

Labordiagnostische Untersuchungen bei Pferden mit Herzerkrankungen: Wertigkeit verschiedener kardialer Marker

Heidrun Gehlen¹, Karl Rohn², Eckehard Deegen¹ und Peter Stadler¹

Klinik für Pferde¹ und Institut für Biometrie, Epidemiologie und Informationsverarbeitung² der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover

Zusammenfassung

Über einen Zeitraum von 3 Jahren (Mitte 1994 bis Mitte 1997) wurden bei 135 Pferden mit Verdacht auf eine Herzerkrankung klinische, elektro- und echokardiographische Untersuchungen durchgeführt sowie die Laborparameter kardiales Troponin-T (cTnT) und α -HbDH im Blut untersucht. Zusätzlich wurden als Referenzgruppe 10 gesunde Pferde untersucht (Testreihe 1). Bei 107 Pferden bestätigte sich der Verdacht auf eine primär kardiale Erkrankung und bei 28 Pferden lag eine nicht-kardiale Grunderkrankung vor. Die quantitative Troponin-T-Bestimmung lag bei allen gesunden Pferden der Testreihe 1 unter 0,04 ng/ml. Der α -HbDH-Gehalt lag bei durchschnittlich $89,9 \pm 9,9$ U/l. Bei den 135 Pferden mit Verdacht auf eine Herzerkrankung fielen insgesamt 44 Pferde mit Erhöhung von einem oder beider Laborparameter auf (bei 6 Pferden war nur der kardiale Troponin-T-Wert über 0,1 ng/ml erhöht, bei 24 Pferden war nur der α -HbDH Wert über der Norm von 170 U/l erhöht und bei 14 Pferden waren beide Parameter erhöht). Alle übrigen 91 Pferde bei denen aufgrund des Verdachtes einer kardialen Erkrankung diese speziellen labordiagnostischen Untersuchungen durchgeführt wurden, zeigten keine Erhöhung der untersuchten biochemischen Laborparameter. Von den 44 Pferden mit Erhöhung eines oder beider Laborparameter zeigten 27 Pferde tatsächlich eine primär kardiale Erkrankung (Herzklappeninsuffizienz, Herzarrhythmie, Herzdilatation). Lediglich drei dieser Pferde hatten einen erhöhten kardialen Troponin-T-Wert ($>0,1$ ng/ml) und 19 Pferde zeigten einen erhöhten α -HbDH-Wert (> 170 U/l). Bei 5 Pferden waren dagegen beide Parameter erhöht. Somit war der kardiale Troponin-T-Wert insgesamt nur bei 8 Pferden mit einer kardialen Grunderkrankung erhöht. Die übrigen 17 Pferde mit Erhöhung eines oder beider Laborparameter hatten dagegen eine nicht kardial bedingte Grunderkrankung (11 Pferde atypische Weidemyopathie, 1 Pferd Nierenerkrankung, 2 Pferde Lungenerkrankung, 1 Pferd eine Intoxikation, 2 Pferde eine Myopathie). Drei dieser Pferde zeigten lediglich einen erhöhten kardialen Troponin-T-Wert, 5 Pferde hatten ausschließlich einen erhöhten α -HbDH-Wert und 9 Pferde zeigten beide Parameter erhöht. Somit hatten in dieser Gruppe insgesamt 12 Pferde einen erhöhten kardialen Troponin-T-Wert. Von den 27 Pferden mit einer primär kardialen Erkrankung zeigten 22 Pferde Insuffizienzen einer oder mehrerer Herzklappen. Fünfzehn dieser Pferde wiesen zusätzlich partielle (Vorhof und/oder Ventrikel, $n = 7$) oder generalisierte Vergrößerungen des Herzens (Kardiomegalie, $n = 8$) auf. Die Pferde mit Klappeninsuffizienzen ohne Dimensionsveränderungen des Herzens ($n = 7$) zeigten einen durchschnittlichen kardialen Troponin-T-Wert von $0,093 \pm 0,14$ ng/ml (Troponin-T bei 2 Pferden erhöht) und einen durchschnittlichen α -HbDH-Wert von $208 \pm 63,4$ U/l, wohingegen die Pferde mit Klappeninsuffizienz und Herzdilatation ($n = 15$, Troponin-T bei 3 Pferden erhöht) tendenziell höhere kardiale Troponin-T ($0,17 \pm 0,4$ ng/ml) und α -HbDH-Werte (227 ± 63 U/l) aufwiesen. Der Troponin-T-Wert war bei den Pferden mit Herzdilatation signifikant höher ($p = 0,001$) als bei den gesunden Pferden. Fünf Pferde zeigten eine kardiale Erkrankung ohne Klappeninsuffizienz (1 Pferd Myokarditis, 3 Pferde Arrhythmie, 1 Pferd Kreislaufkollaps, 1 Pferd Ventrikelseptumdefekt). Hier lag der durchschnittliche kardiale Troponin-T-Wert bei $1,6 \pm 2,8$ ng/ml (Troponin-T bei 3 Pferden erhöht) und der α -HbDH-Wert bei 329 ± 7 U/l. Von den siebzehn Pferden mit einer nicht-kardialen Grunderkrankung hatten 11 Pferde mit atypischer Weidemyopathie einen durchschnittlichen kardialen Troponin-T-Wert von $7,54 \pm 6,5$ und einen α -HbDH-Wert von 10719 ± 5251 U/l. Diese Gruppe hatte signifikant höhere kardiale Troponin-T und α -HbDH-Werte als die gesunden ($p = 0,0004$ bzw. $0,007$), als die Pferde mit Herzdilatationen ($p = 0,0004$ bzw. $0,004$) und als die Pferde mit Klappenerkrankung und ohne Herzdilatation ($p = 0,001$ bzw. $0,01$). Sechs Pferde mit einer anderen nicht-kardialen Grunderkrankung (Nierenerkrankung, Lungenerkrankung, Intoxikation, Myopathie) hatten durchschnittliche kardiale Troponin-T-Werte von $3,6 \pm 0,2$ und α -HbDH-Werte von 272 ± 65 U/l. In einer zweiten Testreihe wurden 10 gesunde und 10 herzkrankte Pferde untersucht (kardiales Troponin-T quantitativ und qualitativ, kardiales Troponin-I quantitativ, α -HbDH). Bei den 10 Pferden der zweiten Testreihe mit unterschiedlichen Herzerkrankungen verlief die qualitative kardiale Troponin-T-Bestimmung bei allen Tieren negativ. Die quantitative Troponin-T-Bestimmung war bei allen Pferden $< 0,01$ ng/ml. Der durchschnittliche α -HbDH-Wert lag mit $93,7 \pm 31$ U/l deutlich niedriger als bei den gesunden Pferden.

Schlüsselwörter: Pferd, Herzmuskel, kardiales Troponin-T, kardiales Troponin-I, α -HbDH, CK-MB

Analysis of laboratory values in horses with cardiac disease: Diagnostic value of different cardiac biomarkers

In the present study 20 healthy horses and 145 horses with symptoms of cardiac diseases were examined in total (divided into two studies). Clinical, electro- and echocardiographic examination were performed in all horses. Additionally cardiac biochemical markers were determined (study 1 = 10 healthy horses, 135 horses with heart disease: Troponin T quantitative, α -HbDH; study 2 = 10 healthy and 10 horses with heart disease: Troponin T quantitative and qualitative, α -HbDH). In 107 horses a primary cardiac disease was detected in 28 horses a non-cardiac primary disease was found. The quantitative troponin T value was $< 0,04$ ng/ml in all healthy horses. The mean α -HbDH values were $89,9 \pm 9,9$ U/l. Forty-four horses out of the 135 horses with cardiac symptoms (study 1) showed an increase in troponin T and/or HbDH value above the normal range (mean troponin T values $2,6 \pm 4,2$ ng/ml, mean α -HbDH values 3079 ± 151 U/l). The other 91 horses in which cardiac markers were examined because of clinical symptoms did not show an increase of this parameters. Twenty-seven (61,4 %) out of the 44 horses with an increase in troponin T and/or α -HbDH value showed a primary cardiac disease in further examinations (heart valve insufficiency, heart arrhythmia, cardiac dilatation). Three out of this horses had increased troponin T values ($>0,1$ ng/ml), 19 horses showed increased α -HbDH values (> 170 U/l) and five horses had both parameter increased. Seventeen hor-

ses had a different primary disease (11 horses atypical myoglobinuria, 1 horse with renal dysfunction, 2 horses pulmonary disease, 1 horse intoxication, 2 horses myopathy). Three out of these horses showed increased troponin T values, five horses had increased α -HbDH values and 9 horses had both parameters increased. Twenty-two out the horses with a primary cardiac disease ($n = 27$) had an insufficiency of one or more heart valves. Fifteen horses had an additional partial (i.e. atrial) or generalized cardiac dilatation. The horses with heart valve insufficiencies and without cardiac dilatation ($n = 7$) had mean troponin T values of $0,093 \pm 0,14$ ng/ml and mean HbDH values of $208 \pm 63,4$ U/l, whereas in the horses with heart valve insufficiencies and cardiac dilatation ($n = 15$) higher troponin T ($0,17 \pm 0,4$ ng/ml) and HbDH values (227 ± 63 U/l) could be found. The troponin T values in the horses with cardiac dilatation were significantly higher than in healthy horses ($p = 0,001$). Five horses had a cardiac disease without valve insufficiency (1 horse myocarditis, 3 horses cardiac arrhythmia, 1 horse collaps, 1 horse ventricular septal defect). Here the mean troponin T values were $1,6 \pm 2,8$ ng/ml and the mean α -HbDH values were 329 ± 7 U/l. From 17 horses with a non cardiac primary disease 11 horses had an atypical myoglobinuria, with a mean troponin T value from $7,54 \pm 6,5$ and mean α -HbDH values of 10719 ± 5251 U/l. The horses with an atypical myoglobinuria had significant higher Troponin T and α -HbDH values than the healthy horses ($p = 0,0004$ resp. $0,007$), the horses with cardiac dilatation ($p = 0,0004$ resp. $0,004$) and the horses with heart valve insufficiencies but without cardiac dilatation ($p = 0,001$ resp. $0,01$). Four horses with another primary disease (renal dysfunction, pulmonary disease, intoxication) had mean troponin T values of $3,6 \pm 0,2$ and a mean α -HbDH value of 272 ± 65 U/l. The 10 healthy horses of the second study group had negative qualitative troponin T values. The quantitative troponin T values were in all horses $< 0,01$ ng/ml. Mean α -HbDH values were about $123,5 \pm 36$ U/l. The ten horses with cardiac disease of exam 2 also had a negative qualitative troponin T value. The quantitative troponin T values were $< 0,01$ ng/ml and mean α -HbDH values were with $93,7 \pm 31$ U/l lower than in the group of healthy horses.

Keywords: horse, heart muscle, troponin T, troponin I, α -HbDH, CK-MB,

Einleitung

In der Humanmedizin besitzen biochemische, kardiale Marker (herzmuskelspezifische Enzyme und Proteine) einen hohen Wert für die Diagnose und die Früherkennung akuter, ischämischer Herzkrankheiten wie beispielweise des Myokardinfarktes. Beim Pferd spielt der akute Myokardinfarkt so gut wie keine Rolle, da koronare Herzerkrankungen beim Pferd nicht auftreten. Auch akute, meist entzündliche Myokarditiden, treten beim Pferd eher selten auf, könnten dann aber mit Hilfe biochemischer kardialer Marker eventuell bestätigt und ihr Ausmaß erkannt werden.

Zu den Markern der myokardialen Enzymaktivität zählten beim Menschen die Kreatinkinase (einschließlich ihrer herzmuskelspezifischen Isoenzymen CK-MB) sowie die Laktatdehydrogenase (LDH) und deren kardiospezifisches Isoenzym (α -HbDH).

Das LDH- Isoenzym α -HbDH galt zwar als „herzmuskelspezifisch“ ist jedoch auch in Skelettmuskelzellen enthalten. Eine Erhöhung tritt nur bei akuten Gewebeschäden auf und seine diagnostische Aussage bezüglich einer kardialen Erkrankung gilt nunmehr in der Humanmedizin als fraglich bzw. als obsolet (Fromm et al. 2001). In der Pferdepraxis wird dieses Enzym jedoch z.T. immer noch zur Diagnostik akuter Myokarddefekte herangezogen.

Zu den nicht-enzymatischen Markern zählen kardiales Troponin-T (cTnT), kardiales Troponin-I (cTnI) und Myoglobin. Myoglobin ist zwar ein unspezifischer Marker für Myokardschädigung, sein diagnostischer Wert ergibt sich jedoch in der Humanmedizin aus der frühen Nachweisbarkeit im Blut (kardialer Marker mit dem frühesten Anstieg). Bedingt durch seine Freisetzungskinetik ist das Myoglobin bereits 6-8 Stunden nach Symptombeginn bei nahezu allen Herzinfarktpatienten erhöht die CK/ CK-MB dagegen erst bei 60% der Patienten (Fromm et al. 2001).

Troponin T ist beim Menschen in höherem Maß kardiospezifisch als Myoglobin jedoch weniger herzspezifisch als Troponin-I. Troponine sind beim Menschen zwar nicht als „Frühmarker“ für eine Myokardschädigung (innerhalb der ersten Stunden) geeignet, gelten jedoch generell als sicherster bio-

chemischer Marker für die Diagnose von Myokarddefekten (Bhayana et al. 1995). Beide Troponine gehören als Bestandteile des Tropomyosin-Troponin Komplexes zu den myofibrillären Proteinen des quergestreiften Skelett- bzw. Herzmuskels. Aufgrund der Aminosäuresequenz kann eine exakte Unterscheidung zwischen kardialem Troponin und Troponin anderer Organe getroffen werden.

Die Troponine spielen bei der Muskelkontraktion eine wichtige Rolle (Guyton und Hall 2000). Tropomyosineinheiten sind an das Aktinfilament der Herzmuskelzelle angelagert. An jedes Tropomyosinmolekül ist ein Troponinkomplex gebunden. Der Troponinkomplex besteht aus Troponin-I, Troponin-T (5% im Zytosol, 95% strukturgebunden) und Troponin-C. Troponin-I hemmt die ATP-ase -Aktivität von Myosin, welche den Transport von Myosin am Filament blockiert. Schon bei beginnender Schädigung der Zellmembran wird aus dem Zytosol Troponin freigesetzt. Im weiteren Verlauf wird der strukturgebundene Anteil freigesetzt und führt zu erhöhten Werten über mehr als 14 Tage (Katus et al 1992). In einer Studie von Bodor et al (1992) zeigte sich für Troponin-I beim Menschen eine stärkere Kardiospezifität und eine länger andauernde Erhöhung im Blut als für die Kreatininkinase. In einer anderen Studie von Collins et al. (1995) ergaben sich beim Menschen statistisch gesehen keine Unterschiede zwischen Troponin-T und Troponin-I in Bezug auf die Empfindlichkeit. Troponin-I erreichte eine hohe Spezifität von 100% (Troponin T 84 %). Troponin-T und Troponin-I werden jeweils mit einem Enzymimmunoassay quantitativ nachgewiesen. Ein qualitativer Nachweis kann mit einem Testskit erfolgen.

Physiologischerweise enthält das Serum kein Herzmuskel-Troponin-T oder I. Erst durch Abbau des kontraktiven Aktin-Troponin Komplexes, z.B. infolge schwerer Ischämien oder Zellnekrosen, gelangt kardiales Troponin in meßbaren Konzentrationen ins Blut. Erhöhte Troponin-T oder I-Werte wurden beim Menschen im Rahmen eines akuten Myokardinfarktes, von Ischämien, einer Myokarditis, von Myokardtraumen, von Myokardintoxikationen und von schweren Herzinsuffizienzen gesehen (Mair et al. 1995, Collins et al. 2001, Smith et al. 1997). Die Molekülstruktur des kardialen Troponin-I (cTnI) unterscheidet sich deutlich von der des Troponin-I der Skelettmuskulatur. Körperliche Belastung, Skelettmuskelhypertrophie, Skelettmu-

skelerkrankungen und chronische Nierenerkrankungen sollen deshalb, im Gegensatz zum kardialen Troponin-T, so gut wie keinen Effekt auf die cTnI Konzentration beim Menschen haben (Fromm und Roberts 2001). Die Bestimmung von kardialem Troponin-I ist deshalb für die kardiologische Diagnostik beim Menschen nach neueren Erkenntnissen wahrscheinlich besser geeignet als die des kardialen Troponin-T.

Beim Menschen liegt der Normbereich von Troponin-I zwischen 0 und 0,1 ng/ml. Normalwerte für cTnI wurden bereits beim Hund (< 0,03-0,07 ng/ml) und bei der Katze (< 0,03-0,16 ng/ml) erhoben. Die Untersuchung bei 7 gesunden Pferden zeigte cTnI Werte unter 0,3 ng/ml, wohingegen ein Pferd mit einer Ruptur des linksventrikulären Ausflusstraktes (Cornelisse et al. 2000) und ein Pferd mit diffusen myokardialen Nekrosen (Schwarzwald et al. 2003) deutlich höhere Werte von 4,3- 5,9 bzw. 404 ng/ml aufwiesen. In einer anderen Studie (Phillips et al. 2003) wird der Normwert für equines cTnI mit < 0,15 ng/ml angegeben. Mehrere Studien zeigten bereits, dass der humane cTnI Immunoassay auch beim Pferd angewendet werden kann, da die Herzgewebereaktivität, gemessen mit einem humanen Immunoassay, beim Hund und Pferd sehr ähnlich sind (O`Brian et al. 1997).

Die Plasmakonzentration von kardialem Troponin-I steigt beim Menschen ca. 6-10 Stunden nach einer initialen Myokardschädigung an. Die höchste Sensitivität liegt bei Troponin-I ca. 12-16 Stunden nach dem Insult und nach ca. 10-12 Tagen liegt der Troponin I-Wert wieder im Normalbereich. Die Höhe der Plasmakonzentration korreliert dabei beim Menschen und beim Hund mit dem Ausmaß der Myokardschädigung und wird für die prognostische Beurteilung herangezogen (Ricchiuti et al. 1998, Mair et al. 1995). Der Einsatz und die Aussagekraft verschiedener kardialer biochemischer Marker ist beim Pferd z.T. umstritten. In der vorliegenden Studie wurden deshalb verschiedene kardiale Marker bei Pferden mit verschiedenen primären oder sekundären Herzerkrankungen überprüft und der diagnostische Wert dieser Untersuchung kritisch diskutiert.

Material und Methode

Patienten

Über einen Zeitraum von 3 Jahren (Mitte 1994 bis Mitte 1997) wurden bei 135 Pferden mit Symptomen einer Herzerkrankungen die Laborparameter kardiales Troponin-T (cTnT) und α -HbDH im Blut untersucht (erste Testreihe). Es handelte sich zum größten Teil um Pferde die zu einer weiterführenden Herzuntersuchung in die Klinik überwiesen wurden. Vorberichtlich zeigten die Pferde Herzgeräusche und/oder Herzarrhythmien sowie z.T. Leistungsschwäche bzw. Mattigkeit. Ein geringer Teil der Pferde (n = 22) wurde aus anderen Gründen in die Klinik überwiesen (Kolik, v.a. Intoxikation, Myopathie) und zeigte bei der Untersuchung zusätzlich kardiale Befunde wie z.B. ein Herzgeräusch oder eine Arrhythmie. Bei diesen wurden die kardialen Marker aufgrund des Verdachtes einer myokardialen Schädigung überprüft. In Tabelle 2 sind die Basisdaten der 44 Pferde bei denen erhöhte Werte eines oder beider Parameter vorlagen (d.h. der Troponin-T-Wert bei 0,1 ng/ml oder höher; α -HbDH über 170 U/l) aufgeführt. Im Ergebnisteil wird lediglich auf diese 44 Pferde Bezug genommen. Zur Erstellung von Referenzwerten wur-

den Blutproben von 10 gesunden Pferden (Tab. 1) der Polizeireiterstaffel Hannover untersucht. Zusätzlich wurde in einer zweiten Testreihe bei 10 gesunden Pferden (Tab. 3) und bei 10 Pferden mit unterschiedlichen Herzerkrankungen (Tab. 4) eine qualitative Bestimmung des cTnT, sowie eine qualitative und quantitative Bestimmung des cTnI und des Enzyms α -HbDH durchgeführt. Es handelte sich dabei um Pferde bei denen im Zeitraum von Januar bis März 2003 eine kardiale Erkrankung diagnostiziert wurde.

Allgemeinuntersuchung und spezielle kardiologische Untersuchung

Bei allen Pferden wurde eine klinische Allgemeinuntersuchung sowie eine spezielle kardiologische Untersuchung, einschließlich einer elektro- und echokardiographischen Untersuchung (B-Mode, M-Mode, konv. und Farbdoppler), durchgeführt. Dabei erfolgte im Rahmen der B-Mode Untersuchung die Vermessung der Herzdimensionen und mit Hilfe der konventionellen und Farbdopplerechokardiographie die Untersuchung der einzelnen Herzklappen. Bezüglich der echokardiographischen Anschallpositionen sowie der Normwerte der B-Mode Messungen wurden die Ergebnisse von Stadler et al. (1996) zugrunde gelegt. Eine gesamthafte, deutliche Vergrößerung des Herzens wurde als Kardiomegalie diagnostiziert. Bei den gesunden Pferden der Referenzgruppe wurde eine ausführliche klinische allgemeine und spezielle kardiologische Untersuchung durchgeführt.

Labordiagnostische Untersuchungen

Bei den Pferden dieser Studie wurde der kardiale Troponin T (cTnT) Wert (quantitative Bestimmung) im Blut-Serum, der kardiale Troponin T Wert im Vollblut (qualitative Bestimmung), der kardiale Troponin I Wert im Blut-Serum und der α -HbDH-Wert im EDTA-Plasma überprüft. Um eine eventuelle Beeinflussung der Laborparameter durch den Transport zu vermeiden, wurden die Blutproben (Serum-, EDTA- und Lithium Heparin- Röhrchen) der Patienten einen Tag nach Einstellung der Pferde in die Klinik morgens um 9 Uhr entnommen. Bei der Referenzgruppe erfolgte die Probennahme zur gleichen Uhrzeit im Stall der Polizeireiterstaffel.

Quantitative Troponin T-Bestimmung

Nach Probenaufbereitung (Zentrifugation bei 3000 Umdrehungen/min, 6 min.) erfolgte zur quantitativen Bestimmung des kardialen Troponin-T-Gehaltes nach Versand in ein Speziallabor (Dr. Wagner, Göttingen). Die kardiale Troponin T Bestimmung wurde dort mit dem enzymimmunologischen in vitro Test „Elisa Troponin T“ der Firma Boehringer Mannheim durchgeführt. Es handelt sich bei diesem Test um einen Elisa-1-Schritt-Sandwich-Test mit Streptavidin beschichteten Röhrchen als Festphase mit einem für kardiales Troponin T spezifischen monoklonalen Antikörper MAB 1 und einem zweiten monoklonalen POD-konjugierten Antikörper MAB 2 (Abb. 1). Nachdem Probe und Inkubationslösung zusammengegeben werden kommt es zu einer Immunreaktion und nach Zugabe des Substrates zu einer Indikatorreaktion mit Farbentwicklung. Die nachfolgende Messung der Extinktion liefert die quantitative Bestimmung des kardialen Troponin-T Gehaltes. Die untere Nachweisbarkeitsgrenze betrug dabei in den Jahren 1994 und 1995 0,04 ng/ml. Ende 1995 und 1996 betrug

die untere Nachweisbarkeitsgrenze, durch eine Verbesserung des Elisass 0,02 ng/ml und seit dem Jahr 1997 0,01 ng/ml. Bei einem Troponin T Wert von 0,1 ng/ml oder mehr wurde in der vorliegenden Studie von einer kardialen Troponin T Wert Erhöhung gesprochen.

Qualitative Troponin T-Bestimmung

Für die qualitative Analyse von kardialem Troponin-T Bestimmung wurde der Trop T Sensitive Rapid Assay[®] der Firma Roche

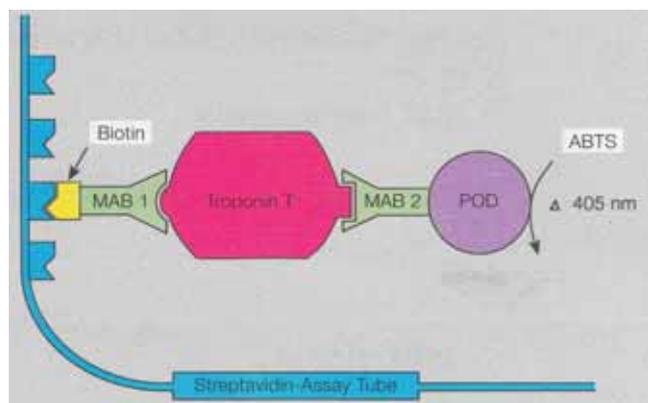


Abb 1 Quantitative Troponin T Bestimmung: Der spezifische Antikörper MAB 1 ist biotinyliert, wird über Streptavidin an die Röhrenwand gebunden und dient als „Fang-Antikörper“ für kardiales TnT. Der POD-konjugierte Antikörper MAB 2 bildet in einer Immunreaktion den Sandwichkomplex und bewirkt die Farbreaktion mit dem Substrat.

Quantitative troponin T analysis. The specific MAB 1 antibody is biotinylised and will be attached with streptavidine to the capillary wall as a “catch-antibody” for cardiac troponin T. The POD-conjugated antibody MAB 2 leads in an immuno-reaction to a colour-reaction with the substrate.

Diagnosics GmbH eingesetzt. Der Test basiert auf einem dualen Sandwichverfahren mit monoklonalen Antikörpern und weist Troponin T- Konzentrationen von mehr als 0,08 ng/ml nach. Der Test soll laut Angaben des Herstellers eine Sensitivität von 94,7 % und eine Spezifität von 83,6 % aufweisen. Zur Analyse werden 150 µl mit EDTA antikoaguliertem Vollblut mit Hilfe einer Pipette auf das Probenfeld des Quick-Tests aufgegeben. Nach fünfzehn bis zwanzig Minuten kann das Ergebnis abgelesen werden. Zeigt sich neben der üblichen Kontrolllinie eine zweite Linie im Testfenster, ist das Testergebnis positiv, d.h. es liegt ein Troponinwert von mehr als 0,08 ng/ml vor.

Troponin I-Bestimmung

Nach Probenaufbereitung (Zentrifugation bei 3000 Umdrehungen/min, 6 min.) erfolgte zur quantitativen Bestimmung des kardialen Troponin-I Gehaltes der Versand in ein weiteres Speziallabor (Biocontrol-Labor Dr. Leidinger, Ingelheim). Die kardiale Troponin-I Bestimmung wurde dort mit dem in-vitro Fluoreszenz Immunoassay „Stratus“ der Firma DADE Diagnostik GmbH, München durchgeführt. Es handelt sich bei diesem Test um einen Sandwich Immunoassay unter Verwendung zweier monoklonaler Antikörper mit einer Spezifität für den Herzmuskel-Isotyp von Troponin-I.

Mit einer Doppelantikörpertechnik wird der spezifische Antikörper auf Glasfaserpapier fixiert. Die Probe (Antigen) wird

auf die Plakette pipetiert und reagiert während einer kurzen Inkubationszeit mit dem fixierten Antikörper. Anschließend wird ein mit alkalischer Phosphatase enzymmarkiertes Konjugat in den Reaktionsbereich pipettiert. Während einer zweiten Inkubationszeit reagiert das Konjugat mit dem an den Antikörper gebundenen Antigen (Probe) zu einem Sandwich-Komplex. Die quantitative Messung erfolgt mittels Oberflächenfluorimetrie. Die untere Nachweisbarkeitsgrenze betrug dabei < 0,35 ng/ml.

α-HbDH- Bestimmung

Nach Probenaufbereitung (Zentrifugation bei 3000 Umdrehungen/min, 6 min.) erfolgte zur quantitativen Bestimmung des α-HbDH Gehaltes die Inkubation von 0,5 ml Detektorlösung (Randox-HbDH, Laboratories LTD, UK) mit 0,02 ml Plasma. Nach 2 min. wird der α-HbDH-Gehalt photometrisch bestimmt (Eppendorf PCP 6121). Der Normwert liegt beim Pferd < 170 U/l.

Statistische Auswertung

Für alle Messwerte (Alter, Troponin T, Troponin I, α-HbDH) wurde eine deskriptive Statistik, mit Mittelwerten und Standardabweichungen, erstellt. Die Prüfung der verschiedenen Daten auf Normalverteilung erfolgte mittels Shapiro Wilk Test und visueller Beurteilung von QQ-plots. Die Annahme auf Normalverteilung wurde abgelehnt. Die Pferde mit verschiedenen Erkrankungen wurden in 4 Diagnosegruppen eingeteilt (gesund, Herzdilatation mit/ ohne Klappenerkrankung, Klappenerkrankung ohne Dilatation, primäre Skelettmuskelerkrankung). Unterschiede der Messwerte zwischen den Diagnosegruppen wurden mittels Varianzanalyse für nichtnormalverteilte Stichproben (Kruskal-Wallis Test) geprüft. Die Prüfung von Messwertunterschieden zwischen jeweils zwei Diagnosen erfolgte dann mit nachgeschalteten Wilcoxon 2-Stichproben Tests. Zur Überprüfung eventueller Korrelationen zwischen den Untersuchungsparametern innerhalb der verschiedenen Diagnosegruppen wurden die Korrelationskoeffizienten nach Spearman berechnet. Für die Irrtumswahrscheinlichkeit wurde $p < 0,05$ als signifikant betrachtet. Die Auswertungen erfolgten mit dem Statistikprogramm SAS, Version 9.1 (SAS Institute, Cary, NC).

Ergebnisse

Die 10 gesunden Pferde bei denen eine quantitative kardiale Troponin-T und α-HbDH Bestimmung durchgeführt wurde (erste Testreihe) hatten ein durchschnittliches Alter von $9,3 \pm 3$ Jahren. Die quantitative kardiale Troponin-T-Bestimmung lag bei allen Pferden unter 0,04 ng/ml, der zum Untersuchungszeitpunkt bestehenden Mindestnachweisbarkeitsgrenze. Der α-HbDH Gehalt lag bei durchschnittlich $89,9 \pm 9,9$ U/l (Abb. 2 und 3).

Bei 107 von 135 untersuchten Pferden bestätigte sich der Verdacht auf eine primär kardiale Erkrankung und bei 28 Pferden lag eine nicht kardiale Grunderkrankung vor.

Bei 44 der 135 labordiagnostisch untersuchten Pferde lag ein erhöhter kardialer Troponin-T und/ oder α-HbDH-Wert vor (Tab. 2). Der durchschnittliche kardiale Troponin-T-Wert aller 44 Pferde war mit $2,6 \pm 4,2$ ng/ml und der α-HbDH-Wert mit

3079 ± 151 U/l deutlich höher als bei den 10 gesunden Kontrollpferden. Alle übrigen 91 Pferde bei denen aufgrund kardialer Befunde diese speziellen labordiagnostischen Untersuchungen durchgeführt wurden, zeigten keine Erhöhung der Laborparameter.

Von den 44 Pferden mit erhöhtem kardialen Troponin-T und/oder α-HbDH-Wert zeigten 27 (61,4 %) eine primäre kardiale Erkrankung (Herzklappeninsuffizienz, Herzarrhythmie, Herzdilatation). Drei dieser Pferde hatten ausschließlich einen

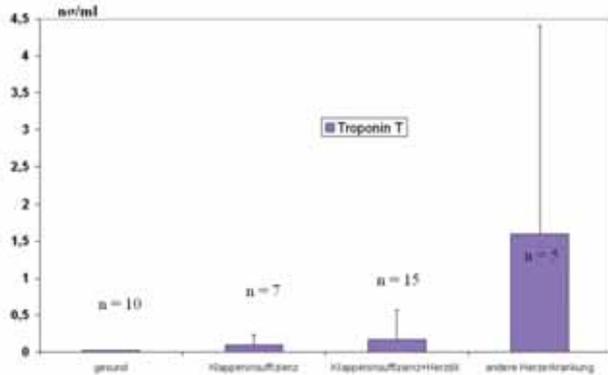


Abb 2 Troponin T Wert bei 10 gesunden Pferden und 27 Pferden mit primärer Herzerkrankung (andere Herzerkrankung = VSD, a ES, vES, Myokarditis, Kreislaufkollaps, VF).

Troponin T values in 10 healthy horses and 27 horses with primary cardiac disease.

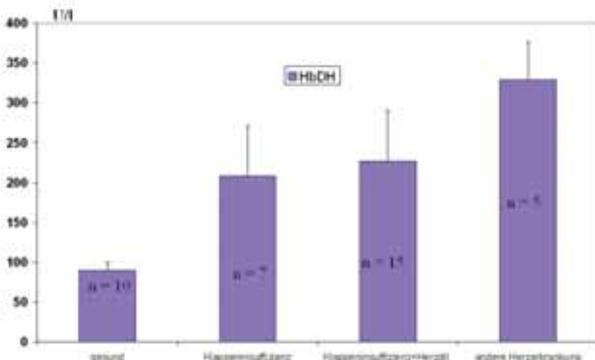


Abb 3 α-HbDH Wert bei 10 gesunden Pferden und 27 Pferden mit primärer Herzerkrankung (andere Herzerkrankung = VSD, a ES, vES, Myokarditis, Kreislaufkollaps, VF).

α-HbDH values in 10 healthy horses and 27 horses with primary cardiac disease.

erhöhten Troponin-T-Wert (>0,1 ng/ml), 19 Pferde zeigten ausschließlich einen erhöhten α-HbDH-Wert (> 170 U/l) und 5 Pferde zeigten beide Parameter erhöht.

Siebzehn Pferde hatten eine andere Grunderkrankung (11 Pferde atypische Weidemyopathie, 1 Pferd Nierenerkrankung, 2 Pferde Lungenerkrankung, 1 Pferd eine Intoxikation, 2 Pferde eine Myopathie). Drei dieser Pferde zeigten ausschließlich einen erhöhten kardialen Troponin-T-Wert, fünf Pferde hatten einen erhöhten α-HbDH-Wert und 9 Pferde zeigten beide Parameter erhöht (Tab. 2).

Bei den Pferden mit einer primären kardialen Erkrankung (n = 27) zeigten 22 Pferde Insuffizienzen einer oder mehrerer Herz-

klappen. Fünfzehn dieser Pferde wiesen zusätzlich partielle (z.B. Vorhof) oder generalisierte Vergrößerungen des Herzens (Kardiomegalie) auf. Die Pferde mit Klappeninsuffizienz und ohne Dimensionsveränderungen des Herzens (n = 7) zeigten einen durchschnittlichen kardialen Troponin-T-Wert von 0,093 ± 0,14 ng/ml und einen durchschnittlichen α-HbDH-Wert von 208 ± 63,4 U/l, wohingegen die Pferde mit Klappeninsuffizienz und Herzdilatation (n = 15) höhere kardiale Troponin-T (0,17 ± 0,4 ng/ml) und α-HbDH-Werte (227 ± 63 U/l) aufwiesen (Tab. 2, Abb. 2 und 3). Der kardiale Troponin-T-Wert war bei den Pferden mit Herzdilatation hochsignifikant (p = 0,001) höher als bei den gesunden Pferden.

Fünf Pferde zeigten eine kardiale Erkrankung ohne Klappeninsuffizienz (1 Pferd Myokarditis, 3 Pferde Arrhythmie, 1 Pferd Kreislaufkollaps, 1 Pferd Ventrikelseptumdefekt). Hier lag der durchschnittliche kardiale Troponin-T-Wert bei 1,6 ± 2,8 ng/ml und der α-HbDH-Wert bei 329 ± 7 U/l (Tab. 2, Abb. 2 und 3).

Von den Siebzehn Pferde mit einer nicht-kardialen Grunderkrankung hatten die 11 Pferde mit atypischer Weidemyopathie einen durchschnittlichen kardialen Troponin-T-Wert von 7,54 ± 6,5 und α-HbDH-Wert von 10719 ± 5251 U/l (Abb. 4 und 5). Diese Gruppe hatte signifikant höhere kardiale Troponin-T und α-HbDH-Werte als die gesunden (p = 0,0004 bzw. 0,007), als die Pferde mit Herzdilatationen (p = 0,0004 bzw. 0,004) und als die Pferde mit Klappenerkrankung und ohne Herzdilatation (p = 0,001 bzw. 0,01).

Sechs Pferde mit anderer Grunderkrankung (Nierenerkrankung, Lungenerkrankung, Intoxikation, Myopathie) hatten durchschnittliche kardiale Troponin-T-Werte von 3,6 ± 0,2 und α-HbDH-Werte von 272 ± 65 U/l (Tab. 2, Abb. 4 und 5).

Von den 44 Pferden mit erhöhten kardialen Troponin-T bzw. α-HbDH-Werten wurden 21 Pferde (48 %) aufgrund der infausten Prognose euthanasiert (n = 20) bzw. geschlachtet (n = 1). Der durchschnittliche kardiale Troponin-T-Wert aller euthanasierten Pferde lag bei 4,6 ± 5,9 ng/ml und der α-HbDH-Wert bei 5484 ± 113 U/l.

Acht dieser Pferde hatten eine primäre kardiale Erkrankung mit einem durchschnittlichen kardialen Troponin-T-Wert von 0,34 ± 0,19 ng/ml und einem α-HbDH-Wert von 255 ± 66 U/l. Die übrigen 13 euthanasierten Pferde mit einer extrakardialen Grunderkrankung zeigten einen durchschnittlichen Troponin-T-Wert von 7,5 ± 6,6 ng/ml und α-HbDH-Wert von 8985 ± 120 U/l. Von diesen 13 Pferden hatten 11 Pferde eine post mortem diagnostizierte atypische Weidemyoglobinurie. Die intra vitam gemessenen kardialen Troponin-T-Werte lagen hier bei 7,54 ± 6,5 und die α-HbDH-Werte bei 10719 ± 5251 U/l (Tab. 2).

Bei den 10 gesunden Pferden der zweiten Testreihe (Tab. 3) verlief die qualitative Troponin T Bestimmung negativ. Die quantitative Troponin-T-Bestimmung war bei allen Pferden < 0,01 ng/ml. Der durchschnittliche α-HbDH-Wert lag bei 123,5 ± 36 U/l.

Bei den 10 Pferden der zweiten Testreihe mit unterschiedlichen Herzerkrankungen (Tab. 4) verlief die qualitative Troponin-T-Bestimmung ebenfalls bei allen Tieren negativ. Die

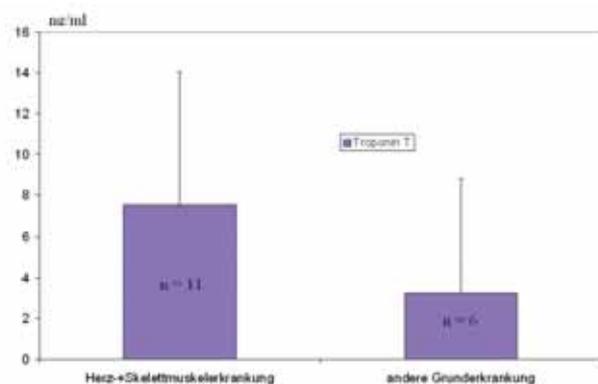


Abb 4 Troponin T Wert bei 11 Pferden mit atypischer Weidemyopathie und 6 Pferden mit anderer nicht kardialer Grunderkrankung. Troponin T values in 11 horses with atypical myoglobinuria and 6 horses with an other non primary cardiac disease.

quantitative Troponin-T-Bestimmung war auch hier bei allen Pferden $< 0,01$ ng/ml. Der durchschnittliche α -HbDH-Wert lag mit $93,7 \pm 31$ U/l deutlich niedriger als bei den gesunden Pferden.

Diskussion

Der Einsatz myokardialer biochemischer Marker hat sich beim Menschen und auch beim Kleintier in der Diagnostik akuter Myokardinfarkte und Myokarditiden bewährt. In der Humanmedizin können zur Früherkennung eines Myokardinfarktes das Myoglobin, die CK-MB, der α -HbDH und die kardialen Troponine herangezogen werden. Dabei sinkt jedoch die CK-MB bereits nach ca. 4 Tagen wieder in den Referenzbereich. α -HbDH bleibt zwar länger, allerdings nur geringfügig erhöht und Troponin ist über ca. 14 Tage erhöht. Akute Myokardinfarkte und Myokarditiden treten beim Pferd eher selten auf und biochemische Myokardmarker wurden beim Pferd bisher

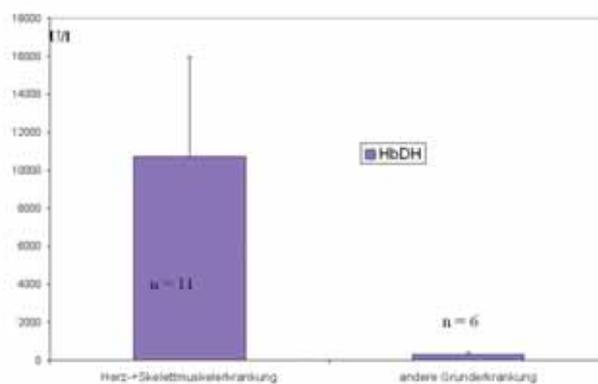


Abb 5 α -HbDH-Wert bei 11 Pferden mit atypischer Weidemyopathie und 6 Pferden mit anderer nicht kardialer Grunderkrankung. Figure 5: α -HbDH values in 11 horses with atypical myoglobinuria and 6 horses with an other non primary cardiac disease.

auch nur vereinzelt in wissenschaftlichen Studien untersucht, wobei z.T. sehr unterschiedliche Ergebnisse gefunden wurden. Aus diesem Grunde ist es sinnvoll, zu überprüfen bei welcher Art der Herzerkrankung die kardialen Marker verwertbare Ergebnisse beim Pferd liefern können.

Akute entzündliche Veränderungen am Myokard treten beim Pferd meist in Verbindung oder als Folge von viralen und/oder bakteriellen Infektionen auf. Bei der akuten Myokarditis fallen klinisch Tachykardien, Mattigkeit, Fieber und Herzarrhythmien auf. Innerhalb weniger Tage kann sich das klinische Bild einer Herzinsuffizienz mit peripheren Ödembildungen (Unterbrust-, Unterbauch-, Präputial-, Lungenödem) zeigen. Neben der Echokardiographie können labordiagnostische Untersuchungen die Diagnose und das Ausmaß absichern. Herzmuskelspezifische Marker wie kardiales Troponin T und I zeigen sich in der akuten Phase beim Menschen und Kleintier deutlich erhöht. Von Reimer et al. 1992 wurde der

Tab 1 Quantitative Troponin T und α -HbDH- Bestimmung bei 10 gesunden Pferden. Quantitative troponin T and α -HbDH analysis in 10 healthy horses.

Pfd.	Rasse	Geschlecht	Alter	Troponin T	HbDH	Befunde/ Diagnosen
1	Hannoveraner	W	6	$< 0,04$	82	Gesund
2	Hannoveraner	W	8	$< 0,04$	75	Gesund
3	Hannoveraner	W	12	$< 0,04$	102	Gesund
4	Hannoveraner	W		$< 0,04$	95	Gesund
5	Hannoveraner	W	5	$< 0,04$	85	Gesund
6	Hannoveraner	W	7	$< 0,04$	92	Gesund
7	Hannoveraner	W	9	$< 0,04$	78	Gesund
8	Hannoveraner	W	11	$< 0,04$	105	Gesund
9	Hannoveraner	W	14	$< 0,04$	90	Gesund
10	Hannoveraner	W	12	$< 0,04$	95	Gesund
			$9,3 \pm 3$	$< 0,04$	$89,9 \pm 9,9$	

Legende zu den Tabellen 1-4:

W = Wallach

H = Hengst

S = Stute

LA = linker Vorhof

LV = linker Ventrikel

VF = Vorhofflimmern

AVI = Aortenklappeninsuffizienz

MVI = Mitralklappeninsuffizienz

PVI = Pulmonalklappeninsuffizienz

TVI = Trikuspidalklappeninsuffizienz

aES = atriale Extrasystolen

vES = ventrikuläre Extrasystolen

↑ = vergrößert

Tab 2 Quantitative Troponin T und α -HbDH Bestimmung bei 44 Pferden mit erhöhten Meßwerten eines oder beider Parameter. *Quantitative troponin T and α -HbDH analysis in 44 horses with an increase in one or both parameters.*

Pfd.	Rasse	Geschl.	Alter	Troponin T	HbDH	Befunde	Verlauf
1	Traber	H	13	0,1	-	MVI, AVI, LA↑	-
2	Friese	W	4	0,49	-	Endokarditis, MVI, AVI, VF, LA↑	Euthanasie
3	Hannov.	W	14	5,75	350	Kreislaufkollaps	-
4	Holst.	S	5	0,4	264	Endokarditis	Euthanasie
5	Hannov.	S	13	0,04	180	MVI, Herzdilatation	-
6	Hannov.	H	19	0,03	190	AOI, Herzdilatation	-
7	Hannov.	W	13	< 0,04	331	Kardiomegalie, VF, MVI, TVI, AVI, Lungenödem	Euthanasie
8	Hannov.	W	12	0,09	18438	atyp. Weidemyopathie	Euthanasie
9	Hannov.	W	8	0,05	84,9	atyp. Weidemyopathie	Euthanasie
10	Vollblut	S	3	< 0,04	205	Kardiomegalie, TVI, MVI, PVI, Lungenödem	-
11	Warmblut	H	8	< 0,04	183	MVI, AVI, LA↑	-
12	Warmblut	W	12	< 0,02	199	TVI, MVI, LA↑, RA↑	-
13	Hannov.	W	8	< 0,02	193	TVI	-
14	Hannov.	S	9	15,9	10600	Atyp. Weidemyopathie	Euthanasie
15	Hannov.	W	12	0,02	209	VF	-
16	Warmblut	W	11	4,57	-	VF, Kreuzverschlag	-
17	Hannov.	S	16	< 0,04	180	AVI, PVI, MVI, Kardiomegalie	-
18	Hannov.	H	4	< 0,04	209	MVI, PVI, Kardiomegalie	-
19	Friese	W	4	0,05	256	TVI, MVI, PVI, Lungenödem	Schlachtung
20	Warmblut	W	6	< 0,02	249	MVI, LA↑	-
21	Westfale	W	4	< 0,02	199	MVI	-
22	Paint	W	1	0,55	385	Myopathie	-
23	Hesse	W	11	< 0,02	258	MVI, TVI, AVI	-
24	Oldenb.	W	9	< 0,02	204	MVI, TVI, PVI	-
25	Friese	H	7	0,03	261	TVI, MVI, PVI, Kardiomegalie	Euthanasie
26	Russe	S	12	0,04	179	AVI, MVI, TVI, VF, Kardiomegalie	Euthanasie
27	Hafflinger	S	2	10,36	10230	atyp. Weidemyopathie	Euthanasie
28	Isländer	W	16	15,9	10600	atyp. Weidemyopathie	Euthanasie
29	Pony	S	9	0,08	7380	atyp. Weidemyopathie	Euthanasie
30	Araber	W	11	2,73	12298	atyp. Weidemyopathie	Euthanasie
31	Isländer	S	1	3,36	13387	atyp. Weidemyopathie	Euthanasie
32	Hannov.	W	5	12,6	15972	atyp. Weidemyopathie	Euthanasie
33	Hannov.	S	3	7,33	8195	atyp. Weidemyopathie	Euthanasie
34	Warmblut	H	1	14,5	-	atyp. Weidemyopathie	Euthanasie
35	Warmblut	S	12	0,64	-	aES + vES	-
36	Pony	W	4	< 0,01	195	VSD	Freizeit
37	Hannov.	W	13	< 0,04	173	interst. Pneumopathie	-
38	Holsteiner	W	7	< 0,02	284	interst. Pneumopathie	-
39	Trakhener	W	13	0,33	170	Intoxikation	Euthanasie
40	Oldenbur.	W	5	0,12	82	PVI	-
41	Traber	S	15	0,05	149	VF, Kardiomegalie	Euthanasie
42	Pony	H	16	1,58	346	Kardiomegalie, VF, MVI	Euthanasie
43	Araber	S	10	1,49	560	Myokarditis, Myokardhypertrophie	-
44	Warmblut	W	12	14	460	Hgr. Niereninsuffizienz	Euthanasie
Norm.				< 0,02	< 170		

Anstieg von CK-MB (kardiale Isoenzymfraktion des CK) als Möglichkeit zur Aufdeckung myokardialer Schäden bei Pfer-

den mit ventrikulärer Tachykardie und von Reef et al. 1998 eine Erhöhung von CK-MB und HbDH bei Pferden mit einer

Tab 3 Qualitative und quantitative Troponin T sowie quantitative Troponin I und α -HbDH Bestimmung bei 10 gesunden Pferden.
Quantitative and qualitative troponin T and quantitative troponin I and α -HbDH analysis in 10 healthy horses.

Pfd.	Rasse	Geschlecht	Alter	Troponin T-Test	Troponin T (ng/ml)	Troponin I (ng/ml)	HbDH (U/l)	Befunde/ Diagnosen
1	Hannoveraner	W	9	Negativ	0,01	< 0,1	149	Gesund
2	Hannoveraner	W	12	Negativ	0,01	< 0,1	125	Gesund
3	Hannoveraner	W	13	Negativ	0,01	< 0,1	125	Gesund
4	Hannoveraner	W	15	Negativ	0,01	< 0,1	153	Gesund
5	Hannoveraner	W	7	Negativ	0,01	< 0,1	96	Gesund
6	Hannoveraner	W	8	Negativ	0,01	< 0,1	202	Gesund
7	Hannoveraner	W	6	Negativ	0,01	< 0,1	100	Gesund
8	Hannoveraner	W	12	Negativ	0,01	< 0,1	96	Gesund
9	Hannoveraner	W	14	Negativ	0,01	< 0,1	97	Gesund
10	Hannoveraner	W	12	Negativ	0,01	< 0,1	92	Gesund

hochgradigen Mitralklappeninsuffizienz berichtet. Es wurde von den Autoren gefolgert, dass Myokardverletzungen und/oder Myokarditiden eine wichtige Rolle bei der Entstehung von hochgradigen Mitralklappeninsuffizienzen spielen. Jedoch sollte berücksichtigt werden, dass lediglich 1,5 % der totalen CK Aktivität im Pferdeherzen auf CK-MB zurückzuführen ist, wohingegen es beim Menschen 20 % sind (Mair 1997). Aus diesem Grunde gilt dieser kardiale Marker beim Pferd als relativ unsensitiv (Cornelisse et al. 2000). Zusätzlich kann ein Anstieg der totalen CK Aktivität z.B. bei Skelettmuskelschaden oder eine Neubildung von CK-MB bei Skelett- oder Nierenschädigungen zu einem falsch positiven Ergebnis führen. Außerdem sind viele hochgradige Herzklappenerkrankungen des Pferdes chronischer Natur, d.h. nach einer initialen akut entzündlichen Veränderung der Herzklappen oder des Myokards kommt es nachfolgend zu Fibrosierungen, Klappenretraktion und nachfolgender Schlußunfähigkeit der Klappe bzw. Dilatationen des Myokards mit Auseinanderweichen der Klappenebene und nachfolgender Insuffizienz. Die meisten Klappenerkrankungen des Pferdes werden jedoch über viele Jahre kompensiert ohne das die Pferde klinisch auffällig sind. Herzgeräusche und/oder –arrhythmien fallen z.T. erst als Zufallsbefund auf. Inwieweit eine Myokarditis dabei eine Rolle spielt bzw. eine ischämische Myokardschädigung mechanisch durch z.B.

Myokarddilatation oder durch Stoffwechselveränderungen relevant ist, ist nicht bekannt.

Die kardialen Marker wurden in der Humanmedizin zunehmend zur prognostischen Beurteilung chronischer, ischämischer Herzkrankheiten eingesetzt. Dieses könnte auch für die Anwendung beim Pferd von Interesse sein, um chronische sekundäre Myokardschäden, z.B. bei dilatativen Kardiomyopathien nach Klappeninsuffizienzen, aufzudecken. Die häufigsten Herzerkrankungen des Pferdes sind im Bereich des Endokards als Herzklappeninsuffizienzen lokalisiert. Sekundär können Myokardhypertrophien und –dilatationen auftreten und mit einer Freisetzung von herzmuskelspezifischen Proteinen und/oder Enzymen einhergehen. Um dies zu überprüfen wurde in der vorliegenden retrospektiven Studie überprüft, welchen Nutzen biochemische kardiale Marker bei Pferden mit unterschiedlichen Herzerkrankungen haben, ob eine Korrelation zwischen Myokarddilatationen und biochemischen Markern vorliegt und inwieweit es generell sinnvoll ist biochemische Marker in der kardialen Routinediagnostik beim Pferd einzusetzen. Beim Menschen wurden auch Erhöhungen kardialer Troponine bei nicht-ischämischen kardialen Erkrankungen, z.B. bei Sepsis und septischen Schockgeschehen festgestellt (Ammann et al. 2001, Mehta et al. 2004). Auch bei septischen Fohlen wurden im Vergleich zu gesunden Fohlen signifikant höhere kardiale Troponin

Tab 4 Qualitative und quantitative Troponin T Bestimmung sowie quantitative Troponin I und α -HbDH Bestimmung bei 10 Pferden mit verschiedenen Herzerkrankungen.
Quantitative and qualitative troponin T and quantitative troponin I and α -HbDH analysis in 10 horses with different cardiac diseases

Pfd.	Rasse	Geschl.	Alter	Troponin T-Test	Troponin T (ng/ml)	Troponin I (ng/ml)	HbDH (U/l)	Befunde/ Diagnosen	Verlauf
1	Holsteiner	W	7	Negativ	0,01	< 0,1	106	AVI, α ES, LA \uparrow	-
2	Warmblut	W	13	Negativ	0,01	< 0,1	129	α ES, LV \uparrow	-
3	Hannoveraner	W	10	Negativ	0,01	< 0,1	117	α ES, TVI, MVI, LA \uparrow	-
4	Hesse	S	10	Negativ	0,01	< 0,1	94	VF, LA \uparrow , Synkopen	Euthanasie
5	Warmblut	H	15	Negativ	0,01	< 0,1	54,3	TVI, MVI, AVI	-
6	Hannoveraner	W	13	Negativ	0,01	< 0,1	76,2	MVI	-
7	Oldenburger	W	6	Negativ	0,01	< 0,1	78	MVI	-
8	Hesse	W	10	Negativ	0,01	< 0,1	56,1	TVI, AVI	-
9	Trakehner	H	5	Negativ	0,01	< 0,1	140	TVI, MVI	-
10	Trakehner	W	13	Negativ	0,01	< 0,1	86	MVI, AVI, Ödeme, LA \uparrow , LV \uparrow	Euthanasie

T (maximal 0,2 ng/ml), und CK-MB Werte gefunden (Slack et al. 2005) und als myokardiale Schädigung im Rahmen einer generalisierten Multi-Organ Schädigung interpretiert. Die kardialen Troponin I Werte unterschieden sich dagegen nicht von denen gesunder Fohlen (maximal 1,3 ng/ml).

Bei den in der vorliegenden Studie untersuchten Pferden zeigten einige mit Verdacht auf eine akute Myokarditis (akut Fieber, Tachykardie, Arrhythmie, akute Herzdilatation) keine erhöhten myokardialen Marker wohingegen Pferde mit einer z.T. seit Jahren bekannten Herzklappeninsuffizienz erhöhte Troponin T Werte zeigten (Pfd. 1,2, 40; Tab. 2). Es ist bekannt, dass es im Verlauf von chronischen kardialen Erkrankungen der Herzklappen auch zu myokardialen Umbauprozessen (kardiales Remodelling) kommt, die histologisch nachweisbar sind. Inwieweit es dabei auch zu einer Freisetzung von kardialen biochemischen Markern kommen kann und ob diese dann labordiagnostisch nachweisbar sind und zusätzliche Informationen über das Krankheitsgeschehen und die Prognose liefern muss für das Pferd noch untersucht werden.

Eine Studie von Cranley und McCullagh (1981) bei über 2000 nicht ausgewählten Schlachtpferden aller Alterstufen zeigte, dass bei 14,3 % der Tiere herdförmige myokardiale Fibrosen, sowohl in beiden Vorhöfen, als auch in beiden Kammern gefunden wurden. Diese waren nicht altersabhängig. Mikroskopisch bestanden diese Läsionen überwiegend in einem fibrösen Ersatz lytischer Muskelfasern, wobei jedoch gelegentlich auch akute Infarkte festgestellt wurden. Die Myokardläsionen wurden dabei auf Ischämien zurückgeführt da intramyokardiale Arteriolen in oder nahe der Läsionen occlusive, arteriosklerotische Veränderungen aufwiesen. Als Ursache vermuteten die Autoren Mikroembolisierungen aus parasitären Läsionen, da ein hochsignifikanter Zusammenhang zwischen Myokardläsionen und Strongylus vulgaris Läsionen vorlag. Inwieweit diese Läsionen mit einer klinischen Symptomatik und/oder sonstigen kardialen Befunden (z.B. Klappeninsuffizienzen, Dilatationen, Arrhythmien) einhergingen ist nicht bekannt. Die Studie zeigt jedoch, dass myokardiale Läsionen beim Pferd evtl. häufiger auftreten, als allgemein erwartet wird.

Das Isoenzym α -HbDH der Laktatdehydrogenase (LDH) gilt verbreitet als „herzmuskelspezifisches Enzym bzw. Marker“ obwohl es sowohl in der Skelettmuskulatur als auch im Herzmuskel vorkommt und nur bei akuten Gewebeschädigungen erhöht ist. Sein diagnostischer Wert in Bezug auf eine akute Myokardschädigung ist beim Menschen und Pferd jedoch inzwischen ebenfalls aufgrund der deutlich vorhandenen Interaktion mit der Skelettmuskulatur fraglich (Jaffe et al. 2000, Collinson et al. 2001). Auch in der vorliegenden Studie hat sich der HbDH Wert als eher unspezifisch gezeigt, da er bei vielen Pferden mit akuten oder chronischen kardialen Erkrankungen im Normalbereich lag aber bei einem gesunden Pferd der zweiten Testreihe (Nr. 6, Tab. 3) mit 200 U/l erhöht war. Bei der Suche nach sensitiven und herzmuskelspezifischen biochemischen Markern wurden deshalb in der Humanmedizin die kardialen Troponine bevorzugt (Mair 1997). In der Humanmedizin werden kardiale Troponin T Werte unter 0,2 ng/ml als normal gewertet. Erst bei Werten über 0,2 ng/ml wird von einer kardialen Ischämie ausgegangen.

Würde man diese Bewertung bei dem hier untersuchten Patientenmaterial anwenden, ohne die Pferde mit primärer Muskel-

oder Nierenerkrankung zu berücksichtigen, so hätten lediglich 5 der 135 untersuchten Pferde einen kardialen Troponin T Wert von über 0,2 ng/ml und damit Hinweise für eine myokardiale Problematik. In der vorliegenden Studie wurde ab einem Troponin-T-Wert von 0,1 ng/ml von einer Werterhöhung ausgegangen, was jedoch die Zahl der Pferde mit einem erhöhten Troponin-T-Wert lediglich um 2 weitere Pferde (Nr.1 und Nr. 40) erhöht. Die 135 Pferde der vorliegenden Studie (Studie 1) bei denen der kardiale Troponin-T-Wert bestimmt wurde waren vorberichtlich überwiegend zur Herzuntersuchung eingestellt. Der größte Teil dieser Patienten wies eine Herzklappenerkrankung mit oder ohne Dimensionsveränderungen ohne pathologische Erhöhung des kardialen Troponin-T und/oder α -HbDH-Wertes auf. Deutliche Erhöhungen des Troponin-T-Wertes wurden fast nur bei Pferden mit atypischer Weidemyopathie gefunden. Es sollte bedacht werden, dass eine geringe Kreuzreaktion (2%) mit Skelettmuskeltroponin bei Troponin-T vorhanden ist, daher können bei schweren Muskelerkrankungen oder Traumen messbare Troponin-T Konzentrationen auftreten. In der Sektion zeigten diese Tiere neben einer generalisierten Skelettmuskeldegeneration auch fokale oder generalisierte myokardiale Degenerationen und Nekrosen. Die extrem hohen Troponin-T-Werte dieser Pferde ergeben sich wahrscheinlich aus der Kombination von hochgradigem Myokardschaden und hochgradigem Skelettmuskelschaden.

Da sich bei 89 % der Patienten keine kardiale Troponin-T-Wert Erhöhung zeigte erfolgte seit Mitte des Jahres 1997 die kardiale Troponin-T-Bestimmung, direkt in unserer Klinik qualitativ über einen Schnelltest. Erst wenn dieser ein positives Ergebnis zeigte wurde der kardiale Troponin-T-Gehalt quantitativ in einem externen Labor bestimmt.

Aber auch in der zweiten Testreihe bei 10 Patienten mit unterschiedlichen, z.T. hochgradigen Herzerkrankungen waren der qualitative kardiale Troponin-T-Test sowie die quantitative kardiale Troponin-T-Bestimmung und der kardiale Troponin-I-Wert unauffällig, bzw. es zeigten sich zwischen gesunden und herzkranken Pferden keine Unterschiede da bei allen Pferden die Werte unterhalb der Nachweisbarkeitsgrenze lagen. Bei Pferden mit chronischen Herzerkrankungen, z.B. einer Herzklappeninsuffizienz ev. kombiniert mit einer Herzrhythmie, ist wahrscheinlich nur bei hochgradigen Befunden und in seltenen Fällen mit einer Erhöhung herzmuskelspezifischer Marker zu rechnen. Ob die Höhe der Werte ähnlich wie beim Menschen Auskunft über das Ausmaß einer myokardialen Schädigung und die Prognose liefert, müssen weitere gezielte Studien belegen. Dazu wäre es erforderlich bei Patienten mit erhöhten kardialen Troponin-T oder I Werten histopathologische Untersuchungen des Myokards durchzuführen, was jedoch nur in wenigen Fällen möglich ist.

Nicht nur bei Muskelerkrankungen sondern auch bei schweren Nierenerkrankungen kann es zu einer unspezifischen Erhöhung von kardialen Troponin-T durch Neusynthese auch kardialer Isoformen in anderen Geweben kommen. Das wurde auch in der vorliegenden Studie beobachtet (Pfd. Nr 44, Tab. 2).

Dagegen hat sich herausgestellt, dass sowohl beim Menschen (Laslett und Eisenbud 1997) als auch beim Pferd (Cornelis et al. 2000, Phillips et al. 2003) kardiales Troponin-I nicht durch eine Skelettmuskelschädigung beeinflusst wird. Somit erscheint der kardiale Troponin-I-Wert auch für das

Pferd spezifischer als der kardiale Troponin-T-Wert. Bisher wurden in der Literatur jedoch nur zwei Einzelfallberichte von Pferden mit einem erhöhten kardialen Troponin-I-Wert und einem kardialen Befund publiziert (Cornelisse et al. 2000, Schwarzwald et al. 2003). Das mag unter anderem daran liegen, daß die Untersuchung dieses spezifischen kardialen Markers bisher nicht routinemäßig durchgeführt wurde und auch in der Praxis bisher wenig etabliert ist.

In der Studie von Cornelisse et al. (2000) wurde erstmals bei einem Pferd mit einem rupturierten Myokarddefekt ein erhöhter kardialer Troponin-I-Wert von 5,9 ng/ml diagnostiziert. Eine Erhöhung der CK-MB wurde hingegen nicht nachgewiesen. Bei 6 gesunden Pferden wurden von den Autoren kardiale Troponin-I-Werte unter 0,3 ng/ml gefunden. Lediglich ein gesundes Pferd zeigte einen kardialen Troponin-I-Wert von 1 ng/ml. Von et al. (2003) wurde von einem Pferd mit Myokardnekrose und einem deutlich erhöhten kardialen Troponin-I-Wert von 404 ng/ml berichtet.

Die normale Plasmakonzentrationen von Troponin-I liegt beim Menschen je nach Testverfahren zwischen 0 und 1 ng/ml. Beim Pferd liegen die Normwerte zwischen 0,1 und 0,3 ng/ml (Cornelisse et al. 2000, Schwarzwald et al. 2003). In der vorliegenden Untersuchung zeigten auch Pferde mit hochgradigen kardialen Befunden, Herzarrhythmie und beginnender kongestiver Herzinsuffizienz z.T. weder erhöhte kardiale Troponin-T noch erhöhte kardiale Troponin-I-Werte. Die kardiale Troponin-I Bestimmung wurde jedoch nur bei 10 Patienten mit kardialen Befunden durchgeführt. Weitere Studien an einem großen Patientenkontingent sind erforderlich, um den klinischen Nutzen und die Grenzen dieses kardialen Markers auch für das Pferd zu verifizieren.

Zusammenfassung

Aufgrund der vorliegenden Untersuchungen und den Ergebnissen anderer Studien ist die Untersuchung kardialer Marker nur in streng vorselektierten Fällen, ausschließlich bei Verdacht auf eine akute myokardiale Schädigung, sinnvoll. Neben primär kardialen Erkrankungen kann die Überprüfung kardialer Marker auch bei generalisierten Septikämien und Intoxikationen wertvolle Hinweise für eine Myokardschädigung liefern. Es sollte beachtet werden, dass hochgradige Skelett- und/oder Nierenerkrankungen falsch positive Ergebnisse in Bezug auf den kardialen Troponin-T-Wert liefern können. Der α -HbDH-Wert ist zu unspezifisch und sollte, wie auch beim Menschen, beim Pferd nicht mehr als spezifischer kardialer Marker verwendet werden. Aufgrund verschiedener Untersuchungen gehen wir davon aus, dass sich auch beim Pferd das kardiale Troponin-I in Zukunft als sensitivster kardialer Marker erweist. Allerdings sind weitere Untersuchungen zur Absicherung dieser Annahme erforderlich.

Literatur

- Adams J. E., Bodor G. S. und Davila-Roman V. G. (1993): Cardiac troponin I. A marker with high specificity for cardiac injury. *Circulation* 88, 101-106
- Amann P., Fehr T. und Minder E. I. (2001): Elevation of troponin I in sepsis and septic shock. *Intensiv Care Med.* 27, 965-969
- Argiroudis S. A., Kent J. E. und Blackmore D. J. (1982): Observations on isoenzymes of creatine kinase in equine serum and tissue. *Equine Vet. J.* 14, 317-321
- Bhayana V. und Henderson A. R. (1995): Biochemische Marker für Myokardschädigung. *Clin. Chem.* 28, 1-29
- Collins R., Tucker J. und Apple F. (1995): Marker zur Früherkennung von Myokardschäden bei Patienten mit Brustschmerzen in der Notaufnahme. *Clin. Chem.* 41, 56-58
- Collins J. N., Cole F. J. und Weireter L. J. (2001): The usefulness of serum troponin levels in evaluating cardiac injury. *Am. Surg.* 67, 821-826
- Collinson P. O., Boa F. G. und Gaze D. C. (2001): Measurement of cardiac troponins. *Ann. Clin. Biochem.* 38, 423-449
- Cranley J. J. und McCullagh K. G. (1981): Ischaemic myocardial fibrosis and aortic strongylosis in the horse. *Equine Vet. J.* 13, 35-42.
- Fromm R. E. und Roberts R. (2001): Sensitivity and specificity of new serum markers for mild cardioneerosis. *Curr. Probl. Cardiol.* 26, 241-284
- Guyton A. C. und Hall J. E. (2000): Contraction of skeletal muscle. In: Guyton A. C. und Hall J. E. (Ed.): *Textbook of Medical Physiology*, 10th ed. Philadelphia, PA: Saunders W.B., 67-79
- Jaffe A. S., Ritter C. und Meltzer V. (1984): Unmasking artifactual increase in creatine kinase isoenzymes in patients with renal failure. *J. Lab. Clin. Med.* 104, 193-202
- Katus H. A., Looser S., Hallermayer K., Remppis A., Scheffold T., Borgya A., Essig U. und Geuß U. (1992): Development and in vitro characterization of a new immunoassay of cardiac troponin T. *Clin Chem.* 38, 386-393
- Laslett L. und Eisenbud E. (1997): Lack of detection of myocardial injury during competitive races of 100 miles lasting 18 to 30 hours. *Am J. Cardiol.* 80, 379-380
- Mair J., Wagner I. und Morass B. (1995): Cardiac troponin I release correlates with myocardial infarction size. *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 33, 869-872
- Mehta N. J., Khan I. A. und Gupta V. (2004): Cardiac troponin I predicts myocardial dysfunction and adverse outcome in septic shock. *Int. J. Cardiol.* 95, 13-17
- O'Brian P. J., Landt Y. und Ladenson J. H. (1997): Differential reactivity of cardiac and skeletal muscle from various species in a cardiac troponin I immunoassay. *Clin. Chem.* 43, 2333-2338
- O'Brian P. J., Dameron G. W. und Beck M. L. (1998): Differential reactivity of cardiac and skeletal muscle from various species in a cardiac troponin T immunoassay. *Res. In Vet. Sc.* 65, 135-137
- Phillips W., Giguere S., Franklin R. P., Hernandez J., Adin D. und Peloso J. (2003): Cardiac troponin I in pastured and race-training thoroughbred horses. *J. Vet. Int. Med.* 17, 597-599
- Reef V. B., Bain F. T. und Spencer P. A. (1998): Severe mitral regurgitation in horses: clinical, echocardiographic and pathological findings. *Equine Vet. J.* 30, 18-27
- Reimer J. M., Reef V. B. und Sweeney R. W. (1992): Ventricular arrhythmias in horses. 21 cases (1984-1989). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 201, 1237-1243
- Ricchiuti V., Sharkey S. W. und Murakami M. M. (1998): Cardiac troponin I and T alterations in dog hearts with myocardial infarction: Correlation with infarct size. *Am. J. Clin. Pathol.* 110, 241-247
- Schwarzwald C. C., Hardy J. und Buccellato M. (2003): High cardiac troponin I Serum concentration in a horse with multiform ventricular tachycardia and myocardial necrosis. *J. Vet. Int. Med.* 17, 364-368
- Slack J. A., McGuirk S. M., Erb H. N., Lien L., Coombs D., Semrad S. D., Riseberg A., Marques F., Darien B., Fallon L., Burns P., Murakami M. A., Apple F. S. und Peek S. F. (2005): Biochemical markers of cardiac injury in normal, surviving septic, or nonsurviving septic neonatal foals. *J. Vet. Int. Med.* 19, 577-580
- Smith S. C., Ladenson J. H. und Mason J. W. (1997): Elevation of cardiac troponin I associated with myocarditis. Experimental and clinical correlates. *Circulation* 95, 163-168

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