

Procalcitonin bei Pferden mit akuter Kolik

Dana Teschner¹, Martin Rieger², Conny Koopmann¹ und Heidrun Gehlen¹

¹ Klinik für Pferde, Freie Universität Berlin

² Helmholtz-Zentrum München

Zusammenfassung: Procalcitonin (PCT) wird in der Humanmedizin als sensibler Marker für das Vorliegen einer Endotoxämie und bakteriellen Infektion genutzt. In dieser Studie wurde PCT bei endotoxämischen Pferden, bedingt durch eine akute Kolik, bestimmt und mit den proinflammatorischen Zytokinen IL-1 β , IL-6 und TNF α verglichen. Ziel dieser Untersuchung war zu beleuchten, ob sich die PCT-Plasmakonzentration bei einer akuten Kolik im Vergleich zum gesunden Pferd erhöht, im Verlauf einer Kolik verändert und ob sie sinnvoll zur Prognosestellung herangezogen werden kann. Dazu wurden 13 Pferde mit einer akuten Kolik, die anhand der klinischen und labordiagnostischen Untersuchung bei Einlieferung in die Klinik als endotoxämisch eingestuft wurden, untersucht und mit 20 gesunden Kontrollpferden verglichen. Die Kolikpferde wurden mit Hilfe eines modifizierten Sepsis Scores als endotoxämisch eingestuft. Zur Bestimmung von PCT, IL-1 β , IL-6 und TNF α wurden von allen Pferden zum Zeitpunkt der Einlieferung in die Klinik Blutproben gewonnen und mit Hilfe eines spezifischen ELISA quantifiziert. Bei 11 Pferden wurde ein Strangulationsileus, bei jeweils einem Pferd ein Obstruktionssileus und eine Enteritis diagnostiziert. Es zeigte sich, dass endotoxämische Pferde mit einem Strangulationsileus signifikant höhere Konzentrationen von PCT und IL-1 β im Plasma bzw. Serum hatten als die gesunden Kontrollpferde. Pferde, die nachfolgend laparotomiert wurden, wiesen bei Einlieferung ebenfalls signifikant höhere PCT und IL-1 β -Plasma- bzw. Serumkonzentrationen auf als die gesunden Kontrolltiere. Eine Verlaufsmessung von IL-1 β und PCT über 72 Stunden bei 7 Pferden zeigte jedoch keine signifikanten Veränderungen der Konzentrationen. Die gesunden Kontrollpferde zeigten signifikant höhere IL-6-Serumkonzentrationen als die Patienten. Die Serumkonzentrationen von TNF α zeigten dagegen keine signifikanten Unterschiede zwischen den endotoxämischen und den gesunden Pferden. Ein Zusammenhang zwischen PCT und IL-1 β und dem Überleben der Patienten konnte nicht hergestellt werden. PCT scheint trotzdem auch für die Pferdemedizin ein vielversprechender Untersuchungsparameter im Rahmen einer Endotoxämie zu sein und sollte in weiteren Studien validiert werden.

Schlüsselwörter: Pferd / Kolik / Endotoxämie / Procalcitonin / Zytokine

Procalcitonin in horses with an acute colic

In comparison to other animal species the horse is very sensitive to the systemic consequences of endotoxemia leading to a high morbidity and mortality of gastrointestinal (e.g. colic or colitis) disease. Procalcitonin (PCT) is used in human medicine as a sensitive marker for the presence of a bacterial infection and endotoxemia. In this study, PCT was determined in endotoxemic horses with an acute colic and compared to the proinflammatory cytokines IL-1 β , IL-6 and TNF α . The aim of this study was to examine whether the PCT plasma concentrations increases in horses with an acute colic compared to healthy horses, changes during the next days after referral to the hospital and whether it can be used to predict survival. 13 horses with an acute colic were classified as endotoxemic based on the results of the clinical and laboratory examination upon admission to the hospital, using a modified score and compared with 20 healthy control horses. For the determination of PCT, IL-1 β , IL-6 and TNF α blood was collected from all horses at the time of admission at the equine hospital. Blood samples were quantified at the Helmholtz Zentrum München using an ELISA. A strangulating ileus was diagnosed in 11 horses, an obstructing ileus and enteritis in each case a horse. Endotoxemic horses with an intestinal strangulation showed significantly higher concentrations of median PCT and IL-1 β in plasma or serum than the healthy control group. Horses that underwent laparotomy also had significantly higher PCT and IL-1 β -plasma or serum concentrations than healthy controls. A follow up measurement of IL-1 β and PCT over a 72-hour-period at 7 horses showed no significant changes in the levels. Significantly low median IL-6 serum levels could be measured in the patients when compared to healthy horses. The median serum concentrations of TNF α showed no significant differences between endotoxaemic and healthy horses. A correlation between PCT and IL-1 β and survival of patients could not be established. PCT seems to be a promising biomarker for the detection of endotoxemia for the equine medicine but further research is needed.

Keywords: horse / endotoxemia / colic / procalcitonin / zytokines

Zitation: Teschner D., Rieger M., Koopmann C., Gehlen H. (2015) Procalcitonin bei Pferden mit akuter Kolik. *Pferdeheilkunde* 31, 371-377

Korrespondenz: Dr. Dana Teschner, Klinik für Pferde, Allgemeine Chirurgie und Radiologie der Freien Universität Berlin, Oertzenweg 19b, 14163 Berlin, E-Mail: dana.teschner@fu-berlin.de

Einleitung

Pferde scheinen im Rahmen einer schweren Kolik, im Vergleich zu anderen Tierarten, häufiger eine Endotoxämie zu entwickeln, die beim erwachsenen Pferd und speziell beim Fohlen die Mortalität und Morbidität (Sykes und Furr 2005) negativ beeinflussen kann. Jede Art einer Infektion (bakteriell, viral oder fungal) kann prinzipiell zu einer Endotoxämie und Sepsis führen, wobei Bakterien sowie deren Stoffwechselprodukte beim Pferd die häufigste Ursache darstellen (Roy 2004). Bakterielle Endotoxine (LPS-Anteil der äußeren Zell-

wand gram-negativer Bakterien) können beim Pferd über verschiedene Wege in die Blutzirkulation gelangen. Der Dickdarm des Pferdes beinhaltet große Mengen an Bakterien, weshalb sich auch große Mengen an Lipopolysacchariden (LPS) im Dickdarm von gesunden Pferden befinden (King und Gerring 1988). Die Mukosa und deren „Tight junctions“ zwischen den Epithelzellen sowie die Kolonisation von kommensalen Bakterien bilden zusammen eine effektive Abwehr und verhindern die Absorption größerer Mengen von LPS in die Blutbahn (King und Gerring 1988, Moore und Barton 1998).

Eine Störung dieser Abwehrmechanismen, wie zum Beispiel bei einem Strangulationsileus oder einer Enteritis, führt zu einer erhöhten Endotoxinaufnahme und folglich zur Überschreitung der Entgiftungskapazität der Leber (Sykes und Furr 2005). Folge davon ist eine Endotoxämie.

Die Interaktion der Bakterien oder ihrer Produkte mit mononukleären Phagozyten induziert die Entzündungsreaktion beim Pferd. Die Freisetzung der proinflammatorischen Zytokine IL1 β , IL-6, TNF α und anderen Mediatoren durch aktivierte Makrophagen führt zu den typischen klinischen Symptomen, wie Fieber, Depression, Anorexie, Tachykardie und Tachypnoe (Roy 2004). Weiterhin beinhaltet das klinische Bild Veränderungen der Schleimhautfarbe, Dehydration, Koliksymptome und Diarrhoe (Moore und Barton 1998). Leukopenie, Hypoxämie, metabolische Azidose und Hyperlaktatämie sind häufige labordiagnostische Veränderungen (Beadle und Huber 1977). Zur frühzeitigen Diagnosestellung wurden Scoring Systeme etabliert. Breuer und Schusser (2012) entwickelten das erste Scoring System für adulte Pferde das neben den klinischen Symptomen auch Veränderungen der Laborparameter berücksichtigt.

Als spezifischer Indikator für mikrobielle Infektionen, Multiorganversagen und Sepsis beim Menschen ist Procalcitonin (PCT) als einer der bedeutendsten Biomarker anerkannt (Schneider und Lam 2007). PCT ist ein Polypeptid, Vorläufer des Hormons Calcitonin, besteht aus 116 Aminosäuren und weist ein Molekulargewicht von ca. 13 kDa auf. Bei gesunden Individuen beträgt die PCT-Konzentration in Plasma bzw. Serum <0,1 ng/mL (Russwurm et al. 1999). PCT bietet eine kurze Induktionszeit nach bakteriellem Stimulus und eine lange Halbwertszeit (Prkno et al. 2013). Auch bei Hamstern, Schweinen, Ratten und Affen wurde ein PCT-Anstieg nach experimentell induzierter Endotoxämie beobachtet, was PCT zu einem möglichen Biomarker für bakterielle Entzündungen in der Veterinärmedizin macht (Zannoni et al. 2012, Redl et al. 2001, Wagner et al. 2002). Beim Pferd konnten in Untersuchungen bei septischen (Rieger et al. 2014) beziehungsweise endotoxämischen (Bonelli et al. 2014) Patienten ebenfalls erhöhte PCT-Konzentrationen gemessen werden. Das Potential von PCT als Entzündungsmarker beim adulten Pferd scheint daher sehr groß.

Ziel dieser Studie war es zu untersuchen, ob sich die PCT-Plasmakonzentration bei endotoxämischen Pferden mit einer akuten Kolik im Vergleich zum gesunden Pferd erhöht, im Verlauf einer Kolik verändert und ob sie zur Prognosestellung herangezogen werden kann. Die Hypothese war, dass Pferde mit akuter Kolik Anzeichen einer Endotoxämie haben und dass PCT bei diesen Pferden in höherer Plasmakonzentration vorliegt. Ein weiteres Ziel unserer Studie war es, den Zusammenhang zwischen PCT, der Diagnose, einer Laparotomie und der Überlebensrate zu beleuchten und mit den proinflammatorischen Zytokinen IL-1 β , IL-6 und TNF α zu vergleichen.

Material und Methoden

Patienten

In dieser Studie wurden Pferde untersucht, die aufgrund einer akuten Kolik in der Klinik für Pferde der Freien Universität Ber-

lin im Zeitraum zwischen Mai 2013 und Februar 2014 vorgestellt wurden und bereits bei der Einlieferung Zeichen einer Endotoxämie zeigten. Nach einer klinischen Allgemeinuntersuchung erfolgte eine spezielle Untersuchung des Verdauungssystems. Es wurden folgende Parameter erhoben und dokumentiert: Signalement (Alter, Geschlecht, Rasse, Körpergewicht), Vorbericht, Allgemeinzustand, Herzfrequenz, Atemfrequenz, Körperinnentemperatur, Schleimhautfarbe und kapilläre Rückfüllungszeit (KFZ). Die weiterführende Diagnostik des Verdauungssystems beinhaltete eine rektale Palpation, die Sonographie des Abdomens, eine Abdominzentese und die Sondierung des Magens. Bei allen Patienten wurde während der ersten Untersuchung, sofort nach Klinikeinlieferung, Blut durch eine sterile Punktion der Jugularvenen gewonnen und eine Blutbildkontrolle zur Bestimmung weißer Blutzellen (WBC), roter Blutzellen (RBC), Hämatokrit (HCT), der Thrombozyten (PLT) sowie einer venösen Blutgasanalyse zur Bestimmung von Glukose, Calcium, Laktat, Baseexcess und Elektrolyten durchgeführt. Anhand dieser Parameter wurden die Pferde mit Hilfe des modifizierten Scores von Breuer und Schusser (2012) als endotoxämisch eingestuft, wenn sie mehr als 7 Punkte erreichten. Die Klassifizierung der Pferde als endotoxämisch bildete somit das Einschlusskriterium für diese Studie.

Pferde, die nach diesen Untersuchungen eine Indikation für eine Laparotomie hatten, wurden operativ versorgt. Kolikpatienten ohne OP-Indikation wurden konservativ therapiert. Die Diagnose bezüglich der Kolik wurde anhand der klinischen Untersuchung der speziellen Untersuchung des Verdauungssystems zusammen mit den Ergebnissen der Laboruntersuchungen gestellt. Bei den Pferden, die laparotomiert wurden, wurde die Diagnose intra operationem gestellt. Alle Patienten wurden nachfolgend unter den gleichen Bedingungen aufgestellt und versorgt. Pferde, die laparotomiert wurden, wurden nach der Operation mit bedarfsgerechten Dauertropfinfusionen, Amoxicillin (10 mg/kg BID i.v.) und Gentamicin (6,6 mg/kg SID i.v.), Flunixin-Meglumin (1,1 mg/kg BID i.v.) sowie Heparin (50 IE BID s.c.) versorgt. Eine Gruppe von 20 gesunden, klinikeigenen Pferden diente als Kontrollgruppe. Diese zeigten keine Auffälligkeiten bei der klinischen Untersuchung.

Bestimmung von PCT, IL-1 β , IL-6, TNF α

Sofort nach der Einlieferung wurde von allen Patienten durch eine sterile Punktion der Jugularvene Blut zur Bestimmung von PCT, IL-1 β , IL-6 und TNF α gewonnen. Von 7 zufällig ausgewählten Patienten wurde zusätzlich Blut direkt nach erfolgter Laparotomie, 24 Stunden, 48 Stunden und 72 Stunden nach der Einlieferung gewonnen und die PCT-Plasmakonzentration sowie die IL-1 β -Serumkonzentration zu diesem Zeitpunkten bestimmt, um eine Verlaufsmessung durchzuführen. Das Blut wurde zentrifugiert und das gewonnene Serum und EDTA-Plasma bis zur Analyse bei -20°C gelagert. Die Messung von PCT aus EDTA-Plasma erfolgte im Helmholtz-Zentrum München mittels eines dafür entwickelten und validierten Sandwich-ELISA (Rieger et al. 2014). Die Quantifizierung der Zytokine IL-1 β , IL-6 und TNF α erfolgte ebenfalls im Helmholtz-Zentrum München mit Hilfe eines kommerziell erhältlichen ELISA (Fa. Hölzel Diagnostika-Handels-GmbH, Köln). Von den gesunden Kontrollpferden wurde jeweils eine Blutprobe entnommen und die genannten Parameter bestimmt.

Statistische Auswertung

Alle Daten wurden mit Hilfe des Statistikprogramms SPSS, Version 20 analysiert. Eine deskriptive Datenanalyse erfolgte für Alter, Geschlecht, Rasse, Körpergewicht, Diagnose, Sepsis-Score, PCT, IL-1 β , IL-6 und TNF α . Die Normalverteilung wurde mittels Kolmogorov-Smirnov und Shapiro-Wilk-Test bestätigt. Zur Analyse von Unterschieden zwischen den Gruppen erfolgte eine Datenauswertung mittels T-Test für unabhängige Stichproben. Die Signifikanz wurde mit $p < 0,05$ definiert. Die Spezifität und Sensitivität der Prognose des Überlebens anhand der PCT-Konzentration wurde mittels der ROC-Curve berechnet.

Ergebnisse

Patienten

13 Pferde mit einer akuten Kolik und 20 gesunde Kontrollpferde mit einem durchschnittlichen Alter von 13 Jahren (2–25 Jahre) wurden in diese Studie integriert. Das mittlere Körpergewicht der Pferde betrug 496 kg (284–600 kg). Die Studienpopulation beinhaltete 2 Hengste (6,1%), 21 Wallache (63,6%) und 10 Stuten (30,3%). Die Mehrheit der Pferde waren Warmblüter (81,8%), gefolgt von Ponys (12,1%). Vollblüter und Traber (jeweils 3%) und waren in der Minderheit.

Diagnosen

Folgende Diagnosen wurden gestellt: Dünndarmstrangulation (15,4%, $n = 2$), Dickdarmstrangulation (69,2%, $n = 9$), Dickdarmobstipation und Enteritis (jeweils 7,7%, $n = 1$). Alle Pferde mit einer Strangulation des Dün- oder Dickdarms wurden als Gruppe „Strangulationsileus“ (84,6%, $n = 11$) zusammengefasst.

Operative Versorgung

Von den 13 Patienten wurden 11 Pferde (84,6%) operativ versorgt (alle 11 Pferde mit einem Strangulationsileus). Bei

einem Pferd (7,7%) wurde eine Resektion und bei 5 Pferden (38,5%) eine Enterotomie durchgeführt. Die zwei Pferde (15,4%) mit einem Obstruktionsileus bzw. einer Enteritis wurden konservativ behandelt.

Überleben

Von den 13 Patienten wurden 8 (61,5%) der Pferde aus der Klinik entlassen, 5 (38,5%) der Pferde wurden aufgrund einer sehr schlechten Prognose in Absprache mit den Besitzern euthanasiert. Acht (72,7%) der operierten Pferde überlebten und wurde aus der Klinik entlassen.

PCT-Plasmakonzentration

Die mittlere PCT-Plasmakonzentration aller 33 Pferde betrug 9065,8 ng/ml mit einem Minimum von 24 ng/ml und einem Maximum von 227.989 ng/ml (Tab.1). Die mittlere PCT-Plasmakonzentration der Pferde mit einer akuten Kolik betrug 23.532,4 ng/ml, die der gesunden Kontrollgruppe 385,8 ng/ml. Die PCT-Plasmakonzentration der Pferde mit einer akuten Kolik war somit signifikant höher als die der gesunden Kontrollgruppe ($p < 0,006$) (Abb.1). Pferde mit einem Strangulationsileus hatten eine mittlere PCT-Plasmakonzentration von 27.544,6 ng/ml und somit ebenfalls signifikant höhere mittlere PCT-Plasmakonzentrationen als die Kontrollgruppe ($p < 0,003$). Pferde, die laprotomiert wurden, hatten signifikant höhere mittlere PCT-Plasmakonzentrationen von 27.544,6 ng/ml als die konservativ behandelten Pferde mit 666,3 ng/ml ($p < 0,002$). Es konnte jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen den Pferden, bei denen eine Darmresektion oder Enterotomie durchgeführt wurde und denen ohne Enterotomie oder Resektion festgestellt werden. Weiterhin wurden die mittleren PCT-Plasmakonzentrationen bei Pferden, die die Kolik überlebt hatten und denen, die aufgrund der Kolik euthanasiert wurden, verglichen. Dabei zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen. Die Sensitivität und Spezifität der PCT-Plasmakonzentration für eine Vorhersage des

Tab.1 Mittlere Plasma/Serumkonzentrationen von PCT, IL-1 β , IL-6 und TNF α der Kolikpatienten im Vergleich zu den gesunden Pferden | Range values for median plasmatic and serum concentration of PCT, IL-1 β , IL-6 and TNF α of horses with acute colic and the healthy controls.

	Anzahl	PCT ng/ml	STA	IL-1 β ng/ml	STA	IL-6 ng/ml	STA	TNF α pg/ml	STA
Mittel	33	9065,8		304,9		63,4		0,4	
Minimum		24		0,01		0,01		0,1	
Maximum		227.989		6768,9		256		0,9	
Kolik	13	23.532,4	6.5074,1	1.116,3	2.507,6	0,01	0	0,4	0,2
Strangulationsileus	11	27.544,6	7.1191	1.403,1	3.000,7	0,01	0	0,4	0,2
Obstruktionsileus	1	4.006,4		30,0		0,01		0,6	
Enteritis	1	2.936,5		768,6		0,01		0,6	
Laparotomie	11	27.544,6	71.191,9	1.403,1	3.000,7	0,01	0	0,4	0,2
Resektion	1	1.104,2		43,8		0,01		0,2	
Enterotomie	4	987,7	1.927,3	2.257,1	3.907,3	0,01	0	0,4	0,3
Überleben	27	9.142,2	43.755,9	341,2	1.377,6	74,7	83,5	0,4	0,2
Kontrollgruppe	20	385,3	857,8	21,0	18,9	104,6	81,3	0,3	0,2

Überlebens der Pferde, wurde somit nur mit jeweils 60% errechnet.

Bei 7 zufällig ausgewählten Patienten wurden in regelmäßigen Abständen die PCT-Plasmakonzentrationen von der Einlieferung bis 72 Stunden nach der Einlieferung in die Klinik bestimmt und der Verlauf aufgezeichnet. Die PCT-Plasmakonzentrationen änderten sich bei diesen Pferden über den gemessenen Zeitraum jedoch nicht signifikant (Abb.2).

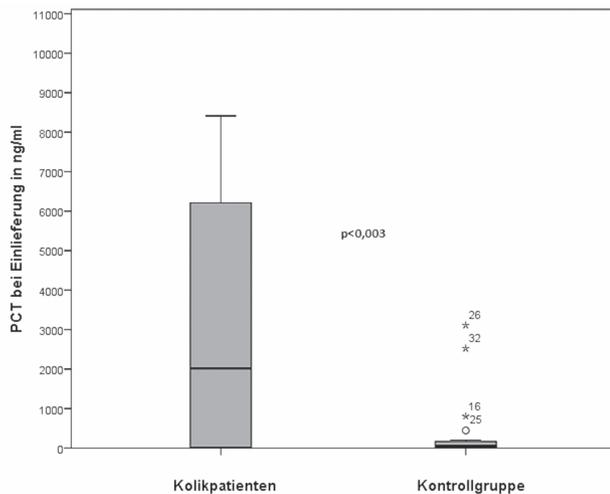


Abb. 1 Mittlere PCT-Plasmakonzentration der Kolikpatienten im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe (die Gruppenunterschiede sind signifikant; $p < 0,006$). | Median plasmatic concentration of PCT in horses with acute colic and the healthy control group, note the significant differences between the groups; $p < 0,006$.

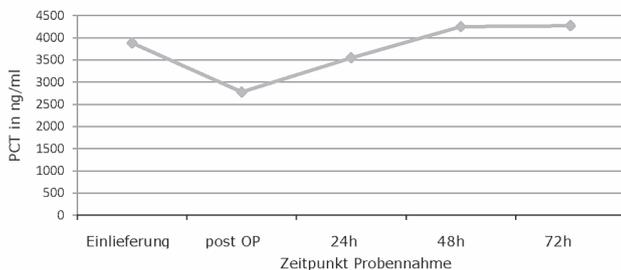


Abb. 2 PCT-Plasmakonzentrationen über einen Zeitraum von 72 Stunden bei einem Pferd mit akuter Kolik. | Plasmatic PCT-concentration over a 72-hour-period of one horse with an acute colic.

IL-1 β

Die mittlere IL-1 β -Serumkonzentration betrug 304,9 ng/ml mit einem Minimum von 0,01 ng/ml und einem Maximum von 6768,9 ng/ml. Die mittlere Serumkonzentration von IL-1 β der Pferde mit einer akuten Kolik betrug zum Zeitpunkt der Einlieferung in die Klinik 1.116,3 ng/ml, die der Kontrollgruppe 21 ng/ml und war bei den Patienten signifikant höher als bei den gesunden Kontrollpferden ($p < 0,001$).

Pferde mit einem Strangulationsileus zeigten eine mittlere IL-1 β -Serumkonzentration von 1.403,1 ng/ml. Es wurde ein signifikanter Unterschied zwischen dieser Gruppe und den gesunden Kontrollpferden berechnet ($p < 0,0001$). Die mittlere IL-1 β -Serumkonzentration der Pferde, die laparotomiert

wurden betrug 1.403,1 ng/ml und war somit ebenfalls signifikant höher als die der nicht operierten Pferde (55,4 ng/ml; $p < 0,0001$). Die Pferde, bei denen eine Enterotomie durchgeführt wurde, zeigten signifikant höhere mittlere IL-1 β -Serumkonzentrationen, als die Pferde ohne Enterotomie ($p < 0,0001$).

Die IL-1 β -Serumkonzentrationen wurden bei 7 zufällig ausgewählten Pferden mit Kolik von der Einlieferung bis 72 Stunden nach der Einlieferung in regelmäßigen Abständen bestimmt und ein Verlauf aufgezeichnet. Die IL-1 β -Serumkonzentrationen zeigten bei diesen Pferden in dem Zeitraum keine signifikanten Änderungen (Abb.3).

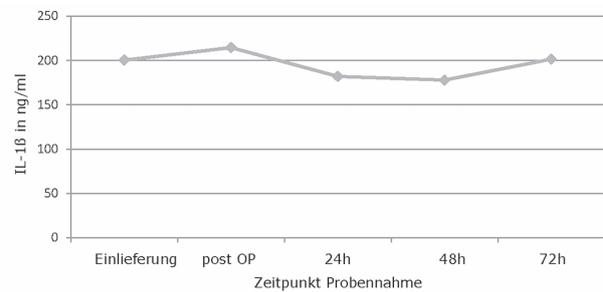


Abb. 3 IL-1 β -Serumkonzentrationen über einen Zeitraum von 72 Stunden bei einem Pferd mit akuter Kolik. | IL-1 β serum concentration over a 72-hour-period of one horse with an acute colic

IL-6

Die mittlere Serumkonzentration für IL-6 betrug 63,4 ng/ml mit einem Minimum von 0,01 ng/ml und einem Maximum von 256 ng/ml. Die mittlere IL-6-Konzentrationen im Serum der Pferde mit einer akuten Kolik zum Zeitpunkt der Einlieferung in die Klinik betrug 0,01 ng/ml und war signifikant niedriger als die der Kontrollgruppe mit 104,6 ng/ml ($p < 0,0001$). Die mittlere IL-6-Serumkonzentration bei Pferden mit Strangulationsileus betrug 0,01 ng/ml und war ebenfalls signifikant niedriger als bei der gesunden Kontrolle. Pferde, die laparotomiert wurden, hatten signifikant niedrigere mittlere IL-6-Serumkonzentrationen (0,01 ng/ml) als die nicht operierten Pferde (95,09 ng/ml; $p < 0,0001$). Kolikpferde, bei denen eine Enterotomie durchgeführt wurde, zeigten eine mittlere IL-6-Serumkonzentration von 0,01 ng/ml, die Pferde ohne Enterotomie hatten mittlere Serumkonzentrationen von 74,71 ng/ml. Es konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen berechnet werden ($p < 0,0001$). Pferde, die nach der akuten Kolik aus der Klinik entlassen werden konnten, zeigten signifikant höhere mittlere IL-6-Serumkonzentrationen von 74,7 ng/ml als die Pferde, die euthanasiert wurden (0,01 ng/ml; $p < 0,0001$).

TNF α

Für TNF α wurde eine mittlere Serumkonzentration von 0,4 pg/ml gemessen. Der kleinste Wert betrug 0,1 pg/ml, das Maximum 0,9 pg/ml. Für die mittlere TNF α -Serumkonzentration konnten keine Gruppenunterschiede festgestellt werden. Zwischen den mittleren PCT-Plasmakonzentrationen und den mittleren Serumkonzentrationen von IL-1 β , IL-6 und TNF α konnte keine Korrelation hergestellt werden.

Diskussion

In dieser Studie wurde Procalcitonin als potentieller Marker für eine Endotoxämie bei Pferden mit einer schweren, akuten Kolik untersucht. Die PCT-Plasmakonzentrationen waren in unserer Untersuchung beim Pferd im Vergleich zur Humanmedizin deutlich höher, was mit den vorausgegangenen Untersuchungen (Bonelli et al. 2014, Rieger et al. 2014) übereinstimmt. PCT wird beim gesunden Menschen ausschließlich in der Schilddrüse gebildet. Im Fall einer Sepsis/Endotoxämie übernehmen zahlreiche andere Gewebe, wie Milz, Nieren und Colon ebenfalls die Produktion von PCT (Soreng und Levy 2011). Eventuell spielen die deutlichen Unterschiede der Größenverhältnisse zwischen Mensch und Pferd hier eine Rolle. Eine weitere mögliche Ursache könnte die große Menge der Darmbakterien beim Pferd im Vergleich zum Menschen sein. Weitere Untersuchungen zur Differenzierung der PCT-produzierenden Organe beim Pferd sollten zum Beispiel über die Messung von mRNA in den einzelnen Geweben folgen.

In unserer Studie konnten bei den als endotoxämisch eingestuftem Pferden mit akuter Kolik deutlich höhere PCT-Plasmakonzentrationen gemessen werden, als bei der gesunden Kontrollgruppe. Dies bestätigt die Ergebnisse der zwei vorangegangenen Studien, bei denen Pferde, die als septisch (Rieger et al. 2014) oder endotoxämisch (Bonelli et al. 2014) eingestuft wurden, ebenfalls signifikant erhöhte PCT-Konzentrationen im Plasma zeigten. Die Hauptursache der Endotoxämie bei der Kolik ist vor allem in der gestörten Durchblutung des Darms zu sehen (Epstein et al. 2011). Dadurch kommt es zu einem Übertritt von Lipopolysacchariden (LPS) aus dem Darm in die Blutbahn. Als Folge sind Tachykardie, eine veränderte Schleimhautfarbe, Fieber und Laborveränderungen wie Azidose, Leukopenie und Dehydratation zu verzeichnen. PCT selbst scheint ein toxischer Faktor während der Endotoxämie zu sein und hat einen negativen Einfluss auf die Überlebensrate. So konnte in Untersuchungen an Hamstern und Schweinen gezeigt werden, dass die Gabe von Anti-PCT-Antiserum die Überlebensrate nach induzierter Endotoxämie signifikant erhöhen konnte (Nylen et al. 1998, Wagner et al. 2002, Martinez et al. 2001). Dies könnte eventuell ein vielversprechender, neuer Therapieansatz für die Behandlung einer Endotoxämie im Rahmen einer Kolik beim Pferd darstellen. Weitere Untersuchungen sind dafür allerdings notwendig.

Zwei Plasmaproben von gesunden Kontrollpferden fielen mit deutlich höheren PCT-Konzentrationen auf und wurden als statistische Ausreißer eingeordnet. Von beiden Pferden wurden im Abstand von 3 Wochen eine Plasmaprobe zur PCT-Bestimmung mit gleich hohen Resultaten (2523 und 3109 ng/mL) gewonnen. Die Ursache dafür ist bisher unklar.

PCT und Diagnose

In unserer Untersuchung wurde ein signifikanter Unterschied zwischen den mittleren PCT-Plasmakonzentrationen der gesunden Kontrollpferde und den Pferden, bei denen die Diagnose einer Darmstrangulation gestellt wurde, ermittelt. Ein Strangulationsileus beschreibt den Verschluss des intestinalen Lumens und der Blutversorgung (Blikslager und Marshall 2012). Beispiele hierfür sind die Torsion des Colon ascen-

dens und die Strangulation des Dünndarms (z.B. durch ein Lipoma pendulans). Bei diesen Kolikformen werden die betroffenen Darmanteile, je nach Ausmaß der Gefäßbeeinträchtigung, minderdurchblutet. Die Darmmukosa ist sehr empfindlich gegenüber hypoxischen Schäden infolge einer Ischämie (King und Gerring 1988). Ischämische Darmwandschäden führen zu einer Beeinträchtigung der Darmschranke gegenüber den vorrangig gram-negativen Darmbakterien. Folgen sind Endotoxämie und Sepsis (King und Gerring 1988). Dies kann die höheren PCT-Konzentrationen in der Gruppe der Pferde mit einer Strangulation des Darms erklären. Es konnten in dieser Untersuchung allerdings keine Unterschiede zwischen einer Strangulation des Dickdarms oder des Dünndarms festgestellt werden. Untersuchungen zu Darmstrangulationen und der PCT-Plasmakonzentration gibt es bislang weder beim Mensch noch bei anderen Tierarten.

Einfache Obstruktionen (z.B. Obstipationen) resultieren initial nicht in einer Minderdurchblutung und Darmschädigung. Eine substantielle Dehnung des entsprechenden Darmteils, verursacht durch eine Obstruktion, führt jedoch in der Folge zu einer ähnlichen Minderdurchblutung und Schädigung der Mukosa wie bei einer Strangulation (Dabareiner et al. 2001). In unserer Untersuchung konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den gesunden Pferden und Pferden mit einem Obstruktionsileus oder einer Enteritis ermittelt werden. Eine naheliegende Erklärung wäre, dass diese Pferde eine nur schwach ausgeprägte Darmwandschädigung aufwiesen. Einschränkung muss erwähnt werden, dass im Patientengut dieser Studie jeweils nur ein Pferd mit entsprechender Diagnose enthalten war. Folgeuntersuchungen mit einer größeren Anzahl an Pferden mit einem Obstruktionsileus wären nötig, um eine differenzierte Aussage treffen zu können.

Laparotomie

Bei den Pferden, die laparotomiert wurden, zeigte sich ein signifikant höherer PCT-Plasmaspiegel. Strangulationen des Darms sind in der Pferdemedizin eindeutige Indikationen für eine operative Versorgung der Kolik. Daher könnte dieser Zusammenhang eher aus der Diagnose und daraus folgender OP-Indikation resultieren. Weiterführende Untersuchungen, die gesunde Pferde mit Pferden, die eine elektive Operation durchlaufen, vergleichen, wären allerdings sinnvoll, um den Einfluss eines Gewebetraumas auf die PCT-Plasmakonzentration beleuchten zu können.

Zytokine

Als Antwort auf eine Endotoxämie steigen die proinflammatorischen Zytokine IL-1 β , IL-6 und TNF α im Körper an. Sie fördern die Aktivität von Makrophagen, Phagozytose und steigern die Zellimmunität (Gogos et al. 2000). Beim Menschen bilden IL-1 β , IL-6 und TNF α auch den Stimulus für eine Hyperprocalcitoninämie (Redl et al. 2000, Redl et al. 2001, Whang et al. 2000). In unserer Untersuchung konnte eine höhere mittlere IL-1 β -Serumkonzentration bei Pferden mit einer akuten Kolik, bei Pferden mit einem Strangulationsileus und solchen, die laparotomiert wurden festgestellt werden. Dies ist in Übereinstimmung mit den, bei diesen Pferden ebenfalls erhöhten, mittleren PCT-Plasmakonzentrationen.

Beide Parameter zeigten auch einen ähnlichen Verlauf über die Messperiode von 72 Stunden. IL-1 β könnte auch beim Pferd ein Stimulus für die Produktion von PCT im Rahmen einer Endotoxämie sein.

Bei den endotoxämischen Pferden mit einer akuten Kolik konnte in unserer Studie kein Anstieg der IL-6-Serumkonzentrationen gemessen werden. Dies stimmt mit den Ergebnissen von 2 Studien überein, in denen bei septischen Fohlen im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe ebenfalls kein signifikanter Anstieg von IL-6-mRNA gemessen wurde (Gold et al. 2007, Pusterla et al. 2006). In einer weiteren Studie konnten bei Fohlen der gesunden Kontrollgruppe signifikant niedrigere IL-6-Serumkonzentrationen als bei der Gruppe septischer Fohlen gemessen werden (Burton et al. 2009), was ebenfalls unseren Ergebnissen entspricht.

Erhöhte TNF α -Serumkonzentrationen korrelieren mit der Mortalität bei neonataler Sepsis bei Kälbern (Basoglu et al. 2004). TNF α wird vor allem von aktivierten Makrophagen und T-Zellen, aber auch vielen anderen Immunzellen produziert und ist für viele klassische Anzeichen einer Entzündung verantwortlich (Marks et al. 2001). Er führt zudem auch zu klinischen Symptomen wie Abdominalschmerz, Tachykardie und reduzierter Peristaltik (Moore und Vandenplas 2014). Die Induktion der TNF α -Genexpression erfolgt beim Menschen innerhalb einer Stunde nach Stimulation (Figueiredo et al. 2009). In unserer Untersuchung konnte für die mittlere TNF α -Serumkonzentration kein Unterschied zwischen den gesunden Pferden und denen mit einer akuten Kolik gemessen werden. Eine mögliche Ursache könnte das schnelle Absinken der Genexpression von TNF nach einem Insult sein. In einer Studie von Nieto et al. konnte gezeigt werden, dass schon 3 Stunden nach experimentell induzierter Endotoxämie die TNF α -mRNA wieder den Ausgangswert erreicht hatte (Nieto et al. 2009).

PCT und IL1 β im Verlauf

PCT kann beim Menschen circa 6 Stunden nach Induktion im Plasma gemessen werden. Die Halbwertszeit beträgt beim Menschen 25–30 Stunden. In unserer Untersuchung wurde bei 7 Pferden eine gleichbleibend hohe PCT-Plasmakonzentration über 72 Stunden gemessen. Die IL-1 β -Serumkonzentration blieb über diesen Zeitraum ebenfalls gleichbleibend hoch. Sechs der sieben Pferde wurden operativ versorgt, bei einem Pferd wurde die Diagnose einer Enteritis gestellt. Diese sieben Pferde erhielten Antibiotika, Heparin und Nichtsteroidale Antiphlogistika sowie intravenöse Infusionstherapie. PCT wird in der Humanmedizin auch als Therapiekontrolle genutzt. Bei PCT-Konzentrationen von >5 ng/ml, wird die Therapie als inadäquat eingeschätzt (Charles et al. 2009). Auch der Antibiotikaeinsatz wird so überprüft. Als Cut-Off-Wert für eine Antibiotikatherapie wird in der Humanmedizin ein PCT-Wert von >1 ng/ml genutzt. Bei Werten <0,25 ng/ml wird die Antibiotikagabe beendet. Mit diesem gezielten Antibiotikaeinsatz konnten in einer Studie 23% der antibiotisch wirksamen Medikamente eingespart werden (Bouadma et al. 2010). In unserer Untersuchung wurden keine signifikanten Veränderungen der PCT-Plasmakonzentrationen über den Zeitraum von 72 Stunden festgestellt. Eine Therapiekontrolle anhand der PCT-Plasmakonzentrationen scheint somit beim Pferd bisher nicht sinnvoll. Eine mögliche dafür Ursache

könnte bei diesen Pferden eine anhaltende Schädigung der Darmmukosa sein, die nach dem initialen Insult einige Tage für die Regeneration benötigt (Blikslager et al. 1999). Eine weitere mögliche Ursache für die über einige Tage erhöhten PCT-Plasmakonzentrationen könnten auch Reperfusionsschäden nach dem Beheben der Strangulation des Pferdedarms sein, die oft eine weitere Schädigung der Darmmukosa verursachen (Moore et al. 1995). Inwieweit die PCT-Plasmakonzentration durch die Gabe von Infusionen, Heparin oder Nichtsteroidalen Antiphlogistika beeinflusst wird, sollte in weiterführenden Untersuchungen ermittelt werden. Ähnliches gilt für die Konzentration von IL-1 β , das die Entzündungskaskade nach Insulten initiiert. Der Einsatz von PCT in der Tiermedizin sowohl in der Therapiekontrolle als auch im gezielten Antibiotikaeinsatz ist wünschenswert und sollte daher weiterführend untersucht werden.

PCT und Prognose

In der Humanmedizin wird PCT für die Prognosestellung von Patienten als sensitiver Marker genutzt. So erhöht sich beim Menschen die Rate des Nicht-Überlebens bei Plasmakonzentrationen über 1 ng/ml (Chen et al. 2012). In unserer Studie konnte jedoch kein Zusammenhang zwischen der PCT-Plasmakonzentration und dem Überleben der Patienten hergestellt werden. Eine Prognose des Überlebens anhand der PCT-Plasmakonzentration konnte in unsere Untersuchung nur mit einer Spezifität und Sensitivität von 60% berechnet werden und ist somit nicht für die Anwendung in der Klinik oder Praxis geeignet.

Fazit

Nach den Ergebnissen unserer Studie scheint PCT für die Pferdemedizin einen vielversprechenden Entzündungsmarker, gerade bei einer Endotoxämie im Rahmen einer schweren Kolik, darzustellen. Es bedarf jedoch noch weiterer Studien um PCT in der Pferdemedizin zu etablieren. Sinnvoll könnte auch der künftige Einsatz von PCT für die Prognosestellung bei Pferden mit Kolik (ähnlich wie in der Humanmedizin) sein. In der Zukunft könnte die Entwicklung von PCT-Antiserum eine potentielle Möglichkeit zur Sepsis-Behandlung beim Pferd darstellen.

Literatur

- Basoglu A., Sen I., Sevinc M. (2004) Serum concentrations of tumor necrosis factor-alpha in neonatal calves with presumed sepsis. *J. Vet. Intern. Med.* 18, 238-241
- Beadle R., Huber T. (1977) Blood chemistry changes associated with rapid intravenous administration of Escherichia coli endotoxin in anesthetized ponies. *J. Equine Med. Surg.* 1, 371-375
- Blikslager A. T., Marshall J. F. (2012) Principles of intestinal injury and determination of intestinal viability. In Auer J. A., Stick J. A. (eds.) *Equine Surgery*. 4 ed. St. Louis, Missouri, Elsevier
- Blikslager A. T., Rhoads J. M., Bristol D. G. (1999) Glutamine and transforming growth factor-alpha stimulate extracellular regulated kinases and enhance recovery of villous surface area in porcine ischemic-injured intestine. *Surgery* 125, 186-194
- Bonelli F., Meucci V., Divers T. J., Jose-Cunilleras E., Corazza M., Tognetti R., Guidi G., Intorre L., Sgorbini M. (2014) Procalcitonin in healthy and endotoxemic horses. *ECEIM-Congress*. Prague

- Bouadma L., Luyt C. E., Tubach F., Cracco C., Alvarez A., Schwebel C., Schortgen F., Lasocki S., Veber B., Dehoux M., Bernard M., Pasquet B., Regnier B., Brun-Buisson C., Chastre J., Wolff M. (2010) Use of procalcitonin to reduce patients' exposure to antibiotics in intensive care units (PRORATA trial): a multicentre randomised controlled trial. *Lancet* 375, 463-474
- Breuer J., Schusser G. F. (2012) Erstellung eines Septikämie-Scores für adulte Pferde. *Pferdeheilkunde* 28, 421-428
- Burton A. B., Wagner B., Erb H. N., Ainsworth D. M. (2009) Serum interleukin-6 (IL-6) and IL-10 concentrations in normal and septic neonatal foals. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 15, 122-128
- Charles P. E., Tinel C., Barbar S., Aho S., Prin S., Doise J. M., Olsson N. O., Blettery B., Quenot J. P. (2009) Procalcitonin kinetics within the first days of sepsis: relationship with the appropriateness of antibiotic therapy and the outcome. *Crit. Care* 13, 38
- Chen W., Li L. J., Gu X. Y., Wang S. Z., Zhao L. (2012) [The predictor value of peripheral blood procalcitonin levels in the evaluation of prognosis of patients with septic shock]. *Zhongguo Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue* 24, 470-473
- Dabareiner R. M., White N. A., Donaldson L. L. (2001) Effects of intraluminal distention and decompression on microvascular permeability and hemodynamics of the equine jejunum. *Am. J. Vet. Res.* 62, 225-236
- Epstein K. T., Brainard B. M., Gomez-Ibanez S. E. (2011) Thrombelastography in horses with acute gastrointestinal disease. *J. Vet. Intern. Med.* 25, 307-314
- Figueiredo M. D., Vandenplas M. L., Hurley D. J. (2009) Differential induction of MyD88 and TRIF-dependent pathways in equine monocytes by Toll-like receptor agonists. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 127, 125-134
- Gogos C. A., Drosou E., Bassaris H. P., Skoutelis A. (2000) Pro-versus anti-inflammatory cytokine profile with severe sepsis: A marker for prognosis and future therapeutic options. *J. Infect. Dis.* 181, 176-180
- Gold J. R., Perkins G. A., Erb H. N., Ainsworth D. M. (2007) Cytokine Profiles of Peripheral Blood Mononuclear Cells Isolated from Septic and Healthy Foals. *J. Vet. Intern. Med.* 21, 482-488
- King J., Gerring E. (1988) Detection of endotoxemia in cases of equine colic. *Vet. Rec.* 123, 269-271
- Marks K. S., Trickler W. J., Miller D. W. (2001) Tumor necrosis factor-alpha induces cyclooxygenase-2 expression and prostaglandin release in brain microvessel endothelial cells. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 297, 1051-1058
- Martinez J. M., Wagner K. E., Snider R. H., Nylan E. S., Muller B., Sarani B., Becker K. L., White J. C. (2001) Late immunoneutralization of procalcitonin arrests the progression of lethal porcine sepsis. *Surg. Infect.* 2, 193-203
- Moore J., Barton M. (1998) An update on endotoxemia. Part 1. Mechanisms and pathways. *Equine Vet. Educ.* 10, 300-306
- Moore J. N., Vandenplas M. L. (2014) Is it the systemic inflammatory response syndrome or endotoxemia in horses with colic? *Vet. Clin. Equine Pract.* 30, 337-351
- Moore R. M., Muir W. W., Granger D. N. (1995) Mechanisms of gastrointestinal ischemia-reperfusion injury and potential therapeutic interventions: a review and its implications in the horse. *J. Vet. Intern. Med.* 9, 115-132
- Nieto J. E., MacDonald M. H., Braim A. E., Aleman M. (2009) Effect of lipopolysaccharide infusion on gene expression of inflammatory cytokines in normal horses in vivo. *Equine Vet. J.* 41, 717-719
- Nylen E., Whang K., Snider R. J., Steinwald P., White J., Becker K. (1998) Mortality is increased by procalcitonin and decreased by an antiserum reactive to procalcitonin in experimental sepsis. *Crit. Care Med.* 26, 1001-1006
- Prkno A., Wacker C., Brunkhorst F. M., Schlattmann P. (2013), Procalcitonin-guided therapy in intensive care unit patients with severe sepsis and septic shock- a systematic review and meta-analysis. *Crit. Care* 17, 291
- Pusterla N., Magdesian K. G., Mapes S., Leutenegger C. M. (2006) Expression of molecular markers in blood of neonatal foals with sepsis. *Am. J. Vet. Res.* 67, 1045-1049
- Redl H., Schiesser A., Tögel E., Assicot M., Bohuon C. (2001) Possible role of TNF on procalcitonin release in a baboon model of sepsis. *Shock* 16, 25-27
- Redl H., Schlag G., Tögel E., Assicot M., Bohuon C. (2000) Procalcitonin release patterns in a baboon model of trauma and sepsis: relationship to cytokines and neopterin. *Crit. Care Med.* 28, 3659-3663
- Rieger M., Kochleus C., Teschner D., Rascher D., Barton A. K., Geerlof A., Kremmer E., Schmid M., Hartmann A., Gehlen H. (2014) A new ELISA for the quantification of equine procalcitonin in plasma as potential inflammation biomarker in horses. *Anal. Bioanal. Chem.* 406, 5507-5012
- Roy M. F. (2004) Sepsis in adults and foals. *Vet. Clin. Equine Pract.* 20, 41-61
- Russwurm S., Wiederhold M., Oberhoffer M., Stonans I., Zipfel P. F., Reinhart K. (1999) Molecular aspects and natural source of procalcitonin. *Clin. Chem. Lab. Med.* 37, 789-797
- Schneider H. G., Lam Q. T. (2007) Procalcitonin for the clinical laboratory: a review. *Pathology* 39, 383-390
- Soreng K., Levy H. R. (2011) Procalcitonin: an Emerging Biomarker of Bacterial Sepsis. *Clin. Microbiol. Newsl.* 33, 171-178
- Sykes B., Furr M. (2005) Equine endotoxaemia-a state of the art review of therapy. *Austr. Vet. J.* 83, 45-50
- Wagner K. E., Martinez J. M., Vath S. D., Snider R. H., Nylan E. S., Becker K. L., Müller B., White J. C. (2002) Early immunoneutralization of calcitonin precursors attenuates the adverse physiologic response to sepsis in pigs. *Crit. Care Med.* 30, 2313-2321
- Whang K. T., Vath S. D., Becker K. L., Snider R. H., Nylan E. S., Muller B., Li Q., Tamarkin L., White J. C. (2000) Procalcitonin and proinflammatory cytokine interactions in sepsis. *Shock* 14, 73-78
- Zannoni A., Giunti M., Bernardini C., Gentilini F., Zaniboni A. (2012) Procalcitonin gene expression after LPS stimulation in the porcine animal model. *Res. Vet. Sci.* 93, 921-927