

# Feldstudie zur Wirksamkeit von Natriumhyaluronat (Hyonate®) bei Vollblutrennpferden mit belastungsinduziertem Lungenbluten

Heidrun Gehlen<sup>1</sup>, M. Röcken<sup>2</sup> und P. Stadler<sup>1</sup>

Klinik für Pferde, Tierärztliche Hochschule Hannover<sup>1</sup> und Tierärztliche Klinik für Kleintiere und Pferde Starnberg<sup>2</sup>

## Zusammenfassung

Zur Überprüfung der Wirksamkeit von Natriumhyaluronat (Hyonate®; Bayer) beim belastungsinduzierten Lungenbluten (EIPH), erfolgte eine klinische Feldstudie an 30 Vollblutrennpferden, bei denen zuvor Lungenbluten (Nasenbluten nach dem Rennen oder Blut in der Trachea) diagnostiziert wurde. 20 Pferde wurden acht mal, in wöchentlichem Abstand, mit Hyonate® intravenös behandelt. Bei weiteren 10 Pferden erfolgte parallel der Einsatz eines Placebos (Kontrollgruppe). Während der 2-monatigen Studie fielen 2 Pferde der Kontrollgruppe wegen einer Fraktur und eines Sehnen Schadens aus, so dass letztlich 8 Pferde der Kontrollgruppe in die Auswertung gelangten. Bei allen Pferden wurde vor der ersten Behandlung, sowie nach 4 und nach 8 Wochen (1 Woche nach der letzten Behandlung) eine klinische Allgemeinuntersuchung und eine spezielle Lungenuntersuchung mit der Analyse arterieller Blutgaswerte und einer Endoskopie, einschließlich der Tracheobronchialsekretanalyse (TBS-Analyse) durchgeführt. Außerdem wurde bei der Erst- und der Abschlussuntersuchung die Lunge geröntgt und der Interpleuraldruck gemessen. Bei einigen Pferden wurde zusätzlich eine bronchoalveoläre Lavage (BAL) durchgeführt. Desweiteren wurde die Veränderung der Leistungsfähigkeit der Pferde subjektiv aufgrund der Aussage der Trainer und mit Hilfe der Rennerfolge während und bis 2 Monate nach der Studie ermittelt. Während der Therapie mit Natriumhyaluronat (Hyonate®) wurde eine signifikante Verringerung der Neutrophilenzahl sowie eine geringfügige Reduktion der Erythrozyten im Tracheobronchialsekret festgestellt. Somit ließ sich eine antiinflammatorische Wirkung von systemisch (intravenös) verabreichtem Natriumhyaluronat im Bereich der Lunge erzielen. Effekte auf Parameter der klinischen Untersuchung, auf den Interpleuraldruck und das Röntgenbild der Lunge wurden nicht festgestellt. Die Trainer haben bei 7 Pferden zwar eine Leistungsverbesserung gesehen, eine Verbesserung der Rennerfolge zeigte sich jedoch während oder nach Therapie mit Natriumhyaluronat nicht.

**Schlüsselwörter:** Lungenbluten, Vollblutrennpferd, Therapie, Hyaluronsäure

## Effects of hyaluronic acid (Hyonate®) administration in thoroughbred horses with Exercise Induced Pulmonary Hemorrhage

Thirty thoroughbred horses with exercise induced pulmonary hemorrhage and epistaxis underwent a clinical examinations, arterial blood samplings, endoscopic examinations, x-ray examinations of the lung, interpleural pressure measurements and analysis of tracheal secret samplings (TBS). One group of 20 horses was treated eight times with i.v. injections of 40 mg Hyonate® (Bayer) at seven day intervals. The other group with ten horses was treated with a placebo (4 ml NaCl i.v.). The examinations were repeated twice, i.e. after 4 and after 8 weeks. The results were compared to assess a possible influence of the Hyonate® treatment on the pulmonary inflammatory status of the horse. Hyaluronic acid did not influence the physiological parameters or the horses success during racing, but there was a mild decrease of neutrophils in the TBS after treatment.

**Keywords:** exercise induced pulmonary hemorrhage, thoroughbred, hyaluronic acid, therapy

## Einleitung

Beim belastungsinduzierten Lungenbluten (EIPH), definiert als „Auftreten von Blut im Tracheobronchialbaum nach stärkerer Belastung“ (Pascoe und Raphael, 1982), handelt es sich hauptsächlich um ein Problem der Galopprennpferde (Gertsen und Dawson, 1977, Arthur, 1980, Pascoe und Wheat, 1980, O'Callaghan und Goulden, 1982, Mason et al. 1983). Lungenbluten wurde aber auch beim Trabrennpferd, beim Quarterhorse, bei Ponies und beim Warmblutpferd beobachtet (Arthur, 1980, Hillidge et al. 1984, O'Callaghan und Goulden, 1972, Johnson et al. 1973). In Untersuchungen zwischen 1913 und 1986 trat bei Galopprennpferden das Nasenbluten nach dem Rennen mit einer Inzidenz von 2 % auf. Demgegenüber trat Lungenbluten tracheobroncho-

skopisch in unterschiedlichen Untersuchungen mit einer Inzidenz zwischen 11 % und 95 % auf (Burrell, 1985). Die Diagnostik des EIPH stützt sich auf die Endoskopie, insbesondere auf den Nachweis von Hämosiderophagen oder Blut im Tracheobronchialsekret oder in der BAL-Flüssigkeit (Gertsen und Dawson, 1977, Arthur, 1980, Hillidge et al., 1984, Whitwell und Greet, 1984, O'Callaghan und Golden, 1982). Zusätzlich können Röntgendiagnostik und Szintigraphie wertvolle Hinweise liefern (Pascoe et al., 1983, Amis et al., 1984, O'Callaghan und Goulden, 1982, O'Callaghan et al., 1987g).

Die meisten Therapieversuche in der Vergangenheit wie z. B. die Applikation von Vitamin C und K, Kalzium, Corticosteroiden oder Adrenalin und Thromboplastin auch in Aerosolform sowie Bluttransfusionen erwiesen sich als wenig effizient



**Abb. 1** Belastungsinduziertes Lungenbluten beim Vollblutrennpferd. Beidseitiges Nasenbluten aus den Nüstern nach dem Rennen. *Exercise induced pulmonary hemorrhage in a thoroughbred horse. Epistaxis after racing*

(Arthur, 1980, Manohar et al. 1994). Lediglich die diuretische Behandlung mit Furosemid scheint die Inzidenz des Lungenblutens nach empirischen Untersuchungen deutlich zu reduzieren (Manohar et al., 1994).

Hyaluronsäure, ein hochmolekulares Polysaccharid, das sich in synovialen Membranen und Flüssigkeiten in hoher Konzentration finden lässt, wurde bereits in anderen Studien bei Pferden mit Lungenerkrankungen als Therapeutikum eingesetzt. Eine Studie von Art et al. (1999), zeigte bei sechs Pferden mit entzündlich-obstruktiver Atemwegserkrankung (RAO = recurrent airway obstruction), Hinweise auf eine antiinflammatorische und antioxidative Wirkung des Natriumhyaluronat (Hyonate<sup>®</sup>) sowohl auf pulmonaler, als auch auf systemischer Ebene. Desweiteren traten Husten und Lungenbluten nach Therapie weniger häufig auf.

In der hier vorgestellten klinischen Studie wurde die Wirksamkeit von Natriumhyaluronat (Hyonate<sup>®</sup>, Bayer Vital GmbH) nach achtmaliger intravenöser Verabreichung in wöchentlichem Abstand, zur Therapie des belastungsinduzierten Lungenblutens beim Vollblutrennpferd überprüft.

## Material und Methodik

Insgesamt wurden 30 Vollblutrennpferde (15 Stuten, 15 Hengste), mit einem Durchschnittsalter von 4 Jahren (1 zweijähriger, 15 dreijährige, 11 vierjährige, 1 fünfjähriger und 1 sechsjähriger) untersucht. Die Untersuchungen wurden in Athen/ Griechenland, in der Pferdeklinik der dortigen Rennbahn („Athens race truck clinic“), durchgeführt. Alle Pferde befanden sich im Training und zeigten vorberichtlich Nasenbluten nach dem Rennen (Abb. 1) oder endoskopisch Blut in der Trachea nach Belastung. Alle Pferde waren an der nationalen Rennbahn in Athen (Sandbahn) aufgestellt und wurden dort unter annähernd gleichen Bedingungen trainiert und bei Rennen gestartet.

Neben einer klinischen Allgemeinuntersuchung wurden die oberen und tiefen Atemwege und das Herzkreislaufsystem untersucht. Die Untersuchung der Atemwege erfolgte klinisch und endoskopisch. Eine semiquantitative Zellzählung wurde aus Proben des TBS und in einigen Fällen der BAL durchgeführt. Ausstriche wurden luftgetrocknet, nach Papenheim gefärbt und auf jeweils 2 Objektträgern und je 20 Gesichtsfeldern (Vergrößerung 10 x 40) beurteilt (Dieckmann und

Tab. 1: Mittelwerte (x) der arteriellen Blutgas- und Interpleuraldruckwerte bei Vollblutrennpferden mit Lungenbluten vor und nach Behandlung von mit Hyonate<sup>®</sup> bzw. Placebo (Kontrollgruppe). *Mean values of arterial blood gas analysis and interpleural pressure measurements from the horses before and after treatment with Hyonate<sup>®</sup> and the control group*

	Kontrollgruppe (n = 8 Pferde)		Mit Hyonate <sup>®</sup> behandelte Gruppe (n = 20 Pferde)	
	vor Therapie	nach Therapie	vor Therapie	nach Therapie
pO <sub>2</sub> (mmHg)	90	92	95	94
pCO <sub>2</sub> (mmHg)	42	43	44	44
AaDO <sub>2</sub> (mmHg)	3	3	2	2
AF/ min.	8	10	8	8
IP (mmHg)	4,45	4,5	4,48	4,45

pO<sub>2</sub> = Sauerstoffpartialdruck

pCO<sub>2</sub> = Kohlendioxidpartialdruck

AaDO<sub>2</sub> = alveo-arterielle Sauerstoffdifferenz

AF = Atemfrequenz

IP = Interpleuraldruck => 1 mmHg = 0,1333 kPa

Deegen, 1990). Zur Zählung wurden die Alveolarmakrophagen, die neutrophilen Granulozyten, die Hämosiderophagen und die freien Erythrozyten herangezogen. Andere Zellen, wie Lymphozyten, Epithelzellen, Kreola-Körperchen oder Riesenzellen, die nur vereinzelt und in geringer Zahl auftraten wurden beim Gruppenvergleich nicht berücksichtigt. Die gezählten Zellen wurden nach dem Grad des Vorkommens eingeteilt.

0	=	nicht vorhanden
1	=	vereinzelt, selten
2	=	wenig
3	=	mässig
4	=	mässig - viel
5	=	viel
6	=	massenhaft

Um untersucherabhängige Abweichungen bei der Beurteilung des Tracheobronchialsekretes zu vermeiden, wurden alle zytologischen Untersuchungen von einer Person durchgeführt. Bei Pferden, die weder Hämosiderin noch Erythrozyten im Tracheobronchialsekret zeigten, wurde zusätzlich eine bronchoalveoläre Lavage mit 2 x 250 ml steriler Kochsalzlösung durchgeführt. Pferde mit dem Verdacht einer Herzerkrankung (Arrhythmie, Herzgeräusch) oder mit einer linksseitigen Stimmbandlähmung wurden nicht in die Studie aufgenommen.

Die 30 Pferde wurden nach dem Zufallsprinzip in eine Kontrollgruppe mit 10 Pferden und eine Behandlungsgruppe (Hyonate<sup>®</sup>, Bayer AG) mit 20 Pferden, geteilt. Die 20 Pferde der Therapiegruppe wurden acht mal, in wöchentlichem Abstand, mit Hyonate<sup>®</sup> (4 ml) intravenös behandelt. Bei den 10 Pferden der Kontrollgruppe erfolgte therapiesynchron der Einsatz eines Placebos (4 ml NaCl). Bei allen Pferden wurden die Erstuntersuchungen nach vier Wochen und 1 Woche nach der letzten Behandlung (insgesamt nach 8 Wochen) wiederholt. Außerdem wurde bei der Erst- und der Abschlussuntersuchung die Lunge geröntgt und der Interpleuraldruck gemessen. Die Röntgenaufnahmen der Erst- und der Abschlussuntersuchung wurden hinsichtlich caudo-dorsaler diffuser Verdichtungen, mit alveolärer, interstitieller oder bronchial verstärkter Zeichnung intraindividuell und zwischen behandelten und unbehandelten Pferden verglichen. Auch der Interpleuraldruck wurde intra- (Erst- und Abschlussuntersuchung)

und interindividuell (behandelte Pferde / Kontrollgruppe) verglichen. Während des Behandlungszeitraumes wurden die Pferde weiterhin trainiert und in Rennen gestartet. Dieses war zuvor mit dem griechischen Jockey Club und dem Rennverband abgesprochen und genehmigt worden. Zusätzlich wurde die Leistungsfähigkeit der Pferde anhand der Rennerfolge über den Behandlungszeitraum bis zwei Monate nach Therapieende ermittelt sowie eine subjektive Einschätzung der Leistungsfähigkeit der Pferde durch die Trainer vorgenommen. Ausserdem wurde die Häufigkeit des Lungenblutens unter Rennbelastung vor, während und nach der Therapie dokumentiert. Die Pferde erhielten 8 Wochen vor und nach der Hyonate<sup>®</sup>-Therapie keine zusätzlichen Medikamente.

#### Statistische Auswertung

Für die statistischen Auswertungen der Zellverteilung im Tracheobronchialsekret (Makrophagen, Hämosiderophagen, neutrophile Granulozyten, freie Erythrozyten) vor, während und nach Behandlung, wurde der Wilcoxon Signed Rank Test mit gepaarten Variablen verwendet. Für die Irrtumswahrscheinlichkeit  $p$  galten die Signifikanzstufen von nicht ( $p > 0,05$ ) bis hoch signifikant ( $p \leq 0,001$ ).

#### Ergebnisse

Bei der klinischen Untersuchung der Pferde wurden weder vor noch nach Behandlung mit Hyonate<sup>®</sup> oder Placebo lokale

(z.B. Reaktion der Venen) oder systemische Unverträglichkeitsreaktionen oder Nebenwirkungen festgestellt. In Tabelle 1 und 2 sind die Ergebnisse der arteriellen Blutgaswerte und der Interpleuraldruckmessung vor, während und nach Behandlung mit Hyonate<sup>®</sup> bzw. mit Placebo dargestellt. Ein grosser Teil der Pferde zeigte eine geringgradige Partialinsuffizienz. Es wurde weder ein signifikanter Unterschied der Interpleuraldrücke und der arteriellen Blutgaswerte bei den behandelten Pferden während des Untersuchungszeitraumes noch ein Unterschied zwischen behandelten und unbehandelten Pferden (Kontrollgruppe) festgestellt.

Während der Zwischen- bzw. Abschlussuntersuchung wurden 2 Pferde der Kontrollgruppe, aufgrund von Fraktur und Sehenschaden, aus der Wertung herausgenommen, so dass letztlich 8 Pferde der Kontrollgruppe in die Auswertung gelangten. Die graduelle Zellverteilung im Tracheobronchialsekret der beiden Gruppen (Therapie- und Kontrollgruppe) im Verlauf der Untersuchung ist in Abbildung 3 und 4 in Diagrammform dargestellt.

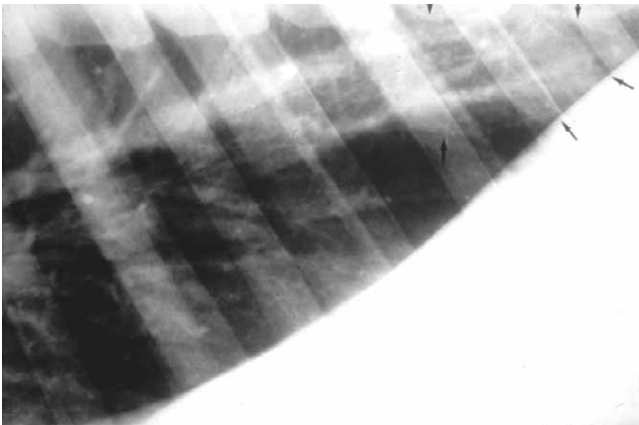
Die Analyse der Tracheobronchialsekrete zeigte bei der mit Hyonate<sup>®</sup> behandelten Gruppe einen deutlichen Abfall der graduellen Neutrophilenzahl von mäßig-viel (Grad 3-4) auf nur vereinzelt und wenig vorkommend (Grad 1-2, Abb. 5a,b). Dabei wurde bereits bei der Zwischenuntersuchung eine signifikante Verringerung ( $p = 0,008$ ) der neutrophilen Granulozyten festgestellt. Die Unterschiede zwischen der Erst- und der Abschlussuntersuchung, sowie der Zwischen- und der Abschlussuntersuchung waren sogar hoch signifikant ( $p < 0,001$ ). Auch die graduelle Anzahl der freien Erythrozyten zeigte sich bei der Abschlussuntersuchung, im Vergleich zur

**Tab 2** Anzahl der Plazierungen von Vollblutrennpferden vor und 2 Monate nach Behandlung mit Hyonate<sup>®</sup> (n = 20 Pferde) bzw. Placebo (Kontrollgruppe, n = 8 Pferde). *Racing success before and after treatment with Hyonate<sup>®</sup> or placebo*

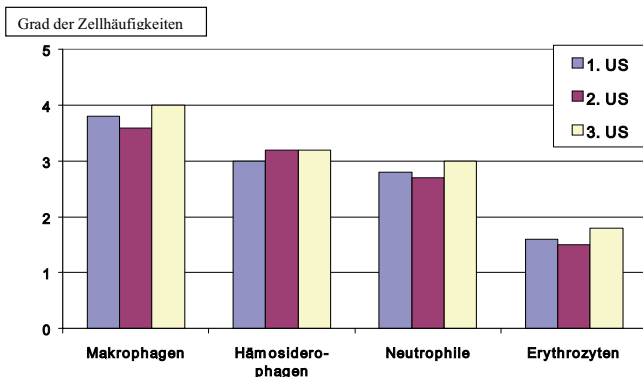
Plazierung	Kontrollgruppe (n = 8 Pferde)		Mit Hyonate behandelte Gruppe (n = 20 Pferde)	
	vor Therapie	nach Therapie	vor Therapie	nach Therapie
1. Platz	5	6	17	21
2. Platz	6	5	7	18
3./ 4. Platz	4	24	18	24
Gesamtplazierungen	15	35	42	63
Anzahl Rennen	26	56	56	124
Quotient: Plazierung/ Anzahl Rennen	0,6	0,6	0,75	0,5

Erstuntersuchung hoch signifikant verringert ( $p < 0,001$ ), von wenig vorkommend (Grad 2) auf vereinzelt vorkommend bis nicht vorhanden (Grad 0-1). Die Anzahl der Makrophagen stieg geringfügig, jedoch nicht signifikant ( $p = 0,02$ ) an, während die Anzahl der Hämosiderophagen geringfügig (Abb. 5a,b), jedoch ebenfalls nicht signifikant ( $p = 0,09$ ), sank. Bei der Abschlussuntersuchung traten bei der Therapiegruppe zusätzlich schaumige Makrophagen bei 7 Pferden auf (Abb. 5b).

Bei der Kontrollgruppe war ein gradueller, aber nicht signifi-

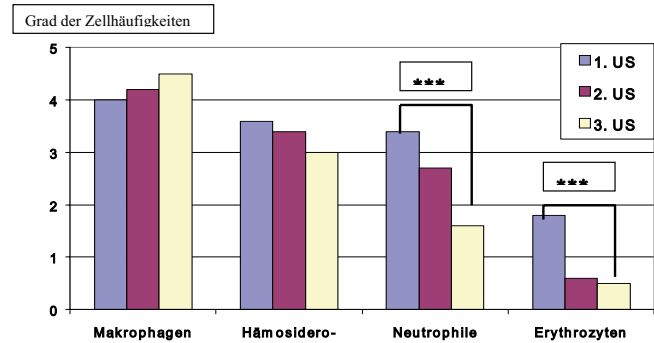


**Abb. 2** Radiologische Untersuchung des Thorax im latero-lateralen Strahlengang. Typische caudodorsale interstitielle Verdichtungen. *X-ray examination of the thorax with typical caudo-dorsal density*



**Abb. 3** Graduelle Verteilung der Zellen im Tracheobronchialsekret (0 = nicht vorhanden, 1 = vereinzelt, 2 = wenig, 3 = mässig, 4 = mässig - viel, 5 = viel) bei der Erst- (blaue Säule), Zwischen- (rote Säule), und Abschlussuntersuchung (gelbe Säule) bei 8 mit Placebo behandelten Vollblutrennpferden mit Lungenbluten. *TBS analysis before and after treatment with placebo*

kanter, Anstieg der Makrophagen, der neutrophilen Granulozyten, der freien Erythrozyten und der Hämosiderophagen zu vermerken (Abb. 3). Insgesamt waren bei 4 der 20 mit Hyonate<sup>®</sup> behandelten Pferde (5 %) in der Abschlussuntersuchung weder Hämosiderophagen noch Erythrozyten im Tracheobronchialsekret nachweisbar. Bei einer bei diesen Pferden zusätzlich durchgeführten BAL wurden jedoch Hämosiderophagen und Erythrozyten in der BAL-Flüssigkeit festgestellt. Bei der Kontrollgruppe zeigten alle Pferde bei den Untersu-



**Abb. 4** Graduelle Verteilung der Zellen im Tracheobronchialsekret (0 = nicht vorhanden, 1 = vereinzelt, 2 = wenig, 3 = mässig, 4 = mässig - viel, 5 = viel) bei der Erst- (blaue Säule), Zwischen- (rote Säule), und Abschlussuntersuchung (gelbe Säule) bei 20 mit Hyonate<sup>®</sup> behandelten Vollblutrennpferden mit Lungenbluten (\*\*\*) = hoch signifikant,  $p$ ) *TBS score before and after treatment with hyaluronic acid*

chungen Hämosiderophagen und/ oder Erythrozyten im Tracheobronchialsekret (Abb. 3).

Die röntgenologische Untersuchung zeigte bei allen Pferden eine typische caudo-dorsale interstitielle Verdichtung des Lungengewebes (Abb. 2). Die mit Hyonate<sup>®</sup> behandelten Pferde zeigten bei der radiologischen Abschlussuntersuchung keine Veränderung im Vergleich zur Erstuntersuchung und zur Kontrollgruppe (Abb. 2).

#### Leistungsfähigkeit / Rennerfolge

Von den 20 mit Hyonate<sup>®</sup> behandelten Pferden, stellten die Trainer während der Therapie bei 7 Pferden (35 %) eine deutliche Leistungsverbesserung fest. Bei 11 Pferden blieb die Leistungsfähigkeit unverändert (55 %). Bei einem Pferd wurde eine Verschlechterung der Leistung gesehen und ein Pferd wurde während der Behandlung nur mässig belastet, so dass keine Aussage bezüglich der Leistungsfähigkeit getroffen werden konnte. Eine signifikante Verbesserung der tatsächlichen Rennerfolge der mit Hyonate<sup>®</sup> behandelten Pferde war jedoch weder während, noch bis 2 Monate nach der Therapie festzustellen (Tab. 2).

Insgesamt zeigten die mit Hyonate<sup>®</sup> behandelten Pferde, laut Aussage der Trainer, während Rennbelastung weniger bzw. keine Blutungen aus den Nüstern, wobei jedoch diesbezüglich ebenfalls keine signifikanten Unterschiede vor oder nach Behandlung festgestellt wurden.

#### Diskussion

Zur Ätiologie des Lungenblutens existieren verschiedene Theorien. Einige Autoren sehen druckmechanische Veränderungen bei Lungenerkrankungen, mit Erhöhung der Resistance und Erniedrigung der Lungencompliance, als Hauptursache

für Kapillarzerreißen (Robinson und Derkson, 1980, Robinson und Sorenson, 1978, Robinson, 1987). Andere Autoren halten dagegen die sekundäre Umwandlung der Gefäße im Rahmen von geringgradigen entzündlichen Veränderungen, für den entscheidenden Pathomechanismus des Lungenblutens. In diesem Fall geht die Arbeitshypothese von einer im Rahmen der Bronchiolitis erhöhten Gewebemasse aus. Diese vermehrte Gewebemasse stellt ihrerseits erhöhte metabolische Anforderungen. Dazu ist eine Neovaskularisation notwendig. Die Untersuchungen von O'Callaghan und Goulden (1982) sowie von Pascoe und Raphael (1982) zeigen, dass die Neovaskularisationen hauptsächlich von den Bronchialarterien ausgehen. Im weiteren Verlauf kommt es zu Anastomosen zwischen dem nutritiven bronchialarteriellen Kreislauf mit dem pulmonalkapillären Kreislauf an verschiedenen Lokalisationen. In der Belastung trifft nun ein vielfach erhöhter systemischer Blutdruck auf ein nicht angepasstes Kapillarnetz. Dieses kann entweder zu einem Durchpressen der Erythrozyten durch die endotheliale Barriere oder zum Zerreißen des Kapillarendothels führen. Damit tritt Blut aus dem Gefäßsystem in die luftführenden Wege der Lunge über. Bereits Cook (1974) vermutete einen Zusammenhang von Lungenbluten mit vorangegangenen Erkrankungen der Lunge, insbesondere mit allergisch bedingten Bronchospasmen, Emphysemen und chronischen Bronchitiden. Beim Rennpferd scheint zusätzlich, zum Teil eine Instabilität des Kapillarnetzes („capillary failure“) vorzuliegen, so dass bei hohen Rennbelastungen die Kapillarwand, die einerseits für den optimalen Gasaustausch sehr dünnwandig ist, und andererseits hohen Drücken standhalten muss, überfordert wird (Langesethemo et al., 1996). Ob „capillary failure“ eine primäre Ursache für Lungenbluten beim Vollblutpferd ist, oder nur in Kombination mit entzündlichen Veränderungen der Lunge auftritt, ist nicht geklärt.

Nach einer weiteren Theorie ist besonders die Lunge starken bewegungsabhängigen Stoßkräften, in Form von über den Brustkorb in kaudo-dorsaler Richtung laufenden Druckwellen, ausgesetzt. Diese Kräfte sollen ausreichen, ein Ödem und Blutungen zu induzieren (Schroter et al., 1998).

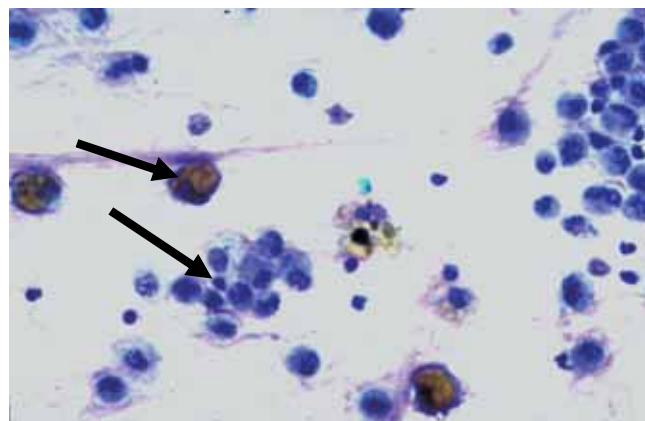
In bisher durchgeführten Studien, wie auch in der hier vorgestellten Studie, wurden bei Pferden mit Lungenbluten röntgenologisch dorso-kaudale Verdichtungen gesehen. Dieser Bereich gilt als typische Prädisloktionsstelle für Blutungen (Pascoe et al. 1983). Beim Rennpferd wird als Ursache dafür ein besonders gerades Aufzweigungsmuster der Atemwege mit resultierender, fehlerhafter Partikeldeposition, insbesondere kaudodorsal, diskutiert.

Röntgenologische Veränderungen wurden bei den behandelten Pferden nach 8 Wochen Therapie erwartungsgemäß nicht festgestellt, da eine Reduzierung röntgenologischer Verdichtungen bei Pferden mit Lungenbluten meistens erst mehrere Wochen oder sogar Monate nach einer Therapie zu erwarten ist (Pascoe et al. 1983).

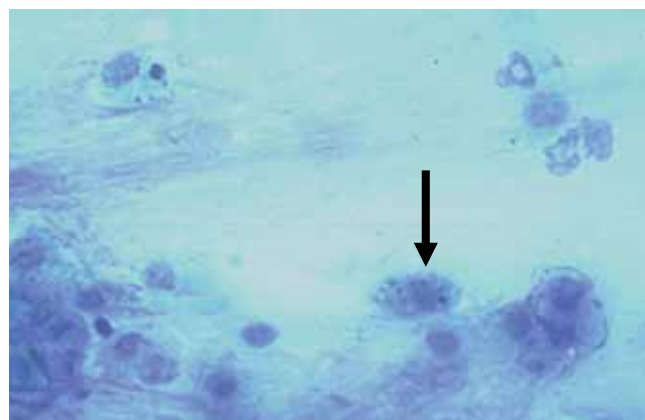
Hyonate<sup>®</sup> wurde in der Veterinärmedizin bisher hauptsächlich bei Sehnen-, und Gelenkerkrankungen des Pferdes eingesetzt. Die Wirksamkeit soll dabei sowohl bei lokalem, als auch bei systemischem Einsatz hauptsächlich auf einem entzündungshemmenden Effekt mit Stabilisierung der Synovialmembran beruhen (Kawcak et al. 1997, Asheim und Lindblad, 1976, Gaughan et al. 1991). Löscher (1991) ist jedoch der Ansicht, dass ein therapeutischer Nutzen bei der Anwendung hochmolekularer Hyaluronsäure nur bei lokaler Applikation zu erwarten ist.

Der antiinflammatorische Wirkmechanismus der Hyaluronsäure ist bisher jedoch noch nicht ganz geklärt. Es wird vermutet, dass der entzündungshemmende Effekt auf Hemmung der Phagozytoseaktivität der Granulozyten, Hemmung der Lymphozytenaktivität, Reduktion der Prostaglandinfreisetzung, Verminderung der Interleukinwirkung und Reduktion der Freisetzung von Radikalen beruht (Greenwald et al. 1980, May et al. 1992, Kawcak et al. 1997). Kawcak et al. (1997) konnten nach intravenöser Verabreichung von Hyaluronsäure einen antiinflammatorischen Effekt im Bereich synovialer Membranen feststellen. Es wurde angenommen, dass dieser Effekt auf eine Bindung und Aktivierung von Hyaluronsäuremolekülen an spezifische Rezeptoren antiinflammatorischer Zellen beruhe.

Eine antiinflammatorische Wirkung nach systemischer Applikation von Hyaluronsäure wurde auch in der Studie von Art et al. (1999) bei Pferden mit entzündlichen, obstruktiven Atemwegserkrankungen (RAO) festgestellt. Bei den behandelten Pferden kam es nach intravenöser Hyaluronsäureapplikation zu einer signifikanten Verringerung der neutrophilen Granulozyten in der BAL. Zusätzlich wurde dabei eine Reduktion der Isoprostan-Konzentration (antioxidativer Effekt) in der BAL nach Hyonate<sup>®</sup>-applikation festgestellt.



**Abb. 5a** Zytologische Untersuchung der Tracheobronchialsekrete vor Behandlung mit Hyonate<sup>®</sup> (Pappenheim Färbung x 400). Überwiegend neutrophile Granulozyten und Hämosiderophagen (®). Cytological examination of TBS before treatment with Hyonate<sup>®</sup> with predominantly neutrophils and hämosiderophages



**Abb. 5b** Zytologische Untersuchung der Tracheobronchialsekrete nach Behandlung mit Hyonate<sup>®</sup> (Pappenheim Färbung x 400). Deutliche Reduktion der neutrophilen Granulozyten und der Hämosiderophagen. Gehäuftes Auftreten von schaumigen Makrophagen (®). Cytological examination of TBS after treatment with Hyonate<sup>®</sup> with significant decrease of neutrophils and hämosiderophages

Die von uns untersuchten Rennpferde zeigten endoskopisch Lungenbluten und/ oder vorberichtlich Nasenbluten. Bei den Erstuntersuchungen stellten wir neben Lungenbluten (Hämosiderophagen und freie Erythrozyten) geringgradige Hinweise auf entzündliche Veränderungen im Bereich der Alveolen, Bronchien und des Interstitiums (erhöhte Zahl der neutrophilen Granulozyten, der Alveolarmakrophagen sowie vereinzelt Kreola-Körperchen und Riesenzellen und ganz selten Curschman Spiralen und Charcot-Leyden Kristalle) fest. Auch die arteriellen Blutgaswerte (Tab. 1) zeigten bei einigen Pferden sowohl vor, als auch nach Behandlung Hinweise auf einen geringgradig gestörten Gasaustausch (ggr. Partialinsuffizienz), das heißt, bei den von uns untersuchten Vollblutpferden war das Lungenbluten zum größten Teil mit einer geringgradigen Lungenerkrankung vergesellschaftet (Interpleuraldruck und alveoarterielle Sauerstoffdifferenz noch im Normbereich).

Bei den in dieser Studie mit Hyaluronsäure behandelten Vollblutpferden wurde sowohl eine deutliche Reduzierung der neutrophilen Granulozyten während der Behandlung als auch im Vergleich zur Kontrollgruppe vermerkt (Abb. 3, 4). Desweiteren wurde eine Reduzierung der freien Erythrozyten, sowie das Auftreten von schaumigen Makrophagen, nach Therapie festgestellt. Geht man bei der Ätiologie des Lungenblutens von einer Alveolitis und Bronchiolitis (Robinson und Derksen, 1980) aus, würde der antiinflammatorische Effekt der Hyonate<sup>®</sup> auch die Reduktion der Erythrozyten und Hämosiderophagen erklären.

Das vermehrte Auftreten von schaumigen Makrophagen im TBS wird als Hinweis auf die Öffnung von Bronchialverschlüssen in den kleinen Atemwegen und als Indiz für die Wirkung bronchienerweiternder und sekretolytischer Medikamente gesehen (Deconto und Deegen, 1983). Das Auftreten von schaumigen Makrophagen nach der Behandlung mit Hyaluronsäure könnte zusätzlich auf eine Verbesserung der mukoziliären Clearance und/oder auf eine vermehrte Bildung von Surfactant durch die alveolären Typ II-Zellen hinweisen (Diekmann und Deegen, 1990).

Beim Menschen wurden verschiedene Untersuchungen über die physiologische Rolle der Hyaluronsäure im Respirationstrakt durchgeführt. So wurde eine Erhöhung der Hyaluronsäurekonzentration bei chronischer und allergischer Bronchitis (Bjermer et al. 1987, Larsson et al. 1992, Riise et al. 1995) und nach Histamininhalation (Söderberg et al. 1989) festgestellt. Auch bei Pferden mit RAO zeigte sich eine deutlich höhere Hyaluronsäurekonzentration in Tracheobronchialspülösungen im Vergleich zu gesunden Tieren (Tulamo und Maisi, 1997). Es wird vermutet, dass diese Konzentrationserhöhung auf einer gesteigerten Produktion, einem gesteigerten Umsatz oder einem gesteigerten Verlust über Defekte des interstitiellen Lungengewebes beruht (Tulamo und Maisi, 1997). Die Rolle der Hyaluronsäure bei chronischen Lungenerkrankungen ist jedoch unklar. Ihre Konzentration wird in der Humanmedizin dennoch als Marker für entzündliche Veränderungen der Lunge herangezogen.

Nach den Ergebnissen der vorliegenden Studie scheint der intravenöse Einsatz von Hyaluronsäure einen antiinflammatorischen Effekt auf das Lungengewebe auch beim Pferd zu haben, da signifikante Unterschiede der neutrophilen Granulozyten im TBS der behandelten Tiere und der Kontrollgruppe vorliegen. Die Ursache dafür könnte u.a. ein Ersatz verbrauchter oder freigesetzter Hyaluronsäure durch die intrave-

nös zugeführte Hyaluronsäure sein. Inwieweit systemisch verabreichte Hyaluronsäure eventuell einen Effekt auf die Kollagenfaserstruktur des Lungeninterstitiums hat, sollte in weiteren Arbeiten durch pathohistologische Untersuchungen (Lungenbiopsien) abgeklärt werden.

Die subjektive Einschätzung der Trainer, dass unter Hyonate<sup>®</sup>-Behandlung eine zum Teil deutliche Leistungsverbesserung im Training eingetreten sei, ließ sich zwar aufgrund der Rennerfolge nicht bestätigen, könnte jedoch auf eine geringfügige Verbesserung der Lungenfunktion sowie der Gelenke und Sehnen hinweisen.

Als Therapeutikum zur Behandlung des belastungsinduzierten Lungenblutens erscheint die Hyaluronsäure zunächst jedoch, auch bei mehrmaliger Verabreichung, noch nicht ausreichend geeignet, da bis jetzt lediglich ein antiinflammatorischer Effekt nachgewiesen wurde. Dieser ist auch mit konventionellen, kostengünstigeren Entzündungshemmern zu erreichen. In späteren Untersuchungen muss geklärt werden, ob die Verringerung des Lungenblutens (kein Nasenbluten mehr nach Behandlung, signifikante Reduktion der freien Erythrozyten, tendenzielle Reduktion der Hämosiderophagen) evtl. auch auf zusätzlichen z.B. kapillarstabilisierenden Effekte beruht. Gleichsam ist unklar, ob eine weitere Verbesserung der Ergebnisse dieser Studie, in Bezug auf die Reduzierung des Lungenblutens, durch noch längerfristige oder häufigere Verabreichungen der Hyaluronsäure erreicht werden kann.

Auch wenn sich in späteren Studien eine andere Verabreichungsform als die intravenöse (z.B. oral oder als Aerosol) für den Einsatz beim Pferd als geeignet herausstellt, bleibt der Einsatz von Hyaluronsäure beim Pferd in Deutschland dennoch dopingrelevant.

Bevor ein Einsatz als Therapeutikum bei Lungenerkrankungen empfohlen wird, sollten weitere Studien zur Pharmakologie und zum Wirkmechanismus von Hyaluronsäure durchgeführt werden.

## Firmenverzeichnis

Hyonate<sup>®</sup>, Bayer Vital GmbH, Leverkusen, Germany

## Danksagung

Die beteiligten Autoren bedanken sich bei Dr. Zafiris und Dr. Fotiakis, aus der Pferdeklinik Athen/Griechenland, für die Mithilfe bei den Untersuchungen und der Firma Bayer Vital GmbH für die finanzielle Unterstützung der Studie sowie bei Herrn Markus Doherr, Institut für Tierneurologie, Universität Bern, für die statistische Auswertung.

## Literatur

- Art, T., Kirschvink, N., Le Sueur, C., Smith, N. und Lekeux, P. (1999): Effect of Hyonate Administration On Pulmonary Function And Indices Of Oxidative Stress In COPD Horses In Clinical Remission At Rest And After Exercise. *J. of Equine Vet. Sc.* 19, 10, 646-651
- Amis, T. C., Pascoe, J. R., und Hornof, W. (1984): Topographic distribution of pulmonary ventilation and perfusion in the horse. *Am. J. vet. Res.* 45, 1597-1601
- Arthur, R. M. (1980): The clinical management of exercise-induced pulmonary hemorrhage at southern California thoroughbred race-

- tracks. Proc. 26. Ann. convent. Am. Assoc. Equine Pract., Anaheim, 1980, 441-444
- Asheim, A. und Lindblad, G. (1976): Intra-articular treatment of arthritis in race-horses with sodium hyaluronate. Acta Vet. Scand. 17: 379-394
- Bjermer, L., Engström-Laurent, A. und Lundgren, R. (1987): Hyaluronate and Type3 procollagen peptide concentrations in bronchoalveolar lavage fluid as markers of disease activity in farmer's lung. Br. Med. J. 295, 803-806
- Burrell, M.H. (1985): Endoscopic and virological observations on respiratory diseases in a group of young thoroughbred horses in training. Equine Vet. J. 17, 99-103
- Cook, W.R. (1974): Epistaxis in the racehorse. Equine Vet. J., 6: 45-58.
- Deconto, I. und Deegen, E. (1983): Neue Erkenntnisse der zytologischen Untersuchung des Tracheobronchialsekretes lungenkranker Pferde. Prakt. Tierarzt 65, 141-145
- Dieckmann, M. und Deegen, E. (1990): Klinische Bedeutung der Tracheobronchialsekret-Zytologie. Pferdeheilkunde 6, 101-110
- Gaughan, E.M., Nixon, A., Krook, P. Yeager, A., Mann, K., Mohammed, H. und Bartel, D. (1991): Effects of sodium hyaluronate on tendon healing and adhesion formation in horses. Am. J. Vet. Res. 52: 764-773
- Gertsen, K. E. und Dawson, H. A. (1977): Pulmonary hemorrhage in a racing thoroughbred. Vet. Med. Small Anim. Clin. 72, 1635-1637
- Greenwald, R. und Moay, W (1980): Effect of oxygen-derived free radicals on hyaluronic acid. Arthritis Rheum. 23: 455-463
- Hillidge, C. J., Jane, T. J., Johnson, E. L. und Asquith, R. L. (1984): Preliminary investigations of exercise-induced pulmonary hemorrhage in racing quarter horses. J. Equine vet. Sci. 4, 21-23
- Johnson, J. H., Garner, H. E., Hutcheson, D. P., und Merriam, J. G. (1973): Epistaxis. Proc. 19. Ann. Convent. Am. Assoc. Equine Pract., Atlanta, 1973, 115-121
- Kawcak, C.E., Frisbie, D.D., Trotter, G.(1997) McIlwraith, C.W., Gilette, S.M., Powers, B.E. und Walton, R.M.: Effects of intravenous administration of sodium hyaluronate on carpal joints in exercising horses after arthroscopic surgery and osteochondral fragmentation. Am. J. Vet. Res. 58: 1132-1140
- Langsethemo, I., Meyer, T. S., Fedde, M. R. und Erickson, H. H. (1996): Relationship between Pulmonary Vascular Pressure and Pulmonary Hemorrhage in Horses: Is there a threshold value. AAEP Proceedings, 42, 227-228
- Larsson K., Eklund, A. und Malmberg, P. (1992): Hyaluronic acid (hyaluronan) in BAL fluid distinguishes farmers with allergic alveolitis from farmers with asymptomatic alveolitis. Chest, 101, 109-114
- Löscher, W., Ungemach, F.R. und Kroker, R. (1991): Grundlagen der Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren. Verlag Paul Parey, Berlin, Mamburg, pp.315-316.
- Manohar, M., Hutchens, E. und Coney, E. (1994): Frusemide attenuates the exercise-induced rise in pulmonary capillary blood pressure in horses. Equine vet. J. 26, 51-54
- Mason, D. K., Collins, E. A., und Watkins, K. L. (1983): Exercise induced pulmonary hemorrhage. In Snow, D. h., Persson, S.G.B., und Rose, R. J., (Hrsg.): Equine exercise physiology. Granta Edition, Cambridge, 57-63
- May, S., Hooke, R. und Less, P. (1992): Inhibition of interleukin-1 activity by equine synovial fluid. Equine Vet. J. 24: 99-102
- O'Callaghan, M. W. und Goulden, B. E. (1982): Radiographic changes in the lungs of horses with exercise-induced epistaxis. N. Z. vet. J. 30, 117-118
- O'Callaghan, M. W., Hornof, W. J., Fisher, P. E., und Pascoe, J. R. (1987g): Exercise-induced pulmonary hemorrhage in the horse: Results of a detailed clinical, post mortem and imaging study. VII. Ventilation/perfusion scintigraphy in horses with EIPH. Equine vet. J. 19, 423-427
- Pascoe, J. R. und Wheat, J. D. (1980): Historical background. prevalence, clinical findings and diagnosis of exercise induced pulmonary hemorrhage (EIPH) in the racing horse. Proc. Ann. Conv. Am. Assoc. Equine Pract., Anaheim, 1980, 417-420
- Pascoe, J.R. und Raphael, C.F. (1982): Pulmonary hemorrhage in racing thoroughbreds: A preliminary study. Am. J. vet. Res. 42, 703-707
- Pascoe, J. R., O'Brient, T. R., Wheat, J. D., und Meagher, D. M. (1983): Radiographic aspects of exercise-induced pulmonary hemorrhage in racing horses. Vet. Radiol. 24, 85-92
- Riise, G.C., Ahlstedt, S. und Larsson, S. (1995): Bronchial inflammation in chronic bronchitis assessed by measurement of cell products in bronchial lavage fluid. Thorax, 50, 360-365
- Robinson, N.E. und Sorenson, P.R. (1978): Colateral flow resistance and time constants in dog and horse lungs. J. appl. Physiol. 44:63-68
- Robinson, N. E. und Derksen, F. J. (1980): Small airway obstruction as a cause of exercise-associated pulmonary hemorrhage: A hypothesis. Proc. 26. Ann. Convent. Am. Assoc. Equine Pract., Anaheim, 421-430
- Robinson, N.E. (1987): Exercise induced pulmonary hemorrhage (EIPH): Could Leonardo have got it right? Equine Vet. J. 19, 370-372.
- Schroter, R.C., Marlin, D.J. und Denny, E. (1998): Exercise induced pulmonary hemorrhage (EIPH) in horses- results from locomotory impact induced trauma- a novel unifying concept. E.V.J., 30: 3, 186-192
- Söderberg, M., Bjermer, L. und Hällgren, R. (1989): Increased Hyaluronan (hyaluronic acid) levels in bronchoalveolar lavage fluid after histamin inhalation. Int. Arch. Allergy Appl. Immunol., 88, 373-376
- Trötschel, C. (1997): Lungenfunktionsprüfung mit besonderer Berücksichtigung der Kapnographie zur Diagnostik von Lungenerkrankungen beim Pferd. Hannover, Diss.
- Tulamo, R.M. und Maisi, P. (1997): Hyaluronate concentration in tracheal lavage fluid from clinically normal horses and horses with chronic obstructive pulmonary disease. Am. J. Vet. Res., 58, 729-732
- Whitwell, K. E. und Greet, T. R. C. (1984): Collection and evaluation of tracheobronchial washes in the horse. Equine vet. J. 16, 499-508

Dr. Heidrun Gehlen  
Klinik für Pferde  
Tierärztliche Hochschule Hannover  
Bischofsholer Damm 15, 30173 Hannover  
E-Mail: heidrun.gehlen@tiho-hannover.de