

Funktionstest der equinen Nebennierenrinde

H.-J. Klein¹, E. Deegen¹, Hedwig Hoogen² und H.-O. Hoppen²

¹ Klinik für Pferde
(Vorsteher: Prof. Dr. E. Deegen)

² Abteilung für Endokrinologie im Chemischen Institut
der Tierärztlichen Hochschule Hannover

Einleitung

Die Nebennierenrinde kann sowohl eine Insuffizienz als auch eine Überfunktion aufweisen. Eine primäre Nebennierenrindeninsuffizienz wurde beim Pferd bisher erst einmal beschrieben (Evans et al., 1968). Im Gegensatz dazu tritt die iatrogene Nebennierenrindeninsuffizienz wesentlich häufiger auf (Kirk, 1974). Die iatrogene Nebennierenrindeninsuffizienz entsteht als Folge einer Glukokortikoidtherapie, denn exogene Glukokortikoide supprimieren die Nebennierenrinde und können bei wiederholter Applikation auch zu einer Atrophie der Nebennierenrinde führen (MacHarg et al., 1985).

Eine Überfunktion der Nebennierenrinde infolge eines Nebennierentumors tritt beim Pferd selten auf (Raker und Fegley, 1965). Häufiger dagegen bedingen Hypophysentumore eine Überfunktion der Nebennierenrinde beim Pferd, dabei handelt es sich überwiegend um Adenome des Hypophysenzwischenlappens (Urman et al., 1963; Loeb et al., 1966; Gribble, 1972; Orth et al., 1982; Allen et al., 1988). Diese Adenome produzieren vermehrt ACTH, das dann zu einer Erhöhung der Plasma-Kortisolkonzentration führt.

Die bisher veröffentlichten Plasma-Kortisolkonzentrationen beim Pferd weisen große Unterschiede auf (Tab. 1). Die Mittelwerte liegen zwischen 6,4 und 144,0* ng Kortisol/ml Plasma. Die Plasma-Kortisolkonzentration gesunder un behandelter Pferde hängt von zahlreichen Faktoren ab, dazu zählen der Trainingszustand (Hoffsis et al., 1970; Persson et al., 1980) und die Tageszeit (Zolovick et al., 1966; Bottoms et al., 1972; Evans et al., 1977; Glardon und Schatzmann, 1982; Toutain et al., 1988). Außerdem hat die Bestimmungsmethode des Kortisols großen Einfluß auf die gemessenen Werte. Die Mehrzahl der Untersucher benutzte einen Radioimmunoassay oder eine kompetitive Proteinbindungsmethode. Eiler et al. (1980) fanden bei einem Vergleich dieser beiden Methoden große Unterschiede, wegen der größeren Spezifität des Radioimmunoassays lagen die damit gemessenen Werte wesentlich niedriger.

Zusammenfassung

Die Funktion der Nebennierenrinde wurde an Hand eines ACTH-Stimulationstests bei 5 adulten Pferden und 2 Jungtieren untersucht. Dazu wurden zwischen 30 min vor und 480 min nach der intravenösen Applikation von 0,2 I.E. ACTH/kg Körpergewicht insgesamt 13 Blutproben entnommen (ACTH-Test). Zur Kontrolle erhielten alle Pferde bei gleichem Blutentnahmeschema an einem anderen Tag anstelle von ACTH eine sterile, isotonische NaCl-Lösung injiziert. Die mittlere Plasma-Kortisolkonzentration stieg während des ACTH-Tests von 59,2 (-30-min-Wert) auf 133,0 ng/ml (90-min-Wert). Gegenüber der Kontrolle waren die 15-min-, 30-min-, 60-min-, 90-min-, 120-min- und 180-min-Werte signifikant erhöht ($p < 0,01$). Die beiden Jungtiere zeigten ähnliche Verläufe der Plasma-Kortisolkonzentration, allerdings lagen alle Werte deutlich unter den entsprechenden Werten der adulten Pferde.

Adrenocortical function test in the horse

Adrenocortical function was tested by the means of an ACTH stimulation test in 7 normal horses, 5 adults and 2 young animals. Blood samples were drawn between 30 min before and 480 min after intravenous application of 0.2 I.U. ACTH/kg of bodyweight (ACTH test). On different days the same animals were bled as in the ACTH test after intravenous application of normal saline instead of ACTH (controls). During ACTH test the mean plasma cortisol concentration increased from 59,2 (-30 min-value) to 133,0 ng/ml (90 min-value). Compared to the controls the 15 min-, 30 min-, 60 min-, 90 min-, 120 min-, and 180 min-values were significantly elevated ($p < 0,01$). The 2 young animals showed similar plasma cortisol concentrations, although all values were markedly lower compared to those of the adult horses.

Beim Menschen können wegen stark episodischer Kortisolsekretion und der ausgeprägten Tagesrhythmik einzelne Plasmakortisolbestimmungen nicht zur sicheren Diagnose endokriner Störungen herangezogen werden (Müller, 1978). Der ACTH-Test ist die wichtigste Funktionsprüfung der Nebennierenrinde und für die Diagnose einer Nebennierenrindeninsuffizienz unumgänglich. Eine besondere Bedeutung dieses Tests besteht darin, den Grad der Nebennierenrindensuppression durch exogene Glukokortikoide zu überprüfen.

ACTH-Tests sind beim Pferd wiederholt durchgeführt worden, dabei wurde ACTH entweder intravenös oder intramuskulär appliziert (Tab. 2). Infolge der abweichenden Testmethoden unterschieden sich die Ergebnisse zum Teil deutlich. In dieser Arbeit wurde die Funktion der Nebennierenrinde mittels ACTH-Stimulation bei 7 Pferden unter standardisierten Bedingungen getestet.

Eigene Untersuchungen

Material und Methode

Die Untersuchung wurde während der Monate März und April an 5 adulten Pferden und 2 Jungtieren durchgeführt. Angaben zum Geschlecht, zur Rasse, zum Körpergewicht und zum Alter der Tiere sind in Tab. 3 enthalten. Die im Besitz der Klinik für Pferde der Tierärztlichen Hochschule Hannover befindlichen Tiere wurden alle seit mehreren Monaten in Einzelboxen gehalten. Die Fütterung bestand überwiegend aus Heu und täglich zwei kleinen Haferrationen. Keines der Pferde zeigte eine Störung des Allgemeinbefindens.

* Die Autoren haben keine Werte angegeben, die Werte wurden an Hand der Abbildungen geschätzt.

Tab. 1: Plasma-Kortisolkonzentrationen beim Pferd, die in abweichenden Einheiten angegebenen Werte wurden in ng/ml umgerechnet (RIA = Radioimmunoassay, CPB = Competitive Protein Binding method, HPLC = High Performance Liquid Chromatography, * = Autoren haben keine Werte angegeben, Werte wurden anhand der Abbildungen geschätzt, k. A. = keine Angaben)

Autor	n	Kortisol ($\bar{x} \pm SD$) (ng/ml Plasma)	Nachweis- methode	Bemerkungen
(1) Baker et al. 1982	7	6,4 \pm 1,6	RIA	Wallache
(1) Baker et al. 1982	8	9,1 \pm 1,1	RIA	Stuten
(2) Nathanielsz et al. 1975	6	15,9 \pm 1,7	CPB	
(1) Baker et al. 1982	11	23,8 \pm 4,2	RIA	Hengste
(3) Wiest et al. 1988	10	30,0*	RIA	Hengste
(1) Baker et al. 1982	6	30,6 \pm 10,7	RIA	gestreßte Hengste
(4) Hoffsis und Murdick 1970		41,3 \pm 22,3	CPB	
(5) Larsson et al. 1979	4	42,0 \pm 20,0	CPB	
(6) Toutain et al. 1988	6	42,8 \pm 6,2	HPLC	
(7) Allen et al. 1988	8	43,0 \pm 20,0	k. A.	
(8) Eiler et al. 1980	15	43,3 \pm 9,3	RIA	Parallelmessung s. u.
(9) Beech und Garcia 1985	12	48,4 \pm 13,9	RIA	
(10) Petazzi et al. 1983	10	49,4 \pm 19,0	RIA	
(11) Church et al. 1987	6	50,4 \pm 5,1	RIA	untrainierte Pferde
(12) Guthrie et al. 1980	25	51,1 \pm 4,0	RIA	Vollblüter
(13) Hoffsis et al. 1970	92	51,2 \pm 16,7	CPB	
(14) Orth et al. 1982	10	53,0 \pm 8,0	RIA	
(15) Persson et al. 1980	8	53,2 \pm 14,5	RIA	untrainierte Pferde
(16) Autefage et al. 1986	5	57,2 \pm 8,2	HPLC	
(17) Schierz 1988	50	58,2 \pm 21,6	RIA	
(11) Church et al. 1987	6	58,7 \pm 5,8	RIA	trainierte Pferde
(18) Glardon und Schatzmann 1982	51	63,4 \pm 23,0	RIA	
(19) Snow und Rose 1981	17	63,8 \pm 5,4	RIA	
(20) James et al. 1970	20	71,5 \pm 16,0	fluorimetrisch	Vollblüter
(20) James et al. 1970	60	71,6 \pm 20,0	fluorimetrisch	Ponys
(14) Persson et al. 1980	16	72,0 \pm 13,1	RIA	Pferde im Training
(21) Toutain et al. 1984	6	73,0 \pm 11,2	HPLC	
(22) Snow und Munro 1975	33	81,2 \pm 16,3	fluorimetrisch	
(23) Eiler et al. 1979 a	4	84,0 \pm 11,0	CPB	
(23) Eiler et al. 1979 b	4	85,0 \pm 19,0	CPB	
(23) Eiler et al. 1979 b	3	86,0 \pm 2,0	CPB	
(8) Eiler et al. 1980	4	95,0 \pm 49,0	CPB	
(24) Eiler et al. 1979 b	3	110,0 \pm 20,0	CPB	
(25) Flisinska-Bojanowska et al. 1974	6	112,0 \pm 18,0	fluorimetrisch	Stuten
(25) Flisinska-Bojanowæska et al. 1974	6	126,0 \pm 21,0	fluorimetrisch	Hengste
(26) Bottoms et al. 1972	4	137,0 \pm 4,0	Radioassay	Stuten
(8) Eiler et al. 1980	15	138,4 \pm 30,9	CPB	Parallelmessung s. o.
(27) MacHarg et al. 1985	12	144,0*	CPB	

Tab. 2: Nebennierenrinden-Stimulation durch ACTH-Applikation beim Pferd (* = Autoren haben keine Werte angegeben, Werte wurden an Hand der Abbildungen geschätzt; k. A. = keine Angaben; die in abweichenden Einheiten angegebenen Werte wurden in ng/ml umgerechnet)

Autor	Präparat	Appl.	n	Dosierung	Maximum (Std.)	Ausgangswert (ng/ml)	Maximum (ng/ml)	Anstieg um (%)
(1) Hoffsis et al. 1970	ACTH	iv	2	10 I.E.	0,5	34,0*	88,0*	159
	ACTH	iv	2	50 I.E.	0,5	44,0*	122,0*	177
	ACTH	iv	5	100 I.E.	2-4	31,0*	116,0*	274
	ACTH	iv	2	500 I.E.	2	34,0*	144,0*	324
	ACTH	im	2	100 I.E.	4-6	54,0*	132,0*	144
	ACTH-Gel	im	2	100 I.E.	8	33,0*	107,0*	224
	ACTH-Gel	im	2	500 I.E.	8	64,0*	197,0*	208
(2) Hoffsis und Murdick 1970	ACTH-Gel	im	13	500 I.E.	8	41,3	153,0	270
	ACTH-Gel	im	k. A.	1,0 I.E./kg	8	k. A.	k. A.	100-200
(3) Gribble 1972	ACTH	iv	k. A.	1,0 I.E./kg	2	k. A.	k. A.	100-200
(4) James et. al 1970	ACTH-Gel	im	1	200 I.E.	k. A.	50,0*	153,0*	206
(5) Snow und Munro 1975	Synacthen	im	8	100 I.E.	2	74,2*	153,6*	107
(6) Larsson et al. 1979	Depot-ACTH	im	4	150 I.E.	2-4	50,0	140,0	180
	Depot-ACTH	im	1	300 I.E.	5	83,0	163,0	96
(7) Eiler et al. 1979 b	Cosyntropin	iv	3	100 I.E.	2	110,0	198,0	80
	ACTH-Gel	im	3	200 I.E.	4	86,0	219,0	155
(8) Persson et al. 1980	Depot-ACTH	im	8	150 I.E.	4	53,2	137,3	158
	Depot-ACTH	im	16	150 I.E.	4	72,0	150,8	109
(9) Glardon und Schatzmann 1982	ACTH-Gel	im	8	200 I.E.	3	52,0	140,0	169
(10) Toutain et al. 1984	ACTH	iv	6	50 I.E.	1-2	73,0	138,0	89
(11) MacHarg et al. 1985	ACTH-Gel	im	6	1,0 I.E./kg	4	144,0	309,0	115
(12) Autefage et al. 1986	ACTH	iv	5	50 I.E.	1	64,0	107,0	67
(13) Church et al. 1987	ACTH-Gel	im	6	160 I.E.	6	50,4	138,1	174
(13) Church et al. 1987	ACTH-Gel	im	6	160 I.E.	6	58,7	140,6	140
(14) Allen et al. 1988	ACTH	im	8	200 I.E.	k. A.	43,0	142,0	246
(15) Ralston et al. 1988	ACTH	im	1	200 I.E.	7	17,0-63,0	116,0	k. A.
(16) Wiest et al. 1988	ACTH	iv	5	0,2 I.E./kg	2	30,0*	72,0*	140

Tab. 3: Angaben zu den untersuchten Pferden

Nr.	Geschlecht	Rasse	Körpergewicht (kg)	Alter (Jahre)
1	Wallach	Hannoveraner	520	14
2	Stute	Warmblüter	450	8
3	Stute	Hannoveraner	502	6
4	Stute	Kleinpferd	302	12
5	Stute	Kleinpferd	432	14
±			441,2	10,8
6	Wallach	Hannoveraner	380	2
7	Wallach	Hannoveraner	297	1
±			338,5	1,5

Bei jedem Pferd wurden zwei Tests unabhängig voneinander durchgeführt. Dazu wurde jeweils um 8.30 Uhr eine Dauerkanüle¹ in eine der beiden Jugularvenen eingeführt und mit einem Hautheft fixiert. Zu folgenden Zeitpunkten wurden Blutproben von jeweils 4 ml entnommen: -30 (8.30 Uhr), 0, 15, 30, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360, 420 und 480 min. Im Anschluß an jede Blutentnahme wurde die Dauerkanüle mit 2 ml einer Heparinlösung gespült, zum Herausspülen dieser Heparinlösung wurden bei jeder Blutentnahme einige ml Blut verworfen. Die Blutproben wurden zur Plasmagewinnung nach der Entnahme 10 min lang bei 3000 Umdrehungen pro min zentrifugiert, und das Plasma wurde bei minus 20 Grad Celsius bis zur Bestimmung der Kortisolkonzentration aufbewahrt.

Den Probanden wurde unmittelbar nach Entnahme der Null-min-Probe (9.00 Uhr) entweder 0,2 I.E. ACTH/kg Körpergewicht (ACTH-Test) oder sterile, isotonische NaCl-Lösung gleichen Volumens (Kontrolle) langsam intravenös appliziert. Das ACTH-Präparat² enthält 30 I.E. Corticotropin A pro ml Injektionslösung. Bei 5 Pferden (Nr. 1, 2, 3, 6 und 7) wurde die Kontrolle 14 Tage nach dem ACTH-Test und bei 2 Pferden (Nr. 4 und 5) 1 Tag vor dem ACTH-Test durchgeführt. Die Kortisolkonzentrationen wurden mit einem Radioimmunoassay bestimmt.

Kortisol-Radioimmunoassay

Plasmaproben (0,5 bis 2 µl) wurden nach Verdünnen mit 0,143 ml/l NaCl (10 µl) mit Essigsäureethylester (1 ml, 30 min schütteln) extrahiert. Die organische Phase wurde dekantiert und eingedampft. Der Trockenrückstand wurde in 100 µl Puffer (10 mmol/l EDTA, 10 mmol/l NaH₂PO₄, 1 g/l Lysozym, pH 7,2) aufgenommen und mit 100 µl Antiserum (Anti-Cortisol-3-[CMO]-BSA aus Kaninchen, Endverdünnung im Assay 1:9000) und 100 µl ³H-Cortisol (10 nCi [1, 2, 6, 7-³H]-Cortisol, 80,4 Ci/mmol, DuPont de Nemours, Dreieich) über Nacht inkubiert. Freies Hormon wurde mit Aktivkohle (0,5 ml Suspension von 2 mg Separex®, Steranti, in Puffer) abgetrennt. Antikörpergebundenes Hormon wurde in 4 ml einer Szintillatormischung (53 % Xylofluor, 19 % Triton X100, 28 % Ethanol) aufgenommen und im Flüssigszintillationszähler (LKB 1209,

Tab. 4: Kreuzreaktion des Kortisol-Antikörpers

Kortisol	100 %
Kortison	71 %
11-Desoxykortisol	39 %
Korticosteron	5 %
17α-Hydroxyprogesteron	1,3 %
11-Desoxykorticosteron	0,6 %
Progesteron	0,2 %
Aldosteron	0,04 %
Testosteron	0,03 %
Andostendion	0,03 %
Pregnenolon	0,03 %
Östradiol	<0,01 %
Östron	<0,01 %

Pharmacia Freiburg) gemessen. Die Auswertung erfolgte mit der RiaCalc Software (LKB). Qualitätskriterien: Empfindlichkeit 4 ng/ml, Inter-Assay VK 10,9 %, Intra-Assay VK 9,2 %. Die Spezifität des Antiserums ist in Tab. 4 aufgelistet.

Statistische Auswertung

Die Daten der 5 adulten Pferde wurden statistisch mittels zweifaktorieller Varianzanalyse (Faktoren: Testlösung und Zeit) und anschließendem Vergleich der Mittelwerte der jeweils gleichen Zeitpunkte nach Tukey mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 1 % getestet ($p < 0,01$). Für die 2 Jungtiere wurden wegen der geringen Anzahl lediglich die arithmetischen Mittelwerte für die einzelnen Meßzeitpunkte berechnet.

Außerdem wurde die Abhängigkeit der Kontrollwerte aller 7 Pferde von der Tageszeit geprüft. Dazu wurden die Mittelwertdifferenzen jeweils zum -30-min-Wert (8.30 Uhr) mittels Student's t-Test für gepaarte Stichproben auf statistische Signifikanz getestet.

Ergebnisse

Die Plasma-Kortisolkonzentrationen sind in den Tab. 5 und 6 wiedergegeben und in den Abb. 1 und 2 graphisch dargestellt. Im Verlauf des ACTH-Tests steigt die Plasma-Kortisolkonzentration bei den 5 adulten Pferden von 59,2 ng/ml (-30-min-Wert) auf das Maximum von 133,0 ng/ml (90-min-Wert), das bedeutet einen Anstieg um 122 %. Die Maxima der einzelnen Pferde traten 90 min (Nr. 3 und 5), 120 min (Nr. 1 und 2) und 180 min (Nr. 4) nach ACTH-Applikation auf. Die Plasma-Kortisolkonzentration fällt dann auf das Minimum von 33,6 ng/ml ab (480-min-Wert). Die Plasma-Kortisolkonzentrationen unterscheiden sich bezüglich der Testsubstanzen (ACTH bzw. NaCl-Lösung) und des Zeitverlaufes statistisch hochsignifikant (zweifaktorielle Varianzanalyse). Beim Mittelwertvergleich der Plasma-Kortisolkonzentrationen nach Tukey zu den jeweils gleichen Zeitpunkten ergeben sich signifikante Unterschiede für die 15-min-, 30-min-, 60-min-, 90-min-, 120-min- und 180-min-Werte.

Die Tageszeit beeinflusste die Plasma-Kortisolkonzentration während der Kontrolle über einen Zeitraum von 8,5 Stunden, und zwar ergab der Vergleich der Konzentrationen zum -30-min-Wert (8.30 Uhr) einen signifikanten Abfall um 17.00 Uhr ($p < 0,05$).

¹ Intranüle®, Firma Braun, Melsungen.

² Acortan simplex, Firma Ferring, Kiel.

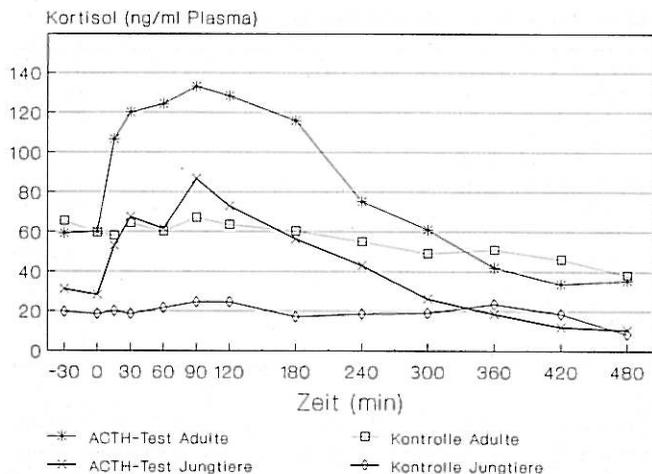


Abb. 1: Mittlere Plasma-Kortisolkonzentrationen von 5 adulten Pferden einschließlich der Standardabweichungen während eines ACTH-Tests und einer Kontrolle. Beim ACTH-Test wurden 0,2 I.E. ACTH/kg Körpergewicht langsam intravenös appliziert, während bei der Kontrolle das gleiche Volumen einer sterilen, isotonischen NaCl-Lösung injiziert wurde. Die Signifikanzen der Mittelwertdifferenzen zwischen ACTH-Test und der Kontrolle sind eingezeichnet (* = $p < 0,01$).

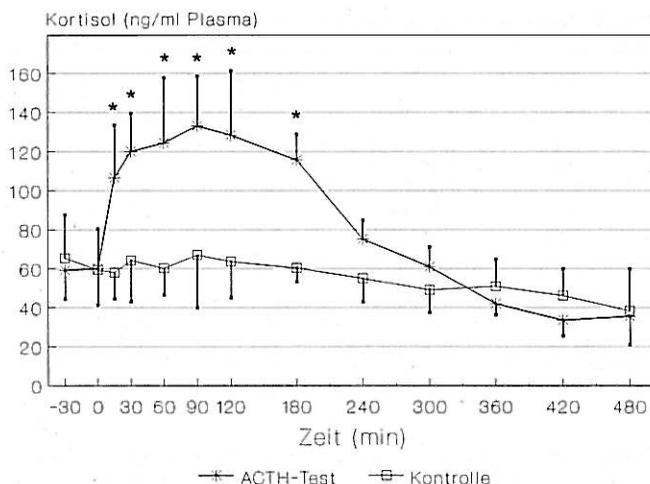


Abb. 2: Plasma-Kortisolkonzentrationen von 2 Jungtieren und 5 adulten Pferden während eines ACTH-Tests und einer Kontrolle. Der Verlauf der Plasma-Kortisolkonzentration der 2 Jungtiere ist ähnlich wie der der adulten Pferde, allerdings sind die Plasma-Kortisolkonzentrationen zu allen Meßzeitpunkten deutlich geringer als bei den adulten Pferden.

Tab. 5: Plasma-Kortisolkonzentrationen (ng Kortisol/ml Plasma) vor und nach intravenöser Applikation von 0,2 I.E. ACTH/kg Körpergewicht (ACTH-Test) bei 5 adulten Pferden und 2 Jungtieren

Zeit (min)	-30	0	15	30	60	90	120	180	240	300	360	420	480
Pferd Nr.													
1	51	62	143	147	153	147	166	139	85	55	51	38	31
2	50	37	92	118	128	117	140	112	65	53	39	36	28
3	45	45	99	117	123	151	121	111	73	77	36	22	22
4	70	67	75	93	69	96	77	103	68	56	40	29	60
5	80	89	123	125	148	154	137	114	85	64	44	43	36
\bar{x}	59,2	60,0	106,4	120,0	124,2	133,0	128,2	115,8	75,2	61,0	42,0	33,6	35,4
s	15,0	20,3	26,8	19,3	33,4	25,4	32,9	13,6	9,4	9,9	5,8	8,2	14,7
6	44	34	56	71	55	94	73	67	44	24	14	11	8
7	18	23	50	64	68	79	73	46	42	28	23	13	13
\bar{x}	31,0	28,0	53,0	67,5	61,5	86,5	73,0	56,5	43,0	26,0	18,5	12,0	10,5

Tab. 6: Plasma-Kortisolkonzentrationen (ng Kortisol/ml Plasma) vor und nach intravenöser Applikation von steriler, isotonischer NaCl-Lösung (Kontrolle) bei 5 adulten und 2 heranwachsenden Pferden

Zeit (min)	-30	0	15	30	60	90	120	180	240	300	360	420	480
Pferd Nr.													
1	71	69	60	70	51	49	61	60	36	37	42	41	21
2	57	54	51	48	56	62	73	56	52	43	59	47	34
3	39	41	42	50	46	39	34	52	62	43	30	26	16
4	61	47	58	54	67	76	66	63	68	65	63	62	67
5	99	86	79	99	81	109	84	71	57	57	59	54	53
\bar{x}	65,4	59,4	58,0	64,2	60,2	67,0	63,6	60,4	55,0	49,0	50,6	46,0	38,2
s	22,1	18,2	13,7	21,3	14,0	27,3	18,7	7,2	12,2	11,6	14,1	13,7	21,5
6	17	18	18	22	32	39	36	22	19	19	16	12	4
7	22	19	22	15	11	10	13	12	18	19	31	25	13
\bar{x}	19,5	18,5	20,0	18,5	21,5	24,5	24,5	17,0	18,5	19,0	23,5	18,5	8,5

Diskussion

Die Plasma-Kortisolkonzentration gesunder unbehandelter Pferde weist eine Tagesrhythmik mit hohen Werten in den Morgenstunden und niedrigen Werten am Abend auf (Toussaint et al., 1988). Die Abhängigkeit von der Tageszeit wird durch den signifikanten Abfall der Plasma-Kortisolkonzentration um 17.00 Uhr bei den Kontrollen bestätigt.

Die großen Unterschiede bisher veröffentlichter Werte hängen unter anderem von der Bestimmungsmethode des Kortisols ab. Eiler et al. (1980) ermittelten mit einem Radioimmunoassay wesentlich niedrigere Werte als mit einer kompetitiven Proteinbindungsmethode. Die hier ermittelten Plasma-Kortisolkonzentrationen für adulte Pferde vor Applikation der Testsubstanzen (59,2, 60,0, 65,4 und 59,4 ng Kortisol/ml Plasma) liegen im mittleren Bereich der Skala (vergl. Tab. 1). Alle Tests wurden zur gleichen Tageszeit durchgeführt, um den Einfluß der Tagesschwankungen zu minimieren.

Bei den bisher beim Pferd durchgeführten ACTH-Tests wurde das ACTH entweder intravenös oder intramuskulär appliziert (Tab. 2). Intramuskulär wurden sowohl wässrige Lösungen als auch Gel-Präparate mit Depotwirkung injiziert. Mit wenigen Ausnahmen lagen die applizierten Mengen zwischen 100 und 500 I.E. ACTH Gesamtdosis bzw. 0,2 und 1,0 I.E. ACTH/kg Körpergewicht. Der Zeitpunkt der maximalen Plasma-Kortisolkonzentration hängt von der Applikationsart ab. Nach intravenöser Applikation des ACTH trat das Maximum nach 120 Minuten auf (Hoffsis et al., 1970; Gribble, 1972; Eiler et al., 1979b; Wiest et al., 1988). Bei den hier untersuchten Pferden wurde die maximale Plasma-Kortisolkonzentration im Mittel schon nach 90 Minuten erreicht. Bei intramuskulärer ACTH-Applikation trat das Maximum nach 4 bis 8 Stunden auf (Hoffsis et al., 1970; Gribble, 1972; Eiler et al., 1979b; Larsson et al., 1979; MacHarg et al., 1985; Allen et al., 1988).

Die maximale Plasma-Kortisolkonzentration ist auch von der ACTH-Dosis abhängig. Je größer die Dosis ist, desto größer ist das Maximum und desto später tritt es auf (Hoffsis und Murdick, 1970). Die maximalen Plasma-Kortisolkonzentrationen nach ACTH-Applikation lagen 80 bis 246 % über dem Ausgangswert. Bei den hier untersuchten Pferden lag das Maximum um 122 % höher als der Ausgangswert.

Nach Hoffsis et al. (1970) besteht keine Altersabhängigkeit der Plasma-Kortisolkonzentration beim Pferd. Dagegen lagen sowohl die Ausgangswerte als auch die Maxima der 2 hier untersuchten Jungtiere deutlich unter den entsprechenden Werten der adulten Pferde (Abb. 2). Deshalb erscheint eine Überprüfung der Altersabhängigkeit der Plasma-Kortisolkonzentration beim Pferd sinnvoll. Die beiden Jungtiere wiesen bei der Kontrolle um 17.00 Uhr (480-min-Wert) im Mittel eine auffallend geringe Plasma-Konzentration von 8,5 ng Kortisol/ml auf. Die bisherigen Kenntnisse aus der Literatur reichen nicht aus, um diesen Wert als pathologisch erniedrigt zu beurteilen.

Im Gegensatz zu den bisher beim Pferd durchgeführten ACTH-Tests wurden hier intraindividuelle Kontrollen durchgeführt. Alle hier untersuchten Tiere zeigten einen

deutlichen Anstieg der Plasma-Kortisolkonzentration nach intravenöser ACTH-Applikation mit einem Maximum zwischen 90 und 180 min post injectionem. Demzufolge war die Stimulierbarkeit der Nebennierenfunktion bei den 7 Pferden physiologisch.

Literatur

- Allen, J. R., Barbee, D. D., und Crisman, M. V. (1988): Diagnosis of equine pituitary tumors by computed tomography. Part I. Compend. Contin. Educ. Pract. Vet. 10, 1103-1106.
- Autefage, A., Alvinierie, M., und Toutain, P. L. (1986): Synovial fluid and plasma kinetics of methylprednisolone and methylprednisolone acetate in horses following intra-articular administration of methylprednisolone acetate. Equine vet. J. 18, 193-198.
- Baker, H. W. G., Baker, I. D. C., Epstein, V. M., und Hudson, B. (1982): Effect of stress on steroid hormone levels in racehorses. Austr. Vet. J. 58, 70-71.
- Beech, J., und Garcia, M. (1985): Hormonal response to thyrotropin-releasing hormone in healthy horses and in horses with pituitary adenoma. Am. J. Vet. Res. 46, 1941-1943.
- Bottoms, G. D., Roesel, O. F., Rausch, F. D., und Akins, E. L. (1972): Circadian variation in plasma cortisol and corticosterone in pigs and mares. Am. J. Vet. Res. 33, 785-790.
- Church, D. B., Evans, D. L., Lewis, D. R., und Rose, R. J. (1987): The effect of exercise on plasma adrenocorticotrophin, cortisol and insulin in the horse and adaptations with training. In Gillespie, J. R., und Robinson, N. E. (Hrsg.): Equine exercise physiology II. ICEEP Publications, Davis. 506-515.
- Eiler, H., Goble, D., und Oliver, J. (1979 a): Adrenal gland function in the horse. Effects of cosyntropin (synthetic) and corticotropin (natural) stimulation. Am. J. Vet. Res. 40, 724-726.
- Eiler, H., Oliver, J., und Goble, D. (1979 b): Adrenal gland function in the horse. Effects of dexamethasone on hydrocortisone secretion and blood cellularity and plasma electrolyte concentrations. Am. J. Vet. Res. 40, 727-729.
- Eiler, H., Oliver, J., und Goble, D. (1980): Combined dexamethasone-suppression cosyntropin-(synthetic ACTH)-stimulation test in the horse. A new approach to testing of adrenal gland function. Am. J. Vet. Res. 41, 430-434.
- Evans, J. W., Hubben, K., und Siegel, E. T. (1968): Clinico-pathologic conference. J. Am. Vet. Med. Assoc. 152, 1778-1786.
- Evans, J. W., Winget, C. M., und Pollak, E. J. (1977): Rhythmic cortisol secretion in the equine. Analysis and physiological mechanisms. J. interdiscipl. Cycle Res. 8, 111-121.
- Flisinska-Bojanowska, A., Skwarlo, K., Lukaszewska, J., Bobilewicz, D., Wilk, M., und Gill, J. (1974): Diurnal variations of serum cortisol and PBI in the thoroughbred horse and effect of physical effort on plasma cortisol concentration. Bull. Acad. Pol. Sci. 22, 719-724.
- Glardon, O., und Schatzmann, U. (1982): L'influence de l'ACTH sur le taux de cortisol plasmatique et sur l'image sanguine du cheval. Schw. Arch. Tierheilk. 124, 435-445.
- Gribble, D. H. (1972): The endocrine system. In Catcott, E. J., und Smith-cors, J. F. (Hrsg.): Equine medicine and surgery (2. Aufl.). American Veterinary Publications, Inc. Wheaton, 433-458.
- Guthrie, G. P., Cecil, S. G., und Kotchen, T. A. (1980): Renin, aldosteron and cortisol in the Thoroughbred horse. J. Endocr. 85, 49-53.
- Hoffsis, G. F., und Murdick, P. W. (1970): The plasma concentrations of corticosteroids in normal and diseased horses. J. Am. Vet. Med. Assoc. 157, 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, 1379-1387.
- James, V. H. T., Horner M. W., Moss, M. S., und Rippon, A. E. (1970): Adrenocortical function in the horse. J. Endocr. 48, 319-335.
- Kirk, M. D. (1974): Field diagnosis and treatment of secondary adrenocortical insufficiency in the horse. Vet. Med. S. A. C. 69, 1383-1386.
- Larsson, M., Edquist, L.-E., Ekman, L., und Persson, S. (1979): Plasma cortisol in the horse, diurnal rhythm and effects of exogenous ACTH. Acta vet. Scand. 20, 16-24.

- Loeb, W. F., Capen, C. C., und Johnson, L. E. (1966): Adenomas of the pars intermedia associated with hyperglycaemia and glycosuria in two horses. *Cornell Vet.* 56, 623-639.
- MacHarg, M. A., Bottoms, G. D., Carter, G. K., und Johnson, M. A. (1985): Effects of multiple intramuscular injections and doses of dexamethasone on plasma cortisol concentrations and adrenal responses to ACTH in horses. *Am. J. Vet. Res.* 46, 2285-2287.
- Müller, J. (1978): Untersuchungsmethoden der Nebennierenrinden-Funktion. In Labhart, A. (Hrsg.): *Klinik der inneren Sekretion* (3. Aufl.). Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 385-398.
- Nathanielsz, P. W., Rossdale, P. D., Silver, M., und Comline, R. S. (1975): Studies on fetal, neonatal and maternal cortisol metabolism in the mare. *J. Reprod. Fert. (Suppl.)* 23, 625-630.
- Orth, D. N., Holscher, M. A., Wilson, M. G., Nicholson, W. E., Plue, R. E., und Mount, C. D. (1982): Equine Cushing's disease. Plasma immunoreactive proopiomelanocortin peptide and cortisol levels basally and in response to diagnostic tests. *Endocrinology* 110, 1430-1441.
- Persson, S. B. G., Larsson, M., und Lindholm, A. (1980): Effects of training on adreno-cortical function and red-cell volume in trotters. *Zbl. Vet. Med.* 27, 261-268.
- Petazzi, F., Zarrilli, A., und Ceci, L. (1983): Comportamento del T3, T4 e del cortisolo in cavalli adulti sottoposti a stress da trasporto. *Obiett. Doc. Vet.* 4, 55-56.
- Raker, C. W., und Fegley, H. F. (1965): Clinico-pathologic conference. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 147, 848-860.
- Ralston, J. M., Stenhouse, A. M., Stenhouse, N. S., Buck, G. J., Lucks, S. F., Reynoldson, J. A., und Bolton, J. R. (1988): Cortisol concentrations in blood and urine of horses. *Austr. Vet. J.* 65, 1-5.
- Schierz, H. G. (1988): Zur Bestimmung von Triamcinolonacetomid und Kortisol bei Pferd und Hund, insbesondere bei der Ankaufuntersuchung des Pferdes. Gießen, Justus-Liebig-Universität, Diss.
- Snow, D. H., und Munro, C. D. (1975): Changes in blood levels of several hormones following ACTH administration and during exercise. *Proc. 1st Int. Symp. Equine Hematology, East Lansing*, 481-489.
- Snow, D. H., und Rose, R. J. (1981): Hormonal changes associated with long distance exercise. *Equine vet. J.* 13, 195-197.
- Toutain, P. L., Brandon, R. A., Pomyers, H., Alvinierie, M., und Baggot, J. D. (1984): Dexamethasone and prednisolone in the horse. Pharmacokinetics and action on the adrenal glands. *Am. J. Vet. Res.* 45, 1750-1756.
- Toutain, P. L., Oukessou, M., Autefage, A., Alvinierie, M. (1988): Diurnal and episodic variations of plasma hydrocortisone concentrations in horses. *Domest. Anim. Endocrinol.* 5, 55-59.
- Urman, H. K., Ozcan, H. C., und Tekeli, S. (1963): Pituitary neoplasmas in two horses. *Zbl. Vet. Med. A.* 10, 257-262.
- Wiest, J. J., Thompson, D. L., McNeill-Wiest, D. R., Garza, F., und Mitchell, P. S. (1988): Effect of administration of adrenocorticotrophic hormone on plasma concentrations of testosterone, luteinizing hormone, follicle stimulating hormone and cortisol in stallions. *Equine vet. Sci.* 8, 168-170.
- Zolovick, A., Upson, D. W., und Eleftherious, B. E. (1966): Diurnal variation in plasma glucocorticoid levels in the horse. *Endocrinology* 35, 249-253.

Dr. H.-J. Klein
Klinik für Pferde
Tierärztliche Hochschule
Bischofsholer Damm 15
D-3000 Hannover 1

Die Autoren danken Herrn Prof. Dr. R. Knuppen, Institut für Biochemische Endokrinologie der Medizinischen Universität Lübeck, für die Überlassung des Kortisol-Antiserums.

Kurzreferat

Ein Vergleich verschiedener Möglichkeiten der Anästhesie proximal, palmar am Metacarpus bei Pferden

(A comparison of methods for proximal palmar metacarpal analgesia in horses)

T. S. Ford, M. W. Ross und P. G. Orsini (1989)

Veterinary Surgery 18, 146-150

Drei Möglichkeiten, eine Anästhesie proximal am Metacarpus hervorzurufen, wurden hinsichtlich der Wahrscheinlichkeit, dabei in das Carpometacarpal-Gelenk zu injizieren, überprüft. Mit einer Lösung, die zur Markierung Methylblau enthielt, führten 3 Tierärzte die von ihnen bevorzugte Injektionstechnik durch.

Nach Methode A wurde von lateral zwischen M. interosseus medius und das Unterstützungsband der tiefen Beuge-

sehne injiziert (20 ml). Methode B stellte eine Leitungsanästhesie der Nn. palmares med. et lat. und der Nn. metacarpei palmares med. et lat. durch jeweils eine Injektion axial der Griffelbeinköpfchen dar (4×2,5 ml). Nach Methode C wurde in Höhe des Os carpi accessorium ein Depot gesetzt (5 ml), da hier N. palmaris lat. und der R. palmaris des N. ulnaris, der sich distal in die Nn. metacarpei palmares med. et lat. aufzweigt, gemeinsam verlaufen. N. palmaris med. wurde ähnlich der Methode B blockiert (5 ml).

Die Häufigkeit unerwünschter Gelenkinjektionen war signifikant mit der Injektionstechnik assoziiert und betrug für Methode A 37 % und für Methode B 17 %. Bei Methode C kam es zu keinen Gelenkinjektionen, doch wurde in 68 % der Fälle in die Sehnenscheide palmar am Karpus injiziert. Nach Meinung der Autoren sollte diese Tatsache nicht überbewertet werden, da Lahmheiten in Zusammenhang mit dieser Sehnenscheide selten sind.

Zu Injektionen in das Carpometacarpal-Gelenk und somit zu fehlerhaften Lahmheitsdiagnosen kann es kommen, wenn tief proximal, palmar am Metacarpus injiziert wird, da sich Aussackungen dieses Gelenkes etwa 2,5 cm nach distal zwischen die axialen Flächen der Griffelbeine und den M. interosseus medius schieben.

Edith Robs