

Pemphigus foliaceus beim Pferd

Agnes Schulte¹, P. Stadler², B. Otto², E. Deegen² und G. Trautwein¹

¹Institut für Pathologie und

²Klinik für Pferde

der Tierärztlichen Hochschule Hannover

Einleitung

Pemphigus foliaceus ist eine seltene autoimmune Hauterkrankung aus dem Komplex verschiedener Pemphiguskrankheiten bzw. des Pemphigoids von Mensch und Tier. Im Vergleich zu den verschiedenen Pemphigusformen des Menschen ist bisher nur wenig über die autoimmunen bullösen Hauterkrankungen der Haussäugetiere bekannt. Am häufigsten werden sie bei Hund und Katze diagnostiziert, vereinzelt beim Pferd und sehr selten bei Tierarten wie Ziege (Jackson et al., 1984) und Affe (Rosenberg et al., 1987). Das klinische Bild des Pemphigus foliaceus wird durch intraepidermale Vesikel und Pusteln in der oberflächlichen Epidermis charakterisiert. Diese primären Hautläsionen des akuten Stadiums werden am Tier nur selten beobachtet, da die Blasen nach kurzer Zeit rupturieren. Im chronischen Stadium weist die Haut Schuppen- und Krustenbildung, Erythem und Alopezie auf, ebenso treten herdförmige Erosionen und Ulzerationen auf. Beim Pferd können Kopf, Ohren, Gliedmaßen, Nacken sowie der gesamte Rumpf betroffen sein, die Hautveränderungen können aber auch nur entlang des Kronsauces ausgebildet sein. Anorexie, Fieber, Depression, Unterhautödem in den ventralen Körperpartien und Bewegungsunlust komplizieren den Krankheitsverlauf. Eine Beteiligung der Maulhöhle liegt selten vor, die mukokutanen Übergänge der Körperöffnungen sind unverändert (Griffith, 1987; Scott, 1988).

Histologisch ist der Pemphigus foliaceus durch intragranuläre bis subkorneale Akantholyse der Keratinozyten und Blasenbildung mit variablem Gehalt an neutrophilen und eosinophilen Granulozyten, Akanthozyten und Flüssigkeit gekennzeichnet. Daneben treten in Abhängigkeit vom Stadium weitere, wenig spezifische histologische Veränderungen in Epidermis und Dermis auf. Mit Hilfe der direkten Immunfluoreszenzmethode sind intraepidermale Ablagerungen von Immunglobulinen, selten mit Komplementbeteiligung, nachzuweisen; aufgrund der interzellulären Verteilung der Immunglobuline entsteht ein charakteristisches netzförmiges Fluoreszenzmuster.

Ziel dieser Veröffentlichung ist es, erstmals im europäischen Raum über das Auftreten von Pemphigus beim Pferd zu berichten. Neben einer Beschreibung des klinischen Bildes werden die Ergebnisse der histologischen und immun-

Zusammenfassung

Zwei 5 und 9 Jahre alte Warmblutpferde wurden mit schwerer generalisierter chronischer Dermatitis und gestörtem Allgemeinbefinden vorgestellt. Nach der Diagnosestellung eines Pemphigus foliaceus wurde eine Therapie mit Kortikosteroiden eingeleitet, die später kombiniert mit einem immunsuppressiven Präparat verabreicht wurde. Dennoch verschlechterte sich die Dermatitis sowie der Allgemeinzustand der beiden Tiere erheblich; wegen aussichtsloser Prognose wurden beide Pferde nach 7 bzw. 14 Wochen euthanasiert. Vor Beginn der Therapie und während des Klinikaufenthaltes untersuchte Hautbiopsien zeigten bei der histopathologischen Untersuchung charakteristische Veränderungen, die in einer subkornealen Blasenbildung mit intravesikulären Granulozyten und akantholytischen Keratinozyten bestanden. In der direkten Immunfluoreszenzuntersuchung mit Antikörpern gegen Immunglobulin G waren interzelluläre Ablagerungen in der Epidermis vorhanden. Zirkulierende Antikörper gegen epidermales Antigen sowie gegen nukleäre Substanzen waren nicht nachweisbar.

Pemphigus foliaceus in the horse

Two 5 and 9 year old horses were presented with severe generalized chronic dermatitis. After the final diagnoses of pemphigus foliaceus corticosteroid therapy started, later combined with immunosuppressive drugs. Without improvement of the dermatitis and with a continuous pure condition both animals were killed after 7 and 14 weeks, respectively, of hospitalisation because of the bad prognosis. Characteristical histopathological skin lesions were noted in both animals before therapy and during the clinical management and they consisted of focal subcorneal vesicles filled with fluid, granulocytes and some acantholytic keratinocytes. Direct immunofluorescence testing using antibodies to immunoglobulin G showed intercellular deposits of immunoglobulin in the epidermis. Circulating antibodies to an intercellular epidermal antigen and to nuclear substances were not demonstrable.

pathologischen Untersuchungen ausführlich wiedergegeben.

Klinische Symptomatologie

Mit generalisierten Hautveränderungen werden zwei männliche, kastrierte Warmblutpferde im Alter von 5 und 9 Jahren in der Klinik für Pferde der Tierärztlichen Hochschule Hannover vorgestellt. Gemäß dem klinischen Vorbericht besteht die Erkrankung seit 12 bzw. 3 Monaten. Beide Tiere sind aufgrund der Verdachtsdiagnose Dermatomykose mit antimykotisch wirksamen Präparaten vorbehandelt worden. In der Einstellungsuntersuchung zeigen die Tiere am gesamten Rumpf einschließlich Gliedmaßen sowie am Kopf symmetrisch ausgebildete Hautveränderungen in verschiedenen Stadien (Abb. 1 und 2). Es finden sich ausgedehnte Krustenbildungen sowie borkige und talgige Auflagerungen, die darunter zutage tretende Epidermis ist sehr feucht. Nach dem Scheren der Haare werden fleckförmige hyperpigmentierte Areale sichtbar. Weniger fortgeschrittene Hautveränderungen bestehen aus umschriebenen wallartigen Erhabenheiten, deren Oberfläche deutlich gerötet ist. Beide Pferde weisen einen mittel- bis hochgradigen, nicht abgegrenzten Haarverlust am gesamten Körper auf. Das 9jährige Tier zeigt durch einen fortwährend bestehenden Juckreiz hervorgerufene herdförmige Exkoriationen der Haut im Kopfbereich. Unverän-

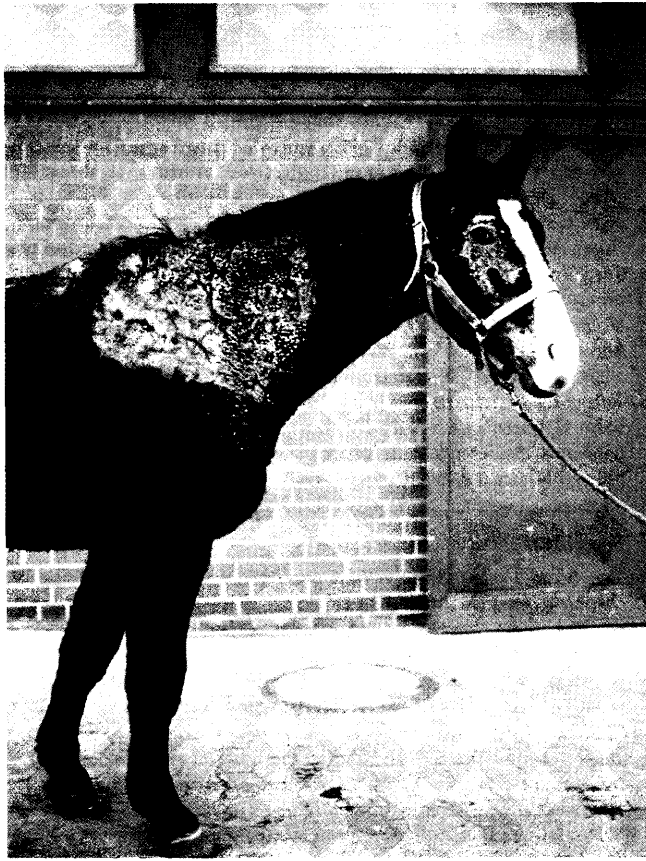


Abb. 1: 9 Jahre alter Wallach mit generalisierter Dermatitis am Ende des ersten Therapieintervalls mit Prednisolon. Hochgradige Krustenbildungen mit Haarverlust sind im Kopf-, Hals- und Schulterbereich sichtbar. Daneben zeigen die Gliedmaßen ein deutliches Unterhautödem.

dert erscheinen dagegen die mukokutanen Übergänge der Körperöffnungen sowie die orale Schleimhaut. Eine Blasenbildung in der Epidermis wurde zu keinem Zeitpunkt des Klinikaufenthaltes beobachtet. Beide Tiere zeigen ein mäßig gestörtes Allgemeinbefinden mit verminderter Anteilnahme und Erhöhung der Körpertemperatur (39 bis 40 °C). Ein Unterhautödem ist im ventralen Bauch- und Brustbereich sowie an den Gliedmaßen nachweisbar.

Diagnosestellung

Zunächst werden Hautgeschabsel zur mikrobiologischen, mykologischen und parasitologischen Untersuchung entnommen. Nachdem spezifische Krankheitserreger nicht nachweisbar sind, erfolgt die Entnahme einer Hautbiopsie. Es wird die Diagnose einer hochgradigen Dermatitis superficialis mit subkornealer Blasenbildung gestellt. Die Biopsientnahme wird wiederholt, und die gewonnenen Gewebeproben werden nun histologisch und immunfluoreszenzmikroskopisch untersucht. Die immunhistologischen Befunde bestätigen in beiden Fällen den Verdacht einer autoimmunen bullösen Hauterkrankung. Aufgrund des Vorberichtes und des klinischen Untersuchungsergebnisses, des Ausschlusses anderer Hauterkrankungen und insbesondere der Ergebnisse der histologischen und immunfluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen wurde die Diagnose Pempfigus foliaceus gestellt.

Behandlung und klinischer Verlauf

Während des gesamten Klinikaufenthaltes wird eine symptomatische Behandlung mit Antibiotika (Sulfadimethoxin und Trimethoprim [Trafigal[®], 30 %], Gentamycin [Vetrigent[®]], Ampicillin [Binotal[®]]) und Antiphlogistika (Flunixinmeoglumin [Finadyne[®]] und Phenylbutazon [Equi Palazone[®]]) durchgeführt. Wiederholt werden beide Pferde geschoren und mit warmem Wasser und Pflegezusätzen (Wasa[®], Nivea-Milch) gereinigt. Zu Beginn der Therapie erhalten beide Tiere (Körpergewicht ca. 550 kg) ein Kortikosteroidpräparat (Prednisolon [Prednisolon-5[®]], 400 mg tgl., oral, 9 bzw. 5 Tage) (Behandlungsschema Abb. 3). Nach einem behandlungsfreien Intervall von 9 bzw. 15 Tagen erfolgt die kombinierte Applikation eines Immunsuppressivums (Cyclophosphamid [Endoxan[®]], 1 g tgl., i.v.) und des Kortikosteroids (Prednisolon, 200 mg tgl., oral) über den Zeitraum von 10 bzw. 20 Tagen, gefolgt von erneuter alleiniger Verabreichung von Kortikosteroiden (Prednisolon, 400 mg tgl., oral, 15 bzw. 8 Tage). Die Therapie des 9jährigen Wallachs wird abgebrochen, 8 Tage später wird das Tier in Agonie euthanasiert.

Das 5 Jahre alte Pferd wird weiterhin therapiert und erhält erneut Cyclophosphamid (3 g tgl., i.v.) und Prednisolon (100 mg tgl., oral). Aufgrund einer ausgeprägten Leukopenie wird nach 7 Tagen das Immunsuppressivum abgesetzt und im darauffolgenden Monat lediglich das Kortikosteroidpräparat (Prednisolon, 200 mg tgl. und 100 mg tgl. an den letzten 4 Tagen, oral) verabreicht. Auf Wunsch der Besitzer wird die Therapie abgebrochen, und das Tier wird 1 Monat nach Entlassung euthanasiert.

Im Verlauf der Therapie nehmen bei beiden Tieren Unterhautödem und Gewichtsverluste einhergehend mit allgemeiner Schwäche, hochgradig gestörtem Allgemeinbefinden und erhöhter Körpertemperatur zu. Mäßiger Appetit und Tränkeaufnahme bleiben bis zum Ende des Klinikaufenthaltes erhalten, lediglich während der Verabreichung des Immunsuppressivums ist der Appetit stark vermindert. Insbesondere der 9jährige Wallach zeigt eine zum Ende des Klinikaufenthaltes zunehmende Bewegungsunlust und Steifheit der Gliedmaßen. Eine deutliche Verbesserung der Hauterkrankung ist zu keinem Zeitpunkt der Behandlung feststellbar. Tageweise erscheinen die klinischen Hautveränderungen zwar gemildert, werden aber von ständigem Wiederaufflammen neuer Läsionen begleitet.

Verlaufsuntersuchungen

Während des 7 bzw. 14 Wochen dauernden Klinikaufenthaltes werden täglich Allgemeinuntersuchungen sowie wiederholt hämatologische Untersuchungen durchgeführt. Zusätzlich werden sporadisch in Serumproben Gesamteiweiß bestimmt sowie Serumelektrophoresen durchgeführt. Hautbiopsien werden zum Ende einer Behandlungsphase bzw. während eines behandlungsfreien Intervalls entnommen (Abb. 3) und histologisch sowie immunhistologisch untersucht. Ebenso wird ausreichend Hautmaterial nach Verenden beider Tiere entnommen. Vor Beginn der Therapie werden Serumproben zur Untersuchung auf zirkulie-

rende Antikörper gegen epidermale Strukturen und zur Untersuchung auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen nukleäre Substanzen gewonnen.

Material und Methode

Histologische Technik: Von den vor Therapiebeginn, während der verschiedenen Behandlungsphasen und nach dem Tode mit einer Hautstanze von 6 mm Durchmesser nach Keynes paarweise entnommenen Hautbiopsien (Abb. 3) einer, teilweise auch zweier Körperlokalisationen wird eine der Proben 24 Stunden in 5%igem gepuffertem Formalin fixiert, dehydriert und in Paraplast eingebettet. Insgesamt 18 Gewebeschnitte aus drei Probenstufen mit je 6 Serienschritten werden angefertigt und mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt. Aus den bei der Zerlegung des Tierkörpers gewonnenen Gewebeproben mehrerer Hautlokalisationen, der mukokutanen Übergänge der Körperöffnungen, des Ösophagus und aller viszeralen Organsysteme sowie des Zentralnervensystems werden im Falle des 9jährigen Pferdes ebenfalls mit Hämatoxylin-Eosin gefärbte Schnittpräparate hergestellt. Bei der Obduktion des 5 Jahre alten Pferdes werden lediglich vier Hautlokalisationen entnommen und histologisch untersucht.

Immunfluoreszenzmikroskopische Technik

In der nachfolgend beschriebenen Immunfluoreszenztechnik erfolgt das Spülen der Objektträger, soweit nicht anders angegeben, je dreimal für die Dauer von 5 Minuten in PBS (pH 7,0 bis 7,2). Zur Auswertung der Fluoreszenzpräparate dient ein Fluoreszenzmikroskop der Fa. Zeiss (Absorptionsmaximum von 495 nm).

1. Nachweis von intraepidermalen Immunglobulinablagerungen (Direkte Immunfluoreszenzmethode)

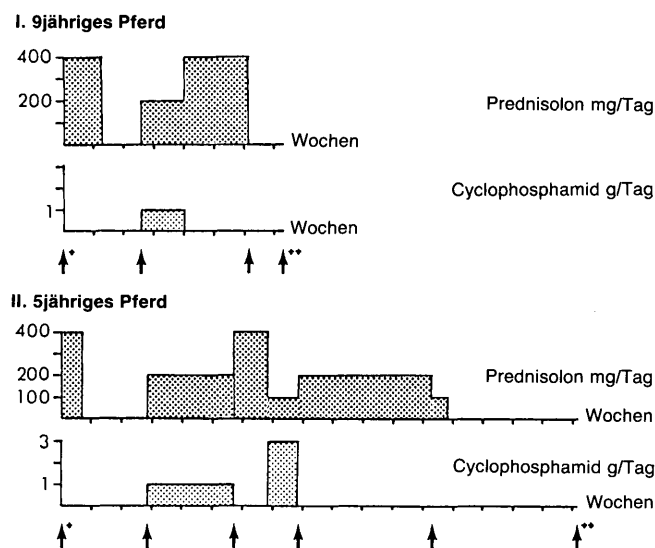


Abb. 3: Schema der Behandlung mit Prednisolon und Cyclophosphamid und der Entnahme der Hautbiopsien (siehe Pfeile). * vor Therapiebeginn, ** zum Zeitpunkt der Obduktion.



Abb. 2: Kaudalansicht des Pferdes mit hochgradig borkig-krustigen Auflagerungen im Bereich des Perineums sowie der medialen Oberschenkel.

Die zweite Hautprobe der gleichen Lokalisation wird 24 Std. in Michels Transportmedium fixiert und anschließend in Michels Puffer gespült. Von insgesamt 32 angefertigten Kryostatserienschnitten wird jeder 4. mit Hilfe der direkten Immunfluoreszenz auf Ablagerungen von Immunglobulin G untersucht. Unter einem warmen Luftstrom trocknen die bei -20 °C aufbewahrten Gewebeschnitte ca. 10 min und werden anschließend in PBS gespült. Nach einer 10minütigen Fixierung in kaltem Aceton werden die Objektträger erneut in PBS gespült. Nun erfolgt eine Inkubation mit Verdünnungen (1:16 und 1:32) eines Kaninchen-anti-Pferd-IgG-FITC (Fa. ICN Biomedicals, Proteingehalt 10 bis 15 mg/ml unverdünnter Substanz) bei 37 °C in einer feuchten Kammer unter Lichtausschluß. Nach Ablauf von 30 Minuten werden die Objektträger in PBS gespült. Eine Hälfte der inkubierten Objektträger wird einer Gegenfärbung mit Evans-Blau (1:40000, 1 min) unterzogen und abschließend nach erneutem Spülen mit PBS mit einem Eindeckmittel (Immunomount, Fa. Shandon) eingedeckt. Ebenso werden Ösophagus und mukokutaner Übergang der Maulhöhle des 9jährigen Pferdes auf Immunglobulin-G-Ablagerungen untersucht.

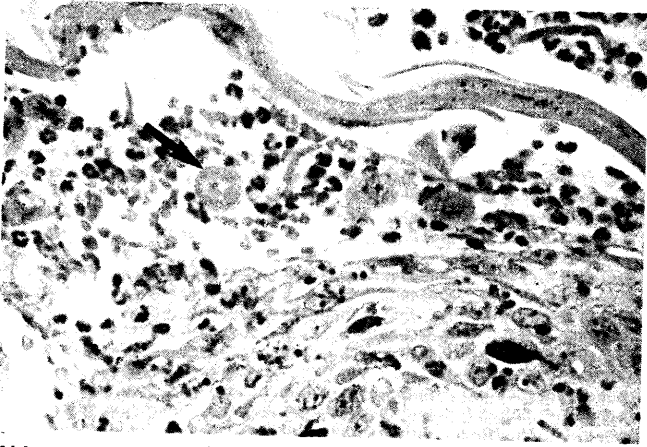


Abb. 4: Subkorneale Blase mit akantholytischen Keratinozyten (Pfeil) und neutrophilen Granulozyten im Blaseninneren. Paraffin, H.-E.-Färbung, Obj.-Vergr. 40 x.

2. Nachweis von antinukleären Antikörpern (Indirekte Immunfluoreszenzmethode)

Der Nachweis antinukleärer Antikörper (ANA) wird an Seren beider Tiere durchgeführt. Dabei werden Punktaustriche von Crithidien, einer humanen Zelllinie (HEP 2) und Zelllinien von Hund, Katze und Schwein verwendet.



Abb. 5: Netzartige Immunfluoreszenz im Interzellularraum der Epidermis (Pfeil), Rotfärbung des oberflächlichen Stratum corneum nach Gegenfärbung mit Evans-Blau. Kryostat, FITC-conj. Kaninchen-anti-Pferde-IgG und Evans-Blau, Obj.-Vergr. 40 x.

Aufgetaute und getrocknete Substratobjektträger werden mit 15 bis 20 μ l Testserum nach Verdünnung mit PBS (1:10) bedeckt und 30 min bei Raumtemperatur in einer feuchten Kammer aufbewahrt. Für die Zeitdauer von dreimal 10 min werden die Objektträger unter leichtem manuellem Schwenken in PBS gespült und anschließend 30 min unter Lichtausschluß in einer feuchten Kammer mit Kaninchen-anti-Pferd-IgG-FITC (Verdünnung 1:10) inkubiert. Dann folgt erneutes Spülen in PBS (dreimal 10 min) und Eindecken mit einem PBS-Glycerin-Gemisch (1:1). Da positive Kontrollseren vom Pferd nicht zur Verfügung stehen, dienen positive und negative Humansenen als Kontrolle.

3. Nachweis von Serumantikörpern gegen epidermale Strukturen (Indirekte Immunfluoreszenzmethode)

Zur Untersuchung auf zirkulierende Autoantikörper gegen Interzellularsubstanzen der Epidermis werden Biopsien normaler Pferdehaut in flüssigem Stickstoff tiefgefroren und zur Herstellung von Kryostatschnitten verwendet. Die getrockneten Objektträger werden vor und nach einer 10minütigen Fixierung in Aceton wie oben angegeben in PBS gespült. Danach erfolgt eine 45minütige Inkubation mit PBS-Verdünnungen der Patientenserum von 1:10 und 1:40 bei 37 °C in einer feuchten Kammer. Kontrollpräparate werden lediglich mit PBS inkubiert. Nach einem Spülvorgang in PBS werden alle Gewebeschnitte mit Kaninchen-anti-Pferd-IgG-FITC in einer Verdünnung von 1:16 und 1:32 mit PBS unter Lichtausschluß bei 37 °C in einer feuchten Kammer für die Dauer von 30 min inkubiert. Abschließend folgt ein erneuter Spülvorgang in PBS und das Eindecken der Präparate (Immunomount, Fa. Shandon).

Ergebnisse

I. Ergebnisse der histopathologischen Untersuchungen

Die Hautbiopsien beider Tiere, die vor Beginn der Therapie entnommen wurden, weisen mittel- bis hochgradige histopathologische Veränderungen auf. Der Epidermis liegt herdförmig Exsudat mit zahlreichen Granulozyten, Akanthozyten und Keratinmaterial auf. Epidermis und Haarbalgepithel erscheinen hyperplastisch; es liegt eine mäßige bis hochgradige, herdförmig parakeratotische Hyperkeratose der Epidermis und oberflächlicher Haarbalgepithelbereiche vor. Die basalen Zellschichten der Epidermis weisen eine ausgedehnte Spongiose auf; der Zellverband der Keratinozyten erscheint hier durch ein interzelluläres Ödem aufgelockert. Im subkornealen Bereich der Epidermis sind vereinzelt intakte Blasen vorhanden, die mit Flüssigkeit gefüllt sind und neutrophile Granulozyten, Erythrozyten und Akanthozyten enthalten (Abb. 4). Ebenso treten eosinophile Granulozyten in den Vesikeln auf. Die angrenzenden basalen Keratinozyten zeigen eine hochgradige Spongiose. Intraepidermale Zellinfiltrate sind insbesondere in der Nähe der akantholytischen Bereiche vorhanden, vereinzelt auch in der intakt erscheinenden Epidermis zu sehen. Gleichartige Veränderungen, nämlich

Spongiose, herdförmige Akantholyse und intraepidermale Infiltrate, werden in den oberflächlichen Bereichen des Haarbalgepithels und im Bereich austretender Haare an der Umschlagstelle zur interfollikulären Epidermis beobachtet. Subepidermal schließen sich Gewebeödematisierung und vorwiegend perivaskulär angeordnete gemischtzellige Infiltrate an, begleitet von Hyperämie und Stase von Plasma und Leukozyten. Insgesamt sind hyperplastische Veränderungen und entzündliche Reaktionen bei dem 9jährigen Pferd als mittel- bis hochgradig zu bewerten, die histopathologischen Veränderungen in der Epidermis des 5jährigen Pferdes sind mittelgradig ausgebildet.

Im Verlauf des Klinikaufenthaltes bleiben die beschriebenen Hautveränderungen beider Pferde bestehen. Bei dem Vergleich der histopathologischen Befunde verschiedener Körperlokalisationen wird deutlich, daß akute und chronische Prozesse gleichzeitig nebeneinander bestehen. Es treten mit zunehmender Tendenz eine irreguläre Hyperplasie und Hyperpigmentierung der Epidermis sowie Stauung der Talgdrüsen auf. Die Entzündungsreaktion reicht in einzelnen Gewebeschnitten bis in das Stratum reticulare der Dermis. Vereinzelt werden Gefäßdilatation, Schwellung von Gefäßendothelien, perivaskuläre Erythrodiapedese und Fibrinextravasation sowie perivaskuläre Melanophagen im Stratum papillare festgestellt. Herdförmig auftretende intraepidermale Mikroabszesse, hydropisch degenerierte Keratinozyten und eine purulente Follikulitis werden ebenso beobachtet.

Bis zum Tode des 9jährigen Tieres hält die Ausbildung von intraepidermalen Blasen an. Im Bereich des mukokutanen Überganges der Maulhöhle erscheint die Epidermis hyperplastisch, insgesamt aber intakt. Im Stratum papillare sind wenige perivaskuläre Lymphozyten zu erkennen.

Histopathologische Veränderungen in weiteren Organsystemen des 9jährigen Tieres bestehen im wesentlichen in einer geringgradigen herdförmigen interstitiellen Nephritis sowie wenigen lymphozytären Infiltraten im Interstitium des Lungenparenchyms und im Ösophagus.

Der 5jährige Wallach wird erst im Zustand fortgeschrittener Autolyse der Zerlegung zugeführt, eine Beurteilung von Organveränderungen ist daher nicht möglich. Die Befunde mehrerer Hautlokalisationen entsprechen weitgehend denen der intravital gewonnenen Hautbiopsien, nur vereinzelt liegen akantholytische Prozesse vor.

II. Ergebnisse der immunfluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen

1. Intraepidermale Ablagerungen von Immunglobulin G
In den vor Therapiebeginn gewonnenen Proben beider Tiere sind herdförmige Immunglobulin-G-Ablagerungen nachweisbar. Sie stellen sich als netzförmiges Fluoreszenzmuster im Bereich der Interzellularräume dar (Abb. 5). Bei dem 9 Jahre alten Wallach beobachtet man wiederholt die Ausbildung von subkornealen Bullae mit fluoreszierenden Epidermiszellen am Blasenrand und freien Akanthozyten. Im Verlauf des Klinikaufenthaltes wiederholte Untersuchungen zeigen das Fortbestehen der charakteristischen intraepidermalen Immunglobulinablagerungen. Bedingt durch die zunehmende Verhornungstendenz in der ober-

flächlichen Epidermis flachen die Keratinozyten ab, hier werden streifige Fluoreszenzen und flach ovale Interzellularmuster beobachtet. Zusätzlich zeigen einige Keratinozyten in den basalen Epidermisschichten eine Fluoreszenz entlang der Zellwand. Das Ausmaß der Ablagerungen bei dem 9jährigen Wallach ist als mittel- bis hochgradig zu bewerten. Das 5 Jahre alte Tier mit weniger ausgeprägten histologischen Veränderungen weist dagegen nur gering- bis mittelgradige Immunglobulinablagerungen auf. In den untersuchten Präparaten schwankt das Ausmaß der Ablagerungen im Verlauf der Therapie geringgradig, eine eindeutige Tendenz zur Verminderung der Immunglobulinablagerungen ist zu keiner Zeit festzustellen.

Postmortal entnommene Gewebeproben des 9 Jahre alten Tieres werden ebenfalls auf intraepidermale Immunglobulinablagerungen untersucht, auch hier wird eine charakteristische Interzellulärfluoreszenz und intraepidermale Blasenbildung in der behaarten Haut beobachtet. Im Epithel des Ösophagus sowie des mukokutanen Überganges der Maulhöhle sind hingegen Ablagerungen von Immunglobulinen nicht nachweisbar.

2. Antikörper gegen nukleäre Substanzen

Anhand der verwendeten humanen und tierischen Zelllinien sowie der Crithidienausstriche können antinukleäre Antikörper in den Seren beider Tiere nicht nachgewiesen werden. Aufgrund des negativen Ergebnisses werden weitere Verdünnungsstufen des zweiten Antikörpers nicht getestet.

3. Serumantikörper gegen epidermale Strukturen

Ebenso verläuft die Untersuchung auf zirkulierende Antikörper gegen epidermale Interzellulärsubstanzen normaler Pferdehaut negativ. Aufgrund des negativen Ergebnisses unterbleibt eine Untersuchung mit höheren Verdünnungen des Patientenserums.

III. Befunde weiterer Laboruntersuchungen

Zum Zeitpunkt des Therapiebeginns zeigt das Blutbild des 9 Jahre alten Pferdes eine Leukozytose mit deutlicher Linksverschiebung sowie eine geringgradig ausgebildete hypochrome Anämie. Im Serum ist der Proteingehalt zunächst erhöht, im weiteren Krankheitsverlauf kommt es zur Normalisierung. Ebenso kehren auch die Erythrozytenwerte zur Norm zurück, das vermehrte Vorkommen jugendlicher Granulozyten bleibt jedoch bestehen. Zusätzlich sind die eosinophilen Granulozyten dauerhaft erhöht. In der CAF-Elektrophorese werden erhöhte Albumin- und Betaglobulinfraktionen deutlich.

Eine konstante Linksverschiebung und leicht schwankende, erhöhte Leukozytenwerte werden bei dem 5jährigen Wallach beobachtet. Die zu Beginn der Behandlung erhöhten Serumproteinwerte normalisieren sich während der Behandlung; gleichzeitig entwickelt sich eine hochgradige Leukopenie. Eine kontinuierlich erhöhte Gammaglobulinfraktion und eine erniedrigte Albuminfraktion sind elektrophoretisch feststellbar.

Diskussion

Die Diagnose eines Pemphigus foliaceus an zwei Pferden mit generalisierten Hautveränderungen basiert auf den klinischen, histologischen und immunfluoreszenzmikroskopischen Ergebnissen. Entscheidend ist hierbei der Nachweis einer subkornealen Blasenbildung mit Akantholyse von Keratinozyten sowie von interzellulären Immunglobulinablagerungen in der Epidermis. Während des Klinikaufenthaltes von 7 bzw. 14 Wochen zeigt keines der Tiere eine Besserung der Hautveränderungen. Zudem verschlechtert sich der Allgemeinzustand kontinuierlich, nach Abbruch der Therapie werden beide Tiere euthanasiert.

Die Ätiologie und Pathogenese des Pemphigus ist bis heute nur unvollständig geklärt. Autoantikörper, die in erster Linie der Immunglobulin-G-Klasse angehören, reagieren mit Antigenen, die in der Interzellulärsubstanz oder auf der Zelloberfläche der Epidermiszellen lokalisiert sind. Neuere Untersuchungen weisen darauf hin, daß Pemphigusantigene der verschiedenen Formen des Pemphigus heterogen sind, möglicherweise existieren verschiedene antigene Moleküle oder verschiedene antigene Determinanten eines Moleküls. Beim Pemphigus foliaceus ist Desmoglein I, ein 160-kd-core-Glykoprotein der Desmosomen, identifiziert worden (Stanley et al., 1986). Die Antikörperbindung induziert durch Freisetzung von zellulären Proteasen die Lockerung und Auflösung des Zellverbandes (Akantholyse); dies führt zu einem interzellulären Ödem mit nachfolgendem Zelltod (Morenz, 1986). Ultrastrukturell sind Veränderungen im Bereich der Desmosomen nachgewiesen worden (Barnett, 1978). Als sekundäre Alterationen werden Veränderungen des Zytoskelettes der Keratinozyten beschrieben (Kitajima et al., 1986).

Die Ursache der Bildung von Autoantikörpern, soweit es für den Menschen bekannt ist, liegt vermutlich in einem Defekt der Immunregulation; das gehäufte gleichzeitige Auftreten anderer Immunerkrankungen gibt einen Hinweis hierauf (Namba et al., 1973). Ebenso ist bekannt, daß eine Reihe von Medikamenten und Verbrennungen eine dem Pemphigus ähnliche Erkrankung induzieren können (Kaplan und Callen, 1983).

Für das Pferd sind differentialdiagnostisch insbesondere parasitär und mikrobiell bedingte Dermatitiden, Dermatomykosen, Dermatophilose, Seborrhöe, Hypersensitivitäts- und Unverträglichkeitsreaktionen sowie die Photodermatitis auszuschließen.

Im Gegensatz zu verschiedenen Pemphigusformen, die bei Hund und Katze vorkommen, ist beim Pferd mit Ausnahme eines Falles eines vermuteten bullösen Pemphigoids (Manning et al., 1981) nur der Pemphigus foliaceus nachgewiesen worden. In den 15 beschriebenen Fällen liegt eine Alters- oder Geschlechtsdisposition vermutlich nicht vor (Johnson et al., 1981; Peter et al., 1981; Messer und Knight, 1982; Power et al., 1982; Rothwell et al., 1985; Griffith, 1987; Scott et al., 1987). Aufgrund dieser wenigen Fallberichte des Pemphigus foliaceus beim Pferd kann unseres Erachtens die mögliche Disposition bestimmter Pferderassen nicht beurteilt werden. Eine Rassedisposition für den Pemphigus foliaceus beim Hund wird dagegen von einigen

Autoren diskutiert (Ibrke et al., 1985). Scott et al. (1987) sowie Mullooney (1985) vermuten ebenso bei dem Appaloosapferd eine genetische Disposition.

Bezüglich der zuerst betroffenen Hautlokalisationen können nur für das 5-jährige Pferd Kruppe und Hals aus den Angaben zum Vorbericht genannt werden. Hierzu wird von bisher bekannten Fällen berichtet, daß die Veränderungen zunächst im Bereich des ventralen Abdomens und der Gliedmaßen auftreten und sich dann fortschreitend auf den gesamten Körper ausbreiten sollen (Griffith, 1987; Johnson et al., 1981; Manning und Sweeney, 1986). In einem weiteren Fall stellen Rothwell et al. (1985) erste Anzeichen im Bereich der Sattellage fest.

Bei der histologischen Untersuchung wird deutlich, daß die akantholytischen Prozesse sich bis auf den Umschlagbereich der austretenden Haare ausdehnen. Vereinzelt wird ebenso eine akute Follikulitis beobachtet. Diese Befunde stimmen mit den bei Hunden und Katzen auftretenden Veränderungen des Pemphigus foliaceus überein (Scott et al., 1980). Das Auftreten oraler Läsionen ist eher untypisch für den Pemphigus foliaceus, lediglich in einem Fall ist eine Beteiligung der Schleimhäute beim Pferd beschrieben worden (Johnson et al., 1981).

Während gemäß unseren Befunden intakte Blasen im histologischen Präparat wiederholt und bis zum Tode darstellbar sind, gelingt der Nachweis bei Hund und Katze eher selten. Hier kann ein Zusammenhang mit der insgesamt dünneren Haut bei den beiden kleinen Spezies bestehen, vermutlich kommt es innerhalb weniger Stunden nach Auftreten der Akantholyse zur Ruptur. Möglicherweise verhindert die Epidermis des Pferdes das Zerreißen des oberen Blasenrandes. In den von uns beobachteten Fällen kann eine klinisch sichtbare Blasenbildung auch nach Diagnosestellung und histologisch nachgewiesener Blasenbildung nicht bestätigt werden. Dagegen berichten Scott (1983) sowie Manning und Sweeney (1986) von einer auch klinisch sichtbaren Blasenbildung bei einem Pferd. Nach Mullooney (1985) kann eine Blasenbildung lediglich im Frühstadium der Erkrankung beobachtet werden.

Übereinstimmend mit unseren Ergebnissen gelingt es Scott et al. (1987), intraepidermale Immunglobulinablagerungen bei 7 von 9 Pferden mit Pemphigus foliaceus darzustellen. Es ist zu betonen, daß die Ergebnisse der Immunfluoreszenzuntersuchung unter Berücksichtigung der klinischen und histopathologischen Befunde zu bewerten sind, da interzelluläre Ablagerungen ebenso in akuten Stadien nichtpemphigoider Hauterkrankungen und in normaler, gesunder Pferdehaut auftreten können (Scott et al., 1984). Bei der Untersuchung auf Immunglobulinablagerungen geht man davon aus, daß die Behandlung mit Kortikosteroiden die Deposition von Immunglobulinen unterdrückt. Aus diesem Grunde sollte der behandlungsfreie Zeitraum bis zu einer Probenentnahme mindestens drei Wochen betragen. Erstaunlicherweise zeigen aber die wiederholten Untersuchungen jeweils zum Ende der Therapiephasen, daß der erwünschte Behandlungserfolg bei beiden Tieren ausbleibt, d. h. keine deutliche Verminderung von Immunglobulinablagerungen festzustellen ist. Übereinstimmend

hierzu können *Power et al.* (1982) in einem Fall eines equinen Pemphigus nach wiederholter Behandlung mit Goldpräparaten in Hautregionen mit anhaltenden akuten Läsionen persistierende intraepidermale Immunglobulinablagerungen zeigen.

In unseren Untersuchungen lagen zirkulierende Serumantikörper gegen epidermale Strukturen nicht vor. Im Gegensatz dazu gelingt es *Scott et al.* (1987), mit Hilfe der indirekten Immunfluoreszenzmethode Serumantikörper bei 5 von 9 Pferden mit Pemphigus foliaceus darzustellen. Die Aussagekraft dieses Testverfahrens ist jedoch limitiert, da sowohl bei anderen Erkrankungen als auch bei gesunden Tieren positive Antikörpertiter auftreten können und im Gegensatz zum Menschen eine Korrelation von Titerhöhe und Schwere der Erkrankung nicht bekannt ist.

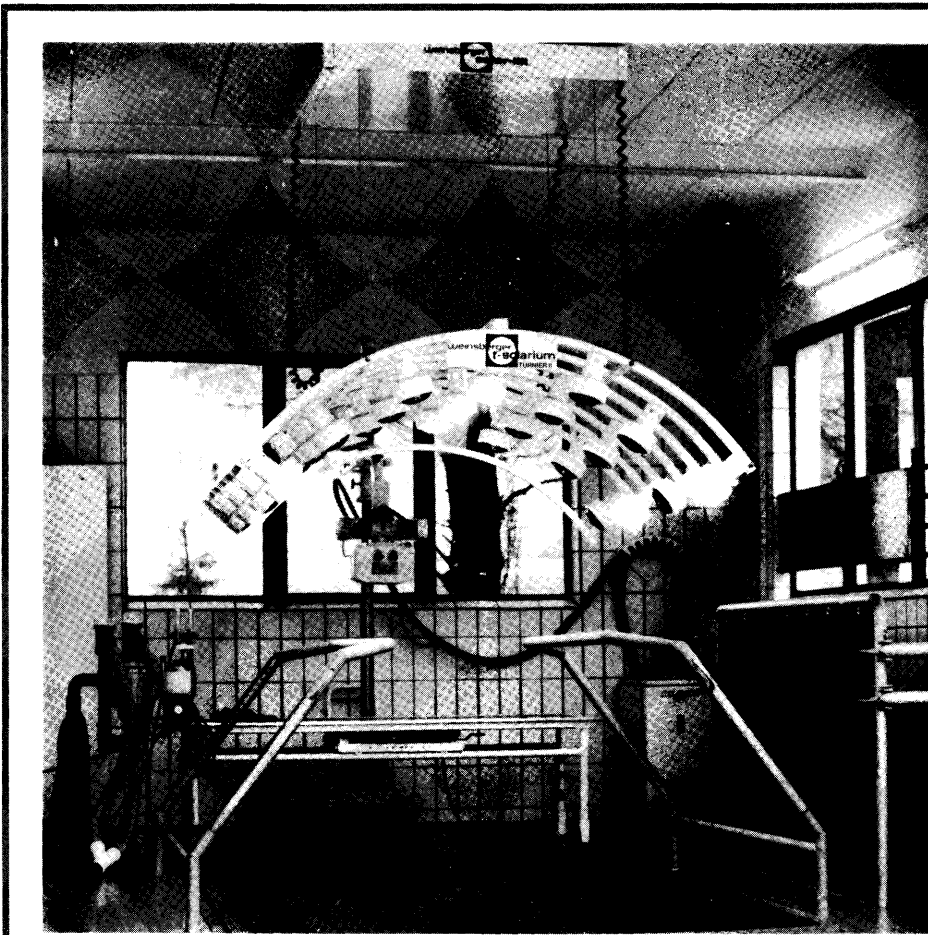
Während wir Serumantikörper gegen nukleäre Substanzen nicht ermitteln können, weisen *Scott et al.* (1987) bei 2 von 9 untersuchten Pferden mit Pemphigus foliaceus antinukleäre Antikörper mit einem niederen Titer von 1:4 nach.

In den hier beschriebenen Fällen stimmen der Grad der histomorphologischen und die Intensität der Immunglobulinablagerungen weitgehend überein. Die Erfahrungen in der Diagnostik von autoimmunen Hauterkrankungen bei Hund und Katze zeigen an einem großen Untersuchungsgut, daß eine Aussage zur Prognose meist nicht möglich ist. Die vorliegenden Ergebnisse der Blut- und Serumuntersu-

chungen geben nur unspezifische Hinweise auf das Vorliegen eines chronisch entzündlichen Prozesses. In den Schrifttumsangaben variieren die Befunde erheblich. Wiederholt werden bei Pferden mit Pemphigus foliaceus anämische Zustände beschrieben, die vermutlich auf einer Suppression der Erythropoese beruhen. Eine Leukozytose und eine Neutrophilie unreifer Granulozyten treten gehäuft auf. Ebenso werden erhöhte Globulinfractionen, insbesondere der Gammaglobuline, und Hypoalbuminämie im Serum beobachtet (*Scott et al.*, 1987; *Johnson et al.*, 1981; *Griffith*, 1987; *Manning und Sweeney*, 1986; *Peter et al.*, 1981).

Von den bisher bekannten 15 Fällen eines Pemphigus foliaceus beim Pferd weiß man, daß eine deutliche Remission der Krankheitssymptome nach intensiver Therapie bei nur 50 Prozent auftrat. Anhand der hier vorgestellten Fälle wird deutlich, daß es sich um eine schwerwiegende Allgemeinerkrankung handelt, deren Prognose trotz Therapie bisher ungünstig ist.

Aufgrund der wiederholten Entnahme von Hautbiopsien mit vergleichender Betrachtung mehrerer Körperlokalisationen, der Anfertigung von Serienschritten aller Gewebeproben und der gleichzeitigen immunhistologischen Untersuchungen ist es möglich gewesen, in der Diagnosestellung eine hohe Sicherheit zu erreichen. Dieser Aufwand entspricht sicher nicht den üblichen Bedingungen in Praxis



WEINSBERGER Tier- Besonnungs- anlagen

vielfältige Einsatzmöglichkeiten in der tierärztlichen Praxis: zur Unterstützung verschiedener Therapien, postnarkotisch und zur Vorbereitung der Diagnose.

weinsberger



ein Unternehmen der
STENDEL-GRUPPE

D-7102 Weinsberg
Ruf (07134) * 40 11
Telex 07 28 519

und diagnostischem Labor. Dennoch erscheint bei langdauernden, therapieresistenten Hauterkrankungen ein hoher Aufwand in der Diagnostik gerechtfertigt.

Literatur

- Barnett, M.L. (1978): Effect of pemphigus antibodies on desmosomal structure in vitro. *J. Invest. Dermatol.* 70, 141-142.
- Griffith, G. (1987): Pemphigus foliaceus in a Welsh Pony. *Comp. Cont. Ed. Pract. Vet.* 9, 347-353.
- Ihrke, P.J., Stannard, A.A., Ardans, A.A., und Griffin, C.E., (1985): Pemphigus foliaceus in dogs - A review of 37 cases. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 186, 59-66.
- Jackson, P.G.G., Lloyd, S., und Jefferies, A.R. (1984): Pemphigus foliaceus in a goat. *Vet. Rec.* 114, 479.
- Johnson, M.E., Scott, D.W., Manning T.O., Smith, C.A., und Lewis, R.M. (1981): Pemphigus foliaceus in a horse. *Equine Pract.* 3, 40-45.
- Kaplan, R.P. und Callen, J.P. (1983): Pemphigus associated diseases and induced pemphigus. *Clin. Dermatol.* 1, 42-71.
- Kitajima, Y., Jnoue, S., und Yaoita, H. (1986): Effects of pemphigus antibody on the organization of microtubules and keratin-intermediate filaments in cultured human keratinocytes. *Br. J. Dermatol.* 114, 171-179.
- Manning, T.O. und Sweeney, C. (1986): Immune-mediated equine skin diseases. *Comp. Cont. Ed. Pract. Vet.* 8, 979-986.
- Manning, T.O., Scott, D.W., Rebhuhn, W.C., Smith, C.A., und Lewis, R.M. (1981): Pemphigus-pemphigoid in a horse. *Equine Pract.* 3, 38-44.
- Messer, N.T. und Knight, A.P. (1982): Pemphigus foliaceus in a horse. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 180, 938-940.
- Morenz, J. (1986): Pathogenetische Mechanismen bei Autoimmunkrankheiten. *Z. Ges. Inn. Med.*, 41 (17), 469-473.
- Muldowney, P.C. (1985): Dermatologic diseases of horses. Part V. Allergic, immune-mediated, and miscellaneous skin diseases. *Comp. Cont. Ed. Pract. Vet.* 7, 4, S217-S228.
- Namba, T., Brunner, N.G., und Grob, D. (1973): Association of myasthenia gravis with pemphigus vulgaris, candida albicans infection, polymyositis and myocarditis. *J. Neurol. Sci.* 20, 231-242.
- Peter, J.E., Morris, P.G., und Gordon, B.J. (1981): Pemphigus in a thoroughbred. *Vet. Med.* 76, 1203-1206.
- Power, H.T., Mc Evoy, E.O., und Manning, T.O. (1982): Use of a gold compound for the treatment of pemphigus foliaceus in a foal. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 180, 400-403.
- Rosenberg, D.P., de Villetz, R.L., und Gleiser, C.A. (1987): Pemphigus vulgaris in a baboon. *Lab. Anim. Sci.* 37, 489-491.
- Rothwell, T.L.W., Merritt, G.C., Middleton, D.J. und Rose, R.J. (1985): Possible pemphigus foliaceus in a horse. *Aust. Vet. J.* 62, 429-430.
- Scott, D.W. (1983): Pemphigus in domestic animals. *Clin. Dermatol.* 1, 141-152.
- Scott, D.W. (1988): Immunologic diseases. In Scott, D.W.: Large animal dermatology. W.B. Saunders Company, Philadelphia, London, Toronto, 284-333.
- Scott, D.W., Wolfe, M.J., Smith, C.A. und Lewis, R.M. (1980): The comparative pathology of non-viral bullous skin diseases in domestic animals. *Vet. Pathol.* 17, 257-281.
- Scott, D.W., Walton, D.K., Smith, C.A., und Lewis, R.M. (1984): Pitfalls in immunofluorescence testing in dermatology. III. Pemphigus like antibodies in the horse and direct immunofluorescence testing in equine dermatophilosis. *Cornell Vet.* 74, 305-311.
- Scott, D.W., Walton, D.K., Slater, M.R., Smith, C.A., und Lewis, R.M. (1987): Immune-mediated dermatoses in domestic animals: Ten years after. Part I. *Comp. Cont. Ed. Pract. Vet.* 9, 424-435.
- Stanley, J.R., Koulu, L., Klaus-Kovtun, V., und Steinberg, M.S. (1986): A monoclonal antibody to the desmosomal glycoprotein desmoglein I binds the same polypeptide as human autoantibodies in pemphigus foliaceus. *J. Immunol.* 136, 1227-1230.

Die Autoren danken Herrn Dr. B. Kuszewski, Arbeitsgruppe Immunologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover, für die technische Hilfestellung bei der Durchführung des ANA-Testes.

Dr. Agnes Schulte
Institut für Pathologie
Tierärztliche Hochschule Hannover
Bischofsholer Damm 15
D-3000 Hannover 1

Kurzreferat

Einsatzmöglichkeiten des Embryotransfers beim Pferd

(Embryo transfer in mares)

J. Braun und W. Leidl (1988)

Tierärztl. Umschau 43, 410-413

Am Beispiel von zwei erfolgreichen Embryoübertragungen erläutern die Autoren die Einsatzmöglichkeiten dieser

Technik. Neben der Möglichkeit, durch dieses Verfahren von züchterisch wertvollen, aber hinsichtlich der Fertilität eingeschränkten Stuten Nachkommen zu gewinnen, ist es auch realisierbar, von gesunden Stuten zusätzliche Fohlen zu erzeugen. Beides sind züchterisch sehr interessante Aspekte. Die hier angewandte unblutige transzervikale Gewinnungs- und Übertragungstechnik kann durchaus mit Erfolg eingesetzt werden. Für den Erfolg von vorrangiger Bedeutung erscheinen den Autoren die Zyklussynchronität von Spender- und Empfängerstute, das Entwicklungsstadium des Embryos, Manipulationen ohne störende Einwirkungen sowie der Fruchtbarkeitsstatus der Empfängerstute.

H. D. Lauk