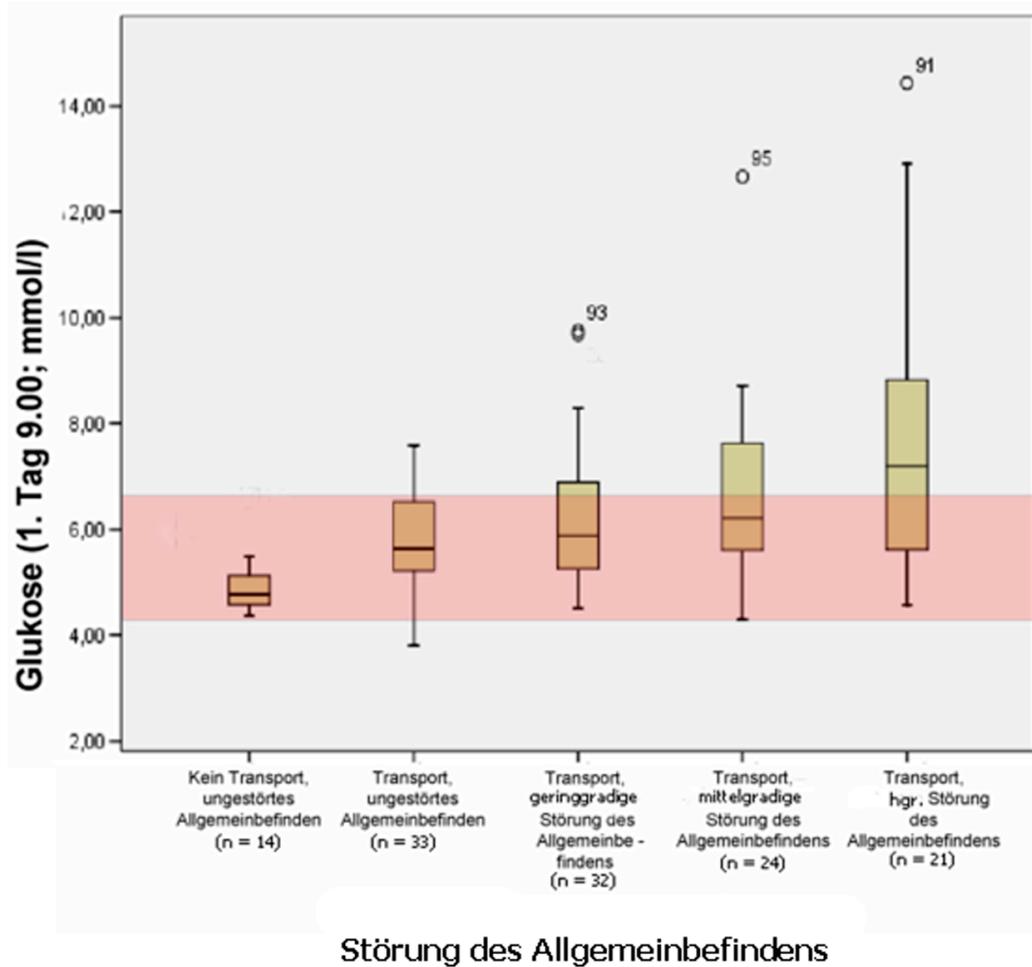


Abb. 4.26: Der Serum-Glukose-Gehalt bei den Pferden mit unterschiedlich gestörtem Allgemeinbefinden mit und ohne vorhergegangenen Transport.

Rot unterlegt: Referenzbereich der Serum-Glukosekonzentration beim Pferd nach KRAFT und DÜRR (1999).

Angegeben in der Graphik sind die jeweiligen Medianwerte und die Minimum- und Maximumwerte der Pferde.

Wird der Schmerzgrad der Pferde bei Einlieferung betrachtet, dann steigt der mittlere Glukose-Wert mit jedem Schmerzgrad linear an (siehe Abb. 4.27 und Tab. 4.14).

Tab. 4.14: Die Glukosekonzentration der Pferde im Zusammenhang mit den Schmerzen bei Einlieferung in die Klinik.
(n = Anzahl der Probanden; \bar{x} = Mittelwert; s = Standardabweichung)

	Mittelwert (\bar{x} ; in mmol/l)	Standardabweichung (s)
Schmerzgrad 1 (n = 55)	5,7	1,0
Schmerzgrad 2 (n = 25)	6,2	2,3
Schmerzgrad 3 (n = 15)	6,7	1,5
Schmerzgrad 4 (n = 9)	7,7	3,3
Schmerzgrad 5 (n = 3)	7,8	1,9

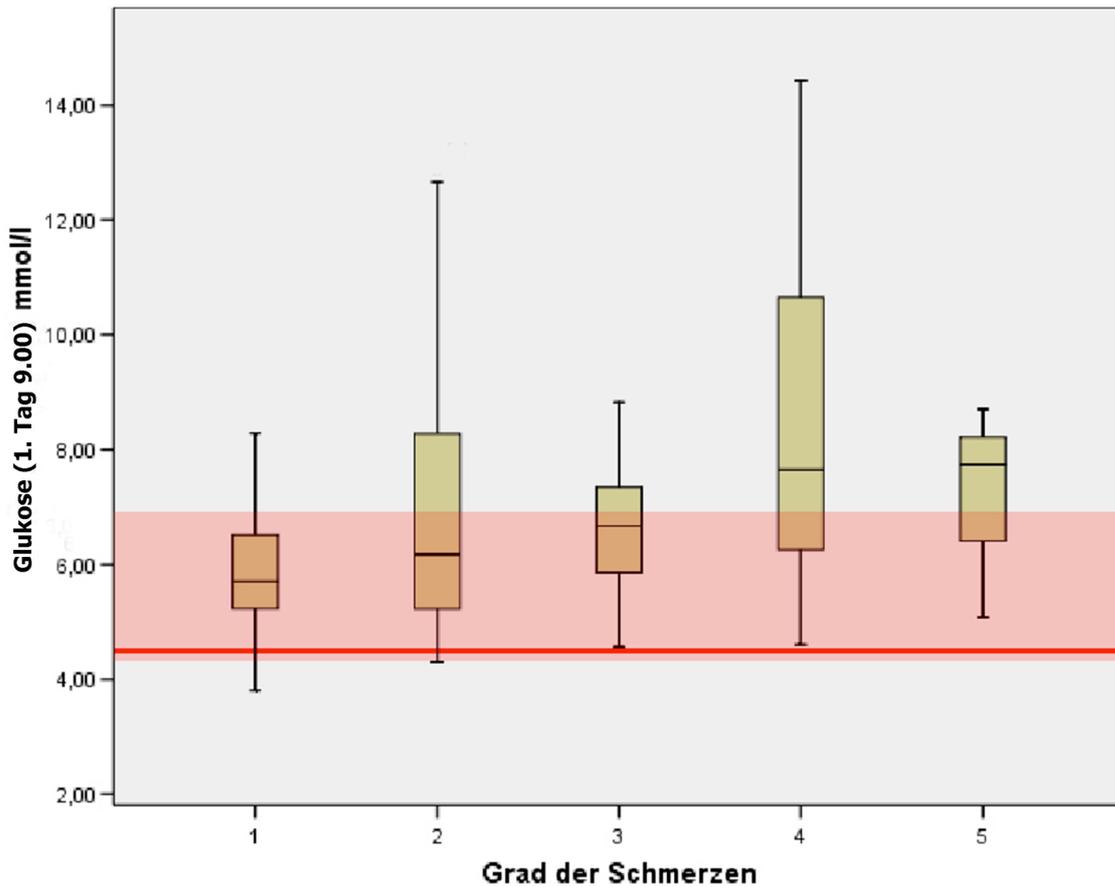


Abb. 4.27: Der Zusammenhang zwischen dem Serum-Glukose-Gehalt der Pferde und dem Grad der Schmerzen bei Einlieferung.

Rot unterlegt: Referenzbereich der Serum-Glukosekonzentration beim Pferd nach KRAFT und DÜRR (1999).

Rote Linie: Mittlere Glukosekonzentration der Kontrollpferde.

Angegeben in der Graphik sind die jeweiligen Medianwerte und die Minimum- und Maximumwerte der Pferde.

Bei den sieben in der Klinik eingestellten Pferden, denen zur Untersuchung des zirkadianen Kortisol-Rhythmus Blut entnommen wurde, wurde ebenfalls die Glukosekonzentration bestimmt. Die Pferde zeigten über den Tag verteilt konstante Werte.

Tab. 4.15: Die Glukosekonzentrationen bei sieben Pferden, denen mehrmals täglich Blut abgenommen wurde, um den Glukose-Verlauf über den Tag zu verfolgen.

Pferd Nr.	Glukose 9.00 Uhr (mmol/l)	Glukose 14.00 Uhr (mmol/l)	Glukose 20.00 Uhr (mmol/l)
1	4,69	4,81	4,52
2	6,68	6,49	6,62
3	7,39	7,1	6,98
4	5,35	5,38	4,97
7	5,88	6,2	5,94
13	5,5	5,24	5,18
14	7,38	7,26	7,61

Die Serum-Glukosekonzentration, die bei den Pferden, die transportiert worden waren, auf im Mittel 6,04 mmol/l gestiegen war, blieb auch nach einigen Tagen Klinikaufenthalt noch erhöht. So sanken die Werte vor der Operation bei der Gruppe, die für leichte Operationen vorgesehen war ($n = 33$), nur bis auf im Mittel 5,7 mmol/l am Morgen vor der Operation (Standardabweichung 1,3; T-Test, $p = 0,132$).

Nach der Aufstehphase zeigten diese Pferde ($n = 59$) die höchsten Glukosewerte von im Mittel 7,4 mmol/l, die sich dann innerhalb von vier Tagen post operationem wieder normalisierten ($s = \pm 2,1$; T-Test, $p = 0,565$) (siehe Abb. 4.28).

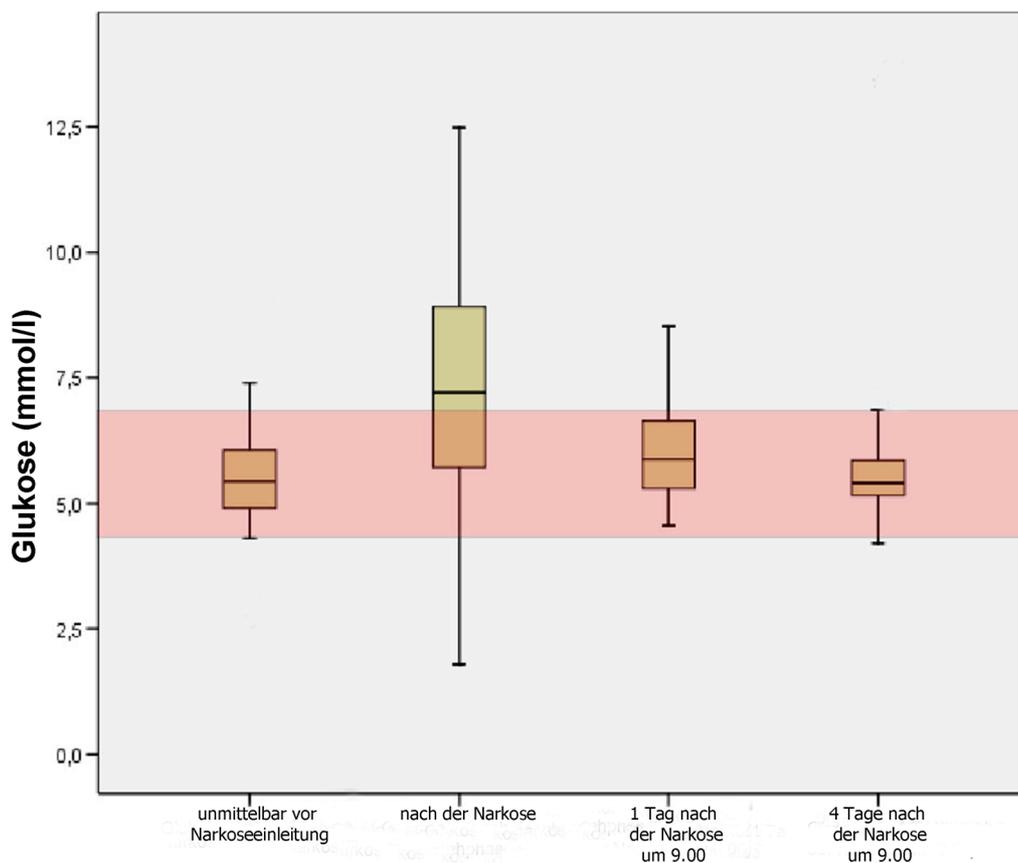


Abb. 4.28: Der Serum-Glukose-Gehalt im Verlauf nach leichten Operationen.

Rot unterlegt: Referenzbereich der Serum-Glukosekonzentration beim Pferd nach KRAFT und DÜRR (1999).

Angegeben in der Graphik sind die jeweiligen Medianwerte und die Minimum- und Maximumwerte der Pferde.

Die Kortisolkonzentration und die Glukosekonzentration zeigten einen höchstsignifikanten Zusammenhang ($p < 0,001$). Stieg der Kortisolwert, erhöhte sich erwartungsgemäß ebenfalls die Glukosekonzentration im Blut. Besonders deutlich wurde dies direkt nach der Narkose (siehe Abb. 4.29).

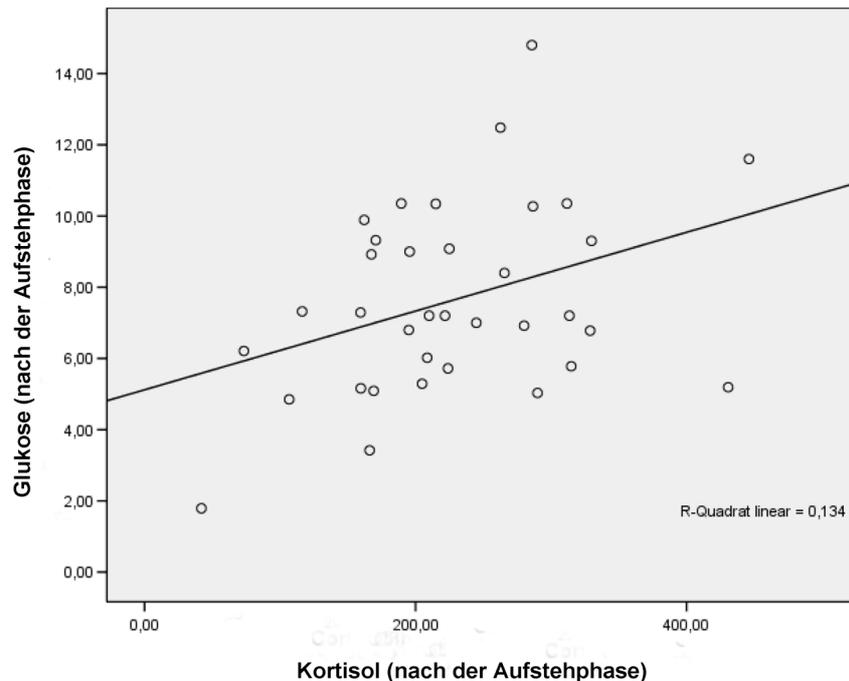


Abb. 4.29 Die Korrelation zwischen der Glukose- und der Kortisolkonzentration nach der Operation (Korrelation nach Spearman; $p = 0,001$).

4.2.10 Laktat

Die Laktatkonzentration war bei allen Pferden, die transportiert wurden ($n = 33$), im Mittel höher [$1,0 \text{ mmol/l}$ ($s = \pm 0,5$)] als bei der Kontrollgruppe ($n = 14$), die nicht transportiert wurde. Diese hatte eine mittlere Laktatkonzentration von $0,9 \text{ mmol/l}$ ($s = \pm 0,6$). Der Anstieg war allerdings statistisch nicht signifikant (T-Test, $p = 0,408$).

Bei der Kontrolle der Blutparameter vor der Operation, die zwei Tage darauf stattfand, lag die Laktatkonzentration bei den gesund eingelieferten Pferden wieder im Referenzbereich [im Mittel $0,86 \text{ mmol/l}$ ($s = \pm 0,57$; $n = 58$)] (siehe Abb. 4.30).

Ein weiterer höchstsignifikanter Anstieg des Laktats war nach der Aufstehphase zu bemerken (Wilcoxon-Test, $p < 0,001$). Die operierten Pferde ($n = 59$) erreichten unmittelbar nach dem Aufstehen eine mittlere Laktatkonzentration von 1,4 mmol/l ($s = \pm 0,61$). Die Laktatkonzentration im Blut war bei der Kontrolle der Blutparameter nach vier Tagen wieder auf den innerhalb des Referenzbereichs liegenden Mittelwert von 0,88 mmol/l ($s = \pm 0,28$, $n = 56$) zurückgegangen (siehe Abb. 4.30).

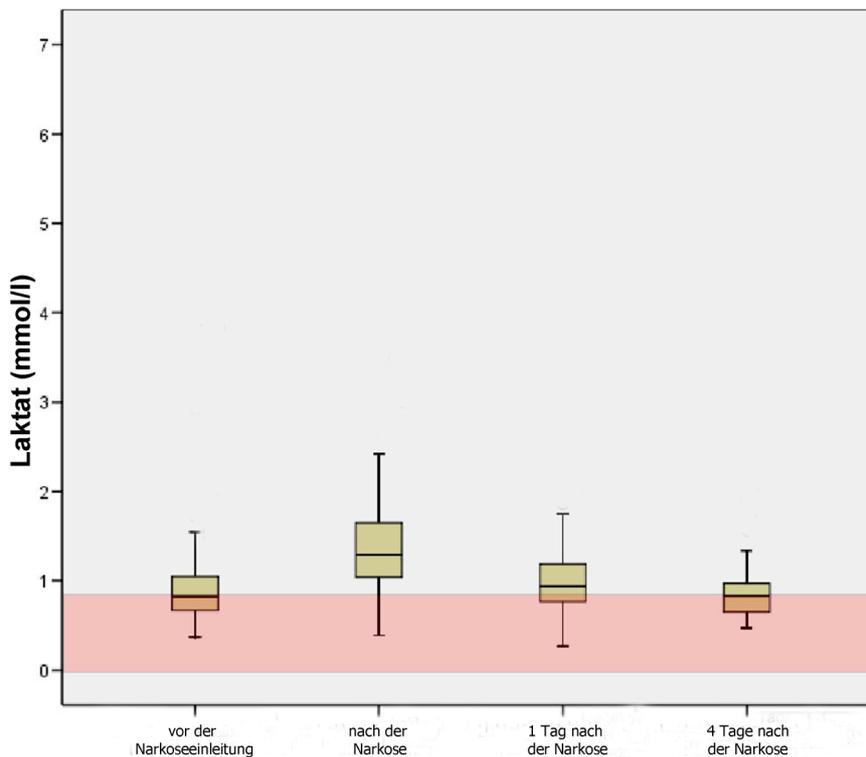


Abb. 4.30: Die Laktatkonzentrationen im Verlauf vor und nach leichten Operationen.

Rot unterlegt: Referenzbereich der Laktatkonzentration beim Pferd nach Angaben der I. Medizinischen Tierklinik.

Angegeben in der Graphik sind die jeweiligen Medianwerte und die Minimum- und Maximumwerte der Pferde.

Auffallend war, dass die Laktatkonzentration bei Einlieferung bei den schwer kranken Pferden (überwiegend Koliker; $n = 21$) deutlich höher als bei den anderen Pferden war ($\bar{X} = 2,7$ mmol/l; $s = \pm 5,0$ im Vergleich zu $\bar{X} = 1,0$ mmol/l bei den Pferden mit ggr. Störung des Allgemeinbefindens).

Bei 14 Pferden wurde die Laktatkonzentration im Blut direkt nach der Narkose bestimmt. Dabei waren die ermittelten Konzentrationen unabhängig von dem Alter des Pferdes und der Narkosedauer. Bei fünf Pferden war der Laktatgehalt nach der Narkose annähernd gleich wie

vor der Narkoseeinleitung, bei neun Pferden stieg er während der Narkose an, um sich während der Aufstehphase erneut zu erhöhen (siehe Tab. 4.16).

Tab. 4.16: Laktatkonzentrationen bei 14 Pferden vor der Narkose, direkt nach der Narkose und nach der Aufstehphase.
(n = Anzahl der Probanden; \bar{x} = Mittelwert; s= Standardabweichung)

	Mittelwert (\bar{x} ; mmol/l; n = 14)	Standardabweichung (s)
Laktatkonzentration vor Narkoseeinleitung	0,9	0,9
Laktatkonzentration vor der Aufstehphase	1,0	1,2
Laktatkonzentration nach der Aufstehphase	1,1	1,6

4.2.11 pH-Wert, Blutgase und Farbe des Blutes

Der pH-Wert, gemessen im venösen Blut der Pferde, blieb bei allen Tieren ungefähr gleich. Er betrug im Mittel 7,35 (s = ± 0,06) bei den Pferden mit ungestörtem Allgemeinbefinden (n = 32) und im Mittel 7,37 (s = ± 0,02) bei den Pferden mit hochgradig gestörtem Allgemeinbefinden (n = 22), beispielsweise Kolikern.

Die Blutgase (PaO₂ und PaCO₂) zeigten, ebenso wie die „Farbe des Blutes“ (hell- bis dunkelrot), überhaupt keinen charakteristischen Verlauf und standen in keinem erkennbaren Zusammenhang mit den im Rahmen dieser Studie gemessenen Blutparametern.

4.2.12 Zylexis®

Alle Parameter blieben nach der zweifachen Verabreichung von Zylexis® annähernd unverändert. Eine deutliche Tendenz gab es bei der Gesamteiweißverteilung, da die Pferde nach der Verabreichung des Paramunitätsinducers nach der Operation im Mittel höhere Werte als die anderen Pferde aufwiesen (p = 0,053; siehe Abb. 4.31).

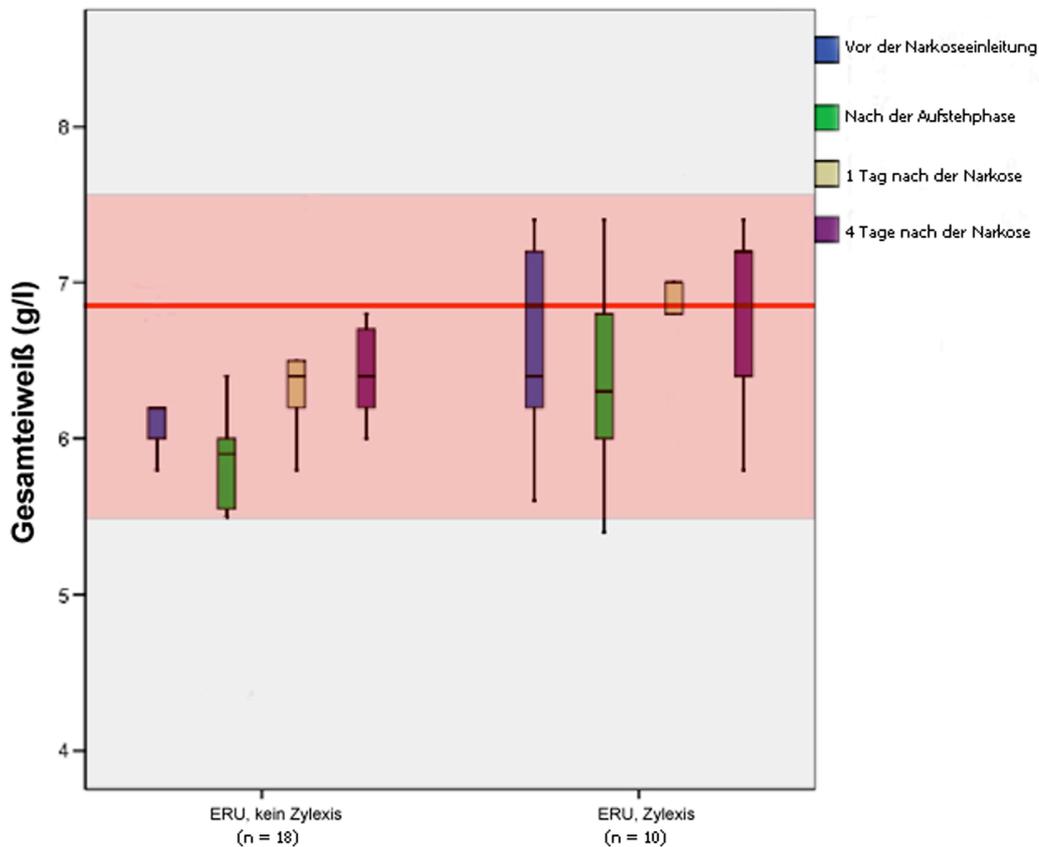


Abb. 4.31: Der Serum-Gesamteiweißgehalt bei den an Equiner Rezidivierender Uveitis (ERU) erkrankten Pferden. Eine Gruppe hatte vor der Operation (Vitrektomie) Zylexis® erhalten, die andere Gruppe nicht. Die Pferde, die Zylexis® erhalten hatten, zeigten eine deutliche Tendenz zu höheren Gesamteiweiß-Werten nach der Operation ($p = 0,053$).

Rot unterlegt: Referenzberich der Serum-Gesamteiweißkonzentration beim Pferd nach ROBINSON (2003).

Rote Linie: Die mittlere Gesamteiweißkonzentration bei den Kontrollpferden.

Angegeben in der Graphik sind die jeweiligen Medianwerte und die Minimum- und Maximumwerte der Pferde.

Die Zylexis®-Pferde ($n = 10$) zeigten außerdem einen signifikant weniger starken Anstieg des Kortisols nach der Operation als die Pferde, die kein Zylexis® erhalten hatten ($p = 0,043$; $n = 18$) (siehe Tab. 4.17 und Abb. 4.32).

Tab. 4.17: Die Kortisolkonzentrationen nach der Operation bei Pferden, denen Zylexis® verabreicht wurde, und solchen, die ohne vorherige Gabe von Zylexis® operiert wurden.

(n = Anzahl der Probanden; \bar{x} = Mittelwert; s = Standardabweichung)

	Mittelwert (\bar{x} ; nmol/l)	Standardabweichung (s)
Kortisolkonzentration nach der Operation bei Pferden, die Zylexis® erhalten hatten ($n = 10$)	168,4	113,9
Kortisolkonzentration nach der Operation bei Pferden, die kein Zylexis® erhalten hatten ($n = 18$)	224,4	56,8

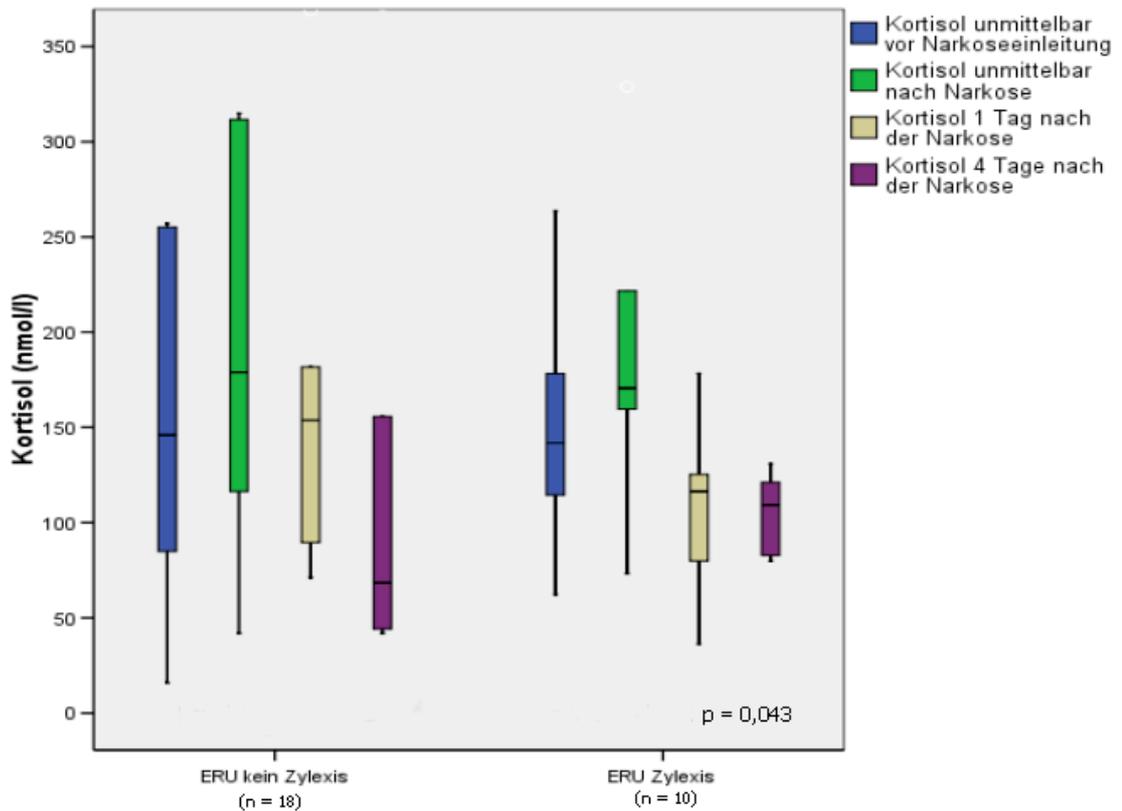


Abb. 4.32: Der Serum-Kortisol-Gehalt im Verlauf nach der Operation (Vitrektomie) bei den an Equiner Rezidivierender Uveitis (ERU) erkrankten Pferden. Eine Gruppe hatte vor der Operation Zylexis® erhalten, die andere Gruppe nicht. Angegeben in der Graphik sind die jeweiligen Medianwerte und die Minimum- und Maximumwerte der Pferde.

Bei Betrachtung der IgA-Werte unter dem Einfluss von Zylexis® erhielt man den Eindruck, dass die Pferde, denen Zylexis® verabreicht wurde (n = 9), eine weniger starke Differenz zwischen der IgA-Konzentration im Kot vor der Operation und der IgA-Konzentration nach der Operation aufwiesen als die Pferde, die ohne Verabreichung von Zylexis® operiert wurden (n = 27). Dieser Unterschied ließ aber lediglich eine Tendenz erkennen, da er statistisch nicht signifikant war (Mann-Whitney-Test, p = 0,081) (siehe Tab. 4.18 und Abb. 4.33).

Tab. 4.18: Die postoperativen IgA-Konzentrationen bei den Pferden, die vor der Operation Zylexis® erhalten hatten, im Vergleich mit den postoperativen IgA-Konzentrationen bei den Pferden, die kein Zylexis® erhalten hatten.

(n = Anzahl der Probanden; \bar{x} = Mittelwert; s = Standardabweichung)

	Mittelwert (\bar{x} ; gemessen in OD ₄₅₀)	Standardabweichung (s)
IgA-Konzentration nach der Operation bei Pferden, die vorher Zylexis® erhalten hatten (n = 9)	0,24	0,10
IgA-Konzentration nach der Operation bei Pferden, die kein Zylexis® erhalten hatten (n = 27)	0,14	0,07

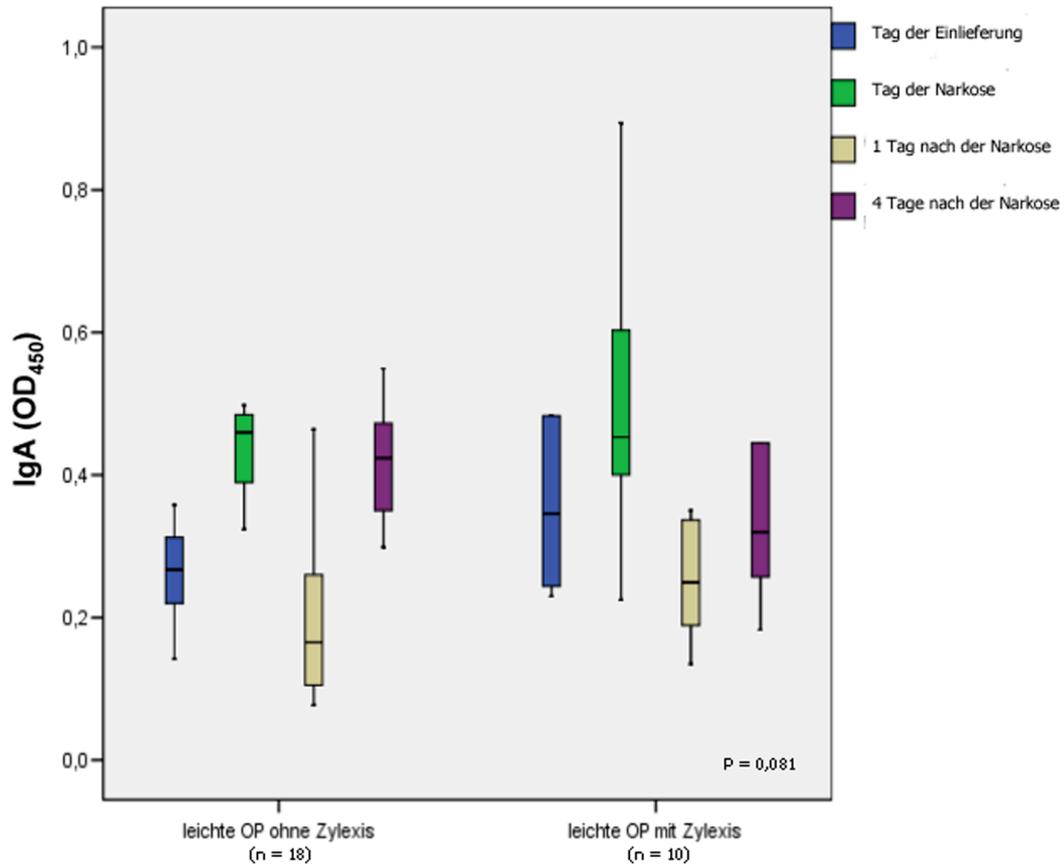


Abb. 4.33: Der IgA-Gehalt im Kot bei Pferden im Verlauf nach leichten Operationen (gemessen in OD₄₅₀). Eine Gruppe hatte vor der Operation Zylexis® erhalten, die andere Gruppe nicht. Der Unterschied in der IgA-Konzentration nach der Narkose ließ aber nur eine Tendenz erkennen (p = 0,081).

Angegeben in der Graphik sind die jeweiligen Medianwerte und die Minimum- und Maximumwerte der Pferde.

5 Diskussion

5.1 Diskussion der Methode

5.1.1 Testzeitpunkte

Den Patienten wurde direkt nach Ankunft, am Tag der Operation, sowie einen und vier Tage nach der Operation Blut entnommen.

Um den Verlauf der Parameter nach der Operation noch genauer verfolgen zu können, wären vielleicht weitere Punktionen an Tag 2 und 3 nach der Narkose interessant gewesen. Dem dadurch möglicherweise erhaltenen Zugewinn an Genauigkeit bei der Prozessbeschreibung stehen jedoch Risiken für die mögliche Verfälschung der Ergebnisse infolge einer erhöhten Stressinduzierung sowie das Wohl der Patienten gegenüber.

In dieser Studie wurden die Blutentnahmezeitpunkte so gewählt, dass den Pferden möglichst wenig Stress durch zusätzliche Venenpunktionen zugemutet wurde. Daher wurden die Tiere außerhalb der sowieso für die Operation erforderlichen Venenpunktionen nur viermal punktiert. Eine häufigere Blutentnahme, auch über Verweilkatheter, wurde nicht durchgeführt, da die Pferdevenen durch die Medikamente, die durch die Braunülen für die Operation appliziert wurden, ohnehin bereits strapaziert waren und die Gefahr einer Thrombophlebitis minimiert werden sollte (GERHARDS 1987; GERHARDS 2004). Dies steht im Einklang mit einer Studie von KNOL und Mitarbeitern (1992), die herausfanden, dass bei Hunden eine Punktion der Vene im Vergleich mit der Blutentnahme aus einem Venenverweilkatheter keine gesteigerte Kortisolkonzentration im Plasma zur Folge hat.

Die Kotentnahme fand parallel zu der Blutentnahme statt. In der Regel hatten die Pferde frische Kothaufen in der Box, aus deren Mitte die Proben entnommen werden konnten. Ein Problem dieser Studie war die Gewinnung von frischem Kot jedes Pferdes. Einige Pferde, hauptsächlich die mit intestinalen Problemen, setzten nicht frequent Kot ab, so dass diese Pferde aus der Berechnung ausgeschlossen wurden.

5.1.2 Blutentnahme als möglicher Auslöser von Stress beim Pferd

Da in der vorliegenden Arbeit die Antwort des Pferdeorganismus auf Stress untersucht werden sollte, war es von übergeordneter Bedeutung, dass das Probenmaterial möglichst stressfrei gewonnen wurde.

Die Pferde in dieser Studie waren im Allgemeinen gut erzogen und den Umgang mit Menschen gewohnt. Die Mehrzahl hatte sogar einen recht engen Bezug zu Menschen, da es sich überwiegend um von ihren Besitzern gut umsorgte Pferde handelte.

Während dieser Untersuchung konnte den Pferden ausnahmslos am Halfter mit einer Hilfsperson Blut entnommen werden, ohne dass weitere Zwangsmaßnahmen nötig waren. Die Pferde in dieser Studie waren an den Vorgang der Blutentnahme zwar nicht gewöhnt, tolerierten ihn aber sehr gut. Pferde, bei denen eine Blutentnahme ohne Zwangsmassnahmen nicht möglich war, wurden von der Studie ausgeschlossen, da beispielsweise die Verwendung einer Nasenbremse vermutlich zu einer stressinduzierten Kortisolausschüttung und damit zur Verfälschung der Ergebnisse geführt hätte (BEERDA et al. 1996; HAEMISCH et al. 1999).

Entsprechend schlagen SLAUGHTER und Mitarbeiter (2002) bei Hunden eine mindestens vierwöchige Gewöhnungsphase an den Vorgang der Blutentnahme vor. VAN HEERDEN und BERTSCHINGER (1982) fanden, dass wiederholte Venenpunktionen bei Hunden nicht zu einem erhöhten Kortisolspiegel führen, dahingegen aber das Verbringen in eine ungewohnte Umgebung. Über gleichlautende Ergebnisse berichten auch HENNESSY und Mitarbeiter (1997).

Die in dieser Studie gemessenen Plasma-Kortisolwerte weisen nicht auf eine Stressreaktion durch die Blutentnahme hin. Dies stimmt mit den Ergebnissen von EIKNES und SAMUELS (1958) bei Hunden überein, denen mehrmals täglich Blut entnommen wurde. Ein Grund dafür war vermutlich, dass es in der vorliegenden Studie gelang, die Blutentnahme bei den Pferden sehr zügig abzuwickeln. TUBER und Mitarbeiter (1996) berichten, dass bei Hunden ein Anstieg der Plasma-Kortisolkonzentration im Zusammenhang mit der Blutabnahme schon nach drei Minuten stattfindet.

Um den Stress bei der Blutentnahme für die eingestellten Pferde noch weiter zu reduzieren, wurde das Blut (soweit möglich) immer in der Box genommen, da die Pferde in der Stallgasse

oder auf dem Klinikhof vermehrt fremden Einflüssen ausgesetzt gewesen wären. Aus diesem Grund kann man davon ausgehen, dass der Vorgang der Blutabnahme bei den Pferden in dieser Untersuchung nicht zu unerwünschten zusätzlichen Stress-induzierten Veränderungen der Parameter führte.

5.1.3 Auswahl der Parameter

Da die Parameter hinsichtlich ihrer klinischen Verwendbarkeit für die Diagnostik von „Stress“ geprüft werden sollten, wurden gezielt solche Parameter einbezogen, die mit möglichst wenig Aufwand und kostengünstig bestimmt, bzw. in der Klinik für Pferde relativ einfach gemessen werden konnten. Eine Ausnahme bildeten die Radikal- und IgA-Bestimmungen. Diese wurden einbezogen, da sie als wichtige potentielle Diagnostik-Indikatoren gelten (HAU et al. 2001), jedoch zur Messung freier Radikale beim Pferd bisher wenig bekannt ist und die Bestimmung von IgA im Pferdekot in diesem Zusammenhang noch nicht untersucht worden war.

Zum Vergleich mit den noch nicht fest etablierten Parametern wäre der Verlauf der Katecholamine als anerkannte Stressparameter interessant gewesen.

Da die Messung der Katecholamine im Blut jedoch relativ unzuverlässig und fehlerbehaftet ist (RAND et al. 2002), wurde von deren Bestimmung in dieser Studie abgesehen. Eine Aktivierung des Nebennierenmarks spiegelt nur kurzzeitige Belastungen wider, daher sind sie für Untersuchungen über einen längeren Belastungszeitraum von wenig praktischer Bedeutung (BROOM 2000). Hierfür sind unter anderem die relative schnelle Freisetzung und der schnelle Abbau der Katecholamine mitverantwortlich (DÖCKE 1994). Des Weiteren wird eine Bestimmung dieser Parameter von den gängigen Labors (beispielsweise VetMed-Labor) nicht angeboten.

Demgegenüber konnten jedoch zahlreiche Körperfunktionen, die durch die erhöhte Sekretion der Katecholamine beeinflusst werden, wie z.B. die Regulation der Herzfrequenz, in dieser Studie berücksichtigt werden.

5.2 Diskussion der Ergebnisse

5.2.1 Klinische Parameter

5.2.1.1 Herzfrequenz und Körpertemperatur

Eine Erhöhung der Herzfrequenz, wie sie beispielsweise in der vorliegenden Untersuchung schon nach dem Transport festzustellen war, ist auf eine vermehrte Sekretion der Katecholamine als Antwort auf Stress zurückzuführen.

Koliker wiesen aufgrund des Stresses und der vermehrten motorischen Bewegung (äußere Koliksymptome) in der Mehrzahl erhöhte Körpertemperaturen auf. Auch die Herzfrequenzen waren bei diesen Pferden aufgrund der Endotoxin-Ausschüttung und der bei den meisten Pferden bestehenden Hypovolämie erhöht.

5.2.1.2 Einschätzung des Charakters der Pferde

Der im Rahmen der Eingangsuntersuchung und während der ersten Tage eingeschätzte Charakter der Pferde korrelierte in der vorliegenden Studie mit den untersuchten Stress-Parametern. Demnach ist es dem Klinikpersonal möglich, eine erste Beurteilung der Stressanfälligkeit der Pferde anhand ihres Naturells abzugeben. Als „nervös, sensibel“ eingestufte Pferde sollten demzufolge kritischer beobachtet und hinsichtlich Stressanzeichen überprüft werden.

5.2.2 Bestimmung von IgA im Kot

In der vorliegenden Untersuchung hat sich der erwartete Konzentrationsabfall des fäkalen IgA nach der Einwirkung von Stressoren wie etwa Transport und Operation mit anschließender Rückkehr auf den Wert vor Belastungseinwirkung bestätigt.

Es zeigte sich, dass die Werte bei den gesunden Pferden nach der Einlieferung zunächst annähernd denen der Kontrollpferde entsprachen, in den ersten Tagen des Klinikaufenthalts

aber hochsignifikant anstiegen. Dies kann als Folge des Antigenkontakts in der Klinik interpretiert werden, da die Pferde einem ihnen fremden Keimspektrum, beispielsweise bei der Fütterung, ausgesetzt waren. Es ist bekannt, dass IgA von den Plasmazellen der Submukosa als Antwort auf lokale Antigen-Stimulation synthetisiert wird (siehe Kap. 2.4.2). Nach Verbringen in die neue Umgebung kann es deshalb zu einer vermehrten Produktion lokaler protektiver Immunglobuline im Darm gekommen sein. Eine weitere Erklärung wäre, dass auch der durch den Transport erlebte Eustress, eine normale Abweichung von der Homöostase und deren nachfolgende Regulierung, zu einer reflektorischen Immunstimulation geführt hatte. Die Darmpassage dauert beim Pferd in der Regel etwa 24 Stunden, so dass die erhöhten IgA-Konzentrationen im Kot auch auf die Auswirkungen des Transports zurückgeführt werden können.

Signifikant war der Abfall des lokalen Immunglobulingehalts im Kot nach den Operationen (von im Mittel 0,530 OD₄₅₀ auf im Mittel 0,191 OD₄₅₀ nach den leichten Operationen, $p < 0,001$). Dabei spielte es keine Rolle, ob es sich bei der Operation um ein leichtes Trauma mit kurzer Narkose oder um ein schweres Trauma mit langer Narkose handelte. Auch zwei Pferde, bei denen eine Magnetresonanztomographie in Allgemeinanästhesie, jedoch keine Operation, durchgeführt wurde, zeigten deutlich niedrigere IgA-Konzentrationen nach der Narkose.

Diese Ergebnisse sprechen dafür, dass schon der Stress durch die Narkosevorbereitung, -einleitung, die Narkose selbst und die anschließende Aufstehphase einen deutlichen Einfluss auf die Immunvorgänge im Pferdedarm hat.

HAU und Mitarbeiter (2001) sowie GUHAD und HAU (1996) fanden bei Untersuchungen an Ratten heraus, dass ein länger andauernder Stressor in der Lage ist, die IgA-Konzentrationen in Speichel und Kot deutlich erkennbar absinken zu lassen. Bei den Pferden reicht für eine Verringerung des lokalen Antikörperschutzes offensichtlich schon ein starker, kurz wirkender Stressor (z.B. Narkose) aus.

Über den Zusammenhang des IgA-Verlaufs mit der Operation bei schon an Colitis erkrankten Pferden konnten keine statistischen Untersuchungen angestellt werden, da nur ein Pferd (Nr. 51), das an Colitis erkrankt war, in der Klinik operiert wurde. Bei diesem Pferd blieben die bereits vorher geringen IgA-Konzentrationen auf einem niedrigen Level.

KRAFT und DÜRR (1999) berichten über eine erhöhte Neigung zu Infektionskrankheiten, insbesondere der Schleimhäute, wenn der IgA-Gehalt in Sekreten vermindert ist.

Der IgA-Abfall nach der Operation kann einen wichtigen Faktor in der Pathogenese der Colitis X darstellen.

Da jedoch der Immunglobulingehalt im Kot bei allen Pferden nach der Operation stark abnahm, aber prozentual nur sehr wenige Pferde während eines Klinikaufenthalts an Colitis X erkrankten, müssen noch andere Faktoren dazukommen, damit es zu einem Ausbruch der Krankheit kommt. Manche Pferde sind Träger von *Clostridium difficile*, ohne dass sie unter normalen Umständen an Colitis X erkranken (ROBINSON 2003; BARTMANN et al. 2004; WOLLANKE und GERHARDS 2006). Bei solchen Patienten könnten beispielsweise der Operationsstress und die darauf folgende mangelnde lokale Immunabwehr ausreichen, damit es zum Ausbruch der Krankheit kommt.

Dies kann eine Erklärung für das sporadische Auftreten der Colitis X sein. Möglich wäre auch eine Besiedelung der Klinik mit *Clostridium difficile*, einem Hospitalismus-Keim, der sich bis zu vier Jahre in Pferdekot in den Kliniken halten kann (ROONEY et al. 1963; DUNKIN 1969; VAUGHAN 1973).

Einen weiteren deutlichen Hinweis auf die Stress-Ätiologie der Erkrankung stellt auch die Korrelation zwischen der Kortisolkonzentration und dem IgA-Gehalt dar. Besonders signifikant waren die Ergebnisse am Tag nach der Operation. Je höher die Kortisolkonzentration im Serum war, desto niedriger war der IgA-Gehalt. Dies spricht dafür, dass durch Kortisol im Rahmen der Immunsuppression auch ein Einfluss auf die lokale Immunabwehr im Darm ausgeübt wird. Bei gestressten Pferden ist die Kortisolkonzentration im Blut signifikant höher als bei weniger gestressten Pferden (siehe Kap. 4.2.2 und 4.2.7), was erklärt, warum solche Pferde prädisponiert sind, an einer Colitis X zu erkranken (LAUK et al. 1987).

Da Colitis X eine verheerende Durchfallerkrankung darstellt, die viele Pferde im Verlauf des Lebens kostet, muss alles dafür getan werden, damit die Pferde möglichst gar nicht erst erkranken. Da die Operation selbst den größten Stressfaktor während des Klinikaufenthalts darstellt, jedoch in vielen Fällen unumgänglich ist, muss versucht werden, den übrigen Stress auf ein Minimum zu begrenzen. Beispielsweise könnte versucht werden, den Zustand der Immobilisation, der für das Fluchttier Pferd eine große Belastung darstellt, schneller zu

durchlaufen. Auch kann im individuellen Fall Abhilfe durch Besuche von vertrauten Personen oder das Bringen eines Stallgenossen geschaffen werden. Möglich wären auch Kotuntersuchungen vor der vorgesehenen Operation.

Pferde, die extrem hohe IgA-Konzentrationen aufweisen, sind dabei immer als hoch riskant einzustufen, da sie bereits eine starke Immunaktivierung zeigen, die leicht in einen Erschöpfungszustand übergehen kann. Ebenso sollten Pferde, die bereits am Anfang des Klinikaufenthalts sehr niedrige IgA-Werte aufweisen, unter besondere Beobachtung gestellt werden.

Der hier beschriebene ELISA benötigt allerdings zu viel Zeit, um unter normalen Klinikbedingungen angewendet zu werden.

Zur Entwicklung einer schnelleren Methode der IgA-Bestimmung im Kot und um herauszufinden, ab welchem Immunglobulingehalt der Zustand klinisch relevant beeinträchtigt wird, bedarf es weiterführender Untersuchungen.

Fälle außerhalb der Statistik

Zwei Pferde (Nr. 5 und Nr. 38), die für Routineoperationen (Vitrektomien) in die Klinik für Pferde eingeliefert wurden, entwickelten nach der Operation Durchfall mit allgemeiner Depression bzw. einen fieberhaften Atemwegsinfekt. Beide Pferde hatten bereits bei Einlieferung in die Klinik sehr niedrige IgA-Konzentrationen (0,14 OD₄₅₀ bzw. 0,07 OD₄₅₀). Dies spricht dafür, dass beide Pferde einen verminderten Immunschutz aufwiesen und möglicherweise auch noch andere Voraussetzungen (latentes Trägertum) für eine Erkrankung mitbrachten.

Aufschlussreich waren die Ergebnisse bei den Pferden mit den unterschiedlichen intestinalen Erkrankungen. So zeigten beispielsweise die Pferde Nr. 89 und Nr. 51, die beide an Colitis erkrankt waren, zu Beginn der Erkrankung bzw. bei Einlieferung in die Klinik deutlich erhöhte IgA-Konzentrationen. Diese sanken dann im weiteren Verlauf stark ab und blieben auf niedrigem Level. Einen deutlichen Anstieg zeigte Pferd Nr. 69, das in der Klinik eine Peritonitis entwickelte.

Da die Pferde bereits mit Colitis in die Kliniken eingeliefert wurden, konnte kein IgA-Gehalt

im Kot vor Beginn der Erkrankung untersucht werden. Möglicherweise kam es vor Krankheitsbeginn zu einem Abfall der lokalen IgA-Konzentrationen, beispielsweise ausgelöst durch Stress, wodurch die Pferde für intestinale Erkrankungen prädisponiert wurden. Nachdem die Pferde etwa drei Tage später eine Colitis entwickelt hatten, kam es zu einem starken, reflektorischen IgA-Konzentrations-Anstieg, der dann in der Klinik gemessen wurde. Der folgende Konzentrationsabfall ist auf den Verbrauch der lokalen Immunglobuline und die hochgradige Erkrankung mit allgemein gestörter Immunabwehr zurückzuführen.

Andere Pferde, die Darmerkrankungen aufwiesen, hatten konstant niedrige Konzentrationen, die während der gesamten Zeit weit unter denen der übrigen Pferde lagen (Pferd Nr. 33, Pferd Nr. 49). Die unterschiedlichen IgA-Konzentrationen lassen sich vermutlich durch die vermehrte Immunabwehr bei einigen Kolikern und einen Zusammenbruch des lokalen Immunsystems bei anderen erklären.

5.2.3 Hämatokrit und Gesamteiweiß

Nach dem Transport kam es bei den Pferden zu einer leichten Erhöhung des **Hämatokrits** im Vergleich mit der nicht transportierten Kontrollgruppe. Diese nur leichte Erhöhung steht im Gegensatz zu einer Studie von HADA und Mitarbeitern (2003), in der nach Stress durch Verbringen in eine neue Umgebung ein signifikanter Anstieg des Hämatokrits festgestellt wurde.

Lediglich bei den Pferden mit hochgradiger Störung des Allgemeinbefindens war der Hämatokrit deutlich erhöht, eine Folge der mit Dehydrierung einhergehenden (Kolik-) Erkrankungen und vermutlich der durch Stress ausgelösten Milzkontraktion (SCHEUNERT und KRZYWANEK 1927; KRZYWANEK et al. 1972).

In der vorliegenden Studie wiesen alle Kontrollpferde Hämatokritwerte auf, die sich in dem von ROBINSON (2003) angegebenen Referenzbereich von 0,28 bis 0,38 l/l bewegten und auch kaum schwankten. Eine übermäßige Aufregung durch die Blutentnahme kann bei den Pferden in dieser Studie ausgeschlossen werden. ARCHER (1974) und STEWART u. Mitarbeiter (1977) hatten dahingegen festgestellt, dass die Aufregung, die durch Venenpunktionen provoziert wird und die in Verbindung mit dem Probennehmer und dem

Temperament des Pferdes steht, eine ähnliche Veränderung der Blutparameter auslösen kann, wie sie durch Stress hervorgerufen wird.

Der Hämatokrit kann bei leicht erkrankten Pferden, die nicht dehydriert sind, einen deutlichen Hinweis auf Stress geben, da es aufgrund einer stressbedingten Sezernierung von Katecholaminen zu einer Milzkontraktion und damit zur Entspeicherung der Erythrozyten kommt.

Die **Gesamteiweiß**konzentration entsprach selbst bei den Pferden mit hochgradiger Störung des Allgemeinbefindens der Konzentration der Kontrollpferde (68 g/l). Der Gesamteiweißgehalt konnte folglich bei den im Rahmen dieser Studie untersuchten Pferden zu jeder Zeit noch ausgeglichen werden.

5.2.4 Weißes Blutbild

5.2.4.1 Gesamtleukozyten

Die Leukozytenzahlen bei den Pferden mit hochgradiger Störung des Allgemeinbefindens waren in der vorliegenden Studie niedriger als bei den Pferden mit einer geringeren Störung des Allgemeinbefindens. Dies ist unter anderem durch eine Erweiterung des Gefäßlumens im Schock, wonach es zu einer Verlangsamung des Blutstroms und zum Abwandern der Leukozyten an die Gefäßwände kommt, zu erklären. Dadurch steigt der marginale Zellpool und die Leukozytenkonzentrationen im Blut sinken (SCHALM et al. 1975; KRAFT und DÜRR 1999). Die schwer erkrankten Pferde der vorliegenden Studie waren in der Mehrzahl Koliker, die sich schon in unterschiedlichen Schockstadien befanden.

Eine weitere Erklärung sind auch die verschiedenen intestinalen Erkrankungen, von denen viele mit einer Leukopenie einhergehen (ROONEY et al. 1963; DUNKIN 1969; WHITLOCK 1986; FEKETY und SHAH 1993; WOLLANKE und GERHARDS 2003).

5.2.4.2 Leukozytose

In der vorliegenden Studie traten bei vielen Pferden nach dem Transport in die Klinik erhöhte Leukozytenwerte auf. Dies steht im Einklang mit anderen Untersuchungen (SIMENSEN et al.

1980; DALIN et al. 1993; SMITH et al. 1996; FRIEND et al. 1998; FAZIO und FERLAZZO 2003; STULL et al. 2004). In der Literatur wird über einen Anstieg der Gesamtleukozytenzahl häufig schon im Zusammenhang mit alltäglichen Stresssituationen berichtet, hervorgerufen durch die Mobilisierung marginaler Granulozytenpools und einer Bluteindickung infolge erhöhten Blutdrucks und verstärkter Filtration von Plasmaflüssigkeit in Kapillargebieten (KRAFT und DÜRR 1999).

Es war auffällig, dass die Pferde mit einer geringen Störung des Allgemeinbefindens im Mittel niedrigere Leukozytenkonzentrationen aufwiesen als diejenigen, die gesund in die Klinik transportiert wurden. Da es sich bei den gesunden Pferden vor allem um junge Pferde handelte, die für eine Kastration eingeliefert wurden, kann dies eine Folge der mangelnden Transportroutine und vermehrter psychischer Anspannung sein.

5.2.4.3 Verhältnis neutrophiler Granulozyten zu Lymphozyten (N:L-Verhältnis)

Als Antwort auf Transport- oder Operationsstress konnte in der vorliegenden Studie eine Erhöhung des Verhältnisses neutrophiler Granulozyten zu Lymphozyten (N:L-Verhältnis) festgestellt werden. Das normale Verhältnis stellte sich bei den in diesem Rahmen untersuchten Pferden erst nach ein bis zwei Tagen wieder ein. Diese Ergebnisse decken sich mit Angaben aus der Literatur (ROSSDALE et al. 1982).

Bei den hier untersuchten Pferden konnte ein deutlicher Rückgang der Lymphozytenzahlen mit daraus resultierender Erhöhung des N:L-Verhältnisses nach leichten Operationen festgestellt werden. Dieses erhöhte sich nach der Operation im Mittel auf 2,8, um dann nach etwa vier Tagen wieder auf den Mittelwert von 1,5 der Kontrollgruppe abzusinken. Dieser Rückgang der Lymphozytenumwandlung direkt nach Operationen wurde von CULLEN und VAN BELLE (1975) sowie CULLEN und CHRETIEN (1973) vor allem auf das Gewebetrauma und nicht-spezifischen Stress zurückgeführt, der durch sympathische und adrenokortikale Stimulation ausgelöst werden soll.

Die Lymphozytendepression wurde von JUBERT und Mitarbeitern (1973) innerhalb der ersten zwei Stunden nach Narkoseinduktion festgestellt, am deutlichsten in der unmittelbar post-operativen Periode und sie persistierte dann für bis zu zwei Wochen (PARK et al. 1971).

Das N:L-Verhältnis bei den Pferden, die einer schweren Operation unterzogen wurden, sank nach der Operation auf im Mittel 2,7. Vorher wiesen diese Pferde ein stark erhöhtes N:L-Verhältnis auf (im Mittel 3,3). Im Anschluß an die Operation blieb das N:L-Verhältnis für mehr als vier Tage erhöht, die Pferde zeigten vier Tage nach dem Eingriff immer noch eine Verschiebung der Leukozytenfraktionen zugunsten der neutrophilen Granulozyten ($\bar{X} = 3,1$).

Die in diese Berechnung einbezogenen Pferde mit hochgradiger Störung des Allgemeinbefindens hatten vermutlich bereits bei der Ankunft überaus starken Stress durch ihre Erkrankung bzw. befanden sich im Schock, so dass eine Umverteilung der Leukozyten stattgefunden hatte. Die Gesamtleukozytenzahl stieg laut der Studie von CULLEN und VAN BELLE (1975) nach Allgemeinanästhesie für lange, traumatische Eingriffe an, vor allem bedingt durch einen Influx von Neutrophilen in die Blutbahn.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass es sich bei dem N:L-Verhältnis um einen guten Stressparameter handelt, da er einfach zu bestimmen ist, sich nicht so schnell verändert wie das Kortisol und durch kurzzeitige Stresssituationen weniger beeinflusst wird.

5.2.5 Bestimmung vom Kortisol-Gehalt im Serum

Die hospitalisierten Pferde in der vorliegenden Studie unterlagen, anders als die Kontrolltiere, keinem geregelten Rhythmus mehr, da der Stress zum Aussetzen der zirkadianen Rhythmik geführt hatte. Dies entspricht dem Ergebnis anderer Studien, in denen das Verbringen von Pferden in eine neue Umgebung zu dieser Erscheinung führte (IRVINE und ALEXANDER 1987, 1994).

Überraschend war die Tatsache, dass als „nervös, sensibel“ beurteilte, gesunde Pferde nach dem Transport signifikant höhere Kortisolkonzentrationen aufwiesen als die „ruhigeren, ausgeglichenen“ Pferde. Dieses Ergebnis zeigt, dass die Kortisolkonzentration in Bezug auf den Stress, der auf ein Pferd einwirkt, vorsichtig interpretiert werden muss, da sie offenbar auch von individuellen Einflüssen abhängt.

Dennoch stieg die Kortisolkonzentration im Blut in dieser Untersuchung parallel zu dem Grad der Störung des Allgemeinbefindens an. Somit ließ sich durch eine Erhöhung des Kortisolgehalts feststellen, dass die schwerer erkrankten Pferde auch einem vermehrten Stress durch ihre Krankheit ausgesetzt waren.

Diese Aussage lässt sich auch durch die Ergebnisse der Auswertung der schweren Operationen belegen. Die Pferde zeigten im Mittel während der gesamten Zeit deutlich höhere Kortisolkonzentrationen als die Pferde, die lediglich leichten Operationen unterzogen wurden. Bereits vor den schweren Operationen war die Kortisolkonzentration über den angegebenen Referenzwert hinaus angestiegen (im Mittel auf 264,1 nmol/l).

Im Gegensatz zu einigen Studien, in denen berichtet wird, dass Schmerzen keinen Einfluss auf die Kortisol-Produktion hätten (RIETMANN et al. 2004a, 2004b) wurde in der vorliegenden Untersuchung festgestellt, dass der Kortisolspiegel mit dem Schmerzgrad der Pferde ansteigt. Dies bestätigt die Ergebnisse von CLARKE und Mitarbeitern (1992) sowie HOOD (1999), bei denen eine experimentelle Rehe-Auslösung zu einer Erhöhung der Kortisolkonzentration im Blut führte.

Die in dieser Studie erlangten Ergebnisse stehen im Einklang mit Untersuchungen von KVETNANSKY und Mitarbeitern (1984), nach denen die Kortisolausschüttung eine abgestufte Reaktion in Abhängigkeit von der Stärke des Stressors darstellt.

Einen Tag nach der Operation sank der Kortisolwert sowohl nach leichten als auch nach schweren Operationen signifikant ab. Aus der schnellen Rückkehr der Konzentrationen auf das Normalniveau wird bestätigt, dass Kortisol ein sich schnell verändernder Parameter ist, der nach dem Ende des akuten Stresses oder nach Beseitigung des Stressors auch sehr schnell wieder auf die Ausgangskonzentrationen absinkt (LEBELT et al. 1996). Kortisol weist laut LASSOURD und Mitarbeitern (1996) eine Halbwertszeit von 1 bis 1,5 Stunden auf.

In der vorliegenden Untersuchung konnte ein zuverlässiger Anstieg des Serumkortisols mit dem Beginn von Stresssituationen festgestellt werden. Des Weiteren unterlagen die Kortisolwerte keinen starken tageszeitlichen und interindividuellen Schwankungen und verliefen parallel zum Stress und der anderen, einbezogenen Stressparameter. Deshalb kann Kortisol nach den Ergebnissen dieser Studie unter definierten Umständen (möglichst stressfreie Umgebung, gleicher Blutentnahmezeitpunkt, schonendes Blutnehmen, sofortige Auswertung) als vorsichtig zu interpretierender Stressparameter verwendet werden.

Fälle außerhalb der Statistik

Bei den Pferden mit geringgradiger Störung des Allgemeinbefindens fiel Nr. 93 auf, ein älterer Wallach, bei dem sich im Verlauf des Klinikaufenthalts herausstellte, dass er unter Morbus Cushing litt. Dadurch sind die stark erhöhten Kortisolwerte dieses Pferdes zu erklären (siehe Kap. 4.2.7, Abb. 4.20).

5.2.6 Bestimmung des oxidativen Stresses

Bei den in der Klinik eingelieferten Pferden zeigten nur sehr wenige Radikalkonzentrationen im Blut, die oberhalb des Referenzbereichs (>200 Carr. Units) lagen und damit „oxidativen Stress“ offenbarten.

Es war auffällig, dass die Pferde, die an chronischen Erkrankungen litten, erhöhte Konzentrationen freier Radikale aufwiesen. Pferd Nr. 60, das an „Equine Motor Neuron Disease“ litt, hatte mit der mittleren Konzentration von 460,8 Carratelli Units die höchsten Radikalkonzentrationen im Blut. Über einen Anstieg der freien Radikale im Zusammenhang mit dieser Erkrankung wurde in jüngerer Zeit berichtet (DIVERS et al. 2006).

Eine Verbindung zwischen chronischen intestinalen Erkrankungen und oxidativem Stress, wie im Vorfeld bei der Planung dieser Untersuchung vermutet, konnte in dieser Studie nicht hergestellt werden. In der Literatur wurde darüber berichtet (ARGENZIO und HINTZ 1970). Möglicherweise könnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen chronischen intestinalen Erkrankungen und oxidativem Stress durch Untersuchung eines größeren Patientenguts festgestellt werden.

Auffällig war, dass die Radikalkonzentrationen bei zwei Pferden rapide anstiegen, bevor klinische Symptome einer Hufrehe auftraten. HARRIS und Mitarbeiter (2006) berichteten in ihren Studien über einen solchen Zusammenhang. Allerdings ist nicht klar, ob eine Hufrehe beispielsweise durch Fütterung von Antioxidantien hätte verhindert werden können, oder ob der Anstieg der Radikale nur eine Begleiterscheinung der Erkrankung ist. Dieser Zusammenhang sollte in weiterführenden Studien noch genauer untersucht werden.

Die in der vorliegenden Studie gewonnenen Ergebnisse stehen im Einklang mit denen von

LEKEUX (2006), der berichtet, dass Stress, beispielsweise durch Transport, Radikale zwar in Einzelfällen zu erhöhen vermag, maßgebliche Veränderungen aber nur durch Training oder chronische Entzündungen entstehen.

Die Bestimmung von Radikalen im Blut bei Pferden mag in der Leistungsdiagnostik und bei Sportpferden ihre Berechtigung haben, die Belastungen in der Klinik führten jedoch in der vorliegenden Untersuchung nicht zu einer deutlichen Erhöhung der Radikalkonzentration. Demnach sind Radikalbestimmungen als Parameter zur Evaluierung von Stress in Kliniken eingestellter Pferde wenig sinnvoll.

5.2.7 Glukose als Stressparameter

Bei den gesund in die Klinik eingelieferten Pferden aus der hier vorliegenden Studie bestand nach dem Transport ein signifikanter Unterschied der Glukosekonzentration im Blut zu der nicht transportierten Kontrollgruppe. Der im Mittel bis auf 6,04 mmol/l erhöhte Glukosegehalt sank bis zum Tag der Operation, die im Allgemeinen zwei Tage darauf stattfand, auf im Mittel 5,7 mmol/l. Die dann erreichte Konzentration entsprach jedoch immer noch nicht dem Mittelwert der gesunden, nicht transportierten Pferde (4,79 mmol/l).

Über gleiche Ergebnisse berichten STULL und RODIEK (2002). Sie stellten in ihrer Studie fest, dass die Glukosewerte nach einem Transport nicht sofort auf den Ausgangswert zurückkehren. Bei Pferden, die im Hänger beidseits angebunden sind, kann es bis zu 48 Stunden dauern, bis wieder Ausgangskonzentrationen erreicht werden.

Während in der Literatur berichtet wird, dass beim Menschen die hyperglykämische Antwort proportional zu der Schwere des operativen Eingriffs ausfällt (CLARKE 1970; NISTRUP-MADSEN et al. 1976), konnte bei den im Rahmen dieser Studie operierten Pferden kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Schwere des operativen Eingriffs und der Glukosekonzentration gefunden werden. Die Pferde zeigten bereits nach leichten Operationen Glukosekonzentrationen, die im Mittel mit 7,4 mmol/l über den Referenzwerten lagen. Möglicherweise müsste für eine solche Aussage eine größere Probandenzahl untersucht werden.

Die Serum-Glukosekonzentrationen der sieben Patienten, denen im Rahmen dieser Studie mehrmals Blut entnommen wurde, zeigten weder einen Zusammenhang mit der Fütterung, noch einen zirkadianen Rhythmus. Vielmehr zeigten die Tiere über den Tag verteilt konstante

Glukosekonzentrationen. Möglicherweise findet bei Pferden, die sich nicht in ihrer gewohnten Umgebung befinden, ein Außer-Kraft-Setzen der zirkadianen Rhythmik ähnlich wie beim Kortisolgehalt im Serum statt. Zudem erhielten die Pferde aus dieser Studie vor der Blutabnahme, die immer morgens stattfand, lediglich Heu, so dass eine Veränderung des glykämischen Index (siehe Kap. 2.4.7) ausgeschlossen werden konnte.

Die etwa zehnstündige Nahrungskarenz vor der präoperativen Probennahme hatte ebenfalls keinen Einfluss auf die Glukosekonzentration. Auch JACOBS und BOLTON (1982) sowie NADAL und Mitarbeiter (1997) stellten fest, dass die Blut-Glukosewerte nach einer Fastenzeit von 12 Stunden oder länger bei Pferden auffallend konstant sind.

In dieser Studie zeigte sich, neben dem signifikanten Glukose-Anstieg als Antwort auf den Transport auch eine lineare Erhöhung der Glukosekonzentration mit dem Grad der Störung des Allgemeinbefindens. Nach zwei Tagen Klinikaufenthalt blieb die Glukosekonzentration im Blut immer noch leicht erhöht. Diese Reaktion des Körpers als Folge der Ausschüttung von Katecholaminen und Glukokortikoiden, stellt nach STOHRER und Mitarbeitern (2002) eine der wichtigsten Stoffwechselantworten auf Belastungen dar.

Da der Grund für den Anstieg der Blut-Glukosekonzentration nicht primär in der Erkrankung der Pferde zu finden ist, kann davon ausgegangen werden, dass Glukose beim Pferd ein geeigneter Parameter ist, um den Stress zu messen, dem das Tier ausgesetzt ist.

Der Parameter ist zudem sensibel genug, um bereits kleine Veränderungen zu erfassen.

Fälle außerhalb der Statistik

Auch bei der Auswertung der Glukose gab es einige Pferde, deren Glukosekonzentrationen sich nicht durch die Störung des Allgemeinbefindens erklären ließen.

Bei den Pferden mit geringer Störung des Allgemeinbefindens war dies beispielsweise Nr. 93, das an Morbus Cushing litt und deshalb metabolisch bedingt erhöhte Glukose-Werte aufwies (vgl. KRAFT und DÜRR 1999) (siehe Kap. 4.2.9, Abb. 4.26).

Bei den Pferden mit mittelgradiger Störung des Allgemeinbefindens fiel Nr. 95 mit stark erhöhten Glukosewerten auf. Dieses Pferd war einige Tage vor Einlieferung in die Klinik für Pferde kastriert worden und blutete seitdem aus dem Samenstrangstumpf. Aufgrund dessen war es offenkundig stärker „gestresst“ als Pferde, die erst relativ kurz erkrankt waren oder

weniger an ihrer Erkrankung litten (siehe Kap. 4.2.9, Abb. 4.26). Pferd Nr. 95 fiel auch bei anderen Stressparametern mit höheren Werten auf als die übrigen Pferde.

Auch Pferd Nr. 91, das aufgrund der schon länger bestehenden Torsio coli nach Ankunft in der Klinik euthanasiert wurde, hatte einen deutlich erhöhten Glukosespiegel (14 mmol/l) (siehe Kap. 4.2.9, Abb. 4.26). Bei diesem Pferd kann davon ausgegangen werden, dass sowohl der starke Stress durch die Schmerzen als auch die durch die Kolik bedingten Stoffwechsellentgleisungen zu dem erhöhten Glukosegehalt im Blut geführt hatten. Über diesen Zusammenhang ist in der Literatur berichtet worden (GERHARDS 1983).

5.2.8 Laktat-ein rein physischer Parameter?

Pferde mit schweren Erkrankungen zeigten in dieser Untersuchung deutlich erhöhte Laktatkonzentrationen im Blut. Dabei handelte es sich in der Mehrzahl der Pferde um Koliker, die nicht nur durch Transportstress und Muskelarbeit auf dem Transport, sondern vor allem aufgrund ihrer Darmerkrankung erhöhte Laktatwerte aufwiesen. Bei Koliken kommt es durch Ileussituationen häufig zu einer Ischämie verschiedener Darmabschnitte und damit bei Fortschreiten der Erkrankung zu einer starken Erhöhung der Laktatkonzentrationen im Blut (GERHARDS 1983).

In der vorliegenden Studie wurde 14 Pferden direkt nach Narkoseende Blut entnommen, um die Auswirkung der Narkose auf die Laktatkonzentration zu messen. Bei diesen Pferden stieg der Laktatspiegel bereits während der Narkose und erreichte im Mittel Konzentrationen, die geringfügig über den Referenzbereich hinausgingen (1,0 mmol/l). Einen Grund für die Erhöhung der Laktatkonzentration stellt neben den Auswirkungen der Anästhesie (SERTEYN et al. 1987) vermutlich eine Hypoxie der Muskulatur dar, die beim Pferd durch Lagerung und Patientengröße/-gewicht stark belastet und minderdurchblutet wird (HALL et al. 1978; STJERNSTROM et al. 1981).

Eine andere Quelle des anaeroben Stoffwechselprodukts ist unwahrscheinlich, da der Sauerstoffpartialdruck im Blut bei den anästhesierten Pferden im Allgemeinen höher liegt als beim wachen Pferd. Dies ist begründet durch den prozentual höheren Sauerstoffgehalt im Narkosegas (> 90 Prozent) verglichen mit der Luft (30 Prozent) (SCHATZMANN 1995).

In der vorliegenden Untersuchung wurde festgestellt, dass die Narkosedauer keinen Einfluss auf die Laktatproduktion hatte. Auch bei sehr kurzen Narkosen und Operationen kam es zu einem Anstieg der Laktatkonzentration. Erwartet worden war, dass die Muskulatur durch die längere Lagerung stärker in Mitleidenschaft gezogen würde, da deren Ischämie dann länger anhält und die Laktatanhäufung steigt. Über ähnliche Ergebnisse wurde bereits in einer anderen Studie berichtet (REIMOLD 2006).

Nach der Aufstehphase und darauf folgender erneuter Blutentnahme stieg die Laktatkonzentration bei allen Pferden ($n = 59$) nochmals höchstsignifikant an (im Mittel auf 1,4 mmol/l). Dies ist primär durch die vermehrte Muskelaktivität während des Aufstehvorgangs zu erklären, auch wenn man davon ausgehen kann, dass das Fluchttier Pferd in der kleinen Aufwachbox ohne Sichtmöglichkeit Stress erleidet.

Eine klinische Bedeutung aufgrund der Erhöhung der Laktatkonzentration nach der Operation ist aber nicht zu erwarten, da bereits durch leichte Arbeit physiologischerweise Konzentrationen erreicht werden, die über die gemessenen Werte hinausgehen.

Bei der ersten Blutentnahme wurde dem Pferd Nr. K9 aus der Kontrollgruppe das Blut nach leichter Arbeit entnommen. Dabei wurde eine Konzentration von 1,8 mmol/l gemessen. Das gut trainierte Pferd Nr. K8, das vor der nächsten Blutentnahme mittelschwer gearbeitet wurde, hatte nur einen Laktatwert von 1,4 mmol/l. Dies spricht dafür, dass (wie beim Menschen schon länger bekannt) auch beim Pferd die Laktatkonzentration je nach Trainingszustand des Pferdes schwankt und dass bei gleicher Belastungsintensität Pferde mit schlechtem Trainingszustand höhere Blutlaktatspiegel aufweisen, als besser trainierte Tiere (KRZYWANEK et al. 1972; VON ENGELHARDT et al. 1973; LINDNER et al. 1992b).

Insgesamt findet man in der Literatur sehr wenig über Laktatwerte beim Pferd im Zusammenhang mit Stress. Dies erschwert die Interpretation der vorliegenden Ergebnisse und macht deutlich, wie wichtig es wäre, über diesen Parameter in diesem Zusammenhang in Zukunft mehr in Erfahrung zu bringen. Nach den Ergebnissen dieser Studie erscheint Laktat als sehr trainings- und krankheitsabhängig und bildet aus diesen Gründen keinen geeigneten Stressparameter für Pferde. Da sein Ursprung vor allem in der Muskulatur zu suchen ist, ist er nicht spezifisch genug, um zu beweisen, dass ein Tier Stress ausgesetzt war oder ist.

Fälle außerhalb der Statistik

Einige Pferde hatten überaus hohe Blut-Laktatkonzentrationen. So zeigten beispielsweise Pferd Nr. 17 und Pferd Nr. 84, die an starker Atemnot litten, erhöhte Laktatwerte. Über einen mit Sauerstoffmangel assoziierten vermehrten anaeroben Stoffwechsel und darauf folgenden Laktat-Anstieg wird auch beim Menschen berichtet (PSCHYREMBEL 1998).

Ebenso können die erhöhten Laktatkonzentrationen von Pferd Nr. 91 und Pferd Nr. 59, die beide Koliken hatten, durch die zugrunde liegenden Erkrankungen erklärt werden.

5.2.9 Eigenschaften von Zylexis® und Paramunitätsinducern

Pferde, die den Paramunitätsinducer erhalten hatten, zeigten eine deutliche Tendenz zu erhöhten Gesamteiweißkonzentrationen im Blut. Dies ist vermutlich auf die vermehrte Stimulation der Produktion von Immunglobulinen und anderen Bestandteilen des Immunsystems zurückzuführen. Da aber keine Elektrophorese angefertigt wurde, um die einzelnen Proteinfractionen zu erfassen, kann diese Vermutung nicht belegt werden.

Eine weitere Beobachtung konnte bei der IgA-Konzentration der mit Zylexis® behandelten Pferde im Vergleich mit den unbehandelten Pferden gemacht werden. Die Zylexis®-Pferde zeigten eine deutliche Tendenz zu einem weniger steilen Abfall der IgA-Konzentration im Kot nach der Operation. Für eine signifikante statistische Aussage streuten die Werte allerdings zu stark.

Ein Anstieg der IgA-Konzentration im Kot wäre, ebenso wie ein Gesamteiweiß-Anstieg, auch nicht unbedingt durch die Wirkungsweise des Medikaments zu begründen, da durch das Medikament nur der unspezifische Anteil des Immunsystems stimuliert wird. Bewirkt werden eine Lymphozytenproliferation und eine erhöhte Phagozytoseaktivität durch das mononukleäre Phagozytensystem ebenso wie eine Zytokinausschüttung. Es kann somit zu einer verbesserten Interaktion zwischen den verschiedenen Anteilen des Immunsystems kommen (MAYR et al. 1979; STICKL und MAYR 1979; MAYR 2001; GLITZ 2002). Die Korrelation des weniger erniedrigten IgA-Gehalts und des erhöhten Gesamteiweißgehalts nach Verabreichung des Paramunitätsinducers lässt allerdings eine Stimulation auch des spezifischen Anteils des Immunsystems plausibel erscheinen.

Die Kortisolkonzentrationen bei den Pferden, die im Rahmen dieser Studie Zylexis® erhalten hatten, verliefen im Allgemeinen etwas niedriger als bei den übrigen Pferden, und der Kortisol-Anstieg nach der Operation war signifikant niedriger. In Tierversuchen an Ratten und Pferden wurde bereits die Inhibition stressinduzierter Kortisol-Anstiege durch Paramunitätsinducer gezeigt (BAYER Produktinformation 2005). Über eine niedrigere Kortisolkonzentration wäre auch der weniger starke Abfall des IgA-Gehalts nach der Operation bei den mit Zylexis® behandelten Pferden zu erklären, da Kortisol nach Ergebnissen dieser Studie auch Einfluss auf die lokale Immunabwehr im Darm zu nehmen scheint (siehe Kap. 5.2.2).

In einer weiterführenden Studie könnte man Pferden, die für eine leichte Operation anstehen, per Doppelblindstudie Zylexis® verabreichen und den Einfluss dieses Medikaments an einem größeren Patientengut genauer untersuchen.

5.2.10 Beantwortung der Haupt- und Detailfragen aus der Einleitung

5.2.10.1 Hauptfrage

Gibt es verlässliche klinische oder Labor-Parameter beim Pferd, mit deren Hilfe „Stress“ bei Pferden frühzeitig bestimmt und dadurch möglicherweise lebensbedrohliche Folgeerkrankungen verhindert oder abgemildert werden können?

Im Rahmen dieser Untersuchung zeigte sich, dass die klinischen Veränderungen, die allgemein als „Stress“ interpretiert werden (z.B. erhöhte Herzfrequenz und Körpertemperatur), tatsächlich mit einer Veränderung der Blut-Parameter einhergingen.

Eine deutliche Beeinträchtigung des lokalen Immunschutzes als Folge von Stress wurde durch den Konzentrationsabfall der Immunglobuline A im Kot festgestellt. Der ELISA zur Erfassung der Immunglobuline ist aber in der angewandten Form nicht geeignet, um in Kliniken in der Operations-Voruntersuchung verwendet zu werden, da er zu viel Zeit in Anspruch nimmt.

Für den Patienten Pferd verwendbare, klinisch brauchbare Blut-Parameter sind hiernach Glukose, Kortisol und das Verhältnis neutrophiler Granulozyten zu

Lymphozyten (N:L-Verhältnis). Kortisol kann verschiedenen Schwankungen unterliegen und muss deshalb vorsichtig interpretiert werden. Glukose dahingegen stellt einen, sensible Veränderungen erfassenden, Parameter zur Evaluierung von Stress dar. Auch das N:L-Verhältnis zeigte bei den im Rahmen dieser Studie untersuchten Pferden den Stress zuverlässig an. Es ist besonders geeignet zur Erfassung von Langzeit-Stress, da die Veränderungen über einige Tage bestehen bleiben.

5.2.10.2 Detailfragen

*Geht der klinisch anhand der Allgemeinuntersuchung erkennbare Stress mit Veränderungen verschiedener messbarer Blutparameter einher?

Es zeigte sich, dass der Grad des Stresses oder der Schmerzen, sowie das Allgemeinbefinden parallel zu den Veränderungen der Stressparameter verliefen. Infolgedessen kann davon ausgegangen werden, dass der subjektive Eindruck des Zustands eines Pferdes in der hier vorliegenden Studie relativ zuverlässig war. Lediglich einige sehr ruhige Patienten wurden als weniger gestresst eingeordnet, als ihre Blutparameter-Veränderungen offenbarten.

*Gibt es bestimmte Erkrankungen bzw. Operationen, die zu besonderem Stress bei den Pferde-Patienten führen?

Wie erwartet führen schwere Erkrankungen, wie beispielsweise Koliken, zu größerem Stress bei den Pferdepatienten. Neben den Schmerzen spielt bei diesen Pferden sicherlich auch das fortschreitende Schockgeschehen eine Rolle.

Nach schweren Operationen zeigten die Pferde deutlichere Veränderungen der Blutparameter, als die Pferde, die leichten Operationen unterzogen worden waren. Ein besonderer Zusammenhang mit den unterschiedlichen Erkrankungen war dabei nicht zu ersehen. Überraschenderweise sank die IgA-Konzentration sowohl nach

leichten als auch nach schweren Operationen, sowie nach alleiniger Narkose, annähernd gleich deutlich ab. Deshalb kann davon ausgegangen werden, dass bei Pferden jede Narkose und Operation einen erheblichen Stressfaktor und damit Eingriff in das immunologische Gleichgewicht des Körpers darstellt.

*Gibt es die Möglichkeit, gegebenenfalls rechtzeitig prophylaktische Maßnahmen zu ergreifen, um Folgeerkrankungen zu verhindern? Wenn ja, welche?

Da der Stress für die Pferde mit hochgradiger Störung des Allgemeinbefindens am größten war und diese betroffenen Pferde meist für Notoperationen eingeliefert wurden, kann bei dieser Patientengruppe keine prophylaktische Maßnahme ergriffen werden. Für alle Pferde stellte der Transport neben der Narkose und der Operation selbst den größten Stressfaktor dar. Dieser Transport-Stress kann durch das Klinikpersonal nicht gemindert werden.

Es ist aber sicherlich von Vorteil, dem Pferd (soweit möglich) vor der Operation Zeit zu geben, sich in der neuen Umgebung einzugewöhnen und zurechtzufinden. Der in der Klinik für Pferde in der Regel praktizierte Eingewöhnungstag vor der Narkose vermochte eine Immunsuppression nicht zu verhindern und führte bei den untersuchten Pferden zu einem deutlichen Abfall der lokalen IgA-Konzentration. In weiterführenden Studien könnte untersucht werden, ob eine optimale „Eingewöhnungszeit“ gefunden werden kann, die im Rahmen des Klinikbetriebs verwirklicht werden kann.

*Kann durch Paramunitätsinducer ein Abfall des lokalen Antikörperschutzes (IgA) im Darm nach der Operation verhindert werden?

Die IgA-Konzentrationen im Kot fielen nach Gabe von Zylexis® weniger drastisch ab, als bei Pferden, die kein Zylexis® erhalten hatten. Dieser Unterschied war zwar nicht signifikant, dennoch scheint die Verabreichung von diesem Paramunitätsinducer

sinnvoll zu sein. Dafür sprechen auch die im Mittel signifikant niedrigeren postoperativen Kortisolkonzentrationen bei Pferden, die Zylexis® erhalten hatten. Im Einzelfall sollte der Besitzer nach Nutzen-Kosten-Abwägung entscheiden, ob er die Anwendung eines Paramunitätsinducers wünscht.

*Geht kurzfristiger Stress auch mit einer Erhöhung der freien Radikale („oxidativem Stress“) einher?

Kurzfristiger Stress durch Transport oder die Einstellung in der Klinik führte nicht zu einer Erhöhung der freien Radikale im Blut und damit zu „oxidativem Stress“ der Pferde.

*Gibt es einen Unterschied bei akuten oder chronischen Erkrankungen?

Die vorliegende Untersuchung gibt Hinweise darauf, dass erst bei chronischen Erkrankungen und Entzündungen ein Anstieg der freien Radikale stattfindet. Die Pferde, die aufgrund chronischer Erkrankungen in die Klinik für Pferde eingeliefert wurden, hatten im Mittel deutlich erhöhte Radikalkonzentrationen im Blut, während die akut erkrankten Pferde keinen oxidativen Stress aufwiesen. Ebenso konnte bei den so genannten Radikal-assoziierten Erkrankungen („Equine Motor Neuron Disease“, Hufrehe) ein deutlich höherer Radikalgehalt im Blut gemessen werden als bei den anderen chronisch erkrankten Pferden.

*Stimmt das Verhältnis neutrophiler Granulozyten zu Lymphozyten (N:L-Verhältnis) mit den Kortisolkonzentrationen überein?

Das N:L-Verhältnis erhöht sich bei Stress und korreliert mit dem auf das Pferd einwirkenden Stressor. Im Gegensatz zu Kortisol, das nach Abklingen des Stress

sehr schnell wieder absinkt, bleibt das N:L-Verhältnis noch ein bis zwei Tage verändert. Außerdem reagiert das N:L-Verhältnis nicht sofort bei kleinsten Aufregungen. Es stellt daher den verlässlicheren Stressparameter dar, der vor allem dazu geeignet ist, länger einwirkenden und daher ernst zu nehmenden Stress zu identifizieren. Aus diesem Grund ist es ratsam, bei Pferden perioperativ ein Differentialblutbild anzufertigen.

*Reagieren „nervöse, sensible Charaktere“ empfindlicher auf den auf sie einwirkenden Stress?

In der vorliegenden Studie gab es einen signifikanten Unterschied in der Kortisolkonzentration nach dem Transport zwischen den Pferden mit unterschiedlichen Charakteren. Auch das N:L-Verhältnis war bei den nervösen Pferden höher als bei den Pferden mit ruhigem, gelassenen Naturell.

5.2.11 Schlussfolgerungen

Der wohl am besten geeignete Parameter für den Klinikgebrauch, um Stress bei den Pferden zuverlässig einschätzen zu können, ist nach der vorliegenden Untersuchung das Verhältnis der neutrophilen Granulozyten zu Lymphozyten (**N:L-Verhältnis**). Es ist mittels Anfertigung eines Differentialblutbilds einfach und in jeder kleinen Praxis/Klinik zu bestimmen und gibt zuverlässig Aufschluss darüber, ob ein Pferd einem längeren Stressor ausgesetzt war oder ist und somit ein erhöhtes Risiko für die Entstehung von Stress-induzierten Krankheiten besteht.

Der **Glukosespiegel** erscheint auch sehr verlässlich und ist ebenfalls für die Untersuchung eines länger andauernden Stresszustandes geeignet, da die erhöhten Konzentrationen für etwa 48 Stunden bestehen bleiben.

Zur schnellen Bestimmung von Glukose sind beispielsweise die photometrischen Messgeräte für an Diabetes erkrankte Personen geeignet.

Die **Kortisolkonzentration** muss dagegen aufgrund individueller Schwankungen mit Vorsicht interpretiert werden, da selbst zwischen den verschiedenen Charakteren signifikante Unterschiede festzustellen waren.

Nach der hier vorliegenden Studie sind die **Freien Radikale** für eine Bestimmung von Stress beim Klinikpatienten ungeeignet, da es in den Stresssituationen, die mit dem Klinikaufenthalt assoziiert sind, nicht zu einer Erhöhung der Radikalkonzentrationen im Blut kommt.

Im Gegensatz dazu scheint die Bestimmung von **IgA** im Kot zuverlässig den Immunstatus des Intestinaltrakts anzuzeigen. Nach den Narkosen und Operationen kommt es somit zu einer immunologischen Unterversorgung des Darms, die das Pferd für Darmerkrankungen prädisponiert. Diese Erkenntnis spielt eine wichtige Rolle in der Pathogenese der Colitis X.

Zylexis® konnte in der Form, in der es hier verabreicht wurde, eine Tendenz in der Stärkung des Immunstatus bewirken, die aber nicht statistisch signifikant war. In der vorliegenden Studie zeigten sich nach der Operation signifikant niedrigere Kortisolkonzentrationen und ein weniger drastischer Abfall des lokalen IgA-Gehalts im Kot bei den Pferden, die Zylexis® erhalten hatten. Deshalb sollte individuell, nach Abwägung des Nutzens für das jeweilige Pferd, entschieden werden, ob dieser Paramunitätsinducer vor der Operation verabreicht wird.

5.2.12 Weiterführende Untersuchungen

Um weitere Informationen hinsichtlich der IgA-Konzentrationen im Kot zu erlangen, wäre eine Untersuchung nur dieses Parameters an einem größeren Patientengut wünschenswert. Außerdem wäre es interessant, herauszufinden, ab welchem Immunglobulingehalt die intestinale Situation klinisch relevant supprimiert wird.

Auch die Wirkung von Zylexis® auf den Kortisolgehalt im Blut und den IgA-Gehalt im Kot nach der Operation könnte noch eingehender untersucht werden. Dazu könnte einer größeren Patientenzahl anhand eines definierten Schemas Zylexis® verabreicht und systematisch untersucht werden, inwieweit sich die beiden Parameter verändern. Des Weiteren sollten nach Möglichkeit schwer erkrankte Pferde und solche, die bereits intestinale Probleme aufweisen, einbezogen werden.

6 Zusammenfassung

Ein Klinikaufenthalt stellt für Pferde eine Stresssituation dar und viele Pferde erkranken während eines Klinikaufenthalts an Stress-assoziierten Erkrankungen. Eine der häufigsten ist die so genannte Colitis X, eine oft tödlich verlaufende Durchfallerkrankung. Da es im Verlauf dieser Erkrankungen zu einem Verlust der Tiere kommen kann, hat ihre Vermeidung oberste Priorität.

Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, herauszufinden, inwieweit bei den Pferden der klinisch erkennbare Stress mit Veränderungen messbarer Blutparameter (Hämatokrit, Gesamteiweiß, Leukozyten, Glukose, Laktat, Kortisol) einhergeht und dabei einen Parameter zu finden, mit dem Stress beim Klinikpatienten Pferd verlässlich und möglichst einfach evaluiert werden kann. Zudem wurden in dieser Studie Freie Sauerstoffradikale („oxidativer Stress“) und IgA im Kot bestimmt, um diese Parameter auf ihre klinische Verwendbarkeit zu prüfen und zu untersuchen, inwieweit Stress mit dem lokalen Immunglobulingehalt interferiert. Einigen ausgewählten Pferden wurde zudem der Paramunitätsinducer Zylexis® der Firma Pfizer appliziert, um dessen Wirkung auf die untersuchten Parameter festzustellen.

Es wurden 110 Patienten der Klinik für Pferde untersucht, die in dem Zeitraum der Studie zufällig hospitalisiert wurden. Die Pferde wurden in zwei Gruppen eingeteilt. Eine Gruppe wurde in der Klinik operiert, die zweite nur stationär behandelt. Des Weiteren wurde eine Kontrollgruppe in ihrem Heimatstall zum Vergleich miteinbezogen, die in den letzten sechs Wochen vor der Studie nicht transportiert oder anderweitig belastet worden war.

Den Pferden wurde in definierten Abständen Blut und Kot entnommen, um den Einfluss von Transport, Operation und Klinikstress möglichst gut zu erfassen. Die Zeitpunkte waren direkt nach der Einlieferung, am Morgen vor der Narkose, nach der Aufstehphase und sowohl einen als auch vier Tage nach der Narkose. Pferden, die nicht operiert wurden und der Kontrollgruppe wurden insgesamt dreimal Blut und Kot (Tag 1, 3, Tag vor der Entlassung) entnommen.

Für die Zylexis®-Studie wurden Vitrektomie-Patienten ausgewählt, da diese ein gutes Beispiel für eine kurze, wenig traumatische Operation darstellen. Diese Pferde wurden mit den anderen Pferden, die leichten Operationen unterzogen wurden, verglichen.

Bereits nach dem unterschiedlich langen Transport zeigten die Pferde signifikante Anstiege von Gesamtleukozytenzahl, dem Verhältnis neutrophiler Granulozyten zu Lymphozyten (N:L-Verhältnis), Glukose und den klinischen Parametern (Herzfrequenz, Atemfrequenz, Körpertemperatur). Die IgA-Konzentration im Kot sank bei den eingelieferten Pferden nach Einlieferung erst ab, um sich dann vermutlich durch den Kontakt mit den fremden Antigenen in der Klinik reflektorisch zu erhöhen. Auffällig war, dass die Kortisolkonzentration nach dem Transport bei den als „nervös, sensibel“ eingestuften Pferden signifikant höher lag als bei den „ruhigen, ausgeglichenen“ Pferden.

Weitere deutliche Veränderungen zeigten sich nach den Operationen. Glukose, Kortisol und das N:L-Verhältnis wiesen nach den unterschiedlich langen Eingriffen höhere Konzentrationen auf. Die Laktatkonzentration stieg signifikant bereits nach der Operation und anschließend noch weiter nach der Aufstehphase. Dies ist primär auf die Muskelbelastung zurückzuführen, da Laktat vor allem muskulären Ursprungs ist. Hämatokrit und Gesamteiweiß sanken nach der Narkose aufgrund der intraoperativ verabreichten Infusionen ab. Einem starken hoch signifikanten Konzentrationsabfall unterlag auch der IgA-Gehalt im Kot. Dabei war kein Unterschied zwischen den verschiedenen Operationstraumata festzustellen. Ansonsten unterlagen die Pferde, die mit hochgradig gestörtem Allgemeinbefinden zu einer Notoperation eingeliefert wurden, viel deutlicheren Veränderungen als die anderen Pferde.

Die Freien Radikale zeigten überhaupt keinen charakteristischen Verlauf. Sie schienen allerdings bei den chronisch erkrankten Pferden erhöht zu sein. Des Weiteren zeigten sie Erhöhungen bei bestimmten Erkrankungen („Equine Motor Neuron Disease“, Hufrehe).

Bei den Pferden, die Zylexis[®] verabreicht bekamen, konnte eine Tendenz zur Verbesserung des Immunstatus nachgewiesen werden. Es fiel ein deutlich höherer Gesamteiweißgehalt auf, der wahrscheinlich auf eine vermehrte Produktion von Immunglobulinen zurückzuführen ist. Außerdem war die Kortisolkonzentration nach der Operation signifikant niedriger. Der IgA-Gehalt zeigte einen weniger deutlichen Konzentrationsabfall, was aber statistisch nicht belegt werden konnte.

Die Untersuchungen zeigten, dass das N:L-Verhältnis und Glukose geeignete Parameter darstellen um zuverlässig den Stress, dem ein Pferd ausgesetzt ist, zu evaluieren. Kortisol ist vorsichtig zu interpretieren, da es großen individuellen Schwankungen ausgesetzt ist.

Die Bestimmung von IgA im Kot gibt Aufschluss über den lokalen Immunstatus des Intestinaltrakts. Da es bei allen Pferden postoperativ zu signifikanten Konzentrationsabfällen kam, sind Pferde nach jeder Operation offensichtlich prädisponiert, eine Darmerkrankung, wie beispielsweise Colitis X, zu entwickeln. Kortisol scheint auch Einfluss auf das lokale Immunsystem zu nehmen, da hohe Kortisolwerte mit einem niedrigen IgA-Gehalt im Kot korrelierten.

Um die Zusammenhänge der Blutparameter und der Colitis X näher zu erforschen und insbesondere um die „kritischen“ IgA-Konzentrationen zu ermitteln, wären noch weiterführende Untersuchungen aufschlußreich.

7 Summary

Evaluation of stress parameters in the hospitalized horse

Many horses in clinics display symptoms of stress-associated diseases. One of the most feared is the so-called Colitis X, an often fatal ending diarrhea. As death occurs quite often in the course of those diseases, their avoidance has first priority.

The aim of the following study was to find out whether signs of stress which are displayed by the horses correlate with measurable blood parameters. Furthermore we tried to find a parameter which was suitable to evaluate stress in hospitalized horses.

Apart from the commonly measured parameters (hematocrit, total protein, leucocytes, glucose, lactate, corticosterone) we tried to include free oxygen radicals in this study. Immunoglobulin A in faeces was investigated to find out how stress interfered with the local immune system. A Paramunityinducer often used in Germany (Zylexis®) was administered to 10 selected horses to research its effect on the different parameters.

110 patients hospitalized in the horse clinic were examined. First the horses were organized into two groups. One group underwent surgery and the other one received stationary treatment. Furthermore a control group was taken into account which had not been transported or subjected to stress in six weeks prior to the study.

The horses were drawn blood and collected faeces in defined intervals to register the influence of transport, operation and clinic stress. Blood samples were taken directly after the transport, prior to the operation, right after surgery and one day and four days after the operation. Horses which did not undergo surgery including the control group were drawn blood and faeces three times (day 1, 3, and the day prior to discharge from the clinic).

For the paramunity investigation patients for vitrectomy were chosen as they display a good example for short little traumatic operations. Those were compared with other horses brought into the clinic for short operations.

After the transport to the clinic horses showed significant increases in leukocyte concentration, N:L-ratio, glucose and the clinical parameters (heart rate, breathing rate, body temperature). The immunoglobulin concentration decreased after the transport to rapidly rise after contact with antigens from the clinic environment.

Horses categorized as “nervous, sensitive” displayed significantly higher corticosterone concentrations after the transport than horses categorized as “cool, calm”. Other distinct variations showed after the operations. The lactate concentrations increased significantly after anaesthesia and went up even further after the horse got up afterwards. This is due to muscular fatigue as lactate is mainly produced in the muscles. Glucose, corticosterone and the N:L-ratio also displayed higher concentrations after the operation.

Hematocrit and total protein concentrations decreased after anaesthesia ascribed to infusions during operation. After anaesthesia a highly significant reduction of immunoglobulin concentrations in the faeces was determined. No influence of the different operation traumas could be recognized.

That was surprising as in all other cases horses in very bad general condition displayed distinct changes.

The free oxygen radicals did not show any characteristic pattern. There appeared to be a higher concentration in horses with chronic illnesses. Furthermore some diseases, like Equine Motor Neuron Disease and laminitis, seemed to have an increasing impact on the oxygen radicals.

Zylexis® showed a tendency to improve the immune status of the horses in this study. The paramunized horses had more total serum protein than the others. This could be due to an increased production of Immunoglobulins. Additionally the corticosterone concentration after the operation stayed on a significantly lower level. The local immunoglobulin A concentrations did not appear to decrease as much as in the non-paramunized horses but it was not possible to statistically prove this statement.

The results of this study show that the N:L-ratio and glucose might be suitable parameters to reliably evaluate the stress that has an effect on the hospitalized horse. Corticosterone values have to be interpreted carefully as they are very prone to individual variations.

Measuring immunoglobulins in faeces provides information about the local intestinal immune status. Since all horses showed significant lower immunoglobulin concentrations after the anesthesia/operation they obviously lack immune protection and are therefore predisposed for developing enteritis, as Colitis X. In this study corticosterone seemed to influence the local immune system as high concentrations of corticosterone correlated with low immunoglobulin levels.

To understand the circumstances more thoroughly and to find out which factors have to be present additionally in order for the horses to fall ill with Colitis X, further investigations have to be made.

8 Literaturverzeichnis

ALBERTI, A., BOLOGNINI, L., MACCIANTELLI, D. und CARATELLI, M. (2000).
The radical cation of n,n-diethyl-para-phenylendiamine: a possible indicator of oxidative stress in biological samples.
Res. Chem. Intermed. 26(3), 253-267.

ALEXANDER, S. L., IRVINE, C.H., LIVESEY, J.H. und DONALD, R.A. (1988).
Effect of isolation stress on concentrations of arginine vasopressin, alpha-melanocyte stimulating hormone and ACTH in the pituitary venous effluent of the normal horse.
J. Endocrinol. 116(3), 325-334.

ALEXANDER, S. L., ROUD, H.K. und IRVINE, C.H. (1997).
Effect of insulin-induced hypoglycaemia on secretion patterns and rates of corticotrophin releasing hormone, arginine vasopressin and adrenocorticotrophin in horses.
J. Endocrinol. 153(3), 401-409.

ALEXANDER, S. L., IRVINE, C.H. und DONALD, R.A. (1996).
Dynamics of the regulation of the hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis determined using a nonsurgical method for collecting pituitary venous blood from horses.
Front. Neuroendocrinol. 17(1), 1-50.

ALEXANDER, S. L. und IRVINE, C.H. (1998).
The effect of social stress on adrenal axis activity in horses: the importance of monitoring corticosteroid-binding globulin capacity.
J. Endocrinol. 157, 425-432.

ALLEN, J. P., ALLEN, C.F., GREER, M.A. und JACOBS, J.J. (1973)
Stress-induced secretion of ACTH.
Brain-Pituitary-Adrenal Interrelationships. A. B. u. E. S. Redgate.
Basel, Verlag Karger, 99-127.

AMBROSIO, G., ZWEIER, J.L. und FLAHERTY, J.T. (1991).
The relationship between oxygen radical generation and impairment of myocardial energy metabolism following post-ischemic reperfusion.
J. Mol. Cell. Cardiol. 23(12), 1359-1374.

AMES, A. r., WRIGHT, R.L., KOWADA, M., THURSTON, J.M. und MAJNO, G. (1968).
Cerebral ischemia. II. The no-reflow phenomenon.
Am. J. Pathol. 52(2), 437-453.

AMIR, S., BROWN, Z.W. und AMIT, Z. (1980).
The role of endorphins in stress: evidence and speculations.
Neurosci. Behav. Rev. 4, 77-86.

- ANDERSON, N. V., DeBOWES, R.M., NYROP, K.A. und DAYTON, A.D. (1985).
Mononuclear phagocytes of transport-stressed horses with viral respiratory tract infection.
Am. J. Vet. Res. 46(11), 2272-2277.
- ARCHER, R. K. (1974).
Haematology in relation to performance and potential. I. A general review.
J. S. Afr. Vet. Ass. 45, 273-277.
- ARGENZIO, R. A. (1971).
Functions of the equine large intestine and their interrelationship in disease.
Ithaca, New York, Department of Physiology, Biochemistry and Pharmacology, New York
State Veterinary College, Cornell University.
- ARGENZIO, R. A. und HINTZ, H.F. (1970).
Glucose tolerance and effect of volatile fatty acids on plasma glucose concentration in ponies.
J. Anim. Sci. 30, 514.
- ART, T., DUVIVIER, D.H., VOTION, D., ANCIAUX, N., VANDENPUT, S., BAYLY, W.M. und LEKEUX, P. (1998).
Does an acute COPD crisis modify the cardiorespiratory and ventilatory adjustments to exercise in horses?
J. Appl. Physiol. 84, 845-852.
- ART, T., KIRSCHVINK, N., SMITH, N. und LEKEUX, P. (1999).
Indices of oxidative stress in blood and pulmonary epithelium lining fluid in horses suffering from recurrent airway obstruction.
Equine Vet. J. 31(5), 397-401.
- ART, T. und LEKEUX, P. (1995).
Ventilatory and arterial blood gas tension adjustments to strenuous exercise in standardbreds.
Am. J. Vet. Res. 56(10), 1332-1337.
- ARUOMA, O. I. und HALLIWELL, B. (1998).
Molecular Biology of Free Radicals in Human Diseases.
OICA International, London.
- AVELLINI, L., CHIARADIA, E. und GAITI, A. (1999).
Effect of exercise training, selenium and vitamin E on some free radical scavengers in horses (*Equus caballus*).
Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol. 123(2), 147-154.
- AVELLINI, L., SILVESTRELLI, M. und GAITI, A. (1995).
Training-induced modifications in some biochemical defences against free radicals in equine erythrocytes.
Vet. Res. Commun. 19(3), 179-184.

- AVITSUR, R., STARK, J.L., DHABHAR, F.S. und SHERIDAN, J.F. (2002a).
Social stress alters splenocyte phenotype and function.
J. Neuroimmunol. 132(1-2), 66-71.
- AVITSUR, R., STARK, J.L., DHABHAR, F.S., PADGETT, D.A. und SHERIDAN, J.F.
(2002b).
Social disruption-induced glucocorticoid resistance: kinetics and site specificity.
J. Neuroimmunol. 124(1-2), 54-61.
- BACHMANN, I., BERNASCONI, P., HERRMANN, R., WEISHAUPT, M.A. und
STAUFFACHER, M. (2003).
Behavioural and physiological responses to an acute stressor in crib-biting and control horses.
Appl. Anim. Behav. Sci. 82, 297-311.
- BALDWIN, S. R., SIMON, R.H., GRUM, C.M., KETAI, L.H., BOXER, L.A. und DEVALL,
L.J. (1986).
Oxidant activity in expired breath of patients with adult respiratory distress syndrome.
Lancet. 1(8471), 11-14.
- BALOGH, N., GAAL, T., RIBICZEYNE, P.S. und PETRI, A. (2001).
Biochemical and antioxidant changes in plasma and erythrocytes of pentathlon horses before
and after exercise.
Vet. Clin. Pathol. 30(4), 214-218.
- BARBUT, F. und PETIT, J.C. (2001).
Epidemiology of Clostridium difficile-associated infections.
Clin. Microbiol. Infect. 7(8), 405-410.
- BARCROFT, J. und STEPHENS, J.A. (1927).
Observations upon the size of the spleen.
J. Physiol. 64, 1-22.
- BARNES, P. J. (1990).
Reactive oxygen species and airway inflammation.
Free Radic. Biol. Med. 9, 235-243.
- BARTMANN, C. P., BAUMS, C., JOBST, D., VERSPOHL, J., AMTSBERG, G. und
DEEGEN, E. (2004).
Prophylaxe bei der Typhlocolitis des Pferdes.
Vortragsband bpt-Kongress.
- BATEMAN, A., SINGH, A., KRAL, T. und SOLOMON, S. (1989).
The immune-pituitary-adrenal axis.
Endocrine Reviews 10, 92-112.
- BAVERUD, V. (2004).
Clostridium difficile diarrhea: infection control in horses.
Vet. Clin. North. Am. Equine Pract. 20(3), 615-630.

- BAVERUD, V., FRANKLIN, A., GUNNARSSON, A., GUSTAFSSON, A. und HELLANDER-EDMAN, A. (1998).
Clostridium difficile associated with acute colitis in mares when their foals are treated with erythromycin and rifampicin for Rhodococcus equi pneumonia.
Equine Vet. J. 30(6), 482-488.
- BAVERUD, V., GUSTAFSSON, A., FRANKLIN, A., ASPAN, A. und GUNNARSSON, A. (2003).
Clostridium difficile: prevalence in horses and environment, and antimicrobial susceptibility.
Equine Vet. J. 35(5), 465-471.
- BAVERUD, V., GUSTAFSSON, A., FRANKLIN, A., LINDHOLM, A. und GUNNARSSON, A. (1997).
Clostridium difficile associated with acute colitis in mature horses treated with antibiotics."
Equine Vet J. 29(4), 279-284.
- BAYER (2005).
Baypamun(R) - Produktinformation
L. G. F. VETERINA □ R.
- BEERDA, B., SCHILDER, M.B., JANSSEN, N.S. und MOL, J.A. (1996).
The use of saliva cortisol and catecholamine measurements for a noninvasive assessment of stress responses in dogs.
Horm. Behav. 30(3), 272-279.
- BEIER, R., AMTSBERG, G. und PETERS, M. (1994).
Bakteriologische Untersuchungen zum Vorkommen und zur Bedeutung von Clostridium difficile beim Pferd
Pferdeheilkunde 10, 3-8.
- BESEDOVSKY, H. O. und DEL REY, A. (1989a).
Interleukin-1 and glucose homeostasis: an example of the biological relevance of immune-neuroendocrine interactions.
Horm. Res. 31(1-2), 94-99.
- BESEDOVSKY, H. O. und DEL REY, A. (1989b).
Mechanism of virus-induced stimulation of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis.
J. Steroid Biochem. 34(1-6), 235-239.
- BESEDOVSKY, H. O., DEL REY, A. und NORMANN, S.J. (1989a).
Host endocrine responses during tumor growth.
Prog. Clin. Biol. Res. 288, 203-213.
- BESEDOVSKY, H. O., DEL REY, A. und SORKIN, E. (1989b).
Regulatory links between immune and neuroendocrine systems.
Immunol. Ser. 45, 479-490.

- BESEDOVSKY, H. O., DEL REY, A., SORKIN, E. und DINARELLO, C.A. (1986).
Immunoregulatory feedback between interleukin-1 and glucocorticoid hormones.
Science. 233(4764), 652-654.
- BESEDOVSKY, H. O., DEL REY, E.A. und SORKIN, E. (1985).
Immunoneuroendocrine interactions.
J. Immunol. 135, 750-754.
- BIRBAUMER, N. und SCHMIDT, R.F. (1991).
Biologische Psychologie.
Berlin, Heidelberg, Springer-Verlag.
- BLAZAR, B. A., RODRICK, M.L., O'MAHONY, J.B., WOOD, J.J., BESSEY, P.Q.,
WILMORE, D.W. und MANNICK, J.A. (1986).
Suppression of natural killer-cell function in humans following thermal and traumatic injury.
J. Clin. Immunol. 6(1), 26-36.
- BLOOM, A. S., DEWEY, W.L., HARRIS, L.S. und BROSIUS, K.K. (1976).
The correlation between antinociceptive activity of narcotics and their antagonists as
measured in the mouse tail-flick test and increased synthesis of brain catecholamines.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 198(1), 33-41.
- BORRIELLO, S. P. (1998).
Pathogenesis of *Clostridium difficile* infection.
J. Antimicrob. Chemo. 41(Suppl. C), 13-19
- BOETTCHER, E. (1994).
Clinical trials and field experience with parapoxvirus-based immunostimulants in
companion animals.
Immunomodulator Symposium of the WAVMI and specialists in Infectious
disease, 28-33
- BRIESE, E. und DE QUIJADA, M. (1970).
Colonic temperature of rats during handling.
Acta physiologica Latinoam 20, 9-14.
- BROOM, D. M. (2000).
Welfare assessment and welfare problem areas during handling and transport.
Livestock handling and transport. T. Grandin.
Wallingford, UK, Verlag CAB International 2. Aufl., 43-62.
- BROSSCHOT, J.F., BENSCHOT, R.J., GODAERT, G.L.R., DE SMET, M.B.M., OLFF, M.,
HEIJNEN, C.J. und BALLIEUX, R.E. (1992)
Effects of experimental psychological stress on distribution and function of peripheral blood
cells.
Psychosomatic Medicine 54, 394-406

- BURGUEZ, P. N., OUSEY, J.C., CASH, R.S.G. und ROSSDALE, P.D. (1983).
Changes in blood neutrophil and lymphocyte counts following administration of cortisol to horses and foals.
Equine Vet. J. 15, 58-60.
- BUTENANDT, D., REKITT, M., SAUERWEIN, H., ANDRESEN, U. und GERHARDS, H. (2002)
Orientierende Untersuchungen zum oxidativen Stress bei Trabrennpferden.
Inlab Tagung 2002
- CALABRESE, J. R., KLING, M.A. und GOLD, P.W. (1987).
Alteration in immunocompetence during stress, bereavement, and depression: Focus on neuroendocrine regulation.
Am. J. Psychiat. 144, 1123-1134.
- CANNON, W. B. (1927).
The James-Lange theory of emotion: A critical examination and an alternative theory.
Am. J. Psychol. 39.
- CANNON, W. B. (1928).
Die Notfallfunktionen des Sympathiko-Adrenalen Systems.
Ergebn. Physiol. 27, 380-406.
- CANNON, W. B. (1929).
Bodily changes in pain, hunger, fear, and rage: an account of recent researches into the function of emotional excitement.
New York, USA, Verlag Appleton.
- CANTIN, A. und CRYSTAL, R.G. (1985).
Interstitial pathology: an overview of the chronic interstitial lung disorders.
Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. 76(Suppl 1), 83-91.
- CESARONE, M. R., BELCARO, G., CARRATELLI, M., CORNELLI, U., DE SANCTIS, M.T., INCANDELA, L., BARSOTTI, A., TERRANOVA, R. und NICOLAIDES, A. (1999).
A simple test to monitor oxidative stress.
Intern. Angiology 18(2), 127-130.
- CHARLTON, D. B. (1990).
Adrenal cortical innervation and glucocorticoid secretion.
J. Endocrinol. 126, 5-8.
- CHASTAIN, C. B., FRANKLIN, R.T., GANJAM, V.K. und MADSEN, R.W. (1986).
Evaluation of the hypothalamic pituitary-adrenal axis in clinically stressed dogs.
J. Am. Anim. Hospital Ass. 22, 435-442.

- CHEESEMAN, K.H. und SLATER, T.F. (1993)
An introduction to free radical biochemistry.
Br. Med. Bull. 49 (3), 481-493
- CHERNIACK, N. S., EDELMAN, N.H. und FISHMAN, A.P. (1970).
O₂ exchange across spleen during asphyxia.
Am. J. Physiol. 219, 1585-1589.
- CHIARADIA, E., AVELLINI, L., RUECA, F., SPATERNA, A., PORCIELLO, F.,
ANTONIONI, M.T. und GAITI, A. (1998).
Physical exercise, oxidative stress and muscle damage in racehorses.
Comp. Biochem. Physiol 119(B), 833-836.
- CHOW, C. K. (1991).
Vitamin E and oxidative stress.
Free Radic. Biol. Med. 11, 215-232.
- CHRISTISON, G. I. und JOHNSON, H.D. (1972).
Cortisol turnover in heat-stressed cows.
J. Anim. Sci. 35(5), 1005-1010.
- CHROUSOS, G.P. (1997)
Stressors, stress, and neuroendocrine integration of the adaptive response.
Ann. N.Y. Acad. Sci., 311-335
- CHURCH, D. B., NICHOLSON, A.I., ILKIW, J.E. und EMSLIE, D.R. (1994).
Effect of non-adrenal illness, anaesthesia and surgery on plasma cortisol concentrations in
dogs.
Res. Vet. Sci. 56, 129-131.
- CLAMAN, H. N. (1972).
Corticosteroids and lymphoid cells.
N. Engl. J. Med. 287, 288-397.
- CLARK, D. K., FRIEND, T.H. und DELLEIMER, G. (1993).
The effect of orientation during trailer transport on heart rate, cortisol and valance in horses.
Appl. An. Behavior. Sci. 38, 179-189.
- CLARKE, L. L., GARNER, H.E. und HATFIELD, D. (1992).
Plasma volume, electrolyte, and endocrine changes during onset of laminitis hypertension in
horses.
Am. J. Vet. Res. 43(9), 1551-1555.
- CLARKE, R. S. J. (1970).
The hyperglycemic response to different types of surgery and anaesthesia.
Br. J. Anaesth. 42, 45.

- CLARKSON, P. M. und THOMPSON, H.S. (2000).
Antioxidants: what role do they play in physical activity and health?
Am. J. Clin. Nutr. 72 (Suppl. 2), 637S-646S.
- COHEN, S., LINE, S., MANUCK, S.B., RABIN, B.S., HEISE, E.R. und KAPLAN, J.R. (1997).
Chronic social stress, social status, and susceptibility to upper respiratory infections in nonhuman primates
Psychosomatic Medicine 59, 219-221
- COLLINS, K. J. und WEINER, J.S. (1968).
Endocrinological aspects of exposure to high environmental temperatures.
Physiol. Rev. 48(4), 785-839.
- COMSA, J., LEONHARDT, H. und KEREL, E.H. (1982).
Hormonal coordination of the immune response.
Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol. 92, 115-191.
- CORDERO, M.I. und SANDI, C. (1998)
A role for brain glucocorticoid receptors in contextual fear conditioning: dependence upon training intensity.
Brain Res. 786 (1-2), 11-17.
- COSMETATOS, I., PERRIN, J., GALLUSSER, A., NICOLET, J. und STRAUB, R. (1994).
Faecal isolation of *Clostridium difficile* and its toxins from horses with typhlo-colitis.
In: 7th International Conference on Equine Infectious Diseases, Poster session 69.
- CROISET, G., VELDHUIS, H.D. u. BALLIEUX, R.E. (1987).
The impact of mild emotional stress induced by passive avoidance procedure on immune reactivity.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 496, 477-484.
- CULLEN, B.F. und CHRETIEN, P.B. (1973).
Ketamine and in-vitro lymphocyte transformation.
Anaesthesia and Analgesia 52, 518-521.
- CULLEN, B. F., SAMPLE, W.F. und CHRETIEN, P.B (1972).
The effect of halothane on phytohemagglutinin-induced transformation of human lymphocytes in vitro.
Anesthesiology 36(3), 206-212.
- CULLEN, B. F. und VAN BELLE, G. (1975).
Lymphocyte transformation and changes in leukocyte count: effects of anesthesia and operation.
Anesthesiology 43(5), 563-569.

- CUNNINGHAM-RUNDLES, C., BRANDEIS, W.E. und GOOD, R.A. (1979).
Milk prezipitins, circulating immune complexes, and IgA deficiency.
Proc. Nat. Acad. Sci. USA 75, 3387-3391.
- DALIN, A.M., MAGNUSSON, U., HAGGENDAL, J. und NYBERG, L. (1993)
The effect of transport stress on plasma levels of catecholamines, cortisol, corticosteroid-binding globulin, blood cell count, and lymphocyte proliferation in pigs.
Acta Vet. Scand. 34 (1), 59-68.
- DALTON, A. J. und SELYE, H. (1939).
The blood picture during the alarm reaction
Folia Haematol. 62, 397.
- DANTZER, R. (1991)
Stress, stereotypies and welfare.
Behav. Proc. 25, 95-102.
- DANTZER, R. (1995).
Stress theories and the somatization process.
Encephale. 21(Spec No 7): 3-9.
- DANTZER, R. (1996).
Expanding the range of cytokines and cytokine receptors in the brain.
Mol. Psychiatry 1(2), 98.
- DANTZER, R. und MORMEDE, P. (1983).
Stress in Farm Animals: a need for reevaluation.
J. Anim. Sci. 57, 6-18.
- DAVIES, K. J. A., QUINTANILHA, A.T., BROOKS, G.A. und PACKER, L. (1982).
Free radicals and tissue damage produced by exercise.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 107, 1198-1205.
- DE WIED, D. (1980).
Pituitary-adrenal system hormones and behavior
Selye's Guide to stress research. H. Selye.
New York, Nostrand Reinhold
Vol. I, 252-279.
- DEATON, C. M., MARLIN, D.J., ROBERTS, C.A., SMITH, N., HARRIS, P.A., KELLY, F.J. und SCHROTER, R.C. (2002).
Antioxidant supplementation and pulmonary function at rest and exercise.
Equine Vet. J. Suppl. 34, 58-65.

- DEATON, C. M., MARLIN, D.J., SMITH, N.C., ROBERTS, C.A., HARRIS, P.A., SCHROTER, R.C. und KELLY, F.J. (2005).
Antioxidant and inflammatory responses of healthy horses and horses affected by recurrent airway obstruction to inhaled ozone.
Equine Vet. J. 37(3), 243-249.
- DEBERNARDI, S., LILLINGTON, D. und YOUNG, B.D. (2004).
Understanding cancer at the chromosome level: 40 years of progress.
Eur. J. Cancer. 40(13), 1960-1967.
- DELBENDE, C., C. DELAURE, A. KAMOUN und H. VAUDRY (1992).
Glucocorticosteroids, transmitters and stress.
Br. J. Psych. 160, 24-34.
- DHABHAR, F. S. und McEWEN, B.S. (1997).
Acute stress enhances while chronic stress suppresses cell-mediated immunity in vivo: a potential role for leukocyte trafficking.
Brain Behav. Immun. 11, 286-306.
- DIETZ, O. und HUSKAMP, B. (1999).
Handbuch Pferdepraxis.
Stuttgart, F. Enke Verlag.
- DIVERS, T. J., CUMMINGS, J.E., DE LAHUNTA, A., HINTZ, H.F. und MOHAMMED, H.O. (2006).
Evaluation of the risk of motor neuron disease in horses fed a diet low in vitamin E and high in copper and iron.
Am. J. Vet. Res. 67(1), 120-126.
- DÖCKE, F. (1994).
Veterinärmedizinische Endokrinologie.
Jena, Stuttgart, Enke Verlag.
- DONALD, R. A., ALEXANDER, S.L., ELLIS, M.J., EVANS, M.J., LIVESEY, J.H. und ESPINER, E.A. (1995).
Regulation of corticotrophin secretion.
Clin. Sci. (Lond). 88(1), 4-7.
- DORIAN, B., GARFINKEL, P., BROWN, G., SHORE, A., GLADMAN, D. und KEYSTONE, E. (1982)
Aberrations in lymphocyte subpopulations and function during psychological stress.
Clin. Exp. Immunol. 50, 132-138.
- DORN, C.R., COFFMAN, J.R., SCHMIDT, D.A., GARNER, H.E., ADDISON, J.B. und McCUNE, E.L. (1975)
Neutropenia and salmonellosis in hospitalized horses.
J. Am. Vet. Med. Ass. 166, 65-67.

- DOUGHERTY, T. F. und WHITE, A. (1944).
Influence of hormones on lymphoid tissue structure and function. The role of the pituitary adrenotropic hormone in the regulation of the lymphocytes and other cellular elements of the blood.
Endocrinol. 35, 1.
- DUNKIN, T. E. (1969).
Colitis X.
Proc. Am. Ass. Equine Pract. 15, 371-376
- DUTHIE, G., ROBERTSON, J.D., MAUGHAN, R.J. und MORRICE, P.C. (1990).
Blood antioxidant status and erythrocyte lipid peroxidation following distance running.
Arch. Biochem. Biophys. 282, 78-83.
- DVG [DEUTSCHE VETERINÄRMEDIZINISCHE GESELLSCHAFT (1982)].
Arbeitswerte in der Laboratoriumsdiagnostik beim Pferd.
Tierärztl. Umsch. 37, 47-48.
- DZIKITI, T. B. (2003).
Stress-related changes in horses during surgery.
J. Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin. Med 50(4), 190-195.
- EIKNES, K. B. und SAMUELS, L.T. (1958).
Metabolism of cortisol in normal and stressed dogs.
Endocrinology. 63(1), 82-8.
- ENGLER, H., BAILEY, M.T., ENGLER, A. und SHERIDAN, J.F. (2004).
Effects of repeated social stress on leukocyte distribution in bone marrow, peripheral blood and spleen.
J. Neuroimmunol. 148(1-2), 106-115.
- EVANS, J. W. (1971).
Effect of fasting, gestation, lactation and exercise on glucose turnover in horses.
J. Anim. Sci 33, 1001.
- EVANS, J. W., THOMPSON, P.G. und WINGET, C.M. (1974).
Glucose and insulin biorhythms in the horse.
J. S. Afr. Vet. Assoc. 45, 317-329.
- FAZIO, E. und FERLAZZO, A. (2003)
Evaluation of stress during transport.
Vet. Res. Commun. 27, Suppl. (1), 519-524.
- FEKETY, R. und SHAH, A.B. (1993).
Diagnosis and treatment of Clostridium difficile colitis.
J. Am. Vet. Med. Ass. 269(1), 71-75.

FENTON, H.J.H. (1894)
J. Chem. Soc. Proc. 10, 157

FIATARONE, M. A., MORLEY, J.E. und BLOOM, E.T. (1989).
The effect of exercise on natural killer cell activity in young and old subjects.
J. Gerontol., 37-45.

FINDEISEN, D. G. R. und PICKENHAIN, L. (1990).
Immunantwort und Psyche.
Stuttgart, S. Hirzel, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft.

FINKEL, T. und HOLBROOK, N.J. (2000)
Oxidants, oxidative stress and the biology of aging.
Nature 408, 239-247.

FLESHNER, M., DEAK, T., SPENCER, R.L., LAUDENSLAGER, M.L., WATKINS, L.R.
und MAIER, S.F. (1995).
A long term increase in basal levels of corticosterone and a decrease in corticosteroid-binding
globulin after acute stressor exposure.
Endocrinol. 136, 5336-5342.

FRAGEN, R. J., SHANKS, C.A., MOLTENI, A. und AVRAM, M.J. (1984).
Effects of etomidate on hormonal responses to surgical stress.
Anaesthesiology 61, 652-656.

FRIEND, T.H., MARTIN, M.T., HOUSEHOLDER, D.D. und BUSHONG, D.M. (1998).
Stress responses of horses during a long period of transport in a commercial truck.
J. Am. Vet. Med. Ass. 212 (6), 838-844.

GABEL, A. A., MILNE, D.W., MUIR, W.W., SKARDA, R.T., WEINGOLD, M.F. (1983).
Some physiological responses of standardbred horses to a submaximal exercise test following
conventional and interval training.
Equine Exercise Physiology. D. H. Snow, Persson, S.G.B., Rose, R.J.
Cambridge, Granta Editions. 1, 497-504.

GALBO, H. (1986).
Autonomic neuroendocrine response to exercise.
Scand. J. Sports Sci. 8, 3-17.

GANN, D. S. und LILLY, M.P. (1983).
The neuroendocrine response to multiple trauma.
World J. Surg. 7(1), 101-18.

GARLICK, P. B., DAVIES, M.J., HEARSE, D.J. und SLATER, T.F. (1987).
Direct detection of free radicals in the reperfused rat heart using electron spin resonance
spectroscopy.
Circ. Res. 61(5), 757-760.

- GARTNER, R. J. W., RYLEY, J.W. und BEATTIE, W. (1965).
The influence of degree of excitation on certain blood constituents in beef cattle.
Aust. J. exp. Biol. med. Sci. 44, 713-724.
- GAYRARD, V., ALVINIRIE, M. und TOUTAIN, P.L. (1996).
Interspecies variations of corticosteroid-binding globulin parameters.
Dom. Anim. Endocrinology 13, 35-45.
- GERBER, V. und STRAUB, R. (2004).
Therapie der Typhlocolitis des adulten Pferdes.
Vortragsband bpt-Kongress.
- GERHARDS, H. (1983).
Labordiagnostik bei Kolik.
Collegium veterinarium XIV, 111-115.
- GERHARDS, H. (1987).
Untersuchungen zur Entstehung der Thrombophlebitis beim Pferd-der Beitrag der erworbenen Hyperkoagulabilität.
Dtsch. Tierärztl. Wschr. 94, 173-174.
- GERHARDS, H. (2004).
Komplikationen intravenöser Injektionen und Infusionen beim Pferd.
Praktischer Tierarzt 85(5), 336-343.
- GILL, J., SKWARLO, K., FLISINKA-BOJANOWSKA, A. (1972).
Diurnal changes in the level of lactic and pyruvic acids and glucose in Thoroughbred horses.
J. Interdisciplinary Cycle Res. 3, 305.
- GLINZ, W., GROB, P.J., NYDEGGER, U.E., RICKLIN, T., STAMM, F., STOFFEL, D. und LASANCE, A. (1985).
Polyvalent immunoglobulins for prophylaxis of bacterial infections in patients following multiple trauma. A randomized, placebo-controlled study.
Intensive Care Med. 11(6), 288-294.
- GLITZ, F. (2002).
Wirkungen und Einsatzmöglichkeiten eines Immunmodulators (Baypamun) bei Nutztieren.
Tierärztl. Umschau 57, 142-151
- GOTO, H., YAMAMOTO, Y., OHTA, C., SHIRAHATA, T., HIGUCHI, T. und OHISHI, H. (1993).
Antibody responses of Japanese horses to influenza viruses in the past few years.
J. Vet. Med. Sci. 55(1), 33-37.
- GOULD, N. R. und SIEGEL, H.S. (1985).
Serum lipoproteins in chickens after administration of adrenocorticotropin or exposure to high temperature.
Poult. Sci. 64(3), 567-574.

- GRANDY, J. L., STEFFEY, E.P., HODGSON, D.S. und WOLINER, M.J. (1987).
Arterial hypotension and the development of postanesthetic myopathy in halothane-anesthetized horses.
Am. J. Vet. Res. 48(2), 192-197.
- GRAZZI, L., SALMAGGI, A. und DUFOUR, A. (1993).
Physical effort-induced changes in immune parameters.
Int. J. Neurosci. 68, 133-140
- GREENHAFF, P. L., HANAK, J., HARRIS, R.C., DOBIAS, P., JAHN, P., SKALICKY, J. und SNOW, D.H. (1991).
Metabolic alkalosis and exercise performance in the Thoroughbred horse.
Equine Exercise Physiology. S. G. B. Persson, Lindholm, A., Jeffcott, L.B. Davis, California, ICEEP Publications. 3, 353-360.
- GREGERSEN, M. I. und RAWSON, R.A. (1959).
Blood volume.
Physiol. Rev. 39, 307-342.
- GRIFFIN, J. F. T. (1989).
Stress and immunity: a unifying concept.
Vet. Immunol. Immunopath. 20, 263-312.
- GROB, P. J., HOLCH, M. und BRUNNER, W. (1987).
Post-traumatic/postoperative immune deficiency syndrome.
Schweiz. Med. Wochenschr. 117(13), 471-480.
- GRYZEVA, N. I., SHURLYGINA, A.V., VERBITSKAYA, L.V., MELNIKOVA, E.V., KUDRYAVTSEVA, N.N. und TRUFAKIN, V.A. (2001).
Changes in various measures of immune status in mice subject to chronic social conflict.
Neurosci. Behav. Physiol. 31(1), 46-52.
- GUARENTE, L. und KENYON, C. (2000).
Genetic pathways that regulate aging in model organisms.
Nature 408, 255-262.
- GUHAD, F. und HAU, J. (1996).
Salivary IgA as a marker of social stress in rats.
Neurosci. Lett. 216, 137-140.
- GUSTAFSSON, A., BAVERUD, V., GUNNARSSON, A., RANTZIEN, M.H., LINDHOLM, A. und FRANKLIN, A. (1997).
The association of erythromycin ethylsuccinate with acute colitis in horses in Sweden.
Equine Vet. J. 29(4), 314-318.
- HABER, F. und WEISS, J. (1932)
Über die Katalyse des Hydroperoxydes.
Naturwiss. 51, 948-950

- HADA, T., ONAKA, T., TAKAHASHI, T., HIRAGA, A. und YAGI, K. (2003).
Effects of novelty stress on neuroendocrine activities and running performance in thoroughbred horses.
J. Neuroendocrinol. 15(7), 638-648.
- HAEMISCH, A., GUERRA, G. und FURKERT, J. (1999).
Adaption of corticosterone-but not β -endorphin-secretion to repeated blood sampling in rats.
Lab. Anim. 33, 185-191.
- HALL, G. M. (1985)
The anaesthetic modification of the endocrine and metabolic response to surgery.
Annals of the Royal College of Surgeons of England 67, 25-29.
- HALL, G. M., YOUNG, C., HOLDCROFT, A. und ALAGHBAND-ZADEH, J. (1978).
Substrate mobilization during surgery, a comparison between halothane and fentanyl anaesthesia.
Anaesthesia 33, 924-930.
- HALL, L.W. und CLARKE, K.W. (1991)
Veterinary anaesthesia.
London, Bailliere Tindall.
- HALL, I. und O'TOOLE, E. (1935)
Intestinal flora in newborn infants with a description of a new pathogenic anaerobe, *Bacillus difficilis*
Am. J. Dis. Child. 49, 30
- HALLIWELL, B. (1996)
Oxidative stress, nutrition and health.
Free Radic. Res. 25, 57-74.
- HALLIWELL, R.E.W. und GORMAN, N.T. (1989)
Veterinary Clinical Immunology.
W.B. SAUNDERS, Philadelphia, USA.
- HAMMOND, G. L., SMITH, C.L., UNDERHILL, C.M. und NGUYEN, V.T. (1990).
Interaction between corticosteroid binding globulin and activated leukocytes in vitro.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 172(1), 172-177.
- HAOURIGUI, M., MARTIN, M.E., THOBIE, N., BENASSAYAG, C. und NUNEZ, E.A. (1993).
Stimulation of the binding properties of adult rat corticosteroid-binding globulin by a lipolysis-induced rise in plasma free fatty acids.
Endocrinology. 133(1), 183-191.

- HAOURIGUI, M., SAKR, S., MARTIN, M.E., THOBIE, N., GIRARD-GLOBA, A., BENASSAYAG, C. und NUNEZ, E.A. (1995).
Postprandial free fatty acids stimulate activity of human corticosteroid binding globulin.
Am. J. Physiol. 269(6 Pt 1), 1067-1075.
- HARBUZ, M. S. und LIGHTMAN, S.L. (1992).
Stress and the hypothalamo-pituitary-adrenal axis: acute, chronic and immunological activity.
Journal of Endocrinology 134, 327-339.
- HARGREAVES, B. J., KRONFELD, D.S., WALDRON, J.N., LOPES, M.A., GAY, L.S., SAKER, K.E., COOPER, W.L., SKLAN, D.J. und HARRIS, P.A. (2002).
Antioxidant status and muscle cell leakage during endurance exercise.
Equine Vet. J. Suppl. 34, 116-121.
- HARRIS, P., BAILEY, S.R. und LONGLAND, J.E.A. (2006).
Countermeasures for Pasture-Associated Laminitis in Ponies and Horses
J. Nutr. 136 (Suppl.), 2114-2121
- HARTMANN, H., MEYER, H., STEINBACH, G. und FINGER, B. (1973).
Zur Reaktion des Kälberorganismus auf Transportbelastungen.
Mh. Vet. Med. 28, 647-651.
- HAU, J., ANDERSSON, E. und CARLSSON, H.E. (2001).
Development and validation of a sensitive ELISA for quantification of secretory IgA in rat saliva and faeces.
Lab. Anim. 35(4), 301-306.
- HEFFNER, J. E. und REPINE, J.E. (1989).
Pulmonary strategies of antioxidant defense.
Am. Rev. Respir. Dis. 140(2), 531-554.
- HENNESSY, M. B., DAVIS, H.N., WILLIAMS, M.T., MELLOTT, C. und DOUGLAS, C.W. (1997).
Plasma cortisol levels of dogs at a county animal shelter.
Physiol. Behav. 62(3), 485-490.
- HENTGES, D. J. (1990).
Mechanisms that predispose to ecological stability in the gut.
Old Herborn University Seminar Monograph. D. van der Waaij, Heidt, P.J., Rusch, V.C. und Gebbers, J.-O.
Herborn-Dill, Germany, Institute of Microecology, Herborn-Dill.
- HERHOLZ, C., MISEREZ, R., NICOLET, J., FREY, J., POPOFF, M., GIBERT, M., GERBER, H. und STRAUB, R. (1999).
Prevalence of beta2-toxigenic *Clostridium perfringens* in horses with intestinal disorders.
J. Clin. Microbiol. 73, 358-361.

HEUSSER, H. (1952).

Über die Blutausrüstung des Pferdes und ihre praktische Bedeutung.
Schweiz. Arch. Tierhkde. 94, 463-475.

HICKS, T.A., McGLONE, J.J., WHISNANT, C.S., KATTESH, H.G. und NORMAN, R.L. (1998)

Behavioral, endocrine, immune, and performance measures for pigs exposed to acute stress.
J. Anim. Sci. 76, 474-483.

HIROKAWA, K. (1997).

Reversing and restoring immune functions.
Mech. Ageing Dev. 93(1-3), 119-24.

HODKIN (1822). Zitiert von VON BUDDENBROCK, 1967.

HOFFSIS, G. F. und MURDICK, P.W. (1970).

The plasma concentrations of corticosteroids in normal and diseased horses.
J. Am. Vet. Med. Ass. 157(11), 1590-1594.

HOFFSIS, G. F., MURDICK, P.W., THARP, V.L. und AULT, K. (1970).

Plasma concentrations of cortisol and corticosterone in the normal horse.
Am. J. Vet Res. 31(8), 1379-1387.

HOFMANN, W. (1992).

Rinderkrankheiten Band I: Innere und chirurgische Erkrankungen.
Stuttgart, Eugen Ulmer.

HOOD, D. M. (1999).

Laminitis as a systemic disease.
Vet. Clin. North. Am. Equine Pract. 15(2), 481-494.

HOROHOV, D. W., DIMOCK, A., GUIRNALDA, P., FOLSOM, R.W., McKEEVER, K.H. und MALINOWSKI, K. (1999).

Effect of exercise on the immune response of young and old horses.
Am. J. Vet Res. 60(5), 643-647.

HUSBAND, A. J. (1982).

Kinetics of extravasation and redistribution of IgA-specific antibody-containing cells in the intestine.
J. Immunol. 128(3), 1355-1359.

HUSBAND, A. J. (1985).

Mucosal immune interactions in intestine, respiratory tract and mammary gland.
Prog. Vet. Microbiol. Immunol. 1, 25-57.

HUSBAND, A. J. und GOWANS, J.L. (1978).

The origin and antigen-dependent distribution of IgA-containing cells in the intestine.
J. Exp. Med. 148(5), 1146-1160.

- INGRAM, D. L. und KACIUBA-USCILKO, H. (1980).
Metabolic effects of glucagon in the young pig.
Horm. Metab. Res. 12(9), 430-433.
- IRVINE, C. H. G. (1958).
The blood picture of the race horse. I. The normal erythrocyte and hemoglobin status-A
dynamic concept.
J. Am. Vet. Med. Ass. 133, 97-101.
- IRVINE, C. H. G. und ALEXANDER, S.L. (1987a).
Measurement of free cortisol and the capacity and association constant of cortisol-binding
proteins in plasma of foals and adult horses.
J. Reprod. Fertil. (Suppl.) 35, 19-24.
- IRVINE, C. H. G. und ALEXANDER, S.L. (1987b)
Factors affecting the circadian rhythm in plasma cortisol concentrations in the horse.
Domest. Anim. Endocrinol. 11, 227-238.
- ISHIZAKI, H. und KARIYA, Y. (1999).
Effects of peripheral blood polymorphonuclear leukocyte function and blood components in
Japanese black steers administered ACTH in a cold environment.
J. Vet. Med. Sci. 61(5), 487-492.
- ITOH, Y., MARUYAMA, N., KITAMURA, M., SHIRASAWA, T., SHIGEMOTO, K. und
KOIKE, T. (1992).
Induction of endogenous retroviral gene product (SU) as an acute-phase protein by IL-6 in
murine hepatocytes.
Clin. Exp. Immunol. 88(2), 356-359.
- JACOBS, K. A. und BOLTON, J.R. (1982).
Effect of diet on the oral glucose tolerance test in the horse.
J. Am. Vet. Med. Ass. 180(8), 884-886.
- JAKAB, G. J. (1974).
Effect of sequential inoculations of Sendai virus and Pasteurella pneumotropica in mice.
Am. Vet. Med. Assoc. 164(7), 723-728.
- JANEWAY, C. (1989)
A primitive immune system.
Nature 341, 108.
- JANSSENS, C. J. J. G., HELMOND, F.A. und WIEGANT, V.M. (1995).
The effect of chronic stress on plasma cortisol concentrations in cyclic female pigs depends
on the time of the day.
Dom. Anim. Endocrinol. 12, 167-177.

- JEFFCOTT, L. B. (1977).
Clinical haematology in the horse.
Comparative Clinical Haematology. R. K. A. a. L. B. Jeffcott.
Oxford, Blackwell Scientific Publications, 161-213.
- JENKINS, R. R. (1988).
Free radical chemistry: relationship to exercise.
Sports Med. 5, 156-170.
- JENKINS, R. R. (2000).
Exercise and oxidative stress methodology: a critique.
Am. J. Clin. Nutr. 72(Suppl. 2), 670S-674S
- JENSEN, K. H., PEDERSEN, L.J., NIELSEN, E.K., HELLER, K.E., LADEWIG, J. und JORGENSEN, E. (1996).
Intermittent stress in pigs: effects on behaviour, pituitary-adrenocortical axis, growth, and gastric ulceration.
Physiol. Behav. 59, 741-748.
- JESSEN, C. (2000).
Wärmebilanz und Temperaturregulation.
Physiologie der Haustiere. W. von Engelhardt u. G. Breves.
Stuttgart, Verlag Enke, 467-481.
- JIMENEZ, M., HINCHCLIFF, K.W. und FARRIS, J.W. (1998).
Catecholamine and cortisol responses of horses to incremental exertion.
Vet. Res. Commun. 22, 107-118.
- JOHNSTON, G. M. (1995).
The risks of the game: the confidential enquiry into perioperative equine fatalities.
Br. Vet. J. 151(4), 347-350.
- JOHNSTON, G. M., TAYLOR, P.M., HOLMES, M.A. und WOOD, J.L. (1995).
Confidential enquiry of perioperative equine fatalities (CEPEF-1): preliminary results.
Equine Vet. J. 27(3), 193-200.
- JOHNSTON, J. K., FREEMAN, D.E., GILLETTE, D., SOMA, L.R. (1991).
Effects of superoxide dismutase on injury induced by anoxia and reoxygenation in equine small intestine in vitro.
Am. J. Vet. Res. 52(12), 2050-2054.
- JONES, R.L., ADNEY, W.S. und SHILDELER, R.K. (1978)
Isolation of Clostridium difficile and detection of cytotoxin in the faeces of diarrhoeic foals in the absence of antimicrobial treatment.
J. Clin. Microbiol. 25, 1225-1227

- JUBERT, A. V., LEE, E.T., HERSH, E.M. und McBRIDE, C.M. (1973).
Effects of surgery, anesthesia and intraoperative blood loss on immunocompetence.
J. Surg. Res. 15(6), 399-403.
- KAISER, L., HELESKI, C.R., SIEGFORD, J. und SMITH, K.A. (2006).
Stress-related behaviors among horses used in a therapeutic riding program.
J. Am. Vet. Med. Ass. 228(1), 39-45.
- KAMINSKI, K. A., BONDA, T.A., KORECKI, J. und MUSIAL, W.J. (2002).
Oxidative stress and neutrophil activation--the two keystones of ischemia/reperfusion injury.
Int. J. Cardiol. 86(1), 41-59.
- KANNO, J., WAKIKAWA, A. und UTSUYAMA, M. (1997).
Effect of restraint stress on immune system and experimental B16 melanoma metastasis in aged mice.
Mech. Aging Dev. 93, 107-117
- KARLSON, P., DOENECKE, D. und KOOLMAN, J. (1994).
Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler.
Stuttgart, New York, Georg Thieme Verlag.
- KATTESH, H. G., KORNEGAY, E.T., KNIGHT, J.W., GWAZDAUSKAS, F.G., THOMAS, H.R. und NOTTER, D.R. (1980).
Glucocorticoid concentrations, corticosteroid binding protein characteristics and reproduction performance of sows and gilts subjected to applied stress during mid-gestation.
J. Anim. Sci. 50(5), 897-905.
- KEADLE, T.L., POURCIAU, S.S., MELROSE, P.A., KAMERLING, S.G. und HOROHOV, D.W. (1993)
Acute exercise stress modulates immune function in unfit horses.
J. Equine Vet. Sci. 13, 4-9
- KEHLET, H. (1984)
The stress response to anaesthesia and surgery: release mechanisms and modifying factors.
Clinics in Anaesthesiology 2, 315-339.
- KENT, J. E. und EWBANK, R. (1983).
The effect of road transportation on the blood constituents and behavior of calves. I. Six months old.
Br. Vet. J. 139, 228-235.
- KHANSARI, D. N., MURGO, A.J. und FAITH, R.E. (1990).
Effects of stress on the immune system.
Immunol.Today 11, 170-175.
- KINNAERT, P., MAHIEU, A. und VAN GEERTRUYDEN, N. (1980).
Effect of surgical procedures on the humoral responsiveness of rats.
Surg. Gynecol. Obstet. 151(1), 85-88.

KIRSCHVINK, N., ART, T., LEKEUX, P., ROBERTS, C. und GUSTIN, P. (2001a).
Effects of 8-epi-PGF₂alpha on isolated bronchial smooth muscle of healthy and heaves-affected horses.

J. Vet. Pharmacol. Ther. 24(3), 215-221.

KIRSCHVINK, N., FIEVEZ, L., DOGNE, S., BUREAU, F., ART, T. und LEKEUX, P. (2001b). Comparison of inulin with urea as dilutional markers of bronchoalveolar lavage in healthy and heaves-affected horses.

Vet. Res. 32(2), 145-154.

KIRSCHVINK, N., FIEVEZ, L., BOUGNET, V., ART, T., DEGAND, G., SMITH, N., MARLIN, D., ROBERTS, C., HARRIS, P. und LEKEUX, P. (2002a).

Effect of nutritional antioxidant supplementation on systemic and pulmonary antioxidant status, airway inflammation and lung function in heaves-affected horses.

Equine Vet. J. 34(7), 705-712.

KIRSCHVINK, N., ART, T., DE MOFFARTS, B., SMITH, N., MARLIN, D., ROBERTS, C. und LEKEUX, P. (2002b).

Relationship between markers of blood oxidant status and physiological variables in healthy and heaves-affected horses after exercise.

Equine Vet. J. Suppl. 34, 159-164.

KIRSCHVINK, N. und LEKEUX, P.

Oxidative stress: fact or fiction?

Abstract: Centre for equine sports medicine, University of Liege, Belgium

KNOL, B. W., DIELEMAN, S.J., BEVERS, M.M., VAN DEN BROM, W.E. und MOLT, J.A. (1992).

Effects of methods used for blood collection on plasma concentrations of luteinising hormone, testosterone and cortisol in male dogs.

Vet. Q. 14(4), 126-129.

KOMESAROFF (1998).

Use of complementary medicines: scientific and ethical issues.

Med. J. Aust. 169(4), 180-181.

KRAFT, W. und U. M. DÜRR (1999).

Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin.

Verlag Schattauer, Stuttgart, New York

KRUSE-ELLIOTT, K. T., SWANSON, C.R. und AUCOIN, D.P. (1987).

Effects of etomidate on adrenocortical function in canine surgical patients.

Am. J. Vet. Res. 48, 1098-1100.

KRZYWANEK, F. W. und BERGE, E. (1933).

Das Verhalten der Erythrozyten bei Ruhe und Bewegung bei einem milzlosen Pferd.

Pflügers Arch. 232, 478-481.

- KRZYWANEK, H., SCHULZE, A. und WITTKKE, G. (1972).
Behaviour of various blood parameters in trotters following defined exertion.
Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr. 85(17), 325-329.
- KVETNANSKY, R., NEMETH, S., VEGAS, M., OPRASLOVA, Z. und
JURIKOVICKOVA, J. (1984).
Plasma catecholamines in rats during adaptation to intermittent exposure to different stress.
Stress: The role of catecholamines and neurotransmitters. R. K. E. Usdin, J. Axelrod.
New York, USA, Verlag Gordon und Breach: 537-562.
- LADEWIG, J. (1994).
Stress In: F.H. DÖCKE (Hrsg.): Veterinärmedizinische Endokrinologie,
Verlag Gustav Fischer, Jena.
- LARSON, H., PRICE, A., HONOUR, P. und BORRIELLO, S. (1978)
Clostridium difficile and the aetiology of pseudomembranous colitis.
Lancet 1 (8073), 1063-1066
- LASSOURD, V., GAYRARD, V., LAROUTE, V., ALVINERIE, M., BENARD, P.,
COURTOT, D. und TOUTAIN, P.L. (1996).
Cortisol disposition and production rate in horses during rest and exercise.
Equine Vet. J. 29(3), 226-229.
- LAUK, H. D., VON PLOCKI, K.A., JAENICH, U. und NEUHAUS, F. (1987).
Colitis X beim hospitalisierten Pferd.
Pferdeheilkunde 3, 109-115.
- LAWRENCE, L. M., WILLIAMS, J., SODERHOLM, L.V., ROBERTS, A.M. und HINTZ,
H.F. (1995).
Effect of feeding state on the response of horses to repeated bouts of intense exercise.
Equine Vet. J. 27(1), 27-30.
- LEADON, D. P., DAYKIN, J., BACKHOUSE, W., FRANK, C. und ATOCK, M.A. (1990).
Environmental haematological and blood biochemical changes in equine transit stress.
Am. Assoc. Equine Pract. Proc. 36, 458-490.
- LEBELT, D., SCHÖNREITER, S. und ZANELLA, A.J. (1996).
Salivary cortisol in stallions: relationship with plasma levels, daytime profile and changes in
response to semen collection.
Pferdeheilkunde 12, 411-414.
- LEEUWENBURGH, C. und HEINECKE, J.W. (2001).
Oxidative stress and antioxidants in exercise.
Curr. Med. Chem. 8, 829-838.
- LEKEUX, P. (2006).
Oxidative stress.
ESPOM Aachen.

LEY, S. J., WATERMAN, A.E., LIVINGSTON, A. und PARKINSON, T.J. (1994).
Effect of chronic pain associated with lameness on plasma cortisol concentrations in sheep: a field study.
Res. Vet. Sci. 57(3), 332-335.

LINDEN, A., ART, T., AMORY, H., DESMECHT, D. und LEKEUX, P. (1991).
Effect of 5 different types of exercise, transportation and ACTH administration on plasma cortisol concentration in sport horses.
Equine Exerc. Physiol. 3, 394-396.

LINDNER, A. (1997).
Laktat und Leistung-Wie Pferdesport mit Methode statt mit Mythos betrieben wird.
Bonn, Arbeitsgruppe Pferd.

LINDNER, A., VON WITTKE, P. und ESSER, L. (1992a).
Training und Trainingsinhalte bei Galopprennpferden, 2. Mitteilung: Umfang und Intensität des Wettkampftrainings sowie praxisübliche Begriffe zur Bezeichnung von Trainingsinhalten.
Pferdeheilkunde 8(5), 311-320.

LINDNER, A., WITTKE VON, P., SCHMALD, M., KUSSEROV, J. und SOMMER, H. (1992b).
Maximal lactate concentrations in horses after exercise of different duration and intensity.
J. Equine Vet. Sci. 12, 30-33.

LINDSAY, W. A., McDONELL, W. und BIGNELL, W. (1980).
Equine postanesthetic forelimb lameness: intracompartmental muscle pressure changes and biochemical patterns.
Am. J. Vet. Res. 41(12), 1919-1924.

LOEB, W. F. (1972).
The blood and its disorders.
Equine Medicine and Surgery. J. F. S. E.J. Catcott.
Wheaton, IL, American Veterinary Publications, Inc., 349-357.

LUNA, S.P., TAYLOR, P.M. und WHEELER, M.J. (1996)
Cardiorespiratory, endocrine and metabolic changes in ponies undergoing intravenous or inhalation anaesthesia.
J. Vet. Pharmacol. Ther. 19 (4), 251-258

LYERLY, D. M., LOCKWOOD, D.E., RICHARDSON, S.H. und WILKINS, T.D. (1982).
Biological activities of toxins A and B of Clostridium difficile.
Infect. Immun. 35(3), 1147-1150.

LYERLY, D. M., SAUM, K.E., MacDONALD, D.K. und WILKINS, T.D. (1985).
Effects of Clostridium difficile toxins given intragastrically to animals.
Infect. Immun. 47(2), 349-352.

- LYTE, M., NELSON, S.G. und BAISSA, B. (1990).
Examination of the neuroendocrine basis for the social conflict-induced enhancement of immunity in mice.
Physiol. Behav. 48(5), 685-691.
- MADEWELL, B. R., TANG, Y.J., JANG, S., MADIGAN, J.E., HIRSH, D.C., GUMERLOCK, P.H. und SILVA, J. Jr. (1995).
Apparent outbreaks of *Clostridium difficile*-associated diarrhea in horses in a veterinary medical teaching hospital.
J. Vet. Diagn. Invest. 7(3), 343-346.
- MAES, M., VAN BOCKSTAELE, D.R., GASTEL, A., SONG, C., SCHOTTE, C., NEELS, H., DeMEESTER, I., SCHARPE, S. und JANCA, A. (1999).
The effects of psychological stress on leukocyte subset distribution in humans: evidence of immune activation.
Neuropsychobiology. 39(1), 1-9.
- MARLIN, D. J., FENN, K., SMITH, N., DEATON, C.D., ROBERTS, C.A., HARRIS, P.A., DUNSTER, C. und KELLY, F.J. (2002).
Changes in circulatory antioxidant status in horses during prolonged exercise.
J. Nutr. 132(6 Suppl 2), 1622S-1627S.
- MARLIN, D. J., HARRIS, R.C. und SNOW, D.H. (1991).
Rates of blood lactate disappearance following exercise of different intensities.
Equine Exercise Physiology. S. G. B. Persson, Lindholm, A., Jeffcott, L.B. Davis, California, ICEEP Publications. 3. Aufl., 188-195.
- MARTI, O. und ARMARIO, A. (1997).
Influence of Regularity of Exposure to Chronic Stress on the Pattern of Habituation of Pituitary-Adrenal Hormones, Prolactin and Glucose.
Stress. 1(3), 179-189.
- MARTI, O., MARTIN, M., GAVALDA, A., GIRALT, M., HIDALGO, J., HSU, B.R., KUHN, R.W. und ARMARIO, A. (1997).
Inhibition of corticosteroid-binding globulin caused by a severe stressor is apparently mediated by the adrenal but not by glucocorticoid receptors.
Endocrine. 6(2), 159-164.
- MARTIN, G.M., AUSTAD, S.N. und JOHNSON, T.E. (1996)
Genetic analysis of ageing: role of oxidative damage and environmental stresses.
Nat. Genet. 13, 25-34
- MARTINEZ, R., GODOY, A., NARETTO, E. und WHITE, A. (1988)
Neuroendocrine changes produced by competition stress on the Thoroughbred horse.
Comp. Biochem. Physiol. A 91 (3), 599-602.

MATSUKI, N., TAMURA, S., ONO, K., WATARI, T., GOITSUKA, R., YAMANOBÉ, A., HIRAGA, A., KUBO, K., TAKAGI, S. und HASEGAWA, A. (1991).
Exercise-induced phospholipid degradation in the equine skeletal muscle and erythrocytes.
J. Vet. Med. Sci. 1 53(6), 1001-1007.

MATTERI, R. L., J.A.CARROLL und C.J.DYER (2000).
Neuroendocrine responses to stress.
The Biology of Animal Stress. G. P. M. u. J.A.Mench.
Wallingford, UK, CAB International, 43-76.

MAYR-BIBRACK, B. (1980).
Paramunisierung bei Neugeborenen.
Der praktische Tierarzt 9, 715-718

MAYR, A. (1991)
Recent perceptions on the development, assembly and function of the immune system.
Tierärztl. Praxis 19 (3), 235-240.

MAYR, A. (1992)
Entwicklung, Aufbau und Funktion der körpereigenen Abwehr unter besonderer
Berücksichtigung des Immunsystems.
Mhft. Vet. Med. 47, 4-15

MAYR, A. (1993).
The paraspecific immune defense: possibilities and limits.
Tierärztl. Prax. 21(1), 1-9.

MAYR, A. (2001).
Entwicklung einer nicht immunisierenden, paraspezifischen Vaccine aus attenuierten
Pockenviren: Eine neue Art von Vaccinen.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 114, 184-187.

MAYR, A., RAETTIG, H., STICKL, H. und ALEXANDER, M. (1979)
Paramunity, paramunization, paramunity inducer. Part 1: historical development, definition
and nature.
Fortschr. Med. 97 (25-26), 1159-1160, 1162-1165.

MAYR, A. und BÜTTNER, M. (1984)
New insights into the foundations of paramunity and paramunization.
Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr. 97 (12), 429-435

MAZZEO, R. S. (1994).
The influence of exercise and aging on immune function.
Med. Sci. Sports Exerc. 26(5), 586-592.

McCARTHY, D. A. und DALE, M. M. (1988).
The leucocytosis of exercise.
Sports Medicine 6, 333 - 363.

- McCLURE, S. R., CARITHERS, D.S., GROSS, S.J. und MURRAY, M.J. (2005).
Gastric ulcer development in horses in a simulated show or training environment.
J. Am. Vet. Med. Ass. 227(5), 775-777.
- McFARLAND, L. V. (1995).
Epidemiology of infectious and iatrogenic nosocomial diarrhea in a cohort of general
medicine patients.
Am. J. Infect. Control. 23(5), 295-305.
- McFARLAND, L. V., MULLIGAN, M.E., KWOK, R.Y. und STAMM, W.E. (1989).
Nosocomial acquisition of *Clostridium difficile* infection.
N. Engl. J. Med. 320(4), 204-210.
- McFARLANE, D. und CRIBB, A.E. (2005)
Systemic and pituitary pars intermedia antioxidant capacity associated with pars intermedia
oxidative stress and dysfunction in horses.
Am. J. Vet. Res. 66 (12), 2065-2072
- McGHEE, J.R. und MESTECKY, J. (1990)
In defence of mucosal surfaces. Development of novel vaccines for IgA responses protective
at the portals of entry of microbial pathogens.
Infect. Dis. Clin. North Am. 4 (2), 315-341
- McGLONE, J. J., STANSBURY, W.F. und TRIBBLE, L.F. (1987).
Effects of heat and social stressors and within-pen weight variation on young pig performance
and agonistic behavior.
J. Anim. Sci. 65(2), 456-462.
- McGORUM, B. C., FRY, S.C., WALLACE, G., COENEN, K., ROBB, J., WILLIAMSON,
G. und ARUOMA, O.I. (2000).
Properties of herbage in relation to equine dysautonomia: biochemical composition and
antioxidant and prooxidant actions.
J. Agric. Food Chem. 48(6), 2346-2352.
- McGORUM, B. C., WILSON, R., PIRIE, R.S., MAYHEW, I.G., KAUR, H., und ARUOMA,
O.I. (2003).
Systemic concentrations of antioxidants and biomarkers of macromolecular oxidative damage
in horses with grass sickness.
Equine Vet. J. 35(2), 121-126.
- MEANEY, M. J., VIAU, V., AITKEN, D.H. und BHATNAGAR, S. (1989).
Glucocorticoid receptors in brain and pituitary of the lactating rat.
Physiol. Behav. 45(1), 9-12.
- MENGOZZI, G. und GHEZZI, P. (1991).
Defective tolerance to the toxic and metabolic effects of interleukin 1.
Endocrinology 128(3), 1668-1672.

- MERIDA, V., MOERMAN, J., COLAERT, J., LEMMENS, P. und VANDEPITTE, J. (1986).
Significance of *Clostridium difficile* and its cytotoxin in children.
Eur. J. Pediatr. 144(5), 494-496.
- METZNER, M., BEHRMANN, K., DOPFER, D. und KLEE, W. (1999).
Efficacy of an immune modulator in enzootic pneumonia of dairy calves.
Zentralbl. Veterinarmed. A. 46(5), 293-299.
- MILLS, P. C., NG, J.C., KRAMER, H. und AUER, D.E. (1997).
Stress response to chronic inflammation in the horse.
Equine Vet. J. 29(6), 483-486.
- MILLS, P. C., SMITH, N.C., CASA, I., HARRIS, P., HARRIS, R.S. und MARLIN, D.J.
(1996).
Effects of exercise intensity and environmental stress on indices of oxidative stress and iron homeostasis during exercise in the horse.
Eur. J. Appl. Physiol. 74, 60-66.
- MINTON, J.E., APPLE, J.K., PARSONS, K.M. und BLECHA, F. (1995)
Stress-associated concentrations of plasma cortisol cannot account for reduced lymphocyte function and changes in serum enzymes in lambs exposed to restraint and isolation stress.
J. Anim. Sci. 73, 812-817.
- MOBERG, G. P. (1985).
Animal Stress.
Am. Psychol. Soc.(Bethesda), 324.
- MOBERG, G. P. (2000).
Biological responses to Stress: Implications for Animal Welfare.
The Biology of Animal Stress. G. P. M. u. J.A.Mench.
Wallingford, UK, Verlag CAB International, 1-21.
- MORROW-TESCH, J.L., McGLONE, J.J. und SALAK-JOHNSON, J.L. (1994).
Heat and social stress effects on pig immune measures.
J. Anim. Sci. 75, 2599-2609.
- MOUTON, C., FILLION, L., TAWADROS, E. und TESSIER, R. (1989).
Salivary IgA is a weak stress marker.
Behav. Med.
- MUDRON, P., G. KOVAC, V. BAJOVA, J.PISTL, J. CHOMA, P. BARTKO und H. SCHOLZ (1994a).
Effect of Vitamin E on some leukocytic parameters and functions in transported calves.
Dtsch. Tierärztl. Wochenschrift 101, 47-49.

- MUDRON, P., H.P.SALLMANN, J. REHAGE, M. HOLTERSHINKEN, G.KOVAC, P.BARTKO und H. SCHOLZ (1994b).
Auswirkungen einer operativen Reposition der linksseitigen Labmagenverlagerung auf Parameter des Energiestoffwechsels bei Milchkühen.
Dtsch. Tierärztl. Wochenschrift 101, 376-378, 380.
- MUIR, W. W. (1990).
The equine stress response to anaesthesia.
Equine Vet. J. 22(5), 302-303.
- MUIR, W. W. (1991).
Complications: Induction, Maintenance and Recovery Phases of Anaesthesia
Equine Anaesthesia: Monitoring and Emergency Therapy. W. W. M. und J. A. E. Hubbell.
St. Louis, Mosby Year Book, 419-443.
- MUIR, W. W. und HUBBELL, J.A.E. (1991).
Anaesthetic complications and cardiopulmonary resuscitation of horses
Equine Anaesthesia: Monitoring and Emergency Therapy. W. W. Muir, Hubbell, J.A.E.
St. Louis, Mosby-Year Book, Inc., 461-484.
- MÜLLER-BRUNECKER, G., ERFLE, V. und MAYR, A. (1986).
Comparison of the effect of viral paramunity inducers PIND-AVI and PIND-ORF with that of BCG, Corynebacterium parvum and levamisole on the growth of radiation-induced murine osteosarcoma.
Zentralbl. Veterinarmed. B. 33(3), 188-195.
- MYRTEK, M. und SPITAL, S. (1986)
Psychophysiological response patterns to single, double, and triple stressors.
Psychophysiology 23, 663-671
- NADAL, M. R., THOMPSON, D.L. Jr. und KINCAID, L.A. (1997).
Effect of feeding and feed deprivation on plasma concentrations of prolactin, insulin, growth hormone, and metabolites in horses.
J. Anim. Sci. 75(3), 736-744.
- NAGATA, S., TAKEDA, F., KUROSAWA, M., MIMA, K., HIRAGA, A., KAI, M. und TAYA, K. (1999).
Plasma adrenocorticotropin, cortisol and catecholamines response to various exercises.
Equine Vet. J. Suppl. 30, 570-574.
- NAPOLITANO, L. M. und CHERNOW, B. (1988).
Guidelines for corticosteroid use in anaesthetic and surgical stress.
International Anaesth. Clinics 26, 226-232.
- NEWBY, T.J. und STOKES, C.R. (1984)
The intestinal immune system and oral vaccination.
Vet. Immunol. Immunopath. 6, 67-105

- NICKEL, R., A.SCHUMMER und E. SEIFERLE (1992).
Lehrbuch der Anatomie der Haustiere
Berlin, Hamburg Verlag Paul Parey.
- NISTRUP-MADSEN, S., ENGQUIST, A., BADAWI, I. und KEHLET, H. (1976).
Cyclic AMP glucose and cortisol in plasma during surgery.
Horm. Metab. Res. 8, 483-485.
- NOCKELS, C. F. (1990).
Mineral alterations associated with stress, trauma, and infection and the effect on immunity.
Cont. Educ. Pract. Vet 12, 1133-1139
- NOHR, C. W., CHRISTOU, N.V., RODE, H., GORDON, J. und MEAKINS, J.L. (1984).
In vivo and in vitro humoral immunity in surgical patients.
Ann. Surg. 200(3), 373-380.
- NYMAN, J. A. und HEDENSTIERNA, G. (1989).
Ventilation-perfusion relationships in the anaesthetised horse.
Equine Vet. J. 21(4), 274-281.
- ÖDBERG, F (1989)
Behavioural coping in chronic stress conditions.
Ethoexperimental Approaches to the study of behaviour. R.J. Blanchard, Brain, P.F.,
Blanchard, D.C. und Parmigiani, S.
Dordrecht, Kluwer Academic Press, 229-238
- ODBERG, F.O. (1987)
Chronic stress in riding horses.
Equine Vet. J. 19, 268-269
- OHLENSCHLÄGER, G. (2000).
Freie Radikale, oxidativer Stress und Antioxidantien.
Köln, Ralf Reglin Verlag.
- OPPERMANN, T. (1947).
Über Blutreserven der Haustiere insbesondere der Pferde.
Hannover, Verlag M.und H. Schaper.
- OSBALDISTON, G. W. und JOHNSON, J.H. (1972).
Effect of ACTH and selected glucocorticoids on circulating blood cells in horses.
J. Am. Vet. Med. Ass. 101, 53-56.
- OWEN, R. A., FULLERTON, J. und BARNUM, D.A. (1983).
Effects of transportation, surgery, and antibiotic therapy in ponies infected with Salmonella.
Am. J. Vet. Res. 44(1), 46-50.

OWEN, R. A. R. (1975).
Post stress diarrhea in the horse.
Vet. Rec. 96, 267-270.

OYAMA, T. (1973).
Endocrine responses to anaesthetic agents.
Br. J. Anaesth. 45(3), 276-281.

OYAMA, T. und WAKAYAMA, S. (1988).
The endocrine responses to general anaesthesia.
International Anaesth. Clinics 26, 176-181.

PAGAN, J. D. und HARRIS, P.A. (1999).
The effects of timing and amount of forage and grain on exercise response in thoroughbred horses.
Equine Vet. J. Suppl. 30, 451-457.

PARADIES, G., PETROSILLO, G., PISTOLESE, M., DI VENOSA, N., SERENA, D. und RUGGIERO, F.M. (1999).
Lipid peroxidation and alterations to oxidative metabolism in mitochondria isolated from rat heart subjected to ischemia and reperfusion.
Free Radic. Biol. Med. 27(1-2), 42-50.

PARK, S. K. und BRODY, J.I. (1971).
Suppression of immunity by phenobarbital.
Nat. New. Biol. 233(40), 181-182.

PARK, S. K., BRODY, J.I., WALLACE, H.A. und BLAKEMORE, W.S. (1971).
Immunosuppressive effect of surgery.
Lancet. 1(7689), 53-55.

PARKS, D. A. und GRANGER, D.N. (1986a).
Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation.
Am. J. Physiol. 250(6 Pt 1), G749-753.

PARKS, D. A. und GRANGER, D.N. (1986b).
Xanthine oxidase: biochemistry, distribution and physiology.
Acta Physiol. Scand. Suppl. 548, 87-99.

PARKS, D.A., SHAH, A.K. und GRANGER, D.N. (1984)
Oxygen radicals: effects on intestinal vascular permeability.
Am. J. Physiol. 247, 167-170

PEDERSEN, B. K., BRUUNSGARD, H., KLOKKER, M., KAPPEL, M., MacLEAN, D.A., NIELSEN, H.B., ROHDE, T., ULLUM, H. und ZACHO, M. (1997).
Exercise-induced immunomodulation-possible roles of neuroendocrine and metabolic factors.
Int. J. Sports Med. 18 Suppl.(1), 2-7.

PEDERSEN, B. K., KAPPEL, M., KLOKKER, M., NIELSEN, H.B. und SECHER, N.H. (1994).

The immune system during exposure to extreme physiologic conditions.
Int. J. Sports Med. 15 Suppl. (3), 116-121.

PERRIN, J., BUOGO, C., GALLUSER, A., BURNENS, A.P. und NICOLET, J. (1993).

Intestinal carriage of *Clostridium difficile* in neonate dogs.
Zentralbl. Veterinarmed. B. 40(3), 222-226.

PERSSON, S. G. B. (1967).

On blood volume and working capacity in horses.
Acta. Vet. Scand. Suppl.19, 1-189.

PERSSON, S. G. B. (1969).

Value of hemoglobin determination in the horse.
Nord. Vet. Med. 10, 513-523.

PERSSON, S. G., EKMAN, L., LYDIN, G. und TUFVESSON, G. (1973a).

Circulatory effects of splenectomy in the horse. I. Effect on red-cell distribution and variability of haematocrit in the peripheral blood
Zentralbl. Veterinärmed. A 87, 1914-1922.

PERSSON, S. G. B., EKMAN, L., LYDIN, G. und TUFVESSON, G. (1973b).

Circulatory effects of splenectomy in the horse. II. Effect on plasma volume and total and circulating red cell volume.
Zentralbl. Veterinärmed A. 20, 456-468.

PLUMMER, C., KNIGHT, P.K., RAY, S.P. und ROSE, R.J. (1991).

Cardiorespiratory and metabolic effects of propranolol during maximal exercise.
Equine Exercise Physiology. S. G. B. Persson, Lindholm, A. und Jeffcott, L.B.
Davis, California, ICEEP Publications. 3, 465-474.

PSCHYREMBEL, W.-R. D. V. (1998).

PSCHYREMBEL-Klinisches Wörterbuch.
Berlin, De Gruyter. 258. Auflage

QUAN, N., AVITSUR, R., STARK, J.L., HE, L., SHAH, M., CALIGURI, M., PADGETT, D.A., MARUCHA, P.T. und SHERIDAN, J.F. (2001).

Social stress increases the susceptibility to endotoxic shock.
J. Neuroimmunol. 115, 36-45.

RACKLYEFT, D. J. (1991).

Studies on bacterial infections of the equine lower respiratory tract.
PhD thesis, University of Sydney.

RAIDAL, S. L. (1996).

The role of physical factors in the development of equine pleuro pneumonia.
PhD thesis, University of Sydney.

- RAIDAL, S. L. (1997).
Effect of transportation on lower respiratory tract contamination and peripheral blood neutrophil function.
Aust. Vet. J. 75(6), 433-438.
- RAIDAL, S. L., LOVE, D.N. und BAILEY, G.D. (1995).
Inflammation and increased numbers of bacteria in the lower respiratory tract of horses within 6-12 hours of confinement with the head elevated.
Aust. Vet. J. 72, 45-50.
- RALSTON, S. L. (2002).
Insulin and glucose regulation.
Vet. Clin. North Am. Equine Pract. 18(2), 295-304.
- RALSTON, S. L., NOCKELS, C.F. und SQUIRES, E.L. (1988).
Differences in diagnostic test results and hematologic data between aged and young horses.
Am. J. Vet. Res. 49(8), 1387-1391.
- RAND, J. S., KINNAIRD, E., BAGLIONI, A. und BLACKSHAW, J. (2002).
Acute stress hyperglycemia in cats is associated with struggling and increased concentrations of lactate and norepinephrine.
J. Vet. Int. Med. 16(2), 123-132.
- REIMOLD, R. (2006).
Vergleich der Wirkung von Blutdruck steigernden Medikamenten und Prüfung der Wirkung von Vasopressin bei Pferden in Isoflurannarkose.
Klinik für Pferde der LMU München, Ludwig-Maximilians-Universität. Dissertation.
- REKITT, M., SAUERWEIN, H. und ANDRESEN, U. (2001)
Orientierende Untersuchungen zum oxidativen Stress bei Reitpferden.
Bonn, Institut für Physiologie, Biochemie und Hygiene der Tiere der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn.
- RIETMANN, T. R., STAUFFACHER, M., BERNASCONI, P., AUER, J.A. und WEISHAUPT, M.A. (2004).
The association between heart rate, heart rate variability, endocrine and behavioural pain measures in horses suffering from laminitis.
J. Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin. Med. 51(5), 218-225.
- RIETMANN, T. R., STUART, A.E.A., BERNASCONI, P., WEISHAUPT, M.A., STAUFFACHER, M und AVER, J.A. (2004).
Assessment of mental stress in warmblood horses: heart rate variability in comparison to heart rate and selected behavioural parameters.
Appl. Anim. Behav. Sci.
- RINCON, H. G., SOLOMON, G.F., BENTON, D. und RUBENSTEIN, L.Z. (1996).
Exercise in frail elderly men decreases natural killer cell activity.
Aging (Milano) 8(2), 109-112.

- ROBERTSON, S. A. (1987).
Some metabolic and hormonal changes associated with general anaesthesia and surgery in the horse.
Equine Vet. J. 19, 288-294
- ROBINSON, N. E. (2003).
Current Therapy in Equine Medicine.
Philadelphia, London, New York, St. Louis, Sydney, Toronto, SAUNDERS.
- ROONEY, J. R., BRYANS, J.T. und DOLL, E.R. (1963).
Colitis X of horses.
J. Am. Vet. Med. Ass. 142, 510-511
- ROONEY, J. R., BRYANS, J.T., PRICKET, M.E. und ZENT, W.W. (1966).
Exhaustion shock in the horse.
Cornell Vet. 56(2), 220-235.
- ROOZEN, A. W. und MAGNUSSON, U. (1996).
Effects of short-term restraint stress on leukocyte counts, lymphocyte proliferation and lysis of erythrocytes in gilts.
Zentralbl. Veterinärmed. B. 43(8), 505-511.
- ROSNER, W. (1990).
The functions of corticosteroid-binding globulin and sex hormone-binding globulin: recent advances.
Endocr. Rev. 11(1), 80-91.
- ROSNER, W. (1991).
Plasma steroid-binding proteins.
Endocrinol. Metab. Clin. North Am. 20(4), 697-720.
- ROSSDALE, P. D., BURGUEZ, P.N. und CASH, R.S. (1982).
Changes in blood neutrophil/lymphocyte ratio related to adrenocortical function in the horse.
Equine Vet. J. 14(4), 293-298.
- RUSH, B. R. (2001).
Clinical use of immunomodulatory agents.
Equine Vet. Educ. 13(1), 45-53
- SAPOLSKY, R.M. (1999).
Glucocorticoids, stress, and their adverse neurological effects: relevance to aging.
Exp. Gerontol. 34, 721-732
- SAPOLSKY, R. M., KREY, L.C. und McEWEN, B.S. (1986).
The neuroendocrinology of stress and aging; the glucocorticoid cascade hypothesis.
Endocrinol. Rev. 7, 234-304.

SAUER, J., POLACK, E., WIKINSKI, S., HOLLSBOER, F., STALLA, G.K. und ARZT, E. (1995).

The glucocorticoid sensitivity of lymphocytes changes according to the activity of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical system.

Psychoneuroendocrinology. 20(3), 269-280.

SCHALM, O. W. (1965).

Veterinary Hematology.

Philadelphia, PA, Lea and Febiger.

SCHALM, O. W., JAIN, N.C. und CARROLL, E.J. (1975).

Veterinary haematology

Philadelphia, Lea & Febiger

SCHATZMANN, U. (1995).

Sedation und Anästhesie des Pferdes.

Blackwell.

SCHEUNERT, A. und MÜLLER, C. (1926).

Einfluß von Bewegung und sportlicher Höchstleistung auf die Blutbeschaffenheit des Pferdes.

Pflügers Arch. ges. Physiol., 468-476.

SCHIEFER, H. B. (1981).

Equine colitis "X", still an enigma?

Can. Vet. J. 22(5), 162-165.

SELLER, H. (1996).

Neurovegetative Regulation.

Lehrbuch der Physiologie. R. Klinke u. S. Silbernagl.

Stuttgart, New York, Verlag Georg Thieme, 105-184.

SELYE, H. (1936).

A syndrom produced by diverse nocuous agents.

Nature 138, 32.

SELYE, H. (1950).

The Physiology and Pathology of Exposure to Stress.

Acta, Inc., Montreal, Canada

SELYE, H. (1956).

The stress of life.

McGraw-Hill.

SELYE, H. (1981)

Geschichte und Grundzüge des Stresskonzepts.

Stress, Theorien, Untersuchungen, Maßnahmen. J.R. Nitsch.

Bern, 163-187

- SEN, C. K. und PACKER, L. (2000).
Thiol homeostasis and supplements in physical exercise.
Am. J. Clin. Nutr. 72(2 Suppl.), 653S-669S.
- SERTEYN, D., LAVERGNE, L., MOTTARD, E., PHILIPPART, C. und LAMY, M. (1987).
Equine postanesthetic myopathy: production of lactates by the compressed muscles in the horse anesthetized by halothane.
Schweiz. Arch. Tierheilkd. 129(1), 19-22.
- SERTEYN, D., MOTTARD, E., DEBY, C., DEBY-DUPONT, G., PINCEMAIL, J., PHILIPPART, C. und LAMY, M. (1990)
Equine postanaesthetic myositis: a possible role for free radical generation and membrane lipoperoxidation.
Res. Vet. Sci. 48 (1), 42-46
- SHAPIRO, P. A., SLOAN, R.P., HORN, E.M., MYERS, M.M. und GORMAN, J.M. (1993).
Effect of innervation on heart rate response to mental stress.
Arch. Gen. Psych. 50, 275-279.
- SHEPHARD, R. J. und SHEK, P.N. (1995).
Exercise, aging and immune function.
Int. J. Sports Med. 16, 1-6.
- SHERIDAN, J. F., STARK, J.L., AVITSUR, R. und PADGETT, D.A. (2000).
Social disruption, immunity, and susceptibility to viral infection. Role of glucocorticoid insensitivity and NGF.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 917, 894-905.
- SIES, H. (1991).
Oxidative stress: introduction.
Oxidative stress: Oxidants and Antioxidants. H. Sies.
London, Academic press. XV-XXII.
- SIITERI, P. K., MURAI, J.T., HAMMOND, G.L., NISKER, J.A., RAYMOURE, W.J. und KUHN, R. W. (1982).
The serum transport of steroid hormones.
Recent Prog. Horm. Res. 38, 457-510.
- SIMENSEN, E., LAKSESVELA, B., BLOM, A.K. und SJAASTAD, O.V. (1980).
Effects of transportation, a high lactose diet and ACTH injections on the white blood cell count, serum cortisol and immunoglobulin G in young calves.
Acta. Vet. Scand. 21, 278-290.
- SIMONIAN, N. A. und COYLE, J.T. (1996).
Oxidative stress in neurodegenerative diseases
Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 36, 83-106.

- SINGH, A., FAILLA, M.L. und DEUSTER, P.A. (1994).
Exercise-induced changes in immune function: effects of zinc supplementation.
J. Appl. Physiol. 76(6), 2298-2303.
- SLAUGHTER, M. R., BIRMINGHAM, J.M., PATEL, B., WHELAN, G.A., KREBS-
BROWN, A.J., HOCKINGS, P.D. und OSBORNE, J.A. (2002).
Extended acclimatization is required to eliminate stress effects of periodic blood-sampling
procedures on vasoactive hormones and blood volume in beagle dogs.
Lab. Anim. 36(4), 403-410.
- SMITH, B. L., JONES, J.H., HORNOF, W.J., MILES, J.A., LONGWORTH, K.E. und
WILLITS, N.H. (1996).
Effects of road transport on indices of stress in horses.
Equine Vet. J. 28(6), 446-454.
- SNOW, D. H., RICKETTS, S.W. und MASON, D.K. (1983).
Haematological response to racing and training exercise in Thoroughbred horses, with
particular reference to the leucocyte response.
Equine Vet. J. 15(2), 149-154.
- SNYDER, J. R. (1989).
The pathophysiology of intestinal damage: effects of luminal distention and ischemia.
Vet. Clin. North Am. Equine Pract. 5(2), 247-270.
- SPENCER, J. P., JENNER, A., BUTLER, J., ARUOMA, O.I., DEXTER, D.T., JENNER, P.
und HALLIWELL, B. (1996).
Evaluation of the pro-oxidant and antioxidant actions of L-DOPA and dopamine in vitro:
implications for Parkinson's disease.
Free Radic. Res. 24(2), 95-105.
- STAHL, F., AMENDT, P. und DÖRNER, G. (1979).
Total and free cortisol plasma levels in pre- and postnatal life
Endokrinologie 74, 243-246.
- STAHL, F. und DORNER, G. (1982).
Responses of salivary cortisol levels to stress-situations.
Endokrinologie 80(2), 158-162.
- STAINSBY, W.N., SUMNERS, C. und ANDREW, G.M. (1984)
Plasma catecholamines and their effect on blood lactate and muscle lactate output.
J. Appl. Physiol. 57, 321-325
- STEFANSKI, V. (2001a).
Social rearing conditions before weaning influence numbers and proportions of blood
immune cells in laboratory rats.
Dev. Psychobiol. 39(1), 46-52.

STEFANSKI, V. (2001b).

Social stress in laboratory rats: behavior, immune function, and tumor metastasis.
Physiol. Behav. 73(3), 385-391.

STEFANSKI, V. und ENGLER, H. (1998).

Effects of acute and chronic social stress on blood cellular immunity in rats.
Physiol. Behav. 64(5), 733-741.

STEFFEY, E. P. (1992).

Equine anaesthesiology.
Equine Vet. J. Suppl. 11, 2-3.

STEFFEY, E. P., WILLITS, N. und WOLINER, M. (1992).

Hemodynamic and respiratory responses to variable arterial partial pressure of oxygen in halothane-anesthetized horses during spontaneous and controlled ventilation.
Am. J. Vet. Res. 53(10), 1850-1858.

STEPHENS, D.B. (1980)

Stress and its measurement in domestic animals: A review of behavioural and physiological studies under field and laboratory situations.
Advances in Vet Sci. and Comparative Medicine 24, 179-210

STEWART, G. A., RIDDLE, C.A. und SALMON, P.W. (1977).

Haematology of the racehorse. A recent study of thoroughbreds in Victoria.
Aust. Vet. J. 53(8), 353-359.

STICKL, H. und MAYR, A. (1979)

Effectiveness of a new "paramunity" inducer (PIND-AVI) for human beings and animals.
Fortschr. Med. 97 (40), 1781-1788

STJERNSTROM, H., JORFELDT, L. und WIKLUND, L. (1981).

Influence of abdominal surgical trauma upon some energy metabolites in the quadriceps muscle in man.
Clin. Physiol. 1, 305.

STOHRER, M., HAMMER, B., HAMMER, R., BRINCKER, B. und STANGASSINGER, M. (2002).

Oxidativer Stress infolge extremer physischer Belastung.
Tierärztl. Praxis 30(K), 266-270.

STRUBE, W., KRETZDORN, D., GRUNMACH, J., BERGLE, R.D. und THEIN, P. (1989).

The effectiveness of the paramunity inducer Baypamun (PIND-ORF) for the prevention and metaphylaxis of an experimental infection with the infectious bovine rhinotracheitis virus in cattle.
Tierärztl. Prax. 17(3), 267-272.

- STULL, C. L. und RODIEK, A.V. (2002).
Effects of cross-tying horses during 24 h of road transport.
Equine Vet. J. 34(6), 550-555.
- STULL, C.L., SPIER, S.J., ALDRIDGE, B.M., BLANCHARD, M. und STOTT, J.L. (2004)
Immunological response to long-term transport stress in mature horses and effect of
adaptogenic dietary supplementation as an immunomodulator.
Equine Vet. J. 36 (7), 583-589
- SUREDA, A., TAULER, P., AGUILO, A., CASES, N., FUENTESPINA, A.E., CORDOVA,
A., TUR, J.A. und PONS, A. (2005)
Relation between oxidative stress markers and antioxidant endogenous defences during
exhaustive exercise.
Free Radic. Res. 39 (12), 1317-1324
- TAIRA, T., FUJINAGA, T., TAMURA, K., IZUMI, M., ITOH, H., TSUNODA, N.,
YAMASHITA, K., OKUMURA, M. und MIZUNO, S. (1992).
Isolation and characterization of alpha 1-acid glycoprotein from horses, and its evaluation as
an acute-phase reactive protein in horses.
Am. J. Vet. Res. 53(6), 961-965.
- TANNENBAUM, B., ROWE, W., SHARMA, S., DIORIO, J., STEVERMAN, A.,
WALKER, M. und MEANEY, M.J. (1997).
Dynamic variations in plasma corticosteroid-binding globulin and basal HPA activity
following acute stress in adult rats.
J. Neuroendocrinol. 9(3), 163-168.
- TARRANT, P.V. und GRANDIN, T. (2000)
Cattle transport.
Livestock handling and transport. T. Grandin.
Wallingford, UK, Verlag CAB International. 2. Aufl, 151-173
- TASKER, J. B. (1966).
Electrolyte therapy in gastrointestinal disease.
Vet. Med. Small Anim. Clin. 61(8), 765-776.
- TAYLOR, P.M. (1987)
Some aspects of the stress response to anaesthesia and surgery in the horse.
University of Cambridge, UK. PhD Thesis.
- TAYLOR, P.M. (1989)
Equine stress responses to anaesthesia.
Br. J. Anaesth. 63 (6), 702-709
- TAYLOR, P. M. (1998).
Effects of surgery on endocrine and metabolic responses to anaesthesia in horses and ponies.
Res. Vet. Sci. 64(2), 133-140.

- TAYLOR, P. M. (1999).
Effects of hypoxia on endocrine and metabolic responses to anaesthesia in ponies.
Res. Vet. Sci. (1), 39-44
- TAYLOR, P. M. und CLARKE, K. W. (2003).
Handbook of Equine Anaesthesia.,
SAUNDERS.
- THEIN, P., HECHLER, H. und MAYR, A. (1981).
Comparative studies of the efficacy of paramunity inducer PIND-AVI, mitogen PHA-P and
rhinopneumonitis virus on peripheral leukocytes in the horse.
Zentralbl. Veterinärmed. B. 28(6), 432-449.
- THEIN, P., LEISTNER, W. und HECHLER, H. (1980).
Erfahrungen mit dem Einsatz des Paramunitätsinducers PIND-AVI in der Pferdepraxis.
Zentralbl. Veterinärmed. 27, 499.
- THORNTON, J. R. (1985).
Hormonal responses to exercise and training.
Vet. Clin. North Am. Equine Pract. 1, 477-496.
- THUN, R. (1987).
Untersuchungen über die Tagesrhythmik von Cortisol beim Rind.
Stuttgart, Verlag Enke.
- THUN, R. und SCHWARZ-PORSCHKE, D. (1994).
Nebennierenrinde.
Veterinärmedizinische Endokrinologie. F.H.Döcke.
Jena, Stuttgart, Verlag Gustav Fischer. 3. Aufl, 309-351.
- TIZARD, I. (1987).
An introduction to veterinary immunology.
Philadelphia, WB SAUNDERS Co.
- TORTEN, M. und SCHALM, O. W. (1964).
Influence of the equine spleen on rapid changes in the concentration of erythrocytes in
peripheral blood.
Am. J. Vet. Res. 25, 500-503.
- TUBER, D. S., SANDERS, S., HENNESSY, M.B. und MILLER, J.A. (1996).
Behavioural and glucocorticoid response of adult domestic dogs (*Canis familiaris*) to
companionship and social separation. .
J. Comp. Psychol. 110(1), 103-108.
- TULLUS, K., ARONSSON, B., MARCUS, S. und MOLLBY, R. (1989).
Intestinal colonization with *Clostridium difficile* in infants up to 18 months of age.
Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 8(5), 390-393.

TVEDE, N., HEILMANN, C., HALKJAER-KRISTENSEN, J. und PEDERSEN, B.K. (1989).

Mechanisms of B-lymphocyte suppression induced by acute physical exercise.
J. Clin. Lab. Immunol. 30(4), 169-173.

VAN DER KOLK, J. H., NACHREINER, R.F. und SCHOTT, H.C. (2001).

Salivary and plasma concentrations of cortisol in normal horses and horses with Cushing's disease.

Equine Vet. J. 33, 211-213.

VAN HEERDEN, J. und BERTSCHINGER, H.J. (1982).

Serum cortisol concentrations in captive tamed and untamed black-backed jackals (*Canis mesomelas*) and translocated dogs.

J. S. Afr. Vet. Assoc. 53(4), 235-237.

VAUGHAN, J. T. (1973).

The acute colitis syndrome (Colitis X).

Vet. Clin. North Am. 3, 301-313

VOIGT, K. (1995).

Endokrines System.

Lehrbuch der Physiologie. R. Klinke u. S.Silbernagl.

Stuttgart, Verlag Georg Thieme, 439-490.

VON ENGELHARDT, W., HORNICKE, H., EHRLEIN, H.J. und SCHMIDT, E. (1973).

Lactate, pyruvate, glucose, and hydrogen ions in the venous blood of riding horses in various stages of training.

Zentralbl. Veterinärmed. A. 20(3), 173-187.

WARAN, N. K. (1993).

The behaviour of horses during and after transport by road.

Equine Vet. Ed. 5, 129-132.

WEESE, J. S., STAEMPFLI, H.R. und PRESCOTT, J.F. (2001).

A prospective study of the roles of *Clostridium difficile* and enterotoxigenic *Clostridium perfringens* in equine diarrhoea.

Equine Vet. J. 33(4), 403-409.

WHITLOCK, R. H. (1986).

Colitis: differential diagnosis and treatment.

Equine Vet. J. 18(4), 278-283.

WIEPKEMA, P. R. (1985).

Biology of fear.

2nd European Symp. Poultry Welfare, Celle.

- WIERUP, M. (1977).
Equine intestinal clostridiosis. An acute disease in horses associated with high intestinal counts of *Clostridium perfringens* type A.
Acta Vet. Scand. Suppl. 62, 1-18.
- WILKINS, P. A., DUCHARME, N.G., LOWE, J.E., SCHWARK, W.S., MESCHTER, C. und ERB, H.N. (1994).
Measurements of blood flow and xanthine oxidase activity during postischemic reperfusion of the large colon of ponies.
Am. J. Vet. Res. 55(8), 1168-1177.
- WISSDORF, H., GERHARDS, H., HUSKAMP, B. und DEEGEN, E. (2002)
Praxisorientierte Anatomie und Propädeutik des Pferdes. 2. Auflage.
Verlag M. u. H. Schaper, Alfeld-Hannover
- WOLF, F. (1938).
Untersuchungen an Pferden über den Einfluß der Fütterung auf den Gehalt des Blutes an Eiweiß, Phosphor, Calcium und Alkalireserve, mit besonderer Berücksichtigung der Blutreserve.
Hannover. Inaug. Dissertation, 1-47.
- WOLF, T. M., COLE, B., FAHRION, S., NORRIS, P. und COYNE, L. (1994).
Age and sex modulate effects of stress on the immune system: a multivariate analysis.
Int. J. Neurosci. 79(1-2), 121-132.
- WOLLANKE, B. und GERHARDS, H. (2003).
Unterschiedliche klinische Erscheinungsbilder, Therapie und Prophylaxe der "Colitis X" des Pferdes.
Pferdeheilkunde 19, 359-364.
- WOLLANKE, B. und GERHARDS, H. (2004).
Sedierung und Narkose beim Pferd.
Vorlesung.
- WOLLANKE, B. und GERHARDS, H. (2006).
Klinik und makroskopische Pathomorphologie der akuten Typhlocolitis.
Praktischer Tierarzt 87, 32-37.
- WONG, C. W., SMITH, S.E., THONG, Y.H., OPDEBEEK, J.P. und THORNTON, J.R. (1992).
Effects of exercise stress on various immune functions in horses.
Am. J. Vet. Res. 53(8), 1414-1417.
- YAMUACHI, T., OIKAWA, M. und HIRAGA, A. (1993).
Effects of transit stress on white blood cell count in the peripheral blood in Thoroughbred race horses.
Bull. Equine Res. Inst. 30, 30-32.

ZEILE, G., BAAKE, M. und HENRICI, G. (1983).

Kompendium der praktischen Hämatologie.

Darmstadt, GIT Verlag, Ernst Giebler.

ZIEBELL, K. L., STEINMANN, H., KRETZDORN, D., SCHLAPP, T., FAILING, K. und SCHMEER, N. (1997).

The use of Baypamun N in crowding associated infectious respiratory disease: efficacy of Baypamun N (freeze dried product) in 4-10 month old horses.

Zentralbl. Veterinärmed. B. 44(9), 529-536.

ZOLOVICK, A., UPSON, D.W. und ELEFTHERIOUS, B.E. (1966)

Diurnal variation in plasma glucocorticosteroid levels in the horse.

Endocrinology 35, 249-253

ZULKIFLI, I., DUNNINGTON, E.A., GROSS, W.B. und SIEGEL, P.B. (1994).

Inhibition of adrenal steroidogenesis, food restriction and acclimation to high ambient temperatures in chickens.

Br. Poult. Sci. 35(3), 417-426.

ZURI, I., GOTTREICH, A. und TERKEL, J. (1998).

Social stress in neighboring and encountering blind mole-rats (*Spalax ehrenbergi*).

Physiol. Behav. 64(5), 611-620.

ZWEIER, J. L., KUPPUSAMY, P. und LUTTY, G.A. (1988).

Measurement of endothelial cell free radical generation: evidence for a central mechanism of free radical injury in postischemic tissues.

Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 85(15), 5703-5707.

9 ANHANG

9.1 Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

9.1.1 Tabellenverzeichnis

Tabelle/Titel	Seite
Tab. 2.1: Ungefähre IgA-Konzentrationen (mg/100 ml) in den verschiedenen Sekreten der Tiere	30
Tab. 3.1: Einteilung der Farbe des Blutes	57
Tab. 3.2: Grad der Schmerzen und die damit einhergehenden klinischen Veränderungen	57
Tab. 3.3: Einteilung nach Grad des Stresses der Pferde bei Ankunft in der Klinik	57
Tab. 3.4: Einteilung in Schockgrade und damit einhergehende klinische Veränderungen	58
Tab. 3.5: Zeitpunkte der Probenentnahme bei den beiden Patienten-Gruppen	64
Tab. 3.6: Die für die Bestimmung der verschiedenen Blutparameter verwendeten Probegefäße	65
Tab. 4.1: Verschiedene Kot-Entnahmestellen innerhalb eines Kothaufens für die Bestimmung des IgA-Gehalts (in OD ₄₅₀)	74
Tab.4.2: Die Kot-IgA-Konzentrationen im Kot der Pferde aus der Kontrollgruppe (gemessen in OD ₄₅₀)	75
Tab.4.3: Veränderung der klinischen Parameter durch den Transport in die Klinik.	79
Tab. 4.4: Atemfrequenzen in Abhängigkeit von dem Grad der Schmerzen.	83
Tab. 4.5: Vergleich der Glukose- und Kortisolkonzentrationen im Serum sowie des Verhältnisses der neutrophilen Granulozyten zu den Lymphozyten und des IgA-Gehaltes im Kot von Pferden verschiedenen Charakters (T-Test).	84
Tab. 4.6: IgA-Konzentrationen von zwei Pferden, die nur in Narkose gelegt, aber nicht operiert wurden (gemessen in OD ₄₅₀).	86
Tab. 4.7: Der IgA-Gehalt im Kot bei Pferden mit unterschiedlichen intestinalen Erkrankungen (gemessen in OD ₄₅₀).	89
Tab. 4.8: Der IgA-Gehalt im Kot bei Pferden mit unterschiedlichen intestinalen Erkrankungen (gemessen in OD ₄₅₀).	90
Tab. 4.9: Leukozytenzahlen vor und nach derAufstehphase bei Pferden, die leichten Operationen unterzogen wurden (n = 59).	93

Tabelle/Titel	Seite
Tab. 4.10: Das N:L-Verhältnis im Verlauf bei gesund eingelieferten und in der Klinik operierten Pferden (n = 12).	94
Tab. 4.11: Verlauf des N:L-Verhältnisses bei leichten und schweren Operationen im Vergleich.	97
Tab. 4.12: Die Kortisolkonzentration bei der Kontrollgruppe und den gesund in die Klinik eingelieferten Pferden.	100
Tab. 4.13: Kortisolkonzentrationen bei fünf Pferden, denen Blut direkt nach der Narkose entnommen wurde, im Vergleich direkt nach der Operation und nach der darauf folgenden Aufstehphase.	103
Tab. 4.14: Die Glukosekonzentration der Pferde im Zusammenhang mit den Schmerzen bei Einlieferung in die Klinik.	106
Tab. 4.15: Die Glukosekonzentrationen bei sieben Pferden, denen mehrmals täglich Blut abgenommen wurde, um den Glukose-Verlauf über den Tag zu verfolgen.	107
Tab. 4.16: Laktatkonzentrationen bei 14 Pferden vor der Narkose, direkt nach der Narkose und nach der Aufstehphase.	111
Tab. 4.17: Die Kortisolkonzentrationen nach der Operation bei Pferden, denen Zylexis® verabreicht wurde, und solchen, die ohne vorherige Gabe von Zylexis® operiert wurden.	112

9.1.2 Abbildungsverzeichnis

Abbildung/Titel	Seite
Abb. 2.1 Stress führt zu einer Freisetzung von CRH, das wiederum zu einer gesteigerten Sekretion von ACTH führt. Die Glukokortikoide (z.B. Kortisol) unterliegen der Kontrolle von ACTH und werden bei Bedarf aus der Nebennierenrinde freigesetzt. Sie erhöhen die Glukosekonzentration, indem sie Protein, Glykogen und Fett abbauen.	10
Abb. 2.2: Zusammenhänge zwischen der Psyche, der Ausschüttung von Kortisol aus der Nebennierenrinde bzw. Adrenalin und Noradrenalin aus dem Nebennierenmark und dem Immunsystem.	15
Abb. 2.3: Pferd nach der Narkose in der Aufwachbox der Klinik für Pferde der LMU München.	53
Abb. 3.1: Anwendungsintervalle von Zylexis® laut Herstellerbeschreibung in Erwartung eines mit Stress einhergehenden Zeitraums.	71
Abb. 4.1: Test zur zirkadianen Rhythmik des Kortisols bei in der Klinik eingestellten Pferden, Darstellung der Werte morgens um 9.00 Uhr, nachmittags um 14.00 Uhr und abends um 20.00 Uhr.	76
Abb. 4.2: Die IgA-Konzentrationen im Kot bei den Kontrollpferden an Tag 1, 3 und 7 jeweils morgens um 9.00 Uhr (gemessen in OD ₄₅₀).	77
Abb.4.3: Kortisolkonzentrationen bei den Kontrollpferden morgens um 9.00 Uhr, mittags um 14.00 Uhr und abends um 20.00 Uhr (in nmol/l).	77
Abb. 4.4: Der Zusammenhang zwischen der Körpertemperatur (°C) und dem Grad der Schmerzen bei Einlieferung.	78
Abb. 4.5: Der Zusammenhang zwischen der Körpertemperatur (°C) und dem Ausmaß der Störung des Allgemeinbefindens bei transportierten und nicht transportierten Pferden.	80
Abb. 4.6: Zusammenhang zwischen der Herzfrequenz (Schläge/Min) und dem Ausmaß der Störung des Allgemeinbefindens bei transportierten und nicht transportierten Pferden.	81
Abb. 4.7: Zusammenhang zwischen der Atemfrequenz (Atemzüge/Min) und dem Ausmaß der Störung des Allgemeinbefindens bei transportierten und nicht transportierten Pferden.	82
Abb. 4.8: Zusammenhang zwischen der Herzfrequenz (Schläge/Min) und dem Grad der Schmerzen bei Einlieferung.	83
Abb. 4.9: Der IgA-Gehalt im Kot bei Pferden, die ein ungestörtes Allgemeinbefinden hatten und transportiert bzw. nicht transportiert wurden. Bei den Pferden, die in de Klinik transportiert wurden, wurde am Tag der Einlieferung, einen Tag danach und am Tag vor der Operation Kot entnommen (bzw. gleiche Abstände bei den nicht transportierten Pferden der Kontrollgruppe) (Mann-Whitney-Test).	85
Abb. 4.10: Der Kot-IgA-Gehalt im Verlauf der verschiedenen Operationen (gemessen in OD ₄₅₀).	86
Abb. 4.11: Der IgA-Gehalt im Kot in Abhängigkeit vom Grad der Schmerzen der Pferde (gemessen in OD ₄₅₀).	87
Abb. 4.12: Die Korrelation zwischen dem Serum-Kortisol-Gehalt (nmol/l) und dem Kot-IgA-Gehalt (OD ₄₅₀) am Tag nach der leichten Operation.	88
Abb. 4.13: Der Kot-IgA-Gehalt bei verschiedenen Pferden mit schweren intestinalen Erkrankungen (gemessen in OD ₄₅₀).	89

Abbildung/Titel	Seite
Abb. 4.14: Der Kot-IgA-Gehalt bei drei Pferden mit schweren intestinalen Erkrankungen (gemessen in OD ₄₅₀).	90
Abb. 4.15: Leukozytenzahlen bei Pferden mit unterschiedlichem Allgemeinbefinden mit und ohne vorhergegangenen Transport	92
Abb. 4.16: Verhältnis der neutrophilen Granulozyten:Lymphozyten vor und nach leichten Operationen.	95
Abb. 4.17: Verhältnis der neutrophilen Granulozyten:Lymphozyten der verschiedenen Gruppen bei Einlieferung.	96
Abb. 4.18: Verhältnis der neutrophilen Granulozyten:Lymphozyten im Verlauf nach leichten und schweren Operationen.	98
Abb. 4.19: Das Verhältnis der neutrophilen Granulozyten zu Lymphozyten (N:L-Verhältnis) bei Pferden mit unterschiedlich starken Schmerzen (Grad 1 bis 4).	99
Abb. 4.20: : Kortisolwerte (nmol/l) bei Pferden mit unterschiedlich starker Störung des Allgemeinbefindens.	100
Abb. 4.21: Der Serum-Kortisol-Gehalt im Verlauf nach leichten Operationen (in nmol/l).	101
Abb. 4.22: Der Serum-Kortisol-Gehalt im Verlauf nach schweren Operationen (in nmol/l).	102
Abb. 4.23: Zusammenhang des Serum-Kortisol-Gehalts mit dem Grad der Schmerzen der Pferde bei Einlieferung in die Klinik.	103
Abb. 4.24: Der Verlauf der im Blut gemessenen Sauerstoff-Radikale (Carr. Units) bei chronisch erkrankten Pferden (n = 8).	104
Abb. 4.25: Der Verlauf der im Blut gemessenen Radikale (Carr. Units) bei zwei Pferden, bei denen während des Klinikaufenthalts Hufrehe auftrat.	105
Abb. 4.26: Der Serum-Glukose-Gehalt bei den Pferden mit unterschiedlich gestörtem Allgemeinbefinden mit und ohne vorhergegangenen Transport.	106
Abb. 4.27: Der Zusammenhang zwischen dem Serum-Glukose-Gehalt der Pferde und dem Grad der Schmerzen bei Einlieferung.	107
Abb. 4.28: Der Serum-Glukose-Gehalt im Verlauf nach leichten Operationen.	108
Abb. 4.29: Die Korrelation zwischen der Glukose- und der Kortisolkonzentration nach der Operation (Korrelation nach Spearman; p = 0,001).	109
Abb. 4.30: Die Laktatkonzentrationen im Verlauf vor und nach leichten Operationen.	110
Abb. 4.31: Der Serum-Gesamteiweißgehalt bei den an Equiner Rezidivierender Uveitis (ERU) erkrankten Pferden. Eine Gruppe hatte vor der Operation (Vitrektomie) Zylexis® erhalten, die andere Gruppe nicht.	112
Abb. 4.32: Der Serum-Kortisol-Gehalt im Verlauf nach der Operation (Vitrektomie) bei den an Equiner Rezidivierender Uveitis (ERU) erkrankten Pferden. Eine Gruppe hatte vor der Operation Zylexis® erhalten, die andere Gruppe nicht.	113
Abb. 4.33: Der IgA-Gehalt im Kot bei Pferden im Verlauf nach leichten Operationen (gemessen in OD ₄₅₀). Eine Gruppe hatte vor der Operation Zylexis® erhalten, die andere Gruppe nicht.	114

9.2 ELISA

9.2.1 Beschichtungspuffer

3,11g Na₂CO₃
6,00g NaHCO₃
ad 1 Liter Aqua dest. pH 9,6

9.2.2 PBS-T

8,0g NaCl
1,45g Na₂HPO₄ x 2H₂O
0,2g KH₂PO₄
0,2g KCl
ad 1 Liter Aqua dest. pH 7,2

500µl Tween20

9.2.3 TMB-Puffer

8,2g Na-Acetat
3,15g Citronensäure
ad 1 Liter Aqua bidest. pH 5,0

9.2.4 Tetramethylbenzidin (TMB)

6mg in 1 ml DMSO

9.2.5 30 %ige H₂O₂

9.2.6 1 M Schwefelsäure

472ml H₂O₂ + 28ml 96%ige H₂SO₄

9.2.7 Substratlösung pro Platte

332µl TMB
10ml 37°C warmer TMB-Puffer
3,3µl 30%ige H₂O₂

Anhang

LfNr	Patient	Alter	Rasse	Geschl.	Naturrell	Grunderkrankung	Art der OP
1	Raeggi Star	6	1	3	1	ERU	Vitrektomie/Parazentese
2	Katuried	4	1	2	3	Kehlkopfpfeifer	Ventrikelektomie/Laryngoplastik
3	Calimero	2	1	3	1	Kryptorchide	Kastration über Leistenspalt
4	Rocadero	10	1	2	1	Luxatio lentis posterior	Phakoemulsifikation
5	Bonanza	12	1	2	3	ERU	Vitrektomie
6	Luna	8	1	1	2	Autoimmunerkrankung	/
7	Rubina	8	1	1	2	ERU	Vitrektomie
8	Quel Beau	3	1	3	2	zur Kastration	Kastration
9	Al Cantaro	11	1	2	3	Kehlkopfpfeifer	Laryngoplastik
10	Panama	6	1	1	3	V.a. Chip im Fesselgelenk	/
11	Wookie	22	1	1	1	Luxatio lentis anterior	/
12	Mareike	9	1	1	1	ERU	Vitrektomie
13	French Rubina	3	1	1	3	ERU	Vitrektomie
14	Mr. King Cool	4	1	2	1	ERU	Parazentese+Entfernung Sarkoid
15	Tara	16	2	1	3	ZNS-Störungen	/
16	Willby	5	3	1	1	Kolik (Obstipation)	/
17	Sir Henry	11	5	2	1	COPD/RAO	/
18	Paganini	15	1	2	3	rezidivierende Kolik	Entfernung Samenstrangfistel
19	Chipsy	7	1	1	1	ERU	Vitrektomie
20	Peggy	10	1	1	1	Epiglottiszyste	Entfernung der Zyste im Stehen
21	Draumsyn	5	5	1	1	Kolik	Laparotomie
22	Amaryl	9	3	1	3	ERU	
23	Tequila	6	1	2	4	V.a.Luftsackmykose	Trepanation der Kieferhöhle
24	Dunja	16	1	1	1	Hornsäule	Entfernung der Hornsäule
25	Amigo	18	1	2	1	Plattenepithelkarzinom	Entfernung der PEK mittels Laser
26	Quintus	3	1	3	4	zur Kastration	Kastration
27	Principles Deluxe	10	1	3	3	Hornsäule	Entfernung der Hornsäule
28	Docs Ice Maiden	12	1	1	1	V.a. Hämangiosarkom	Enukleation/Entfernung der Tumore
29	Mansoor	6	2	2	3	Equine Sarkoide	Entfernung der Equinen Sarkoide
30	Tango	15	1	2	1	Equines Sarkoid	Bulbusextirpation
31	Shita	15	1	1	1	Fieber	/
32	Zentup	10	1	2	1	Fieber/Anämie	/
33	Dirin	6	4	3	1	Hernia inguinalis incarcerata	einseitige Kastration
34	Colour Jack	2	1	3		ZNS-Symptome	/
35	Rugby	1	5	3	2	Kryptorchide	Kastration über Leistenspalt
36	Tschagga Mo	4	1	2	3	Osteochondrosis dissecans	Arthroskopie
37	Arnies Volo Mo	2	1	3	3	Osteochondrosis dissecans	Arthroskopie
38	Amor	4	1	2	1	ERU	Vitrektomie
39	(Lassita)	10	1	1	4	ERU	Vitrektomie
40	Danny de Vito	6	1	2	1	versprengte Zahnanlagen	Entfernung der Zahnanlagen
41	Elli	12	5	1	1	Uterusprolaps	Prolaps im Stehen reponiert
42	Sheriff	15	1	2	1	ERU	Synechiolyse
43	Sammy	10	1	2	1	Abmagerung	/
44	Friso	22	1	2	1	starke Abmagerung	/
45	Askja	18	5	1	3	ZNS-Symptomatik	/
46	Namo	19	1	3	3	allerg. Asthma	/
47	Wesley Mo	1	1	1	4	Osteochondrosis dissecans	Arthrotomie
48	Sassy Jet Mo	1	1	1	4	Osteochondrosis dissecans	Arthroskopie
49	Navarra	14	2	1	4	V.a. Obstipatio ilei	/
50	Druso	8	1	2	1	Abmagerung, evtl. Magenulkus	/
51	Fagri-Blakkur	8	5	2	2	Durchfall/V.a.Colitis X	Laparotomie
52	Dandy	4	1	2	1	Condylus-Fraktur Röhrbein	Osteosynthese
53	Rubelli Rosso	3	1	3	3	Verletzung, Darmbeinschaukel-Abriß	in Sedation Wunde versorgt
54	Eskubah	7	1	2	1	Hornhaut-Ulkus	HH-Debridement, Konjunktiva-Flap
55	Wendy	1	1	1	3	Bulbus-Ruptur	Bulbusextirpation

Anhang

LfNr	Patient	Alter	Rasse	Geschl.	Naturell	Grunderkrankung	Art der OP
56	Feodora	13	1	1	2	Schnittverletzung, Röhrbein liegt frei	Wundversorgung
57	Jacobs "NN"	2	1	3	3	ERU	Vitrektomie
58	Gigolo	10	1	3	2	Bulbusruptur	Bulbusexstirpation
59	Piroschka	13	1	1	2	Kolik	Enterotomie
60	Kajal	8	2	3	2	Equine Motor Neuron Disease	/
61	La Ola	7	1	1	3	Glaukom,HH-Defekt	Laserzyklokoagulation
62	Flummi	3	1	1	3	Lidverletzung OS	Lidnaht
63	Can Top Cody	16	1	2	3	Samenstrangfistel	Resektion der Fistel
64	Sörli	5	5	3	3	Kryptorchide zur Kastration	Kastration
65	Pascale	3	5	2	2	Tetanus nach Kastration	/
66	Chase Manhattan	6	1	2	2	Abmagerung	/
67	Cäsar	22	1	2	1	Bulbus-Exstirpation	Bulbusexstirpation
68	Lily Marleen	14	1	1	2	V.a. Magenulzera	/
69	Sahara	8	1	1	2	Kolik (Caecumtympanie)	/
70	Doppa	7	5	1	2	Splitterfraktur (offen)	/
71	Osmana	20	1	1	1	Kolik (Dünndarmstrangulation)	Euthanasie in OP
72	Ludwig	12	1	2	1	Vorhofflimmern	/
73	Cayene	3	2	3	3	zur Kastration	Kastration
74	Marayka	1	2	1	3	Kolik (Askariden-Ileus)	Enterotomie
75	Ossa	24	3	1	1	Verletzung mit freiliegendem Röhrbein	Wundrevision und Naht
76	Paul	18	1	2	1	Verbrennungen 3.-4. Grades	/
77	Ajaccio	10	1	2	1	ERU	Parazentese/Vitrektomie
78	Buchauer	3	1	2	1	Kopftrauma/Fraktur	MRI Kopf
79	Fabian	13	1	2	3	V.a. ERU	Parazentese
80	Lamour W	8	1	1	2	Kolik	/
81	Magnat	5	1	2	3	zur Kopper-OP	Kopper-OP
82	Galaxy	18	1	1	2	Kolik (Lipoma pendulans)	Laparotomie
83	Wishbone	1	1	2	1	Impressionsfraktur	Verdrahtung Kopf
84	Gazala	0,5	2	1	4	akute Atemnot	/
85	König des Windes	5	3	3	3	zur Kastration	Kastration
86	Moet Chantalle	10	1	1	3	Hornhautulkus	Hornhautnaht und Flap
87	Natascha	9	4	1	1	Stichwunden	Wundrevision und Naht
88	Nena	8	4	1	1	Schürfwunde Knie	Wundrevision und Naht
89	Bellure	11	1	2	2	Kolik, Colitis	/
90	Holstein	2	1	2	2	zur Kastration	Kastration
91	Nelke	16	4	1	1	Kolik	Euthanasie
92	Momo	20	1	1	2	Blasenstein	Entfernung des Blasensteins
93	Sammy	22	5	2	3	Fieber	/
94	Madira	0,5	1	1	3	Kolik	
95	Avalon	4	1	2	1	Blutung nach Kastration	Nach-Kastration
96	Rosita	8	1	1	2	Kolik	/
97	Gem	8	1	1	2	ERU	Vitrektomie, Zylexis
98	Starlight	8	1	1	3	ERU	Vitrektomie, Zylexis
99	Empress	5	5	1	2	Abmagerung	/
100	Charlotte Noir	8	1	1	3	ERU	Vitrektomie, Zylexis
101	Distel NN	4	1	2	2	ERU	Vitrektomie, Zylexis
102	Reverie	6	1	1	4	ERU	Vitrektomie, Zylexis
103	Schapur	5	1	2	1	ERU	Vitrektomie, Zylexis
104	Dark Angel	4	1	1	3	ERU	Vitrektomie, Zylexis
105	Elida	23	1	1	3		/
106	Fritz	13	1	2	1	Schlundverstopfung	Freispülen unter Sedierung
107	Grandino	6	1	2	2	ERU	Vitrektomie, Zylexis
108	Charly	9	5	2	1	Kolik, war im Stromzaun verheddert	/
109	Richard Löwenherz	7	1	2	1	ERU	Vitrektomie, Zylexis
110	Cordalme	4	1	3	1	ERU	Vitrektomie, Zylexis

Danksagung

Mein ganz besonderer Dank gilt meiner Doktormutter PD Dr. Bettina Wollanke für die Überlassung des Themas und die hervorragende Betreuung und tatkräftige Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit. 1000 Dank auch für die kritischen und konstruktiven Vorschläge zur Verbesserung der Arbeit!

Herrn Prof. Dr. Hartmut Gerhards danke ich für die Möglichkeit, die Untersuchungen in der Klinik für Pferde durchzuführen. Ihm und dem gesamten Team möchte ich für die angenehme Arbeitsatmosphäre und lehrreiche Zeit in der Klinik danken.

Außerdem bedanke ich mich bei allen Assistenten, den Famulanten, sowie den Studenten und allen Pflegern, die mich wegen der Notfälle zuverlässig anriefen und gegebenenfalls bei der Probenentnahme/Auswertung behilflich waren. Ohne Eure Hilfe wäre das Sammeln der vielen Blutproben nicht möglich gewesen!

Dank auch an Roman, Hendrik und Sabine für die Hilfe bei den Blutentnahmen in Erding!

Des Weiteren möchte ich mich bei Frau Prof. Dr. Cornelia Deeg für die Entwicklung und Betreuung des Kot-ELISAs bedanken. Ein ganz großes Dankeschön geht auch an das Laborteam: Bärbl Amann, Frank Altmann, Christina Buse und Hanna Zipplies für unermüdliche Hilfestellung trotz Kotgestanks im Labor und vieler unvorhergesehener Zwischenfälle.

Ein ganz besonderer Dank geht an Herrn PD Dr. Sven Reese, der durch seine grenzenlose Hilfsbereitschaft und den spontanen Einsatz die statistische Auswertung meiner Ergebnisse ermöglichte.

In Sachen Computer möchte ich auch Melanie Stehle ganz herzlich danken, die mir ihren Laptop zur Verfügung stellte, nachdem meiner mich zwei Wochen vor Beendigung dieser Arbeit im Stich ließ.

Hanna Zipplies danke ich für Internet, Tee, Schokolade und Schreibtisch ☺

Dem Stipendienausschuss der LMU München und Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. mult. Hans-Georg Liebich als Vorsitz des Ausschusses des Dr. Karl Heinz Kurtze-Stipendiums möchte ich für die finanzielle Unterstützung zur Förderung des wissenschaftlichen Nachwuchses danken.

Den Besitzern der Pferde in Erding danke ich für das bereitwillige Zur-Verfügung-stellen der Vena jugularis ihrer Pferde (Kontrollgruppe).

Meinen Eltern und Geschwistern, die während der gesamten Zeit meines Studiums immer für mich da waren und sind, danke ich von ganzem Herzen.

Zu guter Letzt geht noch ein ganz großes Dankeschön an Sebastian Zipplies, der mir in der anstrengenden Zeit kurz vor Abgabe der Dissertation zur Seite gestanden und viel Kraft gegeben hat.

LEBENS LAUF

- Name:** Anna May
- Geboren:** 23.11.1979 in Hamburg
- Schulausbildung:** 1990 bis 1999 Helene-Lange-Gymnasium Hamburg
- Studium:** Okt. 2000 bis Febr. 2006 Studium der Veterinärmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München
02.02.2006 Abschluss des Studiums mit der tierärztlichen Prüfung
- Approbation:** März 2006
- Dissertation:** 01.03.2006 bis 02.04.2007 Promotionsstudium und Anfertigung der vorliegenden Dissertation in der Klinik für Pferde
- Stipendium:** Juni 2006 bis November 2006 finanzielle Unterstützung aus Mitteln des Nachlasses Dr. Karl Heinz Kurtze
- Berufstätigkeit:** Sept. 2006 Praxisvertretung in der Tierarztpraxis Dr. Markus Ströbele, Friedrichshafen/Bodensee
Okt. 2006 bis Juni 2007 Wochenend- und Urlaubsvertretungen in der Fachtierarztpraxis für Pferde Dr. Heinz/Dr. Krieg, München Riem
Seit Juni 2007 Assistentin an der Klinik für Pferde der Ludwig-Maximilians-Universität München