

Die Akute Phase Reaktion nach minimalinvasiven Eingriffen beim Pferd

Miriam S. Miller¹, Andreas Moritz², Michael Röcken³, Joachim Roth⁴ und Lutz-Ferdinand Litzke¹

Klinik für Pferde (Chirurgie) mit Lehrschmiede¹, Klinik für Kleintiere (Innere Medizin und Laboratoriumsdiagnostik)² der Justus-Liebig Universität Giessen, Tierklinik Starnberg³ und Institut für Veterinärphysiologie der Justus-Liebig Universität Giessen⁴

Zusammenfassung

Eine Akute Phase Reaktion (APR) ist die systemische Antwort auf biologische, chemische und physikalische Reize. Diese Entzündungsreaktion soll im Rahmen dieser Studie den postoperativen Verlauf verschiedener minimalinvasiver Eingriffe näher charakterisieren. Als Parameter wurden die Körperinnentemperatur, die Leukozytenzahl, das Zytokin Interleukin-6 (IL-6), und die Akute Phase Proteine Serum Amyloid A (SAA), Haptoglobin und Fibrinogen gewählt. Insgesamt wurden vier Gruppen gebildet. In Gruppe 1 (n=11) sind Pferde aufgenommen, an welchen eine diagnostische Laparoskopie durchgeführt wurde. Gruppe 2 besteht aus Tieren (n=10) welche einer therapeutischen Laparoskopie unterzogen wurden. Arthroskopische Eingriffe wurden in Gruppe 3 (n=24) zusammengefasst. Zusätzlich wurden, zur Bestimmung von Referenzwerten, 50 klinisch gesunde Tiere als Kontrollgruppe in die Untersuchung aufgenommen. Die Bestimmung der Körperinnentemperatur, der Leukozytenzahl, des Zytokins IL-6, des major Akute Phase Protein (APP) Serum Amyloid A (SAA), und der beiden moderaten APP Haptoglobin und Fibrinogen zeigt eine deutliche APR in allen drei Patientengruppen. IL-6 stieg einzig in Gruppe 2 deutlich und signifikant innerhalb von 6 Stunden nach dem Eingriff an. In allen Gruppen stiegen die SAA-Werte deutlich an, wobei die höchsten Werte nach therapeutischen Laparoskopien auftraten. Haptoglobin und Fibrinogen zeigten in den Gruppen 2 und 3 signifikante Erhöhungen der Mittelwerte, wohingegen nach diagnostischen Laparoskopien kaum Schwankungen der Werte bemerkbar waren. Die APR erwies sich als abhängig von der Lokalisation und der Art des Eingriffes.

Schlüsselwörter: minimalinvasive Chirurgie, Interleukin-6, Serum Amyloid A, Haptoglobin, Fibrinogen

The equine acute phase response after keyhole surgery*

The acute phase response (APR) is the systemic reaction following biological, chemical and/or physical stimuli. In order to characterise this inflammatory response after keyhole surgery in horses the following parameters were chosen: body temperature, white blood cell count (WBC), the cytokine interleukin-6 (IL-6) and the acute phase proteins serum amyloid A (SAA), haptoglobin and fibrinogen. The patients were divided into four groups. Group 1 (n=11) was composed of horses undergoing diagnostic laparoscopy. All of these patients had a history of recurrent abdominal pain of unknown origin. In the second group (n=10) therapeutic laparoscopy was performed, including closure of the spatium lienorenale (n=6), ovariectomy (n=3) and removal of adominal testis (n=1). The third group comprised 24 horses on which arthroscopy was performed. The fourth group (=control group) consisted of 50 healthy horses which were examined clinically and were found to have no signs of systemic disease after clinical examination. Blood samples taken in this group were used to determine the reference ranges for SAA, haptoglobin and fibrinogen. A general physical examination was performed prior to surgery in groups 1-3. Only horses with an unremarkable clinical examination prior to surgery and no wound healing disorders post surgery were included in this study. Blood samples were obtained directly prior to surgery as well as 6, 12, 24, 48 and 72 hours post surgery. The body temperature and WBC rose significantly within 12 hours post surgery; however, with one exception both parameters remained within the reference range. 12 hours post surgery the body temperature in group 2 was 38.4 ± 0.8 °C (mean \pm standard deviation). IL-6 was measured using a bioassay based on a IL-6 dependent murine hybridoma cell line B9. IL-6 increased significantly within 6 hours post therapeutic laparoscopy (group 2). In contrast, IL-6 concentrations remained low in group 1 and 3. An immunoturbidimetric assay (Eiken Chemical Co. Ltd, Tokyo/Japan) was used to determine SAA concentrations. The SAA levels measured in the control group were 1.5 ± 1.25 µg/ml (mean \pm standard deviation). SAA-values increased significantly within 12 hours post surgery in group 3, followed by group 2 (24 hours post surgery). The highest values were measured in group 2. Haptoglobin and fibrinogen increased in a similar pattern within 24 to 48 hours post therapeutic laparoscopy (group 2) and arthroscopy (group 3). Within the observation period, diagnostic laparoscopy (group 1) induced only minor changes in haptoglobin and fibrinogen levels. In conclusion, the equine APR proved to be dependent on the localisation and type of surgical procedure.

Keywords: keyhole surgery, interleukin-6, serum amyloid A, haptoglobin, fibrinogen

Einleitung

Die Akute Phase Reaktion (APR) ist die Antwort des Körpers auf verschiedenste Reize. Ursachen für die Induktion einer Entzündung können biologischer, chemischer und physikalischer Natur sein (Kushner 1982, Heinrich et al. 1990, Petersen et al. 2004, Gruys et al. 2005). Während einer APR

kommt es sowohl lokal als auch systemisch zu einer Alteration der körpereigenen Homöostase. Die Freisetzung von biogenen Aminen und Neuropeptiden führt zur Ausprägung der Kardinalsymptome der Entzündung (Dargel 1995). Ausgangspunkt für eine systemische Entzündungsreaktion ist die Freisetzung von Zytokinen aus Leukozyten, insbesondere aus Makrophagen (Heinrich et al. 1990).

Die systemische APR besteht unter anderem aus Fieber, Leukozytose, gesteigerter Glukokortikoidsekretion, Konzentrationsänderungen von Eisen, Zink und Kupfer im Blut und in der Leber, Aktivierung der Gerinnung, des Komplementsystems, des Kininsystems und der Fibrinolyse, einer negativen Stickstoffbilanz, Veränderungen des Aminosäurestoffwechsels und insbesondere aus drastischen Veränderungen der Plasmaproteinzusammensetzung (Koj et al. 1988, Kushner et al. 1989, Auer et al. 1989). Auch das Endokrinium ist von den Veränderungen während der APR betroffen. Erkrankte und verletzte Individuen haben gesteigerte Plasmakonzentrationen von Hormonen, darunter Glukagon, Insulin, ACTH, Kortisol, Katecholamine, Thyreotropes Hormon (TSH), Thyroxin, Aldosteron und Vasopressin (Kushner 1982, Mills et al. 1997, Mills et al. 1998). Die Zytokine Interleukin-6 (IL-6), Tumor Nekrose Faktor- α (TNF- α) und Interleukin-1 (IL-1) steigern die Prostaglandin-E₂-Synthese, woraus die Erhöhung der Körpertemperatur resultiert (Morris et al. 1992). Die hepatische APR wird ebenfalls von mehreren Mediatoren induziert. Die wichtigsten Zytokine sind IL-1, TNF- α , Interferon- γ , Transforming growth factor- β (TGF- β) und IL-6. Unter dem Einfluss der Zytokine werden in der Leber die Akute Phase Proteine (APP) verstärkt synthetisiert. Das APP-Profil ist speziesspezifisch (Murata et al. 2004). Es werden minor (-2 fache Erhöhung), moderate (2-10 fache Erhöhung) und major (10-1000 fache Erhöhung) APP unterschieden (Murata et al. 2004). Beim Pferd ist Serum Amyloid A (SAA) ein major APP, charakterisiert durch sehr niedrige Serumkonzentrationen in gesunden Individuen und einem raschen und hohen Anstieg während einer APR (Nunokawa et al. 1993). Neben der hepatischen Synthese wird SAA auch in der Milchdrüse, von Makrophagen und in Gelenken synthetisiert (Jensen und Whitehead 1998, Eckersall et al. 2001, Jacobsen et al. 2005b). Standardoperationen wie Kastrationen und experimentell induzierte aseptische Arthritiden verursachen einen SAA-Anstieg, welcher innerhalb von 2 Tagen sein höchstes Niveau erreicht und am 15. Tag wieder auf das Ausgangsniveau sinkt (Pepys et al. 1989, Hulten et al. 1999, Hulten et al. 2002, Jacobsen et al. 2005b).

Haptoglobin und Fibrinogen sind beim Pferd moderate APP, deren Hauptsyntheseort die Leber ist (Allen und Kold 1988; Taira et al. 1992). Ein Anstieg der Fibrinogen- und Haptoglobinkonzentration im Plasma ist nach verschiedenen chirurgischen Eingriffen erkennbar. Laparotomien, Kastrationen, aber auch experimentell induzierte aseptische Arthritiden verursachen einen Anstieg der beiden Parameter im Plasma. Dabei erfolgt der erste Anstieg 24 bis 48 Stunden nach dem Eingriff (Allen und Kold 1988, Taira et al. 1992, Hulten et al. 2002, Feige et al. 2003, Jacobsen et al. 2005a, Jacobsen et al. 2005b).

Die Reaktion der genannten APP in Folge einer Standardoperation wie einer Kastration, ist bereits bekannt. In welcher Form eine APR nach minimalinvasiven Eingriffen beim Pferd erfolgt, ist die Fragestellung dieser Studie. Die Vorteile der minimalinvasiven Therapie beim Pferd sind eindeutig. Equiden reagieren im Vergleich zu anderen Spezies mit einer sehr viel ausgeprägteren Entzündungsreaktion sowohl auf Eingriffe in der Bauchhöhle als auch bei Gelenkoperationen. Auch besteht beim Pferd ein deutlich höheres Narkoserisiko, weshalb, falls technisch möglich, eine Operation am stehenden, sedierten Tier bei gleichem Operationserfolg einer Operation in Allgemeinanästhesie vorzuziehen ist. Die Bestimmung von APP stellt in der Humanmedizin ein wichtiges Instrument zur

postoperativen Überwachung und Früherkennung von überschießenden Entzündungsreaktionen dar. Beim Pferd hat sich die Erforschung der APR bis jetzt vorrangig auf die Charakterisierung experimentell induzierter Entzündungen beschränkt. Ziel der vorliegenden Studie soll die Beschreibung der APR beim Pferd nach verschiedenen minimalinvasiven Eingriffen unter Klinikbedingungen sein. Dies soll mit Hilfe der Körpertemperatur, der Leukozytenzahl, der Parameter IL-6, SAA, Haptoglobin und Fibrinogen geschehen.

Material und Methoden

Die Patienten dieser Studie stammen aus dem Patientengut der Klinik für Pferde (Chirurgie) mit Lehrschmiede der Justus-Liebig Universität Giessen und der Tierklinik Starnberg. Die Studie wurde von September 2002 bis Juni 2003 durchgeführt. Als Probanden wurden alle Pferde aufgenommen, die in diesem Zeitrahmen einer Laparoskopie oder Arthroskopie unterzogen wurden. Eine Voraussetzung war ein ungestörtes Allgemeinbefinden und eine Körpertemperatur innerhalb der Referenzwerte vor dem Eingriff, sowie ein ungestörter klinischer Heilungsverlauf post operationem (p OP). Die Arthroskopien wurden unter Allgemeinanästhesie durchgeführt, wohingegen die Pferde mit laparoskopischen Operationen

Tab 1 Verteilung von Alter, Geschlecht und Rasse in den drei Patientengruppen und der Kontrollgruppe. 1Alter (Median \pm Standardabweichung) in Jahren

Distribution of age, sex and race in the four groups. 1Age (median \pm standard deviation) in years

Gruppe	Alter ¹	Geschlechterverteilung	Rassezugehörigkeit
1 (n= 11) diagnostische Laparoskopie	12,0 \pm 2,6	Hengste: 0 Stuten: 1 Wallache: 10	Warmblüter: 8 Araber: 1 Hafflinger: 1 Dt. Reitpony: 1
2 (n= 10) therapeutische Laparoskopie	7,5 \pm 3,6	Hengste: 1 Stuten: 4 Wallache: 5	Warmblüter: 8 Araber: 1 Friesen: 1
3 (n= 24) Arthroskopie	8,0 \pm 3,6	Hengste: 0 Stuten: 7 Wallache: 17	Warmblüter: 18 Dt. Reitpony: 1 Quarter Horse: 2 Friesen: 1 Hafflinger: 1 Traber: 1
Referenzgruppe (n= 50)	8,5 \pm 5,0	Hengste: 25 Stuten: 15 Wallache: 10	Warmblüter: 38 Eng. Vollblut: 3 Dt. Reitpony: 2 Quarter Horse: 3 Hafflinger: 4

mit Hilfe einer Neuroleptanalgesie und Lokalanästhesie für den Eingriff vorbereitet wurden. Die laparoskopischen Patienten konnte in zwei Gruppen eingeteilt werden. Gruppe 1 beinhaltet 11 Patienten, welche zur Abklärung von rezidivierenden Koliken einer diagnostischen Laparoskopie unterzogen wurden. Gruppe 2 umfasst 10 Patienten, an welchen ein laparoskopischer Eingriff zum Verschluss des Milznierenraumes (n=6), zur Ovariektomie (n=3) oder zur Entfernung eines abdominal gelegenen Testikels (n=1) vorgenommen wurde. Zur Bestimmung von Referenzwerten für SAA, Haptoglobin und Fibrinogen wurden 50 klinisch gesunde Pferde in die Studie eingeschlossen (siehe Tabelle 1).

Unmittelbar vor der Operation und 6, 12, 24, 48 und 72 Stunden nach dem Eingriff wurden die Patienten klinisch untersucht und dabei die Vitalparameter Puls, Atmung und Temperatur bestimmt. Es folgte eine spezielle Untersuchung

des Operationsgebietes. Zu jedem Untersuchungszeitpunkt wurden Blutproben zur Bestimmung der Leukozytenzahl, von IL-6, und den Akute Phase Proteinen SAA, Haptoglobin und Fibrinogen gewonnen.

Die Entnahme der Blutproben erfolgte nach lokaler Desinfektion an der Vena jugularis externa. Zum Einsatz kam das System S-Monovette® (Sarstedt, Nürnberg). Serum wurde mit Hilfe eines Koagulationaktivatorgels gewonnen, da für die Bestimmung von Haptoglobin eine Hämolyse verhindert werden musste. Des Weiteren wurden Proben in Röhrchen mit Antikoagulantien gewonnen. Dabei handelte es sich um Lithium-Heparin (10-30 I.E./ml), Zitrat (1:10) und Kalium₃-EDTA (1%) (Sarstedt, Nürnberg).

Die hämatologischen Parameter wie die Leukozytenzahl wurden innerhalb von zwei Stunden nach Entnahme mit dem Vet ABC® (ABX Hématologie, Montpellier/Frankreich) bestimmt. Die Bestimmung der einzelnen Proteine erfolgte je nach Möglichkeit entweder mit frischen, mit gekühlten oder tiefgefrorenen Proben. Durch Voruntersuchungen bzw. entsprechend den jeweiligen Testverfahren war ein solches Vorgehen ohne Verfälschung der Testergebnisse möglich.

Ein IL-6 Bioassay fand Verwendung für die Bestimmung des biologisch aktiven IL-6 im Plasma. Grundlage dieses Bioassays ist die Hybridoma Zelllinie B9 (Arden et al. 1987, Van Oers et al. 1988). IL-6 wurde bei 3 Pferden der Gruppe 1, bei 7 Pferden der Gruppe 2 und bei 10 Pferden der Gruppe 3 bis 48 Stunden p OP bestimmt. Aufgrund der kleinen Probenzahl in Gruppe 1 (n=3) wurde auf eine statistische Prüfung dieses Parameters verzichtet. Zur besseren Anschaulichkeit wurden in Diagramm 3 lediglich Mittelwerte und Standardabweichungen dieser Gruppe eingefügt. Die Bestimmung von SAA erfolgte mit dem LZ Test ‚Eiken‘ SAA (Eiken Chemical Co. Ltd, Tokyo/Japan). Haptoglobin wurde mit Hilfe des Phase™ Range Haptoglobin Testkits (Tridelta Development Limited, Bry/Irland) am COBAS Mira S (Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen) photometrisch ermittelt. Der Fibrinogengehalt wurde mit der Hitzepräzipitation nach MILLAR (1971) gemessen. Verwendung fand der QBC®VetAuto-read™ (IDEXX, Wörstadt) in Kombination mit dem IDEXX Fibrinogen-Heizblock (IDEXX, Wörstadt).

Statistische Analyse

Die statistische Analyse und graphische Darstellung wurde mit Hilfe der GraphPad® Software 3.0 (San Diego, Californien/USA) durchgeführt. Die Beschreibung eines Parameters innerhalb einer Gruppe im Zeitverlauf wurde mit dem Kruskal-Wallis-Test gefolgt von dem A-posteriori Dunn's multiple Comparison-Test berechnet. Die Berechnung von Gruppenunterschieden erfolgte mit einer zweifaktoriellen ANOVA. Als signifikant wurden alle p-Werte <0,05 bewertet.

Ergebnisse

Körperinnentemperatur

Gruppe 1 zeigt innerhalb von 12 Stunden nach der diagnostischen Laparoskopie einen signifikanten ($p < 0,05$) Anstieg

von $37,1 \pm 0,7$ °C auf $37,8 \pm 0,4$ °C. In Gruppe 2 ist dieser Anstieg innerhalb der ersten 12 Stunden post OP deutlicher zu beobachten ($p < 0,01$, $37,4 \pm 0,4$ °C \rightarrow $38,4 \pm 0,8$ °C). Nach arthroskopischen Eingriffen (Gruppe 3) ist ebenfalls ein signifikanter Anstieg der Körperinnentemperatur innerhalb von 12 Stunden zu messen ($p < 0,001$, $37,5 \pm 0,5$ °C \rightarrow $38,1 \pm 0,4$ °C). Zwölf Stunden nach einem operativen Eingriff wird in allen 3 Gruppen der Höchstwert während des gesamten Beobachtungszeitraumes erreicht. Zwischen 12 und 72 Stunden p OP ist in allen Gruppen ein Sinken der Körperinnentemperatur erkennbar. Es ist ein hochsignifikanter Gruppenunterschied mit $p < 0,0001$ berechenbar. Pferde, die einer therapeutischen Laparoskopie unterzogen wurden haben damit eine deutlich höhere Körperinnentemperatur als die Patienten in den Gruppen 1 und 3. Wie aus Abbildung 1 ersichtlich liegen die Körperinnentemperaturen aller Pferde, außer dem 12 Stundenwert in Gruppe 2, im Mittel innerhalb des Referenzbereichs ($37,5$ - $38,2$ °C).

Leukozytenzahl

Innerhalb von 12 Stunden nach einer therapeutischen Laparoskopie bzw. einer Arthroskopie ist ein signifikanter Anstieg der Leukozytenzahl zu erkennen (Gruppe 2 $p < 0,05$; Gruppe 3 $p < 0,001$). Auch in Gruppe 1 (diagnostische Laparoskopie) steigt die Leukozytenzahl in diesem Zeitraum an, allerdings ist dabei keine Signifikanz zu berechnen. Der Null-Wert der Gruppe 1 beträgt $6,4 \pm 1,3 \times 10^9/L$ und steigt auf einen Maximalwert 48 Stunden p OP von $9,0 \pm 2,7 \times 10^9/L$. Der Ausgangswert der Leukozytenkonzentration ist in Gruppe 2 $6,8 \pm 1,8 \times 10^9/L$ und steigt 12 Stunden p OP auf ein Maximum von $9,3 \pm 1,7 \times 10^9/L$. In Gruppe 3 ist der Null-Wert $6,3 \pm 1,7 \times 10^9/L$. Die maximale Leukozytenzahl wird in Gruppe 3 innerhalb von 12 Stunden p OP erreicht ($8,5 \pm 2,2 \times 10^9/L$). Es bestehen signifikante Schwankungen der Leukozytenzahl im Beobachtungszeitraum ($p < 0,0001$), es sind aber keine signifikanten Unterschiede im Verlauf zwi-

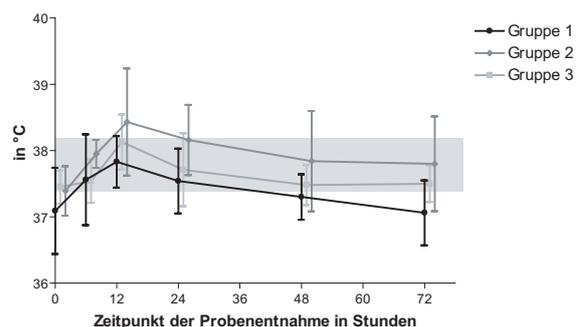


Abb 1 Körperinnentemperatur aller drei Patientengruppen während des Beobachtungszeitraumes. Dargestellt sind Mittelwerte und die Standardabweichungen. Der Referenzbereich ist grau unterlegt ($37,5$ - $38,2$ °C).

Body temperature of Group 1-3 within the observation period. Median and standard deviation is displayed for every group at every sampling time. The reference range is highlighted in grey ($37,5$ - $38,2$ °C).

schen den drei Gruppen erkennbar (Abbildung 2). Insgesamt wird im Mittel zu keinem Zeitpunkt der für gesunde Pferde geltende Referenzbereich verlassen.

Interleukin-6

In Gruppe 2 ist innerhalb von 6 Stunden ein deutlich ausgeprägter signifikanter Anstieg der Messwerte von einem Mittelwert von 90 ± 31 IE/ml zum Zeitpunkt 0 unmittelbar prä operativ gemessen auf 1060 ± 636 IE/ml zu verzeichnen ($p < 0,05$). In Gruppe 3 ist nach den arthroskopischen Ein-

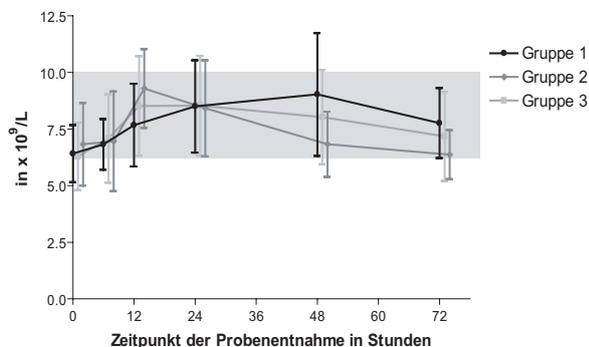


Abb 2 Leukozytenzahl aller drei Patientengruppen während des Beobachtungszeitraumes. Dargestellt sind Mittelwerte und die Standardabweichungen. Der Referenzbereich der vom Gerätehersteller angegeben ist, ist grau unterlegt ($6-10 \times 10^9/L$).
WBC of Group 1-3 within the observation period. Median and standard deviation is displayed for every group at every sampling time. The reference range specified by the producer of the blood analyser Vet ABC® (ABX Hématologie, Montpellier/Frankreich) is highlighted in grey ($610 \times 10^9/L$).

griffen keine signifikante Änderung der Mittelwerte berechenbar. Abbildung 3 zeigt die drei Patientengruppen, wobei sich die Gruppen 2 und 3 hochsignifikant unterscheiden ($p < 0,0001$).

Serum Amyloid A

Bei der Bestimmung von SAA stehen nur der Mittelwert und die Standardabweichung der Referenzgruppe als Referenzbe-

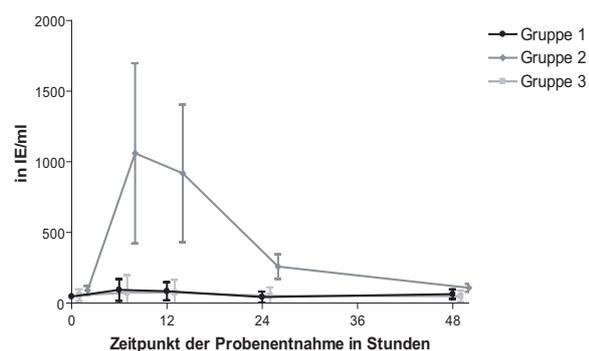


Abb 3 IL-6 Werte aller drei Patientengruppen während des Beobachtungszeitraumes. Dargestellt sind Mittelwerte und die Standardabweichungen.
IL-6 values of Group 1-3 within the observation period. Median and standard deviation is displayed for every group at every sampling time.

reich zur Verfügung ($1,5 \pm 1,25$ $\mu\text{g/ml}$ SAA). Innerhalb von 24 Stunden p OP zeigt sich in Gruppe 2 ein signifikanter Anstieg ($p < 0,01$, 18 ± 36 $\mu\text{g/ml}$ \rightarrow 316 ± 55 $\mu\text{g/ml}$ SAA). Arthroskopische Eingriffe verursachen einen signifikanten Anstieg der SAA-Werte innerhalb von 12 Stunden p OP ($p < 0,01$,

$2,8 \pm 6,8$ $\mu\text{g/ml}$ \rightarrow 28 ± 19 $\mu\text{g/ml}$ SAA). Für diesen Parameter sind deutliche Unterschiede zwischen den Gruppen berechenbar ($p < 0,0001$), wobei in Gruppe 2 die höchsten SAA-Werte zu beobachten sind (siehe Abbildung 4). In den Patientengruppen 2 und 3 werden die Höchstwerte 48 Stunden p OP gemessen, in Gruppe 1 steigt der SAA-Wert bis 72 Stunden p OP kontinuierlich an.

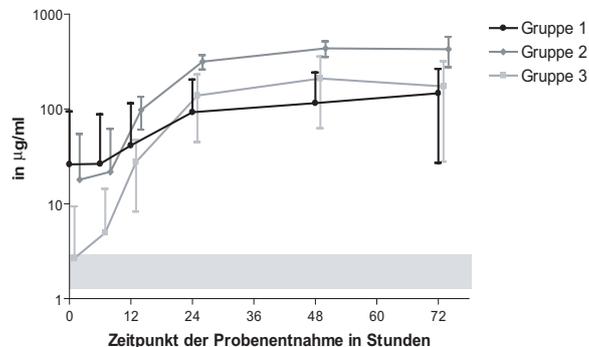


Abb 4 SAA-Werte aller drei Patientengruppen während des Beobachtungszeitraumes. Dargestellt sind Mittelwerte und die Standardabweichungen. Die Darstellung ist halbogarithmisch. Der Referenzbereich, in der Kontrollgruppe ermittelt, liegt bei $1,5 \pm 1,25$ $\mu\text{g/ml}$.
SAA values of Group 1-3 within the observation period. Median and standard deviation is displayed for every group at every sampling time. The y-axis is pictured in a logarithmic manner. The reference range specified by the control group is highlighted in grey ($1,5 \pm 1,25$ $\mu\text{g/ml}$).

Haptoglobin

Der vom Hersteller Tridelta (Tridelta Development Limited, Bry/Irland) angegebene Referenzbereich von $0,65-3,73$ mg/ml ist deutlich weiter, als der in der Referenzgruppe ermittelte Haptoglobinmittelwert von $1,3 \pm 0,6$ mg/ml (grau unterlegt, Abbildung 5).

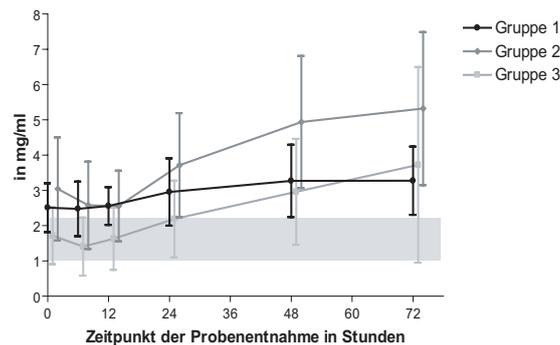


Abb 5 Haptoglobinwerte aller drei Patientengruppen während des Beobachtungszeitraumes. Dargestellt sind Mittelwerte und die Standardabweichungen. Der Referenzbereich, in der Kontrollgruppe ermittelt, ist grau unterlegt ($1,3 \pm 0,6$ mg/ml).
Haptoglobin values of Group 1-3 within the observation period. Median and standard deviation is displayed for every group at every sampling time. The reference range specified by the control group is highlighted in grey ($1,3 \pm 0,6$ mg/ml).

In Gruppe 1 ist im Beobachtungszeitraum für Haptoglobin keine signifikante Änderung der Mittelwerte berechenbar. In Gruppe 2 kommt es zwischen 6 und 48 Stunden p OP zu

einem signifikanten Anstieg ($p < 0,05$; $2,6 \pm 1,2$ mg/ml \rightarrow $4,9 \pm 1,9$ mg/ml Haptoglobin). Arthroskopische Eingriffe verursachen innerhalb von 48 Stunden p OP einen signifikanten Anstieg der Haptoglobinwerte ($p < 0,05$, $1,7 \pm 0,8$ mg/ml \rightarrow $3,0 \pm 1,5$ mg/ml 48 Stunden p OP). Beim Vergleich der Gruppen in Abbildung 5 ist zu erkennen, dass in Gruppe 2 die höchsten und in Gruppe 3 die niedrigsten Haptoglobin-

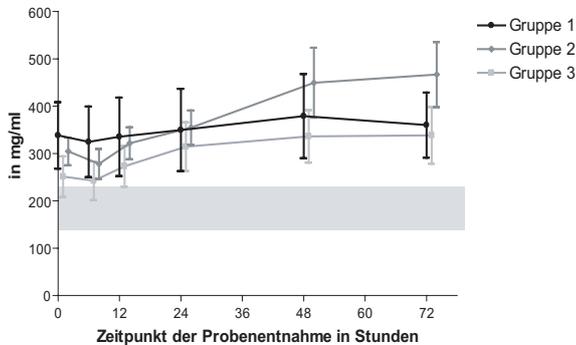


Abb 6 Fibrinogenwerte aller drei Patientengruppen während des Beobachtungszeitraumes. Dargestellt sind Mittelwerte und die Standardabweichungen. Der Referenzbereich, in der Kontrollgruppe ermittelt, ist grau unterlegt (183 ± 28 mg/dl). Fibrinogen values of Group 1-3 within the observation period. Median and standard deviation is displayed for every group at every sampling time. The reference range specified by the control group is highlighted in grey ($1,3 \pm 0,6$ mg/ml).

werte gemessen werden. Die Gruppen unterscheiden sich untereinander hochsignifikant ($p < 0,0001$).

Fibrinogen

Die Bestimmung von Fibrinogen in der Referenzgruppe mit dem QBC®VetAutoread™ (IDEXX, Wörstadt) ergibt einen Referenzbereich von 183 ± 28 mg/dl. Dieser Referenzbereich ist deutlich enger als der vom Hersteller angegebene Wert von 200-450 mg/dl.

In Gruppe 1 können keine signifikanten Veränderungen berechnet werden. In Gruppe 2 ist nach einer therapeutischen Laparoskopie innerhalb von 48 Stunden p OP ein deutlicher Anstieg der Fibrinogenwerte festzustellen ($p < 0,01$, 304 ± 29 mg/dl \rightarrow 450 ± 74 mg/dl 48 Stunden p OP), der bis zu 72 Stunden p OP weiter ansteigt. Nach einem arthroskopischen Eingriff (Gruppe 3) ist ein signifikanter Fibrinogenanstieg 24 Stunden p OP zu verzeichnen ($p < 0,01$, 251 ± 43 mg/dl \rightarrow 314 ± 52 mg/dl 24 Stunden p OP). Die Gruppen unterscheiden sich hochsignifikant ($p < 0,0001$) wobei im Mittel in Gruppe 2 die höchsten Werte erreicht werden (Abbildung 6).

Diskussion

Laparoskopische und arthroskopische Eingriffe verursachen eine APR. Der zeitliche Ablauf und die Konzentrationsänderungen der APP ähneln den Verlaufskurven in experimentellen Studien. Innerhalb der ersten 6 Stunden nach einer therapeutischen Laparoskopie ist ein signifikanter Anstieg von IL-6 zu verzeichnen. In den beiden anderen Gruppen sind nur geringe zeitliche Schwankungen der IL-6 Werte auffällig. Die

Bestimmung von Interleukin-6 bei Pferden wurde bisher meist im Verlauf einer Endotoxämie durchgeführt (Mackay und Lester 1992, Morris et al. 1992, Bueno et al. 1999). Der Anstieg der IL-6 Serumkonzentration bei Pferden aus Gruppe 2 ist vergleichbar mit dem von Pferden, welchen 30 ng/kg KM Endotoxin intravenös verabreicht wurde (Mackay und Lester 1992). IL-6 steigt beim Pferd in Folge von Eingriffen und Erkrankungen im Bereich der Peritonealhöhle und nach Verabreichung von Endotoxin stark an. Diese Reaktion auf einen Stimulus beginnt in einem Zeitfenster zwischen 30 Minuten bis 8 Stunden. Nach minimalinvasiven Eingriffen in der Bauchhöhle kehrt die IL-6 Konzentration im Plasma innerhalb von 48 Stunden, bei klinisch ungestörtem Heilungsverlauf, wieder nahezu auf den Ausgangswert zurück.

In allen Gruppen ist innerhalb von 12 Stunden nach dem Eingriff ein signifikanter Anstieg der Körperinnentemperatur zu beobachten. Nur in Gruppe 2 übersteigt der Mittelwert zu diesem Zeitpunkt das obere Referenzlimit von $38,2^\circ\text{C}$ ($38,4 \pm 0,8^\circ\text{C}$). Die Körperinnentemperatur steigt nach Endotoxininfusion innerhalb von zwei Stunden an und erreicht nach 12 Stunden wieder normales Niveau (Morris et al. 1992, Barton et al. 1997, Baskett et al. 1997). Da sowohl nach einer Endotoxininfusion als auch nach chirurgischen Eingriffen IL-6 freigesetzt wird, welches über die hypophysäre Achse eine Verstellung des Temperatursollwertes auslöst, kann die Temperaturerhöhung in Gruppe 2 hierdurch erklärt werden. Allerdings konnte weder in Gruppe 1 noch in Gruppe 3 eine Erhöhung der IL-6 Konzentration festgestellt werden. Ursache für die signifikante Temperaturerhöhung innerhalb des Referenzbereiches könnte eine kleine, kürzere Erhöhung der IL-6 Werte sein, welche sich innerhalb der ersten 6 Stunden p OP abgespielt haben kann. Des Weiteren könnten andere Regelmechanismen diese geringe Temperaturerhöhung verursachen.

Die Reaktion der Gesamtleukozytenzahl und des Differenzialblutbildes auf Erkrankungen ist sehr speziesspezifisch. Während bei Hund und Katze nicht selten Werte von über 40×10^9 /L gemessen werden, bewegt sich eine Leukozytose beim Pferd zwischen $15-25 \times 10^9$ /L (Jain 1986). Die Gesamtleukozytenzahl steigt innerhalb von 12 Stunden nach dem Eingriff in den Gruppen 2 und 3 signifikant an. In keiner Gruppe übersteigt der Mittelwert das obere Referenzlimit von 10×10^9 /L. Nach der Kastration von Hengsten unter Praxisbedingungen konnten zwar deutliche Entzündungsreaktionen lokal und systemisch beobachtet werden, es konnte aber keine signifikante Veränderung der Leukozytenzahl berechnet werden (Jacobsen et al. 2005a).

SAA ist ein APP des Pferdes, welches bei infektiösen und nicht infektiösen Entzündungen um das 15 bis 20-fache ansteigt (Nunokawa et al. 1993, Hulten et al. 2002). SAA ist aufgrund seines niedrigen Serumspiegels bei gesunden Pferden und seines schnellen Anstiegs nach einem Trauma ein optimales APP. Die Konzentrationsveränderungen sind auf eine gesteigerte Syntheserate zurückzuführen und kaum durch Störfaktoren zu beeinflussen, wie z.B. eine Hämolyse, die die Haptoglobinkonzentration im Blut senkt. Das in dieser Arbeit verwendete Testsystem zeigt keine Beeinflussung der Ergebnisse durch Hämoglobin und Bilirubin (Wada et al. 1997). Die Nullwerte aller drei Gruppen liegen oberhalb des in der Referenzgruppe gemessenen Mittelwertes und seiner Standardab-

weichung von $1,5 \pm 1,25 \mu\text{g/ml}$ SAA. Eine Hypothese für diese höheren Werte ist, dass bei allen Tieren eine chronische Entzündung vorlag, welche die Erhöhung der SAA-Werte verursachen könnte. Der erste signifikante Anstieg von SAA nach minimalinvasiven Eingriffen ist in Gruppe 3 innerhalb von 12 Stunden p OP messbar, gefolgt von der therapeutischen Laparoskopien (Gruppe 2) 24 Stunden nach dem Eingriff. Insgesamt sind die SAA-Werte der Arthroskopiegruppe aber niedriger als die Werte bei Pferden nach therapeutischen Laparoskopien. Deutliche Zunahmen der SAA-Konzentration werden auch nach anderen chirurgischen Eingriffen wie Kastrationen und Laparotomien verzeichnet (Nunokawa et al. 1993, Jacobsen et al. 2005a). Auch die experimentelle Induktion von aseptischen Arthritiden verursacht einen SAA Anstieg (Hulten et al. 2002, Jacobsen et al. 2005b).

Die Haptoglobin- und Fibrinogenwerte der beiden Laparoskopiegruppen liegen vor dem Eingriff bereits oberhalb des jeweiligen Referenzbereichs der Kontrollgruppe. Sie liegen aber innerhalb des Referenzlimits des jeweiligen Herstellers des Testverfahrens. Betrachtet man zusätzlich die geringgradige Erhöhung der SAA-Werte vor der Operation, so sprechen diese Befunde für das Vorliegen einer Entzündung. Dahinter kann sich nach bisherigen Erkenntnissen eine abklingende akute Entzündung oder eine chronische Entzündung verbergen.

Weichteilentzündungen verursachen einen Haptoglobinanstieg innerhalb von 2 bis 5 Tagen um das 1,5 bis 9-fache (Taira et al. 1992). Equines Haptoglobin gehört zu den positiven APP. Allerdings fällt der Haptoglobinspiegel im Rahmen einer hämolytischen Anämie, Bilirubinämie und Hyperlipidämie ab (Allen und Archer 1971). Die Haptoglobinkonzentration im Blut sinkt in Folge einer Anästhesie, unabhängig davon, ob ein Eingriff vorgenommen wird oder nicht (Kent und Goodall 1991). In der Gruppe der diagnostischen Laparoskopien ist nur ein sehr geringer Anstieg der Mittelwerte während des Beobachtungsraumes zu erkennen. Im Gegensatz dazu steigen die Haptoglobinwerte in den Gruppen 2 und 3 deutlich an, wobei in Gruppe 2 nach therapeutischen laparoskopischen Eingriffen signifikant höhere Werte erreicht werden. Auch in der klinischen Studie von Pollock (2005) kommt es nach chirurgischen Eingriffen innerhalb von 48 Stunden zu einem Anstieg der Haptoglobinwerte. Bei fast allen Entzündungsformen, nach Kastrationen und nach einer Jejunojejunostomie kann ein Anstieg der Haptoglobinkonzentration nachgewiesen werden (Taira et al. 1992). Haptoglobin bietet sich als moderates APP zur Verlaufskontrolle der postoperativen Phase, beginnend 2 bis 3 Tage nach dem Eingriff, an und zeigt dann je nach Eingriff steigende oder fallende Tendenzen.

Fibrinogen ist ein weithin bekanntes, aufgrund einfacher Nachweismethoden beliebtes APP. Erste Konzentrationsanstiege können schon 24 Stunden nach einem Stimulus beobachtet werden. Zeichen einer starken Entzündung sind Serumkonzentrationen, die den Referenzwert um das 2- bis 3-fache übersteigen (Allen und Kold 1988, Hulten et al. 2002, Feige et al. 2003). Nachteil des Fibrinogens als APP ist die relativ hohe physiologische Konzentration im Plasma gesunder Tiere und der im Vergleich zum SAA geringe Konzentrationsanstieg. Die Fibrinogenbestimmung kann durch gesteigerten Verbrauch innerhalb der Gerinnungskaskade zu falsch negativen

Ergebnissen führen, ebenso wie gerinnungshemmende Medikamente auf einige Bestimmungsmethoden (Koagulationsmethode nach Clauss) Einfluss nehmen können. In Gruppe 1 kommt es ähnlich wie bei der Haptoglobinbestimmung zu nur sehr geringen Konzentrationsänderungen des Fibrinogens. Die Gruppen 2 und 3 zeigen den gleichen Verlauf im Beobachtungszeitraum, wobei die Werte der Gruppe 2 signifikant höher sind als die der Gruppe 3. Fibrinogen eignet sich durch die relativ lange Induktionszeit und den eher moderaten Anstieg besser für die Verlaufskontrolle eines Entzündungsprozesses bis zur Genesung als für die Diagnostik einer akuten Entzündung.

Schlussfolgerung

Minimalinvasive Eingriffe verursachen beim Pferd bei unauffälligem postoperativen Verlauf eine APR. Die Körperinnentemperatur und die Leukozytenzahl zeigen zwar signifikante Erhöhungen, allerdings bewegen sich die Mittelwerte in allen Gruppen bis auf eine Ausnahme (Körperinnentemperatur in Gruppe 2 12 Stunden p OP) innerhalb des Referenzbereiches. Dadurch ist die Erkennung einer Entzündungsreaktion durch Stichprobe deutlich eingeschränkt. Im Gegensatz dazu erlauben insbesondere die postoperativen Konzentrationsänderungen von IL-6 und SAA, mit deutlichen Anstiegen gegenüber dem Null-Wert und dem Referenzbereich von SAA auch eine Charakterisierung der Entzündungssituation eines Pferdes. Da die Bestimmung von IL-6 sehr zeitintensiv ist, bietet sich vor allem SAA als Parameter der akuten Entzündung beim Pferd an. Der Anstieg und die Dauer der Konzentrationsveränderungen von IL-6 und den APP SAA, Haptoglobin und Fibrinogen ist abhängig von der Lokalisation und der Art des Eingriffes. Diese Parameter steigen nach therapeutischen Laparoskopie im Vergleich zu diagnostischen Laparoskopien und Arthroskopien signifikant höher an.

Literatur

- B. Allen und R. K. Archer (1971): Haptoglobins in the horse. *Vet. Rec.* 89, 106-109
- B. V. Allen und S. E. Kold (1988): Fibrinogen response to surgical tissue trauma in the horse. *Equine Vet. J.* 20, 441-443
- L. H. Arden, E. De Groot, O. Schaap und P. M. Landsdorp (1987): Production of hybridoma growth factors by human monocytes. *Eur. J. Immunol.* 17, 1441-1446
- D. E. Auer, J. C. Ng, H. L. Thompson, S. Inglis und A. A. Seawright (1989): Acute phase response in horses: changes in plasma cation concentrations after localised tissue injury. *Vet. Rec.* 124, 235-239
- M. H. Barton; J. N. Moore und N. Norton (1997): Effects of pentoxifylline infusion on response of horses to in vivo challenge exposure with endotoxin. *Am. J. Vet. Res.* 58, 1300-1307
- A. Baskett, M. H. Barton, N. Norton, B. Anders und J. N. Moore (1997): Effect of pentoxifylline, flunixin meglumine, and their combination on a model of endotoxemia in horses. *Am. J. Vet. Res.*, 58, 1291-1299
- A. C. Bueno, T. L. Seahorn, J. Cornick-Seahorn, D. W. Horohov und R. M. Moore (1999): Plasma and urine nitric oxide concentrations in horses given below a low dose of endotoxin. *Am. J. Vet. Res.* 60, 969-976

- R. Dargel (1995): Entzündung: Grundlagen-Klinik-Therapie. Ullstein Mosby GmbH & Co.KG, Berlin/Wiesbaden
- P. D. Eckersall, F. J. Young, C. M. Comb, C. J. Hogarth, S. Safi, A. Weber, T. McDonald, A. M. Nolan und J. L. Fitzpatrick (2001): Acute phase proteins in serum and milk from dairy cows with clinical mastitis. *Vet. Rec.* 148, 35-41
- K. Feige, S. B. Kastner, C. E. Dempfle und E. Balestra (2003): Changes in coagulation and markers of fibrinolysis in horses undergoing colic surgery. *J. Vet. Med. A Physiol Pathol. Clin. Med.* 50, 30-36
- E. Gruys, M. J. Toussaint, T. A. Niewold und S. J. Koopmans (2005): Acute phase reaction and acute phase proteins. *J. Zhejiang. Univ Sci. B* 6, 1045-1056
- P. C. Heinrich, J. V. Castell und T. Andus (1990): Interleukin-6 and the acute phase response. *Biochem. J.* 265, 621-636
- C. Hulthen, U. Gronlund, J. Hirvonen, R. M. Tulamo, M. M. Suominen, G. Marhaug und M. Forsberg (2002): Dynamics in serum of the inflammatory markers serum amyloid A (SAA), haptoglobin, fibrinogen and alpha2-globulins during induced noninfectious arthritis in the horse. *Equine Vet. J.* 34, 699-704
- C. Hulthen, R. M. Tulamo, M. M. Suominen, K. Burvall, G. Marhaug und M. Forsberg (1999): A non-competitive chemiluminescence enzyme immunoassay for the equine acute phase protein serum amyloid A (SAA) - a clinically useful inflammatory marker in the horse. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 68, 267-281
- S. Jacobsen, J. C. Jensen, S. Frei, A. L. Jensen und M. B. Thoenes (2005a): Use of serum amyloid A and other acute phase reactants to monitor the inflammatory response after castration in horses: a field study. *Equine Vet. J.* 37, 552-556
- S. Jacobson, T. A. Niewold, M. Halling-Thomsen, S. Nanni, E. Olsen, C. Lindgaard und P. H. Andersen (2005b): Serum amyloid A isoforms in serum and synovial fluid in horses with lipopolysaccharide-induced arthritis. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, Online Publication
- N. C. Jain (1986): Kapitel: Clinical Interpretation of Changes in Leucocyte Numbers and Morphology. *Schalm's Veterinary Hematology*. Lea&Febiger, 4th. Aufl., p. 821-837
- L. E. Jensen und A. S. Whitehead (1998): Regulation of serum amyloid A protein expression during the acute-phase response. *Biochem J.* 334, 489-503
- J. E. Kent und J. Goodall (1991): Assessment of an immunoturbidimetric method for measuring equine serum haptoglobin concentrations. *Equine Vet. J.* 23, 59-66
- A. Koj, D. Magielska-Zero, J. Bereta, A. Kurdowska, H. Rokita und J. Gauldie (1988): The Cascade of Inflammatory Cytokines Regulating Synthesis of Acute Phase Proteins. *Tokai J Exp Clin Med* 13, 255-264
- I. Kushner (1982): The phenomenon of the acute phase response. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 389, 39-48
- I. Kushner, M. Ganapathi und D. Schultz (1989): The acute phase response is mediated by heterogeneous mechanisms. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 557, 19-29
- R. J. MacKay und G. D. Lester (1992): Induction of the acute-phase cytokine, hepatocyte-stimulating factor/interleukin 6, in the circulation of horses treated with endotoxin. *Am. J. Vet. Res.* 53, 1285-1289
- H. R. Millar, J. G. Simpson und A. L. Stalker (1971): An evaluation of the heat precipitation method for plasma fibrinogen estimation. *J. Clin. Pathol.* 24, 827-830
- P. C. Mills, D. E. Auer, H. Kramer, D. Barry und J. C. Ng (1998): Effects of inflammation-associated acute-phase response on hepatic and renal indices in the horse. *Aust. Vet. J.* 76, 187-194
- P. C. Mills, J. C. Ng, H. Kramer und D. E. Auer (1997): Stress response to chronic inflammation in the horse. *Equine Vet. J.* 29, 483-486
- D. D. Morris, J. N. Moore, N. Crowe und L. L. Moldawer (1992): Effect of experimentally induced endotoxemia on serum interleukin-6 activity in horses. *Am. J. Vet. Res.* 53, 753-756
- H. Murata, N. Shimada und M. Yoshioka (2004): Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. *Vet. J.* 168, 28-40
- Y. Nunokawa, T. Fujinaga, T. Taira, M. Okumura, K. Yamashita, N. Tsunoda und M. Hagio (1993): Evaluation of serum amyloid A protein as an acute-phase reactive protein in horses. *J. Vet. Med. Sci.* 55, 1011-1016
- M. B. Pepys, M. L. Baltz, G. A. Tennent, J. Kent, J. Ousey und P. D. Rossdale (1989): Serum amyloid A protein (SAA) in horses: objective measurement of the acute phase response. *Equine Vet. J.* 21, 106-109
- H. H. Petersen, J. P. Nielsen und P. M. Heegaard (2004): Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. *Vet. Res.* 35, 163-187
- P. J. Pollock, M. Prendergast, J. Schumacher und C. R. Bellenger (2005): Effects of surgery on the acute phase response in clinically normal and diseased horses. *Vet. Rec.* 156, 538-542
- T. Taira, T. Fujinaga, M. Okumura, K. Yamashita, N. Tsunoda und S. Mizuno (1992): Equine haptoglobin: isolation, characterization, and the effects of ageing, delivery and inflammation on its serum concentration. *J. Vet. Med. Sci.* 54, 435-442
- M. H. Van Oers, A. A. Van Der Heyden und L. A. Aarden (1988): Interleukin 6 (IL-6) in serum and urine of renal transplant recipients. *Clin. Exp. Immunol.* 71, 314-319
- A. Wada, T. Yamada und N. Kubota (1997): Measurement of serum amyloid A by commonly used automated analysers. *Ann. Clin. Biochem.* 34, 569-570

Miriam S. Miller
Klinik für Pferde (Chirurgie) mit Lehrschmiede
Universität Giessen
Frankfurter Str. 108
35392 Giessen
Miriam.S.Miller@vetmed.uni-giessen.de

Pferdeheilkunde Curriculum 2006

Reproduktion

Harald Sieme und Heinz Adolf Schoon

9.-10. Dezember

Humboldt Universität Berlin

Tierarzneischulgarten, Alte Geburtshilfe