

Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Arbeit angefertigt unter der Leitung von Prof. Dr. med. vet. Ralf S. Mueller

Einfluss topischer Applikation von essentiellen Fettsäuren und ätherischen Ölen bei Hunden mit atopischer Dermatitis

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von Michaela Blaskovic
aus München

München 2012

Gedruckt mit der Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. vet. Joachim Braun

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. med. vet. Ralf S. Mueller

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. med. vet. Ulrike Matis

Tag der Promotion:

21. Juli 2012

Meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG	1
II.	LITERATURÜBERSICHT	3
1.	Canine atopische Dermatitis	3
1.1.	Prävalenz	3
1.2.	Pathogenese	4
1.3.	Genetische Komponente	6
1.4.	Rassedisposition	6
1.5.	Geschlechtsdisposition	7
1.6.	Alter	7
1.7.	Klinische Symptome	8
1.8.	Diagnose	9
1.9.	Therapie	11
1.9.1.	Symptomatische Therapie	13
1.9.1.1.	Glukokortikoide	13
1.9.1.2.	Antihistaminika	14
1.9.1.3.	Zyklosporin	15
1.9.1.4.	Essentielle Fettsäuren	16
1.9.1.5.	Topische Therapie	17
1.9.1.6.	Misoprostol	17
1.9.1.7.	Pentoxifyllin	18
1.9.1.8.	Leukotrien-Inhibitoren	18
1.9.1.9.	Weitere symptomatische Therapien	19
1.9.2.	Allergen-spezifische Therapie	19
1.9.2.1.	Allergen-spezifische Immuntherapie	19
2.	Fettsäuren	21
2.1.	Allgemein	21
2.2.	Ungesättigte Fettsäuren	22
2.2.1.	Omega-3 Fettsäuren	22
2.2.2.	Omega-6 Fettsäuren	23
2.3.	Eicosanoide	24
2.4.	Ceramide	25
2.5.	Therapeutischer Einsatz von essentiellen Fettsäuren bei CAD	30

2.6.	Hautbarriere.....	33
3.	CADESI.....	34
4.	Juckreizskala	34
III.	MATERIAL UND METHODEN.....	36
1.	Topische Applikation essentieller Fettsäuren und ätherischer Öle	36
1.1.	Patienten.....	36
1.2.	Präparat	37
1.3.	Klinische Evaluierung.....	37
1.3.1.	CADESI	37
1.3.2.	Juckreiz	37
1.3.3.	Besuche	38
1.4.	Probennahme	38
1.5.	Lipidbestimmung.....	39
1.5.1.	Extraktion.....	39
1.5.2.	Dünnschichtchromatographie.....	40
1.5.3.	Plattenvorbereitung.....	40
1.5.4.	Kammervorbereitung	41
1.5.5.	Trennvorgang	41
1.5.6.	Nachbearbeitung und Auswertung	42
1.5.7.	Statistik	42
IV.	ERGEBNISSE	44
1.	Einfluss topisch applizierter Fettsäuren und ätherischer Öle.....	44
1.1.	Allgemein.....	44
1.2.	CADESI	44
1.2.1.	CADESI leichte Allergiker	45
1.2.2.	CADESI schwere Allergiker	45
1.3.	Juckreiz	46
1.3.1.	Juckreiz leichte Allergiker	46
1.3.2.	Juckreiz schwere Allergiker	47
1.4.	Ceramidbestimmung	47
1.5.	Zytologie	50
1.6.	Nebenwirkungen.....	50

V.	DISKUSSION	51
VI.	ZUSAMMENFASSUNG	59
VII.	SUMMARY	61
VIII.	LITERATURVERZEICHNIS	63
IX.	ANHANG	84
1.	Tabellenverzeichnis	84
2.	Abbildungsverzeichnis.....	84
3.	Diagrammverzeichnis	84
4.	Besitzereinverständniserklärung	85
5.	CADESI	86
6.	Juckreizskala	87
X.	DANKSAGUNG	88

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AA	Arachidonsäure
Abb.	Abbildung
ACVD	American College of Veterinary Dermatitis
AD	atopische Dermatitis
ALA	alpha-Linolensäure
ASIT	allergenspezifische Immuntherapie
bzw.	beziehungsweise
C-	Kohlenstoff
CAD	canine atopische Dermatitis
CADESI	Canine atopic dermatitis extent and serverity index
Cer	Ceramid
DGLA	Dihomo- gamma- Linolensäure
d.h.	dass heißt
DHA	Docosahexaensäure
Dr.	Doktor
EPA	Eicosapentaensäure
etc.	Et cetera
evtl.	eventuell
FS	Fettsäuren
FLAP	5-Lipooxygenase Aktivierungsprotein
GCer	Glycosylceramid
GLA	gamma- Linolensäure
HETE	Hydro-Eicosatetraensäure

HPETE	Hydroperoxy-Eicosatetraensäure
HPTLC	high performance thin layer chromatography
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
kg	Kilogramm
LA	Linolsäure
LDCA	Laboratoire de Dermo-Cosmétique Animale
LT	Leukotrien
mPGES	Prostaglandin E Synthase
med.	medizinaria
mg	Milligram
n-3-FS	Omega-3 Fettsäuren
n-6-FS	Omega-6 Fettsäuren
n-9-FS	omega-9 Fettsäuren
PCR	Polymerase- chain- reaction
PG	Prostaglandin
PUFAs	poly- unsaturated- fatty- acids
Prof.	Professor
QoL	Quality of Life
qPCR	Quantitative PCR
Rf	Retentionsfaktor
SM	Sphingomyelin
Tabl.	Tabelle
TEWL	transepidermal waterloss
Th	T- Helferzelle

TXA	Thromboxan
Univ.	Universität
vet.	veterinaria
z.B.	zum Beispiel

I. EINLEITUNG

Canine atopische Dermatitis ist eine in der dermatologischen Praxis häufig vorkommende Erkrankung (SCOTT & PARADIS, 1990; REEDY et al., 1997; SCOTT et al., 2001), die mit den Symptomen Juckreiz (SARIDOMICHELAKIS et al., 1999; GRIFFIN & DEBOER, 2001; JAEGER et al., 2010) und Hautläsionen, vor allem Erythem, einhergeht (GRIFFIN & DEBOER, 2001). Die Hunde reagieren dabei auf Umweltallergene, wie z.B. Schimmelsporen, Milbenkot und Pollen (HILL & DEBOER, 2001). Als Ursache wird eine genetische Prädisposition gesehen, die unter anderem ursächlich für eine gestörte Hautbarriere ist (MERRYMAN-SIMPSON et al., 2008; SANDILANDS et al., 2009; WOOD et al., 2009). Durch diese gestörte Hautbarriere können Allergene leichter bei betroffenen Hunden eindringen und die genannten Symptome verursachen. Therapeutisch hat man die Wahl zwischen einer symptomatischen Therapie (OLIVRY & SOUSA, 2001a), z.B. Antihistaminika, Glukokortikoide, Zyklosporin, topische Therapien und Fettsäuren, oder einer allergen-spezifischen Immuntherapie (GRIFFIN & HILLIER, 2001). Da diese Erkrankung ein Leben lang anhält, ist es im Interesse des Tieres die Nebenwirkung einer Therapie so gering wie möglich zu halten (OLIVRY & SOUSA, 2001a). Die erwähnten essentiellen Fettsäuren gelten als eine sichere Alternative (OLIVRY & SOUSA, 2001b; MUELLER et al., 2004), da ihre Nebenwirkungen äußerst gering und selten sind. Desweiteren kann durch die Fettsäuren die Dosis anderer antiinflammatorischer Medikamente, welche mehr Nebenwirkungen aufweisen, reduziert (SCOTT & MILLER, 1993; BOND & LLOYD, 1994; SAEVIK et al., 2004), oder deren Wirkung verbessert werden (SCOTT & MILLER, 1990, 1993). Man weiß dank einiger Studien, dass die Hautbarriere bei Hunden mit AD gestört ist (INMAN et al., 2001; PIEKUTOWSKA et al., 2008; REITER et al., 2009; HIGHTOWER et al., 2010). Mittels der Fettsäuren sollen sowohl die klinischen Symptome (MUELLER et al., 2004; MUELLER et al., 2005), als auch die Hautbarriere verbessert werden (TRETTER & MUELLER, 2011). Die Fettsäuren haben jedoch nicht nur auf die Hautbarriere einen positiven Einfluss, sondern auch auf die Entzündungsmediatoren (ZIBOH & CHAPKIN, 1988) und wirken zudem noch immunmodulatorisch (STEHLE et al., 2010). Es gibt einige Studien über die Effektivität von oral angewendeten Fettsäuren (SCOTT et al., 1997;

OLIVRY et al., 2001b; MUELLER et al., 2004; SAEVIK et al., 2004; MUELLER et al., 2005; STEHLE et al., 2010), jedoch nur wenige offene Pilotstudien über topisch applizierte, essentielle Fettsäuren enthaltende Spot-on-Präparate (PIEKUTOWSKA et al., 2008; TRETTER & MUELLER, 2011).

Ziel dieser Arbeit war es zu untersuchen, ob topisch applizierte essentielle Fettsäuren die Symptome wie Juckreiz und Hautläsionen der caninen atopischen Dermatitis verbessern. Desweiteren wurde untersucht, ob der Gehalt an Ceramiden in der Epidermis von an CAD erkrankten Hunden durch die genannte Therapie ansteigt und somit eine Korrelation zwischen Verbesserung der Symptome und Verbesserung der Hautbarriere besteht.

II. LITERATURÜBERSICHT

1. Canine atopische Dermatitis

1.1. Prävalenz

Die AD bei Hunden ist nach Meinung von Dermatologen die zweithäufigste dermatologische Erkrankung assoziiert mit Juckreiz (SCOTT & PARADIS, 1990; REEDY et al., 1997; SCOTT et al., 2001). In den meisten Studien wird Flohbissallergie als die häufigste juckende Hautkrankheit bei Hunden genannt (REEDY et al., 1997; HILLIER & GRIFFIN, 2001; SCOTT et al., 2001). In einer Studie ist die CAD die am häufigsten vorkommende Allergie (SARIDOMICHELAKIS et al., 1999). Die geschätzte Prävalenz der Krankheit variiert stark und liegt für verschiedene Autoren bei 3,3 % (HALLIWELL, 1971), 8% (Scott 1981), 15 % (CHAMBERLAIN, 1974), 30 % (NESBITT, 1978) und 12,7 % (SCOTT & PARADIS, 1990). Man hat sich auf eine Prävalenz von ca. 10% festgelegt (HILLIER & GRIFFIN, 2001; SCOTT et al., 2001).

Die wahre Prävalenz der CAD ist aus folgenden Gründen schwierig zu bestimmen:

- 1) Milde Erscheinungsformen sind oft gut mit symptomatischer Therapie zu behandeln ohne notwendigerweise eine Diagnose stellen zu müssen;
- 2) Einige klinische Manifestationen wie zum Beispiel chronische Otitiden oder rezidivierende bakterielle Infektionen werden von praktischen Tierärzten oder Besitzern oft nicht als Hinweise auf die CAD erkannt;
- 3) Es gibt keine dokumentierten praktischen und zuverlässigen Methoden die zeigen, dass klinische Symptomatik bei Hunden, mit einer durch Serum- oder Hauttest festgestellte Allergenhypersensitivität tatsächlich durch Allergenexposition induziert wird.

Somit ist die wahre Prävalenz bis jetzt nicht sicher bekannt (HILLIER & GRIFFIN, 2001).

Mögliche Ursachen für die steigende Prävalenz werden zum einen darin gesehen, dass Welpen immer mehr und früher geimpft werden, was die IgE-Produktion erhöhen könnte und zum anderen, dass Hunde immer mehr Zeit im Haus

verbringen und somit auch mehr Allergenen wie z.B. den Hausstaubmilben etc. ausgesetzt sind. Desweiteren ist eine Ektoparasitenprophylaxe bei den Besitzern viel verbreiteter als früher (HILLIER & GRIFFIN, 2001).

Auch wird vermutet, dass die Inzidenz immer mehr zunimmt (HILLIER & GRIFFIN, 2001).

1.2. Pathogenese

Die Pathogenese der CAD ist bis jetzt noch nicht vollständig geklärt (OLIVRY & SOUSA, 2001a). Bei Hunden, die an caniner atopischer Dermatitis erkrankt sind, können Allergene, wie zum Beispiel Pollen, Hausstaubmilbenkot oder Schimmelsporen in den Körper eindringen und eine allergische Reaktion verursachen (HILL & DEBOER, 2001). Dies geschieht über zwei mögliche Wege. Die Allergene dringen entweder direkt über die Haut in den Körper ein und haben Kontakt zu den allergenpräsentierenden Zellen der Epidermis, oder sie gelangen über die Atemwege in den Körper und somit über das Blut zur Haut (OLIVRY & HILL, 2001; MARSELLA et al., 2006). Früher glaubte man, dass der Weg über die Atemwege am bedeutendsten sei, neuere Erkenntnisse sprechen jedoch dafür, dass die Allergenpräsentation durch die Haut der primäre Weg ist (MARSELLA et al., 2006). Normalerweise fungiert das Stratum corneum mit seiner Doppellipidschicht als Hautbarriere und sorgt dafür, dass Allergene nicht so einfach von außen eindringen können. Beim allergischen Hund ist die Hautbarriere jedoch gestört, da der Gehalt an Lipiden, vor allem der Gehalt an Ceramidklasse I und Ceramidklasse IX verringert ist (REITER et al., 2009). Dies wird als Ursache dafür gesehen, dass die Allergene leichter von außen eindringen können. Die Allergene werden nach Eindringen von den Langerhans-Zellen aufgenommen und in den Lymphknoten präsentiert. Dadurch werden die T-Lymphozyten aktiviert. Die T₂-Helferzellen produzieren IL-4, IL-5, IL-9 und IL-13, wodurch dann eine IgE-Produktion durch B-Zellen induziert wird. Desweiteren treten verstärkt Eosinophile auf (ROMAGNANI, 1994; MOSMANN & SAD, 1996; HILL et al., 2001; HAYASHIYA et al., 2002). In einer neueren Studie konnte nur bei einem von neun Hunden mit AD eine Eosinophilie festgestellt werden (HAYASHIYA et al., 2002). Die anderen Hunde hatten zwar im Vergleich zu den gesunden Hunden erhöhte Werte, diese befanden sich aber im Referenzbereich. In der gleichen Studie war die mRNA-Expression von IL-5 signifikant erhöht. Zur Messung wurden hier die peripheren mononukleären

Zellen herangezogen. Der sensibilisierte Hund produziert bei Allergenkontakt sehr viel IgE, eine Hyperplasie der dendritischen Zellen liegt ebenfalls vor (OLIVRY et al., 1996). Antigen-IgE-Mastzellverbindungen führen zu einer Degranulation der Mastzellen, wodurch Histamin, Heparin, Kallikrein und proteolytische Enzyme freigesetzt werden (OLIVRY & HILL, 2001). Es konnte gezeigt werden, dass die Interaktion zwischen IgE und Langerhans-Zellen bei der Allergenpräsentation eine wichtige Rolle spielt (MUDDE et al., 1990; OLIVRY et al., 1996). Histamin bindet dann an H1 - H4-Rezeptoren und führt insbesondere durch Bindung an H1-Rezeptoren zu Ödembildung, Juckreiz, Quaddelbildung und Vasodilatation (CLOUGH et al., 1998). Histamin ist auch dafür verantwortlich, dass Effektorzellen, wie zum Beispiel eosinophile Granulozyten, einwandern und es zu einer chronischen Entzündung kommen kann. Auch ist bekannt, dass der IgA-Gehalt in der Haut bei Hunden mit AD im Vergleich zu gesunden Hunden erhöht ist. Ob dies jedoch mit der allergenspezifischen IgA-Sekretion, oder mit einer Entzündungsreaktion einhergeht ist unbekannt (MUELLER et al., 1997). Die IgA-Serumkonzentration zeigte in dieser Studie keine Veränderung. Von Halliwell et al. wurde eine Definition für die Canine atopische Dermatitis formuliert: „Eine genetisch prädisponierte, entzündliche und juckende allergische Hauterkrankung mit charakteristischen klinischen Symptomen, assoziiert mit IgE-Antikörper am häufigsten gegen Umweltallergene gerichtet“ (HALLIWELL, 2006).

Nicht zu verwechseln ist die CAD mit der „atopic-like“ Dermatitis. Diese präsentiert sich mit den gleichen klinischen Symptomen, die IgE-Reaktion auf Umweltallergene kann jedoch bei dieser Form nicht nachgewiesen werden (OLIVRY et al., 2010a). Von der International Task Force on Canine Dermatitis wurde 2006 folgende Definition formuliert: „Eine entzündliche und juckende Hauterkrankung mit identischen klinischen Symptome, welche bei der CAD gesehen werden, bei der eine IgE-Antwort auf Umwelt- oder sonstige Allergene nicht dokumentiert werden kann“ (HALLIWELL, 2006). Es scheint bei diesem Typ keine gestörte Hautbarriere zu geben, da in einer Studie der TEWL nur bei den Patienten mit AD und nicht mit „atopic-like“ Dermatitis erhöht war (MORI et al., 2010). Die Hydratation war in der gleichen Gruppe, in der der TEWL erhöht war, erniedrigt.

Die allergische Reaktion kann in zwei Phasen, die Sofortreaktion und die

Spätreaktion, eingeteilt werden. Beide Typen sind IgE vermittelt (HILL et al., 2001). Die Quaddelbildung der Sofortreaktion entsteht durch vaskuläre Dilatation, Ödembildung und oberflächliche perivaskuläre Dermatitis und gehört zu einer typischen Hypersensitivitätsreaktion Typ 1 (SCOTT et al., 1995; HILL et al., 2001). Während der Spätreaktion kommt es in den ersten sechs Stunden zu einem Influx von eosinophilen, neutrophilen und basophilen Granulozyten. Darauf folgt eine Infiltration von mononukleären Zellen, zum Beispiel T-Gedächtniszellen (GAGA et al., 1991; HILL et al., 2001). Auch in einer anderen Studie konnte gezeigt werden, dass es nach sechs bis zwölf Stunden zu einem erhöhten Influx von α β T-Lymphozyten und dendritischen Zellen kommt, wohingegen zu einem früheren Zeitpunkt die vorherrschenden Zellen vor allem neutrophile und eosinophile Granulozyten sind (OLIVRY et al., 2001a).

1.3. Genetische Komponente

Schon in früheren Studien wurde die Vermutung angestellt, dass es eine genetische Komponente geben muss, da es sich zeigte, dass einige Rassen vermehrt für die canine atopische Dermatitis anfällig sind (SCOTT & PARADIS, 1990; SARIDOMICHELAKIS et al., 1999). Neuere Studien weisen auf eine Filaggringenmutation hin, wodurch die Hautbarriere gestört werden kann (CHERVET et al., 2010). Auch in der Humanmedizin besteht bei AD ein Zusammenhang mit einer Filaggringenmutation, welche dazu führt, dass die Funktion des Filaggrins beeinflusst wird, und dies eine Hautbarrierenstörung verursacht (SANDILANDS et al., 2009). Desweiteren konnten mittels Microarrays Gene identifiziert werden, die bei Hunden mit AD eine veränderte Genexpression aufweisen. Es sind Gene, die vor allem mit Immunantwort, Entzündung, Apoptose, Zellzyklus und Barrierenformation in Zusammenhang stehen (MERRYMAN-SIMPSON et al., 2008). In dieser Studie wurde vermutet, dass insbesondere die Geneexpression in der läsionsfreien Haut den atopischen Phänotyp widerspiegelt. Auch mittels quantitativer real time PCR (qPCR) konnten 11 Gene bei an CAD erkrankten Hunden identifiziert werden, welche ebenfalls eine veränderte Genexpression aufwiesen und eine Rolle bei der Hautbarrierenformation und Immunantwort spielen (WOOD et al., 2009).

1.4. Rassedisposition

Eine vermehrte Anfälligkeit für die CAD konnte bei Boxern und Golden

Retrievern (SCOTT & PARADIS, 1990) sowie zusätzlich bei Deutschen Schäferhunden (JAEGER et al., 2010) festgestellt werden. Desweiteren wurde gezeigt, dass die Rassendisposition auch abhängt von den jeweiligen Gebieten, in denen die Studien durchgeführt worden sind, ist, womit sich auch die stark variierenden Unterschiede bezüglich der Rassedispositionen in verschiedenen Populationen erklären lassen (JAEGER et al., 2010). In Griechenland zeigte sich eine Prädisposition für CAD bei Yorkshire Terrier, Chinese Shar Pei und Cocker Spaniel (SARIDOMICHELAKIS et al., 1999). Laut des ACVD liegt nach Prüfung mehrerer Studien eine Rassedisposition vor allem für folgende Rassen vor: Beauceron, Boston Terrier, Boxer, Cairn Terrier, chinesischer Shar-pei, Cocker Spaniel, Dalmatiner, Engl. Bulldogge, Engl. Setter, Foxterrier, Irischer Setter, Labrador Retriever, Lhasa apso, Miniatureschnautzer, Mops, Pyrenäen-Schäferhund, Scottish Terrier, Sealyham Terrier, Setter, West Highland White Terrier und Yorkshire Terrier (GRIFFIN & DEBOER, 2001). Eine Rassedisposition gibt es nicht nur bezüglich der Anfälligkeit für CAD, sondern auch bezüglich der Verteilung der Läsionen. Für Läsionen im Gesicht sind vor allem die französische Bulldogge, Englische Bulldogge und der Boxer anfällig; für Läsionen am Ventrum der deutsche Schäferhund und für Otitis externa der Beagle, die französische Bulldogge, der deutsche Schäferhund und der Jack Russel Terrier (JAEGER et al., 2010).

1.5. Geschlechtsdisposition

In der Literatur gibt es sehr widersprüchliche Aussagen. Die Ursachen hierfür werden in regionalen und zeitlichen Unterschieden gesehen (GRIFFIN & DEBOER, 2001). In einigen Studien zeigte sich eine vermehrte Anfälligkeit für CAD beim Rüden (NESBITT, 1978). Andere Studien fanden jedoch eine erhöhte Prädisposition für das weibliche Geschlecht (HALLIWELL, 1971). Aktuellere Veröffentlichungen konnten keine Geschlechtsdisposition feststellen (WILLEMSE & VAN DEN BROM, 1983; SCOTT & PARADIS, 1990; SARIDOMICHELAKIS et al., 1999).

1.6. Alter

Junge Hunde sind öfter von der AD als von anderen juckenden Hauterkrankungen betroffen (GRIFFIN & DEBOER, 2001). Die meisten Hunde mit CAD sind zwischen 6 Monaten (SARIDOMICHELAKIS et al., 1999) und 3 Jahren alt

(GRIFFIN & DEBOER, 2001). Klinische Symptome bei Hunden unter 6 Monaten und über 7 Jahren sind eher ungewöhnlich, jedoch durchaus möglich (SCOTT et al., 1995; SARIDOMICHELAKIS et al., 1999). In einer Studie aus Griechenland betrug das Durchschnittsalter 2,5 Jahre (SARIDOMICHELAKIS et al., 1999).

1.7. Klinische Symptome

Die klinischen Symptome können individuell sehr verschieden auftreten. Ein sehr häufig und weit verbreitetes Anzeichen ist der Juckreiz (SARIDOMICHELAKIS et al., 1999; GRIFFIN & DEBOER, 2001; JAEGER et al., 2010). In einem Buch wird jedoch berichtet, dass bei der Englischen Bulldogge Läsionen auch ohne Juckreiz möglich sind (SCOTT et al., 1995). Schon in den 60er - 80er Jahren wurde Juckreiz als eines der Hauptsymptome beschrieben, wobei hier aber nicht sicher ist, ob andere juckende Differentialdiagnosen zuverlässig ausgeschlossen wurden (GRIFFIN & DEBOER, 2001). Damals wurden als typische Läsionsstellen das Gesicht, Ohren, Pfoten, Gliedmaßen und Ventrum angegeben. Der Juckreiz an der dorsalen Lumbalgegend wird eher der Flohspeichelallergie zugeordnet (SCOTT et al., 1995; REEDY et al., 1997). Wie viele Körperstellen jedoch betroffen sind, variiert stark. Kombinationen sind möglich. Spätere Veröffentlichungen nannten zusätzlich folgende typische Prädilektionsstellen: die konkaven Oberflächen der Pinnae, palmare und dorsale Oberfläche der Carpi, palmarer Tarsus, axillär, Abdomen und Innenschenkel (SCOTT et al., 2001). In einer großen Studie zeigten 62% der Hunde Läsionen an den Pfoten, 51% am Ventrum, 48% an den Ohren und 39% im Gesicht (JAEGER et al., 2010). Es wird unterschieden zwischen Primär- und Sekundärläsionen. Sekundärläsionen entstehen durch chronischen Juckreiz, selbstinduziertes Trauma, chronische Entzündung und sekundäre bakterielle Infektionen (GRIFFIN & DEBOER, 2001). Sie äußern sich in Leckverfärbungen, Exkorationen, selbstinduzierter Alopezie, Hyperpigmentierung, Schuppen, Lichenifikation, einem trockenen stumpfen Fell (GRIFFIN & DEBOER, 2001; SCOTT et al., 2001), feuchte Dermatitis, akrale Nodulae und Pyodermie (SCOTT et al., 1995; REEDY et al., 1997). Diese Läsionen sind an den Stellen, an denen der Juckreiz auftritt, zu finden. Als häufigste Primärläsionen werden das Erythem (GRIFFIN & DEBOER, 2001) und Papeln (FAVROT et al., 2010a) genannt. Die milde Form der CAD kann sich ausschließlich mit Juckreiz, aber ohne Läsionen präsentieren (REEDY et al., 1997; GRIFFIN & DEBOER, 2001; SCOTT et al., 2001).

Die bereits beschriebenen Symptome treffen auf die Phase der Spätreaktion zu. Eine Sofortreaktion ist typischerweise durch Quaddeln charakterisiert. Dieses klinische Bild wird auch als Urtikaria bezeichnet (HILL et al., 2001).

Desweiteren kann man zwischen saisonalen und nicht-saisonalen Symptomen unterscheiden (GRIFFIN & DEBOER, 2001; FAVROT et al., 2010a). Die meisten Hunde, die saisonal betroffen sind, zeigen Symptome in der Zeit zwischen Frühjahr und Herbst (GRIFFIN & DEBOER, 2001).

1.8. Diagnose

Die Diagnose CAD ist eine Ausschlussdiagnose, alle möglichen Differentialdiagnosen für juckende Hauterkrankungen sind zuvor auszuschließen. Es ist sinnvoll, dabei nach einem gewissen Schema vorzugehen. Die häufigsten Differentialdiagnosen sind Pyodermie, Malasseziendermatitis, Parasiten (z.B. Sarkoptesmilben oder andere Milben), seltener Keratinisierungsstörungen, Flohspeichelallergie, Futtermittelallergie und Kontaktallergie (DEBOER & HILLIER, 2001). Da die Allergie ein sehr variables klinisches Erscheinungsbild hat, ist es schwierig, nur anhand der Klinik die Diagnose zu stellen. Es wurden in der Vergangenheit mehrere Listen von Kriterien erstellt, die bei der Diagnose hilfreich sein können (WILLEMSE, 1988; DEBOER & HILLIER, 2001; FAVROT et al., 2010a). Leider wurden nicht bei allen Listen Angaben über Spezifität oder Sensitivität gemacht (DEBOER & HILLIER, 2001). Die Liste von Prélaud et al. gibt fünf Hauptkriterien für die Diagnose Allergie vor. Hierbei wird bei Zutreffen von drei dieser fünf Kriterien eine Spezifität und Sensitivität von annähernd 80% angegeben. Die fünf Kriterien sind kortikosteroidsensitiver Juckreiz, Erythem der Pinnae, bilaterale kraniale erythematöse Pododermatitis, Cheilitis, sowie Auftreten der ersten klinischen Anzeichen im Alter von sechs Monaten und drei Jahren (FAVROT et al., 2010a; OLIVRY, 2010). Wenn keine dieser fünf Hauptkriterien vorhanden ist bedeutet dies aber nicht, dass die CAD als Differentialdiagnose ausgeschlossen ist (DEBOER & HILLIER, 2001). Aktuellere Diagnosekriterien wurden von Favrot et al. zusammengestellt (FAVROT et al., 2010a). Die dort genannten acht Diagnosekriterien sind ein Alter bei Beginn der Anzeichen einer Allergie von unter drei Jahren, die Hunde leben meist im Haus, glukokortikoidsensitiver Juckreiz, Pruritus sine materia zu Beginn der Erkrankung (z.B. Juckreiz ohne Läsion), Vorderpfoten betroffen, Ohrpinnae betroffen, Ohrränder nicht betroffen, dorso-lumbale Gegend nicht betroffen

(FAVROT et al., 2010a). Wenn fünf dieser acht Kriterien zutreffen, beträgt die Sensitivität 85% und die Spezifität 79% für die Diagnosestellung CAD. Bei sechs zutreffenden Kriterien erhöht sich die Spezifität auf 89%, die Sensitivität sinkt jedoch auf 53%.

Eine mögliche sekundäre Pyodermie lässt sich mittels Zytologie diagnostizieren, und falls vorhanden, mit antimikrobieller Therapie systemisch oder topisch behandeln (OLIVRY et al., 2010a). Parasiten können entweder durch Geschabsel oder durch diagnostische Therapie in Form von Antiparasitika ausgeschlossen werden. Hormonelle Geschehen sind eher bei mittelalten bis alten Hunden wahrscheinlich, beim jungen Hund eher unwahrscheinlich, aber möglich und lassen sich durch verschiedene Bluttests ausschließen. Nach Ausschluss der genannten Differentialdiagnosen sollte mit der Allergieaufarbeitung begonnen werden. Da die Flohspeichelallergie die häufigste Allergie ist, sollte eine Flohprophylaxe der erste Schritt einer Allergieaufarbeitung sein. Wenn darauf keine oder eine nicht ausreichende Besserung eintritt, sollte eine Eliminationsdiät zum Ausschluss einer Futtermittelallergie begonnen werden, da klinische Symptome einer CAD ähnlich einer Futtermittelallergie sein können und somit evtl. zu vorschnell die Diagnose Umweltallergie gestellt wird. Dies empfiehlt sich vor allem bei Hunden mit nicht saisonalen Symptomen (FAVROT et al., 2010a). Diese Diät muss für mindestens acht Wochen durchgeführt werden (ROSSER, 1993). Dabei verwendet man ausschließlich eine für den Patienten bisher nicht gefütterte Protein- und Kohlenhydratquelle. Während der Diät sollte sich eine Besserung der Symptome einstellen. Am Ende der Diät wird in einer Provokation komplett das alte Futter für maximal 14 Tage gefüttert. Falls der Hund eine Futtermittelallergie hat, treten darauf erneut Symptome, wie Juckreiz, Hautrötung oder Durchfall auf. Wenn der Provokation keine Veränderung folgt, ist die Futtermittelallergie ausgeschlossen und man kann die Diagnose Umweltallergie stellen. Anstelle einer selbstgekochten Diät gibt es auch einige kommerziell erhältliche Futtermittel für Hunde mit atopischer Dermatitis. Eine Verbesserung mit diesen Futtermitteln ist nicht zu 100% gewährleistet und stark produktabhängig (GLOS et al., 2008). Für die Futtermittelallergie werden von verschiedenen Labors Bluttests angeboten. Diese haben jedoch im positiven Fall wenig Aussagekraft. Der negative Vorhersagewert liegt nach einer neueren Studie bei 80% (BETHLEHEM et al., 2012). In dieser Studie wurde ein Patch-Test

verwendet. Eine positive Reaktion mittels dieses Patch-Tests erwies sich als nicht sehr aussagekräftig, wohingegen eine negative Reaktion mit einer guten Tolerierung der Futterquelle einherging.

Für die durch Umweltallergene verursachte CAD werden Allergietests entweder in Form von Serumallergietests oder Intrakutantests angeboten. Bei den serologischen Tests wird der allergenspezifische IgE-Spiegel gemessen. Bei den Hauttests wird getestet, ob die kutanen Mastzellen bei Allergenkontakt degranulieren, was sich durch eine Hautrötung und Schwellung zeigt. Bei beiden Tests erhält man somit Hinweise auf welche Allergene der Patient reagieren könnte. Die Tests sind jedoch nicht spezifisch, da auch gesunde Hunde positiv auf die Tests reagieren können, ohne eine Allergie zu haben (CODNER & LESSARD, 1993; BOND et al., 1994; DEBOER & HILLIER, 2001; HILLIER & DEBOER, 2001). Dies liegt unter anderem daran, dass ein allergen-spezifischer IgE-Spiegel im Blut nicht nur bei atopischen Hunden, sondern auch bei klinisch normalen Hunden vorliegen kann. Somit wird der Serumallergietest, oder der Intrakutantest nicht als initiale Diagnostik empfohlen (OLIVRY et al., 2010a). Die Mastzellen der Hunde, die an CAD erkrankt sind, zeigen eine höhere Histaminausschüttung als die der gesunden Hunde (JACKSON et al., 1996). Es besteht auch die Möglichkeit, dass Hunde klinische Anzeichen für eine Allergie haben, jedoch sowohl der Serumtest als auch der Intrakutantest negativ ausfällt (DEBOER & HILLIER, 2001). Dies kann folgende Gründe haben: Die relevanten Allergene waren nicht im Test mit eingeschlossen, die Qualität der verwendeten Allergene könnte mangelhaft sein, der Test wurde durch zuvor angewandte Therapie verfälscht oder die klinische Reaktion verläuft nicht über den klassischen IgE-Wirkungsweg (HALLIWELL & DEBOER, 2001). Ein möglicher Weg bei Hunden mit negativem Hauttest könnte über IgGd laufen (WILLEMSE et al., 1985; LIAN & HALLIWELL, 1998).

1.9. Therapie

Das Management einer CAD ist sehr facettenreich. Es ist schwierig hierbei eine allgemeingültige Aussage zu treffen, denn sie sollte bei jedem Tier individuell angepasst werden (OLIVRY et al., 2010a). Die Therapiemöglichkeiten können in zwei Gruppen eingeteilt werden. Zum einen gibt es die symptomatische Therapie, zum anderen die allergen-spezifische Therapie.

Die möglichen Vorgehensweisen bei der Aufarbeitung einer CAD lassen sich in fünf Schritte einteilen.

1. Allergenvermeidung oder Prävention vor Allergenkontakt
2. Unterstützung der Hautbarriere
3. antiinflammatorische Agens
4. allergen-spezifische Immuntherapie
5. Antimikrobielle Medikamente

(OLIVRY & SOUSA, 2001a). Das Vermeiden von Allergenen ist praktisch sehr schwierig, für manche Aeroallergene (z.B. Schimmelpilzsporen) so gut wie unmöglich. Um den Kontakt mit Hausstaubmilbenallergen zu verringern, kann man spezielle Kissen oder Matratzen für Allergiker verwenden, bei welchen die Poren so klein sind, dass Hausstaubmilbenallergene sie nicht penetrieren können (VAUGHAN et al., 1999). Eine weitere Linderung kann das Baden des grasallergischen Hundes nach dem Spaziergehen sein (BEVIER, 1990; OLIVRY & SOUSA, 2001a; LOFLATH et al., 2007). Eine Eliminationsdiät ist bei Hunden mit AD anzuraten, da möglicherweise Futterantigene eine Rolle bei der AD spielen können. Durch die Eliminationsdiät kann bei diesen Patienten eine Verbesserung oder sogar eine Remission der klinischen Symptome erreicht werden. Eine regelmäßige Flohkontrolle empfiehlt sich, da atopische Hunde für eine Flohspeichelhypersensitivität prädisponiert sind (OLIVRY & SOUSA, 2001a).

Die Hautbarriere kann topisch mit Fettsäuren unterstützt werden (TRETTER & MUELLER, 2011). Auch ist eine systemische Gabe von Fettsäuren in Form von kaltgepresstem Öl möglich, um die Symptome, wie Juckreiz und Hautläsionen der CAD zu lindern (MUELLER et al., 2004; MUELLER et al., 2005).

Falls die Vermeidung oder Prävention nicht möglich ist, oder nicht ausreicht, besteht die Möglichkeit auf antiinflammatorische Medikamente zurückzugreifen. Dabei ist das Ziel, eine Kombination aus Medikamenten mit den wenigsten Nebenwirkungen, den geringsten Kosten und der maximalen Wirkung zu finden (OLIVRY & SOUSA, 2001a). Diese Medikamente lassen sich in zwei Gruppen einteilen:

1. Hemmer der (allergischen) Sofortreaktion: Medikamente, die die Mastzelldegranulation unterbinden (z.B. Zyklosporin A) bzw. Medikamente, die die vasoaktiven Effekte von Histamin unterbinden (H1-Rezeptor Antihistaminika)
2. Hemmer der (allergischen) Spätreaktion: Medikamente, die die Aktivierung und die Freisetzung von Mediatoren mit chemotaktischer Wirkung verhindern (z.B. Pentoxifyllin, Zyklosporin A, Tacrolimus, Glukokortikoide)

(OLIVRY & SOUSA, 2001a).

Falls sowohl die Vermeidung von Allergenen als auch die medikamentelle Therapie nicht ausreichend sind, oder zu viele Nebenwirkungen mit sich bringen, kann man eine allergen-spezifische Immuntherapie, auch Hyposensibilisierung genannt, durchführen. Eine antimikrobielle Therapie, sowohl topisch als auch systemisch, ist ein sehr wichtiger Bestandteil der Allergieaufarbeitung. Meist ist sie der erste Schritt, der in diesem Zusammenhang durchgeführt wird, da bei einer CAD oft sekundär eine Pyodermie mit Bakterien (z.B. *Staphylococcus pseudintermedius*) oder Malassezien vorliegt (OLIVRY & SOUSA, 2001a).

1.9.1. Symptomatische Therapie

1.9.1.1. Glukokortikoide

Glukokortikoide werden oft in der Therapie der CAD verwendet (BEVIER, 1990; OLIVRY & SOUSA, 2001b). Kortikosteroide haben eine immunsuppressive und entzündungshemmende Wirkung. Es wird zum einen die Zytokinproduktion durch die T-Lymphocyten, vor allem von Interferon gamma, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6 und IL-13, unterdrückt. Zum anderen werden Chemokine und der Granulozyten-Makrophagen-koloniestimulierende-Faktor gehemmt (BARNES, 1998). Auch werden entzündungshemmende Gene aktiviert, wie zum Beispiel Lipocortin-1 (Annexin 1), welches die Phospholipase A₂ und somit die weitere Metabolisierung von Arachidonsäure zu Prostaglandinen, Thromboxanen und Leukotrienen sowohl über den Lipooxygenaseweg also auch über den Cyclooxygenaseweg hemmt. Die genannten Metaboliten sind bekannte Produkte der Entzündungsreaktion (COHN, 1997; ADCOCK & ITO, 2000; SCOTT et al., 2001). Es gibt zwei mögliche Applikationswege, entweder topisch oder systemisch. Eine Verbesserung ist sogar

schon bei geringen Dosen wie zum Beispiel 0,5 mg/kg einmal täglich möglich (OLIVRY et al., 2002a).

Topische Hydrokortisonpräparate gibt es in Form von Cremes oder Sprays. Sie werden der systemischen Gabe oft vorgezogen, da die Nebenwirkungen weniger ausgeprägt sind. Das trifft besonders auf Hydrokortisonaceponat (Cortavance[®], Virbac, France) zu, da es in der Haut metabolisiert wird und damit systemische Nebenwirkungen minimiert werden. Durch Verwendung dieses Sprays konnte eine Verbesserung des Juckreizes um ca. 38,5 % und des CADESI um ca. 61% erzielt werden (NUTTALL et al., 2009). Der Erfolg war nicht durch die Haarlänge des Fells beeinflusst. Die Frequenz der Anwendung kann, je nach Verbesserung, von einmal täglich bis zu jedem 3. Tag reduziert werden. Nebenwirkungen oder Blutparameterveränderungen konnten bei einer Anwendungsdauer von 70 Tagen nicht festgestellt werden. Damit kann jedoch keine Aussage über mögliche Nebenwirkungen bei Langzeittherapie getroffen werden (NUTTALL et al., 2009). In einer anderen Studie wurde gezeigt, dass eine Hautatrophie durch Behandlung mit 0,0584% Hydrokortisonaceponat provoziert werden kann (BIZIKOVA et al., 2010). Auch in dieser Studie konnte eine Verbesserung der Symptome erzielt werden.

Ein großer Nachteil der Glukokortikoidgabe sind die vielen Nebenwirkungen. Diese können von harmloser Polyurie/Polydipsie, Polyphagie, Alopezie und Adipositas bis hin zu teilweise lebensbedrohlichen Erkrankungen wie Pankreatitis, Cushing, gastrointestinalen Ulzera, oder sekundären Infektionen des Harntrakts reichen. Auch zeigen sich verschiedene Hautveränderungen, wie zum Beispiel Calcinosis cutis, Comedonen, Teleangiektasien, Ulzerationen, pergamentartige Hautverdünnung und vermehrte Anfälligkeit für Infektionen (BEVIER, 1990; BEHREND & KEMPPAINEN, 1997; KIMURA & DOI, 1999; OLIVRY & MUELLER, 2003; STEFFAN et al., 2003). Die Wahrscheinlichkeit, Nebenwirkungen zu entwickeln, scheint bei Verwendung von Methylprednisolon anstatt von Prednisolon um 10% geringer (SCOTT et al., 2001).

1.9.1.2. Antihistaminika

Antihistaminika wirken an den H1 - H4-Rezeptoren, die normalerweise nach Bindung von Histamin zur Mastzelldegeneration führen und so die allergische Reaktion auslösen. Aus der Humanmedizin ist bekannt, dass die Affinität des

Histamins zum H1-Rezeptor höher als zu den anderen drei Rezeptoren zu sein scheint. Er ist zusammen mit dem H2-Rezeptor am häufigsten vertreten (SIMONS, 2003). Es gibt eine Reihe an Antihistaminika, deren Wirkung jedoch umstritten ist. In einer Studie zeigten 54% der Hunde eine gute Verbesserung (ZUR et al., 2002), jedoch bei moderater oder schwerwiegender CAD scheint die alleinige Therapie damit nicht ausreichend. Zum Teil stellt sich nur vereinzelt (MILLER et al., 1993) oder sogar keinerlei Besserung ein (SCOTT et al., 1994). Somit scheint die Wirkung sehr individuell und präparatabhängig zu sein. In einer kürzlich veröffentlichten Meta-Analyse der Behandlungsmöglichkeiten für CAD wurden Hinweise zur Wirksamkeit von Antihistaminika als unzureichend zur Empfehlung dieser Stoffgruppe interpretiert (OLIVRY et al., 2010b). Der Vorteil der Antihistaminika gegenüber anderen antiinflammatorischen Medikamenten wie Glukokortikoiden, oder Zyklosporin A sind ihre geringen Nebenwirkungen. Meist tritt als Nebenwirkung nur Müdigkeit in verschiedenen Schweregraden auf (OLIVRY & MUELLER, 2003; BIZIKOVA et al., 2008). Die meisten Antihistaminika die in der Tiermedizin zum Einsatz kommen, binden an den H1-Rezeptor. Neuere Forschungen zeigen, dass es auch einen H4-Rezeptor gibt, welcher auf Mastzellen, Eosinophilen, dendritischen Zellen und T-Lymphozyten lokalisiert ist. Dieser Rezeptor spielt eine Rolle in der Aktivierung, Migration und der Zytokin- und Chemokinproduktion der eben genannten Zellen. Somit kann eine Kombination aus H1-Rezeptor- und H4-Rezeptor-Antagonisten von Vorteil sein (ROSSBACH et al., 2009b; ROSSBACH et al., 2009a). Auch eine Kombination von Antihistaminika und essentiellen Fettsäuren kann die Wirkung verbessern (SCOTT & MILLER, 1990, 1993). Laut Bizikova et al. liegt die optimale Dosierung für Cetirizin oder Hydroxyzin, was im Körper rasch zu Cetirizin umgewandelt wird, bei 1-2 mg/kg zweimal täglich (BIZIKOVA et al., 2008).

1.9.1.3. Zyklosporin

Eine weitere symptomatische Therapie ist die orale Gabe von Zyklosporin A. Dieses Medikament wirkt immunsuppressiv und blockiert vor allem die Transkription der Zytokine in aktivierten T-Zellen. Somit wird die T-Zellaktivierung geblockt (MATSUDA & KOYASU, 2000).

Der therapeutische Erfolg ist gleichzusetzen mit dem systemischer Glukokortikoidgabe und verbessert sowohl den Juckreiz als auch die Hautläsionen

um teilweise bis zu 50% und mehr (OLIVRY et al., 2002a; STEFFAN et al., 2003; STEFFAN et al., 2005). Die übliche Anfangsdosierung ist 5 mg/kg einmal täglich (OLIVRY et al., 2002a; OLIVRY et al., 2002b; STEFFAN et al., 2003; STEFFAN et al., 2005). Es konnte gezeigt werden, dass die Frequenz der Verabreichung bei Besserung der klinischen Symptome auf jeden 2. Tag, zweimal wöchentlich oder nur einmal wöchentlich reduziert werden kann. Eine Studie zeigte, dass eine dauerhafte Therapie mit Zyklosporin A nicht unbedingt nötig sein muss und eine Besserung der Symptome nach Ausschleichen der Therapie anhalten kann (RADOWICZ & POWER, 2005). In derselben Studie zeigten 22% der Tiere Erbrechen, Durchfall und Inappetenz als Nebenwirkungen.

Mögliche Nebenwirkungen können Diarrhoe, Erbrechen, Inappetenz/Lethargie, Gingivahyperplasie, papillomatöse Hautveränderungen und Hirsutismus sein (OLIVRY et al., 2002a; RADOWICZ & POWER, 2005; STEFFAN et al., 2005). Bei Blutuntersuchungen fielen zusätzlich erhöhte Werte von Leberenzymen, Cholesterolemie und Glucose auf. Die veränderten Serumwerte führten jedoch nicht zu klinischen Symptomen (RADOWICZ & POWER, 2005). An einem Rattenmodell wurde gezeigt, dass die Entwicklung der Gingivahyperplasie stark dosisabhängig ist. In diesem Modell wurde mit 3 mg/kg einmal täglich kaum eine Hyperplasie, jedoch mit 10 mg/kg oder 30 mg/kg einmal täglich eine deutliche Hyperplasie provoziert (CHANG et al., 1995).

1.9.1.4. Essentielle Fettsäuren

Essentielle Fettsäuren werden aufgrund dreier wesentlicher Ansatzpunkte als Therapie bei CAD eingesetzt:

- Verbesserung der Hautbarriere (TRETTER & MUELLER, 2011)
- Eingriff in die Entzündungsmediatoren (ZIBOH & CHAPKIN, 1988)
- Immunmodulation (STEHLE et al., 2010)

Da die Hautbarriere bei Hunden mit AD einen verringerten Lipidgehalt aufweist (REITER et al., 2009) und dies als Ursache für eine gestörte Hautbarriere gesehen wird, versucht man diesen mittels der Fettsäuren zu verbessern. Der zweite Punkt bezieht sich auf die Beeinflussung der Prostaglandine. Durch die Gabe von essentiellen Fettsäuren wird die Synthese der Serie 1 und 3 Eicosanoide (antiinflammatorisch) angeregt, wohingegen die Synthese der Serie 2 Eicosanoide

(proinflammatorisch) gehemmt wird (ZIBOH & CHAPKIN, 1988). Auch können die Fettsäuren die Immunmodulation beeinflussen, da sie Wirkung auf die mononukleären Zellen des peripheren Blutes haben (STEHLE et al., 2010).

1.9.1.5. Topische Therapie

Zur topischen Therapie gehört die Behandlung mit Shampoos. Es gibt eine Reihe von Produkten. Einige enthalten antibiotische oder antimykotische Inhaltsstoffe, andere sind reine Pflegeprodukte mit hautunterstützenden Stoffen wie z.B. Phytosphingosinen. Somit kann das Shampoo gegen sekundäre Infektionen (OLIVRY et al., 2010a; LOEFFLER et al., 2011), aber auch gegen Juckreiz ohne Sekundärinfektion eingesetzt werden (LOFLATH et al., 2007), da durch diese Therapie auch Allergene herunter gewaschen werden können (OLIVRY et al., 2010a). In der Studie von Löflath et al. konnte kein Unterschied zwischen einem konventionellen und einem medizinischem Shampoo festgestellt werden (LOFLATH et al., 2007). Shampoos die eine Benzoyl-peroxid Formulierung enthalten werden bei Hunden mit CAD nicht empfohlen, ohne dabei einen topischen Moisturizer zu verwenden (OLIVRY et al., 2010a). Wie oft man den Hund baden muss ist bis jetzt noch nicht geklärt. Ca. einmal die Woche ist möglich (OLIVRY et al., 2010a). Dies sollte aber individuell von dem jeweiligen Hund und dem Schweregrad der Symptome abhängig gemacht werden (CURTIS, 1998).

Tacrolimus, ein topisch zu applizierender Calcineurininhibitor hat sich in der Humanmedizin als Therapie bei AD bewährt und ist als Salbe (Protopic®) verfügbar. Es hemmt die T-Lymphozytenantwort auf Antigene und die Zytokinproduktion von IL-2, IL-3 und IL-4 (MARSELLA & OLIVRY, 2001). Es konnte eine Verbesserung der klinischen Symptome durch die Anwendung der 0,1% Salbe nach vier Wochen erzielt werden. Der Erfolg war bei Hunden mit lokalen Läsionen besser als bei generalisiert betroffenen Hunden (MARSELLA et al., 2004a).

1.9.1.6. Misoprostol

Misoprostol, ein Prostaglandin E1 (PGE1) Analogon (MOORE, 1996), ist ein Medikament, das zuerst bei Allergien in der Humanmedizin eingesetzt wurde. PGE erhöht das zyklische Adenosinmonophosphat (cAMP), was wiederum dazu führt, dass die Sekretion von Zytokinen durch die TH1 Zellen selektiv blockiert

wird (REDER et al., 1994). Desweiteren hemmt Misoprostol die Lymphozytenproliferation, die Granulozytenaktivierung und die Synthese der proinflammatorischen Zytokine Interleukin 1 und Tumor-Nekrose-Faktor α (TNF α) (MARSELLA & OLIVRY, 2001). In einer randomisierten, placebokontrollierten Studie von Olivry et al. konnte durch die Therapie bei Hunden mit AD in einer Dosierung von 5 μ g/kg dreimal täglich über drei Wochen eine signifikante Verbesserung des Juckreizes und der Läsionen erzielt werden. Hierbei konnte jedoch keine verringerte TNF α Produktion festgestellt werden (OLIVRY et al., 2003). Als Nebenwirkungen können geringgradig Erbrechen und Durchfall auftreten (OLIVRY et al., 2003).

1.9.1.7. Pentoxifyllin

Pentoxifyllin ist ein Phosphodiesterasehemmer mit immunmodulierender Wirkung. Beim Mensch konnte gezeigt werden, dass dadurch die Produktion von TNF α , IL-1, IL-6 und IL-12 reduziert wird (NEUNER et al., 1994). Eine Reduzierung des TNF α durch Pentoxifyllin konnte auch beim Hund nachgewiesen werden (XU et al., 1994b, 1994a). In einer Studie mit allergischen Hunden konnte eine Verbesserung der Symptome erzielt werden. In dieser Studie konnte zusätzlich eine kurze Halbwertszeit des Medikaments im Blut nachgewiesen werden. Daher wird eine zwei- bis dreimal tägliche Gabe empfohlen (MARSELLA et al., 2000). Die empfohlene Dosierung beträgt aufgrund dieser Studie 15 mg/kg oral. Pentoxifyllin kann auch bei Vaskulitis eingesetzt werden (SCOTT et al., 2001). In der Humanmedizin ist schon länger bekannt, dass dadurch die Viskosität der Erythrozyten herabgesetzt (LEONHARDT & GRIGOLEIT, 1977) und dadurch wiederum die Zellverformbarkeit verbessert wird und somit minderversorgte Gebiete besser durchblutet werden können.

1.9.1.8. Leukotrien-Inhibitoren

Leukotrien-Inhibitoren werden in der Humanmedizin bei atopischen oder entzündlichen Reaktionen eingesetzt, da Leukotriene eine wichtige Rolle in der Entstehung einer Entzündungsreaktion spielen. Je nach Medikament werden dadurch entweder Enzyme des Lipooxygenasewegs gehemmt und somit die Leukotrienproduktion herabgesetzt, oder Leukotrienrezeptoren antagonisiert (MARSELLA & OLIVRY, 2001). Die Applikation erfolgt oral. Auch bei Hunden konnte eine positive Wirkung bei allergischer Reaktion festgestellt werden

(DEBOER et al., 1992; BELL et al., 1993; CARDELL et al., 2000). Das Präparat Zileuton (A-64077, Ziflo[®], Abbott Laboratories; IL) hemmt die Leukotrienproduktion, vor allem von LTB₄ und LTE₄ bei einer Dosis von 0,5 mg/kg – 5 mg/kg (CARTER et al., 1991; TAGARI et al., 1993). Die Applikation kann bis zu dreimal täglich erfolgen (MARSELLA & OLIVRY, 2001). In der gleichen Studie wird diese Art von Medikation jedoch nur als Präventivmaßnahme empfohlen.

1.9.1.9. Weitere symptomatische Therapien

Desweiteren werden noch Interferon, das Alkaloid Capsaicin, trizyklische Antidepressiva und Hemmer der Serotoninwiederaufnahme bei der Behandlung von caniner atopischer Dermatitis verwendet (MARSELLA & OLIVRY, 2001; OLIVRY & MUELLER, 2003). Über die Effektivität kann man bis jetzt noch kaum eine Aussage treffen, da in der Literatur nur wenige Angaben aus der Tiermedizin zu finden sind

1.9.2. Allergen-spezifische Therapie

1.9.2.1. Allergen-spezifische Immuntherapie

Die allergen-spezifische Immuntherapie (ASIT), auch Hyposensibilisierung, oder Desensibilisierung genannt, ist eine Therapieform, die die Allergie an sich und somit nicht nur die Symptome behandelt. Der Patient soll dadurch weniger sensibel gegenüber den Allergenen gemacht werden. Diese Form der Therapie ist indiziert, wenn der Allergenkontakt nicht vermieden werden kann, und wenn mit symptomatischer Therapie keine Verbesserung erzielt wird, oder mit unerwünschten Nebenwirkungen einhergeht (GRIFFIN & HILLIER, 2001). Falls bei einer symptomatischen Therapie der Erfolg ausbleibt, kann auch bei saisonal betroffenen Tieren mit kurzer Dauer der Symptome eine ASIT angezeigt sein (OLIVRY & SOUSA, 2001a).

Es handelt sich hierbei um regelmäßige, meist subkutan applizierte Injektionen eines Allergenextrakts. Auch orale (GRIFFIN & HILLIER, 2001) und intradermale (MUELLER et al., 1999) Applikationen wurden schon getestet.

Die Zusammensetzung des Allergenextrakts für die Injektionen hängt von den beteiligten Allergenen ab, die auf Grund der Anamnese und der Ergebnisse eines Intrakutantests oder eines Serumallergietests bestimmt werden. Es konnte kein

Unterschied bezüglich der Erfolgsrate abhängig von der Testmethode festgestellt werden (SCHNABL et al., 2006). Zu Beginn der Therapie wird in der Induktionsphase die Dosis langsam bis zur Enddosis gesteigert, welche dann als Erhaltungsdosis weiter verabreicht wird. Die Dosis kann über mehrere Wochen mit einmal wöchentlicher Applikation langsam gesteigert werden. Eine andere Methode ist die Rush-Immuntherapie, bei der innerhalb von sechs Stunden auf die Erhaltungsdosis gesteigert wird. Dies sollte jedoch nur in einer dafür ausgestatteten Klinik und mit stetiger Überwachung des Patienten durchgeführt werden, um bei möglichen Nebenwirkungen schnell eingreifen zu können. (MUELLER & BETTENAY, 2001).

Die Vorteile einer ASIT gegenüber anderer Therapieformen sind:

- Injektionen werden weniger häufig verabreicht als die symptomatischen Therapien
- Es sind keine Langzeitnebenwirkungen bekannt
- Die Akzeptanz einer Spritze ist bei Hunden meist besser als orale Dauermedikation
- Die Allergie als Grundursache wird behandelt und der Patient möglicherweise geheilt

Nachteile einer ASIT gegenüber anderer Therapieformen sind:

- Die Angst der Besitzer Spritzen zu geben
- Die Gefahr eines anaphylaktischen Schocks
- Nur in Glasampullen erhältlich und somit die Gefahr zu zerbrechen
- Teuer, mit dem Risiko, keine Verbesserung zu erzielen

(GRIFFIN & HILLIER, 2001).

Wie im letzten Punkt der Nachteile schon ersichtlich, spricht nicht jeder Hund auf die Therapie an. In einer Studie waren 15,4% Therapieversager, ebenfalls 15,4% zeigten jedoch eine komplette Remission nur mittels der ASIT. Bei 48,7% konnte die symptomatische Therapie um 50% reduziert werden und es wurde eine deutliche Besserung der Symptome erreicht. Bei 20,5% war die Verbesserung moderat (SCHNABL et al., 2006). Der Erfolg einer ASIT scheint weder vom

Alter der Hunde bei Beginn der Therapie noch von der Dauer der Erkrankung vor der Therapie abhängig zu sein (LOEWENSTEIN & MUELLER, 2009). Auch die Anzahl der Allergene, die verwendet werden, haben laut einer Studie keinen Einfluss (SCHNABL et al., 2006).

Die häufigsten Nebenwirkungen sind vermehrter Juckreiz nach Injektion einer höheren Dosis (LOEWENSTEIN & MUELLER, 2009).

Durch die ASIT werden regulatorische T-Zellen angeregt, die IL-10 sezernieren und damit die allergische Immunantwort unterdrücken (KEPPEL et al., 2008).

Der Allergietest an sich kann durch die Verwendung symptomatischer Therapie negativ beeinflusst werden, das heißt, dass evtl. Reaktionen ausbleiben. Es konnte gezeigt werden, dass bei einer Verwendung von Zyklosporin (Atopica[®], Novartis Animal Health, Greensboro, NC, USA) für mehr als sechs Wochen das Ergebnis des Hauttest verfälscht wird, wohingegen bei einer nur vierwöchigen Anwendung keine Verfälschung auftrat (GOLDMAN et al., 2010). Auch bei topisch angewendeter 0,1% Tacrolimus Salbe (Protopic[®] 0,1%) kann die Spätreaktion beeinflusst werden und somit evtl. ein verfälschtes Testergebnis zur Folge haben. Die Sofortreaktion innerhalb von 15 Minuten scheint nicht beeinflusst zu sein. Es wird daher empfohlen, vor einem Intrakutantest die Salbe mindestens vier Wochen vorher abzusetzen (MARSELLA et al., 2004a). Weitere Medikamente, die das Testergebnis beeinflussen können, sind Antihistaminika und Kortikosteroide. Antihistaminika sollen zwei Wochen vor einem Intrakutantest nicht mehr gegeben werden, auf den Serumallergietest haben sie keine Auswirkung. Kortikosteroide müssen vier Wochen vor beiden Testmethoden abgesetzt werden. Bei Verwendung des 0,0548% Hydrocortisonazeponatsprays wird ein Absetzen zwei Wochen vor einem Intrakutantest empfohlen (BIZIKOVA et al., 2010).

2. Fettsäuren

2.1. Allgemein

Die Fettsäuren lassen sich in zwei große Gruppen einteilen. Es gibt gesättigte und ungesättigte Fettsäuren. Der Hauptunterschied zwischen diesen beiden Gruppen ist, dass gesättigte im Gegensatz zu ungesättigten Fettsäuren keine Doppelbindungen aufweisen. Mehrfach ungesättigte Fettsäuren besitzen mehr als

eine Doppelbindung. Ungesättigte Fettsäuren werden therapeutisch bei der Behandlung von caniner atopischer Dermatitis eingesetzt, wohingegen die gesättigten FS in diesem Zusammenhang keine Rolle zu spielen scheinen.

2.2. Ungesättigte Fettsäuren

Die ungesättigten Fettsäuren werden als essentielle Fettsäuren therapeutisch bei Hunden mit CAD angewendet, da ihnen eine antiinflammatorische und immunmodulierende Wirkung nachgesagt wird (ZIBOH et al., 2000; STEHLE et al., 2010). Auch haben sie einen positiven Effekt auf die bei Allergikern gestörte Hautbarriere (TRETTER & MUELLER, 2011). Sie lassen sich in drei Gruppen einteilen: Omega-3 FS (n-3), Omega-6 FS (n-6) und Omega-9 FS (n-9), wobei die ersten beiden genannten Gruppen die essentiellen FS und somit auch die relevanten FS sind. Das „n“ und die dahinter stehende Ziffer geben die Position der ersten Doppelbindung des Moleküls vom terminalen Methyl-Ende aus gezählt an. Ungesättigte Fettsäuren sind essentiell, wenn sie durch die Nahrung aufgenommen werden müssen. Bei den 18 C-Atom langen ungesättigten n-3 und n-6 Fettsäuren ist dies der Fall. Sie kommen in vielen pflanzlichen Ölen vor. Die längeren PUFAs (polyunsaturated fatty acids) wie EPA (Eicosapentaensäure) und DHA (Docosahexaensäure) findet man in Fischölen (CALDER, 2006) und können durch Verzehr dieser dem Körper zugeführt werden. Sie können jedoch auch im Körper durch die Umwandlung der 18-C-Atom langen Fettsäuren produziert werden. (ZIBOH & MILLER, 1990). Die drei Gruppen beeinflussen sich gegenseitig im Metabolismus: Omega-3 FS hemmen die Biokonversion der Omega-6 FS und diese hemmen ihrerseits den Metabolismus der Omega-3 FS. Beide, Omega-3 und Omega-6 FS, hemmen die Formation der nichtessentiellen Omega-9 FS (ZIBOH & MILLER, 1990).

2.2.1. Omega-3 Fettsäuren

Zu den Omega-3 Fettsäuren gehören α -Linolensäure (ALA; 18:3n-3), Eicosapentaensäure (EPA, 20:5n-3) und Docosahexaensäure (DHA, 22:6n-3). Die Strukturformeln in Klammer kennzeichnen mit der ersten Ziffer die Anzahl der C-Atome. Die zweite Ziffer gibt die Anzahl der Doppelbindungen an und das „n-mit Ziffer“, wie oben bereits erwähnt, die Position der ersten Doppelbindung. α Linolensäure (18:3n-3) hat somit z.B. 18 C-Atome, 3 Doppelbindungen, wobei die erste Doppelbindung am dritten C-Atom vom terminalen Methyl-Ende gezählt

auftritt (ZIBOH & MILLER, 1990). ALA wird nach Aufnahme durch das Futter im Körper zu EPA und dann weiter zu DHA umgewandelt. Hierfür wird zum einen das Enzym delta-6-Desaturase benötigt, was dafür sorgt, dass neue Doppelbindungen eingebaut werden. Zum anderen benötigt man das Enzym Elongase zur Elongation, was dazu führt, dass das Molekül mehr C-Atome aufweist. Somit wird durch die delta-6-Desaturase zum Beispiel die Umwandlung von 18:2n-6 zu 18:3n-6 katalysiert und durch die Elongation 18:3n-6 zu 20:3n-6 (DGLA) (ZIBOH & MILLER, 1990).

Essentiellen Fettsäuren wirken antiinflammatorisch. ALA wird, wie oben schon erwähnt durch die delta-6-Desaturase zu EPA umgewandelt. Aus EPA werden dann Eicosanoide der Serie 1 und 3 produziert. Diese Eicosanoide haben eine antiinflammatorische Wirkung. Durch die delta-6-Desaturase wird auch die Omega-6 FS Linolsäure (LA) zu γ -Linolensäure und dann durch die Elongation weiter zu Dihomo- γ -Linolensäure (DGLA) und diese dann durch die delta-5-Desaturase weiter zu Arachidonsäure (AA) umgewandelt. Aus DGLA werden dann ebenfalls Eicosanoide der Serie 1 und 3 gebildet, somit wird auch hier eine antiinflammatorische Wirkung erzielt. Aus AA werden jedoch proinflammatorische Eicosanoide der Serie 2 produziert. Da ALA aber die Enzymaktivität der Desaturase mehr auf sich zieht, wird die Umwandlung der AA durch ALA verringert. Das zeigt, dass ALA nicht nur antiinflammatorisch wirkt, sondern auch die Produktion proinflammatorischer Mediatoren hemmt. (ZIBOH & CHAPKIN, 1988). Diese Wirkung wird bei der Therapie mit essentiellen Fettsäuren angestrebt.

2.2.2. Omega-6 Fettsäuren

Zu den Omega-6 FS gehören Linolsäure (LA, 18:2-n6), γ -Linolensäure (GLA, 18:3-n6), Dihomo- γ -Linolensäure (DGLA, 20:3-n6) und Arachidonsäure (AA, 20:4-n6). Die essentielle FS LA muss durch das Futter in Form von Pflanzenölen aufgenommen werden. Sie wird erst zu GLA und dann weiter zu DGLA und AA umgewandelt. DGLA wird durch das Enzym delta-5-Desaturase zu AA (proinflammatorisch) und zu Eicosanoiden der Serie 1 (antiinflammatorisch) umgewandelt (ZIBOH & MILLER, 1990). Aus der Arachidonsäure wird über den Cyklooxygenaseweg Prostaglandin E₂ (PGE₂), Prostaglandin F_{2 α} (PGF_{2 α}) und Prostaglandin D₂ (PGD₂) gebildet. Über den Lipooxygenaseweg und dem Enzym 5-Lipooxygenase können aus der Arachidonsäure (AA) Leukotriene entstehen

(ZIBOH et al., 2000; SCHLOTTER et al., 2010). Bei atopischen Hunden konnte mittels qPCR von Hautbiopsien eine erhöhte mRNA-Expression von 5-Lipoxygenase, 5-Lipoxygenase-Aktivierungsprotein und der Prostaglandin-Synthase 1 festgestellt werden (SCHLOTTER et al., 2010).

2.3. Eicosanoide

Eicosanoide sind hydrophobe hormonähnliche Substanzen, die im Körper als Mediatoren fungieren. Sie spielen eine Rolle als Immunmodulatoren, Neurotransmitter und bei entzündlichen Prozessen. Sie entstehen aus mehrfach ungesättigten langkettigen Fettsäuren, wie zum Beispiel der Arachidonsäure. Zuvor müssen die Fettsäuren aus den Phospholipiden der Zellmembran mittels einer Phospholipase freigesetzt werden. Bei der Arachidonsäure ist dies die Phospholipase A₂ (SCHLOTTER et al., 2010). Zu den einzelnen Vertretern der Eicosanoide gehören Prostaglandine, Prostacycline, Thromboxane und Leukotriene. Dies ist abhängig von den zuvor freigesetzten Fettsäuren und deren anschließende Umwandlung durch Enzyme (ZIBOH & MILLER, 1990). Bei der Entstehung der einzelnen Vertreter sind drei Enzyme beteiligt: die Lipoxygenase, durch die die Leukotriene gebildet werden, die Prostaglandin-H-Synthase, durch die Thromboxane und Prostaglandine gebildet werden und die Epoxigenase, durch die Fettsäureepoxide gebildet werden. Die Prostaglandin-H-Synthase besteht aus dem Enzym Cyclooxygenase und Peroxidase. Sie wirken an den Zellen über, auf der Zelloberfläche sitzende, G-Protein-gekoppelte Membranrezeptoren. Man kann die Eicosanoide in drei Serien einteilen. Die Serie 1 (aus DGLA) und die Serie 3 (aus EPA) wirken entzündungs- und schmerzhemmend. Die Serie 2 (aus AA) wirkt entzündungs- und schmerzfördernd. Hier eine Übersicht der Eicosanoide:

1. **Serie 1** (*antiinflammatorisch*) : PGE₁, PGF₁, TXA₁, LTA₃, LTC₃ und LTD₃
2. **Serie 2** (*entzündungsfördernd, immunsuppressiv*) : PGE₂, PGF₂, PGI₂, TXA₂, LTA₄, LTB₄, LTC₄ und LTD₄
3. **Serie 3** (*antiinflammatorisch*): PGE₃, PGF₃, δ¹⁷ Prostacyclin, TXA₃, LTA₅, LTB₅ und LTC₅

Daher wird bei der Therapie von CAD mit essentiellen Fettsäuren versucht den Gehalt an Arachidonsäure und somit die Produktion der Serie 2 Eicosanoide zu

reduzieren, und den Gehalt an EPA und damit die Serie 1 und 3 Eicosanoide zu erhöhen. Dadurch soll die Entzündungsreaktion gesenkt werden. (WRIGHT, 1991).

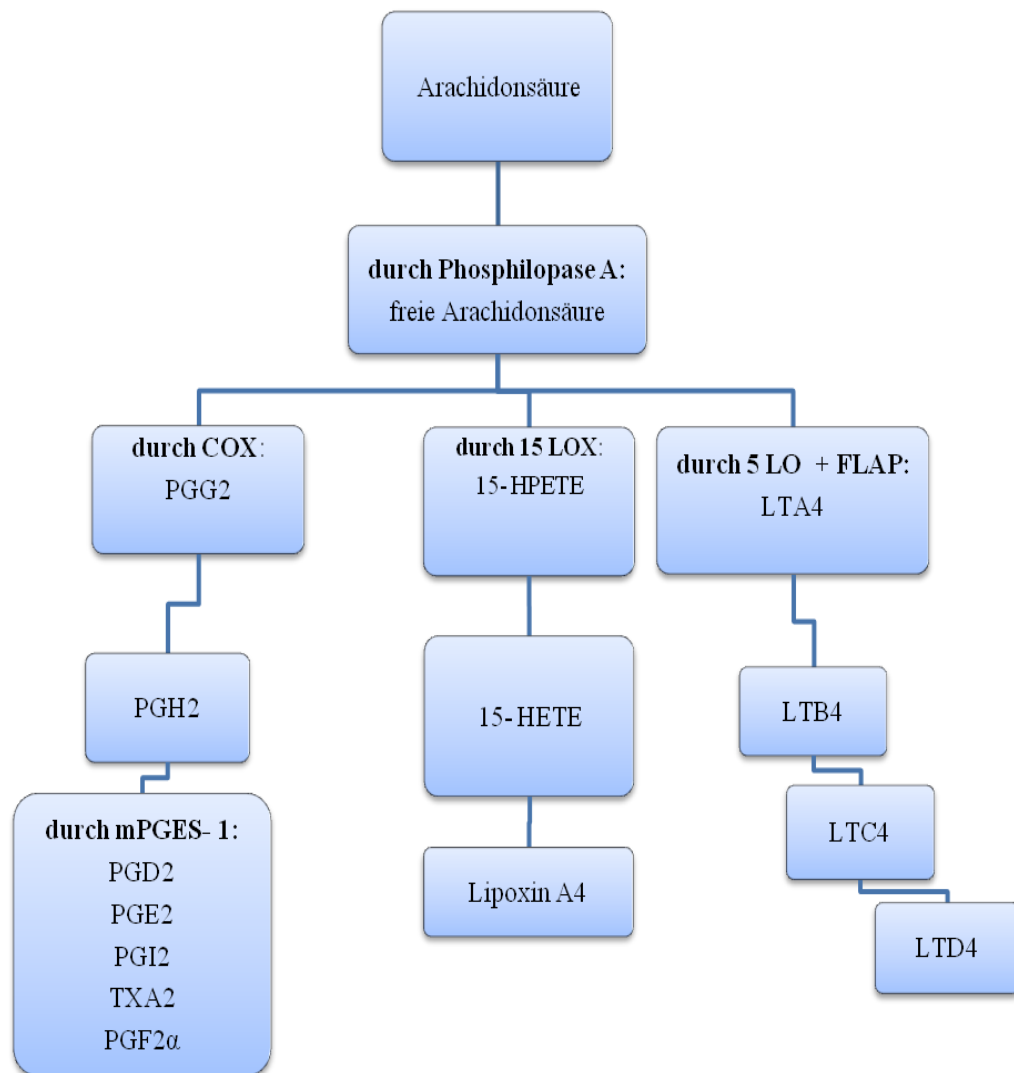


Abb. 1: Konversion der Arachidonsäure, modifiziert nach Schlotter et al. (SCHLOTTER et al., 2010)

2.4. Ceramide

Ceramide sind eine Untergruppe der Sphingolipide und neben Cholesterol und freien Fettsäuren ein wichtiger Bestandteil der Doppellipidschicht im Stratum corneum der Haut (FEINGOLD, 2007). Die Sphingolipide bestehen aus Sphingoidbasen, die wiederum aus Phytosphingosin, Sphingosin, 6-Hydroxysphingosin bestehen. Diese Sphingoidbasen sind amidartig an Fettsäuren gebunden, welche entweder α -Hydroxy-, nicht-Hydroxy-, oder ω -Hydroxyfettsäuren sind (ROBSON et al., 1994; CODERCH et al., 2003).

Ceramide sind wichtig für die Hautbarriere, die die Haut vor Austrocknung und vor Eindringen von Allergenen schützen soll. Das Stratum corneum besteht hauptsächlich aus Korneozyten, also aus differenzierten Keratinozyten (FEINGOLD, 2007). In der Humanmedizin fand man heraus, dass Ceramide die Keratinozytendifferenzierung stimulieren und die Keratinozytenproliferation hemmen (WAKITA et al., 1994) und somit die Formation des Stratum corneums beeinflussen können (FEINGOLD & JIANG, 2011). Es gibt freie wie auch proteingebundene Ceramide. Zu den proteingebundenen Ceramiden zählen Cer[OS], Cer[OP] und Cer[OH] (POPA et al., 2010). Diese drei proteingebundenen Ceramide bestehen aus ω -Hydroxyfettsäuren, die entweder an Sphingosin (Cer[OS]), Phytosphingosin (Cer[OP]) oder 6-Hydroxysphingosin (Cer[OH]) gebunden sind (POPA et al., 2010). Die Ceramide Cer[EOS], Cer[NS], Cer[NP], Cer[EOH], Cer[AS], Cer[NH], Cer[AP], Cer[AH] und Cer[EOP] gehören zu den freien Ceramiden (REITER et al., 2009; POPA et al., 2010). Dies gilt sowohl für die Tier- als auch für die Humanmedizin. Die freien Ceramide werden, sowohl in der Human- als auch in der Tiermedizin in neun Klassen (siehe Abb. 2) eingeteilt. Die Nummerierungen beziehen sich auf ein altes Einteilungssystem, nach dem die Ceramide aufgrund ihrer Polarität eingeteilt wurden. Umso größer die Polarität, desto höher die Ziffer. Die jeweilige Polarität konnte mittels Dünnschichtchromatographie bestimmt werden (WERTZ & DOWNING, 1983). Dieses Einteilungssystem erwies sich jedoch nach Entdeckung neuer Ceramidklassen als unpraktisch, worauf ein neues Einteilungssystem eingeführt wurde. Es werden hierbei Buchstaben zur Abkürzung verwendet, welche sich auf die Strukturen der Ceramide beziehen.

Abkürzungen der Ceramidklassen:

- Cer 1 [EOS]: estergebundene Fettsäure, ω -Hydroxyfettsäure, Sphingosin
- Cer 2 [NS]: nicht-Hydroxyfettsäure, Sphingosin
- Cer 3 [NP]: nicht Hydroxyfettsäuren, Phytosphingosin
- Cer 5 [AS]: α -Hydroxyfettsäuren, Sphingosin
- Cer 7 [AP]: α -Hydroxyfettsäuren, Phytosphingosin

(MOTTA et al., 1993)

Später kamen noch drei weitere Ceramidklassen hinzu (CODERCH et al., 2003):

- Cer 4 [EOH]: ω -O-acylhydroxysäure, 6-Hydroxysphingosin
- Cer 6 [NH]: nicht-Hydroxyfettsäuren, 6-Hydroxysphingosin
- Cer 8 [AH]: α -Hydroxyfettsäuren, 6-Hydroxysphingosin

Die neunte und bis jetzt letzte Ceramidklasse folgte kurze Zeit später (PONEC et al., 2003):

- Cer 9 [EOP]: ω -O-acylhydroxysäure, Phytosphingosin

Daraus lassen sich allgemein folgende Abkürzungen ableiten:

P	Sphingoidbase = Phytosphingosin
S	Sphingoidbase = Sphingosin
H	Sphingoidbase = 6-Hydroxysphingosin
O	Fettsäure (amidartig an Ceramid gebunden) an ω -Stellung hydroxyliert
A	Fettsäure (amidartig an Ceramid gebunden) an α -Stellung hydroxyliert
N	Fettsäure (amidartig an Ceramid gebunden) an α -Stellung nicht hydroxyliert
E	Esterartige Verbindung der Fettsäure (amidartig an Ceramid gebunden) mit einer anderen Fettsäure an ω -Stellung

Tabl. 1: Abkürzungsschema der Ceramidklassen

Die Vorstufen der Ceramide sind zum Beispiel Glycosylceramid, Phospholipide und Cholesterolsulfat. Zu den Enzymen, die zur Bildung der Ceramide und freien Fettsäuren benötigt werden, zählen unter anderem β -Glucocerebrosidase, Sphingomylinase, sekretorische Phospholipase A2 (ELIAS & SCHMUTH, 2009). Man glaubt, dass die Lipidsynthese in den Keratinozyten des Stratum granulosum stattfindet (JUNGERSTED et al., 2008).

Die oben genannten Erkenntnisse stammen größtenteils aus der Humanmedizin, wurden aber für die Tiermedizin übernommen, da in einer Studie gezeigt werden

konnte, dass Ceramide im Stratum corneum von Hunden denen der Menschen sehr ähnlich sind (POPA et al., 2010). Es ist bekannt, dass vor allem Ceramidklasse I und IX bei Allergikern von Bedeutung sind. Es konnte in einer Studie gezeigt werden, dass diese beiden Gruppen bei Hunden mit CAD verringert sind (REITER et al., 2009). Es wird vermutet, dass dies die Hautbarriere schwächt und dadurch die Allergene leichter in die Haut eindringen können und Symptome verursachen. Die gleiche Beobachtung wurde auch bei Menschen, die an AD leiden, gemacht (IMOKAWA et al., 1991; YAMAMOTO et al., 1991; DI NARDO et al., 1998). Der Gehalt an Cholesterol im Stratum corneum ist sowohl beim Mensch als auch bei Hunden mit AD erhöht (DI NARDO et al., 1998; REITER et al., 2009). In einer anderen Studie mit atopischen Hunden fand man zusätzlich zu Cer [EOS] und Cer [EOP] auch Cer [NP] erniedrigt (YOON et al., 2011). In der Humanmedizin wird eine Ursache in einem Enzym namens Sphingomyelin (SM)- und Glucosylceramid (GCer)-Deacylase (kurz SM-GCer-Deacylase) gesehen. Dieses Enzym soll mit der Sphingomyelinase und der Glucosylceramidase konkurrieren, welche normal für die Umwandlung der Ceramide verantwortlich sind. Die SM-GCer-Deacylase hydrolysiert SM und GCer an dem Acyl-Ende, wodurch anstatt Ceramide Sphingosylphosphorylcholine oder Glucosylsphingosine entstehen (IMOKAWA, 2009). Schon früher wurde diskutiert, ob der Sphingomyelinmetabolismus und vor allem die Sphingomyelin-Deacylase eine Rolle bei der gestörten Hautbarriere spielt (HARA et al., 2000).

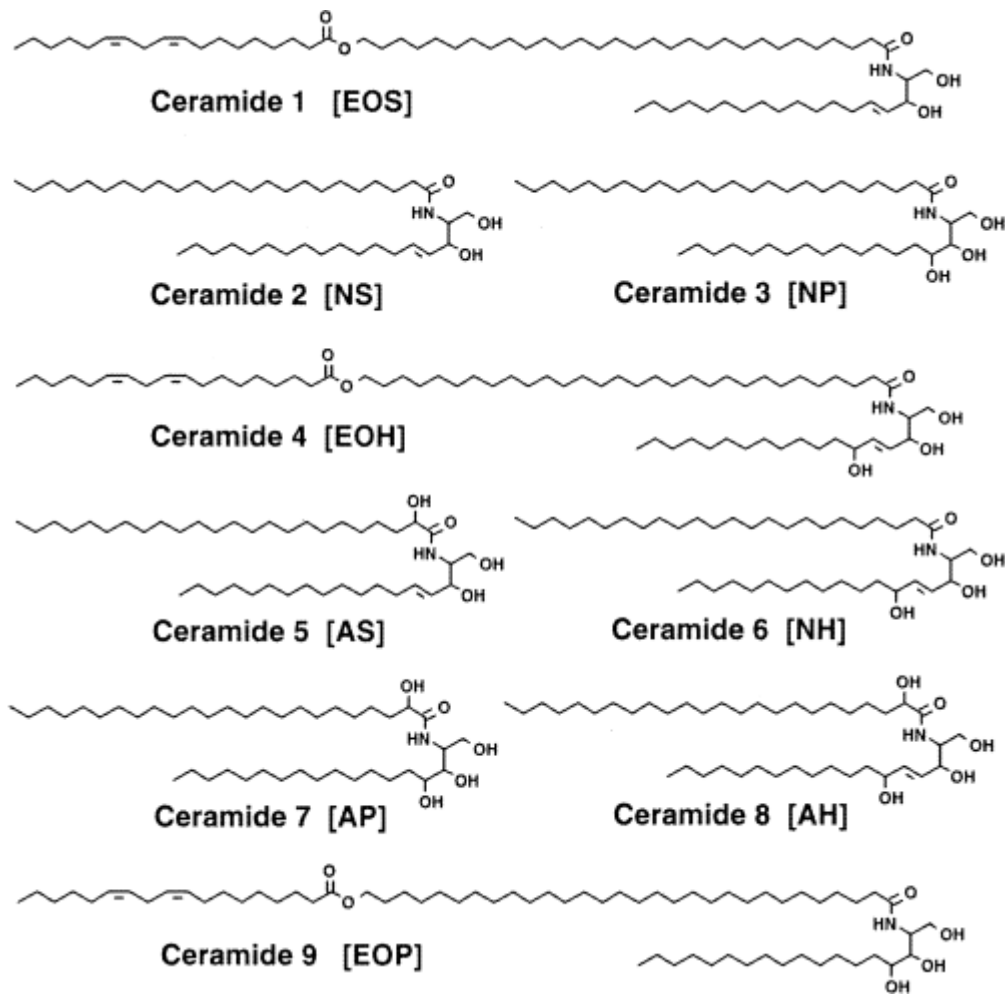


Abb. 2 Strukturen und Klassifikation der Ceramide (MOTTA et al., 1993; MADISON, 2003)

Es gibt drei mögliche Ceramidsynthesewege (Abb. 3). Ein möglicher Weg läuft über das Enzym Serin-Palmitoyl-CoA Transferase, ein anderer über Glycosphingolipide, z.B. Cerebroside und der dritte über Sphingomyelin. Die zwei zuletzt genannten Wege scheinen von größerer Bedeutung für die Hautbarrierenzusammensetzung zu sein (HOLLERAN et al., 1994; SCHMUTH et al., 2000; JENSEN et al., 2004).

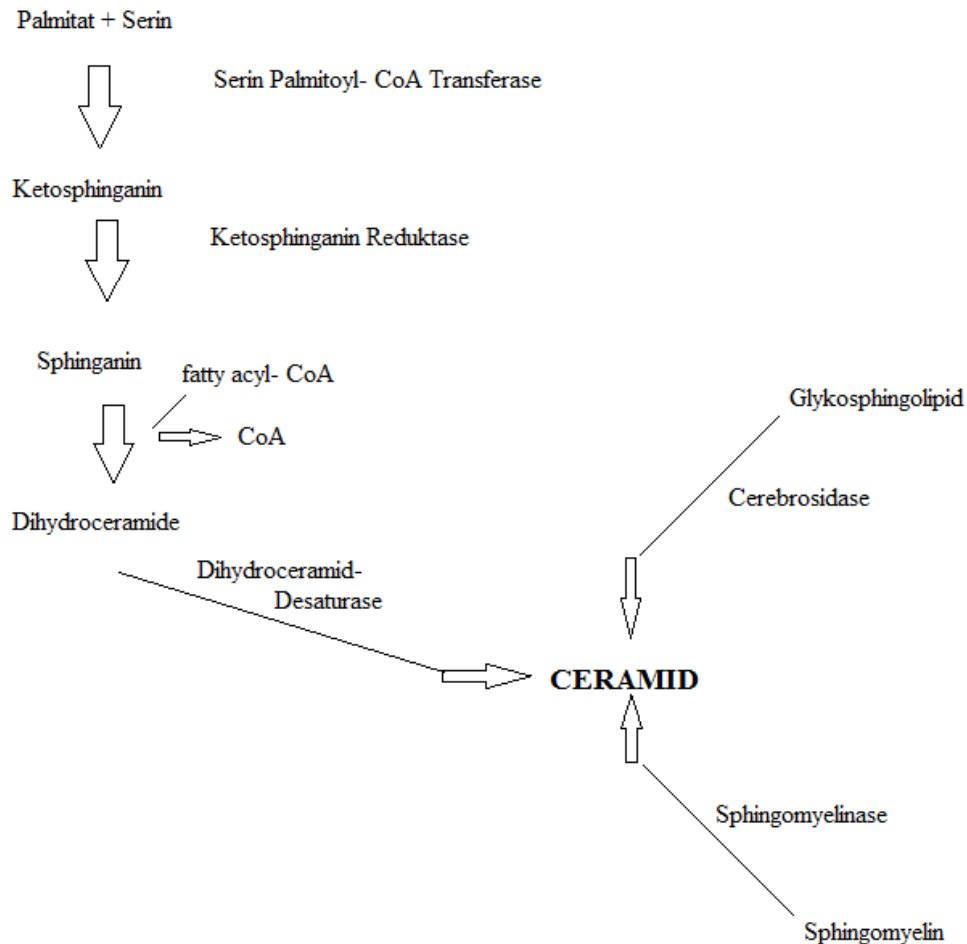


Abb. 3: Ceramidsynthesewege, modifiziert nach Jungersted et al. (JUNGERSTED et al., 2008)

2.5. Therapeutischer Einsatz von essentiellen Fettsäuren bei CAD

Essentielle Fettsäuren werden als symptomatische Therapie bei CAD entweder als Spot-on-Präparat oder oral verabreicht. Der Vorteil der Fettsäurenpräparate, im Vergleich zu anderen symptomatischen Therapien sind die sehr geringen Nebenwirkungen, was sie zu einer „sicheren“ Alternative macht (OLIVRY et al., 2001b; MUELLER et al., 2004). Bei der oralen Verabreichung kann es zu Durchfall kommen (SCOTT et al., 1992). Bei der Spot-On Gabe sind bis jetzt keine Nebenwirkungen bekannt. Fettsäuren haben drei große Ansatzpunkte. Sie verbessern die Hautbarriere, da sie in die Ceramide eingebaut werden und somit die Doppellipidschicht verbessert werden soll (TRETTER & MUELLER, 2011). Sie greifen in die Entzündungskaskade ein, indem sie die Synthese der antiinflammatorischen Eicosanoide stimulieren und die Synthese der

proinflammatorischen Eicosanoide hemmen (ZIBOH & CHAPKIN, 1988). Desweiteren haben sie eine immunmodulatorische Wirkung, da sie die mononukleären Zellen des peripheren Bluts beeinflussen. Es konnte eine signifikante Reduktion der Proliferation dieser Zellen durch die Fettsäuren ALA, die Gemische aus EPA/DHA und GLA/EPA/DHA gezeigt werden (STEHLE et al., 2010).

Die Effektivität ist bis jetzt noch nicht eindeutig geklärt. Zwar gibt es einige Studien über den Einsatz von essentiellen Fettsäuren bei CAD, jedoch sind die meisten Studien entweder nicht placebokontrolliert, verblindet, oder die Präparate wurden über einen zu kurzen Zeitraum verabreicht (OLIVRY et al., 2001b). Dies führt dazu, dass man teilweise widersprüchliche Angaben findet. Es wurde in verschiedenen Studien untersucht, ob essentielle Fettsäuren auf klinische Symptome, wie Hautläsionen und Juckreiz eine Auswirkung haben. Man findet auch hier mehrere Angaben. Neuere Studien zeigen, dass bei oraler Fettsäurengabe eine Verbesserung des Juckreizes und der Hautläsionen eintritt (MUELLER et al., 2004; MUELLER et al., 2005). In einer Studie konnte gezeigt werden, dass die Verbesserung auf Fettsäurensupplementierung auch abhängig von dem jeweiligen Stadium der CAD ist. Somit haben Hunde in einer frühen Phase der CAD deutlicher mit einer Juckreizreduzierung als chronisch erkrankte Hunde reagiert. Auch die Arachidonsäureproduktion war bei den Hunden in der frühen Phase, im Vergleich zu den chronischen Hunden, signifikant herabgesetzt (ABBA et al., 2005). In einer früheren Studie reagierten ältere Hunde ebenfalls nicht so gut auf orale Fettsäurengabe wie die jüngeren (SCOTT et al., 1997).

Die Fettsäuren stellen nicht nur eine „sichere“ Alternative zu den restlichen symptomatischen Therapieformen da, sondern sie können auch dazu führen, dass die Dosis z.B. von Prednisolon, bei gleichzeitiger Anwendung, reduziert werden kann (SCOTT & MILLER, 1993; BOND & LLOYD, 1994; SAEVIK et al., 2004). In einer Studie konnte die Reduzierung nach 12 Wochen Fettsäurengabe, in diesem Fall Nachtkerzen- und Fischöl, durchgeführt werden (BOND & LLOYD, 1994). Ebenfalls nach 12 Wochen, aber mit einer Kombination aus Fisch- und Boretschöl wurde die Reduzierung bei einer anderen Studie durchgeführt (SAEVIK et al., 2004). Auch bei anderen antiinflammatorischen Medikamenten, wie Antihistaminika wird bei gleichzeitiger Fettsäurengabe ein synergistischer Effekt gesehen (SCOTT & MILLER, 1990, 1993). Der Juckreiz

verbesserte sich bei 34,8% von insgesamt 43 Hunden, indem man das Antihistaminikum Chlorpheniramin mit essentielle Fettsäuren enthaltenden Kapseln (DVM Derm Caps) kombinierte (SCOTT & MILLER, 1990).

Die meisten Studien über essentielle Fettsäuren beschäftigen sich mit der oralen Gabe. Mittels eines kommerziell erhältlichen Lamm/Reis- Futters lies sich der Juckreiz bei acht von 18 Hunden verbessern. Das Verhältnis Omega-3-:Omega-6-Fettsäuren betrug in diesem Fall 5,5:1. Der Juckreiz verschlechterte sich nach Absetzen der Diät innerhalb von 3 bis 14 Tagen und konnte durch eine erneute Gabe der Testdiät wieder verbessert werden (SCOTT et al., 1997). Diese Studie war jedoch nicht placebokontrolliert, oder doppelt verblindet. Das Verhältnis n-3 FS zu n-6 Fettsäuren von 5,5:1 ist geeignet, um Symptome zu verbessern (SCOTT et al., 1997). Jedoch durch eine reine n-3 FS Gabe ist dies auch möglich (MUELLER et al., 2005). In einer früheren Studie von Mueller et al. konnte keine Korrelation zwischen klinischer Verbesserung, totaler Fettsäureaufnahme und dem Verhältnis n-3:n-6 FS festgestellt werden (MUELLER et al., 2004). Es gibt Studien, bei denen der gesamt Fettsäuregehalt mindestens 100 mg/kg/d betrug (BOND & LLOYD, 1992; STURE & LLOYD, 1995). Als Therapiedauer wird von der ACVD eine Dauer von mindestens drei Monaten empfohlen (OLIVRY et al., 2001b). Topisch applizierte Fettsäurenpräparate können den Aufbau des Stratum corneum positiv beeinflussen, indem dadurch lamellare Lipide neu organisiert wurden, was mittels Elektronenmikroskop untersucht wurde (PIEKUTOWSKA et al., 2008). Eine Verbesserung des Juckreizes kann bei topischer Applikation erfolgen (TRETTER & MUELLER, 2011). Spot-on-Präparate wurden in dieser Studie von den Besitzern im Vergleich zu einem Spray bevorzugt, da die Applikation leichter durchführbar war.

Es wird vermutet, dass einige Hunde nicht so gut oder gar nicht auf eine Fettsäuretherapie ansprechen, da sie einen Mangel an delta-6-Desaturase aufweisen (SCOTT et al., 1997). Die Vermutung wurde aufgrund erhöhter LA Plasmakonzentrationen gestellt. LA wird normalerweise durch die delta-6-Desaturase zu GLA konvertiert (ZIBOH & MILLER, 1990). Desweiteren hatten die Hunde in dieser Studie, die nicht auf die Therapie ansprachen, insgesamt geringere Fettsäurenkonzentrationen aller Fettsäuren im Plasma. Bis jetzt konnte diese Theorie jedoch noch nicht bestätigt werden (SAEVIK et al., 2002).

2.6. Hautbarriere

Es ist bekannt, dass Allergene zum einen über den Atmungstrakt, zum anderen direkt über die Haut, also über das Stratum corneum der Epidermis eindringen können (OLIVRY & HILL, 2001; MARSELLA et al., 2006). Die Epidermis besteht aus mehreren Schichten: dem Stratum corneum, Stratum granulosum, Stratum spinosum und dem Stratum basale. Das Stratum corneum besteht aus Korneozyten, deren Interzellularraum durch lamellenförmig angeordnete Lipide ausgefüllt wird. Diese Lipide bestehen hauptsächlich aus Ceramiden und zusätzlich Cholesterol und freien Fettsäuren (ZIBOH & MILLER, 1990; ELIAS & SCHMUTH, 2009). Diese Lipide sind stark hydrophob und hemmen dadurch den Wasserverlust über die Haut (ELIAS, 2005). Diese Lipide gelangen in Form von Vorstufen nach Sekretion durch den epidermalen Lamellarkörper zum Stratum corneum. Diese Vorstufen sind z.B. Glycosylceramid, Phospholipide und Cholesterolsulfat (ELIAS & SCHMUTH, 2009). Bei gesunden Hunden fungiert das Stratum corneum mit seiner Doppellipidschicht als Hautbarriere. Es kann somit vor dem Eindringen von z.B. Allergenen und anderen Stoffen von außen schützen. Bei Hunden mit AD ist der Lipidgehalt des Stratum corneum, vor allem der Gehalt an Ceramidklasse I und IX (REITER et al., 2009), verringert, was zu einer gestörten Hautbarriere führt (HIGHTOWER et al., 2010). Auch die Dicke der intrazellulären Lipide in der genannten Doppellipidschicht ist bei atopischen Hunden kleiner als bei gesunden Hunden, was mittels Elektronenmikroskop sichtbar gemacht werden konnte (INMAN et al., 2001). Aufgrund dieser Störung des Stratum corneums wird vermutet, dass Allergene leichter von außen eindringen können. Zusätzlich ist der Transepidermale Wasserverlust erhöht (SHIMADA et al., 2009; HIGHTOWER et al., 2010). Es scheint einen Zusammenhang zwischen verringertem Ceramidgehalt und transepidermalem Wasserverlust (TEWL) zu geben, da der TEWL bei Hund mit AD und geringem Ceramidgehalt höher ist, als bei gesunden Hunden und normalem Ceramidgehalt (SHIMADA et al., 2009). In einer Pilotstudie wurde die Hautbarriere bei Hunden „künstlich“ geschädigt, indem das Stratum corneum mehrmals mittels Tesastreifen entfernt wurde. Man testete, ob diese Hunde im Vergleich zu Hunden, bei denen die Hautbarriere nicht vorgeschädigt war, leichter gegen Hausstaubmilbe zu sensibilisieren sind. Es konnte hierbei gezeigt werden, dass das Hausstaubmilben-spezifische IgE im Serum bei den Hunden mit vorgeschädigter Hautbarriere schneller und insgesamt höher als bei den

Kontrollhunden anstieg. Auch die allergenspezifischen CD4 T-Lymphozyten waren in dieser Gruppe erhöht (OLIVRY et al., 2011). Somit konnte auch hier gezeigt werden, dass die Hautbarriere eine Rolle in der Allergieentwicklung spielt.

3. CADESI

Der aktuelle CADESI 03 ist ein Beurteilungssystem, mit dem Hautläsionen anhand eines Punktesystems beurteilt werden. Damit soll es möglichst objektiv gelingen leichte von moderaten und schweren Allergikern zu unterscheiden (OLIVRY et al., 2008). Je höher die erreichte Punktezahl, desto schwerer ist die Allergie. Von Olivry et al. wurden für jeden Schweregrad geltende Bereiche definiert: in Remission (0 - 15), milde AD (16 - 59), moderate AD (60 - 119) und schwere AD (≥ 120). Es können bei diesem CADESI 03 an 62 verschiedenen Körperregionen Punkte von 0 (= leicht) bis 5 (= schwer) für vier verschiedene Hautläsionen vergeben werden. Die zu bewertenden Hautläsionen sind Erythem, Alopezie, Lichenifikation und Exkoration (OLIVRY et al., 2008). Der CADESI wurde als geeignetstes Beurteilungssystem für die Hautläsionen bei CAD festgelegt, nachdem er in den Jahren zwischen 2004 - 2006 mit anderen Systemen verglichen wurde (OLIVRY et al., 2007; OLIVRY et al., 2008). Der Schweregrad der Allergie ist damit vor allem in Studien die Aussagen über Interventionen bei der CAD treffen gut zu beurteilen (OLIVRY et al., 2007).

4. Juckreizskala

Da der Juckreiz einer der Hauptsymptome bei CAD ist (SARIDOMICHELAKIS et al., 1999; GRIFFIN & DEBOER, 2001; JAEGER et al., 2010), wird er oft genutzt, um den Schweregrad der Erkrankung, oder den Erfolg einer Therapie zu evaluieren. Die Beurteilung des Juckreizes ist eine meist sehr subjektive Wahrnehmung und für viele Besitzer schwierig zu beschreiben. Deswegen wurden im Laufe der Zeit mehrere Skalen erarbeitet, die ein objektives Beurteilen möglich machen sollen. Es gab numerische Skalen (MARSELLA et al., 2004b), sowie Skalen die nach Verhalten eingeteilt waren (MARSELLA et al., 2002). In einer aktuellen Studie wurden vier verschiedene Skalen verglichen und aus den Ergebnissen eine neue validierte Juckreizskala kreiert (HILL et al., 2007). Sie ist eine Kombination aus einer numerischen Skala und einer den Schweregrad

beschreibenden Skala. Man hat damit die Möglichkeit den Juckreiz von 1 (mild) bis 10 (schwer) einzuteilen. Zusätzlich stehen neben den einzelnen Nummern Beschreibungen für den Juckreiz passend zu der Ziffer. Dies soll es den Besitzern ermöglichen eine objektive Beurteilung abzugeben.

III. MATERIAL UND METHODEN

1. Topische Applikation essentieller Fettsäuren und ätherischer Öle

1.1. Patienten

Insgesamt wurden in die Studie 48 Hunde verschiedener Rassen, verschiedenen Geschlechts und verschiedenen Alters eingeschlossen. Alle teilnehmenden Hunde waren an CAD erkrankt, was basierend auf Anamnese und Untersuchung und nach Ausschluss möglicher Differentialdiagnosen (z.B. Parasitenbefall, Infektionen durch Bakterien oder Malassezien) diagnostiziert wurde. Infektionen wurden mittels Zytologie und Parasiten mittels Geschabsel ausgeschlossen. Die Patienten wurden in zwei Gruppen eingeteilt, mild-mittel (CADESI < 60) oder schwer (CADESI > 60) erkrankte Hunde. Die Hunde bekamen, mittels Randomisierungsliste ausgewählt, entweder das essentielle Fettsäuren und ätherische Öle enthaltende Spot-on-Präparat Essential 6 (Dermoscent[®], LDCA France) oder Placebo (bio-diffusing agents, Dermoscent[®], LDCA France) einmal wöchentlich direkt auf die Haut im Nacken aufgetragen. Die Medikamentenapplikation wurde durch die Besitzer vorgenommen. Drei der 48 Hunde musste frühzeitig die Studie beenden, da aufgrund einer Verschlechterung der Hautsymptome die Therapie geändert werden musste. Bei den Hunden in der Gruppe mit milder CAD mussten systemische Glukokortikoide mindestens sechs Wochen und Antihistaminika, topische Therapie sowie antimikrobielle Therapie mindestens zwei Wochen vor Beginn der Studie abgesetzt werden. Bei den Hunden in der Gruppe mit schwerer CAD und nicht-saisonalen Symptomen waren Zyklosporin, niedrig dosierte Glukokortikoide, Antihistaminika und topische Therapien erlaubt, wenn die Hunde trotzdem noch Symptome zeigten und die Therapie mindestens 12 Wochen vor Beginn der Studie begonnen wurde. Die Dosierung der erlaubten Therapie in dieser Gruppe durfte während der Studie nicht verändert werden und musste über die gesamte Dauer der Studie weiter gegeben werden. Antimikrobielle Therapie war in dieser Gruppe ebenfalls erlaubt, wenn damit mindestens sechs Wochen zuvor begonnen wurde und während der Studie die Therapie nicht abgesetzt und die Dosierung nicht geändert wurde. Futtermittelallergiker mussten seit mindestens drei Monaten auf ihrer Diät sein.

Hunde, die eine Desensibilisierung bekamen, mussten diese seit mindestens 12 Monaten bekommen. Sowohl bei dem Futter als auch bei der Desensibilisierung durften Änderungen nicht vorgenommen werden. Hunde beider Gruppen erhielten einmal monatlich Fipronil enthaltendes Spot-on (Frontline[®] Spot-on, Merial, Halbergmoos) zur Ektoparasitenprophylaxe.

1.2. Präparat

Bei dem verwendeten Präparat handelt es sich um ein Spot-on-Präparat namens Essential 6 (Dermoscent[®]), hergestellt von der Firma Laboratoire de Dermo-Cosmétique Animale (LDCA, France). Das Präparat enthält laut Hersteller essentielle Fettsäuren (6mg/ml α -Linolensäure, 30mg/ml Linolsäure) und ätherische Öle gewonnen aus Rosmarin, Lavendel, Melaleuca, Zeder, Teebaum, Oregano, Samenöl, gewonnen aus Hempe und Neem, hautberuhigende und reinigende Substanzen sowie Vitamin E. Es ist ein rein pflanzliches Präparat. Die angegebene Wirkung ist laut Hersteller eine Verbesserung der Hautbarriere, Minderung von Hautirritation und Juckreiz, Hydratisierung der Haut, talgregulierende Wirkung, Verbesserung des Geruchs und Fellglanzes sowie eine antioxidative Wirkung.

1.3. Klinische Evaluierung

1.3.1. CADESI

Die Veränderungen der Haut wurden anhand eines validierten Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index, kurz CADESI 03 (OLIVRY et al., 2008), beurteilt. Dieser CADESI 03 wurde jeweils vor und nach der Studie durchgeführt. Mit diesem CADESI 03 konnten je nach Schweregrad Punkte von 1 (leicht) bis 5 (schwer) vergeben werden (OLIVRY et al., 2007). Bewertet werden Alopezie, Erythem, Lichenifikation und Exkoration.

1.3.2. Juckreiz

Innerhalb der acht Wochen der Studie sollten die Patientenbesitzer an allen drei Besuchen den Juckreiz ihrer Hunde anhand einer Juckreizskala bewerten. Die Juckreizskala ermöglichte eine Einteilung von 0 (keinen Juckreiz) bis 10 (sehr starker Juckreiz) (HILL et al., 2007). Zusätzlich sind die einzelnen Punkte dieser Juckreizskala mit Beschreibungen des Verhaltens versehen.

1.3.3. Besuche

Es fanden pro Patient drei Besuche statt. Der Erstbesuch (Tag 0), die erste Kontrolle nach vier Wochen (Tag 28) und der letzte Besuch acht Wochen (Tag 56) nach Studienbeginn. Während der Besuche wurde neben dem Juckreiz und den Läsionen auch die Hautbeschaffenheit mittels Hautzytologie beurteilt, um evtl. sekundäre Infektionen oder Entzündungsreaktionen zu erkennen.

1.4. Probennahme

Von 20 Hunden wurden jeweils zu Beginn und am Ende der Studie mittels eines Hautklebers (3M™ Vetbond™ Tissue Adhesive) Hautproben genommen. Hierfür kürzte man den Patienten mit einer Schere ca. 5 cm distal der Lendenwirbelsäule und ca. 10 cm kranial des Hüfthöckers das Fell. Die Größe der haarlosen Stelle betrug ca. 2 x 2 cm. Danach wurde ein Tropfen des Hautklebers auf einen Objektträger gegeben, dieser damit auf die freigeschnittene Stelle für ca. 10 bis 15 Sekunden gedrückt und danach wieder abgezogen. Somit hatte man die oberste Hautschicht auf dem Objektträger. Falls durch die erste Probennahme nicht genug Material auf dem Objektträger haften blieb, wurde diese ein zweites Mal und in seltenen Fällen ein drittes Mal wiederholt. Die Objektträger mit dem Probenmaterial wurden innerhalb von 30 Minuten nach Probengewinnung bei -20° C bis zur Bearbeitung gelagert.



Abb. 4: verwendeter Cyanoacrylathautkleber



Abb. 5: Objektträger nach Probennahme

1.5. Lipidbestimmung

Mit den gewonnenen Hautzellen wurde eine Lipidbestimmung mittels Dünnschichtchromatographie in der Pharmakologie der Tiermedizinischen Universität Hannover durchgeführt. Es wurden damit Ceramidklassen 1, 2, 3, 5, 7, 8, 9, Cholesterol und freie Fettsäuren bestimmt. Als Bezugsgröße diente zum einen die Fläche der Hautzellen auf dem Objektträger, zum anderen das Gewicht vor und nach der Extraktion. Zu Beginn wurden die Flächen auf den Rückseiten der Objektträger mit einem wasserfesten Markierstift nachgezeichnet. Nach Abkratzen der Proben mittels einer Rasierklinge wurden die nachgezeichneten Flächen abfotografiert. Das abgekratzte Material wurde für jeden Patient in zwei separate Glasgefäße mit Teflondeckel gefüllt (Probe vor und Probe nach der Therapie).

1.5.1. Extraktion

Die Extraktion wurde mit einem Gemisch aus 95% Hexan und 5% Ethanol durchgeführt. Von diesem Gemisch wurden jeweils 4 ml in die Glasgefäße gegeben und 20 Minuten in ein Ultraschallbad gestellt. Danach wurden die Gefäße zentrifugiert und der Überstand durch einen Filter in ein vorher gewogenes Reagenzglas aus Glas überführt. Die Filter wurden nochmals mit 1 ml des vorher erwähnten Gemisches durchgespült, um keine Reste im Filter zurück zu lassen. Danach folgte eine Eindampfung bis keine Flüssigkeit mehr übrig war sondern nur noch das Lipidextrakt in den Reagenzgläsern. Die nun

flüssigkeitsleeren Reagenzgläser wurden erneut gewogen, um das Gewicht mit dem Leerzustand zu vergleichen. Die Differenz wurde als zweite Bezugsgröße verwendet und gab den Gesamtlipidgehalt an. Bis zur Weiterverwendung wurden die Reagenzgläser bei -20°C gelagert. Vor der Weiterverarbeitung wurden $25\ \mu\text{l}$ bzw. $100\ \mu\text{l}$ Chloroform:Methanol (2:1) -Gemisch dazugegeben und die Gläser für 10 Sekunden in einen Vortexer gestellt.

1.5.2. Dünnschichtchromatographie

Zur Auftrennung der einzelnen Lipidfraktionen im Lipidextrakt wurde die planare High-performance thin-layer chromatography, kurz HPTLC verwendet. Die HPTLC ist eine Flüssigkeitschromatographie. Die stationäre Phase ist hierbei auf einem ebenen Träger, in diesem Fall auf einer Glasplatte mit Silicagel, fixiert. Die mobile Phase ist flüssig. In diesem Versuch verwendete man drei verschiedene Gemische. Eine Trennung der Testsubstanzen erfolgt durch unterschiedliche Wechselwirkungen (Affinitäten) mit der mobilen und der stationären Phase. Eine Identifikation der entsprechenden Lipide kann aufgrund der Laufstrecken der Substanz relativ zur Laufstrecke der Lösungsmittelfront durchgeführt werden. Die so ermittelte Größe bezeichnet man als Rf-Wert (*Retarding-factor, Relate to front-factor* bzw. Retentionsfaktor). Rf ist somit Laufstrecke der Substanz (b)/ Laufstrecke der Lösungsmittelfront (a) ($R_f = b/a$).

1.5.3. Plattenvorbereitung

Auf den HPTLC-Silicagel-Platten ($10 \times 10\ \text{cm}$) wurden zunächst mit einem Bleistift auf zwei gegenüberliegenden Seiten auf einer Parallele $4\ \text{mm}$ vom Plattenrand und im Abstand von $5\ \text{mm}$ die späteren Auftragungspunkte der Proben markiert. Beim anschließenden "Precleaning" wurde die Platte zur Beseitigung von Schmutzpartikeln mittels Methanol gereinigt. Zur Entfernung des auf der Plattenoberfläche absorbierten Wassers wurde die HPTLC-Platte für 30 Minuten bei 120°C im Trockenschrank "aktiviert". Nachdem die HPTLC-Platte auf Raumtemperatur abgekühlt war, wurden jeweils $1\ \mu\text{l}$ der Lipidextrakte bzw. Kalibrationsstandards auf die Markierungen aufgetragen. Pro Seite der HPTLC-Platte wurden vier Lipidstandardgemische (Konzentrationen: $1,875\ \mu\text{g}/\mu\text{l}$; $1,250\ \mu\text{g}/\mu\text{l}$; $0,625\ \mu\text{g}/\mu\text{l}$; $0,125\ \mu\text{g}/\mu\text{l}$) gemeinsam mit 7 Proben aufgetragen. Die Proben wurden jeweils doppelt aufgetragen. Das Lipidstandardgemisch bestand dabei aus folgenden Einzelkomponenten: Phosphatidylcholin (Phospholipid),

Cholesterolsulfat, Galactocerebroside, Cholesterol, Ölsäure (freie Fettsäure), Triolein (Triglycerid), Cholesterolester, Methylpalmitat, Cer AS, Cer NS, bezogen von Sigma (Deutschland), Cer NP, Cer AP, bezogen von Goldschmidt (Essen, Deutschland) und Cer EOS, bezogen von Evonik (Evonik Industries AG, Essen, Deutschland).

1.5.4. Kammervorbereitung

Die Kammer wurde vor Gebrauch mittels einer Wasserwaage horizontal ausgerichtet. Um eine Kontamination der HPTLC-Platte mit Schmutzpartikeln zu minimieren, wurde die Entwicklungskammer vollständig mit Methanol gereinigt. Zur Erzeugung eines optimalen Milieus in der Entwicklungskammer befand sich auf deren Boden ein saugfähiges Labortuch, welches mit dem entsprechenden Fließmittel vollständig durchtränkt war. Bevor der eigentliche Trennungsvorgang begonnen wurde, wurde die Kammer mit eingesetzter HPTLC-Platte mittels des Kammerdeckels für eine Minute geschlossen, um in der Kammer das gewünschte Milieu zu erzeugen.

1.5.5. Trennvorgang

Reihenfolge	Bestandteile	Anteil (%)	Laufstrecke (cm)
1	Chloroform	80	1,2
	Methanol	18	
	Eisessig	2	
2	Chloroform	91,4	4
	Methanol	4,3	
	Eisessig	4,3	
3	Chloroform	72,7	4,5
	Methanol	18,2	
	Eisessig	9,1	

Tabl. 2 Fließmittelsystem für die HPTLC epidermaler Lipide

Für eine adäquate Auftrennung der Lipide wurden drei verschiedene Fließmittel verwendet (siehe Tabelle 1). Jedes Fließmittel diffundierte entsprechend den

Auftragungspunkten von zwei Seiten über die HPTLC-Platte. Zwischen den einzelnen Trennvorgängen ließ man die HPTLC-Platten für 5 Minuten bei Raumtemperatur trocknen.

1.5.6. Nachbearbeitung und Auswertung

Nach dem Lauf des letzten Fließmittels wurde die HPTLC-Platte für 15 Minuten bei Raumtemperatur getrocknet. Anschließend wurde sie über 30 Sekunden in einem Tauchbad mit Derivatisierungsreagenz behandelt. Dieses bestand aus 10 g Kupfersulfatpentahydrat, 10 g Phosphorsäure (85 %) und 80 g Aqua bidestillata. Durch ein 30-minütiges Erhitzen auf einer 180°C heißen Heizplatte wurden die Lipidbanden durch Veraschung visualisiert (Abb. 6) und detektiert. Für die densitometrische Auswertung wurden die HPTLC-Platten nach dem Abkühlen auf dem Flachbettscanner "Highscan" eingescannt. Die Lipidbanden wurden mit Hilfe der Computer Software Image J[®] sowohl qualitativ als auch quantitativ gegen die mit auf der HPTLC-Platte aufgetragenen Lipidstandards analysiert.

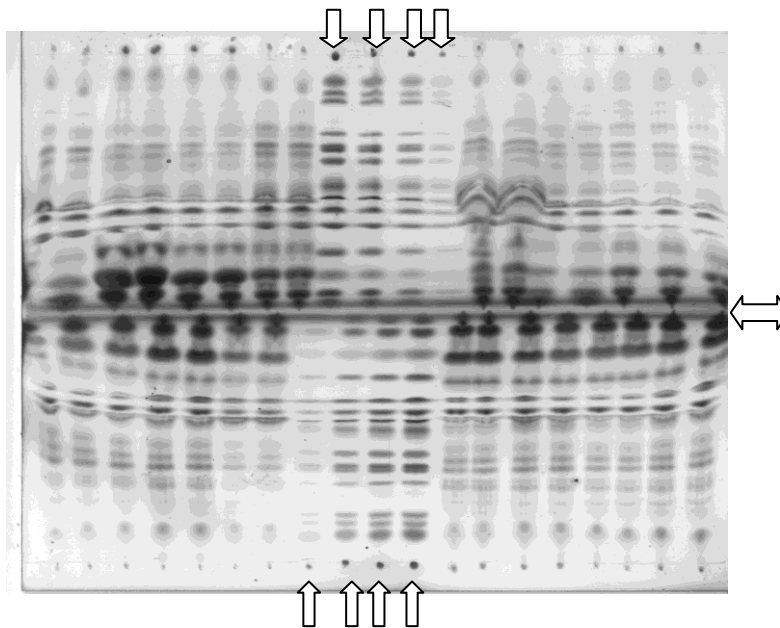


Abb. 6: Silicagelplatte nach Beendigung des Trennvorgangs und Sichtbarmachung der Banden durch Veraschung, die Proben wurden von beiden Seiten aufgetragen (Pfeile oben, unten: Lipidstandarts; Doppelpfeil: Ende des letzten Fließmittels)

1.5.7. Statistik

Zur Auswertung des CADESI und der Juckreizskala vor und nach acht Wochen Behandlung wurde ein Wilcoxon Test innerhalb der Gruppen und ein Kruskal Wallis Test mit nachfolgendem Dunn post Test zwischen den Gruppen verwendet. Die Werte der Lipidbestimmung vor und nach der Studie wurden mit einem

Kruskal Wallis Test und Dunn post Test verglichen. Als signifikant galt ein p-Wert von unter 0,05. Die Analyse wurde mittels spezieller Software (Graphpad Prism 5.0, Graphpad, San Diego, USA) durchgeführt.

IV. ERGEBNISSE

1. Einfluss topisch applizierter Fettsäuren und ätherischer Öle

1.1. Allgemein

Von den 48 eingeschlossenen Hunden beendeten 45 die Studie wie geplant. Drei Hunde mussten die Studie nach vier Wochen abbrechen, da aufgrund von Verschlechterung der Symptome die Therapie geändert werden musste. Zwei von diesen drei Hunden waren in der Wirkstoffgruppe, einer in der Placebogruppe. Zur Auswertung der Statistik wurde ihr schlechtester Wert als Studienendbesuch mit eingerechnet (Intention-to-treat Analyse).

1.2. CADESI

Die Hautläsionen wurden mittels eines CADESI 03 von einer geblindeten Person aus der jeweiligen Klinik am Tag 0, Tag 28 und Tag 56 durchgeführt. Für die Statistik wurden die Werte vor und nach der Studie verglichen. Der CADESI an Tag 28 wurde dazu genutzt den klinischen Status der Patienten zu beurteilen, um dann evtl. aufgrund von Verschlechterung einen Abbruch durchzuführen.

Der CADESI hat sich in der Behandlungsgruppe für alle Studienteilnehmer von durchschnittlich 46 auf 28 Punkte (39%, $p=0,007$) verbessert (*Diagramm 1*). In der Placebogruppe gab es keine signifikante Verbesserung (0,4%, $p=0,4928$).

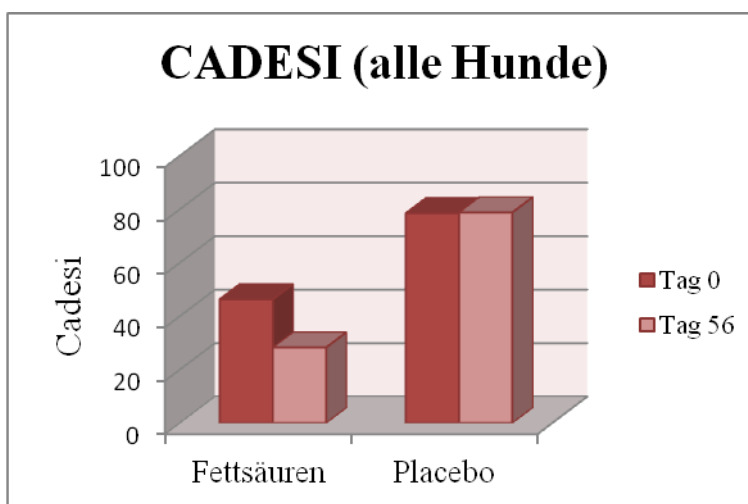


Diagramm 1: CADESI aller Hunde

1.2.1. CADESI leichte Allergiker

Der CADESI wurde danach getrennt nur für die leichten Allergiker ausgewertet. Dafür wurde ein Wilcoxon Test verwendet. In der Wirkstoffgruppe gab es eine statistisch signifikante Verbesserung von durchschnittlich 21 auf 17 Punkte ($p=0,042$) (*Diagramm 2*). In der Placebogruppe zeigte sich eine Verschlechterung von 21 auf 33 Punkte ($p=0,0078$).

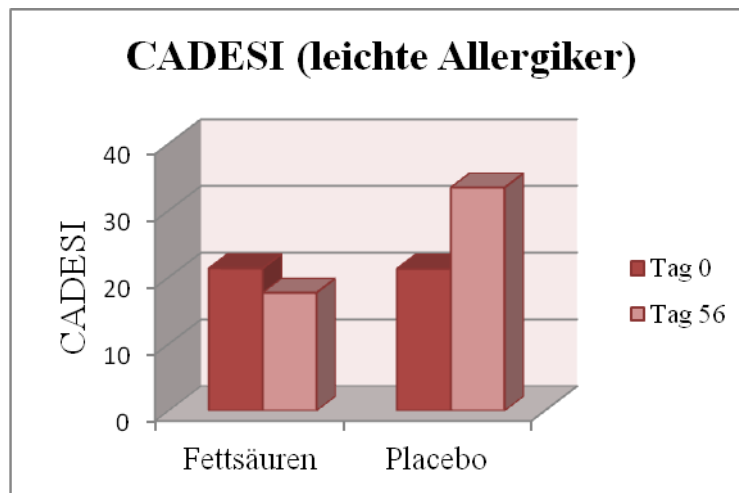


Diagramm 2: CADESI der Gruppe mit leichter CAD

1.2.2. CADESI schwere Allergiker

Die Gruppe der schweren Allergiker wurde ebenfalls getrennt ausgewertet. Auch hier wurde wieder ein Wilcoxon Test verwendet. Es zeigte sich eine statistisch signifikante Verbesserung von durchschnittlich 93 auf 48 Punkte ($p=0,0322$) in der Wirkstoffgruppe (*Diagramm 3*), jedoch nicht in der Placebogruppe ($p=0,7367$).

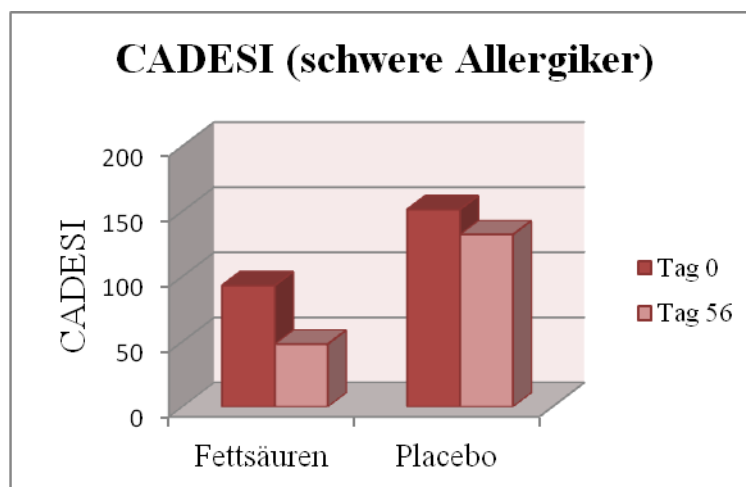


Diagramm 3: CADESI der Gruppe mit schwerer CAD

1.3. Juckreiz

Der Juckreiz wurde durch die Besitzer mit einer validierten Juckreizskala ebenfalls am Tag 0, Tag 28 und Tag 56 beurteilt. Auch hier wurden für die Statistik nur die Werte vor und nach der Studie ausgewertet. Die Werte von Tag 28 dienten wie bei dem CADESI zur Beurteilung des klinischen Status. Falls sich eine therapiebedürftige Verschlechterung einstellte, wurde der Patient aus der Studie ausgeschlossen.

Auch hier konnte man in der Wirkstoffgruppe eine statistisch signifikante Verbesserung sehen. Diese betrug durchschnittlich 25% ($p=0,0092$).

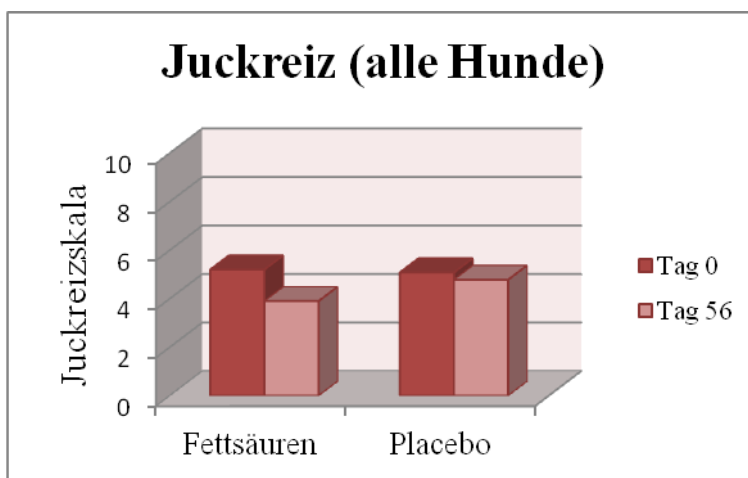


Diagramm 4: Juckreiz aller Hunde

1.3.1. Juckreiz leichte Allergiker

In der Gruppe der leichten Allergiker konnte ebenfalls eine Verbesserung verzeichnet werden, die jedoch nicht statistisch signifikant ausfiel ($p=0,0728$). In der Placebogruppe zeigte sich mit 3,8 vor der Studie und 4 nach der Studie eine geringradige Verschlechterung ($p=0,7344$).

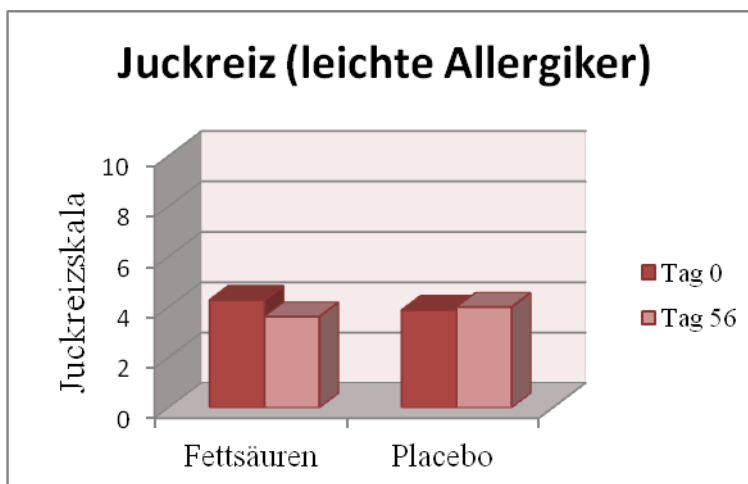
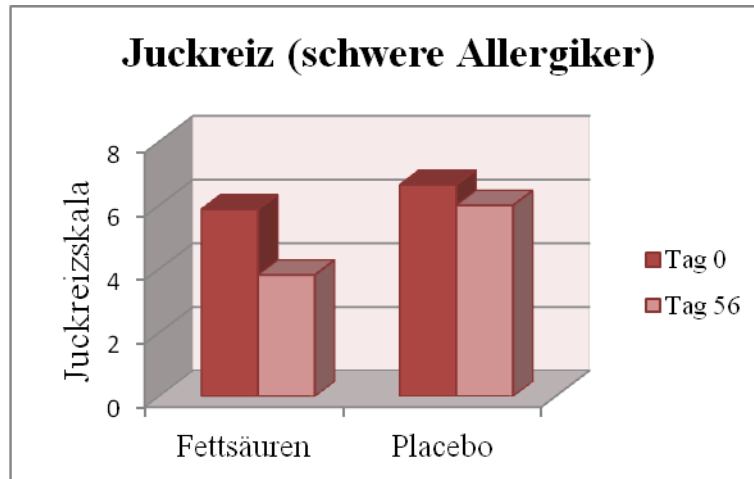


Diagramm 5: Juckreiz der Gruppe mit leichter CAD**1.3.2. Juckreiz schwere Allergiker**

Bei den schweren Allergikern konnte eine statistisch signifikante Verbesserung des Juckreizes in der Therapiegruppe ($p=0,0436$) verzeichnet werden. In der Placebogruppe jedoch nicht ($p=0,344$).

**Diagramm 6: Juckreiz der Gruppe mit schwerer CAD****1.4. Ceramidbestimmung**

Mittels einer Dünnschichtchromatographie wurde der Gehalt an freien Fettsäuren, Cholesterol, Triglyceriden und Ceramidklassen bei 20 Patienten vor und nach der Studie bestimmt. Es wurden zwei Bezugsgrößen zur Auswertung gewählt, zum einen die Fläche der Proben auf den Objektträgern (*Diagramm 7, 8*), zum anderen das Gewicht vor und nach der Extraktion (*Diagramm 9, 10*). Für die statistische Auswertung wurde ein Kruskal Wallis- und ein Dunn Post Test verwendet. Es wurden hier nur alle Hunde zusammen ausgewertet, da unter diesen 20 Patienten 19 mit leichter und nur ein Hund mit schwerer atopischer Dermatitis vorhanden waren. Es konnte bei keiner der statistischen Analysen eine Verbesserung des Ceramidgehalts, des Cholesterolgehalts oder des Gehalts an freien Fettsäuren bei den Hunden in der Wirkstoffgruppe festgestellt werden. Von besonderem Interesse waren der Gehalt an Ceramid I und IX (*Diagramm 7 - 10*), da man von diesen beiden Klassen weiß, dass sie sowohl beim Mensch als auch beim Tier verringert sind (REITER et al., 2009). Auch die restlichen gemessenen Ceramide, die freien Fettsäuren, die Triglyceride und das Cholesterol zeigten keine erwähnenswerten Veränderungen durch die Fettsäuretherapie (*Tabelle 3, 4*). Aufgrund der ausgebliebenen Verbesserung wird hier auf genauere Darstellung

mittels Diagramm verzichtet.

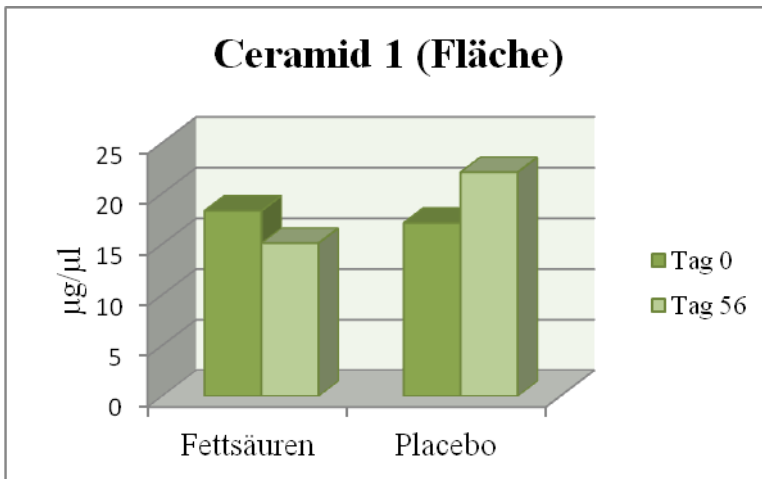


Diagramm 7: Ceramidklasse 1 aller Hunde, Fläche als Bezugsgröße

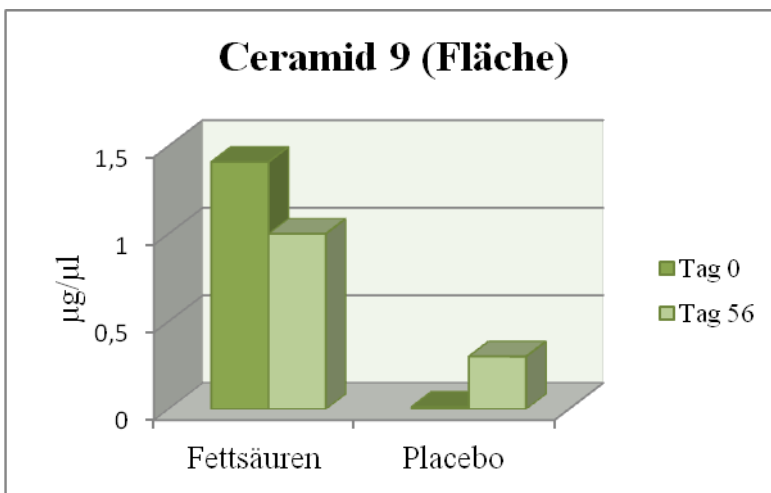


Diagramm 8: Ceramidklasse 9 aller Hunde, Fläche als Bezugsgröße

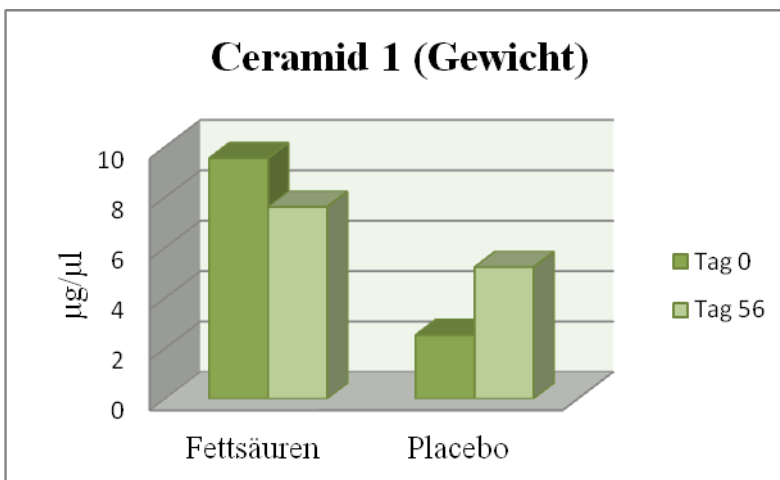


Diagramm 9: Ceramidklasse 1 aller Hunde, Gewicht als Bezugsgröße

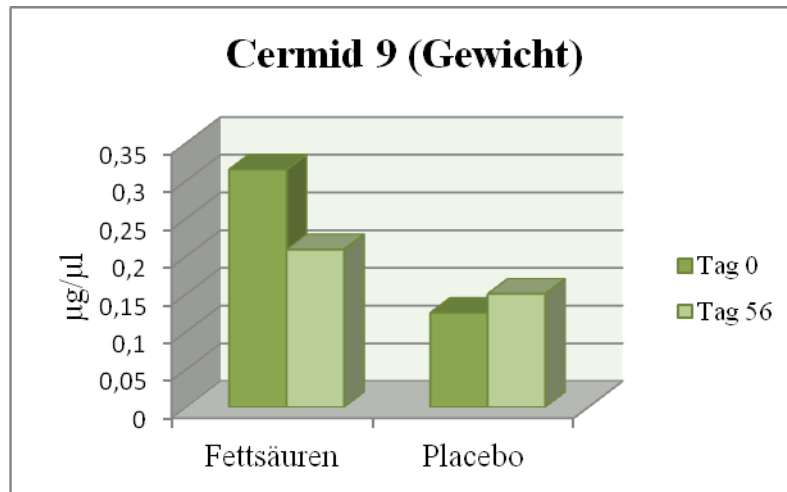


Diagramm 10: Ceramidklasse 9 aller Hunde, Gewicht als Bezugsgröße

Gesamte Ceramidbestimmung:

	Fettsäuren Tag 0	Fettsäuren Tag 56	Placebo Tag 0	Placebo Tag 56
Cer EOS	18,3	15,1	17,1	22,1
Cer EOP	1,14	1	0,0125	0,3
Cer NS	12,41	8,37	8,32	11,52
Cer NP	9,46	7	6,96	8,47
Cer AS	7,92	5,68	4,47	5,28
Cer AP	11	8,48	5,59	6,84
Cer AH	5,03	3,14	6,79	6,86
FFA	21,63	15,93	14,48	17,48
Cholesterol	22,48	19,52	19,51	19,14
TGL	20,12	22,22	22,1	22,33

Tabl. 3: gesamte Ceramidbestimmung, Bezugsgröße Fläche, Cer= Ceramid, FFA= freie Fettsäuren, TGL= Triglyceride

	Fettsäuren Tag 0	Fettsäuren Tag 56	Placebo Tag 0	Placebo Tag 56
Cer EOS	9,6	7,6	2,5	5,2
Cer EOP	0,3	0,2	0,1	0,2
Cer NS	1,6	1	1,1	1,7
Cer NP	1,3	0,9	0,9	1,3
Cer AS	1,2	0,8	0,6	0,8
Cer AP	1,6	1,3	0,8	1
Cer AH	0,7	0,5	0,9	1
FFA	2,9	2,3	2,1	2,7
Cholesterol	2,9	2,1	2,3	2,9
TGL	2,3	2,7	2,6	3,4

Tabl. 4: gesamte Ceramidbestimmung, Bezugsgröße Gewicht, Cer= Ceramid,

FFA= freie Fettsäuren, TGL= Triglyceride

1.5. Zytologie

Mittels der Zytologie wurde an allen drei Besuchen die Hautbeschaffenheit beurteilt und auf eventuelle sekundäre Infektionen und Entzündungsreaktionen der Haut kontrolliert. Diese Zytologie verschlechterte sich bei drei Patienten so stark, dass es nicht vertretbar war, sie weiter an der Studie teilnehmen zu lassen. Bei allen drei Patienten wurde eine sekundäre bakterielle Infektion mit entsprechender neutrophiler Entzündungsreaktion festgestellt, die einer antibiotischen Therapie bedurfte, was zu einer Änderung im Therapieplan führte und somit den Ausschluss aus der Studie mit sich brachte. Zwei der drei Patienten waren in der Wirkstoffgruppe, einer in der Placebogruppe. Alle drei gehörten zu der Gruppe der milden Allergiker.

1.6. Nebenwirkungen

Es traten keinerlei Nebenwirkungen auf. Das Fell wirkte in manchen Fällen um die Applikationsstelle etwas feucht oder fettig. Dies störte aber weder Besitzer noch Patienten.

V. DISKUSSION

Da canine atopische Dermatitis eine Erkrankung ist, die eine Dauertherapie verlangt, ist es von großem Interesse, die Wirksamkeit der als sichere Alternative geltenden Medikamente zu evaluieren. Durch diese Studie konnte gezeigt werden, dass sich mittels topischer Applikation von essentiellen Fettsäuren/ätherischen Ölen der Juckreiz und die Hautläsionen signifikant verbesserten, sowohl bei leicht-moderat erkrankten als auch bei schwer erkrankten atopischen Hunden.

Der Juckreiz wurde durch die Besitzer beurteilt. Das wirft die Frage auf, ob dies auch objektiv genug geschehen ist. Juckreiz ist ein Symptom, welches sehr individuell und subjektiv wahrgenommen wird. Die Skala, die verwendet wurde, ist eine validierte Juckreizskala, die mehrere Eigenschaften von zuvor in Studien verwendeten Skalen vereint und somit eine möglichst objektive Beurteilung ermöglichen soll (HILL et al., 2007). Andere Beurteilungsskalen, die eine Einteilung ausschließlich mittels Verhaltenskriterien (MARSELLA et al., 2002) oder numerischen Skalen (MARSELLA et al., 2004b) ermöglichten, haben sich im Vergleich mit der verwendeten validierten Juckreizskala nicht bewährt (HILL et al., 2007).

In aktuellen Studien konnte gezeigt werden, dass sowohl die Lebensqualität der Besitzer, als auch der Hunde durch die CAD beeinflusst wird (LINEK & FAVROT, 2010). Der sogenannte „Quality of Life“ (QoL) Score soll die evtl. Besserung bzw. Verschlechterung der Lebensqualität beurteilen (FAVROT et al., 2010b). Dabei werden den Besitzern allgemeine Fragen gestellt, die das Verhältnis Besitzer-Hund genauer darlegen sollen. Es kann allerdings sein, dass die Besitzer die Fragen nicht ganz ehrlich beantworten, da es sich um private Fragen handelt. Wenn das Tier nicht nur einen Besitzer hat, könnten zusätzlich leicht verschiedene Angaben gemacht werden. Der Quality of Life Score wurde in dieser Studie nicht verwendet.

Da die Juckreizskala nicht zu 100% objektiv ist, wurde als weitere Beurteilung der Symptome der validierte CADESI 03 (OLIVRY et al., 2007) gewählt. Damit war es möglich, die Hautläsionen an 62 verschiedenen Körperstellen zu bewerten. Wichtig war hierbei der Doppelblindcharakter dieser Studie um evtl. Verfälschungen zu vermeiden. Der Läsionscore ergibt eine möglichst objektive

Einschätzung der Läsionen und sollte bei allen Studien zusätzlich zu der relativ subjektiven Juckreizskala zur Anwendung kommen. Bei dem CADESI 03 werden die Hautläsionen Erythem, Lichenifikation, Exkoration und Alopezie beurteilt. Andere Hautveränderungen, wie zum Beispiel schuppige Haut oder Verbesserung des Fells flossen nicht in die Bewertung mit ein. In der Produktbeschreibung des verwendeten Präparats wird dies jedoch als Wirkung angegeben. Hier könnte sich ein Quality of Life (FAVROT et al., 2010b) bewähren, da damit evtl. die durch die zusätzliche Haut- und Fellverbesserung eintretende größere Zufriedenheit der Besitzer mit in die Bewertung einfließt.

Die Symptome der CAD, wie zum Beispiel Juckreiz und Hautläsionen verbesserten sich in beiden Gruppen statistisch signifikant. In anderen Studien stellte man durch ausschließliche Gabe von systemischen essentiellen Fettsäuren oder lokale Gabe von essentiellen Fettsäuren und ätherischen Ölen enthaltenen Produkten positive Resultate fest (MUELLER et al., 2004; MUELLER et al., 2005; TRETTER & MUELLER, 2011). Obwohl die Verbesserung statistisch signifikant ist, heißt das nicht, dass alle Tiere gut auf die Therapie ansprachen. Es gab auch hier Patienten, die keine Verbesserung oder sogar eine Verschlechterung zeigten. In früheren Studien war der Erfolg bei mittels Spezialfuttern applizierter Fettsäurengabe wechselhaft bis gar nicht vorhanden (SCOTT et al., 1997; ABBA et al., 2005). Chronisch erkrankte Tiere reagierten weniger deutlich bis gar nicht auf die Therapie. In dieser Studie mit topisch applizierten Fettsäuren/ätherischen Ölen waren die Erfolge besser. Möglicherweise beeinflusst die Applikationsart die Wirkung der Fettsäuren. Eine weitere mögliche Erklärung wären die zusätzlichen Inhaltsstoffe des Präparats.

Warum sich die Symptome verbesserten, kann verschiedene Ursachen haben. Supplementierung mit essentiellen Fettsäuren beeinflusst zum einen die Produktion von Entzündungsmediatoren (ZIBOH & MILLER, 1990; WRIGHT, 1991). Weiterhin wirken sie immunmodulatorisch (STEHLE et al., 2010) und sie sollen die bei atopischen Hunden gestörte Hautbarriere stärken (INMAN et al., 2001; PIEKUTOWSKA et al., 2008; REITER et al., 2009; HIGHTOWER et al., 2010; TRETTER & MUELLER, 2011). Ein Indikator für die Verbesserung der Hautbarriere bei Verwendung von essentiellen Fettsäuren ist der TEWL, der durch erhöhte Werte ein Anzeichen für die gestörte Hautbarriere sein kann (SHIMADA et al., 2009; HIGHTOWER et al., 2010). Eine Verbesserung des

TEWLs konnte in der Pilotstudie durch Fettsäurengabe erreicht werden (TRETTER & MUELLER, 2011). Dadurch wurde ein Einfluss auf die Barrierefunktion der Haut als Wirkmechanismus vermutet.

In einer Studie von Reiter et al. war vor allem der Gehalt der Ceramidklassen I und IX verringert (REITER et al., 2009). Da Ceramide, zusammen mit freien Fettsäuren und Cholesterol ein Hauptbestandteil der Hautbarriere sind (FEINGOLD, 2007), wurden vor und nach dieser Studie die Ceramidanteile der Epidermis bestimmt. Man wählte hierfür eine Dünnschichtchromatographie, die schon bei Reiter et al. verwendet wurde. Es konnte jedoch keine Änderung der Ceramide und freien Fettsäuren festgestellt werden. Für die Probennahme wurde das Fell an den verwendeten Stellen sorgfältig nur mit einer Schere entfernt, um die obere Schicht des Stratum corneum nicht zu beschädigen. Die Entnahme mittels Hautkleber war in einer Studie dazu geeignet, die Zellen des Stratum corneum abzutragen (REITER et al., 2009). Die klinische Verbesserung von Juckreiz und Läsionen ist also vermutlich nicht auf Änderungen der Ceramide in der Epidermis zurückzuführen.

Eine Verbesserung der Symptome stellte sich zuvor bei einigen oral applizierten Fettsäuren (MUELLER et al., 2004; MUELLER et al., 2005), einer Studie über topisch applizierte Fettsäuren (PIEKUTOWSKA et al., 2008) und einer Pilotstudie über topisch applizierte Fettsäuren und ätherische Öle (TRETTER & MUELLER, 2011) ein. Bei der oralen Fettsäurengabe trat in seltenen Fällen die Nebenwirkung Durchfall auf (SCOTT et al., 1992). Bei dem topisch applizierten Präparat der hier behandelten Studie konnten keine Nebenwirkungen festgestellt werden. Dies kann daran liegen, dass als Applikationsstelle die Nackenhaut des dorsalen Halses gewählt wurde und dadurch ein Ablecken verhindert werden konnte. Auch in der zuvor veröffentlichten Pilotstudie mit dem gleichen Präparat gab es keine Nebenwirkungen bei topischer Applikation (TRETTER & MUELLER, 2011). In der gleichen Pilotstudie gab es eine gute Akzeptanz der Spot-on- im Vergleich zu Sprayapplikation bei Besitzern und Patienten. Die Akzeptanz war in der hier vorgestellten Studie ebenfalls gut. Das essentielle Fettsäuren eine „sichere“ Alternative (OLIVRY et al., 2001b; MUELLER et al., 2004) sind, bestätigte sich somit, zusätzlich kann davon ausgegangen werden, dass auch die im Produkt enthaltenen ätherischen Öle gut vertragen werden.

Bei der Gruppe mit den milden Allergikern stellte sich auch ohne Verwendung

weiterer Therapie eine Verbesserung ein. In dieser Gruppe kann es sogar durch ausschließliche Therapie mit topischen Fettsäuren und ätherischen Ölen zu einer kompletten Remission kommen. In der Gruppe der schweren Allergiker war in der Regel eine zusätzliche Medikation vonnöten. Somit sind essentielle Fettsäuren bei diesen Patienten als zusätzliche, jedoch nicht alleinige Therapie zu empfehlen. Ob eine Reduktion der zusätzlich verwendeten Therapie, wie z.B. Antihistaminika oder Glukokortikoide, durch die Kombination von topischen Fettsäuren und ätherischen Ölen möglich ist, wurde in dieser Studie nicht untersucht. Da dieser Effekt in anderen Studien beobachtet wurde (SCOTT & MILLER, 1990, 1993; BOND & LLOYD, 1994; SAEVIK et al., 2004), wäre es interessant dies in neuen Studien zu untersuchen. Diese Ergebnisse decken sich mit den Ergebnissen neuerer Studien über die Effektivität von essentiellen Fettsäuren (MUELLER et al., 2004; MUELLER et al., 2005), sie können somit als Therapie empfohlen werden.

Das verwendete Präparat enthält nicht nur essentielle Fettsäuren, sondern auch ätherische Öle. In der Humanmedizin ist bekannt, dass einige der ätherischen Öle einen antibakteriellen, antimikrobiellen, antiseptischen oder antiparasitären Wirkung haben können (BASWA et al., 2001; SIENKIEWICZ et al., 2011; THOMSEN et al., 2011; CHAUDHARI et al., 2012; CUARON et al., 2012; KUMAR et al., 2012; SOLORZANO-SANTOS & MIRANDA-NOVALES, 2012). In der Tiermedizin gibt es nur sehr wenige Publikationen, die sich mit diesen Effekten beschäftigen (MIGNON & LOSSON, 1996; CALLANDER & JAMES, 2012). Ob auch in dieser Studie einer der erwähnten Effekte zu einer Besserung der Symptome führte, wurde nicht untersucht.

Von der ACVD wird eine Applikation von mindestens drei Monaten empfohlen (OLIVRY et al., 2001b). Man hat sich hier jedoch für eine Applikation über nur acht Wochen entschieden, da in der Pilotstudie mit dem gleichen Präparat eine Verbesserung nach acht Wochen auftrat (TRETTER & MUELLER, 2011). In anderen Studien konnte sogar eine Verbesserung nach ein bis vier Wochen beobachtet werden (SCOTT & MILLER, 1990; SCOTT et al., 1992; SCOTT et al., 1997). Wie sich in dieser Studie zeigte, reichte der gewählte Zeitraum von acht Wochen aus, um positive Ergebnisse zu erzielen.

Man hat sich in dieser Studie dazu entschieden, die Applikation durch den Besitzer durchführen zu lassen. Das wirft die Frage auf, ob die Applikation richtig

durchgeführt wurde. Um das Präparat richtig aufzutragen, muss das Fell im Nacken gründlich gescheitelt werden, damit der Inhalt direkt auf die Haut gelangt und nicht das meiste im Fell verteilt wird. Es ist möglich, dass die Applikation durch einen Tierarzt gründlicher wäre. Allerdings wird mit der Applikation durch Besitzer eine reale Praxissituation widergespiegelt. Die Applikation muss einmal pro Woche durchgeführt werden und es ist für viele Besitzer nicht möglich, wöchentlich zu einem Tierarzt zu gehen. In der zuvor veröffentlichten Pilotstudie gab es eine gute Akzeptanz betreffend der Spot-on-Applikation durch den Besitzer (TRETTER & MUELLER, 2011). Die Sprayformulierung wurde in der genannten Studie weniger gut akzeptiert.

Für die Bestimmung der Ceramide, des Cholesterols und der freien Fettsäuren wurde eine Dünnschichtchromatographie gewählt. Mittels dieser wurden bereits sowohl in der Tiermedizin (REITER et al., 2009; POPA et al., 2010; YOON et al., 2011), als auch in der Humanmedizin (IMOKAWA et al., 1991; DI NARDO et al., 1998) gute Ergebnisse erzielt. In einigen der erwähnten Studien wurde die Probennahme ebenfalls mittels eines Hautklebers durchgeführt (IMOKAWA et al., 1991; DI NARDO et al., 1998; REITER et al., 2009). Das verwendete Protokoll entspricht mit leichter Modifikation dem der letzteren drei erwähnten Studien. Bei diesen konnte ein verringerter Gehalt an Ceramiden bei Hunden mit atopischer Dermatitis nachgewiesen werden. Auch in dieser Studie konnten mit dem Hautkleber genügend Zellen gewonnen werden, um sie mittels der Dünnschichtchromatographie auszuwerten. Es ließ sich jedoch kein erhöhter Gehalt an Ceramiden oder freien Fettsäuren nach der Präparatapplikation nachweisen. Ob der Ceramidgehalt bei den teilnehmenden Patienten zu Beginn im Vergleich zu gesunden Hunden verringert war, wurde nicht untersucht, da vorherige Studien als Grundlage dienten, welche einen verminderten Ceramidgehalt im Stratum corneum bei Hunden mit AD dokumentierten. Eine weitere effiziente Methode um die gestörte Hautbarriere darzustellen, wäre mittels Elektronenmikroskopie (INMAN et al., 2001; PIEKUTOWSKA et al., 2008), was aber eine Biopsie und somit ein invasiveres Vorgehen voraussetzt. Man kann Hautzellen auch mittels Tesafilm gewinnen, was sich vor allem für den Nachweis von proteingebundenen Ceramiden eignen soll (POPA et al., 2010; POPA et al., 2011). Obwohl sich dies in den zwei aufgeführten Studien als effizient erwies, konnten in Vorversuchen zur Probennahme dieser Studie hier keine

zufriedenstellenden Ergebnisse erzielt werden.

Die Hunde, die an der Ceramidbestimmung teilnahmen, waren bis auf einen alle in der Gruppe der leicht bis mittel erkrankten Hunde. Es kann daher keine Aussage über die Hautbarrierenverbesserung bei schweren Allergikern getroffen werden. Es stellt sich somit die Frage, ob nicht ein Grund für die ausbleibende Verbesserung bei den leichten Allergikern darin liegt, dass der Gehalt an Ceramiden in dieser Gruppe nicht wesentlich reduziert ist und wie die Ergebnisse bei der Gruppe mit schweren Allergikern ausfallen würden.

Als Bezugsgrößen, die für die Ceramidbestimmung getroffen wurde, wurden in dieser Studie zwei ausgewählt. Zum einen entschied man sich für das Gewicht vor und nach der Extraktion, zum anderen für die Probenflächen auf den Objektträgern. Bei der Bezugsgröße Gewicht sind schon minimalste Abweichungen im μg Bereich entscheidend. Dies bedeutet, dass die Waage genauestens geeicht sein muss und schon kleinste Verunreinigungen zu einer Änderung des Gewichts führen können. Auch Luftfeuchtigkeit und Luftzug können einen Einfluss haben. Wie sich in diesem Versuch zeigte, empfiehlt es sich, die Messungen mehrmals hintereinander für jedes Probengefäß durchzuführen. Da diese Messmethode durch viele Faktoren beeinflusst werden kann, entschied man sich dazu ,die zweite erwähnte Bezugsgröße, nämlich die Fläche der Proben auf den Objektträgern zusätzlich zu verwenden. Man muss hierbei darauf achten, dass nur die Flächen mit Hautzellen markiert werden. Es gibt in der Literatur ein paar Studien über die Ceramidbestimmung bei atopischen Hunden, die ebenfalls mittels Hautkleber durchgeführt wurden (IMOKAWA et al., 1991; DI NARDO et al., 1998; REITER et al., 2009), jedoch leider ohne Angaben über Bezugsgrößen bei der Analyse. Nach Erfahrung des Labors, in dem die Bestimmung dieser Studie hier durchgeführt wurde, ist die Bezugsgröße Fläche am geeignetsten.

Bei der Ceramidbestimmung fällt auf, dass sich nur die Tiere verbessert haben, die das Placebo Spot-on-Präparat erhielten. Somit ist die Frage, ob das evtl. an der Zusammensetzung des Placebos liegt. Das Placebo Spot-on-Präparat wurde von der gleichen Herstellerfirma (Dermoscent[®], LDCA, France), die auch das Essential 6 produziert, hergestellt. Laut Aussage der Hersteller enthält das Placebo ausschließlich bio diffusing agents, die auch in dem Wirkstoffpräparat enthalten sind. Dies wurde nicht extra überprüft, da man davon ausging, dass die Hersteller

nicht daran interessiert waren, die Wirkung des Placebos absichtlich zu verbessern.

Der Gehalt an Ceramiden in der Haut kann auch fütterungsbedingt sein. Ceramid 1 besteht zum Beispiel aus Linoleat. Falls ein fütterungsbedingtes Defizit auftritt, wird dieses Linoleat durch Oleat ersetzt und kann somit zu einer Störung der Hautbarrierenzusammensetzung führen (ELIAS et al., 1980; WERTZ et al., 1983). Daher ist es vorstellbar, dass die einzelnen Ceramide, abhängig von der Fütterung, in ihrem Gehalt variieren. Die Fütterung wurde in dieser Studie nicht standardisiert. Es ist vorstellbar, dass ein Futterwechsel mit assoziierter unterschiedlicher Fettsäurengabe die Ergebnisse beeinflusst haben könnte. Falls der Gehalt an Fettsäuren im Futter ansteigt, kann dies also möglicherweise einen positiven Einfluss auf die Hautbarriere haben. In früheren Studien konnte gezeigt werden, dass der Fettsäuregehalt in kommerziell erhältlichen Futtersorten einen positiven Einfluss auf die klinischen Symptome der CAD haben kann, dies aber durchaus produktabhängig ist (SCOTT et al., 1997; GLOS et al., 2008). Allerdings sollte hier eine der Praxis ähnliche Situation Anwendung finden.

In dieser Studie wurden nur die freien Ceramide mittels Dünnschichtchromatographie bestimmt. In einer Studie von Popa et al. fand man zusätzlich zu den freien auch proteingebundene Ceramide im Stratum corneum von Hunden mit CAD (POPA et al., 2010). In der gleichen Studie wird angeraten für die Probennahme einen Tesafilm anstatt des Hautklebers zu verwenden. Auch in der Humanmedizin scheinen die proteingebundenen Ceramide eine Rolle bei der AD zu spielen. Über die Wirkung des hier verwendeten Präparats auf proteingebundene Ceramide kann keine Aussage getroffen werden. Dies könnte in weiteren Studien analysiert werden.

Es ist möglich, dass die Lipidzusammensetzung des Stratum corneum von Zeit zu Zeit variiert, was evtl. eine Erklärung für die Verbesserung bzw. Verschlechterung der Hautbarrierenzusammensetzung in Placebo- bzw. Therapiegruppe sein kann. In der Humanmedizin wird vermutet, dass das Th-2 Cytokin IL-4 die Erholung des Stratum corneums nach akuter Schädigung hemmt oder erschwert. Somit könnte auch die Ceramidsynthese gehemmt werden (HATANO et al., 2005; KURAHASHI et al., 2008; ELIAS & SCHMUTH, 2009). Dies ist z.B. bei erhöhter Allergenexposition denkbar. Eine Studie in der Tiermedizin zeigte, dass die mRNA Genexpression von IL-4 erhöht, jedoch nicht signifikant erhöht ist

(HAYASHIYA et al., 2002). In der Humanmedizin ist desweiteren bekannt, dass eine sekundäre Kolonisierung mit *Staphylokokkus aureus* die Hautbarriere beeinflussen kann (ELIAS & SCHMUTH, 2009).

Zusammenfassend ist zu sagen, dass durch die topische Applikation des verwendeten essentielle Fettsäuren und ätherische Öle enthaltenden Präparat die Symptome der canine atopischen Dermatitis (Juckreiz und Läsionen) verbessert werden können. Bei sehr milden Fällen der CAD kann topische Applikation als alleinige Therapie ausreichen, in den meisten Fällen wird es jedoch als zusätzliche Therapie empfohlen. Ein positiver Einfluss auf die Ceramide, das Cholesterol oder die freien Fettsäuren des Stratum corneum konnte nicht festgestellt werden.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

Die canine atopische Dermatitis ist eine juckende, entzündliche mit genetischer Prädisposition einhergehende Hautkrankheit, die häufig in der Praxis gesehen wird. Eine Ursache ist die gestörte Hautbarriere, wodurch die Allergene leichter über die Haut eindringen können. Diese Störung der Hautbarriere kann durch essentielle Fettsäuren verbessert werden. Auch die Symptome wie Juckreiz und Hautläsionen können durch orale essentielle Fettsäuren gemildert werden. Über topisch applizierte Präparate gibt es jedoch nur wenige Studien.

Ziel der Studie war es, den Effekt von einem topisch zu applizierenden, essentielle Fettsäuren und ätherische Öle enthaltenden Präparat (Essential 6, Dermoscent[®], LDCA, France) auf die Symptome und die Hautbarriere bei Hunden mit caniner atopischer Dermatitis zu evaluieren. Dieses Medikament hat nur selten irgendwelche Nebenwirkungen, was aufgrund von meist lebenslang benötigter Therapie angestrebt wird. In der Literatur ist noch wenig über topische Präparate zu finden.

Es handelt sich hier um eine randomisierte, doppelt-verblindete, placebokontrollierte und multizentrische Studie. Es wurden insgesamt 48 Hunde verschieden Geschlechts und verschiedener Rassen eingeschlossen. Bei allen eingeschlossenen Hunden wurde eine canine atopische Dermatitis diagnostiziert, mögliche Differentialdiagnosen wurden vor Studienbeginn ausgeschlossen. Die Patienten wurden in zwei Gruppen eingeteilt, leicht bis mittel erkrankte Allergiker (CADESI < 60) und schwer erkrankte Allergiker (CADESI >60). Sie erhielten einmal pro Woche über acht Wochen entweder ein essentielle Fettsäuren und ätherische Öle enthaltendes Spot-on-Präparat (Essential 6, Dermoscent[®], LDCA, France) oder ein Placebo-Spot-on direkt auf die Haut im Nacken aufgetragen. Vor und nach der Studie wurde ein CADESI 03 für die Hautläsionen und eine validierte Juckreizskala statistisch ausgewertet. Um einen Effekt auf die Hautbarriere beurteilen zu können, wurden bei 20 Studienteilnehmern mittels eines Hautklebers (3M[™] Vetbond[™] Tissue Adhesive) vor und nach der Studie Hautzellen entnommen, um mit diesen mittels Dünnschichtchromatographie den Gehalt an Ceramiden, Cholesterol und freien Fettsäuren zu messen.

Die Läsions- und Juckreizscores der Behandlungsgruppe besserten sich

signifikant ($p = 0,007$ und $p = 0,0092$), im Gegensatz zur Placebogruppe ($p = 0,4928$ und $p = 0,6807$). Bei den einzelnen Gruppen besserte sich der CADESI 03 in der Therapiegruppe sowohl bei den leichten als auch bei den schweren Allergikern statistisch signifikant ($p = 0,042$ und $p = 0,032$). In der Placebogruppe war bei schweren Allergikern kein Unterschied festzustellen ($p = 0,7367$), bei leichten Allergikern verschlechtern sich die Hunde signifikant ($p = 0,0078$). Auch eine Verbesserung des Juckreizes konnte in den einzelnen Therapiegruppen verzeichnet werden. Bei schweren Allergikern war die Besserung im Gegensatz zur Placebogruppe signifikant ($p = 0,0436$ und $p = 0,344$). In der Gruppe der leichten Allergiker war die Besserung bei Behandlung nicht signifikant ($p = 0,0728$), auch mit Placebo behandelte Tiere verbesserten sich nicht ($p = 0,7344$). Bei der Messung der Ceramide, des Cholesterols und der freien Fettsäuren konnte bei keinem der genannten Hautbestandteile eine Verbesserung des Gehalts nach der Studie festgestellt werden.

Das Fazit dieser Studie ist, dass das topisch applizierte Fettsäuren und ätherische Öle enthaltende Präparat dazu geeignet ist, die Symptome Juckreiz und Hautläsionen bei Hunden mit caniner atopischer Dermatitis zu verbessern. Diese Verbesserungen scheinen nicht mit einem Einfluss auf die Ceramide des Stratum corneums in Zusammenhang zu stehen.

VII. SUMMARY

Canine atopic dermatitis is a genetically predisposed inflammatory and pruritic allergic skin disease frequently seen in practice. This may be due to a disrupted skin barrier facilitating allergen entry. Essential fatty acids are able to improve this dysfunction and the clinical signs, pruritus and skin lesions. Improvement of clinical signs was documented in some studies with oral administration but rarely evaluated for topical application.

The aim of this study was to evaluate the effect of a topical preparation containing essential fatty acids and aromatic oils (Essential 6, Dermoscent[®], LDCA, France) on the clinical signs and the skin barrier of dogs with atopic dermatitis. This therapy rarely has adverse effects, which is important for therapies often needed lifelong. Information about topical therapy in literature is scarce.

The study was randomized, double-blinded, and placebo-controlled. Forty-eight dogs of different gender and breeds were included. All dogs were diagnosed with atopic dermatitis and all possible differential diagnoses were ruled out. The patients were divided into two subgroups, the mildly - moderately (CADESI < 60) and the severe (CADESI > 60) allergic dogs. The dogs were treated with a spot on preparation containing essential fatty acids and aromatic oils (Essential 6, Dermoscent[®], LDCA, France) or a placebo once weekly for eight weeks applied directly on the skin in the neck.

Before and after the study a CADESI 03 for skin lesions and a validated pruritus score were recorded. Skin specimens of 20 dogs were taken with a cyanoacrylate resin (3M[™] Vetbond[™] Tissue Adhesive) to evaluate the effect on skin barrier function. Concentration of ceramides, cholesterol and free fatty acids were measured in skin samples using a high-performance-thin-layer chromatography.

Lesion- and pruritus scores in the treatment group improved significantly ($p = 0.007$ and $p = 0.0092$), in contrast to the placebo group ($p = 0.4928$ and $p = 0.6807$). In the individual groups CADESI 03 improved significantly with mild and severe atopic dermatitis in the treatment group ($p = 0.042$ and $p = 0.032$). In the placebo group there was no difference with severe allergies ($p = 0.7367$), but a significant deterioration with mild allergies ($p = 0.0078$). An improvement in pruritus could also be seen in individual groups. In severely allergic dogs the

improvement was significant in the treatment in contrast to the placebo group ($p = 0.0436$ and $p = 0.344$). With mildly allergic dogs, the improvement in the treatment group was not significant ($p = 0.0728$), similarly the animals in the placebo group did not improve ($p = 0.7344$). The concentration of ceramides, cholesterol and free fatty acids did not improve during study.

In conclusion, based on this study this topical preparation containing aromatic oils and essential fatty acids is beneficial in alleviating the clinical signs of both mildly and severely affected cases of canine atopic dermatitis. It does not seem to have an influence on the ceramides of the stratum corneum.

VIII. LITERATURVERZEICHNIS

Abba C, Mussa PP, Vercelli A, Raviri G. Essential fatty acids supplementation in different-stage atopic dogs fed on a controlled diet. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 2005; 89: 203-7.

Adcock IM, Ito K. Molecular mechanisms of corticosteroid actions. *Monaldi Arch Chest Dis* 2000; 55: 256-66.

Barnes PJ. Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms. *Clin Sci (Lond)* 1998; 94: 557-72.

Baswa M, Rath CC, Dash SK, Mishra RK. Antibacterial activity of Karanj (*Pongamia pinnata*) and Neem (*Azadirachta indica*) seed oil: a preliminary report. *Microbios* 2001; 105: 183-9.

Behrend EN, Kemppainen RJ. Glucocorticoid therapy. Pharmacology, indications, and complications. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1997; 27: 187-213.

Bell RL, Bouska J, Young PR, Lanni C, Machinist J, Malo PE, Summers JB, Brooks DW, Carter GW. The properties of A-69412: a small hydrophilic 5-lipoxygenase inhibitor. *Agents Actions* 1993; 38: 178-87.

Bethlehem S, Bexley J, Mueller RS. Patch testing and allergen-specific serum IgE and IgG antibodies in the diagnosis of canine adverse food reactions. *Vet Immunol Immunopathol* 2012;

Bevier DE. Long-term management of atopic disease in the dog. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1990; 20: 1487-507.

Bizikova P, Papich MG, Olivry T. Hydroxyzine and cetirizine pharmacokinetics and pharmacodynamics after oral and intravenous administration of hydroxyzine to healthy dogs. *Vet Dermatol* 2008; 19: 348-57.

Bizikova P, Linder KE, Paps J, Olivry T. Effect of a novel topical diester glucocorticoid spray on immediate- and late-phase cutaneous allergic reactions in Maltese-beagle atopic dogs: a placebo-controlled study. *Vet Dermatol* 2010; 21: 70-9.

Bond R, Lloyd DH. A double-blind comparison of olive oil and a combination of evening primrose oil and fish oil in the management of canine atopy. *Vet Rec* 1992; 131: 558-60.

Bond R, Lloyd DH. Combined treatment with concentrated essential fatty acids and prednisolone in the management of canine atopy. *Vet Rec* 1994; 134: 30-2.

Bond R, Thorogood SC, Lloyd DH. Evaluation of two enzyme-linked immunosorbent assays for the diagnosis of canine atopy. *Vet Rec* 1994; 135: 130-3.

Calder PC. n-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. *Am J Clin Nutr* 2006; 83: 1505S-19S.

Callander JT, James PJ. Insecticidal and repellent effects of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) oil against *Lucilia cuprina*. *Vet Parasitol* 2012; 184: 271-8.

Cardell LO, Agusti C, Nadel JA. Nasal secretion in ragweed-sensitized dogs: effect of leukotriene synthesis inhibition. *Acta Otolaryngol* 2000; 120: 757-60.

Carter GW, Young PR, Albert DH, Bouska J, Dyer R, Bell RL, Summers JB, Brooks DW. 5-lipoxygenase inhibitory activity of zileuton. *J Pharmacol Exp Ther* 1991; 256: 929-37.

Chamberlain KW. Atopic (allergic) dermatitis. *Vet Clin North Am* 1974; 4: 29-39.

Chang HL, Fu E, Nieh S, Wang SL. Gingival overgrowth induced by different

- dosages of cyclosporin in rats. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi (Taipei)* 1995; 55: 290-5.
- Chaudhari LK, Jawale BA, Sharma S, Sharma H, Kumar CD, Kulkarni PA. Antimicrobial activity of commercially available essential oils against *Streptococcus mutans*. *J Contemp Dent Pract* 2012; 13: 71-4.
- Chervet L, Galichet A, McLean WH, Chen H, Suter MM, Roosje PJ, Muller EJ. Missing C-terminal filaggrin expression, NFkappaB activation and hyperproliferation identify the dog as a putative model to study epidermal dysfunction in atopic dermatitis. *Exp Dermatol* 2010; 19: e343-6.
- Clough GF, Bennett AR, Church MK. Effects of H1 antagonists on the cutaneous vascular response to histamine and bradykinin: a study using scanning laser Doppler imaging. *Br J Dermatol* 1998; 138: 806-14.
- Coderch L, Lopez O, de la Maza A, Parra JL. Ceramides and skin function. *Am J Clin Dermatol* 2003; 4: 107-29.
- Codner EC, Lessard P. Comparison of intradermal allergy test and enzyme-linked immunosorbent assay in dogs with allergic skin disease. *J Am Vet Med Assoc* 1993; 202: 739-43.
- Cohn LA. Glucocorticosteroids as immunosuppressive agents. *Semin Vet Med Surg (Small Anim)* 1997; 12: 150-6.
- Cuaron JA, Dulal S, Song Y, Singh AK, Montelongo CE, Yu W, Nagarajan V, Jayaswal RK, Wilkinson BJ, Gustafson JE. Tea Tree Oil-Induced Transcriptional Alterations in *Staphylococcus aureus*. *Phytother Res* 2012;
- Curtis C. Use and abuse of topical dermatological therapy - part one: shampoo therapy. *In Practice* 1998;
- DeBoer DJ, Moriello KA, Pollet RA. Efficacy of AHR-13268, an antiallergenic

compound, in the management of pruritus caused by atopic disease in dogs. *Am J Vet Res* 1992; 53: 532-6.

DeBoer DJ, Hillier A. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XV): fundamental concepts in clinical diagnosis. *Vet Immunol Immunopathol* 2001; 81: 271-6.

Di Nardo A, Wertz P, Giannetti A, Seidenari S. Ceramide and cholesterol composition of the skin of patients with atopic dermatitis. *Acta Derm Venereol* 1998; 78: 27-30.

Elias PM, Brown BE, Ziboh VA. The permeability barrier in essential fatty acid deficiency: evidence for a direct role for linoleic acid in barrier function. *J Invest Dermatol* 1980; 74: 230-3.

Elias PM. Stratum corneum defensive functions: an integrated view. *J Invest Dermatol* 2005; 125: 183-200.

Elias PM, Schmuth M. Abnormal skin barrier in the etiopathogenesis of atopic dermatitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2009; 9: 437-46.

Favrot C, Steffan J, Seewald W, Picco F. A prospective study on the clinical features of chronic canine atopic dermatitis and its diagnosis. *Vet Dermatol* 2010a; 21: 23-31.

Favrot C, Linek M, Mueller R, Zini E. Development of a questionnaire to assess the impact of atopic dermatitis on health-related quality of life of affected dogs and their owners. *Vet Dermatol* 2010b; 21: 63-9.

Feingold KR. Thematic review series: skin lipids. The role of epidermal lipids in cutaneous permeability barrier homeostasis. *J Lipid Res* 2007; 48: 2531-46.

Feingold KR, Jiang YJ. The mechanisms by which lipids coordinately regulate the

formation of the protein and lipid domains of the stratum corneum: Role of fatty acids, oxysterols, cholesterol sulfate and ceramides as signaling molecules. *Dermatoendocrinol* 2011; 3: 113-8.

Gaga M, Frew AJ, Varney VA, Kay AB. Eosinophil activation and T lymphocyte infiltration in allergen-induced late phase skin reactions and classical delayed-type hypersensitivity. *J Immunol* 1991; 147: 816-22.

Glos K, Linek M, Loewenstein C, Mayer U, Mueller RS. The efficacy of commercially available veterinary diets recommended for dogs with atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2008; 19: 280-7.

Goldman C, Rosser Jr E, Petersen A, Hauptman J. Investigation on the effects of ciclosporin (Atopica) on intradermal test reactivity and allergen-specific immunoglobulin (IgE) serology in atopic dogs. *Vet Dermatol* 2010;

Griffin CE, DeBoer DJ. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIV): clinical manifestations of canine atopic dermatitis. *Vet Immunol Immunopathol* 2001; 81: 255-69.

Griffin CE, Hillier A. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XXIV): allergen-specific immunotherapy. *Vet Immunol Immunopathol* 2001; 81: 363-83.

Halliwell R. Revised nomenclature for veterinary allergy. *Vet Immunol Immunopathol* 2006; 114: 207-8.

Halliwell RE. Atopic disease in the dog. *Vet Rec* 1971; 89: 209-14.

Halliwell RE, DeBoer DJ. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (III): the role of antibodies in canine atopic dermatitis. *Vet Immunol Immunopathol* 2001; 81: 159-67.

Hara J, Higuchi K, Okamoto R, Kawashima M, Imokawa G. High-expression of

sphingomyelin deacylase is an important determinant of ceramide deficiency leading to barrier disruption in atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 2000; 115: 406-13.

Hatano Y, Terashi H, Arakawa S, Katagiri K. Interleukin-4 suppresses the enhancement of ceramide synthesis and cutaneous permeability barrier functions induced by tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma in human epidermis. *J Invest Dermatol* 2005; 124: 786-92.

Hayashiya S, Tani K, Morimoto M, Hayashi T, Hayasaki M, Nomura T, Une S, Nakaichi M, Taura Y. Expression of T helper 1 and T helper 2 cytokine mRNAs in freshly isolated peripheral blood mononuclear cells from dogs with atopic dermatitis. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 2002; 49: 27-31.

Hightower K, Marsella R, Flynn-Lurie A. Effects of age and allergen exposure on transepidermal water loss in a house dust mite-sensitized beagle model of atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2010; 21: 88-95.

Hill PB, Hillier A, Olivry T. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (VI): IgE-induced immediate and late-phase reactions, two inflammatory sequences at sites of intradermal allergen injections. *Vet Immunol Immunopathol* 2001; 81: 199-204.

Hill PB, DeBoer DJ. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (IV): environmental allergens. *Vet Immunol Immunopathol* 2001; 81: 169-86.

Hill PB, Lau P, Rybnicek J. Development of an owner-assessed scale to measure the severity of pruritus in dogs. *Vet Dermatol* 2007; 18: 301-8.

Hillier A, DeBoer DJ. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XVII): intradermal testing. *Vet Immunol Immunopathol* 2001; 81: 289-304.

Hillier A, Griffin CE. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (I):

incidence and prevalence. *Vet Immunol Immunopathol* 2001; 81: 147-51.

Holleran WM, Takagi Y, Menon GK, Jackson SM, Lee JM, Feingold KR, Elias PM. Permeability barrier requirements regulate epidermal beta-glucocerebrosidase. *J Lipid Res* 1994; 35: 905-12.

Imokawa G, Abe A, Jin K, Higaki Y, Kawashima M, Hidano A. Decreased level of ceramides in stratum corneum of atopic dermatitis: an etiologic factor in atopic dry skin? *J Invest Dermatol* 1991; 96: 523-6.

Imokawa G. A possible mechanism underlying the ceramide deficiency in atopic dermatitis: expression of a deacylase enzyme that cleaves the N-acyl linkage of sphingomyelin and glucosylceramide. *J Dermatol Sci* 2009; 55: 1-9.

Inman AO, Olivry T, Dunston SM, Monteiro-Riviere NA, Gatto H. Electron microscopic observations of stratum corneum intercellular lipids in normal and atopic dogs. *Vet Pathol* 2001; 38: 720-3.

Jackson HA, Miller HR, Halliwell RE. Canine leucocyte histamine release: response to antigen and to anti-IgE. *Vet Immunol Immunopathol* 1996; 53: 195-206.

Jaeger K, Linek M, Power HT, Bettenay SV, Zabel S, Rosychuk RA, Mueller RS. Breed and site predispositions of dogs with atopic dermatitis: a comparison of five locations in three continents. *Vet Dermatol* 2010; 21: 118-22.

Jensen JM, Folster-Holst R, Baranowsky A, Schunck M, Winoto-Morbach S, Neumann C, Schutze S, Proksch E. Impaired sphingomyelinase activity and epidermal differentiation in atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 2004; 122: 1423-31.

Jungersted JM, Hellgren LI, Jemec GB, Agner T. Lipids and skin barrier function - a clinical perspective. *Contact Dermatitis* 2008; 58: 255-62.

Keppel KE, Campbell KL, Zuckermann FA, Greeley EA, Schaeffer DJ, Husmann RJ. Quantitation of canine regulatory T cell populations, serum interleukin-10 and allergen-specific IgE concentrations in healthy control dogs and canine atopic dermatitis patients receiving allergen-specific immunotherapy. *Vet Immunol Immunopathol* 2008; 123: 337-44.

Kimura T, Doi K. Dorsal skin reactions of hairless dogs to topical treatment with corticosteroids. *Toxicol Pathol* 1999; 27: 528-35.

Kumar S, Raman RP, Kumar K, Pandey PK, Kumar N, Mohanty S, Kumar A. In vitro and in vivo antiparasitic activity of Azadirachtin against *Argulus* spp. in *Carassius auratus* (Linn. 1758). *Parasitol Res* 2012; 110: 1795-800.

Kurahashi R, Hatano Y, Katagiri K. IL-4 suppresses the recovery of cutaneous permeability barrier functions in vivo. *J Invest Dermatol* 2008; 128: 1329-31.

Leonhardt H, Grigoleit HG. Effects of pentoxifylline on red blood cell deformability and blood viscosity under hyperosmolar conditions. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1977; 299: 197-200.

Lian TM, Halliwell RE. Allergen-specific IgE and IgGd antibodies in atopic and normal dogs. *Vet Immunol Immunopathol* 1998; 66: 203-23.

Linek M, Favrot C. Impact of canine atopic dermatitis on the health-related quality of life of affected dogs and quality of life of their owners. *Vet Dermatol* 2010; 21: 456-62.

Loeffler A, Cobb MA, Bond R. Comparison of a chlorhexidine and a benzoyl peroxide shampoo as sole treatment in canine superficial pyoderma. *Vet Rec* 2011; 169: 249.

Loewenstein C, Mueller RS. A review of allergen-specific immunotherapy in human and veterinary medicine. *Vet Dermatol* 2009; 20: 84-98.

Loflath A, von Voigts-Rhetz A, Jaeger K, Schmid M, Kuechenhoff H, Mueller RS. The efficacy of a commercial shampoo and whirlpooling in the treatment of canine pruritus - a double-blinded, randomized, placebo-controlled study. *Vet Dermatol* 2007; 18: 427-31.

Madison KC. Barrier function of the skin: "la raison d'etre" of the epidermis. *J Invest Dermatol* 2003; 121: 231-41.

Marsella R, Nicklin CF, Munson JW, Roberts SM. Pharmacokinetics of pentoxifylline in dogs after oral and intravenous administration. *Am J Vet Res* 2000; 61: 631-7.

Marsella R, Olivry T. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XXII): nonsteroidal anti-inflammatory pharmacotherapy. *Vet Immunol Immunopathol* 2001; 81: 331-45.

Marsella R, Nicklin CF, Melloy C. The effects of capsaicin topical therapy in dogs with atopic dermatitis: a randomized, double-blinded, placebo-controlled, cross-over clinical trial. *Vet Dermatol* 2002; 13: 131-9.

Marsella R, Nicklin CF, Saglio S, Lopez J. Investigation on the effects of topical therapy with 0.1% tacrolimus ointment (Protopic) on intradermal skin test reactivity in atopic dogs. *Vet Dermatol* 2004a; 15: 218-24.

Marsella R, Nicklin CF, Saglio S, Lopez J. Investigation on the clinical efficacy and safety of 0.1% tacrolimus ointment (Protopic) in canine atopic dermatitis: a randomized, double-blinded, placebo-controlled, cross-over study. *Vet Dermatol* 2004b; 15: 294-303.

Marsella R, Nicklin C, Lopez J. Studies on the role of routes of allergen exposure in high IgE-producing beagle dogs sensitized to house dust mites. *Vet Dermatol* 2006; 17: 306-12.

Matsuda S, Koyasu S. Mechanisms of action of cyclosporine. *Immunopharmacology* 2000; 47: 119-25.

Merryman-Simpson AE, Wood SH, Fretwell N, Jones PG, McLaren WM, McEwan NA, Clements DN, Carter SD, Ollier WE, Nuttall T. Gene (mRNA) expression in canine atopic dermatitis: microarray analysis. *Vet Dermatol* 2008; 19: 59-66.

Mignon BR, Losson BJ. Efficacy of a phyto-aromatic gel against auricular mange in rabbits and carnivores. *Vet Rec* 1996; 138: 329-32.

Miller WH, Scott DW, Wellington JR. A clinical trial on the efficacy of clemastine in the management of allergic pruritus in dogs. *Can Vet J* 1993; 34: 25-7.

Moore JR. Misoprostol and nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Ann Intern Med* 1996; 124: 1015; author reply -6.

Mori T, Ishida K, Mukumoto S, Yamada Y, Imokawa G, Kabashima K, Kobayashi M, Bito T, Nakamura M, Ogasawara K, Tokura Y. Comparison of skin barrier function and sensory nerve electric current perception threshold between IgE-high extrinsic and IgE-normal intrinsic types of atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 2010; 162: 83-90.

Mosmann TR, Sad S. The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more. *Immunol Today* 1996; 17: 138-46.

Motta S, Monti M, Sesana S, Caputo R, Carelli S, Ghidoni R. Ceramide composition of the psoriatic scale. *Biochim Biophys Acta* 1993; 1182: 147-51.

Mudde GC, Van Reijssen FC, Boland GJ, de Gast GC, Bruijnzeel PL, Bruijnzeel-Koomen CA. Allergen presentation by epidermal Langerhans' cells from patients with atopic dermatitis is mediated by IgE. *Immunology* 1990; 69: 335-41.

Mueller RS, Cannon A, Reubl GH, Ihrke PJ. Serum and skin IgA concentrations in normal and atopic dogs. *Aust Vet J* 1997; 75: 906-9.

Mueller RS, Burrows A, Tsohalis J. Comparison of intradermal testing and serum testing for allergen-specific IgE using monoclonal IgE antibodies in 84 atopic dogs. *Aust Vet J* 1999; 77: 290-4.

Mueller RS, Bettenay SV. Evaluation of the safety of an abbreviated course of injections of allergen extracts (rush immunotherapy) for the treatment of dogs with atopic dermatitis. *Am J Vet Res* 2001; 62: 307-10.

Mueller RS, Fieseler KV, Fettman MJ, Zabel S, Rosychuk RA, Ogilvie GK, Greenwalt TL. Effect of omega-3 fatty acids on canine atopic dermatitis. *J Small Anim Pract* 2004; 45: 293-7.

Mueller RS, Fettman MJ, Richardson K, Hansen RA, Miller A, Magowitz J, Ogilvie GK. Plasma and skin concentrations of polyunsaturated fatty acids before and after supplementation with n-3 fatty acids in dogs with atopic dermatitis. *Am J Vet Res* 2005; 66: 868-73.

Nesbitt GH. Canine allergic inhalant dermatitis: a review of 230 cases. *J Am Vet Med Assoc* 1978; 172: 55-60.

Neuner P, Klosner G, Schauer E, Pourmojib M, Macheiner W, Grunwald C, Knobler R, Schwarz A, Luger TA, Schwarz T. Pentoxifylline in vivo down-regulates the release of IL-1 beta, IL-6, IL-8 and tumour necrosis factor-alpha by human peripheral blood mononuclear cells. *Immunology* 1994; 83: 262-7.

Nuttall T, Mueller R, Bensignor E, Verde M, Noli C, Schmidt V, Reme C. Efficacy of a 0.0584% hydrocortisone aceponate spray in the management of canine atopic dermatitis: a randomised, double blind, placebo-controlled trial. *Vet Dermatol* 2009; 20: 191-8.

Olivry T, Moore PF, Affolter VK, Naydan DK. Langerhans cell hyperplasia and IgE expression in canine atopic dermatitis. *Arch Dermatol Res* 1996; 288: 579-85.

Olivry T, Sousa CA. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIX): general principles of therapy. *Vet Immunol Immunopathol* 2001a; 81: 311-6.

Olivry T, Dunston SM, Murphy KM, Moore PF. Characterization of the inflammatory infiltrate during IgE-mediated late phase reactions in the skin of normal and atopic dogs. *Vet Dermatol* 2001a; 12: 49-58.

Olivry T, Hill PB. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (IX): the controversy surrounding the route of allergen challenge in canine atopic dermatitis. *Vet Immunol Immunopathol* 2001; 81: 219-25.

Olivry T, Sousa CA. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XX): glucocorticoid pharmacotherapy. *Vet Immunol Immunopathol* 2001b; 81: 317-22.

Olivry T, Marsella R, Hillier A. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XXIII): are essential fatty acids effective? *Vet Immunol Immunopathol* 2001b; 81: 347-62.

Olivry T, Rivierre C, Jackson HA, Murphy KM, Davidson G, Sousa CA. Cyclosporine decreases skin lesions and pruritus in dogs with atopic dermatitis: a blinded randomized prednisolone-controlled trial. *Vet Dermatol* 2002a; 13: 77-87.

Olivry T, Steffan J, Fisch RD, Prelaud P, Guaguere E, Fontaine J, Carlotti DN. Randomized controlled trial of the efficacy of cyclosporine in the treatment of atopic dermatitis in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 2002b; 221: 370-7.

Olivry T, Dunston SM, Rivierre C, Jackson HA, Murphy KM, Peters E, Dean GA. A randomized controlled trial of misoprostol monotherapy for canine atopic dermatitis: effects on dermal cellularity and cutaneous tumour necrosis factor- α . *Vet Dermatol* 2003; 14: 37-46.

Olivry T, Mueller RS. Evidence-based veterinary dermatology: a systematic review of the pharmacotherapy of canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2003; 14: 121-46.

Olivry T, Marsella R, Iwasaki T, Mueller R. Validation of CADESI-03, a severity scale for clinical trials enrolling dogs with atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2007; 18: 78-86.

Olivry T, Mueller R, Nuttall T, Favrot C, Prelaud P. Determination of CADESI-03 thresholds for increasing severity levels of canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2008; 19: 115-9.

Olivry T, DeBoer DJ, Favrot C, Jackson HA, Mueller RS, Nuttall T, Prelaud P. Treatment of canine atopic dermatitis: 2010 clinical practice guidelines from the International Task Force on Canine Atopic Dermatitis. *Vet Dermatol* 2010a; 21: 233-48.

Olivry T. New diagnostic criteria for canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2010; 21: 123-6.

Olivry T, Foster AP, Mueller RS, McEwan NA, Chesney C, Williams HC. Interventions for atopic dermatitis in dogs: a systematic review of randomized controlled trials. *Vet Dermatol* 2010b; 21: 4-22.

Olivry T, Wofford J, Paps JS, Dunston SM. Stratum corneum removal facilitates experimental sensitization to mite allergens in atopic dogs. *Vet Dermatol* 2011; 22: 188-96.

Piekutowska A, Pin D, Reme CA, Gatto H, Haftek M. Effects of a topically applied preparation of epidermal lipids on the stratum corneum barrier of atopic dogs. *J Comp Pathol* 2008; 138: 197-203.

Ponec M, Weerheim A, Lankhorst P, Wertz P. New acylceramide in native and

reconstructed epidermis. *J Invest Dermatol* 2003; 120: 581-8.

Popa I, Thuy LH, Colsch B, Pin D, Gatto H, Haftek M, Portoukalian J. Analysis of free and protein-bound ceramides by tape stripping of stratum corneum from dogs. *Arch Dermatol Res* 2010; 302: 639-44.

Popa I, Remoue N, Hoang LT, Pin D, Gatto H, Haftek M, Portoukalian J. Atopic dermatitis in dogs is associated with a high heterogeneity in the distribution of protein-bound lipids within the stratum corneum. *Arch Dermatol Res* 2011; 303: 433-40.

Radowicz SN, Power HT. Long-term use of cyclosporine in the treatment of canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2005; 16: 81-6.

Reder AT, Thapar M, Sapugay AM, Jensen MA. Prostaglandins and inhibitors of arachidonate metabolism suppress experimental allergic encephalomyelitis. *J Neuroimmunol* 1994; 54: 117-27.

Reedy LM, Miller W, Willemse T (1997) *Allergic skin disease of dogs and cats*, 2 edn. Saunders

Reiter LV, Torres SM, Wertz PW. Characterization and quantification of ceramides in the nonlesional skin of canine patients with atopic dermatitis compared with controls. *Vet Dermatol* 2009; 20: 260-6.

Robson KJ, Stewart ME, Michelsen S, Lazo ND, Downing DT. 6-Hydroxy-4-sphingenine in human epidermal ceramides. *J Lipid Res* 1994; 35: 2060-8.

Romagnani S. Lymphokine production by human T cells in disease states. *Annu Rev Immunol* 1994; 12: 227-57.

Rosbach K, Wendorff S, Sander K, Stark H, Gutzmer R, Werfel T, Kietzmann M, Baumer W. Histamine H4 receptor antagonism reduces hapten-induced

scratching behaviour but not inflammation. *Exp Dermatol* 2009a; 18: 57-63.

Rosbach K, Stark H, Sander K, Leurs R, Kietzmann M, Baumer W. The histamine H receptor as a new target for treatment of canine inflammatory skin diseases. *Vet Dermatol* 2009b; 20: 555-61.

Rosser EJ, Jr. Diagnosis of food allergy in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1993; 203: 259-62.

Saevik BK, Thoresen SI, Taugbol O. Fatty acid composition of serum lipids in atopic and healthy dogs. *Res Vet Sci* 2002; 73: 153-8.

Saevik BK, Bergvall K, Holm BR, Saijonmaa-Koulumies LE, Hedhammar A, Larsen S, Kristensen F. A randomized, controlled study to evaluate the steroid sparing effect of essential fatty acid supplementation in the treatment of canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2004; 15: 137-45.

Sandilands A, Sutherland C, Irvine AD, McLean WH. Filaggrin in the frontline: role in skin barrier function and disease. *J Cell Sci* 2009; 122: 1285-94.

Saridomichelakis MN, Koutinas AF, Gioulekas D, Leontidis L. Canine atopic dermatitis in Greece: clinical observations and the prevalence of positive intradermal test reactions in 91 spontaneous cases. *Vet Immunol Immunopathol* 1999; 69: 61-73.

Schlotter YM, Riemers FM, Rutten VP, Knol EF, Willemsse T. Enzymes involved in the conversion of arachidonic acid to eicosanoids in the skin of atopic dogs. *Exp Dermatol* 2010; 19: e317-9.

Schmuth M, Man MQ, Weber F, Gao W, Feingold KR, Fritsch P, Elias PM, Holleran WM. Permeability barrier disorder in Niemann-Pick disease: sphingomyelin-ceramide processing required for normal barrier homeostasis. *J Invest Dermatol* 2000; 115: 459-66.

Schnabl B, Bettenay SV, Dow K, Mueller RS. Results of allergen-specific immunotherapy in 117 dogs with atopic dermatitis. *Vet Rec* 2006; 158: 81-5.

Scott D, Miller W, Griffin C (2001) *Small Animal Dermatology*, 6 edn. Saunders, Philadelphia

Scott DW, Miller WH, Jr. Nonsteroidal management of canine pruritus: chlorpheniramine and a fatty acid supplement (DVM Derm Caps) in combination, and the fatty acid supplement at twice the manufacturer's recommended dosage. *Cornell Vet* 1990; 80: 381-7.

Scott DW, Paradis M. A survey of canine and feline skin disorders seen in a university practice: Small Animal Clinic, University of Montreal, Saint-Hyacinthe, Quebec (1987-1988). *Can Vet J* 1990; 31: 830-5.

Scott DW, Miller WH, Jr., Decker GA, Wellington JR. Comparison of the clinical efficacy of two commercial fatty acid supplements (EfaVet and DVM Derm Caps), evening primrose oil, and cold water marine fish oil in the management of allergic pruritus in dogs: a double-blinded study. *Cornell Vet* 1992; 82: 319-29.

Scott DW, Miller WH, Jr. Nonsteroidal anti-inflammatory agents in the management of canine allergic pruritus. *J S Afr Vet Assoc* 1993; 64: 52-6.

Scott DW, Miller WH, Jr., Cayatte SM, Decker GA. Failure of terfenadine as an antipruritic agent in atopic dogs: results of a double-blinded, placebo-controlled study. *Can Vet J* 1994; 35: 286-8.

Scott DW, Miller JWH, Griffin CE (1995) *Small Animal Dermatology*, 5 edn. Saunders, Philadelphia

Scott DW, Miller WH, Jr., Reinhart GA, Mohammed HO, Bagladi MS. Effect of an omega-3/omega-6 fatty acid-containing commercial lamb and rice diet on pruritus in atopic dogs: results of a single-blinded study. *Can J Vet Res* 1997; 61:

145-53.

Shimada K, Yoon JS, Yoshihara T, Iwasaki T, Nishifuji K. Increased transepidermal water loss and decreased ceramide content in lesional and non-lesional skin of dogs with atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2009; 20: 541-6.

Sienkiewicz M, Lysakowska M, Cieciewicz J, Denys P, Kowalczyk E. Antibacterial activity of thyme and lavender essential oils. *Med Chem* 2011; 7: 674-89.

Simons FE. H1-Antihistamines: more relevant than ever in the treatment of allergic disorders. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 112: S42-52.

Solorzano-Santos F, Miranda-Novales MG. Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. *Curr Opin Biotechnol* 2012; 23: 136-41.

Steffan J, Alexander D, Brovedani F, Fisch RD. Comparison of cyclosporine A with methylprednisolone for treatment of canine atopic dermatitis: a parallel, blinded, randomized controlled trial. *Vet Dermatol* 2003; 14: 11-22.

Steffan J, Parks C, Seewald W. Clinical trial evaluating the efficacy and safety of cyclosporine in dogs with atopic dermatitis. *J Am Vet Med Assoc* 2005; 226: 1855-63.

Stehle ME, Hanczaruk M, Schwarz SC, Gobel TW, Mueller RS. Effects of polyunsaturated fatty acids on isolated canine peripheral blood mononuclear cells and cytokine expression (IL-4, IFN-gamma, TGF-beta) in healthy and atopic dogs. *Vet Dermatol* 2010; 21: 112-7.

Sture GH, Lloyd DH. Canine atopic disease: therapeutic use of an evening primrose oil and fish oil combination. *Vet Rec* 1995; 137: 169-70.

Tagari P, Brideau C, Chan C, Frenette R, Black C, Ford-Hutchinson A.

Assessment of the in vivo biochemical efficacy of orally active leukotriene biosynthesis inhibitors. *Agents Actions* 1993; 40: 62-71.

Thomsen PS, Jensen TM, Hammer KA, Carson CF, Molgaard P, Riley TV. Survey of the antimicrobial activity of commercially available Australian tea tree (*Melaleuca alternifolia*) essential oil products in vitro. *J Altern Complement Med* 2011; 17: 835-41.

Tretter S, Mueller RS. The influence of topical unsaturated fatty acids and essential oils on normal and atopic dogs. *J Am Anim Hosp Assoc* 2011; 47: 236-40.

Vaughan JW, McLaughlin TE, Perzanowski MS, Platts-Mills TA. Evaluation of materials used for bedding encasement: effect of pore size in blocking cat and dust mite allergen. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103: 227-31.

Wakita H, Tokura Y, Yagi H, Nishimura K, Furukawa F, Takigawa M. Keratinocyte differentiation is induced by cell-permeant ceramides and its proliferation is promoted by sphingosine. *Arch Dermatol Res* 1994; 286: 350-4.

Wertz PW, Downing DT. Ceramides of pig epidermis: structure determination. *J Lipid Res* 1983; 24: 759-65.

Wertz PW, Cho ES, Downing DT. Effect of essential fatty acid deficiency on the epidermal sphingolipids of the rat. *Biochim Biophys Acta* 1983; 753: 350-5.

Willemsse A, van den Brom WE. Investigations of the symptomatology and the significance of immediate skin test reactivity in canine atopic dermatitis. *Res Vet Sci* 1983; 34: 261-5.

Willemsse A, Noordzij A, Van den Brom WE, Rutten VP. Allergen specific IgGd antibodies in dogs with atopic dermatitis as determined by the enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). *Clin Exp Immunol* 1985; 59: 359-63.

Willemse T. [Atopic dermatitis in dogs: current diagnostic criteria]. Tijdschr Diergeneeskde 1988; 113: 74-9.

Wood SH, Clements DN, Ollier WE, Nuttall T, McEwan NA, Carter SD. Gene expression in canine atopic dermatitis and correlation with clinical severity scores. J Dermatol Sci 2009; 55: 27-33.

Wright S. Essential fatty acids and the skin. Br J Dermatol 1991; 125: 503-15.

Xu JC, Guo XJ, Mao BL. [Effect of pentoxifylline on respiratory distress syndrome in dogs]. Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi 1994a; 17: 103-5, 27-8.

Xu JC, Guo XJ, Mao BL. [Effects of pentoxifylline on leukocyte in the lungs of dog with fat tissue extract-induced respiratory distress syndrome]. Zhonghua Nei Ke Za Zhi 1994b; 33: 248-50.

Yamamoto A, Serizawa S, Ito M, Sato Y. Stratum corneum lipid abnormalities in atopic dermatitis. Arch Dermatol Res 1991; 283: 219-23.

Yoon JS, Nishifuji K, Sasaki A, Ide K, Ishikawa J, Yoshihara T, Iwasaki T. Alteration of stratum corneum ceramide profiles in spontaneous canine model of atopic dermatitis. Exp Dermatol 2011; 20: 732-6.

Ziboh VA, Chapkin RS. Metabolism and function of skin lipids. Prog Lipid Res 1988; 27: 81-105.

Ziboh VA, Miller CC. Essential fatty acids and polyunsaturated fatty acids: significance in cutaneous biology. Annu Rev Nutr 1990; 10: 433-50.

Ziboh VA, Miller CC, Cho Y. Metabolism of polyunsaturated fatty acids by skin epidermal enzymes: generation of antiinflammatory and antiproliferative metabolites. Am J Clin Nutr 2000; 71: 361S-6S.

Zur G, Ihrke PJ, White SD, Kass PH. Antihistamines in the management of canine atopic dermatitis: a retrospective study of 171 dogs (1992-1998). *Vet Ther* 2002; 3: 88-96.

IX. ANHANG

1. Tabellenverzeichnis

Tabl. 1: Abkürzungsschema der Ceramide

Tabl. 2: Fließmittelsystem für die HPTLC epidermaler Lipide

Tabl. 3: gesamte Ceramidbestimmung, Bezugsgröße Fläche

Tabl. 4: gesamte Ceramidbestimmung, Bezugsgröße Gewicht

2. Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Konversion der Arachidonsäure, modifiziert nach Schlotter et al.

Abb. 2: Strukturen und Klassifikation der Ceramide

Abb. 3: Ceramidsynthesewege, modifiziert nach Jungersted et al.

Abb. 4: verwendeter Cyanoacrylahautkleber

Abb. 5: Objektträger nach Probennahme

Abb. 6: Silicagelplatte nach Beendigung des Trennvorgangs und Sichtbarmachung der Banden durch Veraschung

3. Diagrammverzeichnis

Diagramm 1: CADESI aller Hunde

Diagramm 2: CADESI der Gruppe mit leichter CAD

Diagramm 3: CADESI der Gruppe mit schwerer CAD

Diagramm 4: Juckreiz aller Hunde

Diagramm 5: Juckreiz der Gruppe mit leichter CAD

Diagramm 6: Juckreiz der Gruppe mit schwerer CAD

Diagramm 7: Ceramidklasse 1 aller Hunde, Fläche als Bezugsgröße

Diagramm 8: Ceramidklasse 9 aller Hunde, Fläche als Bezugsgröße

Diagramm 9: Ceramidklasse 1 aller Hunde, Gewicht als Bezugsgröße

Diagramm 10: Ceramidklasse 9 aller Hunde, Gewicht als Bezugsgröße

4. **Besitzereinverständniserklärung**

Ich stimme der Teilnahme meines Tieres an der Studie zu, welche die Behandlung atopischer Hunde mit lokalen Fettsäuren evaluiert. Ich verstehe, dass mein Tier an einem klinischen Versuch teilnimmt. Das Behandlungsprotokoll, welches mein Tier erhalten wird, besteht aus einem Produkt aus verschiedenen Substanzen (u. a. Rosmarin, Lavendel, Zeder, Oregano, Pfefferminze, Vitamin E) in einer Spot-on Formulierung.

Ich wurde über potentielle Risiken (in seltensten Fällen Hautreizung an der Applikationsstelle) und Nutzen der Behandlung (Verbesserung der klinischen Probleme bis zur vollständigen Heilung) aufgeklärt und habe diese verstanden. Weiterhin werde ich im Rahmen der mir zur Verfügung stehenden Möglichkeiten die Vorgaben der Studie erfüllen. Sollte mein Tier während der Studie andere Medikamente erhalten, verpflichte ich mich, die zuständigen Betreuer der Studie darüber zu informieren. Ich werde das Fettsäuren Produkt wie angegeben anwenden und mein Tier nach einem Monat zur Kontrolle und nach zwei Monaten zur Abschlussuntersuchung vorstellen. Sollte ich diese Untersuchung nicht wahrnehmen, bin ich mir darüber im Klaren, dass mir die bisher entstandenen Kosten der Studie in Rechnung gestellt werden (Untersuchung, Fettsäurenpräparat).

Die Kosten der Untersuchung, das Präparat und Ektoparasitenprophylaxe (Frontline® Spot On) werden für alle Besitzer und Patienten, welche die Bedingungen der Studie für die Studiendauer erfüllen, übernommen.

Es werden keine weiteren Untersuchungen für zugrunde liegende Erkrankungen und Therapien durch die Studie finanziert.

Name Besitzer: _____ Name Hund: _____

Unterschrift Besitzer Datum

5. CADESI

Owner Name: Dog Name:

Date: Time: Examiner:

SITE \ CLINICAL SIGNS		Erythema	Lichenification	Excoriations	Alopecia	TOTAL
Face	Preauricular					
	Periocular					
	Periorbital					
	Muzzle					
Head	Chin					
	Dorsal					
Ear Pinna	Left	Convex				
		Concave				
	Right	Convex				
		Concave				
Neck	Dorsal					
	Ventral	Left				
		Right				
	Adilla	Left				
	Right					
Stomach						
Thorax	Dorsal					
	Lateral	Left				
		Right				
Inguinal	Left					
	Right					
Abdomen						
Lumbar	Dorsal					
Flank	Left					
	Right					
Front Limb	Left	Medial				
		Lateral				
		Antebrachial Flexure				
	Right	Carpal Flexure				
		Medial				
		Lateral				
	Antebrachial Flexure					
	Carpal Flexure					
Front Foot	Left	Metatarsal Flexure				
		Dorsal Metatarsal				
		Palmar				
	Right	Dorsal Interdigital				
		Metatarsal Flexure				
		Dorsal Metatarsal				
	Palmar					
	Dorsal Interdigital					
Hind Limb	Left	Medial				
		Lateral				
		Stifle Flexure				
	Right	Tarsal Flexure				
		Medial				
		Lateral				
	Stifle Flexure					
	Tarsal Flexure					
Hind Foot	Left	Metatarsal Flexure				
		Dorsal Metatarsal				
		Plantar				
	Right	Dorsal Interdigital				
		Metatarsal Flexure				
		Dorsal Metatarsal				
	Plantar					
	Dorsal Interdigital					
Perianal						
Perigenital						
Tail	Ventral					
	Dorsal					
grade each sign at each location as follows: 0 (none), 1 (mild), 2, 3 (moderate), 4, 5 (severe)				TOTAL Score (0-20 maximum)		

6. Juckreizskala

	<p>Extrem heftiges Kratzen/fast ununterbrochen Egal was passiert, das Kratzen wird nicht unterbrochen, auch im Behandlungszimmer (der Hund muss z.B. durch Halskragen am Kratzen gehindert werden)</p> <p>Heftiges Kratzen/langanhaltende Episoden Kratzen bei Nacht (wenn beobachtet) und beim Fressen, Spielen, Spazieren gehen oder bei Ablenkung</p> <p>Moderates Kratzen/episodenweise Kratzt bei Nacht (wenn beobachtet), aber nicht beim Fressen, Spielen, Spazieren gehen oder bei Ablenkung</p> <p>Mildes Kratzen/etwas vermehrt Kratzt nicht nachts, beim Fressen, Spielen, Spazieren gehen oder bei Ablenkung</p> <p>Sehr mildes Kratzen/nur gelegentliche Episoden Der Hund kratzt sich nur etwas mehr als zu der Zeit bevor die Hautproblematik begonnen hat</p> <p>Normaler Hund- ich glaube nicht, dass das Kratzen ein Problem darstellt</p>
--	---

X. DANKSAGUNG

Als aller erstes möchte ich mich bei meinem Doktorvater Prof. Dr. vet. med. Ralf Mueller ganz herzlich für die tolle Betreuung bedanken. Du hattest immer ein offenes Ohr für meine Probleme und mit deiner Unterstützung konnte man stets rechnen. Ich konnte mir in deiner Abteilung ein umfangreiches dermatologisches Wissen aneignen, wofür ich dir sehr dankbar bin.

Bei den drei fleißigen Bienchen Dr. med. vet. Ana Rostaher, Dr. med. vet. Cornelia Johansen und Dr. med. vet. Stefan Hobi von deren umfangreichem dermatologischen Wissen ich des Öfteren profitieren durfte. Sie waren stets sehr geduldig und ihre Begeisterung für das Fach Dermatologie steckte mich immer wieder aufs Neue an.

Ebenfalls sehr wichtig für diese Doktorarbeit war die Zusammenarbeit mit dem gesamten Dermateam, in dem immer eine kollegiale und äußerst angenehme Arbeitsatmosphäre herrschte. Insbesondere möchte ich mich bei meinen Kolleginnen Juliane und Petra bedanken, die mich die meiste Zeit begleitet haben und es hoffentlich auch noch weiterhin werden. Es hat immer sehr viel Spaß gemacht mit euch zu arbeiten! Ich schätze nicht nur eure Kollegialität, sondern auch eure Freundschaft.

Dr. med. vet. Jessica Stahl und Prof. Dr. med. vet. Wolfgang Bäumer ohne die die Laboranalyse nicht möglich gewesen wäre.

Bei meinen Studienhunden und ihren Besitzern, die alle sehr zuverlässig waren und ohne die die Studie nicht funktioniert hätte.

Unserem „Frühstücksmann“, der mir mit seinem leckeren Essen und seiner stets fröhlichen und freundlichen Art einen guten Start in den Tag bereitete.

Desweiteren bei Prof. Dr. med. vet. Kathrin Hartmann für die Möglichkeit in ihrer medizinischen Kleintierklinik die Doktorarbeit durchführen zu können.

Nicht zu vergessen die Firma Laboratoire de Dermo-Cosmétique Animale (Frankreich) für die finanzielle Unterstützung und die stets freundliche Zusammenarbeit.

Ein weiterer Dank geht an die Kleintierklinik Dr. Sibylle Lutz und deren

Mitarbeiter für die flexible Zusammenarbeit. Nur dadurch war es mit möglich weiterhin bei euch zu arbeiten und viel Erfahrung zu sammeln.

Dann noch bei einem ganz tollen Menschen, Lennart, der meine Launen ertragen musste, dies aber tapfer gemeistert hat. Danke, dass du immer zu mir gehalten hast!

Zu guter Letzt noch meinen Eltern und meiner Oma, mit deren Unterstützung in jeglicher Form ich immer rechnen konnte!