

**Aus der Klinik für kleine Haustiere
und dem Institut für Immunologie
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin**

Chronischer Durchfall beim Hund – Studien zur Diagnostik und Therapie

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin**

**vorgelegt von
Maria Volkmann
Tierärztin aus Wernigerode**

**Berlin 2018
Journal-Nr.: 4063**

Aus der Klinik für kleine Haustiere und dem Institut für Immunologie
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Chronischer Durchfall beim Hund – Studien zur Diagnostik und Therapie

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Maria Volkmann
Tierärztin
aus Wernigerode

Berlin 2018

Journal-Nr.: 4063

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Jürgen Zentek

Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Barbara Kohn

Zweiter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Susanne Hartmann

Dritter Gutachter: PD Dr. Nadine Paßlack

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

dogs, diarrhoea, intestinal diseases, antidiarrhoeal properties,
antidiarrhoeal agents, diagnostic techniques, therapy

Tag der Promotion: 26.06.2018

Inmitten der Schwierigkeiten liegt die Möglichkeit.

- Albert Einstein -

INHALTSVERZEICHNIS

Inhaltsverzeichnis

INHALTSVERZEICHNIS	I
TABELLEN- UND ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	III
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	V
ÜBERSICHT PUBLIKATIONEN	IX
1 EINLEITUNG UND AUFGABENSTELLUNG	1
2 LITERATUR	3
2.1 Gastrointestinale Hauptsymptome – Definition und Lokalisation	3
2.2 Differenzialdiagnosen gastrointestinaler Hauptsymptome	6
2.3 Chronisch-entzündliche Enteropathien.....	9
2.3.1 Überblick und Terminologie	9
<i>Futter-responsive Enteropathie (FRE)</i>	9
<i>Antibiotika-responsive Enteropathie (ARE)</i>	11
<i>Idiopathische Inflammatory Bowel Disease (IBD)</i>	12
2.3.2 Pathogenese.....	13
2.3.3 Prävalenz und genetische Prädispositionen.....	18
2.3.4 Diagnostik	20
<i>Diagnostisches Vorgehen</i>	20
<i>Methoden und Biomarker mit diagnostischem oder prognostischem Nutzen</i>	28
2.3.5 Therapie.....	36
2.3.6 Prognose	40
2.4 Zusammenfassung und Arbeitshypothesen	42
<i>Differenzialdiagnosen, Diagnostik und Monitoring</i>	42
<i>Alternative oder ergänzende Therapiemethoden</i>	43
3 PUBLIKATIONEN	45
3.1 Publikation I.....	45
CHRONIC DIARRHEA IN DOGS - RETROSPECTIVE STUDY IN 136 DOGS	45
3.1.1 Zusammenfassung der Originalpublikation (Englisch)	45
3.1.2 Zusammenfassung der Originalpublikation (Übersetzung).....	46
3.2 Publikation II.....	61
FREQUENCIES OF REGULATORY T CELLS IN THE PERIPHERAL BLOOD OF DOGS WITH PRIMARY IMMUNE-MEDIATED THROMBOCYTOPENIA AND CHRONIC ENTEROPATHY: A PILOT STUDY	61
3.2.1 Zusammenfassung der Originalpublikation (Englisch)	61
3.2.2 Zusammenfassung der Originalpublikation (Übersetzung).....	62
3.3 Publikation III.....	67
EFFICACY OF AST-120 IN DOGS WITH CHRONIC IDIOPATHIC ENTEROPATHIES	67
3.3.1 Zusammenfassung der Originalpublikation (Englisch)	67
3.3.2 Zusammenfassung der Originalpublikation (Übersetzung).....	68

INHALTSVERZEICHNIS

4	ERGÄNZUNGEN UND UNVERÖFFENTLICHTE DATEN	74
4.1	Ergänzungen zu Publikation I.....	74
4.1.1	Klinische Symptome und Krankheitsdauer bei Hunden mit chronischem Durchfall	74
4.1.2	S100A12 im Kot von Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien	77
	<i>Zusammenfassung der Originalpublikation (Englisch)</i>	77
	<i>Zusammenfassung der Originalpublikation (Übersetzung)</i>	78
4.2	Ergänzung zu Publikation II.....	84
	REGULATORISCHE T-ZELLEN IM VOLLBLUT VON GESUNDEN HUNDEN UNTERSCHIEDLICHEN ALTERS	84
4.3	Ergänzungen zu Publikation III.....	89
4.3.1	Sicherheit der Studienmedikation (<i>Safety Analyses</i>).....	89
4.3.2	Wechsel der Studienmedikation (<i>Crossover</i>)	94
5	STUDIENÜBERGREIFENDE DISKUSSION	104
6	SCHLUSSFOLGERUNGEN UND AUSBLICKE	114
7	ZUSAMMENFASSUNG.....	116
8	SUMMARY.....	118
9	LITERATURVERZEICHNIS.....	120
10	ÜBERSICHT PUBLIKATIONEN 2010-2018.....	157
10.1	Journals und tierärztliche Fachzeitschriften mit Begutachtungssystem (<i>Peer Review</i>)	157
10.2	Abstracts/Proceedings	157
11	DANKSAGUNG.....	161
12	SELBSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG	162

Tabellen- und Abbildungsverzeichnis**Tabellen**

Tabelle 1: Kriterien zur Unterscheidung von Dün- und Dickdarmdurchfall und Lokalisation des Krankheitsgeschehens.	5
Tabelle 2: Ursachen akut und chronisch auftretender gastrointestinaler Symptome beim Hund.....	7
Tabelle 3: Übersicht zur schrittweisen Abklärung chronischer gastrointestinaler Symptome bei Hunden.....	22
Tabelle 4: Literaturverweise zu verschiedenen Testmethoden, die für Diagnostik und Monitoring Futter-responsiver Enteropathien zu Teilen wenig praktikabel oder kommerziell nicht verfügbar sind.....	23
Tabelle 5: Klinische Symptome bei Hunden mit primärer und sekundärer Enteropathie (Ergänzung Publikation I).....	75
Tabelle 6: Krankheitsdauer bei Hunden mit primärer und sekundärer Enteropathie sowie bei Hunden mit unterschiedlichem Krankheitsverlauf (Ergänzung Publikation I).....	76
Tabelle 7: Signalement der Kontrollgruppen (Ergänzung Publikation II).....	86
Tabelle 8: Hämatologie und Blutchemie der gesunden Kontrolltiere (Ergänzung Publikation II).....	87
Tabelle 9: Ergebnisse der fluoreszenzbasierten Durchflusszytometrie der gesunden Kontrolltiere (Ergänzung Publikation II).....	88
Tabelle 10: Herkunft, Wirkstoff/-gehalt und Darreichungsform der Studienmedikation AST-120 und des Placebos.....	89
Tabelle 11: Blutparameter zur Analyse der Sicherheit der Studienmedikation AST-120 - Hämatologie und Differenzialblutbild (Ergänzung Publikation III).	91
Tabelle 12: Blutparameter zur Analyse der Sicherheit der Studienmedikation AST-120 - Blutchemie und C-reaktives Protein (Ergänzung Publikation III).....	92
Tabelle 13: Parameter zur Untersuchung der Wirksamkeit und Sicherheit der Studienmedikation (Ergänzung Publikation III).	94
Tabelle 14: Ergebnisse zur Untersuchung der klinischen Wirksamkeit von AST-120 bei einem Hund mit chronisch-entzündlicher idiopathischer Enteropathie nach vorzeitigem <i>Crossover</i> an Studientag 8 (Ergänzung Publikation III).	98
Tabelle 15: Ergebnisse zur Untersuchung der klinischen Wirksamkeit von AST-120 nach <i>Crossover</i> an Studientag 21 bei vier Hunden mit chronisch-entzündlicher idiopathischer Enteropathie (Ergänzung Publikation III).....	99
Tabelle 16: Blutparameter zur Analyse der Sicherheit der Studienmedikation AST-120 nach <i>Crossover</i> - Hämatologie und Differenzialblutbild (Ergänzung Publikation III).....	100

Tabelle 17: Blutparameter zur Analyse der Sicherheit der Studienmedikation AST-120 nach Crossover - Blutchemie und C-reaktives Protein (Ergänzung Publikation III). 101

Abbildungen

Abbildung 1: Übersicht zur Beurteilung der Kotkonsistenz.4

Abbildung 2: Diagnostisches Vorgehen bei Hunden und Katzen mit gastrointestinalen Symptomen.25

Abbildung 3: Beurteilungskriterien des Body Condition Scores (BCS) in einer Fünf-Punkte-Skala nach CASE *et al.* (2000) und RADE (2009).30

Abbildung 4: Bewertung des Schweregrades chronischer Enteropathien.31

Abbildung 5: Vergleich der absoluten Zellzahlen der Lymphozyten (A) und der Frequenz CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ regulatorischer T-Zellen (B) im Vollblut von gesunden juvenilen (jünger als 2 Jahre) und adulten Hunden mittleren Alters (2-9 Jahre). Ergänzung zu Publikation II. .88

Abbildung 6: Studienprotokoll (Ergänzung Publikation III).95

Abbildung 7: Vergleich des klinischen Aktivitätsindex CIBDAI (A) sowie der Kotkonsistenz (B) und Kotabsatzfrequenz (C) bei vier Hunden mit chronisch-entzündlicher idiopathischer Enteropathie vor und nach Behandlung mit dem Placebo sowie nach Wechsel der Studienmedikation von Placebo auf AST-120 (Ergänzung Publikation III).97

Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
µg	Mikrogramm
µL	Mikroliter
α	Alpha
α1-PI	α1-Proteinaseinhibitor
β	Beta
γ	Gamma
ALT	Alanin-Aminotransferase
AP	Alkalische Phosphatase
APC	Antigen Presenting Cell (engl. für Antigen-präsentierende Zelle)
ARE	Antibiotika-responsive Enteropathie
AST	Aspartat-Aminotransferase
BCS	Body Condition Score (engl. für Körperkondition bzw. Ernährungszustand)
bzw.	Beziehungsweise
ca.	Circa
CCECAI	Canine Chronic Enteropathy Clinical Activity Index (engl.)
CD	Cluster of Differentiation (engl. Bezeichnung für Unterscheidungsgruppen immunphänotypischer Oberflächenmerkmale)
CE	Chronische Enteropathie
CIBDAI	Canine Inflammatory Bowel Disease Activity Index (engl.)
CIE	Chronic inflammatory idiopathic enteropathy (engl. für chronisch-entzündliche idiopathische Enteropathie)
cPLI	Canine Pankreatische Lipase Immunreaktivität
CRP	C-reaktives Protein
cTLI	Canine Trypsin-like Immunoreactivity (engl. für Trypsin-ähnliche Immunreaktivität)
DOI	Digital Object Identifier (engl. für Digitaler Objektbezeichner)
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay (engl. für Enzym-gekoppeltes immunologisches Nachweisverfahren)

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

engl.	Englisch
EPI	Exokrine Pankreasinsuffizienz
FACS	Fluorescence-activated Cell Scanning (engl. für Fluoreszenz-basierte Durchflusszytometrie)
FC	Flow Cytometry (engl. für Durchflusszytometrie)
FRE	Futter-responsive Enteropathie
G	Giga
GALT	Gut-associated Lymphoid Tissue (engl. für Darm-assoziiertes Immunsystem)
ggr.	Geringgradig
GIT	Gastrointestinaltrakt
hgr.	Hochgradig
HPEG	Histopathologischer Entzündungsgrad
HUC	Histiocytic ulcerative colitis (engl. für Histiozytäre ulzerative Kolitis)
IBD	Inflammatory Bowel Disease (engl. für Entzündliche Darmerkrankung)
IFN	Interferon
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
IRE	Immunsuppressiva-responsive Enteropathie
ITP	Immun-medierte Thrombozytopenie
IU	International Unit (engl. für Internationale Einheit)
k.A.	Keine Angabe(n)
kDA	Kilo-Dalton (10kDA entsprechen 10.000 Da)
L	Liter
M	Männlich
Mk	Männlich kastriert
Max	Maximum
mg	Milligramm
mgr.	Mittelgradig
min	Minute
Min	Minimum

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

mL	Milliliter
mRNA	Messenger RNA (engl. für Boten-RNA)
MW	Mittelwert
n	Anzahl
ng	Nanogramm
NMH	N-Methylhistamin
NOD	Nucleotide-binding Oligomerization Domain (engl.)
NRE	Nicht-responsive Enteropathie
pANCA	Perinuclear Anti-Neutrophilic Cytoplasmic Autoantibody (engl. für perinukleäre Anti-Neutrophile cytoplasmatische Antikörper)
pg	Pikogramm
PLE	Protein Losing Enteropathy (engl. für Proteinverlustenteropathie)
SD	Standard Deviation (engl. für Standardabweichung)
SIBO	Small Intestinal Bacterial Overgrowth (engl. für Bakterielle Überwucherung des Dünndarms)
sog.	Sogenannt(e)
sp.	Spezies
spp.	Spezies (Plural)
SRE	Steroid-responsive Enteropathie
Th-Zelle	T-Helfer-Zelle
Th1	T-Helfer-Zelle Typ 1
Th2	T-Helferzelle Typ 2
Th17	T-Helferzelle Typ 17
TLR	Toll-like Receptor (engl. für Toll-ähnlicher Rezeptor)
TNF	Tumor Nekrose Faktor
T _{REG}	Regulatorische T-Zelle
u.a.	Unter anderem
v.a.	Vor allem
W	Weiblich
Wk	Weiblich kastriert
z.B.	Zum Beispiel

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Übersicht Publikationen

Die kumulative Dissertation basiert auf 3 Publikationen als Erst-Autorin. Alle Publikationen wurden in wissenschaftlich anerkannten Fachzeitschriften mit Begutachtungssystem (*Peer Review*) veröffentlicht. Die jeweiligen Zusammenfassungen (Abstracts) sind im Original und in deutschsprachiger Übersetzung dem Abschnitt 3 „Publikationen“ zu entnehmen. Die vollständigen Originalversionen sind über den digitalen Identifikator DOI als Online-Artikel der entsprechenden wissenschaftlichen Fachzeitschriften verfügbar.

Publikation 1:

M. Volkmann, J.M. Steiner, G.T. Fosgate, J. Zentek, S. Hartmann, B. Kohn

Chronic diarrhea in dogs – retrospective study of 136 cases

Chronischer Durchfall bei Hunden - Retrospektive Studie von 136 Fällen

Publiziert in Journal of Veterinary Internal Medicine, Ausgabe 2017: Seiten 1-13

DOI: 10.1111/jvim.14739

Akzeptiert: 19.April.2017

Publikation 2:

M. Volkmann, M.R. Hepworth, F. Ebner, S. Rausch, B. Kohn, S. Hartmann

Frequencies of regulatory T cells in the peripheral blood of dogs with primary immune-mediated thrombocytopenia and chronic enteropathy: A pilot study

Frequenz regulatorischer T-Zellen im peripheren Blut von Hunden mit primärer immun-mediierter Thrombozytopenie und chronischer Enteropathie: Eine Pilotstudie

Publiziert in The Veterinary Journal, Ausgabe 202 (2014): Seiten 630-633

DOI: 10.1016/j.tvjl.2014.10.012

Akzeptiert: 12.Oktober.2014

Publikation 3:

M. Volkmann, N.C. Wirtherle, G.F. Beddies, B. Kohn

Efficacy of AST-120 in Dogs with Chronic Idiopathic Enteropathies

Wirksamkeit von AST-120 bei Hunden mit chronisch idiopathischer Enteropathie

Publiziert in Journal of Veterinary Internal Medicine, Ausgabe 27 (2013): Seiten 1637–1641

DOI: 10.1111/jvim.12212

Akzeptiert: 28. August. 2013

Weitere Publikationen in Fachzeitschriften, welche Daten, Textpassagen, Abbildungen oder Tabellen der vorliegenden Dissertationsschrift enthalten:

Wesentliche Textpassagen, Tabellen und Abbildungen des Literaturteils sind in einem ATF- anerkannten Fachartikel der CVE Kleintier des Veterinär Verlages unter dem Titel „Durchfall und Erbrechen beim Hund“ veröffentlicht worden. Der Artikel durchlief ebenfalls ein Begutachtungssystem. Vorabveröffentlichte Abschnitte werden im Literaturteil in entsprechenden Fußnoten ausgewiesen.

B. Kohn und M. Volkmann

Durchfall und Erbrechen beim Hund

Publiziert in CVE Kleintier, 1/2015: Seiten 1-20

ISSN: 1863-7906

Elektronische Version unter: www.CVE-impulse.de

Im Rahmen der in Publikation 1 und 3 veröffentlichten Studien wurde von der Autorin an der Kleintierklinik der Freien Universität Berlin prospektiv über den Zeitraum von September 2009 bis Februar 2011 Untersuchungsmaterialien (Serum, Kot) und Patienteninformationen von Hunden mit chronischem Durchfall gesammelt. Die Proben sowie zugehörige Patienteninformationen wurden zur Aufbereitung und Auswertung an das Gastrointestinal Laboratory der Texas A&M University, USA, unter der Leitung von Professor Dr. Jörg Steiner übergeben und die Ergebnisse wurden im Veterinary Journal publiziert. Die Originalversion ist über den digitalen Identifikator DOI als Online-Artikel der wissenschaftlichen Fachzeitschrift verfügbar.

R.M. Heilmann, M. Volkmann, C.C. Otoni, N. Grützner, B. Kohn, A.E. Jergens, J.M. Steiner

Fecal S100A12 concentration predicts a lack of response to treatment in dogs affected with chronic enteropathy

Die Konzentration von S100A12 im Kot ist hinweisend für mangelnden Therapieerfolg bei Hunden mit chronischer Enteropathie

Publiziert in The Veterinary Journal, Ausgabe 2016: Seiten 1-5

DOI: 10.1016/j.tvjl.2016.03.001

Akzeptiert: 1. März.2016

Die Liste der vorabveröffentlichten Abstracts sowie weitere Publikationen sind dem Abschnitt 10 (Übersicht Publikationen) zu entnehmen.

1 Einleitung und Aufgabenstellung

Chronische gastrointestinale Symptome sind häufige Vorstellungsgründe von Hunden in der tierärztlichen Praxis, deren Ursachen äußerst vielfältig sind und in primäre gastrointestinale sowie sekundäre extra-gastrointestinale Enteropathien eingeteilt werden (BATT 2009, HALL und GERMAN 2010). Primäre, nicht-infektiöse entzündliche Darmerkrankungen wie die Futter-responsive Enteropathie (FRE), Antibiotika-responsive Enteropathie (ARE) und idiopathische Inflammatory Bowel Disease (IBD) werden als die häufigsten Ursachen chronischer gastrointestinaler Symptome beschrieben (ALLENSPACH und GASCHEN 2003, CAVE 2003, HALL und GERMAN 2010). Bisher fehlen jedoch Informationen zur Häufigkeit und Verteilung primärer und sekundärer Ursachen chronischen Durchfalls und somit ist auch die Prävalenz der chronisch-entzündlichen Enteropathien nicht genau bekannt (ALLENSPACH und GASCHEN 2003, JERGENS und SIMPSON 2012).

Die diagnostische Abklärung ist sehr umfangreich und stellt nicht selten eine Herausforderung dar (ALLENSPACH *et al.* 2004, SUTER 2006). FRE, ARE und IBD sind sowohl klinisch als auch mittels gängiger labordiagnostischer und bildgebender Verfahren (einschließlich der histopathologischen Untersuchung von Darmbiopsien) nicht voneinander zu unterscheiden und so erfolgt die Diagnosestellung retrospektiv nach Ausschluss aller anderen möglichen primären und sekundären Ursachen und anhand des (Nicht-) Ansprechens auf eine mehrwöchige Therapie mit Eliminationsdiät, Antibiose oder Immunsuppressiva (ALLENSPACH und GASCHEN 2003, CRAVEN *et al.* 2004, ALLENSPACH 2007, SCHREINER *et al.* 2008). Dieses detaillierte und schrittweise Vorgehen erfordert vom Besitzer ein hohes Maß an Geduld sowie Kooperation und auch die vom Besitzer aufzubringenden Kosten sind nicht zu unterschätzen (TAPP *et al.* 2002, ALLENSPACH und GASCHEN 2003, STURGESS 2005, SUTER 2006). Die Etablierung nicht-invasiver Methoden, die eine frühzeitige Differenzierung chronisch-entzündlicher Enteropathien ermöglichen und ferner prognostisch von Nutzen sind, ist sowohl für den behandelnden Tierarzt als auch für den Besitzer von großem Interesse (ALLENSPACH 2007). Neben der Untersuchung verschiedener Proteine in Serum, Urin und Kot, treten zunehmend auch peripher im Blut zirkulierende Immunzellen in den Fokus der Wissenschaft:

Dysregulationen des Immunsystems, welche mit dem Verlust der oralen Toleranz gegenüber luminalen Antigenen einhergehen, spielen eine wesentliche Rolle in der multifaktoriellen Pathogenese chronisch-entzündlicher Darmerkrankungen (DUCHMANN *et al.* 1995, LOCHER *et al.* 2001, CAVE 2003, GERMAN *et al.* 2003b). Regulatorische T-Zellen (T_{REG}) besitzen zentrale Funktionen im Rahmen der Erhaltung der Toleranz und der Kontrolle von Entzündungsreaktionen. Ein Fehlen oder funktioneller Defekt dieser spezialisierten Immunzellen kann zu unkontrollierten Entzündungsreaktionen führen wie sie bei chronisch-entzündlichen Enteropathien vorkommen (ALLEZ und MAYER 2004, UHLIG und POWRIE 2005, BUCKNER 2010, GARDEN *et al.* 2011, TIZARD 2013d). Studien bei Menschen mit IBD zeigten, dass die Frequenz der im Blut zirkulierenden T_{REG} bei aktivem Krankheitsgeschehen im Vergleich zu gesunden Kontrollen reduziert und bei Patienten in Remission wieder normalisiert ist (MAUL *et al.* 2005, WANG *et al.* 2011). T_{REG} scheinen auch

bei Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien pathogenetisch von Bedeutung zu sein. So wurden bei Hunden mit IBD im Vergleich zu gesunden Kontrolltieren reduzierte Zahlen in der Darmschleimhaut nachgewiesen (JUNGINGER *et al.* 2012). Bisher sind der Autorin keine Studien zur Untersuchung peripher im Blut zirkulierender T_{REG} bei Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien bekannt. Das regelmäßige Monitoring dieser Immunzellen im Blut könnte eine Aussage über den therapeutischen Erfolg geben und somit von prognostischem Nutzen sein.

Auch die Therapie chronisch-entzündlicher Enteropathien, welche eng mit der Diagnostik verbunden ist und überwiegend empirisch erfolgt, stellt häufig eine Herausforderung dar (CRAVEN *et al.* 2004, ALLENSPACH *et al.* 2006b, ALLENSPACH 2007). Die derzeit zur Verfügung stehenden entzündungshemmenden und/oder immunsuppressiven Therapien (z.B. Prednisolon) sind vor allem hinsichtlich langanhaltender Effekte und Remissionsraten, aber auch aufgrund ihrer Nebenwirkungen oft nicht zufriedenstellend (CRAVEN *et al.* 2004, ALLENSPACH *et al.* 2006b, MALEWSKA *et al.* 2011). Die komplexe, multifaktorielle Ätiopathogenese erfordert eine ebenso komplexe Therapie und so werden effektive, alternative Therapien benötigt. AST-120 ist eine aktivierte Form von Kohle aus porösen, sphärischen Karbonpartikeln und zeichnet sich durch eine hohe, irreversible Bindungskapazität gegenüber einem breiten Spektrum an niedermolekularen, pro-inflammatorischen Mediatoren aus, welche die unkontrollierten Entzündungsreaktionen im Gastrointestinaltrakt aufrechterhalten (u.a. Serotonin, Histamin, Lipopolysaccharide, Gallensäuren) (ARAKI *et al.* 2000, ANDERSON und FISCHER 2008, ANDERSON *et al.* 2008). Menschen mit nicht-konstipativem Reizdarmsyndrom (engl. *Irritable Bowel Syndrome*) sowie jene mit IBD zeigten unter der oralen Therapie eine signifikante Verbesserung der klinischen Symptomatik (FUKUDA *et al.* 2008, TACK *et al.* 2011). Studien bei Hunden sind der Autorin bisher nicht bekannt.

Die Studienziele der vorliegenden Arbeit zum Thema „Chronischer Durchfall beim Hund – Studien zur Diagnostik und Therapie“ lauten wie folgt:

1. Quantifizierung der Differenzialdiagnosen bei Hunden mit chronischem Durchfall sowie Evaluierung klinischer und labordiagnostischer Veränderungen mit diagnostischem und prognostischem Nutzen.
2. Bestimmung und Vergleich der T_{REG} Frequenz im Vollblut von gesunden Hunden und Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien.
3. Untersuchung der Wirksamkeit einer speziellen Kohleformulierung (AST-120) bei Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien.

2 Literatur

Erkrankungen des Magen-Darm-Traktes (sog. Enteropathien) sind häufige Vorstellungsgründe von Hunden in der tierärztlichen Praxis und äußern sich oftmals durch die Hauptsymptome Durchfall und/oder Erbrechen (SUTER 2006, FOGLE und BISSETT 2007, BATT 2009, HALL und GERMAN 2010). Nicht selten weisen betroffene Hunde weitere gastrointestinale Symptome wie Abdominalschmerz, Borborygmen und Flatulenzen oder weniger spezifische Symptome wie Gewichtsverlust, Veränderungen des Appetits, des Verhaltens und der Aktivität (vermindert oder gesteigert), Aszites, oder dermatologische Symptome wie Juckreiz auf (DOSSIN 2008, MARKS 2013).

Die Symptome können sowohl akut oder chronisch sowie persistierend oder rezidivierend auftreten (SUTER 2006). Unter einer chronischen Erkrankung versteht man das Bestehen der Symptome über mehr als zwei bis drei Wochen (SUTER 2006, MARKS 2013). Bei rezidivierenden Krankheitsverläufen treten die Symptome nach einer „freien“ Phase erneut auf (SUTER 2006).

2.1 Gastrointestinale Hauptsymptome – Definition und Lokalisation

Durchfall (Diarrhoe) ist eines der häufigsten Symptome sowohl bei akuten als auch bei chronischen Enteropathien und ist definiert als das Absetzen von Kot mit herabgesetzter Konsistenz (erhöhtem Wassergehalt), erhöhter Kotabsatzfrequenz und/oder erhöhtem Kotvolumen (HALL und GERMAN 2010, MARKS 2013). Die Kotkonsistenz kann dabei bedingt durch den erhöhten Wassergehalt von ungeformt weich bis wässrig variieren (Abbildung 1¹). Ferner können Beimengungen von Schleim (Mucus), frisches (Hämatochezie) oder verdautes Blut (Meläna) sowie unverdaute Futterbestandteile vorhanden sein.

Unter **Erbrechen** (Vomitus, Emesis) versteht man die retrograde Entleerung des Mageninhaltes oder auch angedauten Duodenalinhaltes (SUTER 2006). Das aktive Reflexgeschehen wird durch typische klinische Begleitsymptome wie Übelkeit (Nausea), Unruhe oder Mattigkeit, Speicheln und häufiges Schlucken und/oder Würgen sowie rhythmische Kontraktionen von Bauch- und Zwerchfellmuskulatur charakterisiert (GERBER 2006), wodurch es von Husten oder Regurgitieren unterschieden werden kann und zwingend unterschieden werden muss (DOSSIN 2008). Regurgitieren ist im Gegensatz zum Erbrechen die passiv erfolgende, retrograde Entleerung von in der Regel unverdaulichem Futter oder Flüssigkeit aus dem Ösophagus (seltener auch Magen) in die Maulhöhle oder Nase (GERBER 2006, DOSSIN 2008).

¹ Anmerkung: Abbildung 1 wurde vorab in CVE Kleintier, 1/2015: Seiten 1-20 (ISSN: 1863-7906) publiziert.

LITERATUR

Geformt	Geformter Kot hinterlässt beim Aufheben keine (fest geformt) oder mäßig Rückstände auf dem Boden (weich geformt).
Ungeformt/ weich	Kotkonsistenz überwiegend sehr weich bis breiig, kann aber noch geformte Kotanteile beinhalten und hinterlässt deutliche Rückstände auf dem Boden.
Sehr weich/ cremig	Breiiger (kuhfladenartiger) bis cremiger Durchfall. Enthält nur teilweise oder keine geformten Kotbestandteile.
Wässrig	Überwiegend wässrige Konsistenz, Kotabsatz „im Strahl“.

Abbildung 1: Übersicht zur Beurteilung der Kotkonsistenz.

Die Beurteilungskriterien folgen hier dem Schema des Canine Inflammatory Bowel Disease Activity Index nach JERGENS *et al.* (2003) zur Bewertung des Schweregrades von chronischen gastrointestinalen Erkrankungen bei Hunden (siehe 2.3.4).

Chronische Verdauungsstörungen können sich im Magen, Dünndarm und Dickdarm oder diffus im gesamten Gastrointestinaltrakt manifestieren (ALLENSPACH 2010). Kotkonsistenz, -beschaffenheit, -volumen und -absatzfrequenz sowie das Auftreten weiterer klinischer Symptome können helfen, das Krankheitsgeschehen zu lokalisieren und somit die lange Liste der Differenzialdiagnosen einzugrenzen (siehe 2.2) (ALLENSPACH und GASCHEN 2003, DOSSIN 2008, MARKS 2013). Erkrankungen im vorderen Gastrointestinaltrakt präsentieren sich häufig mit weiteren, unspezifischen Symptomen wie Erbrechen (ohne oder mit Blutbeimengung [Hämatemesis]), verändertem Appetit sowie Borborygmen und Flatulenzen (HALL und GERMAN 2010). Bei chronischen Erkrankungen des Dünndarms ist die Nährstoffversorgung des Patienten häufig stark beeinträchtigt, was sich im Verlust von Körpermasse und reduziertem Allgemeinbefinden, aber auch in sekundären dermatologischen Symptomen widerspiegeln kann (BATT 2009, HALL und GERMAN 2010, ZENTEK 2011b). Der Allgemein- und Ernährungszustand ist bei einer Dickdarmproblematik seltener beeinträchtigt. Lediglich bei schweren Krankheitsverläufen können diese vermindert sein und weitere Symptome wie Erbrechen, Gewichtsverlust, Abdominalschmerz oder Anorexie können auftreten. Charakteristisch für Dickdarmdurchfall ist ein häufiger Absatz kleinerer Kotmengen, die Beimengungen von Schleim (Mucus) oder frischen Blutes (Hämatochezie) aufweisen können. Dringlichkeit zum Kotabsatz sowie Tenesmus werden ebenso häufig beschrieben (ALLENSPACH 2010). Kriterien zur Unterscheidung von Dünndarm- und Dickdarmdurchfall sind in der Tabelle ² zusammengefasst.

² Anmerkung: Tabelle 1 wurde vorab in CVE Kleintier, 1/2015: Seiten 1-20 (ISSN: 1863-7906) publiziert.

LITERATUR

Tabelle 1: Kriterien zur Unterscheidung von Dün- und Dickdarmdurchfall und Lokalisation des Krankheitsgeschehens.

(adaptiert nach FOGLE und BISSETT (2007), DOSSIN (2008), HALL und GERMAN (2010) und MARKS (2013))

	Dünndarm	Dickdarm
Kot:		
Volumen	Normal bis erhöht	Meist normal bis erniedrigt
Qualität	Stinkt, evtl. unverdaut	Verdaut
Schleimbeimengung	Selten	Häufig
Blutbeimengung	Melaena (Teerstuhl) bei Epitheldefekten	Hämatochezie (frisches Blut)
Steatorrhoe (Fettstuhl)	Möglich (Malassimilation)	Fehlend
Kotabsatz:		
Frequenz (Häufigkeit)	Meist normal bis mäßig erhöht	Meist deutlich erhöht (>5x/Tag)
Tenesmus/Dyschezie	Fehlend	Häufig
Dringlichkeit	Fehlend	Häufig
Weitere Symptome:		
Gewichtsverlust	Häufig	Selten
Erbrechen	Häufig	Selten (ca. 1/3)
Flatulenz (Blähungen)	Möglich	Möglich
Borborygmen (Darmgeräusche)	Möglich	Fehlend
Appetit	Variierend: normal, reduziert oder auch Polyphagie	Meist normal

2.2 Differenzialdiagnosen gastrointestinaler Hauptsymptome

Die Ursachen sind sowohl für akute als auch für chronische gastrointestinale Symptome vielfältig. Allgemein müssen gastrointestinale, direkt im Magen-Darm-Trakt gelegene Erkrankungen (sog. primäre Enteropathien) von extra-gastrointestinalen Ursachen (sog. sekundäre Enteropathien) unterschieden werden (ALLENSPACH und GASCHEN 2003, WESTERMARCK 2008, HALL und GERMAN 2010, MARKS 2013): **Primären Enteropathien** können sowohl entzündliche (diätetische und idiopathische Ursachen einschließend), infektiöse, neoplastische, mechanische, funktionelle sowie toxische als auch verschiedene andere Ursachen zu Grunde liegen. Zu den **sekundären Enteropathien** zählen Erkrankungen des exokrinen Pankreas sowie metabolische und hormonelle Störungen, kardiorespiratorische sowie vestibuläre Erkrankungen bzw. Erkrankungen des zentralen Nervensystems oder auch andere Erkrankungen wie des Urogenitaltraktes.

Das Auftreten einer Kombination von gastrointestinalen und extra-gastrointestinalen Erkrankungen ist durchaus möglich. So wurden u.a. Erkrankungen der Leber (z.B. Cholangiohepatitis) und des exokrinen Pankreas (z.B. Pankreatitis) als extra-gastrointestinale Manifestationen bei chronisch-entzündlichen Enteropathien beschrieben (RANKIN 1990, WEISS *et al.* 1996, BARTHET *et al.* 1999, RIDGWAY *et al.* 2001, KLEINSCHMIDT *et al.* 2010, TORESSON *et al.* 2016).

Tabelle 2 zeigt in einer allgemeinen Übersicht die verschiedenen Differenzialdiagnosen akuten sowie chronischen Durchfalls und Erbrechens.³

Die in dieser Schrift schwerpunktmäßig behandelten primären chronisch-entzündlichen Enteropathien werden in den sich anschließenden Abschnitten detailliert beschrieben.

³ Anmerkung: Tabelle 2 wurde vorab in *CVE Kleintier*, 1/2015: Seiten 1-20 (ISSN: 1863-7906) publiziert.

LITERATUR

Tabelle 2: Ursachen akut und chronisch auftretender gastrointestinaler Symptome beim Hund.

(adaptiert nach DE BIASIO (2008), RICHTER *et al.* (2008), WESTERMARCK (2008), MARKS (2013) und WASHABAU (2013))

Primäre Ursachen (gastrointestinal)	Sekundäre Ursachen (extra-gastrointestinal)
Diätetisch (teilweise entzündlich)	Exokrines Pankreas
Futterumstellung ¹ Verdorbenes Futter ¹ Magenüberladung ^{1,4} Futter-responsive Enteropathie (FRE) ² bedingt durch Futtermittelintoleranz oder Futtermittelallergie Faser-responsive Dickdarmdiarrhoe ^{2,3}	Pankreatitis (akut/chronisch) ⁴ Exokrine Pankreasinsuffizienz (EPI) ³ Neoplasien des exokrinen Pankreas (z.B. Adenokarzinom)
Entzündlich / Idiopathisch	Metabolisch
Hämorrhagische Gastroenteritis (HGE) ¹ Antibiotika-responsive Enteropathie (ARE)/Small intestinal bacterial overgrowth (SIBO) ² Idiopathische Inflammatory Bowel Disease (IBD) ² Proteinverlustenteropathie/Lymphangiektasie (PLE) Gastritis, Magenulkus ⁴ Irritable Bowel Syndrom (IBS, Reizdarmsyndrom) ² Histozytäre Ulzerative Kolitis (HUC) ^{2,3}	Hepatitis/Hepatopathie Portosystemischer Shunt Nephritis Akute/Chronische Niereninsuffizienz Urämie ⁴ Ketoazidose ⁴
Infektiös	Endokrin
Bakteriell ¹ (<i>Salmonella</i> spp., <i>Campylobacter</i> spp., <i>Clostridium</i> spp., <i>Yersinia</i> spp., Enterotoxische <i>E.coli</i> , <i>Helicobacter</i> spp. ⁴) Viral ¹ (Parvovirose, Rota-, Coronavirus, Staupe) Protozoär/Parasitär (<i>Giardia</i> spp. ³ , <i>Coccidia</i> spp., <i>Trichuris vulpis</i> ^{2,3} , <i>Ancylostoma/Uncinaria</i> ^{2,3} , <i>Strongyloides</i> , <i>Toxascaris</i>) Algen (<i>Prototheca</i> spp. ³) Pilze	Hypoadrenokortizismus Hypothyreose Diabetes mellitus

LITERATUR

Neoplastisch	Kardiorespiratorisch
Intestinales Lymphom Lymphosarkom (Kolorektales) Adenokarzinom	Herzinsuffizienz (akut/chronisch) Herzwürmer (<i>Dirofilaria immitis</i>) ^{1,4} Tracheitis ⁴
Mechanisch/Obstruktiv	Zentrales Nervensystem ⁴
Fremdkörper ⁴ Magendrehung ^{1,4} Pylorusstenose ⁴ Hiatushernie ⁴ Invagination Volvulus Schwere Koprostase ⁴ Neoplasie	Meningitis/Enzephalitis Vestibularsyndrom Epilepsie Erhöhter intrakranieller Druck Hydrozephalus Neoplasie
Funktionell	Andere
Motilitätsstörungen (primär oder sekundär in Folge gastrointestinaler Entzündungen oder Peritonitis) Paralytischer Ileus ⁴	Endometritis/Pyometra Prostatitis, Orchitis, Hodentorsion Septikämie ¹ Endotoxinämie ¹ Multiples Organversagen ¹ Peritonitis
Toxisch ¹	
Medikamente (z.B. NSAIDs) Pflanzentoxine	
Andere	
Systemische Vaskulitis „Early morning vomiting“	

¹überwiegend bei akutem Krankheitsgeschehen; ²überwiegend bei chronischem Krankheitsgeschehen; ³überwiegend mit Durchfall einhergehend; ⁴überwiegend mit Erbrechen einhergehend

2.3 Chronisch-entzündliche Enteropathien

2.3.1 Überblick und Terminologie

Nicht-infektiöse, entzündliche Darmerkrankungen sind häufige Ursachen chronischer, gastrointestinaler Symptome bei Menschen und domestizierten Tieren und werden durch die entzündliche Infiltration der Darmschleimhaut charakterisiert (FIOCCHI 1998, DAY 2005b, ALLENSPACH 2007, HALL und GERMAN 2010).

Zu dem großen Symptomenkomplex der chronisch-entzündlichen Enteropathien (englisch *chronic inflammatory enteropathy*, häufig auch kurz *chronic enteropathy*) gehören sowohl diätetische Ursachen wie Futter-responsive Enteropathien (FRE) als auch idiopathische Ursachen wie Antibiotika-responsive Enteropathien (ARE) und chronisch-entzündliche idiopathische Darmerkrankungen (ALLENSPACH und GASCHEN 2003, FOGLE und BISSETT 2007, HALL und GERMAN 2010). Letztere werden allgemein mit dem englischen Begriff der idiopathischen *Inflammatory Bowel Disease* (IBD) oder je nach therapeutischem Ansprechen als Steroid- (SRE) oder Immunsuppressiva-responsive (IRE) bzw. -refraktäre Enteropathie beschrieben. Wie aus den Bezeichnungen FRE, ARE und SRE bzw. IRE hervorgeht, ist die Therapie wesentlicher Bestandteil der Diagnostik und so wird die entsprechende Diagnose retrospektiv anhand des (Nicht-) Ansprechens auf die jeweilige Therapie mit Diät, Antibiotika oder Immunsuppressiva gestellt (ALLENSPACH 2007). Obgleich FRE, ARE und IBD als ganz verschiedene Differenzialdiagnosen betrachtet werden, überlappen diese Formen klinisch, histopathologisch und mit großer Wahrscheinlichkeit auch ätiopathogenetisch (DAY 2005b, SUTER 2006). Hierbei wird angenommen, dass die primäre Ursache eine in der Darmschleimhaut lokalisierte Störung der Immunregulation ist (KÖHNE *et al.* 1999, CAVE 2003, DAY 2005b) und so verwenden einige Autoren den Begriff der IBD häufig als Überbegriff für den Symptomenkomplex der chronisch-entzündlichen Enteropathien (WHITLEY und DAY 2011).

Neben den genannten diätetischen und idiopathischen Ursachen können auch Infektionen zu entzündlichen Veränderungen der Darmschleimhaut führen (HALL und GERMAN 2010). An dieser Stelle sei daher darauf hingewiesen, dass infektiöse Ursachen als separate Differenzialdiagnose aufgeführt werden (siehe 2.2) und von dem hier erläuterten Begriff „chronisch-entzündliche Enteropathie“ ausgeschlossen sind.

Futter-responsive Enteropathie (FRE)

Unter dem Begriff der Futter-responsiven Enteropathie (FRE) versteht man eine abnormale klinische Reaktion nach Aufnahme eines Futtermittels oder einer Futterkomponente (HILLIER und GRIFFIN 2001, CAVE 2013). Die klinischen Symptome verbessern sich maßgeblich unter einer mehrwöchigen Futterumstellung, sofern das auslösende Agens

vermieden wird (sog. Ausschluss- bzw. Eliminationsdiät) (GUILFORD *et al.* 2001, HALL und GERMAN 2010).

Die Ursachen einer solchen abnormalen Reaktion sind vielfältig (BLAKEMORE 1994, MARTIN und RESCH 2009), wobei ätiopathogenetisch 2 Krankheitsformen unterschieden werden: Futtermittelallergie und Futtermittelintoleranz (HILLIER und GRIFFIN 2001, VERLINDEN *et al.* 2006).

Die Futtermittelallergie ist ein immunologisches Geschehen (HILLIER und GRIFFIN 2001, DAY 2005b). Hierbei führt die Aufnahme eines normalerweise harmlosen, äußeren stofflichen Reizes - Antigen bzw. Allergen - zu einer unangemessenen Immunreaktion (JANEWAY *et al.* 2005, MARTIN und RESCH 2009). Auslöser für Allergien sind Proteine und ihre Abbauprodukte (ALLENSPACH und GASCHEN 2003). Aber auch Reaktionen auf Futtermilben und Zusatzstoffe, welche als unvollständige Allergene (Haptene) wirken können, kommen in Betracht (HANNUKSELA und HAAHTELA 1987, ZENTEK 2011a). Beim Menschen wurden wasserlösliche Glykoproteine mit einer Größe von 10.000-60.000 (70.000) Dalton als Hauptallergene identifiziert, welche gegenüber Hitze, Säure und enzymatischen Abbau durch Proteasen überwiegend stabil sind (TAYLOR *et al.* (1987) zitiert nach SAMPSON und BURKS (1996) und JERGENS und MAY (2008)). Rindfleisch, Milchprodukte, Huhn, Ei sowie Soja, Weizen, Mais und Reis wurden beim Hund als bedeutsame Allergene identifiziert (DAY 2005a, VERLINDEN *et al.* 2006). Überempfindlichkeiten gegenüber mehreren Allergenen sind möglich (JEFFERS *et al.* 1996, GUILFORD *et al.* 2001, BEXLEY *et al.* 2016) und einzelne Studien weisen auch auf mögliche Kreuzreaktionen zwischen Allergenen wie Rind, Kuhmilch und Lamm hin (MARTIN *et al.* 2004, BEXLEY *et al.* 2016). Bei Erstkontakt mit dem Allergen führt die Bildung von Antikörpern sowie Aktivierung und Vermehrung von Effektor-Immunzellen zu einer Sensibilisierung, woraufhin es bei wiederholter und längerfristiger Exposition zu einer überschießenden Immunreaktion kommt (MARTIN und RESCH 2009). Es wird vermutet, dass hierbei mehrere immunologische Reaktionstypen, sowohl IgE-vermittelte Typ I Sofortreaktionen, aber auch Nicht-IgE-vermittelte Typ III und IV Spätreaktionen beteiligt sind (LOCHER *et al.* 2001, ISHIDA *et al.* 2004, MARTIN und RESCH 2009, CAVE 2013). Die über die Darmschleimhaut aufgenommenen Allergene können zudem Bindegewebsmastzellen in der Haut und in den subkutanen Geweben aktivieren und so zu sekundären, dermatologischen Symptomen wie z.B. asaisonalen Juckreiz oder bakteriellen Infektionen der Haut führen (JANEWAY *et al.* 2005, TIZARD 2013b).

Die Futtermittelintoleranz ist eine nicht immunvermittelte Reaktion auf eine Futterkomponente (z.B. Disaccharide wie Laktose) oder ein im Futter enthaltenes Additiv (z.B. Farbstoffe) (HILLIER und GRIFFIN 2001, SUTER 2006, TIZARD 2013b). Die Symptome treten bereits beim ersten Kontakt mit dem auslösenden Agens, d.h. ohne eine vorhergehende Sensibilisierung auf und werden u.a. durch metabolische bzw. idiosynkratische (z.B. Enzymmangel, Rohfasermangel, genetisch bedingte Störungen wie z.B. Kupfer-assoziierte chronische Hepatitis), pharmakologische (z.B. Methylxanthine wie Koffein und Theobromin) oder toxische Faktoren (z.B. durch Verunreinigung mit Bakterien

und Pilzen) hervorgerufen (DAY 2005b, SUTER 2006, VERLINDEN *et al.* 2006). Eine pseudoallergische und mitunter anaphylaktische Reaktion kann durch die Aufnahme von Futter mit einem hohen Histamingehalt (z.B. verdorbener Thunfisch) oder einem hohen Gehalt an Substanzen hervorgerufen werden, welche eine Histaminfreisetzung durch die nicht-IgE-vermittelte Mastzelldegranulation bewirken können (z.B. Krustentiere, Erdbeeren) (GERMAN und ZENTEK 2006, VERLINDEN *et al.* 2006). Eine klare Unterscheidung dieser verschiedenen Mechanismen kann erschwert sein, da Überlappungen möglich sind (VERLINDEN *et al.* 2006).

Die Futtermittelintoleranz stellt im eigentlichen Sinne keine Erkrankung mit entzündlichem Geschehen dar. Die Zuordnung dieser Krankheitsform zu den Futter-responsiven Enteropathien und damit einhergehend zu den chronisch-entzündlichen Enteropathien erfolgt lediglich auf der Grundlage, dass eine Futtermittelintoleranz klinisch nicht von einer Futtermittelallergie zu unterscheiden ist und auch das diagnostische und therapeutische Vorgehen identisch sind (ALLENSPACH und GASCHEN 2003, HALL und GERMAN 2010). Eine Differenzierung der beiden Krankheitsformen wird in der alltäglichen Praxis folglich kaum und zumeist unpräzise durchgeführt (HILLIER und GRIFFIN 2001, LLOYD 2006, SUTER 2006, VERLINDEN *et al.* 2006). Im allgemeinen Sprachgebrauch ist es daher üblich, Begriffe zu verwenden, die beide Krankheitsformen beinhalten: „Futtermittelunverträglichkeit“ (engl. *Adverse Food Reaction*, AFR) oder - bei Betonung der gastrointestinalen Problematik - „Futter-responsive Diarrhoe (FRD)“ bzw. „Futter-responsive Enteropathie (FRE)“. Letzterer wird in dieser Schrift verwendet.

Antibiotika-responsive Enteropathie (ARE)

Antibiotika-responsive Enteropathien (ARE) werden wie die idiopathische Inflammatory Bowel Disease zu den idiopathischen gastrointestinalen Erkrankungen gezählt (FOGLE und BISSETT 2007). Charakteristisch für Individuen mit ARE ist, dass für die chronisch gastrointestinalen Symptome keine eindeutige Ursache zu finden ist (= idiopathisch) und die betroffenen Patienten sich unter einer Therapie mit Antibiotika - meist in Kombination mit einer hochverdaulichen, hypoallergenen Diät - klinisch merklich verbessern (GERMAN 2013).

Bisher wurde für diese Gruppe der chronisch-entzündlichen Enteropathien der Begriff „idiopathische bakterielle Überwucherung des Dünndarmes“ (*small intestinal bacterial overgrowth*, SIBO) verwendet. SIBO, auch bezeichnet als intestinale Dysbiose, ist definiert als eine unkontrollierte Vermehrung von Bakterien im Dünndarm, welche sich häufig sekundär zu anderen zugrundeliegenden Erkrankungen (z.B. Exokrine Pankreasinsuffizienz, Darmobstruktion) klinisch manifestiert (ALLENSPACH und GASCHEN 2003, GERMAN 2013). Aktuelle Studien zu Folge ist weniger von einer quantitativen, sondern vielmehr von einer qualitativen Veränderung der Darmflora auszugehen, die sowohl den Dünndarm als auch den Dickdarm betreffen kann und sich in einer reduzierten Diversität sowie der

Anreicherung bestimmter entzündungsfördernder Bakterienspezies widerspiegelt (XENOULIS *et al.* 2008, ALLENSPACH *et al.* 2010, SUCHODOLSKI 2011, SUCHODOLSKI *et al.* 2012a, SUCHODOLSKI *et al.* 2012b, HONNEFFER *et al.* 2014). Bei einer idiopathischen Dysbiose konnte keine zugrundeliegende Ursache identifiziert werden (GERMAN 2013) und es ist bislang nicht geklärt, ob die *per definitionem* beschriebene Veränderung der intestinalen Mikrobiota tatsächlich die Ursache der gastrointestinalen Symptome ist (GERMAN *et al.* 2003a) oder ob es sich auf Grund der immunmedierten Pathogenese - ähnlich der FRE - um eine milde bzw. frühe Form der idiopathischen IBD handeln könnte (GERMAN *et al.* 2000b, GERMAN *et al.* 2001). GERMAN *et al.* (2003a) empfehlen, den Begriff der ARE in den Fällen zu verwenden, deren chronisch gastrointestinale Symptome sich unter Antibiotikatherapie, nicht aber unter einer alleinigen Eliminationsdiät verbessern und für die nach intensiver diagnostischer Aufarbeitung keine zugrundeliegende Ursache identifiziert werden konnte. WESTERMARCK *et al.* (2005) prägten in ihren Studien ferner den Begriff *Tylosin-responsive Enteropathie* bzw. *Tylosin-responsiver Durchfall (TRD)*, wenn sich die gastrointestinalen Symptome nach Therapie mit dem Makrolid-Antibiotikum Tylosin verbesserten und die Individuen nach Absetzen des Antibiotikums wiederholt Rezidive zeigten. Es ist davon auszugehen, dass die TRD eine Form der ARE ist (WESTERMARCK *et al.* 2005, GERMAN 2013) und so wird in dieser Schrift, wie von GERMAN *et al.* (2003a) empfohlen, allgemein der Begriff ARE verwendet.

Idiopathische Inflammatory Bowel Disease (IBD)

Die „chronisch-entzündliche idiopathische Enteropathie“ (*Inflammatory Bowel Disease*, IBD) beschreibt ein Syndrom, das - klinisch einer FRE und ARE gleichend - mit persistierenden oder rezidivierenden, gastrointestinalen Symptomen einhergeht und histopathologisch durch Entzündungen der Darmschleimhaut gekennzeichnet ist, die sowohl im Magen, Dün- oder Dickdarm vorliegen können und deren zugrundeliegende Ursache nicht gefunden werden kann (HALL und GERMAN 2010). Beim Menschen sind hier vor allem die Erkrankungen Morbus Crohn (*Crohn's Disease*) und ulzerative Kolitis (*Ulcerative Colitis*) zu nennen (STANGE *et al.* 2006, STANGE *et al.* 2008, HALL und GERMAN 2010).

Der histologische Nachweis von Entzündungszellen in der Darmschleimhaut wurde in der Vergangenheit als wesentliches Kriterium zur Diagnosestellung einer idiopathischen IBD definiert und dient gleichzeitig der Klassifizierung, welche anhand des Zelltyps und der Lokalisation im Magen-Darm-Trakt erfolgt (STANGE *et al.* 2006, STANGE *et al.* 2008, HALL und GERMAN 2010). Lymphozyten, Plasmazellen und eosinophile Granulozyten sind die dominierenden entzündlichen Infiltrate beim Hund und werden häufig im Dünndarm (Enteritis) oder diffus im Magen-Darm-Trakt (Gastroenterocolitis) nachgewiesen (CAVE 2003, JERGENS *et al.* 2003, CRAVEN *et al.* 2004, MCCANN *et al.* 2007, HALL und GERMAN 2010, EQUILINO *et al.* 2014, TORESSON *et al.* 2016). Die häufigste Form der idiopathischen IBD des Hundes ist die lymphoplasmazelluläre (Gastro-) Enteritis, wobei

Mischformen mit eosinophilen Granulozyten ebenso häufig vorkommen (JERGENS *et al.* 1992, JERGENS *et al.* 2003, CRAVEN *et al.* 2004, MCCANN *et al.* 2007, HALL und GERMAN 2010, EQUILINO *et al.* 2014). Nachfolgend ist die eosinophile (Gastro-) Enteritis zu nennen (CRAVEN *et al.* 2004, HALL und GERMAN 2010, TORESSON *et al.* 2016), bei der ätiopathogenetisch vor allem Hypersensitivitätsreaktionen gegenüber luminalen Antigenen vermutet werden (SUTER 2006). Granulomatöse (regionale), neutrophile oder proliferative Enteritiden sind seltenere Formen und bakterielle Erreger werden hier als mögliche Ursachen diskutiert (HALL *et al.* 2013).

Das schrittweise therapeutische Vorgehen ist essentiell, um eine idiopathische IBD von einer FRE oder ARE zu unterscheiden, da diese histopathologisch nicht voneinander differenziert werden können (ALLENSPACH 2007, SCHREINER *et al.* 2008). Hunde mit einer idiopathischen IBD sprechen weder auf die Therapie mit einem Antiparasitikum, einer Eliminationsdiät noch auf die zusätzliche Gabe von Antibiotika vollständig an (JERGENS *et al.* 1992, JERGENS 1999, ALLENSPACH 2010). In diesen Fällen ist die Therapie mit entzündungshemmenden (anti-inflammatorischen) und/oder immunsuppressiven Medikamenten indiziert. Je nach therapeutischem Erfolg spricht man von einer Steroid-responsiven (SRE) bzw. allgemein Immunsuppressiva-responsiven Enteropathie (IRE) oder auch Therapie-refraktären idiopathischen IBD bzw. Nicht-responsiven Enteropathie (NRE) (STANGE *et al.* 2006, STANGE *et al.* 2008, ERDMANN und HEILMANN 2017). Bei Therapieversagen ist differenzialdiagnostisch stets eine neoplastische Ursache wie das intestinale Lymphom zu berücksichtigen (HALL und GERMAN 2010).

2.3.2 Pathogenese

Die Pathogenese chronisch-entzündlicher Enteropathien ist bisher nicht vollständig geklärt. Basierend auf einer Vielzahl an Studien an Tiermodellen sowie beim Menschen und domestizierten Tieren sind neben genetischen Komponenten 3 wesentliche Faktoren hervorzuheben, deren komplexe Interaktion für die Aufrechterhaltung der intestinalen Homöostase essentiell ist und deren Störungen in einem *Circulus vitiosus* unkontrollierter Entzündungsreaktionen münden können (JERGENS 1999, GERMAN *et al.* 2003b, LIEBICH 2004, ALLENSPACH 2010, HALL und GERMAN 2010, SUCHODOLSKI 2011, TIZARD 2013a):

- ✓ eine intakte Darmschleimhaut als physikalische und chemische Barriere gegenüber Pathogenen und luminalen Antigenen (u.a. durch die gastrointestinale Peristaltik, feste Zellverbindungen und hohe Regenerationsfähigkeit des Darmepithels, unspezifische bakterizide und bakteriostatische Wirkung der Schleimschicht),
- ✓ eine stabile kommensale Darmmikrobiota, die u.a. die pathogene Keimbesiedlung kompetitiv hemmt und über die Produktion von kurzkettigen Fettsäuren (*short-chain*

LITERATUR

fatty acids, SCFA) wie Butyrat die Integrität des Darmepithels stärkt und die Produktion anti-inflammatorischer Zytokine induziert,

- ✓ eine adäquate Immunantwort des Darm-assoziierten Immunsystems (*gut-associated lymphoid tissue*, GALT) gegenüber luminalen Antigenen, welches auf einem Zusammenwirken der unspezifischen (angeboren, *innate*) und spezifischen (erworben, *adaptive*) Immunabwehr basiert.

Das GALT, welches sämtliche lymphoretikulären Zellsysteme der Darmschleimhaut umfasst und flächenmäßig das größte immunologische Organ des Körpers darstellt, besitzt eine selektive Abwehr- und Barrierefunktion, die sich einerseits durch die lokal begrenzte, protektive Immunantwort gegenüber Pathogenen (Parasiten, Bakterien, Viren, Pilze) und andererseits durch die Initiation einer systemischen Toleranz gegenüber harmlosen Antigenen der kommensalen Darmflora und der Nahrung auszeichnet (KÖHNE *et al.* 1999, LIEBICH 2004, HALL und GERMAN 2010).

Die Anreicherung der Darmschleimhaut mit Immunzellen der unspezifischen (Monozyten, Makrophagen, Mastzellen, neutrophile und eosinophile Granulozyten) und spezifischen Immunabwehr (T- und B-Lymphozyten bzw. Plasmazellen) ist der morphologische Ausdruck ständig ablaufender immunzellulärer Reaktionsketten (LIEBICH 2004). Diese werden in einem gesunden Darm als „physiologische Entzündungen“ beschrieben und sind in der Regel selbstlimitierend, d.h. sie klingen ab, sobald das auslösende Agens durch eine adäquate Immunantwort eliminiert wurde (FIOCCHI 2005). T-Helferzellen (Th) sind eine Subpopulation der T-Lymphozyten und übernehmen zusammen mit B-Lymphozyten und dendritischen Zellen wichtige Funktionen in der antigenspezifischen Immunantwort des GALT (HEILMANN und SUCHODOLSKI 2015). T-Helferzellen exprimieren auf ihrer Zelloberfläche den Marker CD4 (*cluster of differentiation*) und werden anhand ihres charakteristischen Zytokinprofils u.a. in die Subtypen Th1, Th2, Th17 und T_{REG} unterschieden. Welche dieser Immunantworten ausgelöst wird, hängt von verschiedenen Faktoren wie dem auslösenden und zu eliminierenden Agens, der Antigen-präsentierenden Zelle (dendritische Zellen, Makrophagen, B-Zellen), dem lokalen Zytokinmilieu sowie dem exprimierten Transkriptionsfaktor ab (TIZARD 2013c, HEILMANN und SUCHODOLSKI 2015). In Gegenwart von Interleukin (IL)-4, dessen Sekretion u.a. durch Parasiten heraufreguliert wird, differenzieren naive T-Zellen vorzugsweise zu Th2. Aktivierte Th2 induzieren über die Sekretion von IL-4, IL-5 und IL-13 die humorale Immunantwort, in dem sie B-Lymphozyten anregen, antigenspezifische Antikörper (Immunglobuline; insbesondere Isotyp IgE) zu produzieren. Th2 rekrutieren weitere Entzündungszellen wie Eosinophile, Basophile und Mastzellen und unterdrücken ferner Th1 und Th17 Immunantworten. Intrazelluläre Pathogene wie z.B. Viren und Mykobakterien veranlassen naive T-Zellen, zu Th1 zu differenzieren. Der Stimulus hierfür ist IL-12. Aktivierte Th1 sezernieren IL-2 sowie die pro-inflammatorischen Zytokine Interferon-(IFN)- γ , Tumornekrosefaktor-(TNF)- α und Lymphotoxin (TNF- β) und vermitteln über diese u.a. Hypersensitivitätsreaktionen vom verspäteten Typ sowie die Rekrutierung und Aktivierung von Makrophagen, natürlichen Killer-Zellen (NK-Zellen) und zytotoxischen T-Zellen. Die Differenzierung von naiven T-Zellen

zu Th17 wird durch ein Zytokingemisch aus IL-6, TGF- β (*transforming-growth-factor beta*), IL-21 und IL-23 induziert, wobei IL-23 hierfür von größter Bedeutung zu sein scheint. Aktivierte Th17 produzieren IL-17, IL-21 und IL-22, rekrutieren u.a. neutrophile Granulozyten und spielen eine entscheidende Rolle in der protektiven Immunabwehr extrazellulärer Gram-negativer Bakterien und Pilze (ALLENSPACH 2010, TIZARD 2013c).

Orale Toleranz ist ein wichtiger physiologischer Schutzmechanismus und beschreibt im Allgemeinen das Unvermögen des Immunsystems, auf luminale Antigene systemisch zu reagieren (KÖHNE *et al.* 1999, DAY 2005b). Dies kann über verschiedene Mechanismen wie klonale Anergie (Nicht-Reaktion von T-Effektorzellen auf Grund der fehlenden Kostimulation der T-Zellrezeptoren), Deletion antigenspezifischer Lymphozyten (durch Apoptose) sowie durch eine aktive Immunsuppression erreicht werden (KÖHNE *et al.* 1999, DAY 2005b, TIZARD 2013d). Regulatorische T-Zellen (T_{REG}), welche eine Subpopulation der $CD4^+$ T-Effektorzellen darstellen, besitzen eine zentrale Funktion in der Immunregulation und der Aufrechterhaltung der Immunhomöostase, d.h. der Balance zwischen aktiven Immunabwehrreaktionen und der Toleranz unschädlicher Antigene (einschließlich Autoantigene) (ALLEZ und MAYER 2004, TIZARD 2013d). T_{REG} sind über die Produktion immunregulatorischer Zytokine (IL-10, TGF- β und IL-35) in der Lage, antigenspezifische, pro-inflammatorische Immunantworten zu unterdrücken und eine Fehlaktivierung von T-Effektorzellen durch inkorrekt präsentierte Antigene oder Selbstantigene (Autoantigene) zu unterbinden (TIZARD 2013d). Über die von T_{REG} sezernierten Zytokine wird zudem die spezifische antikörpergebundene, intestinale Immunabwehr induziert (LIEBICH 2004, TIZARD 2013a). So werden B-Lymphozyten, bzw. die sich aus ihnen differenzierenden Plasmazellen, angeregt, lokal antigenspezifische Antikörper (Immunglobuline, Ig) vom Isotyp IgA zu produzieren (ALLENSPACH und GASCHEN 2003). Sekretorisches IgA ist der in der gesunden Darmschleimhaut und im Darmlumen vorherrschende Isotyp, da dieser widerstandsfähig gegenüber proteolytischen Sekreten ist (LIEBICH 2004, TIZARD 2013a). Die wichtigste Abwehrfunktion dieser sekretorischen IgA ist die Immunexklusion, d.h. sie verhindern die Anheftung von Mikroorganismen auf der Darmschleimhaut, agglutinieren Bakterien und neutralisieren luminale Antigene (einschließlich Viren und Toxine), womit die IgA-vermittelte Immunabwehr entscheidend zum Erhalt der oralen Toleranz beiträgt (LIEBICH 2004, TIZARD 2013a).

Dysregulationen des Immunsystems und der damit einhergehende Verlust der oralen Toleranz gegenüber luminalen Antigenen spielen die zentrale Rolle in der multifaktoriellen Pathogenese chronisch-entzündlicher Darmerkrankungen und äußern sich in einer Imbalance zwischen pro-inflammatorischen (z.B. IFN γ und TNF α) und anti-inflammatorischen, immunregulatorischen Zytokinen (IL-10, TGF β) sowie Chemokinen, welche die Rekrutierung der Immunzellen in die Darmschleimhaut bewirken (DUCHMANN *et al.* 1995, JERGENS 1999, GERMAN *et al.* 2000b, GERMAN *et al.* 2001, ALLENSPACH und GASCHEN 2003, GERMAN *et al.* 2003b, JANEWAY *et al.* 2005, UHLIG und POWRIE 2005, HEILMANN und SUCHODOLSKI 2015).

Während bei der humanen IBD häufiger eine Th1- (Morbus Crohn) oder Th2-Polarisation (Ulzerative Kolitis) beschrieben wurde (PAPADAKIS und TARGAN 2000), konnte bei Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien keine klare Th1-/Th2- oder Th17-Polarisation anhand der exprimierten Zytokine identifiziert werden (GERMAN *et al.* 2000b, RIDYARD *et al.* 2002, PETERS *et al.* 2005, SAUTER *et al.* 2007, DE MAJO *et al.* 2008, JERGENS *et al.* 2009, SCHMITZ *et al.* 2012, KOLODZIEJSKA-SAWERSKA *et al.* 2013, OKANISHI *et al.* 2013a, OHTA *et al.* 2014, TAMURA *et al.* 2014, SCHMITZ *et al.* 2015).

Die initiale Auslösung des Ungleichgewichts zwischen T-Helfer- und Suppressormechanismen ist weitestgehend unklar und zudem individuell verschieden (KÖHNE *et al.* 1999). Qualitative Veränderungen der endogenen Mikrobiota hin zu entzündungsfördernden Spezies (Dysbiose, siehe 2.3.1 ARE) sowie die primäre oder sekundäre Infektion mit einem Pathogen (Parasiten, Bakterien, Viren, Pilze), welcher die Darmschleimhaut direkt schädigt oder im Organismus persistiert, kommen als Auslöser in Betracht und tragen zur Perpetuation der unkontrollierten Entzündungsreaktionen bei (RADEKE und RESCH 1999, CAVE 2003, PACKEY und SARTOR 2008, HALL und GERMAN 2010, BURET und BHARGAVA 2014). Richten sich die überschießenden Immunantworten nicht nur gegen das Fremdartigen selbst, sondern in Folge einer Kreuzreaktivität auch gegen körpereigene Strukturen, kann es zur Entstehung von Autoantikörpern kommen. Diese Autoimmunantworten werden auch dann noch unterhalten, wenn das auslösende Agens bereits eliminiert wurde („Danger Theory“) (MATZINGER 1994, RADEKE und RESCH 1999).

Polymorphismen in der Expression von epithelialen *Pattern-recognition* Rezeptoren (PRR), welche spezifische Marker pathogener, aber auch kommensaler Mikroorganismen erkennen (*Pathogen-associated molecular patterns*, PAMP), werden als eine genetische Ursache der unkontrollierten Entzündungsreaktionen diskutiert (siehe 2.3.3) (GERMAN *et al.* 2003b, HALL und GERMAN 2010, KATHRANI *et al.* 2012). Während PRR-exprimierende intestinale Epithelzellen in einem gesunden Darm die Proliferation von Suppressor-T-Zellen wie T_{REG} stimulieren, führt ein primärer Defekt in der Erkennung von kommensalen und pathogenen Antigenen durch das angeborene Immunsystem zu einer Aktivierung von T-Helferzellen (KÖHNE *et al.* 1999).

Die verstärkte Sekretion von pro-inflammatorischen Zytokinen wie IFN γ und TNF α beeinflusst die Integrität der Darmschleimhaut, indem diese z.B. die Expression wichtiger Zellmembranproteine (wie E-Cadherin, Claudin, α -Catenin) stark herunterregulieren oder eine frühzeitige Apoptose des Darmepithels (TNF α) herbeiführen (GITTER *et al.* 2000, PACKEY und SARTOR 2008, BURET und BHARGAVA 2014). Die daraus resultierende erhöhte intestinale Permeabilität wie sie bei chronisch-entzündlichen Enteropathien häufig beobachtet wird (KATZ *et al.* 1989, HALL und BATT 1991, RUTGERS *et al.* 1995b, RUTGERS *et al.* 1996, SORENSEN *et al.* 1997, ALLENSPACH *et al.* 2006c, KOBAYASHI *et al.* 2007), verstärkt wiederum die Entzündungsreaktion, indem Mikroorganismen und Nahrungsantigene leichter das Darmepithel penetrieren und das immunologische

Gleichgewicht auf Grund der lokalen „Antigenüberflutung“ destabilisieren (KATZ *et al.* 1989, FIOCCHI 1998, ALLENSPACH und GASCHEN 2003, KOBAYASHI *et al.* 2007).

Bei chronischen Entzündungsgeschehen wird die initial ausgelöste Immunreaktion durch viele Sekundärreaktionen überlagert (RADEKE und RESCH 1999). Sowohl beim Hund als auch beim Menschen ist somit davon auszugehen, dass die vorherrschenden entzündlichen Reaktionen je nach Erkrankungsstadium variieren und der Verlust der regulatorischen Mechanismen von zentraler Bedeutung in der immunmedierten Pathogenese zu sein scheint (DESREUMAUX *et al.* 1997, GERMAN *et al.* 2000b, HALL *et al.* 2013).

Verschiedene Studien an Tiermodellen und beim Menschen zeigten auf, dass die Depletion oder ein funktioneller Defekt (z.B. in der Aktivierung) der T_{REG} zu autoimmunen bzw. unkontrollierten entzündlichen Erkrankungen führen können (ALLEZ und MAYER 2004, UHLIG und POWRIE 2005, BUCKNER 2010, GARDEN *et al.* 2011, TIZARD 2013d). In einer erst kürzlich veröffentlichten Studie von Reissig und Kollegen (2017) konnte gezeigt werden, dass eine Erhöhung des Onkogens Bcl-3 in der Darmschleimhaut Auslöser der starken Entzündungsreaktionen bei der ulzerativen Kolitis des Menschen ist. Dieses Protein blockiert den Transkriptionsfaktor p50, der für die Aktivierung der T_{REG} zuständig ist (REISSIG *et al.* 2017). JUNGINGER *et al.* (2012) postulieren, dass diese spezialisierten Immunzellen auch bei Hunden mit IBD pathogenetisch von Bedeutung sind. Sie evaluierten, dass Hunde mit IBD im Vergleich zu gesunden Kontrolltieren eine reduzierte T_{REG} Anzahl in der Darmschleimhaut aufweisen. Diese Hypothese wird durch weitere Studien bei Hunden mit IBD unterstützt, in denen nachgewiesen wurde, dass die intestinale Expression CD11c⁺ dendritischer Zellen, welche als Antigen-präsentierende Zellen die T_{REG} Expansion und Homing induzieren, ebenfalls reduziert ist (KATHRANI *et al.* 2011b, JUNGINGER *et al.* 2014). Depletion oder auch funktionelle Defekte der T_{REG} spiegeln sich in einer reduzierten Expression immunregulatorischer Zytokine und daraus resultierend in einem relativen oder absoluten Mangel sekretorischer IgA wider und führen zu einem funktionellen Verlust der immunologischen Darmschleimhautbarriere (BATT *et al.* 1991, WILLARD *et al.* 1994, GERMAN *et al.* 2000a, OLSSON *et al.* 2014). Eine verminderte Apoptose intestinaler Lymphozyten (sog. Apoptoseresistenz) wurde ebenfalls beschrieben, welche morphologisch durch die Ansammlung von aktiven CD4⁺ T-Effektorzellen gekennzeichnet und Ausdruck des Verlustes immunregulatorischer Mechanismen ist (NEURATH *et al.* 2001, DANDRIEUX *et al.* 2008).

Die unkontrollierten Entzündungsreaktionen führen folglich zu histopathologischen Veränderungen der Darmschleimhaut und damit einhergehend zu digestiven und immunologischen Funktionsverlusten des betroffenen Darmepithels sowie zu Veränderungen der endogenen Mikrobiota, die wiederum die Darmschleimhaut direkt schädigen kann (SUTER 2006, HALL und GERMAN 2010, HONNEFFER *et al.* 2014). Ein Circulus vitiosus ist die Folge (ALLENSPACH und GASCHEN 2003, SUTER 2006). Die schwergradige Schädigung der Darmschleimhaut sowie die Ausweitung der Entzündungsreaktionen auf die intestinalen Lymphgefäße kann zu einer sekundären Lymphangiektasie und folglich zum nicht-selektiven Verlust von Proteinen über die Darmschleimhaut führen (sog.

Proteinverlustenteropathie, PLE), welche sowohl bei einer FRE, ARE oder IBD vorkommen kann (HALL und GERMAN 2010, SCHMITZ *et al.* 2013). Aszites, periphere Ödeme oder Thoraxerguss sind neben einer ausgeprägten Hypoalbuminämie bzw. Panhypoproteinämie hinweisend für diese Komplikation chronisch-entzündlicher Enteropathien (HALL und GERMAN 2010).

2.3.3 Prävalenz und genetische Prädispositionen

Die Prävalenz chronisch-entzündlicher Enteropathien bei Hunden mit gastrointestinalen Symptomen ist bisher nicht bekannt. Eine allgemeine Schätzung für Futtermittel-assoziierte Erkrankungen liegt bei weniger als 1% der Hundepopulation (DAY 2005a). Diese Schätzung basiert auf Studien bei Hunden mit dermatologischen Symptomen, welche bei Futtermittel-assoziierten Erkrankungen weitaus häufiger beschrieben werden als gastrointestinale Symptome (CHESNEY 2002, ALLENSPACH und GASCHEN 2003). Angaben zur Häufigkeit von Futtermittel-assoziierten Erkrankungen bei Hunden mit dermatologischen Symptomen variieren je nach Studienaufbau und Studienpopulation von $\leq 10\%$ bis 35% (KUNKLE und HORNER 1992, CHESNEY 2001, CHESNEY 2002, LOEFFLER *et al.* 2004, LLOYD 2006, LOEFFLER *et al.* 2006), von denen bis zu zwei Drittel zusätzliche gastrointestinale Symptome aufweisen können (PATERSON 1995, CHESNEY 2002, LOEFFLER *et al.* 2004). Der Anteil der Nahrungsmittel-assoziierten gastrointestinalen Allergien beim Menschen wird auf 1-4% der Bevölkerung geschätzt (MARTIN und RESCH 2009), wobei diese häufiger bei Kindern, seltener bei Erwachsenen beobachtet werden (SAMPSON und BURKS 1996). In einer Studie bei 55 Katzen mit chronisch gastrointestinalen Symptomen zeigten insgesamt 27 Katzen (49%) eine klinische Besserung nach Futterumstellung. Eine Futtermittelallergie als Ursache der chronischen gastrointestinalen Symptomatik wurde bei 16 der 55 Katzen (29%) vermutet (GUILFORD *et al.* 2001). Einige Autoren definieren die Präsenz dermatologischer Symptome sowie die Entwicklung eines Rezidivs nach diätetischer Provokation als Kriterien für ein allergisches Geschehen (GUILFORD *et al.* 2001, LOEFFLER *et al.* 2004, SUTER 2006, ZIMMER *et al.* 2011). Da bisher keine standardisierten Kriterien zur Unterscheidung einer nicht-immunvermittelten von einer immunvermittelten Reaktion vorliegen, ist zu diesem Zeitpunkt nicht bekannt, inwiefern gastrointestinale Symptome häufiger durch Intoleranzen als durch „reine“ Futtermittelallergien hervorgerufen werden (HANNUKSELA und HAAHTELA 1987, DAY 2005a).

Erste unerwünschte Reaktionen auf Futtermittel treten - wie auch beim Menschen (SAMPSON und BURKS 1996) - bereits bei sehr jungen Hunden auf (oft jünger als 1 Jahr) (LOEFFLER *et al.* 2004, VERLINDEN *et al.* 2006, ZIMMER *et al.* 2011). Studien bei Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien berichteten, dass Hunde mit einer FRE jünger waren und auch geringere Schweregrade aufwiesen als jene mit einer idiopathischen entzündlichen Darmerkrankung (ALLENSPACH *et al.* 2006c, ALLENSPACH *et al.* 2007, HALL und GERMAN 2010). Statistisch signifikante Geschlechtsprädispositionen wurden bei Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien bisher nicht nachgewiesen, allerdings

scheinen einige Rassen wie z.B. Weimaraner, Deutscher Schäferhund, Rottweiler, Border Collie und Boxer prädisponiert zu sein (HALL und GERMAN 2010, KATHRANI *et al.* 2011c).

Mit Futtermittelunverträglichkeiten assoziierte Rasseprädispositionen wurden beim Irischen Setter beschrieben, der, ähnlich der Zöliakie des Menschen, eine hereditäre Unverträglichkeit mit Antikörperbildung gegenüber bestimmten Getreideproteinen aufweist (Gluten-sensitive Enteropathie, GSE) (HALL *et al.* 1992, POLVI *et al.* 1998, GARDEN *et al.* 2000). Schwere Verlaufsformen chronisch-entzündlicher Enteropathien, die häufig mit dem Verlust von Serum-Proteinen in das Darmlumen einhergehen (PLE), wurden vor allem bei Schäferhunden, Shar-Peis, Basenji, Norwegischem Lundehund, Soft-Coated Wheaten Terrier, Yorkshire Terrier sowie Rottweiler beschrieben (FLESJA und YRI 1977, BREITSCHWERDT *et al.* 1982, HAYDEN und VANKRUININGEN 1982, BREITSCHWERDT *et al.* 1984, LITTMAN *et al.* 2000, VADEN *et al.* 2000, BERGHOFF 2006, VADEN 2008, DIJKSTRA *et al.* 2010, GRUTZNER *et al.* 2010, DOSSIN und LAVOUE 2011, STRODA *et al.* 2012).

Antibiotika-responsive Enteropathien wurden ebenfalls bei verschiedenen Rassen beschrieben, jedoch scheint auch hierfür der Deutsche Schäferhund besonders anfällig zu sein (BATT *et al.* 1983, RUTGERS *et al.* 1995a, RUTGERS *et al.* 1996, WESTERMARCK *et al.* 2005, ALLENSPACH *et al.* 2010). Polymorphismen spezifischer Oberflächenrezeptoren des Darmepithels, welche die Interaktion kommensaler sowie pathogener Bakterien mit der Darmschleimhaut kontrollieren (*Pattern Recognition* Rezeptoren wie *Toll-like* Rezeptoren, TLR, und *Nucleotide Oligomerisation Domainlike* Rezeptoren, NOD), wurden als genetische Grundlage für die individuell verschiedenen und abnormalen Immunantworten gegenüber kommensalen Bakterien identifiziert (BURGENER *et al.* 2008, KATHRANI *et al.* 2010, MCMAHON *et al.* 2010, KATHRANI *et al.* 2011a, KATHRANI *et al.* 2012). Ferner wird vermutet, dass ein relativer oder absoluter Mangel an sekretorischem IgA ätiopathogenetisch von Bedeutung sein könnte (BATT *et al.* 1991, WILLARD *et al.* 1994, GERMAN *et al.* 2000a, OLSSON *et al.* 2014). Eine Korrelation zwischen der Anzahl IgA-positiver Plasmazellen in der Darmschleimhaut und beschriebener Polymorphismen des Flagellin-spezifischen *Toll-like* Rezeptors 5 (TLR5), dessen Aktivierung die Reifung von B-Zellen und deren Klassenwechsel zu IgA-produzierenden Plasmazellen veranlasst, wurde jedoch nicht nachgewiesen (LEE *et al.* 2015).

Die histiozytäre, ulzerative Kolitis (*Histiocytic ulcerative colitis*, HUC, auch als granulomatöse Kolitis bezeichnet) ist ein Syndrom, welches ebenfalls der ARE zuzuordnen ist und klinisch mit starkem Gewichtsverlust, Tenesmus und blutigem Durchfall einhergeht und überwiegend junge Boxer, aber auch Hunderassen wie Französische und Englische Bulldogge und Mastiff betrifft (STOKES *et al.* 2001, HOSTUTLER *et al.* 2004, SIMPSON *et al.* 2006, MANCHESTER *et al.* 2012). HUC unterscheidet sich histopathologisch von anderen chronisch-entzündlichen Enteropathien dahingehend, dass Makrophagen mit *Periodic-Acid-Schiff*-(PAS)-positiven zytoplasmatischen Vakuolen in tieferen Schichten der Dickdarmschleimhaut wie der Lamina muscularis akkumulieren und im Krankheitsverlauf die Submukosa sowie über Lymphgefäße die Darm-assoziierten Lymphknoten drainieren

(GOMEZ *et al.* 1977). Die Makrophagen genetisch prädisponierter Hunde werden hierbei durch adhäsive und invasive *E.coli* Bakterien (kurz AIEC) infiltriert, die auf Grund eines genetischen Defektes einer Untereinheit (*Neutrophil Cytosolic Factor 2*) des Nicotinamadenindinukleotidphosphat-Oxidase-Komplexes nicht eliminiert werden können (SIMPSON *et al.* 2006, CRAVEN *et al.* 2010a, DOGAN *et al.* 2012). Eine klinische und histologische Remission ist nur durch die effektive Eradikation der *E.coli* Bakterien möglich und kann derzeit nur durch die Therapie mit Antibiotika wie Enrofloxacin erreicht werden (DAVIES *et al.* 2004, HOSTUTLER *et al.* 2004, MANSFIELD *et al.* 2009, CRAVEN *et al.* 2010b, MARKS *et al.* 2011, MANCHESTER *et al.* 2012).

2.3.4 Diagnostik

Diagnostisches Vorgehen⁴

Die diagnostische Abklärung gastrointestinaler Symptome umfasst bei Erstvorstellung die Erhebung des **Signalements** (Rasse, Alter, Geschlecht) sowie die Aufnahme eines ausführlichen **Vorberichtes** und eine umfassende **klinische Untersuchung** (HALL 1999, SUTER 2006).

Diese ersten Untersuchungen ermöglichen die Beurteilung der Krankheitsdauer (akut, chronisch), des Allgemeinzustandes (gut oder mäßig, mittelgradig bzw. hochgradig reduziert) bzw. Schweregrades der Erkrankung, des Ernährungszustandes (Body Condition Score, BCS) und eine Abschätzung der Lokalisation des Krankheitsgeschehens (2.1).

Anhand dieser Informationen kann entschieden werden, inwiefern eine Notfalltherapie (z.B. parenterale Flüssigkeits- und Elektrolytsubstitution bei vermindertem Hydrationszustand) und welche weiterführenden diagnostischen Schritte notwendig sind (SUTER 2006). In der Abbildung 2 ist ein allgemeines Schema zur systematischen Vorgehensweise bei Hunden mit gastrointestinalen Symptomen dargestellt.⁴

Während akuter Durchfall und Erbrechen in den meisten Fällen binnen weniger Tage selbstlimitierend sind und bei gutem Allgemeinbefinden oder offensichtlicher Ursache keiner systematischen Abklärung, sondern lediglich einer symptomatischen oder bei bekannter Ursache einer spezifischen Therapie bedürfen (HALL und GERMAN 2010), ist die Diagnostik bei chronischem Krankheitsverlauf oftmals sehr umfangreich, kostspielig sowie langwierig und erfordert daher vom Besitzer ein hohes Maß an Geduld und Kooperation (sog. Compliance) (TAPP *et al.* 2002, ALLENSPACH und GASCHEN 2003, ALLENSPACH *et al.* 2004, STURGESS 2005, SUTER 2006).

⁴ Anmerkung: Wesentliche Textpassagen, Tabellen und Abbildungen wurden vorab in CVE Kleintier, 1/2015: Seiten 1-20 (ISSN: 1863-7906) publiziert.

Chronisch-entzündliche Enteropathien sind Ausschlussdiagnosen. Unabhängig des Allgemeinzustandes bei Vorstellung und unabhängig des Schweregrades der chronischen Erkrankung müssen vorab alle anderen primären gastrointestinalen sowie sekundären extra-gastrointestinalen Ursachen ausgeschlossen werden (Tabelle 3)⁵. Neben der klinischen Untersuchung beinhaltet die detaillierte Abklärung daher eine parasitologische Untersuchung des Kots (Flotation, Giardien-ELISA [*Enzyme-linked Immunosorbent Assay*]), eine ausführliche hämatologische, blutchemische und serologische Untersuchung, eine Harnanalyse sowie bildgebende Untersuchungen wie Röntgen (ggf. mit Kontrastmittel wie Bariumsulfat) und Ultraschall (HALL 1999).

Bei Patienten mit mittelgradig bis hochgradig gestörtem Allgemeinbefinden sowie bei Verdacht auf mechanische oder neoplastische Ursachen sollte unverzüglich eine endoskopische Untersuchung des Gastrointestinaltraktes oder Laparotomie mit histopathologischer Untersuchung der dabei entnommenen Darmbiopsien durchgeführt werden (Abbildung 2).

Eine mikrobiologische Kotuntersuchung auf spezifische Keime (z.B. *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., *Yersinia* spp.) sowie Enterotoxine (z.B. *Clostridia perfringens*-Enterotoxin, *Clostridia difficile* Toxin A und B) ist vor allem bei anhaltenden wässrigen und blutigen Durchfällen indiziert (MATZ und GUILFORD 2003, HALL und GERMAN 2010, MARKS *et al.* 2011, JERGENS und SIMPSON 2012).

Bei blutigen und/oder therapieresistenten Durchfällen sollte ebenfalls eine zytologische Untersuchung der Rektumschleimhaut (Probenentnahme mittels Zytobrush und anschließende DiffQuick®-Färbung des Zellausstriches) durchgeführt werden, um eine Protothekose auszuschließen (RIBEIRO *et al.* 2009, ALLENSPACH 2010).

Die chronisch-entzündlichen Enteropathien FRE, ARE und IBD sind sowohl klinisch als auch mittels gängiger bildgebender und labordiagnostischer Verfahren nicht voneinander zu unterscheiden (ALLENSPACH und GASCHEN 2003, CRAVEN *et al.* 2004, LUCKSCHANDER *et al.* 2006, MARTIN und RESCH 2009, WILLARD 2014). Die Untersuchungen liefern jedoch entscheidende Informationen, um alle anderen primären und sekundären Ursachen chronisch gastrointestinaler Symptome auszuschließen und den Schweregrad der Erkrankung besser einzuschätzen (JERGENS und SIMPSON 2012).

Die histopathologische Untersuchung von Darmbiopsien mit Nachweis entzündlicher Infiltrate wurde bisher als ein wesentliches Kriterium zur Diagnose einer IBD und damit zur Abgrenzung dieser von einer FRE und ARE herangezogen (JERGENS *et al.* 1992, GUILFORD 1996, JERGENS 1999, CRAVEN *et al.* 2004). Da in nahezu der Hälfte der Fälle keine auffälligen histopathologischen Veränderungen zu verzeichnen sind (HALL und GERMAN 2010) und sich die genannten Erkrankungen auch histopathologisch kaum

⁵ Anmerkung: Tabelle 3 wurde vorab in CVE Kleintier, 1/2015: Seiten 1-20 (ISSN: 1863-7906) publiziert.

unterscheiden (ALLENPACH 2007, SCHREINER *et al.* 2008), ist dieses diagnostische Verfahren weniger zur Unterscheidung der chronisch-entzündlichen Enteropathien untereinander, sondern vielmehr zum Ausschluss einer neoplastischen Ursache heranzuziehen (ALLENPACH *et al.* 2007, GASCHEN *et al.* 2008).

Tabelle 3: Übersicht zur schrittweisen Abklärung chronischer gastrointestinaler Symptome bei Hunden.

(Adaptiert nach DOSSIN (2008) und STEINER (2011))

1	Signalement
2	Ausführliche Anamnese inkl. vorhergehender und aktueller Krankengeschichte
3	Allgemeine und spezielle klinische Untersuchung
4	Ausschluss sowie Behandlung infektiöser Ursachen
5	Ausschluss sekundärer extra-gastrointestinaler Ursachen
6	Schrittweise (mehrwöchige) Probetherapie*: Diät→Antibiose→Immunsuppressiva
7	Diagnose und spezifische Therapie der primären gastrointestinalen Ursache

*Wenn nicht kontraindiziert (z.B. mittelgradig bis hochgradig reduziertes Allgemeinbefinden, Panhypoproteinämie oder Verdacht auf mechanische oder neoplastische Ursache). Dann Endoskopie/ Laparotomie der Probetherapie vorziehen.

Die Diagnosestellung einer FRE, ARE oder IBD erfolgt derzeit retrospektiv nach Ausschluss aller anderen gastrointestinalen und extra-gastrointestinalen Ursachen und folglich - wie aus der Bezeichnung der einzelnen Differenzialdiagnosen hervorgeht - anhand des (Nicht-) Ansprechens auf die etwaige Therapie mit einer Eliminationsdiät, Antibiotika oder Immunsuppressiva (ALLENPACH 2007, HALL und GERMAN 2010). Initial sollte eine sog. diagnostische Entwurmung durchgeführt werden, um eine mögliche, mittels Kotuntersuchung nicht identifizierte Infektion mit Endoparasiten auszuschließen (GERMAN und ZENTEK 2006, HALL und GERMAN 2010). Die Probetherapien sind somit wesentlicher Teil der Abklärung und sollten idealerweise schrittweise nacheinander erfolgen (WILLARD 2014). Dies ist vor allem bei Hunden mit ungestörtem oder mäßig reduziertem Allgemeinbefinden möglich. Bei schwergradig erkrankten Hunden und z.B. PLE ist eine zügige Behandlung mit Immunsuppressiva indiziert (Abbildung 2) (BISSETT 2009).

Der Goldstandard zur Diagnostik einer FRE ist die Umstellung auf eine Eliminationsdiät und eine sich anschließende Provokation mit dem vorhergehenden Futter bzw. mit einzelnen Komponenten (MANDIGERS und GERMAN 2010, CAVE 2013). Methoden wie z.B. intradermale oder gastroscopische Allergietests sowie serologische Untersuchungen spezifischer IgE- und IgG-Antikörper können in Einzelfällen ergänzende Informationen liefern (ZENTEK 2011a), sind allgemein aber sehr unzuverlässig, im Alltag nicht praktikabel oder kommerziell nicht verfügbar (DAY 2005a, LLOYD 2006, VERLINDEN *et al.* 2006,

LITERATUR

MANDIGERS und GERMAN 2010). Eine tabellarische Übersicht dieser Verfahren und deren Literaturverweise ist in der folgenden Tabelle 4 aufgeführt:

Tabelle 4: Literaturverweise zu verschiedenen Testmethoden, die für Diagnostik und Monitoring Futter-responsiver Enteropathien zu Teilen wenig praktikabel oder kommerziell nicht verfügbar sind.

Methode	Publikationen
IgE- (und IgG-) ELISA	JEFFERS <i>et al.</i> (1991), VADEN <i>et al.</i> (2000), GUILFORD <i>et al.</i> (2001), FOSTER <i>et al.</i> (2003), JACKSON <i>et al.</i> (2003), ISHIDA <i>et al.</i> (2004), ZIMMER <i>et al.</i> (2011), BETHLEHEM <i>et al.</i> (2012)
Intradermale Hauttests	JEFFERS <i>et al.</i> (1991), KUNKLE und HORNER (1992), JACKSON <i>et al.</i> (2003), ISHIDA <i>et al.</i> (2004), BETHLEHEM <i>et al.</i> (2012)
Histopathologie	GUILFORD <i>et al.</i> (2001), ALLENSPACH (2007), ALLENSPACH <i>et al.</i> (2007), SCHREINER <i>et al.</i> (2008)
Gastroskopischer Allergietest	GUILFORD <i>et al.</i> (1994), VADEN <i>et al.</i> (2000), GUILFORD <i>et al.</i> (2001)
Gastrointestinale Permeabilität	ALLENSPACH <i>et al.</i> (2006c)
<i>In vitro</i> Lymphozyten-Stimulationstest	ISHIDA <i>et al.</i> (2004) (<i>kommerziell nicht verfügbar</i>)

Neuere Methoden wie die kolonoskopische Provokation mit Allergenen (ALLENSPACH *et al.* 2006d), die Untersuchung des mesenterialen Blutflusses mittels Dopplersonografie (KIRCHER *et al.* 2004, GASCHEN und KIRCHER 2007, GASCHEN *et al.* 2008), die Bestimmung zirkulierender Autoantikörper im Serum (*Perinuclear Anti-Neutrophilic Cytoplasmic Autoantibodies*, pANCA) (LUCKSCHANDER *et al.* 2006) oder auch des MDR1 - (*multiple drug resistance*) - Gens in Dünndarmbiopsien (GREGER *et al.* 2006) weisen einen potenziellen Nutzen in der Diagnostik einer FRE auf, sind jedoch noch nicht hinreichend untersucht worden und können ferner eine an das Individuum angepasste Eliminationsdiät nicht ersetzen (JEFFERS *et al.* 1991, JERGENS und MAY 2008).

Eine Eliminationsdiät zeichnet sich dadurch aus, dass alle Futtermittelkomponenten vermieden werden, die im Verdacht stehen, bei dem betreffenden Individuum Symptome auszulösen (CAVE 2013). Die hochverdauliche, Antigen-limitierte Eliminationsdiät, welche idealerweise nur eine Kohlenhydrat- sowie eine Proteinquelle enthält, kann eine kommerziell erwerbliche oder selbstgekochte „*Novel Protein*“ Diät oder eine Diät mit hydrolysierten Proteinen (meist Huhn oder Soja) sein (GUILFORD 1994, STURGEES 2005, SUTER 2006, ALLENSPACH 2010). Wichtig für die Wahl einer geeigneten Eliminationsdiät ist eine detaillierte Fütterungsanamnese mit Dokumentation aller bisher gefütterten Protein-, Fett-

und Kohlenhydratquellen (CAVE 2006, CAVE 2013). Bei Dickdarmdurchfall haben sich zudem rohfasernereicherte Diäten bewährt (GUILFORD 1994, LEIB 2000).

Ein Ansprechen auf die Diät wird als **Futter-responsive Enteropathie (FRE)** bezeichnet. Eine erste Verbesserung der gastrointestinalen Symptome ist häufig innerhalb der ersten 2 Wochen nach Futterumstellung zu beobachten, eine vollkommene klinische Besserung kann jedoch bis zu 6-8 Wochen dauern und die Diät sollte mindestens 3-4 Wochen über diesen Zeitraum hinaus strikt ohne Zufütterung anderer Futter, Leckerlis und Futterzusatzstoffe durchgeführt werden (BALLAUF 1993, GUILFORD 1994, WILLS und HARVEY 1994, WHITE 1998, ALLENSPACH und GASCHEN 2003, ALLENSPACH *et al.* 2006c, SUTER 2006, WILLARD 2014). Bei Hunden mit dermatologischen Symptomen wie persistierendem asaisonaalem Juckreiz, sollte die Eliminationsdiät für mindestens 8-10 Wochen durchgeführt werden, um eine Futtermittelallergie auszuschließen bzw. dessen Verdacht zu bestätigen (ROSSER 1993, WHITE 1998).

Nach dieser Zeit wird zur Diagnosestellung allgemein eine Provokationsdiät empfohlen, um symptomauslösende Proteine oder Komponenten zu identifizieren (BALLAUF 1993, WHITE 1998). Sollten Hunde unter der Provokation erneut Symptome zeigen, wird häufig von einer „Futter-sensitiven“ an Stelle allgemein von einer „Futter-responsiven“ Enteropathie gesprochen (BISSETT 2009). Besitzer sind in Anbetracht des zu erwartenden negativen Effektes jedoch nur selten zu einem Provokationstest bereit und so erscheint diese Methode wenig praktikabel (LEISTRA *et al.* 2001, ALLENSPACH und GASCHEN 2003, STURGESS 2005, GERMAN und ZENTEK 2006).

Bei fehlender oder ungenügender Besserung unter der Eliminationsdiät sollte eine andere Diät in Betracht gezogen werden oder zusätzlich zur Diät eine entsprechende antibiotische Probetherapie folgen (BISSETT 2009). Im Rahmen dieser Probetherapie werden häufig Metronidazol oder Tylosin verwendet. Ein Ansprechen auf die Therapie, welche ebenfalls über mehrere Wochen durchgeführt wird (mindestens 2-3 Wochen, bei Besserung weitere 4-6 Wochen), wird als **Antibiotika-responsive Enteropathie (ARE)** bezeichnet (BISSETT 2009). Die quantitative Bakterienkultur von Duodenalflüssigkeit galt zunächst als der verlässlichste Test, um eine Dysbiose zu diagnostizieren (MATZ und GUILFORD 2003). Die bei Hunden etablierten Referenzwerte werden von einigen Autoren jedoch stark hinterfragt und zudem ist diese Nachweismethode invasiv, technisch sehr aufwendig und folglich auch sehr teuer (MATZ und GUILFORD 2003). Weitere nicht-invasive Verfahren wie die Bestimmung von Cobalamin, Folsäure und unkonjugierten Gallensäuren im Serum können auf eine Dysbiose hinweisen, jedoch besitzen diese Testmethoden nur eine geringe Spezifität und Sensitivität (BATT und MORGAN 1982, MASCLEE *et al.* 1989, RUTGERS *et al.* 1995a, MELGAREJO *et al.* 2000, WALKLEY und NEIGER 2000, GERMAN *et al.* 2003a, SUCHODOLSKI und STEINER 2003).

Bei fehlender oder unzureichender klinischer Besserung unter Diät und Antibiose erhärtet sich der Verdacht einer **idiopathischen IBD** und eine Therapie mit entzündungshemmenden und/oder immunsupprimierenden Medikamenten ist indiziert (Glukokortikoide wie

LITERATUR

Prednisolon, ggf. in Kombination mit einem weiteren Immunsuppressivum wie Ciclosporin) (JERGENS 1999, BISSETT 2009). Bei Hunden mit schwerem Krankheitsverlauf sowie Proteinverlustenteropathie wird die immunsuppressive Therapie bereits initial, ohne die schrittweise Probetherapie mit Diät und Antibiotika, empfohlen (BISSETT 2009). Sollte bis zu diesem Zeitpunkt keine histopathologische Untersuchung von Darmbiopsien durchgeführt worden sein, so ist diese zur Abklärung einer möglichen neoplastischen Ursache wie dem intestinalen Lymphom indiziert und sollte idealerweise vor Einleitung der immunsuppressiven Therapie und unter Anwendung von standardisierten Entnahme- und Beurteilungskriterien erfolgen (Abbildung 2) (DAY *et al.* 2008, GASCHEN *et al.* 2008, WILLARD *et al.* 2008, WASHABAU *et al.* 2010).

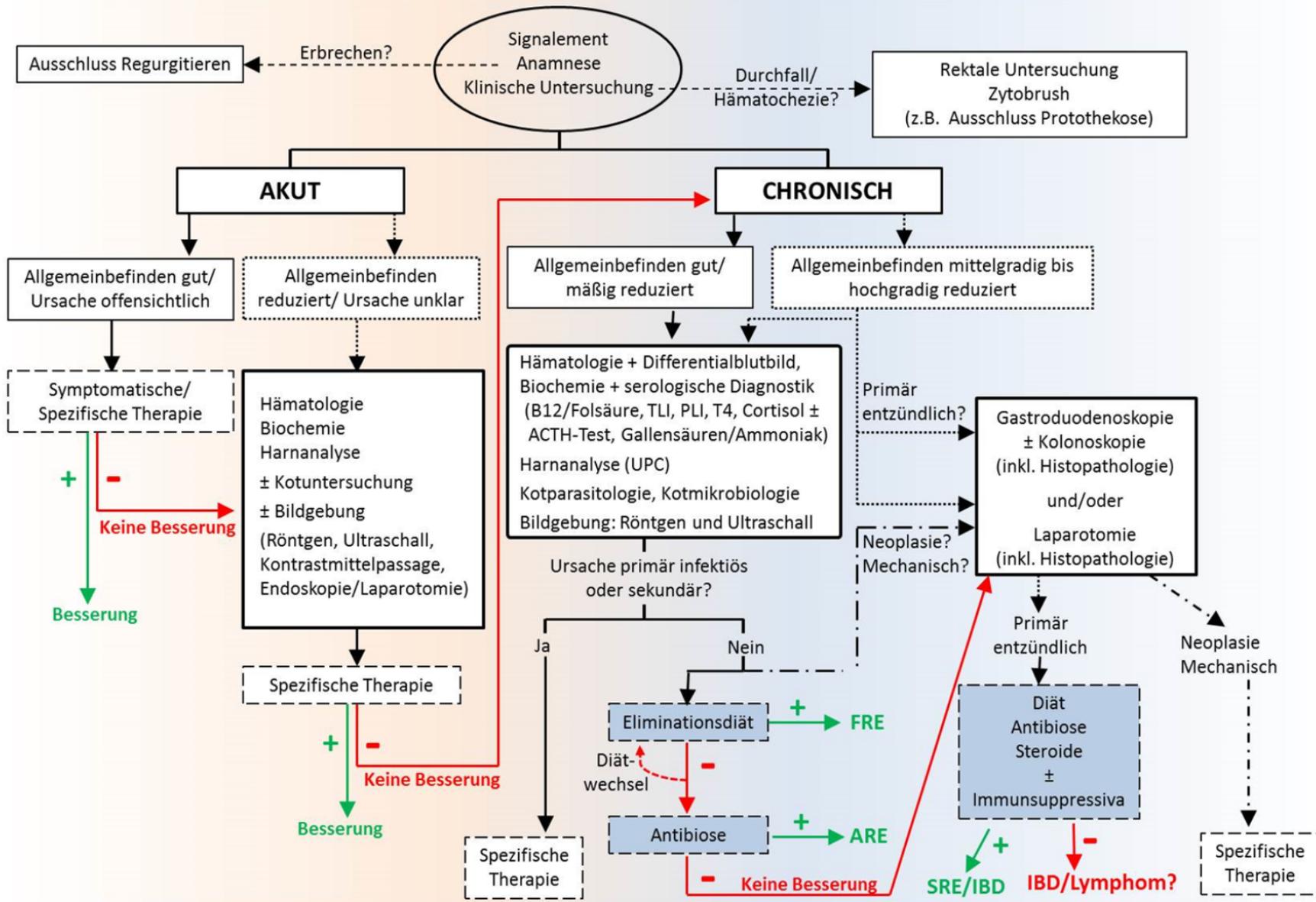
Abbildung 2: Diagnostisches Vorgehen bei Hunden und Katzen mit gastrointestinalen Symptomen.

(Adaptiert nach RICHTER *et al.* (2008), HALL und GERMAN (2010) und MARKS (2013))

B12, Vitamin B₁₂ (Cobalamin); TLI, Trypsin-like Immunoreactivity Test, PLI, canine Pankreatische Lipase; ACTH-Test, Adrenokortikotropes Hormon Stimulationstest; UPC, Urin-Protein/Urin-Kreatinin-Verhältnis; FRE, Futter-responsive Enteropathie; ARE, Antibiotika-responsive Enteropathie; SRE, Steroid-responsive Enteropathie; IBD, idiopathische Inflammatory Bowel Disease.

Anmerkung: Diese Abbildung wurde vorab in CVE Kleintier, 1/2015: Seiten 1-20 (ISSN: 1863-7906) publiziert.

LITERATUR



Methoden und Biomarker mit diagnostischem oder prognostischem Nutzen

Die Erfassung des Krankheitsschweregrades mittels eines etablierten **klinischen Scoring Indices** unterstützt die allgemeine Abklärung und kann dem behandelnden Tierarzt frühzeitig als Entscheidungshilfe für eine individuell angepasste Therapie dienen. Auch die Beurteilung des Krankheitsverlaufes einschließlich des therapeutischen Erfolges ist mittels eines adäquaten klinischen Scores bei chronischem Krankheitsgeschehen möglich (WALMSLEY *et al.* 1998, JERGENS 2004, MUNSTER *et al.* 2006, RYCHLIK *et al.* 2012). Sowohl der CIBDAI (*Chronic Inflammatory Bowel Disease Activity Index*) nach JERGENS *et al.* (2003), als auch der CCECAI (*Canine Chronic Enteropathy Clinical Activity Index*) nach ALLENSPACH *et al.* (2007) basieren auf der abgestuften Bewertung (null bis drei Punkte) und anschließenden Summation einzelner klinischer Parameter wie Aktivität, Appetit, Erbrechen, Kotkonsistenz, Kotabsatzfrequenz und Gewichtsverlust. In verschiedenen Studien konnte gezeigt werden, dass eine hochgradige Hypoalbuminämie (**Serum-Albumin-Konzentration** unter 2,0 g/L) mit einem erhöhten Krankheitsschweregrad und einer schlechten Prognose assoziiert ist (CRAVEN *et al.* 2004, ALLENSPACH *et al.* 2007). Der alleinige Nachweis einer Hypoalbuminämie reicht allerdings nicht aus, um den Schweregrad korrekt einzuschätzen, kann aber in Kombination mit klinischen und weiteren labordiagnostischen Parametern wie Cobalamin und canine pankreatische Lipase die Erfassung des Schweregrades und Beurteilung des Krankheitsverlaufes sinnvoll ergänzen (MUNSTER *et al.* 2006, ALLENSPACH *et al.* 2007, KATHRANI *et al.* 2009). Da die Konzentration des Serum-Albumins routinemäßig in der tierärztlichen Praxis bestimmt wird, kann dieser Parameter zeitnah in die Beurteilung des Schweregrades einfließen. Der CCECAI ist eine Erweiterung des CIBDAI und berücksichtigt neben der Serum-Albumin-Konzentration zusätzlich die klinischen Parameter Aszites/Ödeme und Juckreiz (ALLENSPACH *et al.* 2007). Obgleich der CCECAI Serum-Albumin als labordiagnostischen Parameter einschließt, basieren die Indices auf einer subjektiven Beurteilung der klinischen Symptomatik durch den Besitzer und den behandelnden Tierarzt (COLLINS 2013) und eine mögliche Fehleinschätzung des Schweregrades muss berücksichtigt werden (MUNSTER *et al.* 2006). Die detaillierte Bestimmung der Indices ist in der Abbildung 4 dargestellt. Die Beurteilung des Schweregrades und des Krankheitsverlaufes kann ferner durch die Bestimmung des **Body Condition Score (BCS)** verbessert werden. In Abbildung 3 sind die Beurteilungskriterien des BCS anhand der Fünf-Punkte-Skala aufgeführt. Neben dieser wurden weitere Skalen wie die Sieben-Punkte- und die Neun-Punkte-Skala validiert, wobei letztere halbe Punkte verwendet und folglich mit der Fünf-Punkte-Skala korrespondiert (BURKHOLDER 2000, GERMAN *et al.* 2006, JEUSETTE *et al.* 2010).

Beim Menschen sowie bei Katzen konnte ein signifikanter Zusammenhang endoskopisch visualisierbarer Veränderungen der Darmschleimhaut mit dem klinischen Schweregrad identifiziert werden und so werden diese häufig in die Beurteilung der jeweiligen klinischen Indices einbezogen (POWELL-TUCK *et al.* 1982, SANDBORN *et al.* 2002, D'HAENS *et al.* 2007, JERGENS *et al.* 2010b). Die Berücksichtigung eines endoskopischen Scores im

klinischen Aktivitäts-Index zeigte bei Hunden keinen Vorteil gegenüber dem klinischen Index allein (ALLENSPACH *et al.* 2007). Ein signifikanter Zusammenhang des klinischen Aktivitätsindex und histopathologischen Entzündungsgrades wurde bei Menschen mit Morbus Crohn, nicht aber mit Ulzerativer Colitis beschrieben (STULIC *et al.* 2013). Auch beim Hund liegen hierzu unterschiedliche Ergebnisse vor: Während CRAVEN *et al.* (2004), ALLENSPACH *et al.* (2007) und ANFINSEN *et al.* (2014) keinen signifikanten Zusammenhang des **histopathologischen Entzündungsgrades** (HPEG) mit dem klinischen Schweregrad oder dem Krankheitsverlauf identifizieren konnten, weisen MUNSTER *et al.* (2006) und RYCHLIK *et al.* (2012) auf einen möglichen Nutzen der zusätzlichen Bestimmung des HPEG v.a. in Bezug auf die frühzeitige Einleitung bestimmter therapeutischer Maßnahmen wie Immunsuppressiva hin. Die ergänzende Bestimmung des HPEG ist nur dann von Nutzen, wenn eine kontinuierliche, standardisierte Verfahrensweise bei der Probenentnahme und der Beurteilung endoskopischer sowie histopathologischer Veränderungen gewährleistet wird (CRAVEN *et al.* 2004, DAY *et al.* 2008, WILLARD *et al.* 2008, WASHABAU *et al.* 2010). Inwiefern der klinische Schweregrad das entzündliche Geschehen im Gastrointestinaltrakt tatsächlich reflektiert, bleibt weitestgehend ungeklärt (COLLINS 2013). **P-Glykoprotein** ist ein Transmembranprotein, welches als Auswärtstransporter (Efflux-Pumpe) für Substrate wie Glukokortikoide fungiert und u.a. in der Membran von Darmepithelzellen und Lymphozyten exprimiert wird (THIEBAUT *et al.* 1987). ALLENSPACH *et al.* (2006a) konnten nachweisen, dass eine niedrige P-Glykoprotein Expression in Lamina Propria Lymphozyten vor Therapiebeginn mit einem positiven Therapieerfolg korrelierte, während Hunde mit einer bereits erhöhten P-Glykoprotein Expression keine klinische Besserung unter der Therapie mit dem Glukokortikoid Prednisolon zeigten. Die routinemäßige Bestimmung des HPEG oder auch P-Glykoproteins scheint bei Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien im Praxisalltag wenig zuträglich, da die histopathologischen Untersuchungen in einer Vielzahl der Fälle unauffällig sind (RUTGERS *et al.* 1996, BISSETT 2009, HALL und GERMAN 2010), eine klinische Besserung unter Therapie nicht immer mit einer signifikanten Verbesserung der histopathologischen Läsionen einhergeht (SANDBORN *et al.* 2002, CRAVEN *et al.* 2004, ALLENSPACH *et al.* 2006b, ALLENSPACH *et al.* 2006c, ALLENSPACH *et al.* 2007, SCHREINER *et al.* 2008), die initiale, aber auch wiederholte Entnahme von Darmbiopsien auf Grund der hohen Kosten sowie der Invasivität des Eingriffes in Vollnarkose in einzelnen Fällen nicht möglich ist (COLLINS 2013) und die histopathologische Untersuchung zudem entgegen der Empfehlungen zur schrittweisen Probetherapie bereits vor Therapiebeginn erfolgen müsste (DAY 2005a, ALLENSPACH 2007).

Die Evaluierung wenig- oder nicht-invasiver Methoden ist daher von großem diagnostischem und prognostischem Interesse. Hierbei treten vor allem statische Marker in den Vordergrund, die im Gegensatz zu dynamischen Markern keiner Applikation von stimulierenden oder inhibierenden Agentien, Metaboliten oder Medikamenten bedürfen, welche unerwünschte Nebenwirkungen hervorrufen können und zudem nach Applikation weitere Probenentnahmen erfordern (STEINER 2014). Zu den bei Hunden mit chronisch-

entzündlichen Enteropathien untersuchten und zu Teilen im Praxisalltag bereits etablierten statischen Markern gehören u.a. die serologischen Parameter Cobalamin, Folsäure, canine pankreatische Lipase und C-reaktives Protein sowie weitere in Serum oder Kot detektierbare (Entzündungs-) Marker wie S100A12, Calprotectin, N-Methylhistamin, pANCA und Alpha-1-Proteinase-Inhibitor, auf die im Folgenden noch genauer eingegangen werden soll.

Gastrointestinale Funktionstests zur Bestimmung der gastrointestinalen Permeabilität (z.B. Lactulose/Rhamnose Test) und Absorptionsfähigkeit der Darmschleimhaut (z.B. D-Xylose/3-O-Methylglukose Test) haben sich im Praxisalltag bisher nicht durchgesetzt und werden überwiegend im Rahmen klinischer Studien durchgeführt (STEINER *et al.* 2002, MARKS 2013). Obgleich eine Einschätzung des klinischen und histopathologischen Schweregrades mittels dieser Funktionstests nicht möglich ist (ALLENSPACH *et al.* 2006c), suggerieren einzelne Autoren einen möglichen praktischen Nutzen u.a. bei histopathologisch unauffälligen Hunden (RUTGERS *et al.* 1995b, RUTGERS *et al.* 1996, SORENSEN *et al.* 1997, KOBAYASHI *et al.* 2007) sowie als Screeningtest auf hereditäre Glutenunverträglichkeit bei juvenilen Irischen Settern (HALL und BATT 1991, GARDEN *et al.*

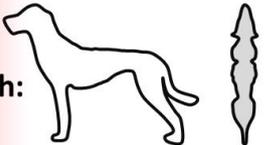
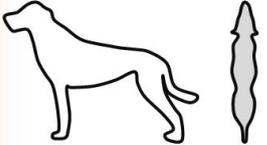
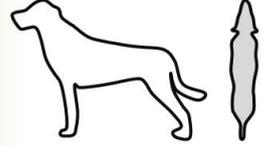
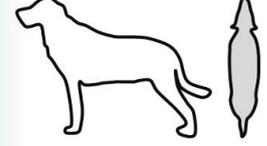
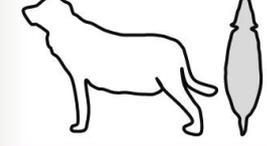
BCS 1 Dünn/Kachektisch:		<ul style="list-style-type: none"> • Rippen, Wirbelsäule und Beckenknochen gut zu sehen (auch aus der Distanz), • kein Körperfett, • deutlicher Verlust von Muskelmasse
BCS 2 Untergewichtig:		<ul style="list-style-type: none"> • Rippen gut sichtbar und tastbar, • Beckenknochen stehen hervor, • deutliche Taille und hochgezogene Bauchlinie
BCS 3 Idealgewicht:		<ul style="list-style-type: none"> • Rippen tastbar, • Taille von oben gut sichtbar, • leicht hochgezogene Bauchlinie
BCS 4 Übergewichtig:		<ul style="list-style-type: none"> • Rippen schwer tastbar, durch Fett überdeckt, deutliche Fetteinlagerungen auf Rücken/Schwanzansatz, • Taille kaum sichtbar
BCS 5 Adipös:		<ul style="list-style-type: none"> • Rippen sind nicht tastbar und massiv von Fett bedeckt, massive Fetteinlagerungen auf Rücken/ Schwanzansatz, • keine Taille, gerade Bauchlinie

Abbildung 3: Beurteilungskriterien des Body Condition Scores (BCS) in einer Fünf-Punkte-Skala nach CASE *et al.* (2000) und RADE (2009).

Zur Bestimmung des Ernährungszustands (Body Condition Score, kurz: BCS) werden die Hunde von der Seite und von oben betrachtet. Die Bewertungsskala reicht von 1 (dünn/kachektisch) bis 5 (adipös).

Anmerkung: Diese Abbildung wurde vorab in CVE Kleintier, 1/2015: Seiten 1-20 (ISSN: 1863-7906) publiziert.

LITERATUR

Canine chronic enteropathy activity index (CCECAI) nach Allenspach et al. (2007)	Canine inflammatory bowel disease activity index (CIBDAI) nach Jergens et al. (2003)	Aktivität	Normal	Ggr. ↓	Mgr. ↓	Hgr. ↓
		Appetit	Normal	Ggr. ↓	Mgr. ↓	Hgr. ↓
		Erbrechen	Kein	1x/Wo	2-3x/Wo	>3x/Wo
		Kotkonsistenz	Normal geformt	Weich ungeformt	Sehr weich Breiig	Wässrig
		Kotabsatzfrequenz	1x/Tag	2-3x/Tag	4-5x/Tag	>5x/Tag
		Gewichtsverlust	Kein	< 5%	5-10%	> 10%
	Albumin (g/L)	> 20	15-19,9	12-14,9	< 12	
	Aszites/ Periphere Ödeme	Kein	Ggr.	Mgr.	Hgr.	
	Juckreiz	Kein	Selten	Regelmäßig	Wacht davon auf	
	Bewertung (Punkte)	0	1	2	3	
	Auswertung ↓ Summe aller Einzelpunkte	0-3	Klinisch insignifikant			
		4-5	Milde Enteropathie			
6-8		Moderate Enteropathie				
9-11		Schwere Enteropathie				
≥ 12		Sehr schwere Enteropathie				

Abbildung 4: Bewertung des Schweregrades chronischer Enteropathien.

Diese basiert auf einzelnen klinischen Parametern des Canine Inflammatory Bowel Disease Activity Index (CIBDAI) nach JERGENS *et al.* (2003) bzw. dem erweiterten Canine Chronic Enteropathy Clinical Activity Index (CCECAI) nach ALLENSPACH *et al.* (2007), welcher eine Erweiterung des CIBDAI darstellt.

Anmerkung: Diese Abbildung wurde vorab in *CVE Kleintier*, 1/2015: Seiten 1-20 (ISSN: 1863-7906) publiziert.

Cobalamin (Vitamin B₁₂) und **Folsäure** (Vitamin B₉) sind wasserlösliche Vitamine, die über spezifische Rezeptoren im distalen bzw. proximalen Dünndarm resorbiert werden. In Folge einer infiltrativen entzündlichen oder neoplastischen Erkrankung des Dünndarms oder auch einer exokrinen Pankreasinsuffizienz kann es zur Malabsorption dieser Vitamine kommen, die bei chronischem Krankheitsverlauf u.a. die DNA Replikation der Enterozyten negativ beeinflussen und damit einhergehend das Ansprechen auf die diätetische oder medikamentelle Therapie mindern kann (BATT und MORGAN 1982, RUAUX *et al.* 2005, BATCHELOR *et al.* 2007, RUAUX 2008). Die Serum-Konzentrationen dieser Vitamine sind bei chronischem Krankheitsverlauf häufig verändert und können somit, nach Ausschluss einer exokrinen Pankreasinsuffizienz (SIMPSON *et al.* 1989, STEINER und WILLIAMS 1999, SUCHODOLSKI und STEINER 2003, RUAUX 2008), zur Funktionsanalyse des Dünndarms und Einschätzung der Lokalisation des Krankheitsgeschehens herangezogen werden (RUAUX 2008). Erniedrigte Serum-Konzentrationen weisen auf Erkrankungen des distalen (Cobalamin) bzw. proximalen (Folsäure) Dünndarms oder ein diffuses Krankheitsgeschehen hin (BATT und HORADAGODA 1989). Eine hochgradige Hypocobalaminämie (stark erniedrigte Serum-Cobalamin-Konzentration unter 200 pg/mL) wurde als negativer prognostischer Marker bei Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien sowie Hunden mit exokriner Pankreasinsuffizienz identifiziert und wurde mit einer Prävalenz von bis zu 73% beschrieben (ALLENSPACH *et al.* 2007, BATCHELOR *et al.* 2007, JERGENS *et al.* 2010a, BERGHOFF *et al.* 2013, TORESSON *et al.* 2016). Da viele Bakterien in der Lage sind, Cobalamin zu verwerten und Folsäure zu synthetisieren, kann eine Hypocobalaminämie mit einhergehender Erhöhung der Serum-Folsäurekonzentration auf eine intestinale Dysbiose hinweisen (BATT und MORGAN 1982, RUTGERS *et al.* 1995a, SUCHODOLSKI und STEINER 2003), die Sensitivität und Spezifität dieser Methode ist jedoch gering (RUTGERS *et al.* 1995a, WALKLEY und NEIGER 2000, GERMAN *et al.* 2003a). Einige Bakterien sind zudem in der Lage, Gallensäuren im Darmlumen enzymatisch zu dekonjugieren. Diese gelangen durch passive Diffusion in die Leber, wo sie im Gegensatz zu konjugierten Gallensäuren nur langsam abgebaut und folglich gebunden an Serum-Albumin im Blut zirkulieren (SCHIFF *et al.* 1972, SUCHODOLSKI und STEINER 2003). Eine erhöhte Konzentration von unkonjugierten Gallensäuren im Serum (**Serum Total Unconjugated Bile Acids**, kurz TUBA bzw. SUBA) kann daher auf eine erhöhte metabolische Aktivität der intestinalen Mikroflora und damit einhergehend auf eine Dysbiose hinweisen (MASCLEE *et al.* 1989, MELGAREJO *et al.* 2000), jedoch ist auch dieser Test bei Hunden nur wenig spezifisch (GERMAN *et al.* 2003a).

Die Bestimmung der **caninen pankreatischen Lipase Immunoreaktivität** (cPLI) im Serum ist aktuell der sensitivste und spezifischste serologische Test zur Diagnose einer Pankreatitis bei Hunden (STEINER 2003, TRIVEDI *et al.* 2011, STEINER 2014). Eine chronische Pankreatitis wurde sowohl beim Menschen als auch bei der Katze als extra-intestinale Manifestation chronisch-entzündlicher Enteropathien beschrieben und häufig bei schwergradigen Krankheitsverläufen beobachtet (BARTHET *et al.* 1999, SIMPSON *et al.* 2001, SIMPSON 2015). Auch bei Hunden mit FRE, ARE und IBD konnten erhöhte cPLI-

Konzentrationen im Serum nachgewiesen werden, die eine chronische Pankreatitis als extra-intestinale Manifestation vermuten lassen (KATHRANI *et al.* 2009). Bei Gegenüberstellung der verschiedenen Differenzialdiagnosen wiesen Hunde mit FRE häufiger normale cPLI-Werte auf als Hunde mit ARE oder IBD. Hunde mit IBD und erhöhter cPLI-Konzentration sprachen zudem kaum oder gar nicht auf die Therapie mit Steroiden an und wiesen insgesamt eine schlechtere Prognose auf als Hunde mit IBD und cPLI-Konzentrationen im Referenzbereich (KATHRANI *et al.* 2009).

C-Reaktives Protein (CRP) ist eines der wichtigsten Akute-Phase Proteine beim Menschen und beim Hund, dessen Synthese bei verschiedenen infektiösen oder entzündlichen Erkrankungen bis auf das 2000-fache hochreguliert sein kann (OKAMURA *et al.* 1990, CERON *et al.* 2005, COLLINS 2013). CRP agiert als ein Komplement-aktivierendes Oponin, induziert Phagozytose und übt als Molekül der angeborenen Immunabwehr auch eine Schutzfunktion gegenüber Autoimmunreaktionen aus (VERMEIRE *et al.* 2004). CRP ist ein sehr verlässlicher Entzündungsmarker bei Menschen mit Morbus Crohn sowie bei schwergradigen Verläufen mit ulzerativer Colitis, dessen Konzentration im Serum u.a. mit dem klinischen sowie endoskopischen Schweregrad und dem Krankheitsverlauf korreliert und zur Differenzierung gegenüber anderen gastrointestinalen Ursachen verwendet werden kann (VERMEIRE *et al.* 2004, SOLEM *et al.* 2005, STANGE *et al.* 2006, HENRIKSEN *et al.* 2008, STANGE *et al.* 2008). Auch bei Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien wurde v.a. bei mittel- bis schwergradigen Krankheitsverläufen eine moderate CRP-Reaktion beschrieben, die unter Therapie signifikant abnahm (JERGENS *et al.* 2003). In 5 weiteren Studien wiesen 7 von 33, 15 von 34, 10 von 16, 15 von 16 und 15 von 36 untersuchten Hunden mit überwiegend moderatem bis schwerem Krankheitsverlauf erhöhte CRP-Konzentrationen im Serum auf (ALLENSPACH *et al.* 2007, MCCANN *et al.* 2007, HEILMANN *et al.* 2012, BERGHOFF *et al.* 2014, EQUILINO *et al.* 2014). Eine positive Korrelation der Serum-CRP-Konzentration mit dem klinischen Schweregrad wurde ebenfalls beschrieben (HEILMANN *et al.* 2012, OLIVEIRA-BARROS *et al.* 2012), konnte aber nicht in allen Studien bestätigt werden (ALLENSPACH *et al.* 2007, MCCANN *et al.* 2007). In einzelnen Studien konnte eine Normalisierung der CRP-Konzentrationen unter Therapie gezeigt werden (ALLENSPACH *et al.* 2007, HEILMANN *et al.* 2012, BERGHOFF *et al.* 2014). Die Bestimmung der Serum-CRP-Konzentration bei Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien könnte im Verlauf der Therapie von prognostischem Nutzen sein (JERGENS *et al.* 2010a), jedoch sind zur Untersuchung dieser Hypothese weitere Studien erforderlich.

Die S100 Proteine **S100A12** und **Calprotectin**, ein Komplex aus S100A8 und S100A9, gehören zu einer Gruppe Calcium-bindender Proteine, die von verschiedenen Immunzellen (u.a. neutrophile Granulozyten) exprimiert werden (STEINER 2014). Beide Proteine sind sowohl im Serum als auch im Kot von Hunden nachweisbar (HEILMANN *et al.* 2008, HEILMANN *et al.* 2011, EQUILINO *et al.* 2014, HEILMANN *et al.* 2016a). Menschen mit IBD weisen eine erhöhte Calprotectin Konzentration im Stuhl auf, welche sowohl mit dem endoskopischen als auch mit dem histopathologischen Entzündungsgrad korreliert und einen

möglichen Rückfall spezifischer und früher anzeigen kann als die Serum-CRP-Konzentration oder der klinische Schweregrad (SCHOEPFER *et al.* 2009, FRAGA *et al.* 2012, BURRI *et al.* 2015, WRIGHT *et al.* 2015). Calprotectin ist ein verlässlicher Marker für neutrophile Entzündungsreaktionen (STEINER 2014) wie sie vor allem bei ulzerativer Colitis vorkommen (COSTA *et al.* 2005, STANGE *et al.* 2008). Studien bei Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien identifizierten vor allem bei schweren Krankheitsverläufen deutlich erhöhte Calprotectin- und S100A12-Konzentrationen (HEILMANN *et al.* 2012, GRELLET *et al.* 2013, HEILMANN *et al.* 2014). Die S100A12-Konzentration im Kot korreliert mit dem klinischen sowie dem endoskopischen Schweregrad, aber nicht mit dem HPEG (HEILMANN *et al.* 2014). Die Serum-Calprotectin-Konzentration korreliert mit der Serum-CRP-Konzentration (nicht signifikant), aber nicht mit dem klinischen Schweregrad oder dem HPEG (HEILMANN *et al.* 2012). Studien zum diagnostischen und prognostischen Nutzen dieser Parameter hinsichtlich einer möglichen Differenzierung der verschiedenen Formen chronisch-entzündlicher Enteropathien sowie der Beurteilung des Krankheitsverlaufes liegen bisher nicht vor.

Histamin ist einer der wichtigsten pro-inflammatorischen Mediatoren, der von aktivierten Mastzellen freigesetzt und auf Grund der geringen Stabilität relativ zügig zu **N-Methylhistamin** (NMH) und 1,4-Methylimidazol-Essigsäure metabolisiert wird (HE 2004, STEINER 2014). NMH kann sowohl im Serum, Kot als auch im Urin bestimmt werden (TAKEDA *et al.* 1995, RUAUX *et al.* 2009). Ein Konzentrationsanstieg reflektiert eine vermehrte Mastzellinfiltration und -aktivierung bei chronischen entzündlichen Prozessen (LOCHER *et al.* 2001, HE 2004, KLEINSCHMIDT *et al.* 2007) und wurde bei Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien, Norwegischen Lundehunden mit PLE und bei Schlittenhunden mit gastrointestinalen Ulzerationen beschrieben (BERGHOFF *et al.* 2008, BERGHOFF *et al.* 2010, ANFINSEN *et al.* 2014, BERGHOFF *et al.* 2014). BERGHOFF *et al.* (2014) identifizierten eine schwache bis moderate Korrelation der NMH-Konzentration im Urin mit der Serum-CRP-Konzentration sowie mit dem HPEG. Ein signifikanter Zusammenhang mit dem klinischen Schweregrad, dominierenden Entzündungszelltyp oder der Anzahl der Mastzellen in den Darmbiopsien lag nicht vor (ANFINSEN *et al.* 2014, BERGHOFF *et al.* 2014). ANFINSEN *et al.* (2014) weisen ferner auf einen möglichen prognostischen Nutzen der NMH-Bestimmung hin. So wurden bei Hunden, die auf eine Behandlung mit Immunsuppressiva angewiesen waren (IBD), deutlich geringere Infiltrationen der Darmschleimhaut durch Mastzellen nachgewiesen als bei Hunden, welche keine immunsuppressive Therapie benötigten (FRE und ARE).

Ein weiterer serologischer Marker, der von diagnostischem Nutzen sein könnte, ist der Autoantikörper pANCA (**Perinuclear Anti-Neutrophilic Cytoplasmic Autoantibodies**), welcher frequent bei Menschen mit ulzerativer Colitis und deutlich seltener bei Morbus Crohn nachgewiesen wurde (NAKAMURA und BARRY 2001, LINSKENS *et al.* 2002, ALLENSPACH *et al.* 2004). In einer ersten Studie bei Hunden identifizierten ALLENSPACH *et al.* (2004) pANCA als spezifischen, jedoch wenig sensitiven Marker zur Differenzierung einer IBD gegenüber anderen Ursachen chronischen Durchfalls. LUCKSCHANDER *et al.*

(2006) identifizierten bei Hunden mit FRE signifikant höhere pANCA-Titer vor Therapiebeginn als bei Hunden mit IBD und weisen daher auf einen möglichen Nutzen in der frühen Abklärung chronisch-entzündlicher Enteropathien hin. Zur Differenzierung einer IBD von einem intestinalen Lymphom scheinen die Autoantikörper jedoch wenig geeignet, obgleich pANCA bei Hunden mit IBD häufiger nachgewiesen werden konnte als bei Hunden mit intestinalem Lymphom (MANCHO *et al.* 2011). Ferner ist die Durchführung dieses nicht-invasiven Screening-Tests bei Hunden indiziert, die wie der Soft Coated Wheaten Terrier eine genetische Veranlagung für eine PLE aufweisen. In einer Studie von ALLENSPACH *et al.* (2008) konnte gezeigt werden, dass pANCA bei betroffenen Hunden bereits lange vor Auftreten klinischer Symptome nachzuweisen ist. Eine signifikante Korrelation des pANCA-Titers mit dem klinischen Schweregrad besteht nicht (OTONI *et al.* 2012).

Alpha-1-Proteinase-Inhibitor (α 1-PI) ist ein Marker für intestinalen Proteinverlust (MELGAREJO *et al.* 1998, BERGHOFF *et al.* 2014). Das Protein α 1-PI besitzt ein ähnliches Molekulargewicht wie Albumin, ist jedoch als Proteinase-Inhibitor resistent gegenüber dem Abbau durch proteolytische Enzyme im Darmlumen. Eine erhöhte α 1-PI-Konzentration im Kot ist ein Hinweis für den transmukosalen Verlust von Plasma, Lymphflüssigkeit oder interstitieller Flüssigkeit in das Darmlumen in Folge einer gastrointestinalen Erkrankung und kann bereits frühzeitig wichtige Informationen zum Vorliegen einer möglichen PLE liefern, noch bevor eine Hypoalbuminämie in Folge einer schwergradigen Erkrankung auftritt (MELGAREJO *et al.* 1998, MURPHY *et al.* 2003). In einer aktuellen Studie von HEILMANN *et al.* (2016b) konnte zudem gezeigt werden, dass sowohl die α 1-PI-Konzentration im Serum und Kot als auch deren Verhältnis zueinander die Unterscheidung von Hunden mit moderaten bis hochgradigen histopathologischen Veränderungen von jenen mit keinen oder milden Veränderungen erlaubt und somit den Schweregrad der histopathologischen Veränderung widerspiegelt. Eine Unterscheidung diätetischer, idiopathischer oder auch neoplastischer Ursachen ist mittels α 1-PI nicht möglich und kann daher die Probetherapien sowie histopathologische Untersuchung nicht ersetzen. Ein frühzeitiger Screening-Test auf α 1-PI kann jedoch hilfreich sein, das diagnostische Vorgehen v.a. bei Hunden abzuwägen, die (noch) keine Hypoalbuminämie aufweisen (MURPHY *et al.* 2003). So wäre bei einer erhöhten Konzentration α 1-PI im Kot die zügige histopathologische Untersuchung von Darmbiopsien indiziert, während bei Hunden mit normalen Konzentrationen unter Berücksichtigung weiterer Parameter (z.B. Schweregrad) eine Probetherapie angestrebt werden kann (MURPHY *et al.* 2003). Da die Probenentnahme und Lagerung sehr aufwendig sind, ist dieser Screening-Test im Praxisalltag nur schwer durchführbar (RUAUX 2008).

Zusammenfassend ist davon auszugehen, dass entzündliche Marker bei chronisch-entzündlichen Enteropathien mit schweren Krankheitsverläufen häufig abnormal sind (OTONI *et al.* 2012), obgleich nur wenige der beschriebenen Marker den klinischen Schweregrad bei Hunden reflektieren (S100A12, CRP) oder eine vorsichtige Prognose zulassen (Serum-Albumin, Serum-Cobalamin und cPLI). Die zuvor beschriebenen Marker reflektieren u.a. unspezifische Immunantworten (CRP), neutrophile Entzündungsreaktionen (S100 Proteine) und die Aktivierung von Mastzellen (NMH) (STEINER 2014). Keiner dieser

Marker erlaubt derzeit eine Unterscheidung der verschiedenen Formen chronisch-entzündlicher Enteropathien bei Hunden, obgleich einzelne Marker eine hohe Spezifität aufweisen. Weitere Studien bei Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien sind erforderlich, um den diagnostischen und prognostischen Nutzen einzelner Marker oder eine vorteilhafte Kombination verschiedener Marker zu eruieren, wie sie kürzlich bei Menschen mit Morbus Crohn und ulzerativer Colitis beschrieben wurde (FAUBION *et al.* 2013).

2.3.5 Therapie⁶

Gastrointestinale Symptome werden je nach Allgemeinzustand und Diagnose symptomatisch oder spezifisch (ätiologisch) behandelt. Bei einem akuten, aber auch bei einem chronischen Krankheitsverlauf mit einem akuten Schub steht die symptomatische Behandlung vorerst im Vordergrund. Diese umfasst je nach Dehydratisierungsgrad eine parenterale Hydratation und Elektrolytsubstitution, die Fütterung einer hochverdaulichen (Eliminations-) Diät und die Behandlung weiterer Symptome wie z.B. Erbrechen, Abdominalschmerz oder Inappetenz (SUTER 2006). Bei akuten, besorgniserregenden Befunden wie Fieber und blutigem Durchfall oder Erbrechen (z.B. bei einer akuten hämorrhagischen Gastroenteritis) wird häufig ein Antibiotikum wie Amoxicillin-Clavulansäure verabreicht (SUTER 2006, HALL und GERMAN 2010), dessen Einsatz bei aseptischen Hunden jedoch umstritten ist (UNTERER *et al.* 2011).

Bei chronischem Krankheitsgeschehen wird von einer rein symptomatischen Behandlung abgeraten, da ein vollständiger und vor allem langanhaltender Therapieerfolg ohne Kenntnis der Grunderkrankung nicht zu erzielen ist (SUTER 2006). Eine detaillierte Abklärung sollte daher - wie in Abbildung 2 aufgezeigt - der Behandlung vorausgehen (SUTER 2006, WILLARD 2014). Die Therapie chronisch-entzündlicher Enteropathien erfolgt empirisch durch schrittweises Vorgehen und ist im Wesentlichen - wie in 2.3.4 beschrieben - Bestandteil der Diagnostik. Unter Berücksichtigung der multifaktoriellen, immunmedierten Ätiopathogenese basiert die Standardtherapie auf einer hochverdaulichen Eliminationsdiät, welche je nach Symptomatik, Chronizität und Schweregrad mit immunmodulatorisch wirkenden Antibiotika (z.B. Tylosin, Metronidazol, Tetrazykline; bei HUC Enrofloxacin) oder Immunsuppressiva kombiniert wird (initial: Prednisolon; bei PLE z.B. Kombination mit Chlorambucil oder Azathioprin; bei Therapieversagen oder starken Nebenwirkungen: Budesonid, Ciclosporin A oder Mycophenolat Mofetil; bei Kolitis: 5-Aminosalicylate wie Sulfasalazin oder Olsalazin) (CAVE 2003, GERMAN *et al.* 2003b, CRAVEN *et al.* 2004, STURGESS 2005, MUNSTER *et al.* 2006, ALLENSPACH 2007, HALL und GERMAN 2010, WHITLEY und DAY 2011, DANDRIEUX *et al.* 2013, WILLARD 2014). Die bei chronisch-entzündlichen Enteropathien am häufigsten verwendeten Immunsuppressiva sind Glukokortikoide wie Prednisolon, welches ein- bis zweimal täglich appliziert und die Dosis

⁶ Wesentliche Textpassagen, Tabellen und Abbildungen wurden vorab in *CVE Kleintier*, 1/2015: Seiten 1-20 (ISSN: 1863-7906) publiziert.

nach einem Behandlungszeitraum von zwei bis vier Wochen schrittweise über mehrere Wochen bis Monate reduziert wird (MALEWSKA *et al.* 2011). Prednisolon wirkt dosisabhängig entzündungshemmend oder immunsuppressiv. Während die entzündungshemmenden Effekte u.a. auf die Stabilisierung der Zellmembranen verschiedener Immunzellen, Inhibition der Phospholipase A2 sowie Unterdrückung des Freisetzens pro-inflammatorisch wirkender Zytokine wie IL-1 und IL-6 zurückzuführen sind, sind die immunsuppressiven Effekte bei Hunden noch nicht hinreichend geklärt und basieren u.a. auf einer direkten Suppression der Funktion der T-Zellen (WHITLEY und DAY 2011). Nicht selten treten v.a. bei höheren Dosierungen unerwünschte systemische Nebenwirkungen wie z.B. iatrogener Hyperadrenokortizismus auf, aufgrund derer die Behandlung abgebrochen oder die Dosis stark reduziert werden muss (MALEWSKA *et al.* 2011). Ciclosporin A ist in der Veterinärmedizin zur Behandlung der atopischen Dermatitis bei Hunden zugelassen und stellt seit geraumer Zeit auch eine gängige Alternative bei Hunden mit idiopathischer, entzündlicher Enteropathie dar, die auf die immunsuppressive Dosierung von Glukokortikoiden oder anderen Immunsuppressiva nicht ansprechen oder zu starke Nebenwirkungen unter diesen zeigen (ALLENSPACH *et al.* 2006b, WHITLEY und DAY 2011). Ciclosporin A wirkt als Calcineurin-Inhibitor u.a. hemmend auf die Transkription von Genen, welche für die Aktivierung und klonale Proliferation von T-Zellen erforderlich sind (WHITLEY und DAY 2011). Obgleich Ciclosporin A im Allgemeinen gut toleriert wird, stellen die hohen medikamentellen Kosten vor allem bei großen Hunderassen nicht selten eine Herausforderung und Belastung für den Besitzer dar (MALEWSKA *et al.* 2011, WHITLEY und DAY 2011, ERDMANN und HEILMANN 2017).

Bei Hunden, die auf die Futterumstellung eine klinische Besserung und unter Provokation Rezidive zeigen, muss fortan auf das symptomauslösende Agens im Futter verzichtet werden (ALLENSPACH und GASCHEN 2003, CAVE 2013). Ebenso profitieren Hunde mit einer idiopathischen, entzündlichen Enteropathie von einer hochverdaulichen, Antigenlimitierten Diät, da Nahrungsmittelantigene wesentlich zur Pathogenese dieser Darmerkrankungen beitragen können (CAVE 2003, GERMAN *et al.* 2003b). Die Anforderungen an eine Eliminationsdiät wurden bereits unter 2.3.4 erläutert. Zunehmend werden kommerziell erhältliche Diäten mit hydrolysierten (enzymatisch aufgeschlossenen) Proteinen eingesetzt, die sich nicht nur durch ihre hohe Verdaulichkeit und ausgewogene Nährstoffzusammensetzung auszeichnen, sondern einzelnen darin enthaltenen Futterbestandteilen (z.B. Soya-Isoflavone) immunmodulatorische Effekte zugesprochen werden (CAVE 2003, MASILAMANI *et al.* 2012, SMITH und DILGER 2018). Die Anreicherung der Diät mit Omega-3-Fettsäuren wie Eicosapentaensäure (EPA) und Docosahexaensäure (DHA) könnte von Vorteil sein, da diese mehrfachungesättigten Fettsäuren die Synthese von pro-inflammatorischen Mediatoren und Zytokinen wie TNF α und IL-12 lokal und systemisch reduzieren und folglich Entzündungsreaktionen in der Darmschleimhaut gegensteuern können (GUILFORD 1994, WANDER *et al.* 1997, CAMUESCO *et al.* 2005, LEBLANC *et al.* 2007, ONTSOUKA *et al.* 2010). Der Effekt begründet sich u.a. darauf, dass die aus Omega-3-Fettsäuren synthetisierten Eicosanoide

LITERATUR

(Prostaglandin E3, Leukotrien B5) ein deutlich geringeres pro-inflammatorisches Potenzial besitzen als jene, die aus Omega-6-Fettsäuren synthetisiert werden (Prostaglandin E2, Leukotrien B4) (WANDER *et al.* 1997).

Jüngst wurden auch positive Effekte einer extrudierten, vegetarischen Diät auf die Stabilisierung der Darmflora bei Hunden mit FRE nachgewiesen (BRESCIANI *et al.* 2017). Basierend auf der Erkenntnis, dass Veränderungen der Darmmikrobiota einen wesentlichen Einfluss auf die Entwicklung und Aufrechterhaltung des entzündlichen Geschehens ausüben, können Präbiotika und Probiotika, vor allem in Kombination (Synbiotika), die Diät sinnvoll ergänzen, da diese Supplemente in erster Linie die physiologische, endogene Darmflora stabilisieren, die Immunabwehr der Darmschleimhaut modulieren und folglich Entzündungen der Darmschleimhaut reduzieren können (SWANSON *et al.* 2002a, GERMAN *et al.* 2003b, SAUTER *et al.* 2005, GEIER *et al.* 2007, NATIVIDAD *et al.* 2012, ROSSI *et al.* 2014). Präbiotika sind unverdauliche Kohlenhydrate (z.B. Inulin, Oligosaccharide, Hemicellulose [Psyllium], Pektin), die regulierend auf die Darmperistaltik wirken und die Proliferation verschiedener „nützlicher“ Bakterienspezies wie z.B. *Lactobacillus* spp. oder *Bifidobacterium* spp. fördern (GUILFORD 1994, SWANSON *et al.* 2002a, CAVE 2003, GEIER *et al.* 2007, ALLENSPACH 2010). Probiotika sind oral supplementierte, lebende Mikroorganismen (z.B. *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium longum*, *Streptococcus sulivarius*, *Saccharomyces boulardii*), welche einzeln oder in einem Gemisch verschiedener probiotischer Stämme (z.B. VSL#3) appliziert werden und pathogene Bakterien direkt antagonisieren und Immunantworten des GALT modulieren können (SWANSON *et al.* 2002a, GERMAN *et al.* 2003b, HALL und GERMAN 2010, ROSSI *et al.* 2014). Die durch Prä- und Probiotika induzierten immunmodulatorischen Mechanismen sind sehr komplex und umfassen die Modulation der Barrierefunktion (z.B. Erhöhung der Regenerationsfähigkeit des Darmepithels, gesteigerte Schleimproduktion und Produktion von Muzinen und Defensinen) sowie die Stimulation des angeborenen (z.B. Phagozytoseaktivität) und des erworbenen Immunsystems (z.B. Sekretion von IgA, Veränderung der Balance pro-inflammatorischer und anti-inflammatorischer Zytokine u.a. durch die Reduktion von TNF α und IL-1 β und Induktion von IL-10 und TGF β) (WAGNER *et al.* 1997, GERMAN *et al.* 2003b, SARTOR 2004, GEIER *et al.* 2007, ROSSI *et al.* 2014, SCHMITZ und SUCHODOLSKI 2016). Verschiedene nützliche Bakterienspezies - endogen oder probiotisch supplementiert - metabolisieren komplexe Kohlenhydrate zu kurzkettigen Fettsäuren (*short-chain fatty acids*, SCFA). Diese sind essentielle Energielieferanten der Mikrobiota, aber auch der Epithelzellen und beeinflussen folglich die strukturelle und funktionelle Integrität des Dickdarmepithels (GUILFORD 1994, SUCHODOLSKI 2011). Durch die Senkung des luminalen pH-Wertes fördern kurzkettige Fettsäuren die Proliferation der anaeroben Dickdarmflora und hemmen somit das Wachstum verschiedener pathogener Bakterien (GUILFORD 1994, SWANSON *et al.* 2002a). Die kurzkettige Fettsäure Butyrat wirkt zudem lokal immunmodulatorisch, da es die Produktion anti-inflammatorischer Zytokine wie IL-10 in der Darmschleimhaut induziert und folglich die Sekretion antigenspezifischer IgA stimuliert (siehe 2.3.2) (SWANSON *et al.* 2002b, GEIER *et al.* 2007, ALLENSPACH 2010). Auch die in der Standardtherapie

aufgeführten Antibiotika besitzen neben ihrem breiten antimikrobiellen Wirkungsspektrum ähnliche immunmodulierende Eigenschaften, die sich u.a. in einer reduzierten Expression pro-inflammatorischer Zytokine wie TNF α widerspiegeln (GERMAN *et al.* 2000b, GERMAN *et al.* 2003b, IGARASHI *et al.* 2014). Obgleich die Behandlung einer sekundären Dysbiose und die Elimination möglicher enteropathogener Bakterien die antibiotische Therapie initial rechtfertigen (WESTERMARCK *et al.* 1993, SARTOR 2004, HALL und GERMAN 2010), wird die Langzeitanwendung hinsichtlich der Nebenwirkungen sowie des bisher nicht vollständig geklärten komplexen Einflusses auf die luminale und Mukosa-assoziierte Mikrobiota, aber auch hinsichtlich des tatsächlichen klinischen und immunmodulierenden Effektes bei Hunden mit IBD kontrovers diskutiert (GERMAN *et al.* 2000b, SARTOR 2004, MUNSTER *et al.* 2006, SUCHODOLSKI *et al.* 2009, HALL und GERMAN 2010, JERGENS *et al.* 2010a, ROSSI *et al.* 2014, HEINSEN *et al.* 2015). So wiesen JERGENS *et al.* (2010a) nach, dass die alleinige Therapie mit Prednisolon bei Hunden mit chronisch-entzündlichen idiopathischen Enteropathien genauso effektiv ist wie die kombinierte Gabe mit dem Antibiotikum Metronidazol. ROSSI *et al.* (2014) zeigten ferner, dass sich die Dysbiose unter Langzeittherapie mit VSL#3, einem hochdosierten, probiotischen Gemisch verschiedener probiotischer Stämme, normalisierte, nicht jedoch unter der Kombination von Prednisolon und Metronidazol. Bei Hunden, die mit dem Probiotikum behandelt wurden, konnte zudem ein signifikanter Anstieg von T_{REG}-Markern (Forkhead Box p3 und TGF β) in der Darmschleimhaut nachgewiesen werden (ROSSI *et al.* 2014).

In der Humanmedizin werden zunehmend neue Behandlungsmethoden eingesetzt, deren Wirkungsmechanismen präzise auf die zugrundeliegenden pathogenetischen Mechanismen chronisch-entzündlicher Darmerkrankungen ausgerichtet sind (HALL und GERMAN 2010). Neben Medikamenten mit allgemein immunsuppressiven Eigenschaften, welche auch in der Veterinärmedizin bereits Anwendung finden (z.B. Tacrolimus, Mycophenolat Mofetil) (WHITLEY und DAY 2011), scheinen sequentielle oder kombinierte Therapien vielversprechend, die z.B. die Expression und Wirkung des pro-inflammatorischen Zytokins TNF α reduzieren (z.B. Oxpentifyllin, Thalidomid, spezifische Antisense-Oligonukleotide zur Blockade des Transkriptionsfaktors NF-kB, rekombinantes IL-11, monoklonale TNF α -Antikörper) (FORBES 2003) und die Expression bzw. Konzentration des anti-inflammatorischen Zytokins IL-10 erhöhen (z.B. Immunmodulation durch wirtsfremde Helminthen wie *Trichuris suis* oder Applikation modifizierter Probiotika, welche immunmodulierende, exkretorisch-sekretorische Helminthenprodukte wie z.B. *Acanthocheilonema viteae* Cystatin, exprimieren oder auch IL-10 direkt sezernieren) (HARTMANN *et al.* 1997, PAPADAKIS und TARGAN 2000, FORBES 2003, WEINSTOCK *et al.* 2005, SUMMERS *et al.* 2005a, SARTOR 2008, FIGUEIREDO *et al.* 2009, HALL und GERMAN 2010, EBNER *et al.* 2014, WHELAN *et al.* 2014). Erste klinische Studien zur Wirksamkeit der oralen Applikation von wirtsfremden (*Trichuris suis*) und wirtsspezifischen Helmintheneiern (*Trichuris vulpis*) bei Hunden mit immunmedierten Erkrankungen (perianale Fisteln bzw. Atopie) waren bisher jedoch wenig erfolgsversprechend (MUELLER *et al.* 2011, EDHOFER und MUELLER 2013).

Generell ist eine langanhaltende, vollständige klinische Besserung nur dann zu erwarten, wenn die grundlegende Ursache erkannt und behandelt werden kann (SUTER 2006). Dies ist bei einer FRE wahrscheinlicher als bei einer fortgeschrittenen, idiopathischen Erkrankung, bei der ätiopathogenetisch bereits eine Vielzahl sich gegenseitig beeinflussender Faktoren in Betracht kommen können (siehe 2.3.2). Die alleinige Applikation einer der oben aufgeführten Therapien kann unter Umständen nicht erfolgreich sein, wenn die Komplexität der Pathogenese nicht berücksichtigt wird. So kann z.B. die Malabsorption von Folsäure und Cobalamin wesentlich zur Aufrechterhaltung der Entzündungsreaktionen im Gastrointestinaltrakt beitragen und folglich auch das Ansprechen auf die Therapie minimieren oder verhindern, solange der Vitaminmangel nicht behandelt wird (RUAUX *et al.* 2005, HALL und GERMAN 2008, RUAUX 2008). Da ein Cobalaminmangel häufig vorkommt und zudem systemische metabolische Auswirkungen haben kann, sollte dieses Vitamin in der Diagnostik berücksichtigt und bei einer bestätigten Hypocobalaminämie oder auch einer Serum-Cobalamin-Konzentration im unteren Referenzbereich substituiert werden (HALL und GERMAN 2008, RUAUX 2008, BERGHOFF *et al.* 2013). Die „Cobalaminkur“ erfolgt parenteral (subkutan) (HALL und GERMAN 2008). Sie kann nach neuen Erkenntnissen aber auch oral durchgeführt werden (TORESSON *et al.* 2016).

2.3.6 Prognose

Bei Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien werden innerhalb der ersten 3 Monate bis zu 85% günstige Therapieergebnisse erzielt (ALLENSPACH *et al.* 2006b, MUNSTER *et al.* 2006, KILPINEN *et al.* 2011, OKANISHI *et al.* 2013b).

Der Erfolg der Therapie ist hierbei von mehreren Faktoren abhängig: Neben der Auswahl einer geeigneten Eliminationsdiät tragen die Akzeptanz und Verträglichkeit der Medikamente beim Tier sowie die Konformität (Compliance) des Besitzers maßgeblich zum Erfolg bei (TAPP *et al.* 2002, ALLENSPACH und GASCHEN 2003, ALLENSPACH *et al.* 2004, STURGESS 2005, SUTER 2006, JERGENS *et al.* 2010a, CAVE 2013). Die Compliance des Besitzers kann durch die Aufklärung und Kommunikation seitens des behandelnden Tierarztes deutlich verbessert werden (STURGESS 2005).

Langfristig steht die Prognose im engen Zusammenhang mit dem Alter des Tieres, Schweregrad der Erkrankung sowie vorliegenden Komplikationen wie einer hochgradigen Hypoalbuminämie, Hypocobalaminämie oder auch weiterer extra-intestinaler Manifestationen wie z.B. Pankreatitis (siehe hierzu 2.3.4) (ALLENSPACH *et al.* 2007, KATHRANI *et al.* 2009). Ein günstiger Krankheitsverlauf ist v.a. bei jüngeren Hunden und jenen mit milden (bis moderaten) Symptomen zu erwarten (LUCKSCHANDER *et al.* 2006, ALLENSPACH *et al.* 2007, OKANISHI *et al.* 2013b). Bei Hunden, die sehr schnell (binnen 1-2 Wochen) auf die Probediät ansprechen, ist ein langanhaltender Therapieerfolg wahrscheinlich (ALLENSPACH *et al.* 2007). Ältere Hunde (durchschnittlich älter als 7 Jahre) und jene mit einem höheren Krankheitsschweregrad (CIBDAI/CCECAI Score häufig > 9) sowie Proteinverlustenteropathie

profitieren eher von einer immunsuppressiven Therapie (ALLENSPACH *et al.* 2006a, MUNSTER *et al.* 2006, ALLENSPACH *et al.* 2007).

Die Erfolgsraten bei Hunden mit idiopathischer IBD sind deutlich geringer als bei jenen mit einer FRE oder ARE (MUNSTER *et al.* 2006, ALLENSPACH *et al.* 2007, BURGENER *et al.* 2008), was nicht zuletzt auch darauf zurückzuführen ist, dass die Definition der Diagnosen FRE und ARE vom therapeutischen Erfolg abhängt. So kommt es bei einer Vielzahl von Hunden mit idiopathischer IBD auch unter Therapie häufig zu rezidivierenden Verläufen. Eine langanhaltende, vollständige klinische Besserung zeigen ca. 30% der Fälle (CRAVEN *et al.* 2004). Therapierefraktäre Verlaufsformen werden bei bis zu einem Drittel und vor allem bei jenen mit Proteinverlustenteropathie beschrieben (CRAVEN *et al.* 2004, ALLENSPACH *et al.* 2006a, ALLENSPACH *et al.* 2006b, ALLENSPACH *et al.* 2007, BURGENER *et al.* 2008). Dies kann u.a. auf eine mögliche zugrundeliegende neoplastische Ursache wie dem intestinalen Lymphom hindeuten, welches histopathologisch nicht von einem idiopathischen entzündlichen Geschehen differenziert werden konnte oder sich im Krankheitsverlauf in Folge der chronischen Stimulation der Lymphozyten bei genetisch prädisponierten Hunden entwickelte (HALL und GERMAN 2010).

2.4 Zusammenfassung und Arbeitshypothesen

Differenzialdiagnosen, Diagnostik und Monitoring

Chronisch-entzündliche Enteropathien werden in der Literatur als die häufigste Ursache chronischer, gastrointestinaler Symptome bei Hunden diskutiert (ALLENSPACH und GASCHEN 2003, CAVE 2003, ALLENSPACH 2007, HALL und GERMAN 2010). Da bisher jedoch keine Informationen zur Häufigkeit und Verteilung primärer und sekundärer Ursachen chronischen Durchfalls vorliegen, ist auch die **Prävalenz chronisch-entzündlicher Enteropathien** unbekannt (ALLENSPACH und GASCHEN 2003, HALL und GERMAN 2010, JERGENS und SIMPSON 2012, WILLARD 2014).

Ein wesentliches Ziel dieser Arbeit war es, die Differenzialdiagnosen bei Hunden mit chronischem Durchfall zu quantifizieren. Die Arbeitshypothese lautete: Chronisch-entzündliche Enteropathien sind die häufigste Ursache chronischen Durchfalls bei Hunden.

Im Rahmen dieser Untersuchungen sollten zudem klinische und labordiagnostische Veränderungen sowie deren diagnostischer und prognostischer Nutzen bei Hunden mit chronischem Durchfall ermittelt werden.

In diesem Sinne lag ein weiterer Fokus dieser Arbeit auf der Untersuchung peripher im Blut zirkulierender **regulatorischer T-Zellen** (T_{REG}) und deren potenziellem Nutzen in der Diagnostik und dem Monitoring bei Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien. T_{REG} besitzen eine zentrale Funktion in der Aufrechterhaltung der Immunhomöostase, deren Verlust zu autoimmunen und chronisch-entzündlichen Erkrankungen führen kann (UHLIG und POWRIE 2005, BUCKNER 2010, GARDEN *et al.* 2011, TIZARD 2013d). MAUL *et al.* (2005) und WANG *et al.* (2011) beobachteten bei Menschen mit IBD, dass bei aktivem Krankheitsgeschehen die T_{REG} -Frequenz im Blut reduziert und in Remission wieder normalisiert ist. Die regelmäßige Bestimmung der Frequenz peripher im Blut zirkulierender T_{REG} könnte somit eine Aussage über den therapeutischen Erfolg geben. JUNGINGER *et al.* (2012) wiesen mittels Immunhistochemie eine reduzierte Zahl dieser spezialisierten Immunzellen in der Darmschleimhaut bei Hunden mit idiopathischer IBD nach. Bisher sind der Autorin keine Studien zur Untersuchung peripher im Blut zirkulierender T_{REG} bei Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien bekannt und daher Gegenstand dieser Arbeit.

Die Arbeitshypothese lautete: Die Frequenz peripher im Blut zirkulierender T_{REG} ist bei symptomatischen Hunden mit chronisch-entzündlicher Enteropathie im Vergleich zu gesunden Hunden sowie im Vergleich zu Hunden in Remission erniedrigt.

Alternative oder ergänzende Therapiemethoden

Die Standardtherapie chronisch-entzündlicher Enteropathien basiert auf einer hochverdaulichen, Antigen-limitierten Diät, welche mit immunmodulatorisch wirkenden Antibiotika oder immunsupprimierenden Medikamenten kombiniert wird (CAVE 2003, GERMAN *et al.* 2003b, ALLENSPACH 2007, HALL und GERMAN 2010). Die multifaktorielle Pathogenese erfordert eine ebenso komplexe Therapie, so dass die Standardtherapie vor allem bei idiopathischen Darmerkrankungen hinsichtlich langanhaltender Effekte und Remissionsraten, aber auch auf Grund von Nebenwirkungen oder kostenlimitierender Faktoren oft nicht zufriedenstellend ist (ALLENSPACH und GASCHEN 2003, CRAVEN *et al.* 2004, JERGENS *et al.* 2010a, KOVALIK *et al.* 2011, MALEWSKA *et al.* 2011, WHITLEY und DAY 2011). Die Etablierung neuer Therapiemöglichkeiten, die alternativ oder unterstützend zur Standardtherapie bei chronisch-entzündlichen Enteropathien angewandt werden können, ist daher von großem Interesse.

AST-120 (auch unter dem Namen Kremezín bekannt) ist eine spezielle Kohleformulierung, die aus nicht absorbierbaren, porösen Karbonpartikeln von 200-400µm Durchmesser besteht und aufgrund ihrer Fähigkeit, Vorstufen von urämischen Toxinen im Gastrointestinaltrakt zu binden, primär unterstützend in der Behandlung von chronischem Nierenversagen beim Menschen eingesetzt wird (NIWA *et al.* 1997, IIDA *et al.* 2006, UEDA *et al.* 2007, ANDERSON *et al.* 2008, NAKAMURA *et al.* 2011). Studien aus der Humanmedizin konnten zeigen, dass sich die klinischen Symptome bei Menschen mit Morbus Crohn und nicht-konstipativem Irritable Bowel Syndrom unter der oralen Therapie mit AST-120 signifikant verbesserten (ARAKI *et al.* 2000, FUKUDA *et al.* 2008, TACK *et al.* 2011). Die Wirkung von AST-120 begründet sich hierbei auf einer hohen, irreversiblen Bindungskapazität gegenüber einem breiten Spektrum an niedermolekularen, pro-inflammatorischen und toxischen Substanzen, die maßgeblich zur Entwicklung und Perpetuation der chronischen Entzündungsreaktionen im Darmtrakt beitragen (z.B. Serotonin, Histamin, Lipopolysaccharide, bakterielle Toxine und dekonjugierte Gallensäuren) (ARAKI *et al.* 2000, ANDERSON und FISCHER 2008, WILLMER *et al.* 2008, TACK *et al.* 2011). Da AST-120 im Vergleich zu einer normalen aktivierten Kohle eine deutlich reduzierte Bindungskapazität gegenüber hochmolekularen Proteinen wie Verdauungsenzymen und ferner eine verzögerte Kinetik aufweist, wird der Ernährungsstatus und die Bioverfügbarkeit begleitend applizierter Medikamente auch über einen längeren Zeitraum nicht beeinflusst (ANDERSON *et al.* 2008, WILLMER *et al.* 2008). Folglich könnte AST-120 unterstützend zur Standardtherapie bei Hunden eingesetzt werden.

Ziel dieser klinischen Studie war es, die Wirksamkeit der Zufütterung der Aktivkohle AST-120 bei Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien zu untersuchen. Die Arbeitshypothese der explorativen, prospektiven Doppelblindstudie lautete: AST-120 stellt - alternativ oder zusätzlich zur Standardtherapie mit Diät, Antibiose und Immunsuppressiva -

LITERATUR

ein effektives und sehr gut verträgliches Therapeutikum bei Hunden mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen dar.

3 Publikationen

3.1 Publikation I

Chronic diarrhea in dogs - retrospective study in 136 dogs

VOLKMANN, M., STEINER, J.M., FOSGATE, G.T.,
ZENTEK, J., HARTMANN, S., KOHN, B.,

3.1.1 Zusammenfassung der Originalpublikation (Englisch)

Background: Chronic diarrhea (CD) is common in dogs and information on frequency and distribution of primary and secondary causes is lacking.

Objectives: To evaluate underlying causes and predictors of outcome in dogs with CD.

Animals: One-hundred-and-thirty-six client-owned dogs with CD (≥ 3 weeks duration).

Methods: Retrospective review of medical records (Small Animal Clinic, Freie Universität Berlin, Germany, 09/2009 - 07/2011). Quantification of final diagnoses and comparison of clinical aspects including disease severity and clinicopathological abnormalities among dogs with clinical remission (either complete [gastrointestinal signs absent] or partial [clinical improvement of gastrointestinal signs and reduced episodes with shortened duration]), and those without recovery.

Results: Ninety percent of dogs were diagnosed with a primary enteropathy: inflammatory (71%; of those 66% dietary responsive, 23% idiopathic, 11% antibiotic responsive), infectious (13%), neoplastic (4%), and in one dog each mechanical disease or systemic vasculitis. Secondary causes were diagnosed in 10% of dogs: exocrine pancreatic (6%), endocrine (2%), and in one dog each hepatic, renal, and cardiac disease. In total, 87% of dogs had clinical remission, whereas 13% died or did not respond to treatment: Lack of recovery was frequently recorded for dogs with primary inflammatory (idiopathic) or neoplastic disease, and was significantly associated with increased disease severity scores ($P=0.005$), anemia (hematocrit $< 40\%$, $P<0.001$), severe hypoalbuminemia (serum albumin $< 2.0\text{g/dL}$, $P=0.008$), and severe hypocobalaminemia (serum cobalamin concentration $< 200\text{pg/mL}$, $P=0.006$).

Conclusions and clinical importance: Inflammatory enteropathies and particularly those of dietary origin were the most common causes of CD in dogs. Findings support the usefulness of hematocrit, and serum albumin and cobalamin concentration as prognostic markers in dogs with CD.

Journal of Veterinary Internal Medicine, Ausgabe 2017.

DOI: 10.1111/jvim.14739

3.1.2 Zusammenfassung der Originalpublikation (Übersetzung)

Chronischer Durchfall bei Hunden - Retrospektive Studie von 136 Fällen

Einleitung: Chronischer Durchfall (CD) ist ein häufiger Vorstellungsgrund von Hunden. Informationen zur Häufigkeit und Verteilung primärer und sekundärer Ursachen liegen bisher nicht vor.

Studienziel: Evaluierung der Differenzialdiagnosen sowie prognostischer Marker bei Hunden mit CD.

Patienten: 136 Hunde mit CD (Krankheitsdauer mindestens 3 Wochen).

Methoden: Retrospektive Auswertung der Krankenakten von Hunden mit CD, die im Zeitraum von September 2009 bis Juli 2011 an der Kleintierklinik der Freien Universität Berlin vorgestellt wurden. Die Auswertung beinhaltete die Quantifizierung der Differenzialdiagnosen sowie den Vergleich klinischer Parameter (u.a. Krankheitsschweregrad) und labordiagnostischer Auffälligkeiten bei Hunden mit unterschiedlichem Krankheitsverlauf: vollständige klinische Remission (keine gastrointestinalen Symptome nach Therapie), partielle klinische Remission (klinische Verbesserung der gastrointestinalen Symptome einschließlich Reduktion der Krankheitsschübe und deren Dauer) sowie fehlende klinische Verbesserung.

Ergebnisse: Eine primäre Darmerkrankung wurde bei 90% der Hunde diagnostiziert. Hierbei wiesen 71% der Hunde eine entzündliche (davon 66% Futter-responsiv, 23% idiopathisch und 11% Antibiotika-responsiv), 13% eine infektiöse, 4% eine neoplastische sowie jeweils ein Hund eine mechanische Ursache oder systemische Vaskulitis auf. In 10% der Fälle wurde eine sekundäre Enteropathie diagnostiziert. Sechs Prozent der 136 Hunde wiesen Erkrankungen des exokrinen Pankreas, 2% endokrine Ursachen sowie jeweils ein Hund Erkrankungen der Leber, der Nieren oder des kardiovaskulären Systems auf. Insgesamt 87% der Hunde zeigten eine klinische Remission, während 13% der Hunde unter Therapie keine klinische Verbesserung zeigten oder verstarben. Eine fehlende Remission wurde vor allem bei Hunden mit primär entzündlichen (idiopathischen) oder neoplastischen Erkrankungen beobachtet. Diese Hunde wiesen einen deutlich erhöhten Krankheitsschweregrad ($P=0,005$) sowie häufiger eine Anämie (Hämatokrit $< 40\%$, $P<0,001$), hochgradige Hypoalbuminämie (Serum-Albumin-Konzentration $< 2,0$ g/dL, $P=0,008$) und hochgradige Hypocobalaminämie (Serum-Cobalamin-Konzentration < 200 pg/mL, $P=0,006$) auf.

Schlussfolgerung und klinische Bedeutung: Entzündliche Enteropathien und vor allem Futter-responsive Enteropathien waren die häufigsten Ursachen chronischen Durchfalls beim Hund. Hämatokrit und die Serum-Konzentrationen Albumin und Cobalamin sind nützliche prognostische Marker bei Hunden mit chronischem Durchfall.

Standard Article

J Vet Intern Med 2017;31:1043–1055

Chronic Diarrhea in Dogs – Retrospective Study in 136 Cases

M. Volkmann¹, J.M. Steiner, G.T. Fosgate, J. Zentek, S. Hartmann, and B. Kohn

Background: Chronic diarrhea (CD) is common in dogs, and information on frequency and distribution of primary and secondary causes is lacking.

Objectives: To evaluate underlying causes and predictors of outcome in dogs with CD.

Animals: One hundred and thirty-six client-owned dogs with CD (≥ 3 weeks duration).

Methods: Retrospective review of medical records (Small Animal Clinic, Freie Universität Berlin, Germany, 09/2009-07/2011). Quantification of final diagnoses and comparison of clinical aspects including disease severity and clinicopathological abnormalities among dogs with clinical remission (either complete [gastrointestinal signs absent] or partial [clinical improvement of gastrointestinal signs and reduced episodes with shortened duration]), and those without recovery.

Results: Ninety percent of dogs were diagnosed with a primary enteropathy: inflammatory (71%; of those 66% dietary responsive, 23% idiopathic, 11% antibiotic responsive), infectious (13%), neoplastic (4%), and in one dog each mechanical disease or systemic vasculitis. Secondary causes were diagnosed in 10% of dogs: exocrine pancreatic (6%), endocrine (2%), and in one dog each hepatic, renal, and cardiac disease. In total, 87% of dogs had clinical remission, whereas 13% died or did not respond to treatment: Lack of recovery was frequently recorded for dogs with primary inflammatory (idiopathic) or neoplastic disease and was significantly associated with increased disease severity scores ($P = .005$), anemia (hematocrit $< 40\%$, $P < .001$), severe hypoalbuminemia (serum albumin < 2.0 g/dL, $P = .008$), and severe hypcobalaminemia (serum cobalamin concentration < 200 pg/mL, $P = .006$).

Conclusions and clinical importance: Inflammatory enteropathies and particularly those of dietary origin were the most common causes of CD in dogs. Findings support the usefulness of hematocrit, and serum albumin and cobalamin concentration as prognostic markers in dogs with CD.

Key words: Enteropathy; Epidemiology; Inflammatory bowel disease; Outcome.

Chronic intermittent or persistent diarrhea is a common clinical sign in dogs with chronic enteropathy and might be a manifestation of gastrointestinal or extragastrointestinal disorders.¹ Extragastrointestinal disorders (i.e., secondary enteropathies) include diseases of the exocrine pancreas, the liver, and the kidneys as well as endocrinopathies and diseases of the

From the Clinic for Small Animals, Faculty of Veterinary Medicine, Freie Universität Berlin, Berlin, Germany (Volkmann, Kohn); Gastrointestinal Laboratory, Texas A&M University, College Station, TX (Steiner); Department of Production Animal Studies, Faculty of Veterinary Science, University of Pretoria, Onderstepoort, South Africa (Fosgate); Institute of Animal Nutrition, Faculty of Veterinary Medicine, Freie Universität Berlin, Berlin, Germany (Zentek); Institute of Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, Freie Universität Berlin, Berlin, Germany (Hartmann).

This study was performed at the Clinic for Small Animals, Freie Universität Berlin, Germany.

This work was supported by the Akademie für Tiergesundheit and the Drs. Jutta and Georg Bruns Foundation. Parts of this manuscript were presented as an abstract at the 2015 and 2011 DGK-DVG congress in Berlin/Germany, the 2015 and 2012 InnLab Forum in Leipzig and Göttingen, Germany, the 2014 ECVIM Forum in Mainz, Germany, and the 2012 ACVIM Forum in New Orleans, LA, USA.

Corresponding author: M. Volkmann, Clinic for Small Animals, FU Berlin, Oertzenweg 19b, D-14163 Berlin; e-mail: Maria.Volkmann@fu-berlin.de.

Submitted November 17, 2016; Revised February 18, 2017; Accepted April 19, 2017.

Copyright © 2017 The Authors. Journal of Veterinary Internal Medicine published by Wiley Periodicals, Inc. on behalf of the American College of Veterinary Internal Medicine.

This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited and is not used for commercial purposes.

DOI: 10.1111/jvim.14739

Abbreviations:

ARE	antibiotic responsive enteropathy
BCS	body condition score
CCECAI	canine chronic enteropathy clinical activity index
CIBDAI	canine inflammatory bowel disease activity index
CIE	chronic inflammatory enteropathy
CR	complete recovery
DI	diffuse intestinal disease
FRE	food responsive enteropathy
IBD	idiopathic inflammatory bowel disease
LI	large intestinal disease
NR	no recovery
PE	primary enteropathy
PR	partial recovery
SE	secondary enteropathy
SI	small intestinal disease

cardiovascular or central nervous system. The cause of gastrointestinal disorders (i.e., primary enteropathies) can be infectious, neoplastic, mechanical, toxic, or non-infectious inflammatory.^{1,2} Noninfectious inflammatory causes include dietary and antibiotic responsive enteropathies as well as idiopathic inflammatory diseases that require anti-inflammatory or immunosuppressive treatment. The different causes of respective chronic inflammatory enteropathies (CIE) appear phenotypically similar upon histological evaluation of a tissue biopsy and are diagnosed retrospectively by their response to sequential treatment trials involving diet(s), antibiotics, and anti-inflammatory/immunosuppressive drugs.^{3–7}

CIE is considered to be the most common cause of chronic gastrointestinal disease in dogs.^{1,7,8} However, information concerning the frequency and distribution of underlying primary and secondary causes of chronic

diarrhea in dogs is lacking. Thus, the prevalence of the various causes of CIE is unknown.^{a,1,8,9} Clinicopathological findings and clinical aspects such as the localization to small or large bowel diarrhea might be useful to clarify underlying causes.^{2,8}

The principal objective of this study was to quantify the final diagnoses in a large number of dogs with chronic diarrhea and to investigate the hypotheses that noninfectious inflammatory enteropathies (CIE) are the most frequent causes of chronic diarrhea. Further objectives were to evaluate clinical and clinicopathological abnormalities associated with an adverse clinical outcome in (1) the overall population of dogs with chronic diarrhea and (2) in dogs with specific diagnoses causing chronic diarrhea.

Materials and Methods

Medical records of dogs with chronic diarrhea that were presented to the Clinic for Small Animals, Freie Universität Berlin, Germany, between September 2009 and July 2011, were retrospectively reviewed. Dogs were included if diarrhea had been present for 3 weeks or longer and a minimum work-up had been performed, which included hematology, plasma biochemistry profile, and fecal flotation and Giardia ELISA. Other diagnostic modalities included serum analyses for cobalamin, folate, canine trypsin-like immunoreactivity, canine-specific pancreatic lipase and cortisol/adrenocorticotropic hormone stimulation test, urinalyses, abdominal radiographs and ultrasound, as well as fecal microbiology and rectal scrapings. Endoscopy of the gastrointestinal tract or laparotomy with collection of tissue biopsies and histopathologic evaluation of intestinal biopsies were recommended in dogs with suspected inflammatory and neoplastic diseases. A stepwise approach was performed to further characterize noninfectious inflammatory enteropathies: initially, dogs were fed an elimination diet of home-cooked novel protein diet or hypoallergenic diet,^b commercial exclusion diet,^c or a combination thereof. Food responsive enteropathy (FRE) was defined as the positive clinical response to an elimination diet, and the diet was continued for at least 4–8 weeks. If no clinical improvement was observed within 2–4 weeks, it was recommended to change the diet or move to the next therapeutic trial with metronidazole (10 mg/kg BW, PO, q 12 h) or tylosin (25 mg/kg BW, PO, q 12 h) for another empirical treatment period of at least 10 days. A positive clinical response to antibiotic treatment defined the diagnosis of antibiotic responsive enteropathy (ARE). Dogs that neither responded to diet nor to antibiotics, and that required anti-inflammatory/immunosuppressive treatment such as prednisolone at 0.5–1.0 mg/kg BW, PO, q 12–24 h, or cyclosporine at 5 mg/kg BW, PO, q 24 h were diagnosed as having idiopathic inflammatory bowel disease or steroid responsive enteropathy (IBD). Dogs were excluded from the study if a final diagnosis was not recorded.

Information obtained from the medical records: sex, age, body weight, breed size (criteria were based on breed descriptions from the Federation Cynologique Internationale: small-sized, which is any breed with a height at withers <30 cm; medium-sized, which is any breed with a height at withers 30–50 cm; and large-sized, which is any breed with a height at withers ≥50 cm),¹⁰ body condition score (BCS, 5-integer scale: 1, thin; 2, underweight; 3, ideal weight; 4, overweight; 5, obese),^d feces consistency, frequency, and abnormalities including melena, mucus, or blood in feces and tenesmus, secondary clinical signs such as changes in appetite or activity level, weight loss, vomiting, abdominal pain, borborygmi, flatulence, and pruritus, predominant gastrointestinal site of

disease according to presenting clinical signs,^{1,2} duration of clinical signs before presentation (3 to 6 weeks, 6 weeks to 6 months, 6 to 12 months, more than 1 year), and clinicopathological abnormalities. The canine IBD activity index (CIBDAI) was used to assess disease severity and was based on the parameters: weight loss, appetite, activity level, feces consistency, feces frequency, and vomiting.¹¹ Furthermore, follow-up information was obtained from the medical records or by contacting the owners via telephone or e-mail up to one year after initial presentation (Fig 1). Response to treatment was defined as either complete recovery (CR; marked improvement with the absence of gastrointestinal signs), partial recovery (PR; clinical improvement with reduction of gastrointestinal signs and reduced episodes with shortened duration), or no recovery (NR; no response to treatment, dog died or was euthanized).

Statistical analyses were performed by statistical software packages (i.e. SPSS, IBM SPSS statistics campus, Ehningen, Germany; version 20 and GraphPad Prism software, La Jolla, California, USA; version 5). Characteristics, clinical aspects, and outcome were compared between dogs with primary or secondary causes, and among selected groups of dogs with the same final diagnoses with a group size of at least 5 dogs. Final diagnoses with a group size of 3 followed by 4 dogs were descriptively analyzed. Characteristics, clinical, and clinicopathological abnormalities were compared among different groups of dogs based on outcome. Clinicopathological abnormalities identified to be associated with an adverse clinical outcome were compared among dogs with a different predominant site of disease and among groups of dogs with selected final diagnoses. Pearson chi-square or Fisher's exact tests were used to compare categorical variables, and results are given as percentages. Median and range are presented for quantitative variables and Mann-Whitney *U*-tests or Kruskal-Wallis tests were used to compare continuous variables between 2 or more groups, respectively. Mann-Whitney *U*-tests with Bonferroni correction of *P* values were used for posthoc comparisons. Statistical significance was set at *P* < .05.

Results

Final Diagnoses

Two hundred and nine dogs with chronic intermittent or persistent diarrhea were presented during the 2 year study period, and 136 cases fulfilled the inclusion criteria.

Primary enteropathies (PE) were diagnosed in 123 of 136 dogs (90%), and chronic inflammatory enteropathies were the most frequent causes within this group (*n* = 97, 79%) (Fig 2): Sixty-four dogs improved after feeding an elimination diet (home-cooked novel protein diet, *n* = 28; hypoallergenic diet,^b *n* = 25; combined home-cooked and hypoallergenic diet, *n* = 5; commercial exclusion diet,^c *n* = 6) and were therefore diagnosed as FRE. ARE was diagnosed in 11 cases (positive clinical response to metronidazole, *n* = 9, or tylosin, *n* = 2), and 22 dogs were diagnosed with IBD. Histopathologic analyses of gastrointestinal biopsies were performed in 34 dogs with chronic inflammatory enteropathies: a lymphocytic-plasmacytic inflammation was identified in 8 dogs, an eosinophilic inflammation in 2, and a mixed inflammatory cell infiltrate in 18 dogs. In 6 cases, no abnormality was identified (Table 1).

An infectious cause was identified in 18 of 136 dogs (13%): A parasitic infection was diagnosed in

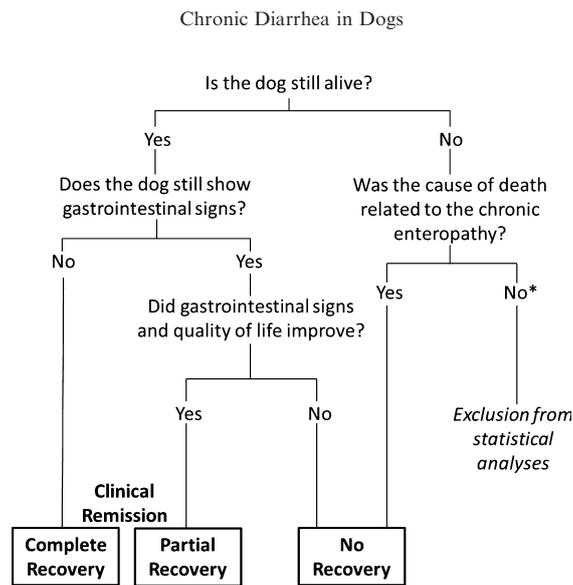


Fig 1. Questionnaire to define outcome groups in dogs with chronic diarrhea. *There was no dog that fulfilled these criteria.

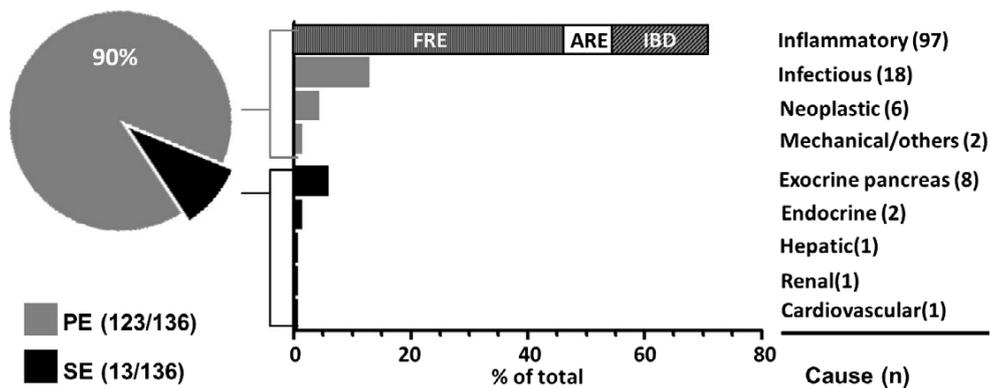


Fig 2. Distribution of primary and secondary causes and frequencies of underlying causes of chronic diarrhea in 136 dogs. Bar graphs representing frequencies of total. PE, primary enteropathy; SE, secondary enteropathy; FRE, food responsive enteropathy (n = 64); ARE, antibiotic responsive enteropathy (n = 11); IBD, idiopathic inflammatory bowel disease (n = 22).

Table 1. Descriptive results for the histopathologic analyses of gastrointestinal biopsies from 34 dogs with chronic inflammatory enteropathies.

		Total (n = 34)	FRE (n = 13)	ARE (n = 5)	IBD (n = 16)
Severity grade	NAD	6	3	2	1
	Mild	12	4	2	6
	Moderate	12	5	1	6
	Severe	4	1	–	3
Dominant inflammatory cell type	NAD	6	3	2	1
	Lymphocytic-plasmacytic	8	2	–	6
	Eosinophilic	1	–	1	–
	Eosinophilic and histiocytic	1	–	–	1
	Mixed	18	8	2	8

FRE, food responsive enteropathy; ARE, antibiotic responsive enteropathy; IBD, idiopathic inflammatory bowel disease; NAD, no abnormality detected.

16 dogs, which clinically improved after antiparasitic therapy (*Giardia* spp., n = 13; mixed infection with *Giardia* spp., *Coccidia*, and *Toxocara* spp., n = 2; *Leishmania* spp., n = 1). Systemic infection with *Prototheca zopfii* genotype II was identified in 2 cases.

Lymphoma was diagnosed in 5 of 136 cases (4%) and was the most frequent neoplastic disease. A col-orectal adenocarcinoma was identified in one dog.

Colonic intussusception led to chronic bloody diarrhea in a young German Shepherd dog, and systemic vasculitis was diagnosed in one German Shepherd dog.

Secondary enteropathies (SE) were diagnosed in 13 of 136 dogs (10%) (Fig 2): Diseases of the exocrine pancreas were the most frequent extragastrintestinal causes (8 of 136 cases, 6%: exocrine pancreatic insufficiency, n = 4; chronic pancreatitis, n = 3; pancreatic adenocarcinoma, n = 1). Endocrine disorders occurred in two dogs (atypical hypoadrenocorticism and hypothyroidism in one dog each). Hepatic, renal, or cardiovascular diseases were identified in 3 dogs, one with a portosystemic shunt, one with chronic kidney disease, and one with chronic heart failure.

Dog Characteristics

Male dogs were overrepresented in the study population with a male/female ratio of 1.3 in dogs with PE and 2.3 in dogs with SE (Table 2). Middle-aged dogs (≥ 2 to < 9 years) were most frequently presented (n = 69, 51%), followed by old dogs (9 years and older: n = 37, 27%), and young dogs (less than 2 years: n = 30, 22%; including 4 dogs younger than 1 year). In comparison, dogs diagnosed with PE were younger than dogs with SE. More specifically, dogs diagnosed with *Giardia* spp. infection were the youngest, followed by dogs with ARE, FRE, and exocrine pancreatic insufficiency (Table 2). Dogs belonged to 47 different breeds with mixed-breed dogs being most frequently presented (n = 35, 26%). Of those 7 were Terriers, 6 Labrador Retrievers, and 5 German Shepherd mixed-breeds. Common pure-bred dogs were German Shepherd dogs (n = 13, 10%), Yorkshire Terriers (n = 9, 7%), Dackshund (n = 8, 6%), and Boxers (n = 5, 4%). There was no breed significantly overrepresented in PE or SE (data not shown). Dogs with PE were often large-sized (n = 60, 49%), whereas dogs with SE were more frequently medium-sized (n = 6, 46%) (Table 2). A thin-to-underweight body condition score (BCS 1-2) was common in both groups (PE, n = 74, 60%; SE, n = 9, 69%) (Table 2). Characteristics were not significantly different between dogs with PE and SE, and among selected diagnoses (except age) (Table 2).

Outcome and Clinical Findings

Clinical findings on the time of first presentation and outcome were known for 127 dogs (PE, n = 116; SE, n = 11). Two-thirds of dogs were rechecked at the clinic, whereas for the remainder of the dogs follow-up

information was obtained by contacting the owners via telephone or e-mail: One hundred and eleven dogs (87%) achieved clinical remission with 68 dogs being classified as complete recovery (CR) and 43 cases as partial recovery (PR). The remaining 16 dogs (13%) did not respond to treatment (n = 2), died, or were euthanized due to uncontrolled disease (n = 14), respectively. Dogs with no recovery (NR) had PE (n = 15) or SE (n = 1), and the following final diagnoses were identified: IBD (n = 7), intestinal lymphoma (n = 5), protothecosis (n = 2), systemic vasculitis, and pancreatic adenocarcinoma (both n = 1). Dogs with NR were significantly older than dogs in clinical remission ($P = .018$, Table 2).

A moderate disease severity (CIBDAI score 6-8) was most frequently identified in the study population (n = 54, 42%) followed by severe (CIBDAI score ≥ 9 : n = 44, 35%), mild (CIBDAI score 4-5: n = 24, 19%), and clinically insignificant disease (CIBDAI score ≤ 3 : 4%) (Table 2). Severe disease was significantly more common in dogs with IBD and intestinal lymphoma and was furthermore recorded in all 3 dogs with chronic pancreatitis (Table 2). Disease severity was not significantly different between dogs with PE or SE (Table 2). Disease severity scores were significantly higher in dogs with NR when compared to dogs in remission ($P = .005$; Fig 3A, Table 2).

Disease was localized to the small intestine (SI, n = 42, 33%) or the large intestine (LI, n = 36, 28%) or was diffuse (DI, n = 49, 39%) (Table 2). Disease severity scores were significantly lower in dogs with predominantly large bowel diarrhea (CIBDAI score median/range: SI, 8/3-15; LI, 6/2-14; DI, 8/4-16; $P = .002$; Fig 3B). LI was common in PE (Fig 4A) and was most frequently recorded in dogs with *Giardia* spp. infection, ARE, or FRE (Table 2). Clinical signs predominantly involving the small intestine were significantly more common in dogs with SE (PE: SI, n = 33, 28%; LI, n = 36, 31%; DI, n = 47, 41%; SE: SI, n = 9, 82%; DI, n = 2, 18%; $P = .001$; Fig 4A, Table 2). Moderate-to-severe vomiting was identified to be significantly more frequent in dogs with SE (PE, n = 32, 28%; SE, n = 7, 64%; $P = .034$). However, vomiting in general was commonly recorded in both dogs with PE and SE (PE, n = 82, 71%; SE, n = 8, 73%; $P = 1.000$). No other evaluated clinical sign was associated with PE or SE (data not shown). Disease localization was not significantly different among the 3 groups of dogs based on outcome ($P = .241$, Fig 4B, Table 2). However, a few clinical signs predominantly involving the small intestine were significantly associated with NR: watery diarrhea (CR n = 36, 53%; PR n = 20, 47%; NR n = 14, 88%; $P = .017$), weight loss (CR, n = 25, 37%; PR, n = 17, 40%; NR, n = 14, 88%; $P = .001$), and lethargy (CR, n = 1, 2%; PR, n = 1, 2%; NR, n = 3, 20%; $P = .019$).

Clinical signs had been present for 3 to 6 weeks in 21% of dogs (n = 26), up to 6 months in 31% (n = 40), up to 1 year in 16% (n = 20), or more than 1 year in 32% of dogs (n = 41). Duration of disease was not significantly different between PE and SE, or among the 3 outcome groups ($P = .514$, resp. $P = .260$; data not separately

PUBLIKATIONEN

Table 2. Characteristics, clinical aspects, and outcome in dogs with chronic diarrhea.

Disease Group	Characteristics											Clinical aspects					
	N	Sex M/MN/F/FN	Age		Weight/Breed size			Body condition			CIBDAI			Localization	Outcome		
			Median	Range	YO/MA/OL	Median	Range	SM/ME/LA	Score (1–5 points)		N	Median	Range	IN/MI/MO/SV	SI/LI/DI	CR/PR/NR	
									In years	Group							Weight in kg
Total	136	60/19/33/24	5.5	0.5–15.0	30/69/37	20.1	2.0–70.5	31/42/63	2	1–5	17/66/46/6/1	127	7	2–16	5/24/54/44	42/36/49	68/43/16
PE vs. SE (<i>P</i> value*)		.488	.113		.688	.066		.190	.454		.962	.501		.315	.001	1.000	
PE	123	53/17/32/21	5.0	0.5–13.5	28/63/32	21.8	2.0–70.5	27/36/60	2	1–5	15/59/42/6/1	116	7	2–16	5/24/47/40	33/36/47	62/39/15
SE	13	7/2/1/3	8.0	1.0–15.0	2/6/5	9.5	2.0–32.0	4/6/3	2	1–3	2/7/4/0/0	11	7	6–12	0/0/7/4	9/0/2	6/4/1
Selected diagnoses with PE (<i>P</i> value*)		.328	<.001		.006	.462		.076	.008		.155	<.001		<.001		.071	<.001
FRE	64	28/7/16/13	5.3 ^a	0.5–13.5	13/36/15	17.3	3.1–51.3	15/25/24	2	1–5	4/29/26/4/1	61	7 ^a	2–14	5/14/30/12	17/20/24	40/21/0
ARE	11	5/2/4/0	4.0 ^{a,b}	1.0–12.0	2/7/2	26.0	3.8–68.5	4/1/6	2	2–4	0/7/3/1/0	10	7 ^{a,b}	4–13	0/3/5/4	1/4/5	6/4/0
IBD	22	8/3/5/6	8.0 ^a	1.0–12.5	4/8/10	28.8	2.0–70.5	6/2/14	2	1–3	6/11/5/0/0	21	10 ^b	4–16	0/1/5/15	8/1/12	4/10/7
LYM	5	2/2/0/1	9.0 ^a	7.0–13.0	0/2/3	30.0	24.0–35.0	0/1/4	2	1–2	2/3/0/0/0	5	11 ^{a,b}	5–15	0/1/0/4	3/1/1	0/0/5
Giardia	15	7/2/6/0	1.5 ^b	0.5–6.5	9/6/0	22.0	2.4–40.5	2/5/8	3	1–4	1/6/7/1/0	13	6 ^a	4–12	0/4/8/1	3/7/3	9/4/0
Selected diagnoses with SE [†]																	
EPI	4	3/0/1/0	5.5	1.0–14.0	1/2/1	16.5	5.7–27.0	2/0/2	2	1–2	2/2/0/0/0	4	7	6–12	0/0/3/1	4/0/0	3/1/0
CP	3	0/0/0/3	10.0	6.5–11.0	0/1/2	20.1	4.6–32.0	1/1/1	3	2–3	0/1/2/0/0	3	10	9–12	0/0/0/3	2/0/1	2/1/0
Outcome (<i>P</i> value*)		.858	.018		.081	<.001		.010	.132		.541	.005		.056	.241		
CR	68	32/10/16/10	4.5 ^a	0.5–14.0	20/32/16	17.0 ^a	2.0–47.0	20/24/24	2	1–4	7/32/25/4/0	68	7 ^a	3–15	3/15/31/19	21/22/25	
PR	43	17/5/12/9	5.5 ^a	0.5–13.5	7/26/10	22.5 ^{a,b}	2.0–68.5	7/14/22	2	1–5	5/20/15/2/1	43	7 ^a	2–16	2/8/20/13	12/12/19	
NR	16	6/3/3/4	8.8 ^b	1.0–13.0	1/7/8	30.1 ^b	13.0–70.5	0/3/13	2	1–3	5/7/4/0/0	16	11 ^b	5–15	0/1/3/12	9/2/5	

**P* values based on Pearson chi-square or Fisher's exact tests to compare categorical variables and Kruskal-Wallis comparison of differences among medians. Medians without superscripts in common are statistically different based on Mann-Whitney *U*-tests and Bonferroni adjustment for multiple comparisons. Significance < .05.

[†]Data for selected diagnoses with a group size of 3 or 4 dogs were descriptively analyzed. M, male; MN, male neutered; F, female; FN, female spayed; YO, young (less 2 years); MA, middle-aged (≥2 to <9 years); OL, old (9 years and older); SM, small-size breed; ME, medium-size breed; LA, large-size breed; T, thin; U, underweight; I, ideal weight; O, overweight; A, adipous; CIBDAI, canine inflammatory bowel disease activity index; IN, clinically insignificant disease; MI, mild disease; MO, moderate disease; SV, severe disease; SI, small intestinal disease; LI, large intestinal disease; DI, diffuse intestinal disease; CR, complete recovery; PR, partial recovery; NR, no recovery; PE, primary enteropathy; SE, secondary enteropathy; FRE, food responsive enteropathy; ARE, antibiotic responsive enteropathy; IBD, idiopathic inflammatory bowel disease; LYM, intestinal lymphoma; *Giardia*, infection with *Giardia* spp.; EPI, exocrine pancreatic insufficiency; CP, chronic pancreatitis.

Chronic Diarrhea in Dogs

1047

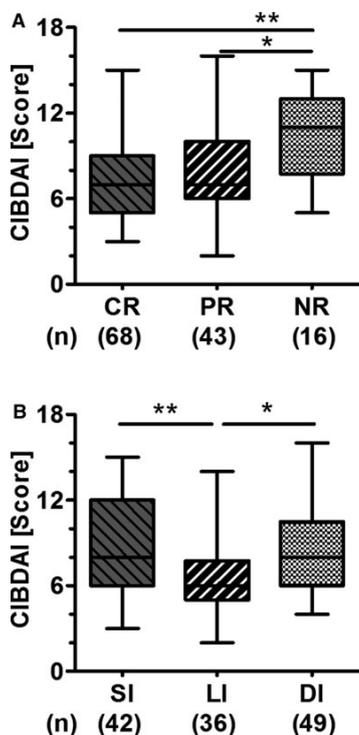


Fig 3. Disease severity in dogs with chronic diarrhea according to outcome (A) and predominant site of disease (B). Box-and-whiskers plots showing median, range, and 25th to 75th percentiles. * $P < .05$ and ** $P < .01$ for Kruskal-Wallis comparison of differences among medians followed by Mann-Whitney U-tests and Bonferroni adjustment for multiple comparisons. CIBDAI, canine inflammatory bowel disease activity index; CR, complete recovery; PR, partial recovery; NR, no recovery; SI, small intestinal disease; LI, large intestinal disease; DI, diffuse intestinal disease.

shown). Vomiting and pruritus were associated with duration of disease: Dogs with moderate-to-severe vomiting were commonly presented earlier than dogs with mild or without vomiting (moderate-to-severe vomiting, $n = 39$; 3 to 6 weeks, $n = 14$, 36%; up to 6 months, $n = 9$, 23%; up to 1 year, $n = 8$, 20%; more than 1 year, $n = 8$, 20%; mild or no vomiting, $n = 88$: 3 to 6 weeks, $n = 12$, 14%; up to 6 months, $n = 31$, 35%; up to 1 year, $n = 12$, 14%; more than 1 year, $n = 33$, 38%; $P = .012$). Pruritus was recorded for 49 of 108 dogs (45%), and prolonged disease duration of more than 6 months was common in these dogs (3 to 6 weeks, $n = 7$, 14%; up to 6 months, $n = 10$, 20%; up to 1 year, $n = 13$, 27%; more than 1 year, $n = 19$, 39%; $P = .011$). Pruritus was frequently recorded in dogs with ARE and IBD, but differences among selected diagnoses were not statistically significant (FRE, $n = 21$, 38%; IBD, $n = 11$, 70%; ARE, $n = 7$, 70%; *Giardia* spp., $n = 4$, 50%; intestinal lymphoma, $n = 1$, 20%; $P = .069$). The presence of pruritus was not significantly different between outcome groups, disease severity groups, or between localization groups

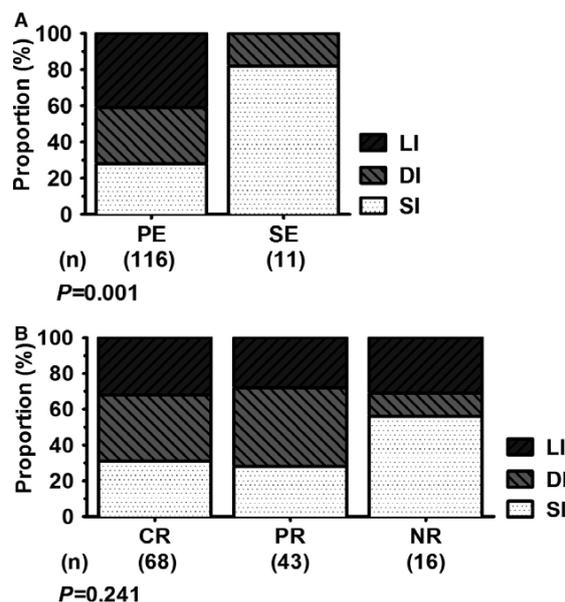


Fig 4. Comparison of predominance of clinical signs between groups of dogs with either primary or secondary enteropathy (A) and among outcome in dogs with chronic diarrhea (B). Pearson chi-square or Fisher's exact tests were used to compare categorical variables. Statistical significance was set at $P < .05$. PE, primary enteropathy; SE, secondary enteropathy; CR, complete recovery; PR, partial recovery; NR, no recovery; SI, small intestinal disease; DI, diffuse intestinal disease; LI, large intestinal disease.

(outcome: CR, $n = 26$, 45%; PR, $n = 20$, 54%; NR, $n = 3$, 23%; $P = .157$; disease severity: clinically insignificant, $n = 1$, 20%; mild, $n = 13$, 62%; moderate, $n = 18$, 38%; severe, $n = 17$, 49%; $P = .206$; localization: SI, $n = 14$, 44%; LI, $n = 11$, 36%; DI, $n = 24$, 53%; $P = .296$).

Clinicopathological Findings

Hematocrit and serum albumin, calcium, and cobalamin concentration were significantly lower in dogs with no remission than in dogs that responded to treatment (Fig 5, Table 3). Thus anemia (hematocrit $<40\%$), severe hypoalbuminemia (serum albumin concentration <2.0 g/dL), and severe hypocobalaminemia (serum cobalamin concentration <200 pg/mL) were significantly associated with a poor clinical outcome (anemia: CR, $n = 5$, 7%; PR, $n = 3$, 7%; NR, $n = 9$, 56%; $P < .001$; severe hypoalbuminemia in CR, $n = 1$, 2%; PR, $n = 5$, 12%; NR, $n = 5$, 31%; $P = .008$; and severe hypocobalaminemia: CR, $n = 7$, 11%; PR, $n = 9$, 21%; NR, $n = 6$, 55%; $P = .003$). Hypocalcemia (total calcium <2.5 mmol/L) was recorded in 26 of 123 dogs (median: 2.23 mmol/L; range: 1.46–2.44 mmol/L). Initial statistical analyses revealed a significant association of hypocalcemia and poor clinical outcome (CR, $n = 9$, 14%; PR, $n = 10$, 23%; NR, $n = 7$, 44%; $P = .031$; Table 3), but after the correction for hypoalbuminemia, the serum calcium concentration was only subnormal in

PUBLIKATIONEN

Table 3. Clinicopathologic findings among outcome in dogs with chronic diarrhea.

Variable (reference range)	Complete remission (n = 68)			Partial remission (n = 43)			No remission (n = 16)			P value [†]
	Median (n)	Range	L/E (n)	Median (n)	Range	L/E (n)	Median (n)	Range	L/E (n)	
Leukocytes (6,000–12,000/μL)	10,510 (68)	4,010–20,620	6/27	10,140 (43)	5,820–50,290	1/16	10,240 (16)	7,010–45,720	0/5	.906
Hematocrit (44–55%)*	47.3 ^a (68)	30.9–62.9	16/8	45.6 ^a (43)	30.1–56.0	12/1	38.1 ^b (16)	25.2–48.1	13/0	<.001
Platelets (165–400 G/L)	260 (68)	149–1,205	3/10	239 (43)	131–760	4/4	305 (16)	78–443	3/2	.207
Neutrophils (3,000–9,000/μL)	7,320 (66)	6,936–17,939	5/19	6,794 (41)	2,328–41,238	2/14	7031 (16)	4,673–39,319	0/6	.803
Eosinophils (<600/μL)	252 (64)	0–1,789	–/16	503 (41)	0–2,961	–/16	282 (16)	0–1,656	–/5	.209
Lymphocytes (1,000–3,600/μL)	1,889 (64)	206–6,161	11/8	1,991 (41)	137–4,844	7/4	1796 (16)	231–45,180	5/2	.899
Monocytes (<500/μL)	540 (61)	65–2,526	–/33	608 (41)	0–3,520	–/24	496 (16)	230–1,841	–/8	.674
Protein (5.4–6.6 g/dL)	6.11 (68)	3.57–7.36	13/13	5.97 (43)	2.88–8.08	10/10	5.64 (16)	2.70–7.65	7/2	.212
Albumin (2.8–3.6 g/dL)*	2.96 ^a (67)	1.70–3.64	21/1	2.85 ^a (42)	1.39–3.60	18/0	2.44 ^b (16)	1.17–3.17	11/0	.001
Calcium, total (2.5–2.9 mmol/L)*	2.7 ^a (64)	1.8–3.1	9/7	2.7 ^a (43)	1.5–3.3	10/4	2.5 ^b (16)	2.0–2.8	7/0	.025
Phosphorus (0.96–1.6 mmol/l)	1.21 (66)	0.40–2.40	13/12	1.33 (42)	0.84–2.79	5/9	1.32 (16)	0.66–1.92	2/2	.403
Urea (21–60 mg/dL)	35.3 (65)	14.5–83.4	8/4	36.0 (43)	19.3–112.3	2/5	45.9 (16)	17.1–156.0	2/3	.371
Creatinine (0.6–1.4 mg/dL)	0.91 (64)	0.50–1.34	4/0	0.97 (42)	0.49–2.26	2/3	0.96 (16)	0.63–1.93	0/1	.205
Glucose (81–112 mg/dL)	102 (66)	76–135	1/16	99 (42)	71–138	4/9	106 (16)	76–152	2/2	.531
Sodium (140–150 mmol/L)	146 (67)	138–155	1/6	146 (42)	127–159	1/3	147 (16)	131–154	2/3	.904
Potassium (3.6–4.8 mmol/L)	3.95 (67)	2.93–4.93	7/2	3.93 (41)	3.37–5.10	4/2	4.25 (16)	3.69–4.84	0/1	.147
Alanine aminotransferase (<76 U/L)	52 (66)	11–371	–/19	46 (43)	19–362	–/11	51 (16)	6–121	–/5	.616
Alkaline phosphatase (<97 U/L)	47 (65)	7–1,582	–/11	43 (43)	9–1,412	–/11	65 (16)	12–279	–/7	.204
Aspartate aminotransferase (<41 U/L)	26 (65)	7–120	–/6	27 (42)	5–69	–/8	30 (16)	8–153	–/5	.233
Cobalamin (300–800 pg/mL)*	319 ^a (63)	118–2,000	28/2	317 ^{a,b} (43)	125–864	17/1	160 ^b (11)	83–536	7/0	.025
Folic acid (3–10 ng/mL)	12.1 (60)	4.3–24.0	0/40	10.1 (36)	2.2–24.0	1/18	11.3 (11)	4.9–17.8	0/8	.439

*Significance < .05.

[†]P values based on Kruskal-Wallis comparison of differences among medians. Medians without superscripts in common are statistically different based on Mann-Whitney U-tests and Bonferroni adjustment for multiple comparisons. E, blood value elevated (above reference range); L, blood value lowered (below reference range).

Chronic Diarrhea in Dogs

1049

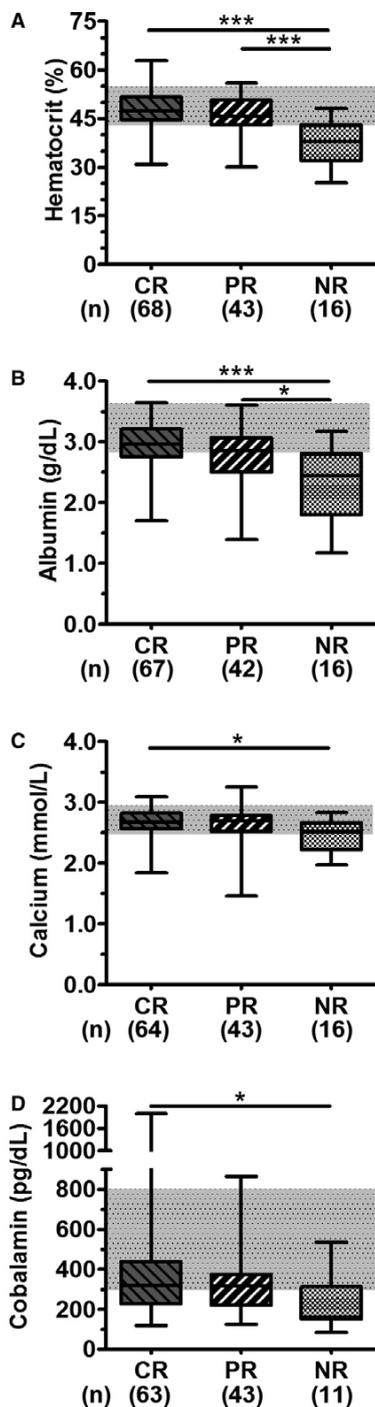


Fig 5. Comparison of clinicopathological abnormalities among outcome groups. Box-and-whiskers plots showing median, range and 25th to 75th percentiles for hematocrit (A), serum albumin (B), total serum calcium (C), and cobalamin (D). * $P < .05$ and *** $P < .001$ for Kruskal-Wallis comparison of differences among medians followed by Mann-Whitney U -tests and Bonferroni adjustment for multiple comparisons. CR, complete recovery; PR, partial recovery; NR, no recovery.

one dog with IBD and partial remission (no ionized calcium measurement was available for that dog). No further clinicopathological abnormalities were significantly different among the 3 outcome groups (Fig 5).

Subset analyses revealed that anemia was common, and severe hypoalbuminemia and severe hypcobalaminemia were significantly associated with small intestinal disease (anemia: SI, $n = 10$, 24%; LI, $n = 3$, 8%; DI, $n = 4$, 8%; $P = .053$; severe hypoalbuminemia: SI, $n = 8$, 20%; LI, 0%; DI, $n = 3$, 6%; $P = .008$; hypocalcemia: SI, $n = 15$, 37%; LI, $n = 2$, 6%; DI, $n = 9$, 19%; $P = .005$; severe hypcobalaminemia: SI, $n = 14$, 36%; LI, $n = 2$, 6%; DI, $n = 6$, 13%; $P = .004$, Table 4) and with certain diagnoses: Hematocrit was frequently low in dogs with IBD and intestinal lymphoma ($P < .001$, Table 4), and in dogs with exocrine pancreatic insufficiency (Table 4). Low serum albumin and calcium concentrations were common in dogs with IBD ($P < .001$ and $P = .001$, Table 4). Serum cobalamin concentrations were frequently low in dogs with FRE, IBD, and EPI (Table 4). However, severe hypcobalaminemia was significantly associated with IBD (FRE, $n = 8$, 13%; ARE, $n = 1$, 9%; IBD, $n = 9$, 45%; *Giardia* sp. infection, $n = 3$, 21%; $P = .016$) and was furthermore present in 2 of 4 dogs with exocrine pancreatic insufficiency.

Discussion

Primary enteropathies were identified with the highest frequency with noninfectious inflammatory enteropathies constituting the most frequent cause of chronic diarrhea in dogs with an overall frequency of 71%. Results of the present study are consistent with the hypothesis that the chronic inflammatory enteropathy is the most common cause of chronic diarrhea, and the findings of the present study are substantiated by recent observations in dogs with various gastrointestinal signs.^{e,f} Food responsive enteropathy (FRE) was the most frequent final diagnosis in the present study with an overall frequency of 47% (66% of all dogs with a chronic inflammatory enteropathy). FRE was diagnosed based on response to an elimination diet, which has been proven to be the most effective method for diagnosis and treatment.^{1,8,12} Differentiation between food allergy (immunological reaction) and food intolerance (nonimmunological reactions) could not be made as both food allergy and food intolerance manifest themselves with diarrhea or vomiting or both and are hence clinically indistinguishable.^{1,8,12} Thirty-eight percent of dogs diagnosed with FRE were presented with pruritus, which might be suggestive for an allergic reaction to food.¹ However, pruritus might also occur in dogs with food intolerance,^{1,12} and thus it remains unknown whether reactions to food were immunological or not. Nevertheless, findings coincide with other studies demonstrating that approximately 1/2 to 2/3 of dogs with chronic inflammatory enteropathies have FRE, with the remainder having antibiotic responsive or idiopathic inflammatory bowel disease (IBD) with an approximately equal

PUBLIKATIONEN

Table 4. Selected clinicopathologic findings associated with poor clinical outcome compared among localization and among selected diagnoses in dogs with chronic diarrhea.

Group	Hematocrit (44-55%)			Albumin (2.8-3.6 g/dL)			Calcium, total (2.5-2.9 mmol/L)			Cobalamin (300-800 pg/mL)		
	Median (n)	Range	L/E (n)	Median (n)	Range	L/E (n)	Median (n)	Range	L/E (n)	Median (n)	Range	L/E (n)
Localization (<i>P</i> value*)	.009			.010			.027			.003		
SI	44.6 ^a (42)	25.2–60.5	18/2	2.75 ^a (41)	1.49–3.55	23/0	2.6 ^a (41)	2.0–3.1	15/3	229 ^a (39)	83–2,000	26/2
LI	46.9 ^{a,b} (36)	33.6–59.0	14/2	2.95 ^b (36)	2.27–3.64	12/1	2.8 ^b (34)	2.4–3.0	2/4	359 ^b (33)	154–702	7/0
DI	48.1 ^b (49)	31.7–62.9	9/5	2.98 ^b (48)	1.17–3.60	15/0	2.7 ^{a,b} (48)	1.5–3.3	9/4	319 ^b (45)	125–864	19/1
PE vs. SE (<i>P</i> value*)	.665			.373			.509			.600		
PE	46.6 (123)	15.0–62.9	40/8	2.87 (121)	1.17–3.64	49/1	2.66 (119)	1.46–3.25	27/9	312 (115)	83–2,000	51/3
SE	45.2 (13)	30.1–59.8	5/2	3.01 (13)	2.06–3.26	4/0	2.62 (13)	2.40–2.93	2/2	248 (9)	169–450	5/0
Selected diagnoses with PE (<i>P</i> value*)	<.001			<.001			.001			.224		
FRE	47.9 ^a (64)	39.2–62.9	11/6	2.99 ^a (62)	1.70–3.64	17/1	2.72 ^a (61)	1.82–3.14	8/7	303 (63)	118–864	31/1
ARE	45.6 ^{a,b} (11)	39.4–59.0	5/1	2.92 ^{a,b} (11)	1.62–3.26	4/0	2.64 ^{a,b} (11)	2.08–2.81	2/0	353 (11)	154–898	3/1
IBD	41.9 ^b (22)	30.3–54.2	13/0	2.22 ^b (22)	1.17–3.21	15/0	2.43 ^b (22)	1.46–3.25	11/1	297 (20)	83–702	11/0
LYM	33.0 ^b (5)	25.2–47.1	4/0	2.80 ^{a,b} (5)	2.16–3.17	2/0	2.59 ^{a,b} (5)	2.23–2.67	2/0	311 (3)*	225–312	1/0
Giardia	49.7 ^{a,b} (15)	15.0–55.9	3/1	2.88 ^a (15)	2.29–3.42	5/0	2.74 ^a (14)	2.40–2.93	2/1	366 (14)	108–2,000	3/1
Selected diagnoses with SE [†]												
EPI	41.8 (4)	30.9–45.2	3/0	2.81 (4)	2.29–3.24	2/0	2.58 (4)	2.44–2.78	1/0	224 (4)	169–308	3/0
CP	47.2 (3)	44.3–59.8	0/1	2.87 (3)	2.43–3.26	1/0	2.61 (3)	2.52–2.93	0/1	233 (1)	–	1/–

**P* values based on Kruskal-Wallis comparison of differences among medians. Medians without superscripts in common are statistically different based on Mann-Whitney *U*-tests and Bonferroni adjustment for multiple comparisons. Significance < .05.

[†]Data for selected diagnoses with a group size of 3 or 4 dogs were descriptively analyzed. L, blood value lowered (below reference range); E, blood value elevated (above reference range); SI, small intestinal disease; LI, large intestinal disease; DI, diffuse intestinal disease; PE, primary enteropathy (gastrointestinal disease); SE, secondary enteropathy (extragastrointestinal disease); FRE, food responsive enteropathy; ARE, antibiotic responsive enteropathy; IBD, idiopathic inflammatory bowel disease; LYM, intestinal lymphoma; Giardia, infection with *Giardia* spp.; EPI, exocrine pancreatic insufficiency; CP, chronic pancreatitis.

Chronic Diarrhea in Dogs

1051

frequency of 15–20%.^{e,f,5,13} In accordance with other reports, the findings of the present study demonstrate that idiopathic IBD is common in dogs, but that it is not the most common cause of chronic diarrhea in dogs.^{a,13} Chronic inflammatory enteropathies are multifactorial disease complexes. An adverse immune response to environmental factors including dietary and microbial antigens is likely to be important in the pathogenesis and might further influence endoparasites.^{1,14,15} The findings of the present study highlight the need for a detailed and stepwise diagnostic work-up including therapeutic trials to eliminate the possibility of parasitic infections and to exclude diet responsive and antibiotic responsive enteropathies before a suspicion of idiopathic IBD can be substantiated.^{a,e,f,1,13}

In line with other studies, neoplastic causes were less frequent primary enteropathies and of those, intestinal lymphoma was the most frequent gastrointestinal neoplasia with an overall frequency of 4% in the present study.^{e,f,16} Histopathologic evaluation of intestinal biopsies remains an important diagnostic tool to differentiate IBD and intestinal lymphoma, but the latter might be a result of chronic lymphocytic-plasmacytic inflammation, which is the most common type of chronic intestinal inflammation.^{1,6–8,17–21} Whether dogs diagnosed with chronic lymphocytic-plasmacytic or mixed inflammation developed intestinal lymphoma later on was not evaluated in the present study (i.e., postmortem examinations and adjunctive techniques such as immunohistochemistry, flow cytometry, and PCR for antigen receptor rearrangements were not performed),^{19,21,22} and thus underlying intestinal lymphoma could have been missed, which is a limiting factor of the present study.

Parasitic infections were the second leading cause of chronic diarrhea in the dogs in this study. *Giardia* has been recognized as a common parasitic infection causing gastrointestinal disease and was the predominant infectious cause in the present study with an overall frequency of 11% of the study population, which is lower than previously reported in a European multicenter study (28%).²³ However, the frequency of parasitic causes of chronic enteropathies in canine studies ranges from less than 2% to more than 30%.^{1,23,24} The findings of the present study were comparable to recent reports of 9 to 18%.^{e,f} Infectious causes evaluated in this study were limited to parasitic or algae infections, and no viral or obligate enteropathogenic bacteria were identified as a primary cause of chronic diarrhea. Potentially pathogenic organisms can be frequently found in the feces of clinically healthy dogs and dogs with chronic enteropathy making it difficult to determine whether a specific organism identified acts as an etiologic factor, is a result of a changing microbiota due to the chronic enteropathy, or is in fact unrelated to the disease process.^{4,24–29} With respect to the multifactorial etiology of chronic enteropathies, the resolution of clinical signs after elimination of the identified organism is essential to determine disease causation.^{1,30} Thus a parasitic infection was diagnosed as the primary cause of chronic diarrhea based on fecal testing and clinical

response to appropriate antiparasitic therapy (e.g. fenbendazole).¹ Routine bacteriological and virological analyses of feces from dogs with diarrhea are not warranted for several reasons, including the usually acute, mild, and self-limiting character of many bacterial and viral infections, presentation with characteristic clinical or laboratory features, relatively brief period of virus shedding, and difficulties with interpretation of culture results.^{1,31} Routine analyses are indicated in dogs with hemorrhagic diarrhea, pyrexia, and an inflammatory leukogram.^{1,31} In the present study bacteriological cultures were performed in 51 of 136 dogs (36%) without identifying bacterial infection as a primary cause. During follow-up, *Campylobacter* spp. was detected in the feces of one dog with IBD, which had presented with acute watery diarrhea but ultimately with a self-limiting course of disease. Although findings of the present study are in line with recent observations,^{e,f,13} several primary causes might have been missed, as not all dogs had all testing performed.

In clear contrast to primary enteropathies, extragastrointestinal causes (i.e., secondary enteropathies) were less frequently recorded, with diseases of the exocrine pancreas being the most common extragastrointestinal diseases. The overall frequency of secondary enteropathies in the dogs evaluated for the current study was 10%, which is lower than other studies in dogs with various gastrointestinal signs (17 and 26%).^{e,f} In line with other studies, frequent vomiting was significantly associated with secondary enteropathies.^{e,f} Thus differences in the prevalence of primary and secondary enteropathies are attributed to the inclusion criteria that only dogs with diarrhea (either with or without vomiting) had been included into the present study. Exclusion of dogs without a final diagnosis might have had an impact on the distribution of primary and secondary enteropathies within the overall population of dogs with chronic diarrhea and, subsequently, might have biased the distribution of dietary responsive, antibiotic responsive, and idiopathic IBD within the group of dogs with chronic inflammatory enteropathies. During the 2 year study period, 65% of dogs fulfilled the inclusion criteria, and the remainder of dogs was excluded based on the lack of a final diagnosis. Some dogs were lost to follow-up as they were presented only once for an initial detailed work-up and were then treated by their general practitioner. The major problems for missing final diagnoses were poor owner or dog compliance, which are important factors affecting diagnostic and therapeutic success of many forms of chronic enteropathies.^{32,33} However, findings of the present study are in line with recent observations suggesting that the impact of excluded cases might only be marginal.^{e,f,13}

Underlying diseases such as systemic protothecosis and leishmaniasis as well as mechanical disorders, endocrinopathies, and diseases of the liver, kidney, and the cardiovascular system were uncommon causes of chronic diarrhea with frequencies less 1% in the present study. Although these conditions appear to be rare in dogs with chronic intermittent or persistent diarrhea, they might

become acutely life-threatening and should therefore not be ignored during the diagnostic work-up.^{e,f,1,2}

Additionally, we evaluated characteristics, outcome, and associated clinical and clinicopathological abnormalities in the overall study population, and in particular in dogs with selected diagnoses (i.e., diagnoses that had been assigned to at least 3 dogs). Results reported in this study coincide largely with other reports.^{f,5,13,17,34-36} To date, no sex predisposition had been described in dogs with gastrointestinal disease, although an overrepresentation of intact males followed by spayed females had been described in several studies.^{f,17,18,20,36-39} Intact males were clearly overrepresented in the present study. However, a formal comparison to the hospital population over the same time period was not performed, and therefore, the clinical importance of the finding of the present study remains unknown.

The physical appearance of feces as well as the appearance of secondary clinical signs such as vomiting, weight loss, abdominal pain, borborygmi, flatulence, and alterations in appetite might help to differentiate between small and large intestinal disease, which might be useful to clarify the underlying cause.^{2,8} In the present study, clinical signs of predominantly small bowel diarrhea were significantly more common in dogs with extragastrointestinal causes when compared to dogs with primary enteropathies. The presence of moderate-to-severe vomiting was more common in dogs with secondary enteropathies, and these results are consistent with a recent study.^e These findings suggest that extragastrointestinal disease leads to secondary diarrhea, and vomiting might have been the principal reason for presentation in these dogs. Interestingly, vomiting was observed to be significantly more common in dogs with short disease duration, suggesting that owners might rate vomiting as an alert sign.

Furthermore, small intestinal disease was more common in dogs with a poor clinical outcome, and clinical signs such as watery diarrhea, weight loss, and lethargy appear to be of prognostic value. Overall, poor clinical outcomes had been observed in 13% of cases, which is comparable to previous studies.^{f,5,17,34} Eighty-seven percent of dogs achieved either complete or partial remission. Craven et al.¹⁷ described IBD cases that achieved remission times of 3 years before relapse. In the present study, the duration of follow-up varied and was limited to 1 year; relapses thereafter might have been missed. Due to the retrospective nature of this study, interpretation of outcome factors needs to be carried out with caution. The clinical activity score (CIBDAI) used in the present study has been shown to be less powerful to accurately predict long-term disease outcome.⁵ The assessment of ascites and pruritus, as well as adding low serum albumin concentrations to the CIBDAI increases the predictive ability of clinical disease severity scoring (canine chronic enteropathy clinical activity index = CCECAI).⁵ Thus, it is possible that the current study could have been improved if the CCECAI would have been used to assess the outcome. However, this was not possible because the information available in the records of the

present study for pruritus and ascites did not match the criteria points defined by the CCECAI score. Also, the current study might have been improved if comparisons of findings before and after treatment could have been performed. However, follow-up information was limited in some dogs for a variety of reasons, including the retrospective study design and the diversity in data acquisition by different clinicians during follow-up. Therefore, clinical and clinicopathological abnormalities were only analyzed at the time of first presentation, and criteria for treatment outcome were limited to few questions, including whether the dog is still alive and whether gastrointestinal signs improved. Variation in dietary, antibiotic, and anti-inflammatory/immunosuppressive treatments reduced further the comparability of groups. Response to treatment was associated with the disease classification of chronic inflammatory enteropathies because a diagnosis of FRE and ARE were based on a clinical response (either complete or partial) to dietary or antibiotic treatments, and failure to respond suggests the presence of IBD, lymphoma, or a rare condition. IBD and intestinal lymphoma were the most frequent diagnoses associated with a poor clinical outcome. A further limiting factor of the present study is variations in prior treatments that might have influenced the evaluation of clinical and clinicopathological abnormalities on the time of first presentation. Nevertheless, findings among outcome groups, and in particular among subsequent analyses of selected diagnoses (e.g., chronic inflammatory enteropathies), are largely in agreement with other reports.^{f,5,13,16-18,20,34,36} Subsequent analyses substantiate original findings by Allenspach and others (2007) that younger dogs with less severe and predominantly large bowel disease are more likely to be diet responsive and have a good prognosis.⁵ On the contrary, older age, high disease severity scores, and predominantly small intestinal disease were associated with a poor clinical outcome.^{f,5,13,16-18,20,34,36}

Similar to previous studies, clinicopathological abnormalities such as anemia (hematocrit <40%), severe hypoalbuminemia (serum albumin concentration <2.0 g/dL), and severe hypocobalaminemia (serum cobalamin concentration <200 pg/mL) were poor prognostic indicators.^{f,5,13,17,34,36,40} Subsequent analyses demonstrated that these clinicopathological abnormalities were common in dogs with small intestinal disease. Anemia might indicate chronic inflammation or chronic intestinal blood loss, which is common in dogs with IBD or intestinal lymphoma.^{18,41} Serum albumin concentrations are routinely measured in dogs with gastrointestinal disease, and it has been shown previously that hypoalbuminemia occurs in dogs with increased disease severity that is associated with a poor clinical outcome.^{5,13,17,34,36} In line with other reports, severe hypoalbuminemia was common in dogs with IBD and is most likely attributed to protein-losing enteropathy, a heterogeneous group of diseases with nonselective and excessive loss of plasma proteins into the intestinal lumen.^{1,5,13,17,36} Serum cobalamin is a potentially useful marker of intestinal malabsorption and particularly of small intestinal disease.^{1,42} A severe decrease of serum cobalamin concentration was most

frequently recorded in dogs with IBD and exocrine pancreatic insufficiency.^{15,42,43} The overall frequency of hypocobalaminemia in dogs with chronic diarrhea was 44% and an approximate frequency of 30% of dogs had a low-normal serum cobalamin concentration (300–400 pg/mL) confirming that concentrations within the reference interval do not exclude the possibility of intestinal disease.⁴² Seventy percent of dogs received cobalamin supplementation for approximately 16 weeks, which might have affected the response to treatment and outcome in these cases.^{5,44} Measurement of serum cobalamin concentration was often but not always repeated 4 weeks after the last cobalamin injection. Furthermore, follow-up measurements were not available in most cases with an adverse clinical outcome, thus a comparison of pre- and post-treatment cobalamin concentration was not performed.

Conclusion

This study highlights underlying causes and final diagnoses in a large number of dogs with chronic diarrhea. Chronic inflammatory enteropathies and, in particular, food responsive enteropathies were the most frequent causes of chronic diarrhea in dogs. Diarrhea is the cardinal sign of intestinal dysfunction but dogs might also be presented due to secondary clinical signs that might or might not be accompanied by diarrhea. Moderate-to-severe vomiting was significantly associated with secondary enteropathies suggesting that extragastrointestinal disease might lead to secondary diarrhea. Clinical and clinicopathological abnormalities at the time of first presentation were compared among dogs with complete, partial, or no recovery. Clinical signs predominantly involving the small intestine and particularly weight loss and lethargy were significantly associated with an adverse clinical outcome. The findings of this study are consistent with previous studies suggesting that anemia, severe hypoalbuminemia, and severe hypocobalaminemia are associated with a poor prognosis and thus highlight the importance of measuring these parameters in dogs with chronic signs of gastrointestinal disease. These clinical and clinicopathological findings have prognostic, but not diagnostic value.

Footnotes

^a Willard M. Chronic Small Bowel Diarrheas: IBD is Not the Most Common Cause. In: CVC, Washington, D.C. 2014.

^b Hill's Prescription Diet z/d

^c Hill's Prescription Diet Canine d/d, VetConcept Dog Sana

^d Rade C. Compliance bei Reduktionsdiäten - So macht der Besitzer mit. *kleintierkonkret* 2009;4:11-16.

^e Baumgart K, Volkmann M, Steiner JM, et al. Final Diagnoses in 155 Dogs with Chronic Vomiting and/or Diarrhea. In: 24th ECVIM-CA Congress, Mainz 2014;ESCG-P-10.

^f Kuehn M. Retrospektive Analyse chronischer Enteropathien beim Hund. Doctoral thesis, LMU Munich; 2012.

Acknowledgments

Conflict of Interest Declaration: Authors declare no conflict of interest.

Off-label Antimicrobial Declaration: Authors declare no off-label use of antimicrobials.

References

- Hall EJ, German AJ. Diseases of the Small Intestine. In: Ettinger SJ, Feldman EC, eds. *Textbook of Veterinary Medicine - Diseases of the Dog and the Cat*, 7 ed. Philadelphia: Saunders; 2010:1526–1572.
- Marks SL. Diarrhea. In: Washabau RJ, Day MJ, eds. *Canine and Feline Gastroenterology*. St.Louis, Missouri: Elsevier Saunders; 2013:99–108.
- Schreiner NM, Gaschen F, Grone A, et al. Clinical signs, histology, and CD3-positive cells before and after treatment of dogs with chronic enteropathies. *J Vet Intern Med* 2008;22:1079–1083.
- Allenspach K. Tests to investigate gastrointestinal diseases in dogs—which markers are actually useful for the practitioner? *J Small Anim Pract* 2007;48:607–608.
- Allenspach K, Wieland B, Grone A, et al. Chronic enteropathies in dogs: Evaluation of risk factors for negative outcome. *J Vet Intern Med* 2007;21:700–708.
- Jergens AE, Moore FM, Haynes JS, et al. Idiopathic inflammatory bowel disease in dogs and cats: 84 cases (1987–1990). *J Am Vet Med Assoc* 1992;201:1603–1608.
- Cave NJ. Chronic inflammatory disorders of the gastrointestinal tract of companion animals. *N Z Vet J* 2003;51:262–274.
- Allenspach K, Gaschen F. Chronic intestinal diseases in the dog: A review. *Schweiz Arch Tierheilkd* 2003;145:209–219, 221–202.
- Jergens AE, Simpson KW. Inflammatory bowel disease in veterinary medicine. *Front Biosci (Elite Ed)* 2012;4:1404–1419.
- Beck S, Schreiber C, Schein E, et al. Tick infestation and prophylaxis of dogs in northeastern Germany: A prospective study. *Ticks Tick Born Dis* 2014;5:336–342.
- Jergens AE, Schreiner CA, Frank DE, et al. A scoring index for disease activity in canine inflammatory bowel disease. *J Vet Intern Med* 2003;17:291–297.
- Kennis RA. Food allergies: Update of pathogenesis, diagnoses, and management. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2006;36:175–184, vii–viii.
- Allenspach K, Culverwell C, Chan D. Long-term outcome in dogs with chronic enteropathies: 203 cases. *Vet Rec* 2016;178:368.
- German AJ, Hall EJ, Day MJ. Chronic intestinal inflammation and intestinal disease in dogs. *J Vet Intern Med* 2003;17:8–20.
- Dijkstra M, Kraus JS, Bosje JT, et al. Protein-losing enteropathy in Rottweilers. *Tijdschr Diergeneeskd* 2010;135:406–412.
- Frank JD, Reimer SB, Kass PH, et al. Clinical outcomes of 30 cases (1997–2004) of canine gastrointestinal lymphoma. *J Am Anim Hosp Assoc* 2007;43:313–321.
- Craven M, Simpson JW, Ridyard AE, et al. Canine inflammatory bowel disease: Retrospective analysis of diagnosis and outcome in 80 cases (1995–2002). *J Small Anim Pract* 2004;45:336–342.
- Couto CG, Rutgers HC, Sherding RG, et al. Gastrointestinal lymphoma in 20 dogs. A retrospective study. *J Vet Intern Med* 1989;3:73–78.
- Burkhard MJ, Bienzle D. Making sense of lymphoma diagnostics in small animal patients. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2013;43:1331–1347, vii.
- Mancho C, Sainz A, Garcia-Sancho M, et al. Evaluation of perinuclear antineutrophilic cytoplasmic antibodies in sera from

- dogs with inflammatory bowel disease or intestinal lymphoma. *Am J Vet Res* 2011;72:1333–1337.
21. Carrasco V, Rodriguez-Bertos A, Rodriguez-Franco F, et al. Distinguishing intestinal lymphoma from inflammatory bowel disease in canine duodenal endoscopic biopsy samples. *Vet Pathol* 2015;52:668–675.
22. Thalheim L, Williams LE, Borst LB, et al. Lymphoma immunophenotype of dogs determined by immunohistochemistry, flow cytometry, and polymerase chain reaction for antigen receptor rearrangements. *J Vet Intern Med* 2013;27:1509–1516.
23. Epe C, Rehker G, Schnieder T, et al. Giardia in symptomatic dogs and cats in Europe—results of a European study. *Vet Parasitol* 2010;173:32–38.
24. Claerebout E, Casaert S, Dalemans AC, et al. Giardia and other intestinal parasites in different dog populations in Northern Belgium. *Vet Parasitol* 2009;161:41–46.
25. Cave NJ, Marks SL, Kass PH, et al. Evaluation of a routine diagnostic fecal panel for dogs with diarrhea. *J Am Vet Med Assoc* 2002;221:52–59.
26. Guest CM, Stephen JM, Price CJ. Prevalence of Campylobacter and four endoparasites in dog populations associated with Hearing Dogs. *J Small Anim Pract* 2007;48:632–637.
27. Weese JS, Staempfli HR, Prescott JF, et al. The roles of Clostridium difficile and enterotoxigenic Clostridium perfringens in diarrhea in dogs. *J Vet Intern Med* 2001;15:374–378.
28. Burnens AP, Angeloz-Wick B, Nicolet J. Comparison of Campylobacter carriage rates in diarrheic and healthy pet animals. *Zentralbl Veterinarmed B* 1992;39:175–180.
29. Schulz BS, Strauch C, Mueller RS, et al. Comparison of the prevalence of enteric viruses in healthy dogs and those with acute haemorrhagic diarrhoea by electron microscopy. *J Small Anim Pract* 2008;49:84–88.
30. Tzannes S, Batchelor DJ, Graham PA, et al. Prevalence of Cryptosporidium, Giardia and Isospora species infections in pet cats with clinical signs of gastrointestinal disease. *J Feline Med Surg* 2008;10:1–8.
31. Matz ME, Guilford WG. Laboratory procedures for the diagnosis of gastrointestinal tract diseases of dogs and cats. *N Z Vet J* 2003;51:292–301.
32. Sturgess K. Diagnosis and management of idiopathic inflammatory bowel disease in dogs and cats. In *Practice* 2005;27:293–301.
33. Rosser EJ Jr. Diagnosis of food allergy in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1993;203:259–262.
34. Munster M, Horauf A, Bilzer T. Assessment of disease severity and outcome of dietary, antibiotic, and immunosuppressive interventions by use of the canine IBD activity index in 21 dogs with chronic inflammatory bowel disease. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 2006;119:493–505.
35. Bostrom BM, Xenoulis PG, Newman SJ, et al. Chronic pancreatitis in dogs: A retrospective study of clinical, clinicopathological, and histopathological findings in 61 cases. *Vet J* 2013;195:73–79.
36. Munster M, Suchodolski JS, Bilzer T, et al. Influence of physiological disturbances on treatment success of dietary therapy in dogs with chronic enteropathies. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 2010;123:74–82.
37. Allenspach K, Steiner JM, Shah BN, et al. Evaluation of gastrointestinal permeability and mucosal absorptive capacity in dogs with chronic enteropathy. *Am J Vet Res* 2006;67:479–483.
38. Burgener IA, Konig A, Allenspach K, et al. Upregulation of toll-like receptors in chronic enteropathies in dogs. *J Vet Intern Med* 2008;22:553–560.
39. Heilmann RM, Grellet A, Allenspach K, et al. Association between fecal S100A12 concentration and histologic, endoscopic, and clinical disease severity in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. *Vet Immunol Immunopathol* 2014;158:156–166.
40. Titmarsh H, Gow AG, Kilpatrick S, et al. Association of vitamin D status and clinical outcome in dogs with a chronic enteropathy. *J Vet Intern Med* 2015;29:1473–1478.
41. Hall EJ. Clinical laboratory evaluation of small intestinal function. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1999;29:441–469, vi.
42. Batt RM, Morgan JO. Role of serum folate and vitamin-B12 concentrations in the differentiation of small intestinal abnormalities in the dog. *Res Vet Sci* 1982;32:17–22.
43. Batchelor DJ, Noble PJ, Taylor RH, et al. Prognostic factors in canine exocrine pancreatic insufficiency: Prolonged survival is likely if clinical remission is achieved. *J Vet Intern Med* 2007;21:54–60.
44. Toresson L, Steiner JM, Suchodolski JS, et al. Oral cobalamin supplementation in dogs with chronic enteropathies and hypcobalaminemia. *J Vet Intern Med* 2016;30:101–107.

3.2 Publikation II

Frequencies of regulatory T cells in the peripheral blood of dogs with primary immune-mediated thrombocytopenia and chronic enteropathy: A pilot study

VOLKMANN, M., HEPWORTH, M.R., EBNER, F.,
RAUSCH, S., KOHN, B., HARTMANN, S.

Veterinary Journal 2014; 202:630-633.
DOI: 10.1016/j.tvjl.2014.10.012

You have to purchase this part online.

3.3 Publikation III

Efficacy of AST-120 in Dogs with Chronic Idiopathic Enteropathies

VOLKMANN, M., WIRTHERLE, N.C., BEDDIES, G.F., KOHN, B.

3.3.1 Zusammenfassung der Originalpublikation (Englisch)

Background: Chronic idiopathic enteropathies (CIE) in dogs are complex diseases of unknown origin. AST-120 is a spherical carbon adsorbent preparation with a high adsorption ability for low molecular substances.

Objectives: Evaluation of the clinical efficacy of AST-120 in dogs with CIE.

Animals: Ten client-owned dogs with mild (n = 7) to moderate (n = 3) CIE.

Methods: Explorative, prospective, randomized, placebo-controlled, double-blinded pilot study. Dogs with chronic diarrhea and no or insufficient response to an elimination diet were included. The dogs received either AST-120 (n = 5) or placebo (n = 5) for a duration of 21 days. The canine inflammatory bowel disease activity index (CIBDAI) was used to assess disease severity at baseline and clinical outcome after 3 weeks of treatment. Furthermore, changes in body weight and the parameters stool consistency and frequency were compared within and between groups.

Results: The mean CIBDAI score decreased from 5.6 (SD 1.5) to 2.0 (SD 1.2) in the AST-120 group (P = 0.125) and from 4.8 (SD 0.8) to 3.6 (SD 2.3) in the placebo group (P = 0.688). Compared with baseline, posttreatment CIBDAI scores decreased more than 60% in 4/5 dogs treated with AST-120 and in 1/5 dogs treated with placebo (P = 0.206). Changes in CIBDAI scores, body weights, stool consistency, and frequency within and between groups did not achieve statistical significance after 3 weeks of treatment. No adverse effects of AST-120 were noted.

Conclusions and Clinical Importance: This study investigated potential efficacy of AST-120 as an alternative therapy in dogs with mild-to-moderate CIE.

Journal of Veterinary Internal Medicine 2013; 27:1637-1641.

DOI: 10.1111/jvim.12212

3.3.2 Zusammenfassung der Originalpublikation (Übersetzung)

Wirksamkeit von AST-120 bei Hunden mit chronisch idiopathischer Enteropathie

Hintergrund: Chronisch-entzündliche idiopathische Enteropathien (CIE) sind sehr komplexe Erkrankungen bei Hunden mit weitgehend ungeklärtem Ursprung. AST-120 ist eine sphärische, adsorbierende Kohleformulierung mit hoher Affinität gegenüber niedrig molekularen Substanzen.

Ziel der Studie: Evaluierung der klinischen Wirksamkeit von AST-120 bei Hunden mit CIE.

Patienten: Zehn Hunde aus privater Haltung mit milder (n=7) bis moderater (n=3) CIE.

Methoden: Explorative, prospektive, randomisierte, Placebo-kontrollierte, doppelt-verblindete Pilotstudie. Eingeschlossen wurden Hunde mit chronischem Durchfall und ausbleibendem bzw. unzureichendem Ansprechen auf eine Eliminationsdiät. Über einen Zeitraum von 21 Tagen erhielten die Hunde entweder AST-120 (Behandlungsgruppe, n=5) oder ein Placebo (Kontrollgruppe, n=5). Der *Canine Inflammatory Bowel Disease* Aktivitätsindex (CIBDAI) diente der Erhebung des Schweregrads und des klinischen Verlaufs der Erkrankung vor und nach dreiwöchiger Applikation. Des Weiteren wurden das Körpergewicht und die Parameter Kotkonsistenz und Kotabsatzfrequenz innerhalb und zwischen den Versuchsgruppen verglichen.

Ergebnisse: In der Behandlungsgruppe wurde im Mittel eine Abnahme des CIBDAI Wertes von 5,6 (Standardabweichung, SD 1,5) auf 2,0 (SD 1,2; P=0,125) verzeichnet, während in der Kontrollgruppe der CIBDAI Wert im Mittel von 4,8 (SD 0,8) auf 3,6 (SD 2,3; P=0,688) abnahm. Bei vier von fünf Hunden der Behandlungsgruppe und bei einem von fünf Hunden der Kontrollgruppe sank der CIBDAI Wert zum Ende der Studie um mehr als 60%. Unterschiede innerhalb und zwischen den Versuchsgruppen hinsichtlich Veränderungen der untersuchten Parameter CIBDAI, Körpergewicht, Kotkonsistenz und Kotabsatzfrequenz vor und nach drei Wochen Behandlung waren statistisch nicht signifikant. Es wurden keine unerwünschten Nebenwirkungen von AST-120 registriert.

Schlussfolgerung und klinische Bedeutung: Diese Studie zeigt die potenzielle Wirksamkeit von AST-120 als Alternativtherapie von Hunden mit milder bis moderater CIE.

*Brief Communication**J Vet Intern Med* 2013;27:1637–1641**Efficacy of AST-120 in Dogs with Chronic Idiopathic Enteropathies**

M. Volkmann, N.C. Wirtherle, G.F. Beddies, and B. Kohn

Background: Chronic idiopathic enteropathies (CIE) in dogs are complex diseases of unknown origin. AST-120 is a spherical carbon adsorbent preparation with a high adsorption ability for low molecular substances.

Objectives: Evaluation of the clinical efficacy of AST-120 in dogs with CIE.

Animals: Ten client-owned dogs with mild ($n = 7$) to moderate ($n = 3$) CIE.

Methods: Explorative, prospective, randomized, placebo-controlled, double-blinded pilot study. Dogs with chronic diarrhea and no or insufficient response to an elimination diet were included. The dogs received either AST-120 ($n = 5$) or placebo ($n = 5$) for a duration of 21 days. The canine inflammatory bowel disease activity index (CIBDAI) was used to assess disease severity at baseline and clinical outcome after 3 weeks of treatment. Furthermore, changes in body weight and the parameters stool consistency and frequency were compared within and between groups.

Results: The mean CIBDAI score decreased from 5.6 (SD 1.5) to 2.0 (SD 1.2) in the AST-120 group ($P = .125$) and from 4.8 (SD .8) to 3.6 (SD 2.3) in the placebo group ($P = .688$). Compared with baseline, posttreatment CIBDAI scores decreased more than 60% in 4/5 dogs treated with AST-120 and in 1/5 dogs treated with placebo ($P = .206$). Changes in CIBDAI scores, body weights, stool consistency, and frequency within and between groups did not achieve statistical significance after 3 weeks of treatment. No adverse effects of AST-120 were noted.

Conclusions and Clinical Importance: This study investigated potential efficacy of AST-120 as an alternative therapy in dogs with mild-to-moderate CIE.

Key words: Carbon; Diarrhea; IBD; Therapy.

Chronic diarrhea is a common clinical sign in dogs and chronic idiopathic enteropathies (CIE) such as inflammatory bowel diseases (IBD) and antibiotic-responsive enteropathies have to be considered as underlying causes.¹ Therapy of CIE in dogs is for the most part empirical and current treatment protocols include dietary modification in combination with either antibacterial or immunosuppressive therapy or a combination of both.^{1,2} AST-120 is a spherical carbon adsorbent with a very high specific surface area and an inherent sustained binding profile optimized to adsorb low molecular weight proinflammatory mediators (eg, serotonin, histamine, toll-like receptor ligands, *N*-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine, nitric oxide and bile acids) present in the gastrointestinal tract.^{3–5} AST-120 prevents progression of renal failure in humans and is useful for the control of intractable anal fistulas in Crohn's disease.^{6,7}

The objective of this study was to evaluate the efficacy of AST-120 in dogs with CIE when treated orally with 2 g per 10 kg body weight (BW) daily for 3 weeks.

Abbreviations:

BW	body weight
CIBDAI	canine inflammatory bowel disease activity index
CIE	chronic idiopathic enteropathy
IBD	inflammatory bowel disease
SC	stool consistency
SF	stool frequency

Materials and Methods

The study was conducted at the Clinic of Small Animals, Freie Universitaet Berlin, from September 2009 to January 2011. All procedures were performed in accordance with German animal-welfare legislation and the dog's owner had to sign an owner consent form. Dogs suffering from CIE (chronic diarrhea of at least 3 weeks duration) and no or insufficient response to an elimination diet of 3 weeks' duration (hypoallergenic^a or novel protein diet^b) were included. A comprehensive diagnostic work-up (hematology, plasma biochemistry profile, serum trypsin-like immunoreactivity, cortisol, cobalamin, folate, fecal parasitology and bacteriological culture, abdominal radiographs and ultrasound) was conducted to eliminate underlying causes. Anthelmintic treatment^c was administered if dogs had not been dewormed within the last 2 months. Endoscopy of the gastrointestinal tract with histopathologic analysis of intestinal biopsies was recommended, but was not mandatory. The canine inflammatory bowel disease activity index (CIBDAI) was assessed based on the parameters attitude/activity, appetite, vomiting, stool consistency (SC), stool frequency (SF) and weight loss and only dogs with a composite CIBDAI score ≥ 4 were included in the study.⁸ The explorative study was conducted as a double-blinded, placebo-controlled, randomized pilot study with a parallel group design. Study day (S) 1 was defined as the day of inclusion: the dogs were given a consecutive case number and were assigned randomly to receive either study medication A (AST-120) or B (placebo: nonactivated spherical carbon beads without the ability to adsorb compounds), according to a randomization list at a ratio of 1 : 1 in the order of inclusion. Treatment was administered by the owner by mixing either

From the Clinic of Small Animals, Faculty of Veterinary Medicine, Freie Universitaet Berlin, Berlin (Volkmann, Kohn); and the Bayer Animal Health GmbH, Leverkusen, Germany (Wirtherle, Beddies). Parts of this paper were presented as an abstract at the 2012 ACVIM Forum, New Orleans and the Postgraduates' Symposium of the Faculty of Veterinary Medicine, Freie Universitaet Berlin, Germany, 2012.

Corresponding author: Prof. Dr Barbara Kohn, Clinic of Small Animals, FU Berlin, Oertzenweg 19b, Berlin D-14163, Germany; e-mail: barbara.kohn@fu-berlin.de.

Submitted January 2, 2013; Revised July 25, 2013; Accepted August 28, 2013.

*Copyright © 2013 by the American College of Veterinary Internal Medicine
10.1111/jvim.12212*

AST-120 or placebo (daily dosage 2 g/10 kg BW) with the dog's feed. Subcutaneous injections of cobalamin (500 µg per 5–15 kg BW; 800–1,200 µg in dogs >15 kg BW) were given to all dogs at S-1 and at a weekly (serum cobalamin ≤300 pg/dL) or biweekly interval (serum cobalamin ≤400 pg/dL). If necessary concomitant treatment (omeprazole 1 mg/kg, PO, twice daily; metoclopramide .2–.3 mg/kg, PO, 1–3 times daily; novamine sulfone 20 mg/kg, PO, 1–3 times daily) was allowed and had to be administered at least 30 minutes before treatment with AST-120 or placebo.⁹ Pre- (S-1) and posttreatment (S-21) dogs were weighed, SC and SF and the composite CIBDAI score were assessed. Statistical analyses were performed using SPSS (IBM SPSS statistics campus, Ehningen, Germany; version 20). Exploratory *P* values with respect to within and between treatment group comparisons were computed for the efficacy parameters BW, SC, SF, and CIBDAI score. Changes from baseline (S-1) within each treatment group were analyzed by the Wilcoxon signed-rank test for paired samples and changes from baseline between the 2 treatment groups were analyzed by the Mann–Whitney *U*-test for two independent samples. Within and between treatment group comparisons, the Fisher's exact test was used to analyze the proportions of dogs with improvement of both SC and SF after 3 weeks of treatment. The Mann–Whitney *U*-test for 2 independent samples was furthermore used to compare the 2 groups at baseline (age, BW, CIBDAI, plasma albumin and serum cobalamin concentrations). Statistical significance was set at *P* < .05.

Results

In total, 13 dogs were enrolled in the study. Three dogs had to be excluded from the efficacy analysis: in 1 case (placebo), for welfare reasons, and in another case (AST-120) because of an antibiotic treatment of cystitis. Furthermore, in 1 dog of the placebo group, test item application was stopped prematurely after 8 days because of a

worsening condition and the dog was subjected to a crossover to the other study medication (data not shown). Thus, 10 dogs (3 German Shepherd Dog, 6 different pure-bred and 1 mixed-breed) were included in the efficacy analysis: demographics and baseline characteristics are summarized in Table 1. The average duration and severity of the disease were similar in both treatment groups and clinical signs were predominantly located in both the small and large intestine. Endoscopy was performed in 5 dogs (2/5 AST-120 group, 3/5 placebo group), and histology revealed a similar distribution of inflammatory cells but only in dogs of the AST-120 group inflammatory infiltrates were detected in the large intestinal mucosa. Serum cobalamin and plasma albumin concentrations did not differ significantly between both groups at baseline (Table 1). In all dogs, the serum cobalamin concentration was below 400 pg/mL.

All dogs received either AST-120 (*n* = 5) or placebo (*n* = 5) orally mixed into the diet for a duration of 3 weeks (Table 1). Owners split the daily amount of 2 g/10 kg BW into equal parts and administered it across 2 feeding times. The mean CIBDAI scores were 5.6 before treatment and 2.0 after treatment (*P* = .125) in the AST-120 group and, 4.8 and 3.6 (*P* = .688) in the placebo group (comparison between groups: *P* = .198; Fig 1, Table 2). In the AST-120 group, both SC and SF improved in 4/5 dogs (*P* = .200) compared to 2/5 dogs (*P* = .400) treated with placebo (comparison between groups: *P* = .524; Fig 2). Changes in CIBDAI scores, SC, SF, and BW within and between groups did not achieve statistical significance at S-21 (Table 2).

Both AST-120 and placebo were accepted well according to the owners. There were no adverse events

Table 1. Baseline characteristics of 10 dogs with chronic idiopathic enteropathies treated either with AST-120 or placebo.

	Total (n = 10)	AST-120 (n = 5)	Placebo (n = 5)	<i>P</i> value*
Demographic variables, anthelmintic treatment and disease severity				
Sex (n): male/female	4/6	3/2	1/4	
Age (mean and SD in years)	4.8 (2.9)	2.4 (1.6)	7.2 (1.5)	.016
Body weight (mean and SD in kg)	27.7 (14.4)	30.7 (15.8)	24.7 (13.9)	.587
Anthelmintic treatment before inclusion (n): 2 weeks before/within past 2 months	3/7	1/4	2/3	
CIBDAI (mean and SD)	5.2 (1.2)	5.6 (1.5)	4.8 (.8)	.532
Blood parameters				
	Reference range	Mean (SD)		
Plasma albumin	2.8–3.6 g/dL	2.8 (.3)	2.8 (.2)	.460
Serum cobalamin	300–800 pg/mL	250 (86)	276 (75)	.421
Number of dogs affected				
Plasma albumin concentration <2.8 g/dL (n)	4	3	1	
Serum cobalamin concentration <300 pg/mL (n)	7	3	4	
Albumin and cobalamin concentration lowered (n)	3	2	1	
Dietary treatment				
Hill's prescription diet z/d Ultra (n)	4	2	2	
Self-cooked novel protein diet (n)	2	2	—	
Self-cooked diet combined with z/d Ultra (n)	4	1	3	

SD, standard deviation; CIBDAI, canine inflammatory bowel disease activity index.

**P* values based on Mann–Whitney *U*-test for 2 independent samples, *P* < .05.

attributed to the administration of AST-120 or placebo in any dog of this study nor did AST-120 or placebo have any detrimental effect on safety parameters (ie, hematology, plasma biochemistry; data not shown).

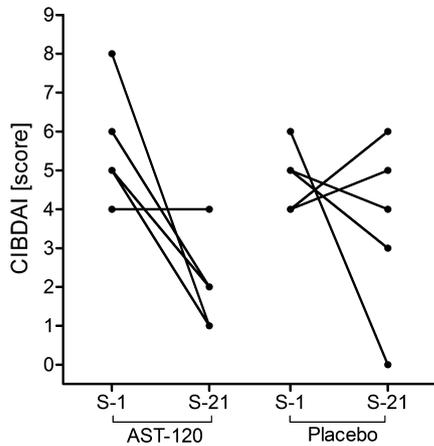


Fig 1. Comparison of pretreatment and posttreatment canine inflammatory bowel disease activity index (CIBDAI) of dogs with chronic idiopathic enteropathies treated either with AST-120 (n = 5) or placebo (n = 5). Dot plots with trend lines represent individual CIBDAI scores and posttreatment changes. S, study day.

Discussion

AST-120 is a spherical carbon adsorbent and recent publications have pointed to a reduction in clinical signs in human patients with fistulizing Crohn’s disease and nonconstipating irritable bowel syndrome.^{7,10} The objective of this pilot study was to evaluate the efficacy of AST-120 in dogs with CIE when treated orally with 2 g per 10 kg BW daily for 3 weeks. With respect to the CIBDAI score and the single parameters, SC and SF, short-term treatment with AST-120 improved in 4/5 dogs, whereas improvement occurred in 2/5 placebo-treated dogs ($P = .524$). Compared with baseline, post-treatment CIBDAI scores decreased more than 60% in 4/5 dogs treated with AST-120 and in 1/5 dog treated with placebo ($P = .206$). In these dogs, no lag time between initiation of treatment and onset of clinical improvement was noticed. Most dogs responded within the first 7 days after starting treatment. There were no adverse events attributed to the administration of AST-120 in any dogs, which coincides with previous studies in humans.^{6,7,10}

AST-120 is nonadsorbed and has significantly reduced binding affinity to higher molecular weight proteins (eg, digestive enzymes), allowing patients to maintain nutritional status.⁵ After treatment with AST-120, BW increased in all 5 dogs compared to 1/5 dog treated with placebo.

Table 2. Efficacy analyses of clinical parameters in 10 dogs with chronic idiopathic enteropathies treated either with AST-120 or placebo.

Parameter (scoring)	AST-120 (n = 5)			Placebo (n = 5)			
	S-1	S-21	<i>P</i> value*	S-1	S-21	<i>P</i> value*	<i>P</i> value**
M (SD)	M(SD)	M (SD)		M (SD)			
CIBDAI (0–18)	5.6 (1.5)	2.0 (1.2)	.125	4.8 (0.8)	3.6 (2.3)	.688	.198
Stool consistency (0–3)	2.0 (1.0)	0.6 (.6)	.125	2.0 (0.7)	1.8 (1.3)	1.000	.246
Stool frequency (0–3)	2.6 (.9)	1.2 (1.1)	.125	2.0 (0.7)	1.4 (0.9)	.500	.333
Body weight in kg	30.7 (15.8)	31.7 (16.8)	.063	24.7 (13.9)	24.5 (13.8)	.375	.079

CIBDAI, canine inflammatory bowel disease activity index; M, mean; S, Study day; SD, standard deviation. *P* values based on Wilcoxon signed-rank test for paired samples (*) or Mann-Whitney *U*-test for two independent samples (**). Statistical significance $P < .05$.

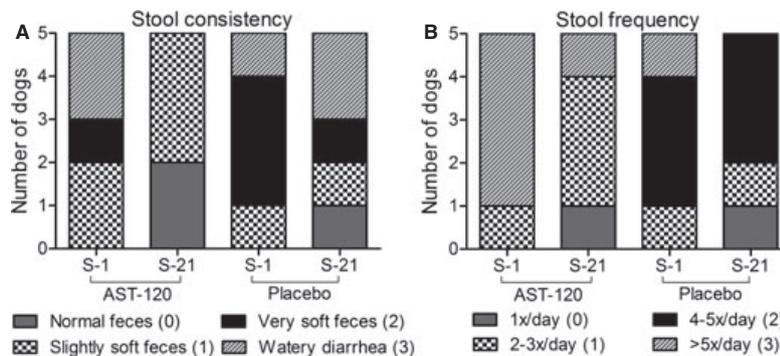


Fig 2. Comparison of pretreatment and posttreatment stool consistency (A) and stool frequency (B) of dogs with chronic idiopathic enteropathies treated either with AST-120 (n = 5) or placebo (n = 5). Bracketed numbers represent the scores in the assessment of the canine inflammatory bowel disease activity index. S, study day.

There are several limitations inherent in this study. The statistical analyses were exploratory in nature as the study was not powered to address any predefined hypothesis. A formal sample size calculation as for confirmatory studies was not done. Therefore, all resulting *P* values had to be interpreted in the exploratory sense only. Subset analysis was limited because of the small sample size.

Dogs treated with AST-120 were significantly younger than dogs of the placebo group assuming that the age might have influenced the results. Variable dietary treatment and concomitant administration of omeprazole, metoclopramide, novamine sulfone, or both have to be considered as confounding factors that might have influenced the clinical progression. Concomitant treatment might preclude the evaluation of AST-120 efficacy regarding the assessment of parameters, such as abdominal pain and the CIBDAI-specific parameters attitude/activity, appetite, and vomiting. However, as the type and frequency of concomitant medication were similar in both treatment groups, it was assumed that the treatment groups were impacted at the same rate. In addition to the composite CIBDAI scoring, the influence on the parameters SC and SF was separately determined. In a previous study in humans, it was shown that concomitant administration of AST-120 with ciprofloxacin or azathioprine had no impact on the pharmacokinetics or bioavailability of these compounds and that AST-120 can be used in addition to medications commonly used in the treatment of IBD.⁹ Clinical efficacy of AST-120 supplementary to medications commonly used in the treatment of CIE in dogs and potential drug–drug interactions need to be further analyzed. This study was an early phase trial and treatment was restricted to a period of 21 days. In comparison, in humans with CIE, the double-blinded treatment phases were restricted to a period of 8 weeks.^{7,10} However, it was shown that in patients with irritable bowel syndrome, clinical signs increased when AST-120 was replaced by placebo and decreased once AST-120 treatment was started again for another treatment period of 8 weeks.¹⁰ Long-term therapy or long-term follow-up was not intended in this study, respectively. The mechanism for the response to AST-120 supplementation was not investigated in this study and remains unknown. Although the underlying cause of CIE is still unknown, accumulating evidence suggests that intestinal inflammation results from altered interaction between gut microbes and the mucosal immune system in a susceptible host.¹¹ Therefore, it is suggested that AST-120 stabilizes intestinal immune responses as well as intestinal microbiota because of binding of low molecular weight pro-inflammatory mediators in the gut.

Conclusion

In conclusion, this study investigated the potential efficacy of AST-120 as an alternative therapy in dogs with mild-to-moderate CIE. However, in light of the limitations and the explorative nature of this study,

definitive conclusions should be drawn with caution and further more definitive studies are needed including optimized design, larger study populations, and more dogs with moderate and severe disease.

Footnotes

^a Hill's Prescription Diet z/d Canine ULTRA Allergen-Free

^b Self-cooked (proportion of protein to carbohydrate 1 : 2; eg, turkey or horse and potato)

^c Drontal flavor Plus (1 tablet per 10 kg BW) or Drontal Plus XL (1 tablet per 35 kg BW)

Acknowledgments

This study was performed at the Clinic of Small Animals, Freie Universitaet Berlin, Germany. The study was supported by Bayer Animal Health GmbH, Germany.

Conflicts of interest: Two of the authors, Drs Beddies and Wirtherle, are employed by Bayer Animal Health.

References

1. Fogle JE, Bissett SA. Mucosal immunity and chronic idiopathic enteropathies in dogs. *Compend Contin Educ Vet* 2007;29:290–302.
2. Craven M, Simpson JW, Ridyard AE, et al. Canine inflammatory bowel disease: Retrospective analysis of diagnosis and outcome in 80 cases (1995–2002). *J Small Anim Pract* 2004;45:336–342.
3. Araki Y, Tsujikawa T, Andoh A, et al. Therapeutic effects of an oral adsorbent on acute dextran sulphate sodium-induced colitis and its recovery phase in rats, especially effects of elimination of bile acids in gut lumen. *Dig Liver Dis* 2000;32:691–698.
4. Anderson K, Fischer L. Prevention of GI absorption of bacterial toxins: An in vitro evaluation of the potential for prophylactic use of a novel oral adsorbent. *Gastroenterology* 2008;134:A675.
5. Anderson K, Tomiyana S, Nitta T. AST-120: A novel, engineered carbon microsphere product for use in chronic inflammatory bowel disease and liver dysfunction. *Gastroenterology* 2008;134:A675.
6. Ueda H, Shibahara N, Takagi S, et al. AST-120, an oral adsorbent, delays the initiation of dialysis in patients with chronic kidney diseases. *Ther Apher Dial* 2007;11:189–195.
7. Fukuda Y, Takazoe M, Sugita A, et al. Oral spherical adsorptive carbon for the treatment of intractable anal fistulas in Crohn's disease: A multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Am J Gastroenterol* 2008;103:1721–1729.
8. Jergens AE, Schreiner CA, Frank DE, et al. A scoring index for disease activity in canine inflammatory bowel disease. *J Vet Intern Med* 2003;17:291–297.
9. Willmer J, Anderson K, Proksch S, et al. Absence of pharmacokinetic drug–drug interactions in healthy volunteers between AST-120, a novel oral adsorbent and concomitant medications: CiproXR (CFXR) and azathioprine (AZA). *Gut* 2008;57(Suppl 2):A374.

PUBLIKATIONEN

Chronic Diarrhea and AST-120

1641

10. Tack JF, Miner PB Jr, Fischer L, et al. Randomised clinical trial: The safety and efficacy of AST-120 in non-constipating irritable bowel syndrome – A double-blind, placebo-controlled study. *Aliment Pharmacol Ther* 2011;34:868–877.

11. Packey CD, Sartor RB. Interplay of commensal and pathogenic bacteria, genetic mutations, and immunoregulatory defects in the pathogenesis of inflammatory bowel diseases. *J Intern Med* 2008;263:597–606.

4 Ergänzungen und unveröffentlichte Daten

Im Folgenden werden Daten und Ergebnisse präsentiert, die nicht in den drei Publikationen als Erst-Autorin dargestellt und diskutiert worden sind.

4.1 Ergänzungen zu Publikation I

4.1.1 Klinische Symptome und Krankheitsdauer bei Hunden mit chronischem Durchfall

Wie in der Publikation I „Chronic diarrhea in dogs – retrospective study in 136 cases“ beschrieben, wurden in der retrospektiven Studie weitere Fragestellungen untersucht, deren Ergebnisse nicht explizit gezeigt wurden (als „*data not shown*“ bzw. „*data not separately shown*“ in der Publikation I angegeben).

Tabelle 5 zeigt die Häufigkeiten ausgewählter klinischer Symptome sowie deren Vergleich bei Hunden mit primären und sekundären Enteropathien. Wie in der Publikation I präsentiert, fiel lediglich beim Symptom Erbrechen ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden untersuchten Gruppen auf ($P=0,034$). So litten Hunde mit sekundären Enteropathien signifikant häufiger an mittelgradigem bis hochgradigem Erbrechen (Score 2-3) als Hunde mit primären Enteropathien.

Ferner wurde die Krankheitsdauer bei Hunden mit chronischem Durchfall untersucht. Es fielen keine signifikanten Unterschiede zwischen primären und sekundären Enteropathien oder im Krankheitsverlauf (vollständige, partielle bzw. fehlende Remission) auf. Die Ergebnisse sind in Tabelle 6 dargestellt.

Tabelle 5: Klinische Symptome bei Hunden mit primärer und sekundärer Enteropathie (Ergänzung Publikation I).

Parameter	Primäre Enteropathie (n=116)	Sekundäre Enteropathie (n=11)	<i>P</i> **	<i>P</i> ‡
Parameter CIBDAI:				
Aktivität (Score 0/1/2/3)	58/27/26/5	6/1/4/0	0,629	0,494
Appetit (Score 0/1/2/3)	62/15/21/18	6/0/5/0	0,103	0,512
Erbrechen (Score 0/1/2/3)*	34/50/20/12	3/1/4/3	0,032	0,034
Kotkonsistenz (Score 0/1/2/3)	0/34/18/64	0/3/2/6	1,000	1,000
Kotabsatzfrequenz (Score 0/1/2/3)	1/35/43/37	0/4/6/1	0,360	0,740
Gewichtsverlust (Score 0/1/2/3)	65/25/13/13	6/1/3/1	0,428	0,287
Weitere klinische Parameter:				
Schleimbeimengung im Kot (Nein/Ja)	48/68	8/3	0,059	
Blutbeimengung im Kot (Nein/Ja)	75/41	9/2	0,331	
Tenesmus (Nein/Ja)	89/27	10/1	0,454	
Meläna (Nein/Ja)	109/7	11/0	1,000	
Borborygmen/Flatulenz (Nein/Ja)	21/83	1/8	1,000	
Bauchschmerz (Nein/Ja)	35/71	4/6	0,731	
Juckreiz (Nein/Ja)	55/45	4/4	1,000	

**P*<0,05 statistisch signifikant.

***P* Werte basieren auf dem Pearson Chi²-Test oder dem Fischer Exakt-Test zum Vergleich kategorischer Variablen.

‡*P* Werte basieren auf dem Pearson Chi²-Test oder dem Fischer Exakt-Test zum Vergleich kategorischer Variablen. Die im CIBDAI aufgeführten Parameter wurden hierbei zu 2 kategorischen Variablen zusammengefasst (Variable 1, klinisch unauffällig bis milder Krankheitsverlauf: Score 0 und Score 1; Variable 2, Symptome mittelgradig bis hochgradig verändert: Score 2 und Score 3). *P*<0,05 statistisch signifikant.

Tabelle 6: Krankheitsdauer bei Hunden mit primärer und sekundärer Enteropathie sowie bei Hunden mit unterschiedlichem Krankheitsverlauf (Ergänzung Publikation I).

Parameter	Krankheitsdauer (n)				P*
	Bis 6 Wochen	Bis 6 Monate	Bis 1 Jahr	Mehr als 1 Jahr	
Primäre versus Sekundäre Enteropathie:					
Primäre Enteropathie (n=116)	22	38	18	38	0,514
Sekundäre Enteropathie (n=11)	4	2	2	3	
Krankheitsverlauf (Klinische Remission/Outcome):					
Vollständige Remission (n=68)	16	21	11	20	0,260
Partielle Remission (n=43)	6	11	7	19	
Fehlende Remission (n=16)	4	8	2	2	

*P Werte basieren auf dem Pearson Chi²-Test oder dem Fischer Exakt-Test zum Vergleich kategorischer Variablen. P<0,05 statistisch signifikant.

4.1.2 S100A12 im Kot von Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien

In Ergänzung zur Publikation I wurden im Rahmen der Abklärung chronischen Durchfalls beim Hund an der Kleintierklinik der Freien Universität Berlin über einen Zeitraum von 16 Monaten (September 2009 bis Februar 2011) Kotproben sowie Patienteninformationen dieser Hunde gesammelt. Diese wurden anschließend an das Gastrointestinal Laboratory der A&M University in Texas/USA unter der Leitung von Prof. Dr. Jörg Steiner übermittelt und im Labor vor Ort analysiert sowie ausgewertet.

Die Daten und Ergebnisse sind wesentlicher Bestandteil der Publikation von Frau Romy Heilmann und Kollegen, welche unter dem Titel „Fecal S100A12 concentration predicts a lack of response to treatment in dogs affected with chronic enteropathy“ in der Ausgabe 2016 des *The Veterinary Journal* erschienen und unter der DOI 10.1016/j.tvjl.2016.03.001 online abzurufen ist.

Die englische Zusammenfassung und deren Übersetzung können den folgenden Unterpunkten entnommen werden.

Veterinary Journal 2016; 215:96-100.

DOI: 10.1016/j.tvjl.2016.03.001

You have to purchase this part online.

4.2 Ergänzung zu Publikation II

Regulatorische T-Zellen im Vollblut von gesunden Hunden unterschiedlichen Alters

In der Publikation II „Frequencies of regulatory T cells in the peripheral blood of dogs with primary immune-mediated thrombocytopenia and chronic enteropathy: A pilot study“ wurde die Frequenz regulatorischer T-Zellen (T_{REG}) im Vollblut von Hunden mit u.a. chronisch-entzündlichen Enteropathien bestimmt und mit einer gesunden Kontrollgruppe ähnlichen Alters verglichen. Hierfür war es notwendig, vorab mögliche altersbedingte Veränderungen der T_{REG} -Frequenz im Vollblut bei gesunden Hunden zu untersuchen.

Insgesamt wurden 26 gesunde Hunde im Alter von 9 Monaten bis 9 Jahren beprobt und in die Altersgruppen „Juvenil“ (jünger als 2 Jahre, n=13) und „Adult“ (2-9 Jahre, n=13) eingeteilt. Fünfzehn Hunde stammten aus privater Haltung und wurden an der Kleintierklinik der Freien Universität Berlin zur routinemäßigen klinischen und labordiagnostischen Untersuchung im Rahmen einer Blutspende vorgestellt. Weitere 11 Hunde der Rasse Beagle entstammten dem Institut für Veterinär-Parasitologie und Tropenveterinärmedizin der Freien Universität Berlin. Informationen zum Signalement der Altersgruppen sind der Tabelle 7 zu entnehmen.

Die Ergebnisse der hämatologischen und blutchemischen Untersuchung sind in der Tabelle 8 zusammengefasst. Im Hinblick auf die Untersuchung von altersbedingten T_{REG} Veränderungen fiel ein signifikanter Unterschied der Lymphozytenzahl im Differenzialblutbild auf. So wiesen juvenile Hunde im Median eine signifikant höhere Lymphozytenzahl auf als adulte Hunde (Tabelle 8, Abbildung 5).

Tabelle 7: Signalement der Kontrollgruppen (Ergänzung Publikation II).

Parameter	Juvenil, n=13	Adult, n=13
Geschlecht (M/MK/W/WK)	7/0/6/0	0/2/7/4
Alter (in Jahren): Median/Minimum-Maximum	1,3 (0,75-1,5)	4,0 (2,0-8,8)
Gewicht (in kg): Median/Minimum-Maximum	16 (12-18)	32 (20-55)
Rasse (Reinrassig/Mischling)	13/0	10/3

M, männlich; MK, männlich kastriert; W, weiblich; WK, weiblich kastriert.

Tabelle 8: Hämatologie und Blutchemie der gesunden Kontrolltiere (Ergänzung Publikation II).

Parameter (Referenzwert)	Juvenil, n=13 (Median/ Min-Max)	Adult, n=13 (Median/ Min-Max)	P
Leukozyten (6.000-12.000/ μ L)	10.990 (6.250-14.630)	8.530 (5.490-13.860)	0,077
Hämatokrit (44-55%)	46,8 (42,3-52,4)	46,9 (40,9-56,8)	0,837
Thrombozyten (165-400 G/L)	259 (180-364)	225 (194-382)	0,211
Neutrophile G. (3.000-9.000/ μ L)	5.110 (3.270-9.450)	4.690 (3.260-10.060)	0,457
Eosinophile G. (<600/ μ L)	280 (130-1.490)	610 (100-1.160)	0,054
Lymphozyten (1.000-3.600/ μ L)*	4.010 (2.090-5.340)	2.350 (1.460-3.740)	0,001
Monozyten (<500/ μ L)	330 (100-840)	220 (80-790)	0,130
Protein (5,4-6,6 g/dL)	6,0 (5,6-6,3)	6,3 (5,6-7,5)	0,090
Albumin (2,8-3,6 g/dL)	3,0 (2,9-3,3)	3,0 (2,8-3,3)	0,246
Kreatinin (53-124 μ mol/L)*	84 (75-105)	93 (86-129)	0,014
Alanin-AT (<76 U/L)*	63 (56-80)	38 (27-48)	0,001
Alkalische Phosphatase (<97 U/L)*	101 (48-109)	21 (13-62)	0,003
Aspartat-AT (<41 U/L)	27 (20-30)	23 (10-30)	0,295

* $P < 0.05$ statistisch signifikant. *P* Werte basieren auf dem Mann-Whitney *U*-Test bei 2 unabhängigen Proben. Min-Max, Minimum bis Maximum, G., Granulozyten; AT, Aminotransferase.

Wie in der Publikation II ausführlich erläutert, wurde die Frequenz $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ T_{REG} als prozentualer Anteil der $CD4^+$ T-Lymphozyten im Vollblut mittels fluoreszenzbasierter Durchflusszytometrie (engl. *Fluorescence-Activated Cell Scanning, FACS*) bestimmt. Die beiden Altersgruppen wurden zudem hinsichtlich der Frequenzen der $CD4^+$ T-Lymphozyten in der Gesamtlmphozytenpopulation und der $CD4^+CD25^+Foxp3^-$, $CD4^+CD25^-Foxp3^+$ sowie $CD4^+CD25^-Foxp3^-$ T Zellen innerhalb der Population der $CD4^+$ T-Lymphozyten verglichen (grafische Darstellung zur Bestimmung der Frequenzen siehe Abbildung 1 A in der Publikation II). Die Ergebnisse der FACS-Analyse sind in der Tabelle 9 zusammengefasst.

Zwischen den beiden Altersgruppen wurde kein Unterschied der Frequenz der $CD4^+$ T-Lymphozyten innerhalb der Gesamtlmphozytenpopulation verzeichnet. Bei Betrachtung der Subpopulationen wiesen adulte Hunde im Median eine signifikant höher Frequenz $CD25^-$

und Foxp3-positiver CD4⁺ T-Zellen auf als die juvenile Kontrollgruppe. So waren sowohl die Frequenz CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ T_{REG} (Tabelle 9, Abbildung 5 B) als auch die Frequenz der CD4⁺CD25⁺Foxp3⁻ bzw. CD4⁺CD25⁻Foxp3⁺ T Zellen innerhalb der Population der CD4⁺ T-Lymphozyten bei adulten Hunden im Median signifikant höher als bei juvenilen Hunden (Tabelle 9). Die Frequenz CD25/Foxp3-doppelnegativer T-Zellen war folglich bei juvenilen Hunden signifikant erhöht.

Tabelle 9: Ergebnisse der fluoreszenzbasierten Durchflusszytometrie der gesunden Kontrolltiere (Ergänzung Publikation II).

Parameter (Referenzwert)	Juvenil, n=13 Median (Min-Max)	Adult, n=13 Median (Min-Max)	P
CD4 ⁺ Lymphozyten (in % Lymphozyten)	43,4 (36,5-54,0)	41,6 (24,0-53,1)	0,182
CD4 ⁺ CD25 ⁺ Foxp3 ⁺ Lymphozyten (in % CD4 ⁺ Lymphozyten)*	3,3 (2,1-4,7)	4,2 (2,7-6,1)	0,029
CD4 ⁺ CD25 ⁻ Foxp3 ⁺ Lymphozyten (in % CD4 ⁺ Lymphozyten)*	1,6 (1,1-2,3)	2,7 (1,8-6,5)	<0,001
CD4 ⁺ CD25 ⁺ Foxp3 ⁻ Lymphozyten (in % CD4 ⁺ Lymphozyten)*	4,1 (2,1-8,6)	9,3 (5,2-14,1)	<0,001
CD4 ⁺ CD25 ⁻ Foxp3 ⁻ Lymphozyten (in % CD4 ⁺ Lymphozyten)*	90,4 (87,0-93,7)	83,6 (73,3-89,0)	<0,001

*P<0,05 statistisch signifikant. P Werte basieren auf dem Mann-Whitney U-Test bei 2 unabhängigen Proben. Min-Max, Minimum bis Maximum.

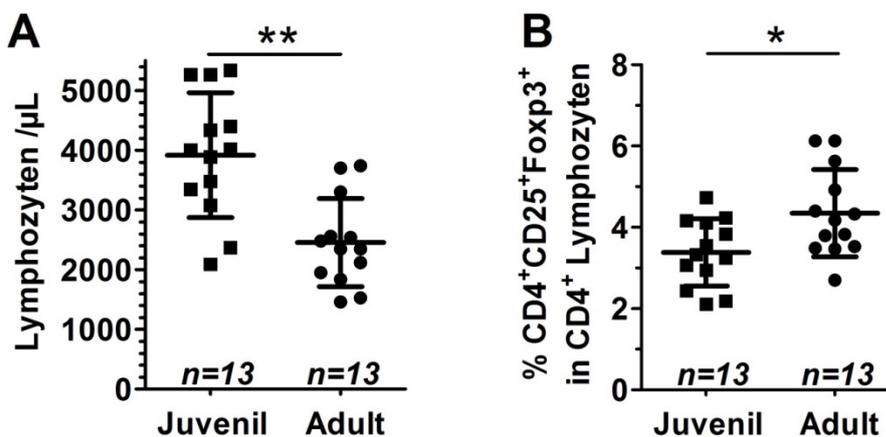


Abbildung 5: Vergleich der absoluten Zellzahlen der Lymphozyten (A) und der Frequenz CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ regulatorischer T-Zellen (B) im Vollblut von gesunden juvenilen (jünger als 2 Jahre) und adulten Hunden mittleren Alters (2-9 Jahre). Ergänzung zu Publikation II.

*P<0,05; **P<0,01. P Werte basieren auf dem Mann-Whitney U-Test bei 2 unabhängigen Proben.

4.3 Ergänzungen zu Publikation III

Die Studie „Efficacy of AST-120 in Dogs with Chronic Idiopathic Enteropathies“ wurde beim Landesamt für Gesundheit und Soziales (LAGeSo Berlin, IC 1) angezeigt und von diesem genehmigt (A 0296/09). Die Besitzer waren vor Studienbeginn verpflichtet, eine Einverständniserklärung zu unterzeichnen.

Die in der Studie verabreichte Studienmedikation AST-120 und auch das Placebo wurde von der Bayer Animal Health GmbH (51368, Leverkusen) zur Verfügung gestellt. Sowohl Studienmedikation als auch Placebo wurden als Granulat in kleinen, braunen Glasflaschen an die Besitzer ausgehändigt (siehe hierzu Tabelle 10).

Tabelle 10: Herkunft, Wirkstoff/-gehalt und Darreichungsform der Studienmedikation AST-120 und des Placebos.

Bezeichnung	Studienmedikation (AST-120)	Placebo
Herkunft	Bayer Animal Health GmbH, 51368 Leverkusen	Bayer Animal Health GmbH, 51368 Leverkusen
Wirkstoff	AST-120	Placebo
Wirkstoffgehalt	100%	---
Formulierung	Granulat	Granulat
Behälter	Glasflaschen	Glasflaschen

Im Folgenden werden die Ergebnisse zur Untersuchung der Sicherheit der Studienmedikation (*Safety analyses*) sowie zum Wechsel der Studienmedikation (*Crossover*) präsentiert. Diese wurden in der Publikation III erwähnt, aber nicht explizit gezeigt (in der Publikation u.a. als „*data not shown*“ angegeben).

4.3.1 Sicherheit der Studienmedikation (*Safety Analyses*)

Methoden

Die in der Publikation III veröffentlichten Ergebnisse bezogen sich lediglich auf die Untersuchung der Wirksamkeit (*Efficacy*) der Studienmedikation AST-120 bei Hunden mit chronisch-entzündlicher idiopathischer Enteropathie.

Die Sicherheit der Studienmedikation wurde anhand des Auftretens unerwünschter Nebenwirkungen sowie anhand verschiedener Blutparameter beurteilt. Hierfür wurden vor Beginn der Studie am Studientag S-1 sowie bei Abschluss der Studie an S-21 Blutproben entnommen und folgende Untersuchungen durchgeführt:

- Hämatologie inklusive Differenzialblutbild (Material: EDTA-Blut)
- Klinische Chemie (Material: Lithium-Heparin)
- C-reaktives Protein (Material: Serum)

Die Auswertung der Daten erfolgte deskriptiv.

Ergebnisse

Unter der Behandlung mit AST-120 oder Placebo wurden keine unerwünschten klinischen oder labordiagnostischen Nebenwirkungen registriert.

Die labordiagnostischen Ergebnisse sind in den Tabellen 11 und 12 deskriptiv aufgeführt.

ERGÄNZUNGEN UND UNVERÖFFENTLICHTE DATEN

Tabelle 11: Blutparameter zur Analyse der Sicherheit der Studienmedikation AST-120 - Hämatologie und Differenzialblutbild (Ergänzung Publikation III).

Studientag	AST-120 (n=5)						Placebo (n=5)					
	S-1			S-21			S-1			S-21		
Parameter (Referenzwerte)	Median	Min-Max	U/O (n)	Median	Min-Max	U/O (n)	Median	Min-Max	U/O (n)	Median	Min-Max	U/O (n)
Leukozyten (6.000-12.000/µL)	9.180	8.210-12.620	0/2	11.200	9.320-13.300	0/2	10.960	6.700-13.920	0/1	7.400	6.490-10.790	0/1
Hämatokrit (44-55%)	48,8	48,0-52,1	0/0	45,7	39,9-50,3	1/0	54,9	41,9-56,7	1/2	49,4	39,6-54,4	1/0
Thrombozyten (165-400 G/L)	212	158-246	1/0	233	199-344	0/0	230	152-464	1/2	235	102-463	1/1
Neutrophile G. (3.000-9.000/µL)	6.814	5.324-7.812	0/0	7.083	6.590-8.521	0/0	6.137	4.672-11.150	0/2	4.662	4.154-6.689	0/0
Eosinophile G. (<600/µL)	492	167-1.009	-/1	724	279-1.061	0/3	360	229-876	0/1	584	74-953	0/2
Lymphozyten (1.000-3.600/µL)	2.662	821-4289	1/1	3.277	1.298-4.132	0/2	1.671	871-3.726	1/1	2.294	1.168-3.344	0/0
Monozyten (<500/µL)	504	82-1.116	-/3	446	262-559	0/2	229	201-730	0/1	370	107-584	0/2

G., Granulozyten; Min-Max, Minimum – Maximum; U, Wert unterhalb Referenzwertes; O, Wert oberhalb Referenzwertes.

ERGÄNZUNGEN UND UNVERÖFFENTLICHTE DATEN

Tabelle 12: Blutparameter zur Analyse der Sicherheit der Studienmedikation AST-120 - Blutchemie und C-reaktives Protein (Ergänzung Publikation III).

	AST-120 (n=5)						Placebo (n=5)					
Studientag	S-1			S-21			S-1			S-21		
Parameter (Referenzwerte)	Median	Min-Max	U/O (n)	Median	Min-Max	U/O (n)	Median	Min-Max	U/O (n)	Median	Min-Max	U/O (n)
Protein (5,4-6,6 g/dL)	5,8	5,0-7,1	1/1	6,0	4,8-6,3	0/0	6,5	6,0-7,1	0/1	5,7	5,5-6,3	0/0
Albumin (2,8-3,6 g/dL)	2,74	2,57-3,18	3/0	2,81	2,5-3,12	2/0	2,90	2,22-3,18	1/0	2,84	1,99-3,05	2/0
Calcium, total (2,5-2,9 mmol/L)	2,8	2,6-3,0	0/1	2,7	2,6-2,8	0/0	2,7	2,5-2,7	0/0	2,6	2,5-2,7	0/0
Phosphor (0,96-1,6 mmol/l)	1,31	1,00-1,84	0/2	1,45	1,27-1,90	0/0	0,73	0,58-1,49	3/0	1,10	0,96-1,32	0/0
Harnstoff (21-60 mg/dL)	35,2	23,0-44,1	0/0	32,20	27,6-44,6	1,00	29,1	26,0-53,4	0/0	38,6	20,3-80,4	1/1
Kreatinin (0,6-1,4 mg/dL)	1,0	0,9-1,1	0/0	1,0	0,9-1,3	0/0	1,0	0,7-1,2	0/0	1,1	0,7-1,5	0/1
Glukose (81-112 mg/dL)	104	95-113	0/2	97	86-115	0/0	88	70-105	2/0	89	82-107	0/0

Min-Max, Minimum – Maximum; U, Wert unterhalb Referenzwertes; O, Wert oberhalb Referenzwertes.

ERGÄNZUNGEN UND UNVERÖFFENTLICHTE DATEN

Fortsetzung Tabelle 12.

	AST-120 (n=5)						Placebo (n=5)					
Studientag	S-1			S-21			S-1			S-21		
Parameter (Referenzwerte)	Median	Min-Max	U/O (n)	Median	Min-Max	U/O (n)	Median	Min-Max	U/O (n)	Median	Min-Max	U/O (n)
Natrium (140-150 mmol/L)	147	141-152	0/1	148	141-149	0/0	151	146-151	0/2	148	141-148	0/0
Kalium (3,6-4,8 mmol/L)	4,0	3,8-4,3	0/0	4,1	3,7-4,2	0/0	4,2	3,5-4,3	1/0	4,5	3,6-4,8	0/0
Alanin- Aminotransferase (<76 U/L)	66	53-121	0/1	80	31-152	0/2	41	26-46	0/0	36	21-116	0/2
Alkalische Phosphatase (<97 U/L)	42	15-120	0/1	94	18-197	0/2	67	17-179	0/2	69	25-220	0/2
Aspartat- Aminotransferase (<41 U/L)	31	22-55	0/1	27	19-60	0/1	32	7-51	0/2	20	12-49	0/1
C-reaktives Protein (<7,6 mg/dL)	1,3	0,6-4,0	0/0	0,1	0,1-1,4	0/0	2,3	0,1-7,9	0/1	0,1	0,1-5,2	0/0

Min-Max, Minimum – Maximum; U, Wert unterhalb Referenzwertes; O, Wert oberhalb Referenzwertes.

4.3.2 Wechsel der Studienmedikation (*Crossover*)

Methoden

Bei klinischer Verschlechterung oder fehlender Verbesserung unter der zugeteilten Studienmedikation war es möglich, die Studiengruppe zu wechseln (von AST-120 zu Placebo oder *vice versa*). Der Wechsel der Studienmedikation (*Crossover*) erfolgte ohne eine Wash-out-Phase am Studientag 21 (S-21). Der verantwortliche Tierarzt und der Besitzer blieben weiterhin verblindet (doppel-verblindete Studie) und die neue Studienmedikation wurde weitere 21 Tage verabreicht. Die Abschlussuntersuchung erfolgte am Studientag 42 (S-42). Eine schematische Darstellung des Studienprotokolls ist der Abbildung 6 zu entnehmen. Im Hinblick auf die Untersuchung der Wirksamkeit und Sicherheit der Studienmedikation wurden - wie in der Publikation III bereits erläutert - an den Studientagen S-1 und S-21, und zusätzlich nach *Crossover* an S-42, klinische sowie labordiagnostische Parameter bestimmt (Tabelle 13). Die Besitzer führten über den gesamten Studienzeitraum ein Tagebuch, in dem die klinischen Parameter Aktivität, Appetit, Erbrechen, Kotkonsistenz, Kotabsatzfrequenz entsprechend den Kriterien des *Canine Inflammatory Bowel Disease Activity Index* (CIBDAI) nach JERGENS *et al.* (2003) sowie Beimengungen von Blut und/oder Schleim und weitere Auffälligkeiten täglich erfasst wurden.

Tabelle 13: Parameter zur Untersuchung der Wirksamkeit und Sicherheit der Studienmedikation (Ergänzung Publikation III).

Analyse	Parameter	
Wirksamkeit	Klinische Parameter	<ul style="list-style-type: none"> - Körpermasse in kg - Kotkonsistenz - Kotabsatzfrequenz - <i>Canine Inflammatory Bowel Disease Activity Index</i> (CIBDAI)
Sicherheit	Blutwerte	<ul style="list-style-type: none"> - Hämatologie inkl. Differentialblutbild - Klinische Chemie - C-reaktives Protein (CRP)

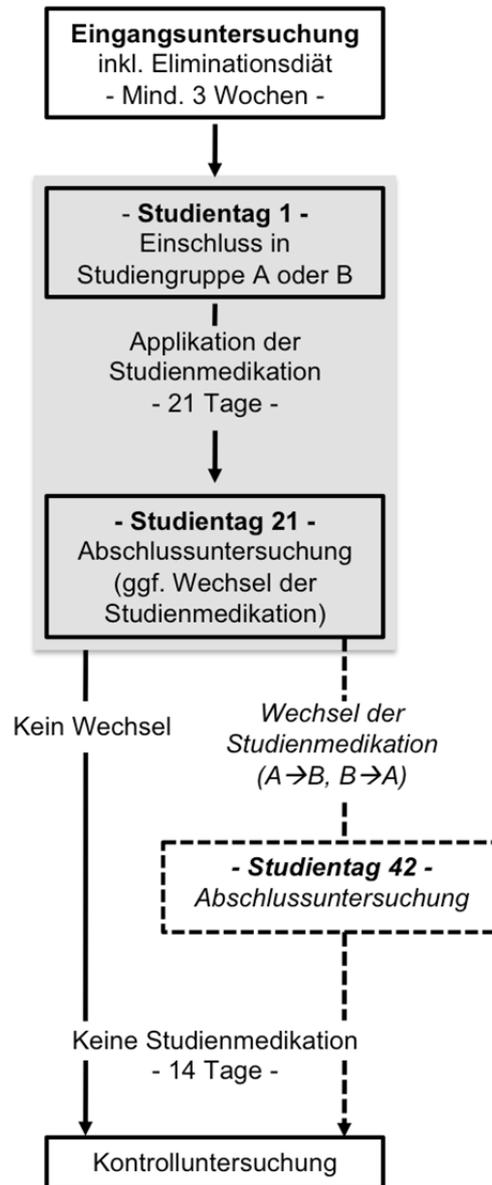


Abbildung 6: Studienprotokoll (Ergänzung Publikation III).

Applikation der Studienmedikation AST-120 (A) oder Placebo (B) nach Einschluss am Studientag 1 über einen Zeitraum von 21 Tagen (Hauptstudienzeitraum grau unterlegt). Bei Verschlechterung oder fehlender klinischer Besserung unter der ersten Studienmedikation war ein Wechsel der Studienmedikation möglich (A→B oder B→A). Hierbei verlängerte sich der Studienzeitraum um weitere 21 Tage und der Studienabschluss erfolgte am Studientag 42. Bei allen in die Studie eingeschlossenen Patienten erfolgte 14 Tage nach der Abschlussuntersuchung eine klinische Kontrolluntersuchung.

Ergebnisse

Wie aus der Publikation III hervorgeht, zeigten vier von fünf Hunden (80%) unter der dreiwöchigen Behandlung mit AST-120 eine vollständige klinische Besserung (Verbesserung des CIBDAI nach Therapie > 75%). In einem Fall wurde keine Veränderung der klinischen Symptomatik registriert (CIBDAI vor und nach Therapie: 4). Dieser Hund erhielt im Anschluss für weitere drei Wochen das Placebo, ebenfalls ohne Veränderung der gastrointestinalen Symptome.

Im Vergleich zur AST-120-Behandlungsgruppe zeigte einer von fünf Hunden (20%) der Placebo-Gruppe eine vollständige klinische Besserung (siehe Publikation III). Die anderen vier Hunde zeigten unter der Placebo-Behandlung eine klinische Verschlechterung (n=2, Anstieg des CIBDAI), eine mäßige (n=1, Reduktion des CIBDAI um weniger als 25%) oder eine partielle klinische Verbesserung (n=1, Reduktion des CIBDAI um weniger als 40%) und wechselten am Studientag S-21 auf die Studienmedikation AST-120.

Nach einer dreiwöchigen Behandlung mit AST-120 zeigten zwei der vier Hunde eine vollständige klinische Remission (Reduktion des CIBDAI um 80%; CIBDAI S-21/S-42: 5/1) oder partielle klinische Remission (Reduktion des CIBDAI um 75%; CIBDAI S-21/S-42: 4/1).

In einem Fall wurde nach dem Wechsel auf AST-120 eine mäßige klinische Verbesserung verzeichnet (Reduktion CIBDAI um weniger als 25%; CIBDAI S-21/S-42: 6/5). Dieser Hund zeigte nach Studienabschluss eine klinische Verbesserung unter der Therapie mit Tylosin, welche jedoch nur sechs Wochen anhielt. Im weiteren Krankheitsverlauf wurde dieser Hund - jedoch erfolglos - mit Immunsuppressiva behandelt und musste nach fortschreitender Verschlechterung des Allgemeinbefindens euthanasiert werden.

Hund 4 zeigte nach der dreiwöchigen Placebo-Behandlung eine partielle klinische Besserung und wurde auf Wunsch des Besitzers ebenfalls auf die andere Studienmedikation gewechselt. Nach der Behandlung mit AST-120 blieb der Hund klinisch stabil (CIBDAI Score 3, weicher ungeformter Kot [Score 1] und Kotabsatzfrequenz von 3-4x/Tag [Score 2]). Ein wesentliches klinisches Kriterium für die Beurteilung der Wirksamkeit der Studienmedikation vom Besitzer war in diesem Fall das Auftreten von Borborygmen und Flatulenzen, welche verstärkt nach der Fütterung auftraten. Unter der Placebo-Behandlung wurde keine, nach dem Wechsel der Studienmedikation auf AST-120 hingegen eine deutliche Verbesserung der beschriebenen Symptomatik verzeichnet.

Die Ergebnisse zur Untersuchung der klinischen Wirksamkeit von AST-120 in diesen vier Hunden, die am Studientag S-21 von Placebo auf AST-120 wechselten, sind in der Abbildung 7 sowie in der Tabelle 15 dargestellt.

Es wurden keine unerwünschten Reaktionen nach Wechsel der Studienmedikation von Placebo auf AST-120 registriert. Die Ergebnisse der Blutuntersuchungen sind in Tabelle 16 und Tabelle 17 zusammengefasst.

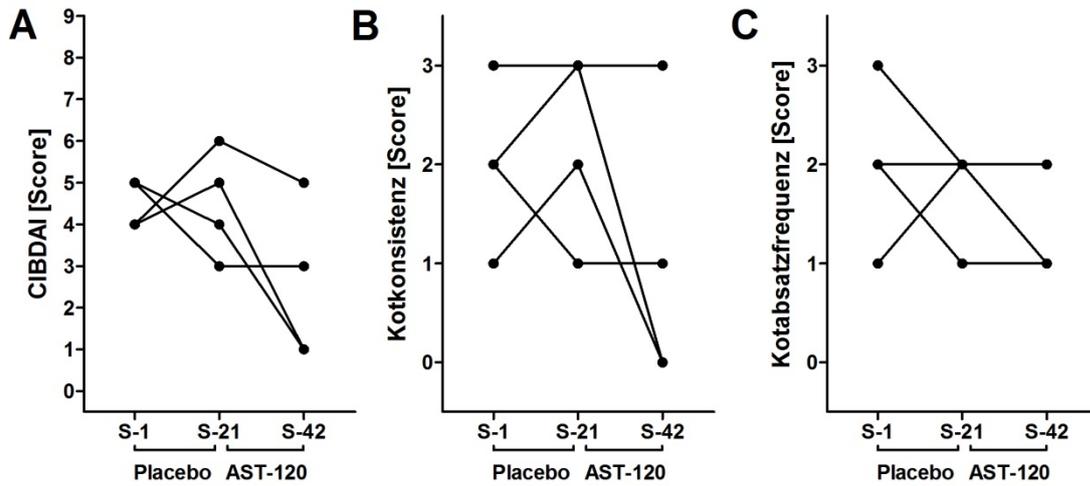


Abbildung 7: Vergleich des klinischen Aktivitätsindex CIBDAI (A) sowie der Kotkonsistenz (B) und Kotabsatzfrequenz (C) bei vier Hunden mit chronisch-entzündlicher idiopathischer Enteropathie vor und nach Behandlung mit dem Placebo sowie nach Wechsel der Studienmedikation von Placebo auf AST-120 (Ergänzung Publikation III).

CIBDAI, *Canine Inflammatory Bowel Disease Activity Index* nach Jergens et al. (2003); S, Studientag.

Bewertung der Kotkonsistenz und Kotabsatzfrequenz entsprechend dem Bewertungsschema des CIBDAI (Kotkonsistenz: 0=fest geformt, 1=weich ungeformt; 2=sehr weich, cremig; 3=wässrig; Kotabsatzfrequenz: 0=1x/Tag; 1=2-3x/Tag; 2=4-5x/Tag; 3=mehr als 5x/Tag).

In der Publikation III wurde ferner auf einen Hund der Placebo-Gruppe hingewiesen, bei dem die Placebo-Applikation auf Grund der Verschlechterung des Allgemeinbefindens des Hundes und auf Wunsch des Besitzers bereits acht Tage nach Studienbeginn eingestellt wurde. Dieser Hund wurde von der in der Publikation III beschriebenen „Hauptstudie S-1/S-21“ ausgeschlossen und wechselte am Studientag S-8 auf die andere Studienmedikation. Nach dreiwöchiger Behandlung mit AST-120 zeigte dieser Hund eine vollständige klinische Remission (Verbesserung des CIBDAI Score nach Therapie um 80%). Die Ergebnisse zur Untersuchung der klinischen Wirksamkeit von AST-120 nach *Crossover* können der Tabelle 14 entnommen werden.

Tabelle 14: Ergebnisse zur Untersuchung der klinischen Wirksamkeit von AST-120 bei einem Hund mit chronisch-entzündlicher idiopathischer Enteropathie nach vorzeitigem *Crossover* an Studientag 8 (Ergänzung Publikation III).

Parameter (Score)	Studientag		
	S-1	S-8	S-21
Canine Inflammatory Bowel Disease Activity Index (0-3)	5	5	1
Kotkonsistenz (0-3)	3	3	0
Kotabsatzfrequenz (0-3)	2	2	1

Bewertung der Kotkonsistenz und Kotabsatzfrequenz entsprechend dem Bewertungsschema des *Canine Inflammatory Bowel Disease Activity Index* nach Jergens et al. (2003): Kotkonsistenz, 0=fest geformt, 1=weich ungeformt; 2=sehr weich, cremig; 3=wässrig; Kotabsatzfrequenz, 0=1x/Tag; 1=2-3x/Tag; 2=4-5x/Tag; 3=mehr als 5x/Tag.

ERGÄNZUNGEN UND UNVERÖFFENTLICHTE DATEN

Tabelle 15: Ergebnisse zur Untersuchung der klinischen Wirksamkeit von AST-120 nach *Crossover* an Studientag 21 bei vier Hunden mit chronisch-entzündlicher idiopathischer Enteropathie (Ergänzung Publikation III).

Parameter (Score)	S-1		S-21		S-42		Vergleich	Vergleich
	(Einschluss)		(21 Tage Placebo)		(21 Tage AST-120)		S-21/S-1	S-42/S-21
	Median	Min-Max	Median	Min-Max	Median	Min-Max	<i>P</i> *	<i>P</i> *
CIBDAI (0-18)	4,5	4-5	4,5	3-6	2	1-5	1,000	0,109
Kotkonsistenz (0-3)	2	1-3	3	1-3	1	0-3	0,564	0,180
Kotabsatzfrequenz (0-3)	2	1-3	2	1-2	1,5	1-2	0,564	0,317
Körpergewicht in kg	28,7	7,5-42,0	29,2	7,3-40,6	28,3	7,3-40,8	0,461	0,285

P Werte basieren auf dem Wilcoxon signed-rank-Test für gepaarte Proben (*). Signifikanzniveau $P < 0,05$. CIBDAI, *Canine Inflammatory Bowel Disease Activity Index* nach Jergens et al. (2003); S, Studientag.

ERGÄNZUNGEN UND UNVERÖFFENTLICHTE DATEN

Tabelle 16: Blutparameter zur Analyse der Sicherheit der Studienmedikation AST-120 nach *Crossover* - Hämatologie und Differenzialblutbild (Ergänzung Publikation III).

Parameter (Referenzwerte)	S-1 (Einschluss)			S-21 (21 Tage Placebo)			S-42 (21 Tage AST-120)		
	Median	Min-Max	U/O (n)	Median	Min-Max	U/O (n)	Median	Min-Max	U/O (n)
Leukozyten (6.000-12.000/μL)	9.310	6.700- 11.940	0/0	8.270	6.490- 10.790	0/0	10.200	7.500- 14.700	0/1
Hämatokrit (44-55%)	53,8	41,9-56,7	1/2	51,4	39,6-54,4	1/0	50,9	46,5-54,8	0/0
Thrombozyten (165-400 G/L)	209	152-443	1/1	231	102-463	1/1	205	147-421	1/1
Neutrophile G. (3.000-9.000/μL)	5.615	4.672-9.671	0/1	4.861	4.154- 6.689	0/0	6.885	4.442- 8.649	0/0
Eosinophile G. (<600/μL)	447	229-876	-/1	616	280-953	-/2	563	109-1.026	-/2
Lymphozyten (1.000-3.600/μL)	2023	871-3.726	1/1	2.314	1.168- 3.344	0/0	2.218	1.859- 4.649	0/1
Monozyten (<500/μL)	224	201-238	-/0	391	107-584	-/2	522	218-1.506	-/2

G., Granulozyten; Min-Max, Minimum – Maximum; U, Wert unterhalb Referenzwertes; O, Wert oberhalb Referenzwertes.

ERGÄNZUNGEN UND UNVERÖFFENTLICHTE DATEN

Tabelle 17: Blutparameter zur Analyse der Sicherheit der Studienmedikation AST-120 nach Crossover - Blutchemie und C-reaktives Protein (Ergänzung Publikation III).

Parameter (Referenzwerte)	S-1 (Einschluss)			S-21 (21 Tage Placebo)			S-42 (21 Tage AST-120)		
	Median	Min-Max	U/O (n)	Median	Min-Max	U/O (n)	Median	Min-Max	U/O (n)
Protein (5,4-6,6 g/dL)	6,51	6,31-7,08	0/1	5,82	5,53-6,34	0/0	6,31	5,97-6,50	0/0
Albumin (2,8-3,6 g/dL)	3,02	2,22-3,18	1/0	2,81	1,99-3,05	2/0	2,87	2,16-3,12	1/0
Calcium, total (2,5-2,9 mmol/L)	2,7	2,5-2,7	0/0	2,5	2,5-2,7	0/0	2,8	2,5-3,6	0/1
Phosphor (0,96-1,6 mmol/l)	0,9	0,7-1,5	2/0	1,1	1,0-1,3	0/0	1,2	1,0-1,4	0/0
Harnstoff (21-60 mg/dL)	37,0	26,0-53,4	0/0	31,7	20,2-80,4	1/1	30,6	13,7-68,0	1/0
Kreatinin (0,6-1,4 mg/dL)	1,1	0,7-1,2	0/0	1,1	0,7-1,5	0/0	1,0	0,7-1,5	0/1
Glukose (81-112 mg/dL)	83	70-105	2/0	86	82-94	0/0	89	84-93	0/0
Natrium (140-150 mmol/L)	151	146-151	0/2	148	146-148	0/0	148	146-148	0/0
Kalium (3,6-4,8 mmol/L)	4,2	3,6-4,3	0/0	4,5	3,6-4,8	0/0	4,2	3,9-4,5	0/0

Min-Max, Minimum – Maximum; U, Wert unterhalb Referenzwertes; O, Wert oberhalb Referenzwertes.

ERGÄNZUNGEN UND UNVERÖFFENTLICHTE DATEN

Fortsetzung Tabelle 17.

Parameter (Referenzwerte)	S-1 (Einschluss)			S-21 (21 Tage Placebo)			S-42 (21 Tage AST-120)		
	Median	Min-Max	U/O (n)	Median	Min-Max	U/O (n)	Median	Min-Max	U/O (n)
Alanin-Aminotransferase (<76 U/L)	39	26-44	-/0	31	21-116	-/1	38	28-65	-/0
Alkalische Phosphatase (<97 U/L)	54	17-179	-/1	53	25-199	-/1	61	31-249	-/1
Aspartat-Aminotransferase (<41 U/L)	27	7-45	-/1	28	12-49	-/1	29	18-44	-/1
C-reaktives Protein (<7,6 mg/dL)	1,2	0,1-4,3	0/0	0,1	0,1-5,2	0/0	1,2	0,1-5,4	0/0

Min-Max, Minimum – Maximum; U, Wert unterhalb Referenzwertes; O, Wert oberhalb Referenzwertes.

5 Studienübergreifende Diskussion

Die vorliegende Arbeit bietet einen umfassenden Überblick über die primären und sekundären Ursachen chronischen Durchfalls bei Hunden und hebt labordiagnostische Marker hervor, die die Routinediagnostik sowie Kontrolle des Therapieverlaufes unterstützen könnten. Im Detail liegt der Fokus dieser Arbeit bei Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien. Neben bereits etablierten Markern werden Ergebnisse neuerer labordiagnostischer Methoden präsentiert, die im Rahmen des Monitorings, aber auch im Hinblick der Klärung zugrundeliegender pathogenetischer Mechanismen von Nutzen sein könnten. Ergebnisse einer ersten Pilotstudie zeigen zudem die Effektivität und die Sicherheit einer speziellen Kohleformulierung, welche unterstützend zur Standardtherapie bei Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien Anwendung finden könnte. In den folgenden Abschnitten werden die wesentlichen Erkenntnisse im Hinblick auf chronisch-entzündliche Enteropathien studienübergreifend diskutiert⁷, die detaillierte Diskussion einzelner Ergebnisse ist den jeweiligen Publikationen zu entnehmen.

*„IBD is not the most common cause of chronic diarrhea“
(WILLARD 2014)*

In Publikation I wurde die Häufigkeit chronisch-entzündlicher Enteropathien in einer Population von insgesamt 136 Hunden mit dem Hauptsymptom ‚chronischer Durchfall‘ untersucht, welches ein häufiger Vorstellungsgrund von Hunden in der tierärztlichen Praxis ist (VOLKMANN *et al.* 2017). Zwei unabhängige Studien bei Hunden mit chronisch gastrointestinalen Symptomen zeigten auf, dass Hunde häufiger mit Durchfall (mit oder ohne Erbrechen) und seltener mit alleinigem Erbrechen vorgestellt werden (lediglich 10-20% der Hunde mit chronisch gastrointestinalen Symptomen) (KUEHN 2012, BAUMGART *et al.* 2014). Häufiges Erbrechen (mit oder ohne Durchfall) wird vor allem bei extra-gastrointestinalen Ursachen beobachtet (KUEHN 2012, BAUMGART *et al.* 2014, VOLKMANN *et al.* 2017) und erklärt, dass, bedingt durch die Fokussierung der vorliegenden Arbeit auf das Hauptsymptom Durchfall, extra-gastrointestinale Ursachen vergleichsweise seltener vorkamen als in den Arbeiten von KUEHN (2012) und BAUMGART *et al.* (2014) (10% *versus* 17 und 23%). Primäre Enteropathien, d.h. direkt im Gastrointestinaltrakt gelegene Ursachen wurden als die häufigsten Ursachen chronischen Durchfalls und/oder Erbrechens identifiziert (KUEHN 2012, BAUMGART *et al.* 2014, VOLKMANN *et al.* 2017). Die vorliegende Arbeit bestätigt die Hypothese, dass die Gruppe der chronisch-entzündlichen Enteropathien die häufigste Ursache chronischen Durchfalls bei Hunden darstellt (ALLENSPACH und GASCHEN 2003, CAVE 2003, ALLENSPACH 2007, HALL und GERMAN 2010). Hierzu gehören Futter-responsive Enteropathien (FRE), idiopathische Antibiotika-responsive Enteropathien (ARE) und idiopathische Inflammatory Bowel Diseases

⁷ Anmerkung: Einzelne Textpassagen wurden vorab in den unter Absatz 3.1, 3.2, 1.1 sowie 4.1.2 aufgeführten Publikationen veröffentlicht.

(IBD), welche in dieser sowie weiteren Studien mit einer Frequenz von 50-70%, 12-30% bzw. 15-25% innerhalb der Gruppe der chronisch-entzündlichen Enteropathien identifiziert wurden (KUEHN 2012, BAUMGART *et al.* 2014, ALLENSPACH *et al.* 2016, VOLKMANN *et al.* 2017). Die Ergebnisse unterstützen die von WILLARD (2014) aufgestellte Hypothese, dass - entgegen bisheriger Annahmen - die idiopathische IBD zwar eine häufige, jedoch nicht die häufigste Ursache chronischen Durchfalls bei Hunden darstellt.

Ferner weisen die Ergebnisse darauf hin, dass bevor der Verdacht einer idiopathischen IBD bestätigt werden kann, eine detaillierte und schrittweise Abklärung unerlässlich ist (HALL und GERMAN 2010, KUEHN 2012, BAUMGART *et al.* 2014, WILLARD 2014, ALLENSPACH *et al.* 2016, VOLKMANN *et al.* 2017). Aufgrund des retrospektiven Studiendesigns ist es möglich, dass einzelne Ursachen, wie z.B. das intestinale Lymphom oder auch extra-gastrointestinale Manifestationen, die sekundär zur Darmentzündung vorkommen und den Krankheitsschweregrad und -verlauf negativ beeinflussen können (z.B. Pankreatitis (BARTHET *et al.* 1999, RIDGWAY *et al.* 2001, KATHRANI *et al.* 2009)), nicht erkannt wurden, da nicht alle im Abschnitt 2.3.4 aufgeführten diagnostischen Maßnahmen bei allen Hunden durchgeführt wurden. Dies ist nicht selten auf eine mangelnde Besitzercompliance hinsichtlich der zumeist zeit- und kostenintensiven systematischen Abklärung bei chronisch gastrointestinalen Symptomen zurückzuführen (ROSSER 1993, STURGESS 2005, TORESSON *et al.* 2018).

“Biologic markers [...] to objectively assess the natural progression and predict the course of clinical disease, including response to treatment, are needed”
(COLLINS 2013)

Der diagnostische und prognostische Nutzen der histopathologischen Untersuchung von Darmbiopsien bei Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien wird weitgehend kontrovers diskutiert, da eine Unterscheidung der Differenzialdiagnosen FRE, ARE und IBD anhand der entzündlichen Infiltrate kaum möglich ist (SCHREINER *et al.* 2008, DAY 2013). Auch klinische Symptome und labordiagnostische Veränderungen sind selten pathognomisch für chronisch-entzündliche Enteropathien, sie liefern jedoch entscheidende Informationen, um initial extra-gastrointestinale Ursachen auszuschließen und um einen Eindruck vom Krankheitsschweregrad und -verlauf zu bekommen (JERGENS und SIMPSON 2012). In Publikation I wurde bestätigt, dass die Lokalisation des Krankheitsgeschehens im vorderen Verdauungstrakt sowie ein erhöhter Krankheitsschweregrad hinweisend für einen ungünstigen Krankheitsverlauf sein können, während Dickdarmdurchfall sowie ein niedriger Krankheitsschweregrad häufiger mit einer günstigen Prognose assoziiert sind (CRAVEN *et al.* 2004, MUNSTER *et al.* 2006, ALLENSPACH *et al.* 2007, MUNSTER *et al.* 2010, KUEHN 2012, BOSTROM *et al.* 2013, ALLENSPACH *et al.* 2016). In der vorliegenden Arbeit wurden die klinischen Parameter Gewichtsverlust, Lethargie und/oder wässriger Durchfall - unabhängig der Durchfallursache - signifikant häufiger bei Hunden mit einer ungünstigen

Prognose als bei Hunden mit vollständiger oder partieller klinischer Remission beschrieben (VOLKMANN *et al.* 2017). Diese Parameter fließen in die Beurteilung des klinischen Schweregrades (JERGENS *et al.* 2003) sowie der Lokalisation des Krankheitsgeschehens ein (ALLENSPACH und GASCHEN 2003, HALL und GERMAN 2010, MARKS 2013) und können somit den Zusammenhang erklären, dass Hunde mit Dünndarmdurchfall auch häufiger einen erhöhten Krankheitsschweregrad aufwiesen.

Da klinische Parameter auf Grund der subjektiven Beurteilung seitens des Besitzers, aber auch seitens des behandelnden Tierarztes nur erste Hinweise zum Schweregrad geben können (COLLINS 2013), ist es von großem Interesse, objektivere Methoden zu evaluieren, die routinemäßig in der Diagnostik und dem Monitoring chronisch-entzündlicher Darmerkrankungen verwendet werden können (ALLENSPACH 2007, COLLINS 2013). In der vorliegenden Arbeit wurden folglich labordiagnostische Marker untersucht, die bei Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien prognostisch von Nutzen sein könnten. Ein wichtiger Aspekt des prognostischen Nutzens solcher „prädiktiver Marker“ ist u.a., frühzeitig beurteilen zu können, ob eine alleinige diätetische Therapie erfolgversprechend sein könnte oder ob es sich um einen Patienten mit erhöhtem Risiko handelt, bei dem bereits initial eine Therapie mit Immunsuppressiva und/oder Immunmodulatoren erforderlich wäre. In der vorliegenden Arbeit wurden Parameter evaluiert, die erstens bereits routinemäßig in der Praxis bestimmt werden (Publikation I: VOLKMANN *et al.* (2017)) oder zweitens bei Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien noch nicht hinreichend (S100A12 im Kot; Ergänzung zu Publikation I: HEILMANN *et al.* (2016c)) bzw. drittens bisher noch gar nicht untersucht worden sind (regulatorische T-Zellen im Vollblut; Publikation II: VOLKMANN *et al.* (2014)).

Innerhalb der Parameter, die bereits routinemäßig in der veterinärmedizinischen Praxis bestimmt werden, zeichneten sich Anämie (Hämatokrit < 40%), hochgradige Hypoalbuminämie (Serum-Konzentration Albumin < 2,0 g/dL) und hochgradige Hypocobalaminämie (Serum-Konzentration Cobalamin < 200 pg/mL) als Risikofaktoren ab, welche sowohl mit einem erhöhten Krankheitsschweregrad als auch mit einem ungünstigen Krankheitsausgang assoziiert waren (VOLKMANN *et al.* 2017). Die Ergebnisse dieser Arbeit bestätigen die Erkenntnisse aus verschiedenen Studien mit unterschiedlichsten Studiendesigns und -populationen (COUTO *et al.* 1989, CRAVEN *et al.* 2004, MUNSTER *et al.* 2006, ALLENSPACH *et al.* 2007, MUNSTER *et al.* 2010, KUEHN 2012, BOSTROM *et al.* 2013, TITMARSH *et al.* 2015, ALLENSPACH *et al.* 2016), weiterführend bietet Publikation I dabei eine umfassende Gegenüberstellung der primären und sekundären Ursachen sowie der Krankheitsverläufe und von diesen ins Detail gehend einen Vergleich der verschiedenen Differenzialdiagnosen mit Fokus auf chronisch-entzündliche Enteropathien und dem intestinalen Lymphom.

Albumin ist ein unspezifisches, negatives Akute-Phase-Protein, welches routinemäßig im Plasma oder Serum bestimmt wird und als Risikofaktor für einen erhöhten Krankheitsschweregrad sowie als prognostischer Marker bei verschiedenen Erkrankungen beschrieben wurde (CABRAL *et al.* 2001, CRAVEN *et al.* 2004, CERON *et al.* 2005,

MUNSTER *et al.* 2006, ALLENSPACH *et al.* 2007, MUNSTER *et al.* 2010, KUEHN 2012, COLLINS 2013, TITMARSH *et al.* 2015, ALLENSPACH *et al.* 2016). Eine hochgradige Hypoalbuminämie, welche kennzeichnend für eine Proteinverlustenteropathie (PLE) ist (HALL und GERMAN 2010), wurde in der vorliegenden Arbeit vor allem bei Hunden mit IBD verzeichnet und könnte im Rahmen der diagnostischen Abklärung nach Ausschluss aller anderen primären und sekundären Ursachen als prädiktiver Marker zur Differenzierung einer IBD von einer FRE oder ARE und folglich zur Therapieentscheidung herangezogen werden (HEILMANN *et al.* 2016c, VOLKMANN *et al.* 2017). Wie in der vorliegenden Arbeit aber auch gezeigt wurde, kann allein auf dem Nachweis einer hochgradigen Hypoalbuminämie bei Hunden mit idiopathischer IBD vor Therapiebeginn keine Aussage hinsichtlich des therapeutischen Erfolges gegeben werden (HEILMANN *et al.* 2016c). Die Prognose einer IBD kann allerdings verbessert werden, wenn das regelmäßige Monitoring des Therapieverlaufes die kombinierte Bestimmung des klinischen Schweregrades und der Serum-Albumin-Konzentration einschließt (MUNSTER *et al.* 2006, NAKASHIMA *et al.* 2015). NAKASHIMA *et al.* (2015) wiesen dabei auf ein Zeitintervall von 50 Tagen hin. In diesem Zeitraum sollten die beiden genannten Parameter engmaschig überprüft werden, so dass bei einer fehlenden Verbesserung aggressivere therapeutische Maßnahmen (noch relativ frühzeitig) eingeleitet werden könnten.

Hypocobalaminämie wurde bei verschiedenen Tierarten als Komorbidität beschrieben (RUAUX 2013) und ein hochgradiger Vitamin-B₁₂-Mangel wurde in der vorliegenden Arbeit als prädiktiver Marker für eine ungünstige Prognose bei Hunden mit diagnostizierter IBD identifiziert (HEILMANN *et al.* 2016c). Während eine graduierte Bewertung des Serum-Albuminspiegels neben der Ergänzung weiterer klinischer Parameter (Aszites/Ödeme und Pruritus) die Beurteilung des klinischen Schweregrades bei Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien im Allgemeinen verbessert, führt die Ergänzung der Serum-Cobalamin-Konzentration jedoch zu keiner weiteren Verbesserung der Aussagekraft (ALLENSPACH *et al.* 2007). Die Bestimmung der Serum-Cobalamin-Konzentration ist diagnostisch und prognostisch dahingehend sinnvoll, da ein nicht behandelter Vitaminmangel wesentlich zur Progression des Entzündungsgeschehens im Gastrointestinaltrakt beitragen und folglich ursächlich für einen ausbleibenden Therapieerfolg sein kann (RUAUX *et al.* 2005, HALL und GERMAN 2008, RUAUX 2008). Anders als endogene oder zelluläre Biomarker ist dieser exogene Marker zum regelmäßigen Monitoring des Krankheitsschweregrades und therapeutischen Erfolges jedoch ungeeignet, da die therapeutische Maßnahme zur Behebung des Vitaminmangels die direkte Gabe des Vitamins (parenteral oder oral) ist (RUAUX 2013). Da einige Hunde unter Umständen eine Langzeitbehandlung benötigen, wird die wiederholte Kontrolle der Cobalaminkonzentration im Serum in größeren Zeitintervallen nach Abschluss der Vitaminkur und ggf. die individuell angepasste Fortführung dieser empfohlen (RUAUX 2013, TORESSON *et al.* 2018).

Da die Pathogenese chronisch-entzündlicher Enteropathien sehr komplex und individuell auch sehr verschieden ist, könnte eine kombinierte Messung verschiedener Biomarker helfen, jeden Patienten spezifisch zu charakterisieren und ein individuelles

Behandlungsregime zu entwickeln, welches idealerweise durch Verlaufsuntersuchungen zu jedem Zeitpunkt optimiert werden könnte (PAPADAKIS und TARGAN 2000). Ergänzend zu Publikation I wurden bei Hunden, die eine hochgradige Hypoalbuminämie und/oder Hypocobalaminämie aufwiesen, signifikant höhere S100A12 Konzentrationen im Kot nachgewiesen als bei Hunden ohne diese hochgradigen serologischen Veränderungen (HEILMANN *et al.* 2016c). Obgleich die Bestimmung von S100A12 im Kot nicht zur Differenzierung einer FRE, ARE und IBD herangezogen werden kann, kann eine Konzentration oberhalb des Grenzwertes von 2700ng/g Kot hinweisend für einen ausbleibenden Therapieerfolg und folglich eine ungünstige Prognose bei Hunden mit diagnostizierter IBD sein (HEILMANN *et al.* 2016c). Aufgrund der geringen Fallzahl sind die Ergebnisse jedoch vorsichtig zu interpretieren. Jüngst veröffentlichte (Teil-) Ergebnisse umfassender Studien zur kombinierten Messung verschiedener Biomarker im Serum und Kot bei Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien wiesen neben S100A12 auch auf das S100 Protein Calprotectin als einen möglichen prädiktiven Biomarker hin (HEILMANN *et al.* 2018, REIMANN *et al.* 2018). Welches der beiden S100 Proteine den größeren klinischen Nutzen aufweist, muss noch evaluiert werden.

*„As more characteristics are defined,
the therapeutic armamentarium will certainly increase.“
(PAPADAKIS und TARGAN 2000)*

Neben oben beschriebenen endogenen und exogenen Biomarkern wurden in der vorliegenden Arbeit auch regulatorische T-Zellen (T_{REG}) bei Hunden mit IBD untersucht, welche als zellulärer Biomarker die Aufklärung pathogenetischer Mechanismen und die Entwicklung spezifischer Therapien unterstützen könnten. In Publikation II wurde im Rahmen einer in der Fallzahl limitierten Pilotstudie gezeigt, dass symptomatische Hunde mit idiopathischen entzündlichen Enteropathien im Vergleich zu gesunden Kontrollen und im Vergleich zu Hunden, die sich unter Therapie klinisch verbesserten, eine reduzierte T_{REG} -Frequenz im Vollblut aufwiesen (VOLKMANN *et al.* 2014). Diese Ergebnisse unterstützen die sowohl von JUNGINGER *et al.* (2012) als auch jüngst von MAEDA *et al.* (2016) veröffentlichten Studien, in denen durch immunhistochemische Untersuchungsmethoden bei Hunden mit IBD gegenüber entsprechenden Kontrollen (gesunde Hunde oder Hunde ohne chronisch-entzündliche Enteropathie) geringere T_{REG} -Zahlen in der Darmschleimhaut nachgewiesen wurden.

Publikation II ist nach Wissen der Autorin die erste veröffentlichte Studie zur Messung der T_{REG} -Frequenz im Vollblut bei Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien. Die methodische Durchführung erfolgte dabei nach bereits bei Hunden etablierten Verfahren (MIZUNO *et al.* 2009, PINHEIRO *et al.* 2011). Die Vorteile dieser Methode gegenüber der T_{REG} -Bestimmung in Darmbiopsien liegen in der nicht-invasiven Probengewinnung und

schnellen Durchführung binnen eines Tages (Aufbereitung sowie Analyse der einzelnen Proben eingeschlossen).

Da in der vorliegenden Studie nur Hunde mit einer idiopathischen entzündlichen Enteropathie (mit oder ohne PLE) eingeschlossen und lediglich Einzeluntersuchungen (keine Verlaufsuntersuchungen) vorlagen, sind weitere Studien erforderlich, um zu klären, inwiefern die T_{REG} -Messung als Biomarker in der Diagnostik bei chronischen gastrointestinalen Symptomen allgemein und dem therapeutischen Monitoring chronisch-entzündlicher Enteropathien im Speziellen von Nutzen ist. Ein erster Hinweis für einen möglichen, und durchaus nicht unbedeutenden diagnostischen Nutzen kann aus der Studie von MAEDA *et al.* (2016) abgeleitet werden. Maeda und Kollegen identifizierten signifikant unterschiedliche T_{REG} -Zahlen in der Darmschleimhaut von Hunden mit IBD und Hunden mit intestinale Lymphom. So wiesen Hunde mit einem intestinalen Lymphom eine signifikant höhere Anzahl Foxp3-positiver Lymphozyten der Lamina propria sowie eine signifikant höhere mRNA-Expression des immunregulatorischen Zytokins Interleukin 10 auf als Hunde mit IBD. Innerhalb der Studiengruppe mit kleinzelligem intestinale Lymphom wiesen jene Hunde mit einer höheren T_{REG} -Dichte kürzere Überlebenszeiten auf als Hunde mit einer im Vergleich zu gesunden Kontrollen „normalen“ T_{REG} -Dichte. Weitere Studien bei Hunden mit verschiedenen neoplastischen Erkrankungen, welche mittels der in Publikation II verwendeten Technik der Durchflusszytometrie u.a. im Vollblut von Hunden mit Neoplasien erhöhte T_{REG} -Frequenzen gegenüber gesunden Kontrollen nachwies (BILLER *et al.* 2007, HORIUCHI *et al.* 2009, O'NEILL *et al.* 2009, TOMINAGA *et al.* 2010, PINHEIRO *et al.* 2014), bekräftigen die Studienergebnisse von MAEDA *et al.* (2016) und deuten hierbei auf T_{REG} als einen negativen prognostischen Marker hin.

Die histopathologische Untersuchung von Darmbiopsien ist unbestritten eine der wichtigsten Untersuchungsmethoden, um eine idiopathische IBD von einem intestinalen Lymphom zu differenzieren, aber auch hier ist bekannt, dass beide Ursachen histopathologisch ein hohes Maß an Ähnlichkeit aufweisen können und weitere, zu Teilen kostenintensive Untersuchungen von Darmbiopsien (z.B. Immunhistochemie, Durchflusszytometrie, PCR) notwendig wären, um *ante mortem* ein mögliches intestinales Lymphom zu diagnostizieren bzw. auszuschließen (COUTO *et al.* 1989, JERGENS *et al.* 1992, CAVE 2003, HALL und GERMAN 2010, MANCHO *et al.* 2011, BURKHARD und BIENZLE 2013, THALHEIM *et al.* 2013, CARRASCO *et al.* 2015). Um Klarheit zu bekommen, muss betroffenen Hundebesitzern nicht selten zu einer erneuten Entnahme von Vollschichtbiopsien geraten werden, welche zudem invasiv ist und größere gesundheitliche Risiken für den Patienten birgt (DAHLEM und BURGNER 2015, VOLKMANN und KOHN 2015). Die Bestimmung der Frequenz peripher im Blut zirkulierender T_{REG} könnte folglich bereits frühzeitig im Rahmen der Abklärung helfen, ein intestinales Lymphom mittels einer wenig bzw. nicht-invasiven Untersuchungsmethode von einer chronisch-entzündlichen Enteropathie zu differenzieren.

Da das Alter der Hunde einen direkten Einfluss auf die Verteilung der verschiedenen Lymphozytenpopulationen hat (RUNGPUPRADIT 2003, BRUSKO *et al.* 2005, DAY 2010, JUNGINGER *et al.* 2012) und Medikamente mit immunsuppressiven und

immunmodulierenden Eigenschaften (Futtermittel eingeschlossen) unterschiedliche anti-inflammatorische Immunantworten induzieren können (RUNGPUPRADIT 2003, WHITLEY und DAY 2011, ROSSI *et al.* 2014), müssen diese in der Beurteilung des diagnostischen und prognostischen Nutzens regulatorischer T-Zellen als zellulären Biomarker berücksichtigt und folglich in der Anamnese der Erstvorstellung bzw. am Tag der Untersuchung genauestens erfasst werden.

In Übereinstimmung mit JUNGINGER *et al.* (2012) wurden in der vorliegenden Arbeit altersassoziierte Veränderungen der T_{REG}-Frequenzen im Vollblut aufgezeigt. So wiesen juvenile Hunde signifikant niedrigere Frequenzen auf als Hunde mittleren Alters. Ähnlich der hier präsentierten Ergebnisse im Vollblut wiesen JUNGINGER *et al.* (2012) einen T_{REG}-Anstieg in der Darmschleimhaut bei Hunden mittleren Alters gegenüber juvenilen Hunden auf, welches auf eine allmähliche Entwicklung der oralen Toleranz hindeutet. Im zunehmenden Lebensalter kommt es zu einer sog. Immunoseneszenz, bei der eine Abnahme dieser spezialisierten Immunzellen beobachtet wird (DAY 2010, JUNGINGER *et al.* 2012). Dieses berücksichtigend wurden in Publikation II die Hunde mit IBD entsprechend ihrer Altersverteilung mit Kontrollhunden mittleren Alters verglichen. Neben dem Alter spielen aber auch andere Faktoren, wie Rasse, Haltung und Fütterung (Umweltantigene) in der Entwicklung und Ausprägung des Immunsystems eine wichtige Rolle (RUNGPUPRADIT 2003, PHILIPP 2013). Wie in Publikation II aufgeführt, ist zu berücksichtigen, dass die individuelle Therapie einschließlich der Eliminationsdiät die T_{REG}-Frequenz beeinflusst haben könnte.

In verschiedenen humanmedizinischen sowie *in vitro* Studien wurden allein in Abhängigkeit von der Dosis unterschiedliche Effekte der in der Standardtherapie gängigen Medikamente (u.a. Glukokortikoide, Ciclosporin A, Mycophenolat Mofetil) nachgewiesen (ASHWELL *et al.* 2000, OCKLENBURG 2005, LING *et al.* 2007, BRANDT *et al.* 2009, HIJNEN *et al.* 2009, MIROUX *et al.* 2009, BAUMGRASS *et al.* 2010, LI *et al.* 2011, MIROUX *et al.* 2012, LI *et al.* 2013). In einer randomisierten, klinischen Studie bei Hunden mit IBD verglichen ROSSI *et al.* (2014) die immunmodulatorischen Effekte zwischen einem kommerziell erhältlichen Probiotikum und einer Kombinationstherapie aus Metronidazol und Prednisolon. Obgleich alle Hunde unter der ihr zugeteilten Therapie eine signifikante klinische Verbesserung zeigten, wiesen lediglich die Hunde der Probiotikum-Gruppe einen signifikanten Anstieg der Foxp3-positiven Lamina Propria Lymphozyten sowie gegenüber der Kombinationstherapie-Gruppe einen stärkeren Anstieg des immunregulatorischen Zytokins TGF- β in der Darmschleimhaut auf. ROSSI *et al.* (2014) zeigten, dass eine probiotische Behandlung gegenüber der Standardtherapie mit Metronidazol und Kortikoiden eine gänzlich verschiedene anti-inflammatorische Immunantwort induziert, aber auch hier zur Aufklärung der Mechanismen der einzelnen Therapien weitere Studien in einer größeren Studienpopulation erforderlich sind.

„The treatment of canine IBD is largely empirical due to the poor understanding of aetiopathogenesis and lack of therapeutic trials.“
(CRAVEN *et al.* 2004)

Die Entwicklung der oralen Toleranz und die Aufrechterhaltung der intestinalen Homöostase werden durch die komplexe Interaktion einer Vielzahl verschiedener endogener und exogener Faktoren bestimmt, wodurch die Pathogenese und folglich auch die Therapie chronisch-entzündlicher Enteropathien mitunter äußerst komplex und von Individuum zu Individuum sehr verschieden ist. CRAVEN *et al.* (2004) wiesen in ihrer Veröffentlichung darauf hin, dass viele bei Menschen gängige Medikationen auch bei Hunden mit entzündlichen Darmerkrankungen zum Einsatz kommen, ihre Wirksamkeit bei Hunden aber (noch) nicht hinreichend untersucht wurde und auch Informationen fehlten, inwiefern diese der Erhaltung oder eher der Induktion der klinischen Remission nützen. In den vergangenen Jahren sind zahlreiche Studien erschienen, die die Wirksamkeit verschiedener immunsupprimierender, immunmodulierender, anti-, prä-, pro- oder synbiotischer und anderer Therapeutika bei Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien untersuchten (die Autorin beschränkt die Literaturverweise an dieser Stelle auf einzelne Beispiele und verweist ferner auf den Absatz 2.3.5 zur Therapie; Übersichtsarbeiten: FOGLE und BISSETT (2007), WHITLEY und DAY (2011), MALEWSKA *et al.* (2011) und ERDMANN und HEILMANN (2017); Immunsuppressiva/Immunmodulatoren und/oder Antibiotika: ALLENSPACH *et al.* (2006b), JERGENS *et al.* (2010a), KILPINEN *et al.* (2011), DANDRIEUX *et al.* (2013), DYE *et al.* (2013); Prä- und Probiotika, ROSSI *et al.* (2014) und SEGARRA *et al.* (2016); Cobalamin, TORESSON *et al.* (2018)). Obgleich verschiedene konventionelle und neuere Medikationen zur Verfügung stehen, ist deren langanhaltender Effekt vor allem hinsichtlich potenzieller Nebenwirkungen und kostenlimitierender Faktoren nicht immer zufriedenstellend (ALLENSPACH und GASCHEN 2003, CRAVEN *et al.* 2004, ALLENSPACH *et al.* 2006a, JERGENS *et al.* 2010a, KOVALIK *et al.* 2011, MALEWSKA *et al.* 2011, WHITLEY und DAY 2011). Zudem kann bei einzelnen Therapeutika wie bspw. Ciclosporin ein verzögerter Wirkungseintritt (Zeitraum vom Beginn der Therapie bis zur klinischen Verbesserung) von mehreren Tagen bis Wochen auftreten. Dies kann darin begründet sein, dass die Absorption der oral applizierten Medikamente auf Grund einer hochgradigen Entzündung der Darmschleimhaut oder auch einer abnormalen Expression bestimmter Rezeptoren, wie dem Transmembranprotein P-Glykoprotein, vermindert bzw. verzögert sein kann (LOWN *et al.* 1997, ALLENSPACH *et al.* 2006a, ALLENSPACH *et al.* 2006b).

AST-120 ist eine nicht-absorbierbare Kohleformulierung, die u.a. auf Grund ihrer besonderen porösen Struktur eine hohe, irreversible Bindungskapazität gegenüber niedermolekularen, Entzündungen unterhaltenden Mediatoren aufweist und zu einer Verbesserung der klinischen Symptomatik bei chronischen Darmerkrankungen des Menschen beitragen kann (ANDERSON und FISCHER 2008, ANDERSON *et al.* 2008, FUKUDA *et al.* 2008, TACK *et al.* 2011). Im Rahmen einer Placebo-kontrollierten, randomisierten, doppelt-verblindeten

Pilotstudie (Publikation III) wurde die Wirksamkeit und die Sicherheit der oral über das Futter applizierten Kohleformulierung bei Hunden mit chronisch-entzündlicher Enteropathie bestätigt. So wurde bei vier von fünf Hunden der Behandlungsgruppe (AST-120) und lediglich bei einem von fünf Hunden der Kontrollgruppe (Placebo) eine deutliche klinische Verbesserung beobachtet (Reduktion des *Canine Inflammatory Bowel Disease Activity Index* um mehr als 60%) (VOLKMANN *et al.* 2013). Ein verzögerter Wirkungseintritt wurde nicht beobachtet, eine klinische Verbesserung trat binnen der ersten sieben Tage nach Beginn der AST-120-Gabe ein. In Übereinstimmung mit humanmedizinischen Studien (UEDA *et al.* 2007, FUKUDA *et al.* 2008, TACK *et al.* 2011) wurden in der vorliegenden Studie bei Hunden weder unerwünschte Reaktionen noch eine negative Beeinträchtigung des Ernährungszustandes durch die Testmedikation registriert (VOLKMANN *et al.* 2013). In einer Studie von WILLMER *et al.* (2008) wurde gezeigt, dass AST-120 die Bioverfügbarkeit gleichzeitig applizierter Medikationen wie Ciprofloxacin oder Azathioprin über einen längeren Zeitraum nicht zu beeinflussen scheint und folglich begleitend zur Standardtherapie chronisch-entzündlicher Enteropathien eingesetzt werden kann. Da die Behandlungsperiode dieser Pilotstudie auf drei Wochen beschränkt war, können zu diesem Zeitpunkt keine Aussagen über die Wirksamkeit der Testmedikation über einen längeren Zeitraum getroffen werden. Inwiefern AST-120 langfristig zum Erhalt der klinischen Remission bei Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien beitragen könnte, muss folglich in weiteren prospektiven Studien geklärt werden. Auch sind bei der Spezies Hund weitere Untersuchungen zu potenziellen Wechselwirkungen von AST-120 und den bei chronisch-entzündlichen Enteropathien gängigen Immunsuppressiva sowie jenen Medikamenten erforderlich, die unterstützend zur symptomatischen Therapie eingesetzt werden (u.a. Omeprazol, Metoclopramid und Metamizol).

Auf Grund der insgesamt sehr kleinen Studienpopulation sind die Ergebnisse dieser explorativen Studie mit Vorsicht zu interpretieren. In dem hier vorliegenden Schrifttum werden ergänzend die Daten einer zweiten Behandlungsperiode nach *Crossover* präsentiert, welche die in Publikation III veröffentlichten Ergebnisse bekräftigen. Insgesamt fünf von sechs Hunden, die zu Studienbeginn der Kontrollgruppe zugeteilt waren (davon vier Hunde, die die erste dreiwöchige Behandlungsperiode abgeschlossen hatten und unter Placebo keine oder nur eine mäßige Verbesserung zeigten, sowie ein weiterer Hund, der zu Studienbeginn der Kontrollgruppe zugeordnet war, aber auf Grund seiner klinischen Verschlechterung und des vorzeitigen Abbruchs von der Hauptstudie der ersten Behandlungsperiode ausgeschlossen wurde), erhielten nach einem Wechsel der Studienmedikation für weitere drei Wochen die Testmedikation AST-120. Vier dieser fünf Hunde (davon drei der vier Hunde, die die erste Behandlungsperiode abgeschlossen hatten) zeigten ebenfalls eine deutliche Verbesserung der klinischen Symptome unter AST-120. Da der Wechsel der Studienmedikation von Placebo auf AST-120 im direkten Anschluss an die erste Behandlungsperiode, also ohne eine Auswaschphase, erfolgte, können *Carryover*-Effekte nicht ausgeschlossen werden (WELLEK und BLETTNER 2012) und die Ergebnisse sind kritisch zu beurteilen. Basierend auf den Ergebnissen der Behandlungs- und

Kontrollgruppe nach der ersten dreiwöchigen Behandlungsperiode (VOLKMANN *et al.* 2013) und den Ergebnissen der Studie von TACK *et al.* (2011) bei Menschen mit nicht-konstipativem Reizdarmsyndrom, in welcher das Placebo während einer einfach-verblindeten zweiwöchigen Auswaschphase appliziert wurde, wird eine mögliche Überlagerung von Behandlungs- mit *Carryover*-Effekten beim Wechsel vom Placebo auf AST-120 als zu vernachlässigen gering geschätzt. Ein optimales Zeitintervall der Auswaschperiode und mögliche Überhangseffekte sollten vor der Planung weiterer *Crossover*-Studien bei Hunden berücksichtigt werden (WELLEK und BLETTNER 2012).

Die Ergebnisse der vorliegenden Pilotstudie lassen vermuten, dass AST-120 zur Induktion der klinischen Remission bei Hunden mit geringem bis mittelgradigem Krankheitsschweregrad und/oder unterstützend zur initialen Stabilisierung und Überbrückung eines möglichen verzögerten Wirkungseintritts notwendiger Immunsuppressiva von Nutzen sein könnte. In Publikation III wird der Anschein erweckt, dass das Alter der Hunde einen Einfluss auf die Studienergebnisse gehabt haben könnte, da die Hunde der Behandlungsgruppe signifikant jünger waren als die Hunde der Kontrollgruppe. Ein möglicher altersabhängiger Einfluss auf den therapeutischen Erfolg wird auch durch die Ergebnisse der Publikation I und II sowie weiterer Studien bekräftigt, in denen u.a. gezeigt wurde, dass vor allem junge Hunde häufiger einen günstigen Krankheitsverlauf aufwiesen (MUNSTER *et al.* 2006, ALLENSPACH *et al.* 2007, KUEHN 2012, OKANISHI *et al.* 2013b, VOLKMANN *et al.* 2017). Da die "älteren" Hunde der Kontrollgruppe nach dem Wechsel der Studienmedikation von Placebo auf AST-120 ebenso eine klinische Verbesserung zeigten, ist ein möglicher Einfluss des Alters in der vorliegenden Pilotstudie als vernachlässigbar gering zu beurteilen. Eine Aussage hinsichtlich eines langanhaltenden Therapieerfolges ist auf Grund des kurzen Beobachtungszeitraumes nicht möglich.

Berücksichtigend, dass eine abnormale Interaktion des darmassoziierten mukosalen Immunsystems (GALT) und der endogenen Mikrobiota ein entscheidender Faktor in der multifaktoriellen Pathogenese chronisch-entzündlicher Enteropathien ist (PACKKEY und SARTOR 2008), wird vermutet, dass die spezielle Kohleformulierung AST-120 zu einer Stabilisierung der endogenen Darmmikrobiota sowie lokaler intestinaler Immunantworten beitragen kann (ARAKI *et al.* 2000, ANDERSON und FISCHER 2008, WILLMER *et al.* 2008, TACK *et al.* 2011). Die Annahme beruht darauf, dass AST-120 die Eigenschaft besitzt, verschiedene niedermolekulare, pro-inflammatorische Mediatoren im Darmlumen irreversibel zu binden (ARAKI *et al.* 2000, ANDERSON und FISCHER 2008, ANDERSON *et al.* 2008, TACK *et al.* 2011). Da die vorliegende Pilotstudie in erster Linie das Studienziel verfolgte, Wirksamkeit und Sicherheit der Kohleformulierung zu bestimmen, wurden die Endpunkte der Studie auf klinische sowie wesentliche hämatologische und blutchemische Parameter (u.a. Albumin) beschränkt. Weiterführende Untersuchungen, welche zur Klärung der zugrunde liegenden Wirkungsweise beitragen könnten, wurden jedoch nicht durchgeführt.

6 Schlussfolgerungen und Ausblicke

Die vorliegende Arbeit zeigt auf, dass gastrointestinale Erkrankungen weitaus häufiger als Ursache chronischen Durchfalls bei Hunden vorkommen als extra-gastrointestinale Erkrankungen. Neben infektiösen Ursachen ist vor allem die Gruppe der chronisch-entzündlichen Enteropathien differenzialdiagnostisch zu berücksichtigen. Die bisherige Annahme, dass idiopathische entzündliche Darmerkrankungen, bei denen eine Therapie mit Antibiotika und/oder Immunsuppressiva indiziert ist, die häufigste Ursache chronisch gastrointestinaler Symptome sind, wurde in dieser Arbeit widerlegt. Die häufigste Differenzialdiagnose waren Futter-responsive Enteropathien. Dieser Befund unterstreicht die Notwendigkeit einer ausführlichen Fütterungsanamnese sowie einer detaillierten und schrittweisen Vorgehensweise im Rahmen der Abklärung chronisch-entzündlicher Enteropathien durch den praktizierenden Tierarzt. Entsprechend den bisherigen Empfehlungen sollte eine auf das Individuum abgestimmte Eliminationsdiät die erste einzuleitende Maßnahme und auch die Basis der Therapie idiopathischer chronisch-entzündlicher Enteropathien sein.

Die routinemäßige Bestimmung von Hämatokrit, Serum-Albumin, Serum-Cobalamin und S100A12 im Kot vor Therapiebeginn kann dem praktizierenden Tierarzt helfen, Für-oder-Wider des schrittweisen therapeutischen Vorgehens abzuwägen. Basierend auf den Ergebnissen dieser Arbeit ist eine zügige immunsuppressive Therapie situationsbedingt zu empfehlen: So waren einzelne klinische Symptome wie Lethargie und mittel- bis hochgradiger Gewichtsverlust sowie labordiagnostische Befunde wie Anämie, hochgradige Hypoalbuminämie, hochgradige Hypocobalaminämie und eine erhöhte Konzentration des Entzündungsmarkers S100A12 im Kot mit einem höheren Krankheitsschweregrad und einer ungünstigen Prognose v.a. einer idiopathischen IBD assoziiert. Eine klare Unterscheidung der verschiedenen Differenzialdiagnosen chronischen Durchfalls bzw. chronisch-entzündlicher Enteropathien scheint anhand dieser Marker jedoch nicht möglich.

Neben den beschriebenen Parametern könnte auch die T_{REG} -Frequenz im Vollblut zur routinemäßigen Kontrolle des Krankheitsverlaufes sowie therapeutischen Erfolges bei Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien eingesetzt werden. In einer ersten Pilotstudie wurde in der vorliegenden Arbeit gezeigt, dass symptomatische Hunde mit chronisch-entzündlicher Enteropathie reduzierte Frequenzen und Hunde in Remission wiederum „normalisierte“ Frequenzen dieser spezialisierten Immunzellen im Vollblut aufwiesen.

Die hier präsentierten Ergebnisse basieren vorrangig auf den Daten bei Erstvorstellung. Einzeluntersuchungen der (Entzündungs-) Marker im Krankheitsverlauf, aber auch kombinierte Messungen vor und während der Therapie könnten nicht nur von großem Nutzen im Rahmen des therapeutischen Monitorings sein, sondern auch wichtige Informationen über die pathogenetischen Mechanismen bei chronisch-entzündlichen Enteropathien liefern, auf deren Grundlage neue, spezifische Therapien entwickelt werden könnten.

Da die Therapie mit Immunsuppressiva häufig durch Nebenwirkungen oder durch einen verzögerten Wirkungseintritt nicht immer zufriedenstellend ist, werden zudem Alternativen oder Supplemente gesucht, durch die die Dosis der Immunsuppressiva herabgesetzt oder die erste Phase bis zum Wirkungseintritt des Immunsuppressivums überbrückt werden kann. AST-120 ist eine spezielle Kohleformulierung, die oral mit der Eliminationsdiät appliziert wird und deren Wirksamkeit und Sicherheit in der vorliegenden Arbeit im Rahmen einer ersten Pilotstudie in Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien bestätigt wurde. Inwiefern AST-120 eine Dosisreduktion oder gar das Absetzen immunsupprimierender Medikamente ermöglicht, gilt es in Folgestudien zu klären. Auch die Untersuchung, inwiefern eine kombinierte Anwendung solch eines Komplexbildners mit Pro- bzw. Synbiotika bei Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien effektiv ist, sollte Bestandteil weiterer Studien sein. Der Vorteil einer solchen Kombinationstherapie läge darin, initial die Darmmikrobiota zu stabilisieren und jene Mediatoren im Darmlumen zu eliminieren, die sowohl entzündliche Prozesse als auch eine Dysbiose aufrechterhalten können.

Unter Berücksichtigung, dass die Aussagekraft einzelner Ergebnisse vor allem durch kleine Fallzahlen eingeschränkt ist, bietet die vorliegende Arbeit einen umfassenden Überblick über Differenzialdiagnosen sowie prognostisch bedeutsame Marker bei Hunden mit chronischem Durchfall. Da die Compliance des Besitzers maßgeblich zum Erfolg der Abklärung und Therapie beiträgt und diese durch die Kommunikation seitens des behandelnden Tierarztes beeinflusst wird, könnten die hier präsentierten Ergebnisse zur Aufklärung des Besitzers über die erforderlichen diagnostischen und therapeutischen Schritte herangezogen werden.

7 Zusammenfassung

Chronischer Durchfall beim Hund - Studien zur Diagnostik und Therapie

Chronischer Durchfall ist ein häufiger Vorstellungsgrund von Hunden in der tierärztlichen Praxis. Wesentliche Ziele der vorliegenden Arbeit waren die Quantifizierung der verschiedenen Differenzialdiagnosen und die Untersuchung neuer sowie bereits etablierter Methoden, die die Diagnostik, das Monitoring und/oder auch die Therapie unterstützen.

Unter Berücksichtigung der zahlreichen Differenzialdiagnosen, welche in gastrointestinale und extra-gastrointestinale Ursachen unterschieden werden, lag der Fokus dieser Arbeit vor allem bei Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien. Letztere werden in der Literatur als die häufigsten Ursachen chronischen Durchfalls beschrieben, Informationen zur Häufigkeit der verschiedenen Differenzialdiagnosen und somit zur Prävalenz chronisch-entzündlicher Enteropathien bei Hunden mit Durchfall als Hauptsymptom fehlen bislang. Im Rahmen einer retrospektiven Studie wurden die Patientendaten von 136 Hunden analysiert, die über einen Zeitraum von 2 Jahren in der Kleintierklinik der Freien Universität Berlin mit chronischem Durchfallgeschehen vorgestellt wurden und bei denen die zu Grunde liegende Ursache identifiziert werden konnte. Die Ergebnisse bestätigen die Hypothese, dass der große Symptomenkomplex der chronisch-entzündlichen Enteropathien die häufigste Ursache chronischen Durchfalls darstellt (71%). Insgesamt 47% der Hunde sprachen auf eine Futterumstellung (Futter-responsive Enteropathie, FRE) und 8% auf die zusätzliche Gabe der Antibiotika Metronidazol oder Tylosin an (idiopathische Antibiotika-responsive Enteropathie, ARE). Eine idiopathische Inflammatory Bowel Disease (IBD), welche bislang als die häufigste Ursache chronisch gastrointestinaler Symptome bei Hunden vermutet wurde, lag bei 16% der Hunde vor. Obgleich IBD entgegen bisheriger Annahmen nicht die häufigste Ursache chronischen Durchfalls bei Hunden darstellt, konnte diese Studie zeigen, dass IBD häufig mit ausbleibendem Therapieerfolg bzw. ungünstiger Prognose einhergeht. Allgemein wiesen vor allem jene Hunde eine ungünstige Prognose auf, die mittel- bis schwergradig erkrankt waren und zudem mit Dünndarmdurchfall und damit einhergehend mit Lethargie und/oder Gewichtsverlust vorgestellt wurden. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit verdeutlichen, dass eine ausführliche Anamnese bei Erstvorstellung nicht nur diagnostisch sondern auch prognostisch von Nutzen sein könnte. Hämatokrit, Albumin und Cobalamin wurden als prognostisch bedeutsame Blutparameter identifiziert, deren labordiagnostische Bestimmung als fester Bestandteil der initialen Diagnostik, aber auch während des klinischen Monitorings zu empfehlen ist. So waren Anämie, Hypoalbuminämie und Hypocobalaminämie mit einer ungünstigen Prognose assoziiert.

Neben diesen bereits im Praxisalltag etablierten Blutparametern wurden im Rahmen zweier prospektiver Studien weitere potenzielle Biomarker - S100A12 und regulatorische T-Zellen (T_{REG}) - in Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien untersucht. Unter anderem konnte gezeigt werden, dass Hunde mit IBD (n=25) höhere Konzentrationen des Entzündungsmarkers S100A12 im Kot aufwiesen als jene mit einer FRE (n=30) oder ARE (n=9). Die Bestimmung dieses Entzündungsmarkers im Kot vor Therapiebeginn könnte prognostisch von Nutzen sein, da Hunde mit ausbleibendem Therapieerfolg (alle IBD) von

ZUSAMMENFASSUNG

jenen unterschieden werden konnten, die - partiell oder vollständig - auf die Therapie ansprachen (S100A12 Konzentration im Kot bei Hunden ohne Therapieerfolg bzw. bei klinischer Remission: ≥ 2700 ng/g bzw. < 2700 ng/g; Sensitivität: 100%, Spezifität: 76%).

In einer weiteren Gruppe von Hunden mit IBD wurde die Frequenz peripher im Blut zirkulierender T_{REG} untersucht. T_{REG} sind spezialisierte CD4⁺ T- Effektor-Immunezellen, welche eine zentrale Funktion im Rahmen der Aufrechterhaltung der Immunhomöostase besitzen. Die Ergebnisse dieser Studie zeigten, dass Hunde mit IBD und klinischer Symptomatik niedrigere T_{REG}-Frequenzen im Blut aufwiesen als gesunde Kontrollen. Hunde in Remission hingegen wiesen vergleichsweise „normalisierte“ Frequenzen auf. Die Bestimmung dieser spezialisierten Immunezellen könnte folglich prognostisch - zur Überwachung des Therapieerfolgs und Krankheitsverlaufes - von Nutzen sein. Aufbauend auf den Ergebnissen dieser Pilotstudie könnte eine genauere Untersuchung des/der T_{REG} Phänotyps/en und dessen/deren Funktion/en Aufschluss über pathophysiologische Mechanismen bei chronisch-entzündlichen Enteropathien geben, auf dessen Grundlage neue, alternative oder die Standardtherapie unterstützende Therapiemöglichkeiten entwickelt werden könnten.

Neben einer hochverdaulichen, Antigen-limitierten Diät basiert die Standardtherapie der idiopathischen chronisch-entzündlichen Enteropathien - ARE und IBD - auf immunmodulatorisch wirkenden Antibiotika und/oder immunsupprimierenden Medikamenten. Letztere sind u.a. auf Grund potenzieller Nebenwirkungen oder eines möglichen verzögerten Wirkungseintritts nicht immer zufriedenstellend. Im Rahmen einer prospektiven, doppelverblindeten, explorativen Pilotstudie wurde die Wirksamkeit und Sicherheit einer speziellen Kohleformulierung (AST-120) bei Hunden mit einer idiopathischen chronisch-entzündlichen Enteropathie untersucht. Diese Hunde erhielten über einen Zeitraum von drei Wochen AST-120 oder ein Placebo in einer täglichen Dosierung von zwei Gramm pro Kilogramm Körpermasse oral mit der Eliminationsdiät appliziert. Vier von fünf mit AST-120 und lediglich einer von fünf mit Placebo behandelten Hunden zeigten eine deutliche Verbesserung der klinischen Symptomatik, welche anhand eines kumulativen klinischen Scores zur Einschätzung des Krankheitsschweregrades (*Canine Inflammatory Bowel Disease Activity Index*) bewertet wurde. Die Wirksamkeit von AST-120 wurde nach Abschluss der ersten Studienphase bei jenen Hunden überprüft, die eingangs mit Placebo behandelt wurden und keinen Therapieerfolg aufwiesen. Nach Wechsel der Studienmedikation von Placebo auf AST-120 wurde bei drei der vier Hunde eine partielle oder vollständige klinische Verbesserung bestätigt. Unerwünschte Nebenwirkungen oder ein verzögerter Wirkungseintritt wurden im Rahmen dieser dreiwöchigen Pilotstudie nicht registriert. Die Ergebnisse weisen erstmalig darauf hin, dass AST-120 eine effektive und sichere Therapie bei Hunden mit chronisch-entzündlicher Enteropathie sowie gering- bis mittelgradigem Krankheitsschweregrad darstellt. Die Effektivität und Sicherheit von AST-120 als Langzeittherapie sowie als unterstützende Therapie bei Hunden mit schwergradigem Krankheitsverlauf gilt es in Folgestudien zu überprüfen.

8 Summary

Chronic Diarrhea in Dogs – Studies with Emphasis on Diagnosis and Therapy of Chronic Inflammatory Enteropathies

Chronic diarrhea is common in dogs and many different gastrointestinal and extra-gastrointestinal causes have to be considered during diagnostic work-up. This thesis aimed to quantify underlying differential diagnoses and to investigate new and already established methods supporting diagnosis, monitoring and therapy of dogs with chronic diarrhea. Studies presented here focused on chronic inflammatory enteropathies which were considered to be the most common causes of chronic diarrhea in dogs, but information regarding distribution of underlying differential diagnoses and the frequency of chronic inflammatory enteropathies in dogs with chronic diarrhea is lacking.

A retrospective study was performed which included 136 dogs with chronic diarrhea that were presented to the Clinic for Small Animals, Freie Universität Berlin, Germany, during a 2 year study period. Results of this study confirmed the above mentioned hypothesis that chronic inflammatory enteropathies in its complexity are the most common causes of chronic diarrhea in dogs (71%). In total, 47% of dogs responded to dietary treatment alone (food responsive enteropathy, FRE) and 8% responded to additional treatment either with the antibiotics metronidazole or tylosin (antibiotic responsive enteropathy). Idiopathic inflammatory bowel disease (IBD), which was considered to be the most frequent chronic inflammatory cause of chronic gastrointestinal signs, was diagnosed in 'only' 16% of dogs. Nevertheless, IBD was most frequently associated with lack of recovery.

Independent from disease, dogs with poor clinical outcome were most frequently detected to have moderate to severe disease and clinical signs, mostly related to the upper gastrointestinal tract including lethargy and/or weight loss. Results of the retrospective study highlight the need for a detailed medical history which might be of further diagnostic and prognostic value. Furthermore, anemia, severe hypoalbuminemia and severe hypocobalaminemia were shown to be associated with poor clinical outcome. Thus, hematocrit, albumin and cobalamin were identified to be important predictive biomarkers which should be routinely measured during clinical work-up and therapeutic monitoring.

Despite these established hematological and serological markers, two prospective trials were performed to evaluate the diagnostic and prognostic value of further biomarkers in dogs with chronic inflammatory enteropathies: fecal S100A12 and regulatory T cells (T_{REG}) in peripheral blood.

It was shown that before treatment was started dogs with IBD (n=25) had higher concentrations of S100A12 in feces than dogs with FRE (n=30) or ARE (n=9). Further results suggest that an elevated fecal level of this inflammatory marker greater than 2700 ng/g might be predictive to discriminate IBD dogs with lack of recovery from those with at least partial recovery (test sensitivity: 100%, test specificity: 76%).

The frequency of T_{REG} circulating in peripheral blood was evaluated in another group of dogs with IBD. T_{REG} are highly specialized $CD4^+$ effector T cells with a pivotal role in immune

SUMMARY

regulation and immune homeostasis. Results of this prospective study revealed that symptomatic dogs had lower T_{REG} frequencies than dogs in clinical remission or healthy controls, suggesting that this cellular biomarker might be of value in the diagnostic work-up and monitoring disease progression. The reduction of these specialized immune cells either in the blood or as shown in other studies in the gut points to a dysregulation of the immune system which might be involved in the pathogenesis of chronic inflammatory enteropathies in dogs. Thus, further studies analyzing the T_{REG} phenotype(s) and its/their function might help to clarify pathophysiologic mechanisms causing chronic intestinal inflammation and to develop specific drugs and therapeutic strategies.

To date, the standard therapy of canine idiopathic inflammatory enteropathies is mainly based on a highly digestible, antigen-limited diet, antibiotics (some of them with immune modulatory characteristics) and/or immunosuppressive drugs (e.g. prednisolone and cyclosporine). But due to several reasons (e.g. adverse effects, delayed onset of effect, high costs especially for large breeds), immunosuppressive treatment is not always satisfying. In the present thesis, a randomized, placebo-controlled, double-blinded pilot study was performed to evaluate clinical efficacy and safety of the spherical carbon adsorbent AST-120 in dogs with chronic idiopathic inflammatory enteropathies. For a study period of three weeks, dogs received either AST-120 or placebo orally with food in a daily dosage of 2 gramm per kilogram body weight. The 'canine inflammatory bowel disease activity index' was used to assess disease severity before and after treatment. Considerable clinical improvement was noticed in four of five dogs treated with AST-120 and one of five dogs treated with placebo. Owners of dogs with no or insufficient treatment response during the first treatment period were offered to switch to the other study medication. After crossover from placebo to AST-120, a complete or partial recovery was recognized in three of four dogs. Adverse effects or delayed onset of clinical effects were not noticed during the three weeks lasting intervention. Results of the pilot study presented here suggest that AST-120 might be an effective and safe treatment alternative or supplement in dogs with mild to moderate chronic idiopathic inflammatory enteropathies. Further studies including longer lasting treatment periods, greater study populations and long-term follow-ups are needed to evaluate long-term outcome as well as efficacy and safety of AST-120 in dogs with severe disease.

9 Literaturverzeichnis

- ALLENSPACH, K. and GASCHEN, F. (2003):
[Chronic intestinal diseases in the dog: a review].
Schweiz Arch Tierheilkd 145(5): 209-219, 221-202.
- ALLENSPACH, K., LUCKSCHANDER, N., STYNER, M., SEIBOLD, F., DOHERR, M., AESCHBACH, D. and GASCHEN, F. (2004):
Evaluation of assays for perinuclear antineutrophilic cytoplasmic antibodies and antibodies to *Saccharomyces cerevisiae* in dogs with inflammatory bowel disease.
Am J Vet Res 65(9): 1279-1283.
- ALLENSPACH, K., BERGMAN, P. J., SAUTER, S., GRONE, A., DOHERR, M. G. and GASCHEN, F. (2006a):
P-glycoprotein expression in lamina propria lymphocytes of duodenal biopsy samples in dogs with chronic idiopathic enteropathies.
J Comp Pathol 134(1): 1-7.
- ALLENSPACH, K., RUFENACHT, S., SAUTER, S., GRONE, A., STEFFAN, J., STREHLAU, G. and GASCHEN, F. (2006b):
Pharmacokinetics and clinical efficacy of cyclosporine treatment of dogs with steroid-refractory inflammatory bowel disease.
J Vet Intern Med 20(2): 239-244.
- ALLENSPACH, K., STEINER, J. M., SHAH, B. N., BERGHOFF, N., RUAUX, C., WILLIAMS, D. A., BLUM, J. W. and GASCHEN, F. (2006c):
Evaluation of gastrointestinal permeability and mucosal absorptive capacity in dogs with chronic enteropathy.
Am J Vet Res 67(3): 479-483.
- ALLENSPACH, K., VADEN, S. L., HARRIS, T. S., GRONE, A., DOHERR, M. G., GRIOT-WENK, M. E., BISCHOFF, S. C. and GASCHEN, F. (2006d):
Evaluation of colonoscopic allergen provocation as a diagnostic tool in dogs with proven food hypersensitivity reactions.
J Small Anim Pract 47(1): 21-26.
- ALLENSPACH, K. (2007):
Tests to investigate gastrointestinal diseases in dogs-which markers are actually useful for the practitioner?
J Small Anim Pract 48(11): 607-608.
- ALLENSPACH, K., WIELAND, B., GRONE, A. and GASCHEN, F. (2007):
Chronic enteropathies in dogs: evaluation of risk factors for negative outcome.
J Vet Intern Med 21(4): 700-708.
- ALLENSPACH, K., LOMAS, B., WIELAND, B., HARRIS, T., PRESSLER, B., MANCHO, C., LEES, G. E. and VADEN, S. L. (2008):
Evaluation of perinuclear anti-neutrophilic cytoplasmic autoantibodies as an early marker of protein-losing enteropathy and protein-losing nephropathy in Soft Coated Wheaten Terriers.
Am J Vet Res 69(10): 1301-1304.
- ALLENSPACH, K. (2010):
Diseases of the Large Intestine.

Textbook of Veterinary Medicine - Diseases of the Dog and the Cat.
S. J. Ettinger and E. C. Feldman, Saunders: 1573-1608.

ALLENSPACH, K., HOUSE, A., SMITH, K., MCNEILL, F. M., HENDRICKS, A., ELSON-RIGGINS, J., RIDDLE, A., STEINER, J. M., WERLING, D., GARDEN, O. A., CATCHPOLE, B. and SUCHODOLSKI, J. S. (2010):
Evaluation of mucosal bacteria and histopathology, clinical disease activity and expression of Toll-like receptors in German shepherd dogs with chronic enteropathies.
Vet Microbiol 146(3-4): 326-335.

ALLENSPACH, K., CULVERWELL, C. and CHAN, D. (2016):
Long-term outcome in dogs with chronic enteropathies: 203 cases.
Vet Rec 178(15): 368.

ALLEZ, M. and MAYER, L. (2004):
Regulatory T cells: peace keepers in the gut.
Inflamm Bowel Dis 10(5): 666-676.

ANDERSON, K. and FISCHER, L. (2008):
Prevention of GI absorption of bacterial toxins: an in vitro evaluation of the potential for prophylactic use of a novel oral adsorbent.
Gastroenterology 134 (4 (Suppl.1)): A675.

ANDERSON, K., TOMIYANA, S. and NITTA, T. (2008):
AST-120: a novel, engineered carbon microsphere product for use in chronic inflammatory bowel disease and liver dysfunction.
Gastroenterology 134(4 (Suppl.1)): A675.

ANFINSEN, K. P., BERGHOFF, N., PRIESTNALL, S. L., SUCHODOLSKI, J. S., STEINER, J. M. and ALLENSPACH, K. (2014):
Urinary and faecal N-methylhistamine concentrations do not serve as markers for mast cell activation or clinical disease activity in dogs with chronic enteropathies.
Acta Vet Scand 56(1): 90.

ARAKI, Y., TSUJIKAWA, T., ANDOH, A., SASAKI, M., FUJIYAMA, Y. and BAMBA, T. (2000):
Therapeutic effects of an oral adsorbent on acute dextran sulphate sodium-induced colitis and its recovery phase in rats, especially effects of elimination of bile acids in gut lumen.
Dig Liver Dis 32(8): 691-698.

ASHWELL, J. D., LU, F. W. and VACCHIO, M. S. (2000):
Glucocorticoids in T cell development and function*.
Annu Rev Immunol 18: 309-345.

BALLAUF, B. (1993):
[Feed allergy in dogs and cats--not only a gastrointestinal problem].
Tierarztl Prax 21(1): 53-56.

BARTHET, M., HASTIER, P., BERNARD, J. P., BORDES, G., FREDERICK, J., ALLIO, S., MAMBRINI, P., SAINT-PAUL, M. C., DELMONT, J. P., SALDUCCI, J., GRIMAUD, J. C. and SAHEL, J. (1999):
Chronic pancreatitis and inflammatory bowel disease: true or coincidental association?
Am J Gastroenterol 94(8): 2141-2148.

- BATCHELOR, D. J., NOBLE, P. J., TAYLOR, R. H., CRIPPS, P. J. and GERMAN, A. J. (2007):
Prognostic factors in canine exocrine pancreatic insufficiency: prolonged survival is likely if clinical remission is achieved.
J Vet Intern Med 21(1): 54-60.
- BATT, R. (2009):
Laboratory diagnosis of intestinal disease in dogs and cats.
Veterinary Focus 19(1): 10-19.
- BATT, R. M. and MORGAN, J. O. (1982):
Role of Serum Folate and Vitamin-B12 Concentrations in the Differentiation of Small Intestinal Abnormalities in the Dog.
Res Vet Sci 32(1): 17-22.
- BATT, R. M., NEEDHAM, J. R. and CARTER, M. W. (1983):
Bacterial overgrowth associated with a naturally occurring enteropathy in the German shepherd dog.
Res Vet Sci 35(1): 42-46.
- BATT, R. M. and HORADAGODA, N. U. (1989):
Gastric and Pancreatic Intrinsic Factor-Mediated Absorption of Cobalamin in the Dog.
American Journal of Physiology 257(3): G344-G349.
- BATT, R. M., BARNES, A., RUTGERS, H. C. and CARTER, S. D. (1991):
Relative IgA deficiency and small intestinal bacterial overgrowth in German shepherd dogs.
Res Vet Sci 50(1): 106-111.
- BAUMGART, K., VOLKMANN, M., STEINER, J. M. and KOHN, B. (2014):
Final Diagnoses in 155 Dogs with Chronic Vomiting and/or Diarrhea.
24th ECVIM-CA Congress, Mainz. ESCG-P-10.
- BAUMGRASS, R., BRANDT, C., WEGNER, F., ABDOLLAHNIA, M. and WORM, M. (2010):
Low-dose, but not high-dose, cyclosporin A promotes regulatory T-cell induction, expansion, or both.
J Allergy Clin Immunol 126(1): 183-184; author reply 184.
- BERGHOFF, N. (2006).
Prävalenz und Teilcharakterisierung von Gastroenteropathien mit Proteinverlust beim Norwegischen Lundehund in Nordamerika.
Doktor der Veterinärmedizin Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover.
- BERGHOFF, N., SUCHODOLSKI, J. and STEINER, J. (2008):
Fecal N-Methylhistamine Concentrations in Norwegian Lundehunds with Gastrointestinal Disease (Abstract).
ACVIM Forum, SanAntonio, Journal of Veterinary Internal Medicine. 748.
- BERGHOFF, N., WILLARD, M., DAVIS, M., SUCHODOLSKI, J. and STEINER, J. (2010):
Fecal N-Methylhistamine Concentrations in Racing Alaskan Sled Dogs and Working Retriever.
J Vet Intern Med(24): 751 (Abstract #260).
- BERGHOFF, N., PARNELL, N. K., HILL, S. L., SUCHODOLSKI, J. S. and STEINER, J. M.

(2013):

Serum cobalamin and methylmalonic acid concentrations in dogs with chronic gastrointestinal disease.

Am J Vet Res 74(1): 84-89.

BERGHOFF, N., HILL, S., PARNELL, N. K., MANSELL, J., SUCHODOLSKI, J. S. and STEINER, J. M. (2014):

Fecal and urinary N-methylhistamine concentrations in dogs with chronic gastrointestinal disease.

Vet J 201(3): 289-294.

BETHLEHEM, S., BEXLEY, J. and MUELLER, R. S. (2012):

Patch testing and allergen-specific serum IgE and IgG antibodies in the diagnosis of canine adverse food reactions.

Vet Immunol Immunopathol 145(3-4): 582-589.

BEXLEY, J., NUTTALL, T. J., HAMMERBERG, B. and HALLIWELL, R. E. (2016):

Co-sensitization and cross-reactivity between related and unrelated food allergens in dogs - a serological study.

Vet Dermatol.

BILLER, B. J., ELMSLIE, R. E., BURNETT, R. C., AVERY, A. C. and DOW, S. W. (2007):

Use of FoxP3 expression to identify regulatory T cells in healthy dogs and dogs with cancer.

Vet Immunol Immunopathol 116(1-2): 69-78.

BISSETT, S. A. (2009).

"Inflammatory bowel disease: A review of diagnosis and management."

Retrieved August 14th, 13:27, 2014.

BLAKEMORE, J. C. (1994):

Gastrointestinal allergy.

Vet Clin North Am Small Anim Pract 24(4): 655-695.

BOSTROM, B. M., XENOULIS, P. G., NEWMAN, S. J., POOL, R. R., FOSGATE, G. T. and STEINER, J. M. (2013):

Chronic pancreatitis in dogs: a retrospective study of clinical, clinicopathological, and histopathological findings in 61 cases.

Vet J 195(1): 73-79.

BRANDT, C., PAVLOVIC, V., RADBRUCH, A., WORM, M. and BAUMGRASS, R. (2009):

Low-dose cyclosporine A therapy increases the regulatory T cell population in patients with atopic dermatitis.

Allergy 64(11): 1588-1596.

BREITSCHWERDT, E., OCHOA, R., BARTA, M., BARTA, O., MCCLURE, J. and WALTMAN, C. (1984):

Clinical and laboratory characterization of Basenjis with immunoproliferative small intestinal disease.

American Journal of Veterinary Research 45(2): 267-273.

BREITSCHWERDT, E. B., WALTMAN, C., HAGSTAD, H. V., OCHOA, R., MCCLURE, J. and BARTA, O. (1982):

Clinical and epidemiologic characterization of a diarrheal syndrome in Basenji dogs.

J Am Vet Med Assoc 180(8): 914-920.

BRESCIANI, F., MINAMOTO, Y., SUCHODOLSKI, J. S., GALIAZZO, G., VECCHIATO, C., PINNA, C., BIAGI, G. and PIETRA, M. (2017):
Effect of an Extruded Vegetable Diet on Fecal Microbiota of Dogs with Food-Responsive Enteropathy (G111).
ACVIM Forum, National Harbor, Maryland, Journal of Veterinary Internal Medicine. **31**: 1281-1282.

BRUSKO, T. M., WASSERFALL, C. H., CLARE-SALZLER, M. J., SCHATZ, D. A. and ATKINSON, M. A. (2005):
Functional defects and the influence of age on the frequency of CD4+ CD25+ T-cells in type 1 diabetes.
Diabetes 54(5): 1407-1414.

BUCKNER, J. H. (2010):
Mechanisms of impaired regulation by CD4(+)CD25(+)FOXP3(+) regulatory T cells in human autoimmune diseases.
Nat Rev Immunol 10(12): 849-859.

BURET, A. G. and BHARGAVA, A. (2014):
Modulatory mechanisms of enterocyte apoptosis by viral, bacterial and parasitic pathogens.
Crit Rev Microbiol 40(1): 1-17.

BURGENER, I. A., KONIG, A., ALLENSPACH, K., SAUTER, S. N., BOISCLAIR, J., DOHERR, M. G. and JUNGI, T. W. (2008):
Upregulation of toll-like receptors in chronic enteropathies in dogs.
J Vet Intern Med 22(3): 553-560.

BURKHARD, M. J. and BIENZLE, D. (2013):
Making sense of lymphoma diagnostics in small animal patients.
Vet Clin North Am Small Anim Pract 43(6): 1331-1347, vii.

BURKHOLDER, W. J. (2000):
Use of body condition scores in clinical assessment of the provision of optimal nutrition.
J Am Vet Med Assoc 217(5): 650-654.

BURRI, E., BEGLINGER, C., VON FELTEN, S. and LEHMANN, F. S. (2015):
Fecal calprotectin and the clinical activity index are both useful to monitor medical treatment in patients with ulcerative colitis.
Dig Dis Sci 60(2): 485-491.

CABRAL, V. L., DE CARVALHO, L. and MISZPUTEN, S. J. (2001):
[Importance of serum albumin values in nutritional assessment and inflammatory activity in patients with Crohn's disease].
Arq Gastroenterol 38(2): 104-108.

CAMUESCO, D., GALVEZ, J., NIETO, A., COMALADA, M., RODRIGUEZ-CABEZAS, M. E., CONCHA, A., XAUS, J. and ZARZUELO, A. (2005):
Dietary olive oil supplemented with fish oil, rich in EPA and DHA (n-3) polyunsaturated fatty acids, attenuates colonic inflammation in rats with DSS-induced colitis.
J Nutr 135(4): 687-694.

CARRASCO, V., RODRIGUEZ-BERTOS, A., RODRIGUEZ-FRANCO, F., WISE, A. G., MAES, R., MULLANEY, T. and KIUPEL, M. (2015):
Distinguishing Intestinal Lymphoma From Inflammatory Bowel Disease in Canine Duodenal Endoscopic Biopsy Samples.
Vet Pathol 52(4): 668-675.

CASE, L., CAREY, D., HIRAKAWA, D. and DARISTOTLE, L. (2000):
Canine and Feline Nutrition: A Resource for Companion Animal Professionals.
St. Louis, Mosby, XVI, pp. 592.

CAVE, N. (2013):
Adverse Food Reactions.
Canine and Feline Gastroenterology.
R. J. Washabau and M. J. Day. St. Louis, Elsevier Saunders: 398-408.

CAVE, N. J. (2003):
Chronic inflammatory disorders of the gastrointestinal tract of companion animals.
N Z Vet J 51(6): 262-274.

CAVE, N. J. (2006):
Hydrolyzed protein diets for dogs and cats.
Vet Clin North Am Small Anim Pract 36(6): 1251-1268, vi.

CERON, J. J., ECKERSALL, P. D. and MARTYNEZ-SUBIELA, S. (2005):
Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives.
Vet Clin Pathol 34(2): 85-99.

CHESNEY, C. J. (2001):
Systematic review of evidence for the prevalence of food sensitivity in dogs.
Vet Rec 148(14): 445-448.

CHESNEY, C. J. (2002):
Food sensitivity in the dog: a quantitative study.
J Small Anim Pract 43(5): 203-207.

COLLINS, M. T. (2013):
Canine inflammatory bowel disease: current and prospective biomarkers for diagnosis and management.
Compend Contin Educ Vet 35(3): E5.

COSTA, F., MUMOLO, M. G., CECCARELLI, L., BELLINI, M., ROMANO, M. R., STERPI, C., RICCHIUTI, A., MARCHI, S. and BOTTAI, M. (2005):
Calprotectin is a stronger predictive marker of relapse in ulcerative colitis than in Crohn's disease.
Gut 54(3): 364-368.

COUTO, C. G., RUTGERS, H. C., SHERDING, R. G. and ROJKO, J. (1989):
Gastrointestinal lymphoma in 20 dogs. A retrospective study.
J Vet Intern Med 3(2): 73-78.

CRAVEN, M., SIMPSON, J. W., RIDYARD, A. E. and CHANDLER, M. L. (2004):
Canine inflammatory bowel disease: retrospective analysis of diagnosis and outcome in 80 cases (1995-2002).

J Small Anim Pract 45(7): 336-342.

CRAVEN, M., ACLAND, G. M., MEZEY, J., BOYKO, A., WANG, W., MEURS, K., MCDONOUGH, S. and SIMPSON, K. W. (2010a):

W1250 Genome-Wide Association Scan Reveals Polymorphisms in the P67phox Subunit (Ncf2) of the NADPH Oxidase Complex in Boxer Dogs With Adherent and Invasive E.Coli-Associated Granulomatous Colitis: A Potential Model of Chronic Granulomatous Disease. Gastroenterology 138(5): S-683.

CRAVEN, M., DOGAN, B., SCHUKKEN, A., VOLKMAN, M., CHANDLER, A., MCDONOUGH, P. L. and SIMPSON, K. W. (2010b):

Antimicrobial resistance impacts clinical outcome of granulomatous colitis in boxer dogs. J Vet Intern Med 24(4): 819-824.

D'HAENS, G., SANDBORN, W. J., FEAGAN, B. G., GEBOES, K., HANAUER, S. B., IRVINE, E. J., LEMANN, M., MARTEAU, P., RUTGEERTS, P., SCHOLMERICH, J. and SUTHERLAND, L. R. (2007):

A review of activity indices and efficacy end points for clinical trials of medical therapy in adults with ulcerative colitis.

Gastroenterology 132(2): 763-786.

DAHLEM, D. and BURGNER, I. (2015):

Chronische Diarrhoe beim Hund. kleintier konkret 18(03): 28-39.

DANDRIEUX, J. R., BORNAND, V. F., DOHERR, M. G., KANO, R., ZURBRIGGEN, A. and BURGNER, I. A. (2008):

Evaluation of lymphocyte apoptosis in dogs with inflammatory bowel disease.

Am J Vet Res 69(10): 1279-1285.

DANDRIEUX, J. R., NOBLE, P. J., SCASE, T. J., CRIPPS, P. J. and GERMAN, A. J. (2013): Comparison of a chlorambucil-prednisolone combination with an azathioprine-prednisolone combination for treatment of chronic enteropathy with concurrent protein-losing enteropathy in dogs: 27 cases (2007-2010).

J Am Vet Med Assoc 242(12): 1705-1714.

DAVIES, D. R., O'HARA, A. J., IRWIN, P. J. and GUILFORD, W. G. (2004):

Successful management of histiocytic ulcerative colitis with enrofloxacin in two Boxer dogs.

Aust Vet J 82(1-2): 58-61.

DAY, M. J. (2005a):

The canine model of dietary hypersensitivity.

Proc Nutr Soc 64(4): 458-464.

DAY, M. J. (2005b):

Immunvermittelte Erkrankungen des Verdauungstraktes und der Atmungsorgane.

Atlas der klinischen Immunologie bei Hund und Katze.

M. J. Day. Hannover, Schluetersche: 146-161.

DAY, M. J., BILZER, T., MANSELL, J., WILCOCK, B., HALL, E. J., JERGENS, A., MINAMI, T., WILLARD, M. and WASHBAU, R. (2008):

Histopathological standards for the diagnosis of gastrointestinal inflammation in endoscopic biopsy samples from the dog and cat: a report from the World Small Animal Veterinary

Association Gastrointestinal Standardization Group.
J Comp Pathol 138 Suppl 1: S1-43.

DAY, M. J. (2010):
Ageing, immunosenescence and inflammaging in the dog and cat.
J Comp Pathol 142 Suppl 1: S60-69.

DAY, M. J. (2013):
Histopathology: Intestine.
Canine and Feline Gastroenterology.
R. J. Washabau and M. J. Day. St.Louis, Elsevier: 341-349.

DE BIASIO, J. V. (2008):
Clinical Evaluation of Patients with Chronic Vomiting.
Small Animal Gastroenterology.
J. M. Steiner. Hannover, Schluetersche: 120-126.

DE MAJO, M., PUGLIESE, M., GALIA, S., MAZZULLO, G., LA CAMERA, E. and FERA, M. T. (2008):
Cytokine mRNA quantification in gastro-intestinal biopsies of dogs with idiopathic chronic enteropathies by Real Time RT-PCR: preliminary results.
Vet Res Commun 32 Suppl 1: S275-277.

DESREUMAUX, P., BRANDT, E., GAMBIEZ, L., EMILIE, D., GEBOES, K., KLEIN, O., ECTORS, N., CORTOT, A., CAPRON, M. and COLOMBEL, J. F. (1997):
Distinct cytokine patterns in early and chronic ileal lesions of Crohn's disease.
Gastroenterology 113(1): 118-126.

DIJKSTRA, M., KRAUS, J. S., BOSJE, J. T. and DEN HERTOEG, E. (2010):
[Protein-losing enteropathy in Rottweilers].
Tijdschr Diergeneeskd 135(10): 406-412.

DOGAN, B., VOLKMANN, M., OH, J., SCHUKKEN, A., KLAESSIG, S. and SIMPSON, K. (2012):
Comparison of E.Coli Associated with Granulomatous Colitis of Boxer Dogs and E.Coli from Healthy Controls.
J Vet Intern Med(26): 767 (Abstract GI-714).

DOSSIN, O. (2008):
Clinical History.
Small Animal Gastroenterology.
J. M. Steiner. Hannover, Schlütersche: 3-9.

DOSSIN, O. and LAVOUE, R. (2011):
Protein-losing enteropathies in dogs.
Vet Clin North Am Small Anim Pract 41(2): 399-418.

DUCHMANN, R., KAISER, I., HERMANN, E., MAYET, W., EWE, K. and MEYER ZUM BUSCHENFELDE, K. H. (1995):
Tolerance exists towards resident intestinal flora but is broken in active inflammatory bowel disease (IBD).
Clin Exp Immunol 102(3): 448-455.

- DYE, T. L., DIEHL, K. J., WHEELER, S. L. and WESTFALL, D. S. (2013):
Randomized, Controlled Trial of Budesonide and Prednisone for the Treatment of Idiopathic Inflammatory Bowel Disease in Dogs.
J Vet Intern Med.
- EBNER, F., HEPWORTH, M. R., RAUSCH, S., JANEK, K., NIEWIENDA, A., KUHL, A., HENKLEIN, P., LUCIUS, R., HAMELMANN, E. and HARTMANN, S. (2014):
Therapeutic potential of larval excretory/secretory proteins of the pig whipworm *Trichuris suis* in allergic disease.
Allergy 69(11): 1489-1497.
- EDHOFER, S. and MUELLER, R. (2013):
Therapie der Perianalfisteln bei Hunden mit *Trichuris-suis*-Wurmeierlösung.
21. Jahrestagung der DVG-FG InnLab, München, Tierärztliche Praxis Kleintiere. 1: 5.
- EQUILINO, M., THÉODOLOZ, V., GORGAS, D., DOHERR, M. G., HEILMANN, R. M., SUCHODOLSKI, J. S., STEINER, J. M. and BURGNER DVM, I. A. (2014):
Evaluation of serum biochemical marker concentrations and survival time in dogs with protein-losing enteropathy.
Journal of the American Veterinary Medical Association 246(1): 91-99.
- ERDMANN, C. and HEILMANN, R. M. (2017):
[Diagnostic and therapeutic approach to chronic inflammatory enteropathies in dogs].
Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere 45(5).
- FAUBION, W. A., Jr., FLETCHER, J. G., O'BYRNE, S., FEAGAN, B. G., DE VILLIERS, W. J., SALZBERG, B., PLEVY, S., PROCTOR, D. D., VALENTINE, J. F., HIGGINS, P. D., HARRIS, J. M., DIEHL, L., WRIGHT, L., TEW, G. W., LUCA, D., BASU, K. and KEIR, M. E. (2013):
EMerging BiomARKers in Inflammatory Bowel Disease (EMBARC) study identifies fecal calprotectin, serum MMP9, and serum IL-22 as a novel combination of biomarkers for Crohn's disease activity: role of cross-sectional imaging.
Am J Gastroenterol 108(12): 1891-1900.
- FIGUEIREDO, A. S., HOFER, T., KLOTZ, C., SERS, C., HARTMANN, S., LUCIUS, R. and HAMMERSTEIN, P. (2009):
Modelling and simulating interleukin-10 production and regulation by macrophages after stimulation with an immunomodulator of parasitic nematodes.
FEBS J 276(13): 3454-3469.
- FIOCCHI, C. (1998):
Inflammatory bowel disease: etiology and pathogenesis.
Gastroenterology 115(1): 182-205.
- FIOCCHI, C. (2005):
Inflammatory bowel disease pathogenesis: therapeutic implications.
Chin J Dig Dis 6(1): 6-9.
- FLESJA, K. and YRI, T. (1977):
Protein-Losing Enteropathy in Lundehund.
Journal of Small Animal Practice 18(1): 11-23.
- FOGLE, J. E. and BISSETT, S. A. (2007):

Mucosal immunity and chronic idiopathic enteropathies in dogs.
Compend Contin Educ Vet 29(5): 290-302.

FORBES, A. (2003):
Alternative immunomodulators.
Eur J Gastroenterol Hepatol 15(3): 245-248.

FOSTER, A. P., KNOWLES, T. G., MOORE, A. H., COUSINS, P. D., DAY, M. J. and HALL, E. J. (2003):
Serum IgE and IgG responses to food antigens in normal and atopic dogs, and dogs with gastrointestinal disease.
Vet Immunol Immunopathol 92(3-4): 113-124.

FRAGA, M., GODAT, S., NYDEGGER, A., MORADPOUR, D. and SCHOEPFER, A. M. (2012):
[Fecal calprotectin: a diagnostic tool for inflammatory bowel disease].
Rev Med Suisse 8(352): 1669-1670, 1672-1663.

FUKUDA, Y., TAKAZOE, M., SUGITA, A., KOSAKA, T., KINJO, F., OTANI, Y., FUJII, H., KOGANEI, K., MAKIYAMA, K., NAKAMURA, T., SUDA, T., YAMAMOTO, S., ASHIDA, T., MAJIMA, A., MORITA, N., MURAKAMI, K., OSHITANI, N., TAKAHAMA, K., TOCHIHARA, M., TSUJIKAWA, T. and WATANABE, M. (2008):
Oral spherical adsorptive carbon for the treatment of intractable anal fistulas in Crohn's disease: a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial.
Am J Gastroenterol 103(7): 1721-1729.

GARDEN, O. A., MANNERS, H. K., SORENSEN, S. H., RUTGERS, H. C., DANIELS, S., LEGRAND-DEFRETIN, V. and BATT, R. M. (1998):
Intestinal permeability of Irish setter puppies challenged with a controlled oral dose of gluten.
Res Vet Sci 65(1): 23-28.

GARDEN, O. A., PIDDUCK, H., LAKHANI, K. H., WALKER, D., WOOD, J. L. and BATT, R. M. (2000):
Inheritance of gluten-sensitive enteropathy in Irish Setters.
Am J Vet Res 61(4): 462-468.

GARDEN, O. A., PINHEIRO, D. and CUNNINGHAM, F. (2011):
All creatures great and small: regulatory T cells in mice, humans, dogs and other domestic animal species.
Int Immunopharmacol 11(5): 576-588.

GASCHEN, L. and KIRCHER, P. (2007):
Two-dimensional grayscale ultrasound and spectral Doppler waveform evaluation of dogs with chronic enteropathies.
Clin Tech Small Anim Pract 22(3): 122-127.

GASCHEN, L., KIRCHER, P., STUSSI, A., ALLENSPACH, K., GASCHEN, F., DOHERR, M. and GRONE, A. (2008):
Comparison of ultrasonographic findings with clinical activity index (CIBDAI) and diagnosis in dogs with chronic enteropathies.
Vet Radiol Ultrasound 49(1): 56-64.

GEIER, M. S., BUTLER, R. N. and HOWARTH, G. S. (2007):

Inflammatory bowel disease: current insights into pathogenesis and new therapeutic options; probiotics, prebiotics and synbiotics.
Int J Food Microbiol 115(1): 1-11.

GERBER, B. (2006):
Erbrechen, Regurgitieren.
Praktikum der Hundeklinik.
P. F. Suter and B. Kohn. Stuttgart, Parey. **10**: 63-69.

GERMAN, A. and ZENTEK, J. (2006):
Häufige Erkrankungen des Verdauungsapparates: Die Rolle der Diätetik.
Enzyklopädie der klinischen Diätetik des Hundes.
P. Pibot, V. Biourge and D. Elliott, Royal Canin: 97-139.

GERMAN, A. J., HALL, E. J. and DAY, M. J. (2000a):
Relative deficiency in IgA production by duodenal explants from German shepherd dogs with small intestinal disease.
Vet Immunol Immunopathol 76(1-2): 25-43.

GERMAN, A. J., HELPS, C. R., HALL, E. J. and DAY, M. J. (2000b):
Cytokine mRNA expression in mucosal biopsies from German shepherd dogs with small intestinal enteropathies.
Dig Dis Sci 45(1): 7-17.

GERMAN, A. J., HALL, E. J. and DAY, M. J. (2001):
Immune cell populations within the duodenal mucosa of dogs with enteropathies.
J Vet Intern Med 15(1): 14-25.

GERMAN, A. J., DAY, M. J., RUAUX, C. G., STEINER, J. M., WILLIAMS, D. A. and HALL, E. J. (2003a):
Comparison of direct and indirect tests for small intestinal bacterial overgrowth and antibiotic-responsive diarrhea in dogs.
J Vet Intern Med 17(1): 33-43.

GERMAN, A. J., HALL, E. J. and DAY, M. J. (2003b):
Chronic intestinal inflammation and intestinal disease in dogs.
J Vet Intern Med 17(1): 8-20.

GERMAN, A. J., HOLDEN, S. L., MOXHAM, G. L., HOLMES, K. L., HACKETT, R. M. and RAWLINGS, J. M. (2006):
A simple, reliable tool for owners to assess the body condition of their dog or cat.
J Nutr 136(7 Suppl): 2031S-2033S.

GERMAN, A. J. (2013):
Bacterial Overgrowth (Intestinal Dysbiosis).
Canine and Feline Gastroenterology.
R. J. Washabau and M. J. Day. St.Louis, Elsevier: 695-699.

GITTER, A. H., BENDELDT, K., SCHULZKE, J. D. and FROMM, M. (2000):
Leaks in the epithelial barrier caused by spontaneous and TNF-alpha-induced single-cell apoptosis.
FASEB J 14(12): 1749-1753.

- GOMEZ, J. A., RUSSELL, S. W., TROWBRIDGE, J. O. and LEE, J. (1977):
Canine histiocytic ulcerative colitis. An ultrastructural study of the early mucosal lesion.
Am J Dig Dis 22(6): 485-496.
- GREGER, D. L., GROPP, F., MOREL, C., SAUTER, S. and BLUM, J. W. (2006):
Nuclear receptor and target gene mRNA abundance in duodenum and colon of dogs with
chronic enteropathies.
Domest Anim Endocrinol 31(4): 327-339.
- GRELLET, A., HEILMANN, R. M., LECOINDRE, P., FEUGIER, A., DAY, M. J., PEETERS,
D., FREICHE, V., HERNANDEZ, J., GRANDJEAN, D., SUCHODOLSKI, J. S. and STEINER,
J. M. (2013):
Fecal calprotectin concentrations in adult dogs with chronic diarrhea.
Am J Vet Res 74(5): 706-711.
- GRUTZNER, N., BISHOP, M. A., SUCHODOLSKI, J. S. and STEINER, J. M. (2010):
Association study of cobalamin deficiency in the Chinese Shar Pei.
J Hered 101(2): 211-217.
- GUILFORD, W. G. (1994):
Nutritional management of gastrointestinal tract diseases of dogs and cats.
J Nutr 124(12 Suppl): 2663S-2669S.
- GUILFORD, W. G., STROMBECK, D. R., ROGERS, Q., FRICK, O. L. and LAWOKO, C.
(1994):
Development of gastroscopic food sensitivity testing in dogs.
J Vet Intern Med 8(6): 414-422.
- GUILFORD, W. G. (1996):
Idiopathic inflammatory bowel disease. Strombeck's Small Animal Gastroenterology.
W. G. Guilford.
Philadelphia, W.B. Saunders: 20-39, 40-49 and 451-486.
- GUILFORD, W. G., JONES, B. R., MARKWELL, P. J., ARTHUR, D. G., COLLETT, M. G.
and HARTE, J. G. (2001):
Food sensitivity in cats with chronic idiopathic gastrointestinal problems.
J Vet Intern Med 15(1): 7-13.
- HALL, E. J. and BATT, R. M. (1991):
Abnormal permeability precedes the development of a gluten sensitive enteropathy in Irish
setter dogs.
Gut 32(7): 749-753.
- HALL, E. J., CARTER, S. D., BARNES, A. and BATT, R. M. (1992):
Immune responses to dietary antigens in gluten-sensitive enteropathy of Irish setters.
Res Vet Sci 53(3): 293-299.
- HALL, E. J. (1999):
Clinical laboratory evaluation of small intestinal function.
Vet Clin North Am Small Anim Pract 29(2): 441-469, vi.
- HALL, E. J. and GERMAN, A. J. (2008):
Diseases that affect more than one Organ of the Gastrointestinal Tract - Inflammatory Bowel

Disease Small Animal Gastroenterology.

J. M. Steiner. Hannover, Germany, Schlütersche: 312-329.

HALL, E. J. and GERMAN, A. J. (2010):

Diseases of the Small Intestine.

Textbook of Veterinary Medicine - Diseases of the Dog and the Cat.

S. J. Ettinger and E. C. Feldman. Philadelphia, Saunders: 1526-1572.

HALL, E. J., GERMAN, A. J., WILLARD, M. D., LAPPIN, M. R., CAVE, N., WASHABAU, R. J. and BERGMAN, P. J. (2013):

Small Intestine.

Canine and feline gastroenterology.

R. J. Washabau and M. J. Day. St.Louis, Missouri, Elsevier Saunders: 651-728.

HANNUKSELA, M. and HAAHTELA, T. (1987):

Hypersensitivity reactions to food additives.

Allergy 42(8): 561-575.

HARTMANN, S., KYEWSKI, B., SONNENBURG, B. and LUCIUS, R. (1997):

A filarial cysteine protease inhibitor down-regulates T cell proliferation and enhances interleukin-10 production.

Eur J Immunol 27(9): 2253-2260.

HAYDEN, D. W. and VANKRUININGEN, H. J. (1982):

Lymphocytic-Plasmacytic Enteritis in German Shepherd Dogs.

Journal of the American Animal Hospital Association 18(1): 89-96.

HE, S. H. (2004):

Key role of mast cells and their major secretory products in inflammatory bowel disease.

World J Gastroenterol 10(3): 309-318.

HEILMANN, R. M., SUCHODOLSKI, J. S. and STEINER, J. M. (2008):

Development and analytic validation of a radioimmunoassay for the quantification of canine calprotectin in serum and feces from dogs.

Am J Vet Res 69(7): 845-853.

HEILMANN, R. M., LANERIE, D. J., RUAUX, C. G., GRUTZNER, N., SUCHODOLSKI, J. S. and STEINER, J. M. (2011):

Development and analytic validation of an immunoassay for the quantification of canine S100A12 in serum and fecal samples and its biological variability in serum from healthy dogs.

Vet Immunol Immunopathol 144(3-4): 200-209.

HEILMANN, R. M., JERGENS, A. E., ACKERMANN, M. R., BARR, J. W., SUCHODOLSKI, J. S. and STEINER, J. M. (2012):

Serum calprotectin concentrations in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease.

Am J Vet Res 73(12): 1900-1907.

HEILMANN, R. M., GRELLET, A., ALLENSPACH, K., LECOINDRE, P., DAY, M. J., PRIESTNALL, S. L., TORESSON, L., PROCOLI, F., GRUTZNER, N., SUCHODOLSKI, J. S. and STEINER, J. M. (2014):

Association between fecal S100A12 concentration and histologic, endoscopic, and clinical disease severity in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease.

Vet Immunol Immunopathol 158(3-4): 156-166.

HEILMANN, R. M. and SUCHODOLSKI, J. S. (2015):

Is inflammatory bowel disease in dogs and cats associated with a Th1 or Th2 polarization?

Vet Immunol Immunopathol 168(3-4): 131-134.

HEILMANN, R. M., CRANFORD, S. M., AMBRUS, A., GRUTZNER, N., SCHELLENBERG, S., RUAUX, C. G., SUCHODOLSKI, J. S. and STEINER, J. M. (2016a):

Validation of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the measurement of canine S100A12.

Vet Clin Pathol.

HEILMANN, R. M., PARNELL, N. K., GRUTZNER, N., MANSELL, J., BERGHOFF, N., SCHELLENBERG, S., REUSCH, C. E., SUCHODOLSKI, J. S. and STEINER, J. M. (2016b):

Serum and fecal canine alpha1-proteinase inhibitor concentrations reflect the severity of intestinal crypt abscesses and/or lacteal dilation in dogs.

Vet J 207: 131-139.

HEILMANN, R. M., VOLKMANN, M., OTONI, C. C., GRUTZNER, N., KOHN, B., JERGENS, A. E. and STEINER, J. M. (2016c):

Fecal S100A12 concentration predicts a lack of response to treatment in dogs affected with chronic enteropathy.

Vet J.

HEILMANN, R. M., BERGHOFF, N., MANSELL, J., GRUTZNER, N., PARNELL, N. K., GURTNER, C., SUCHODOLSKI, J. S. and STEINER, J. M. (2018):

Association of fecal calprotectin concentrations with disease severity, response to treatment, and other biomarkers in dogs with chronic inflammatory enteropathies.

J Vet Intern Med.

HEINSEN, F. A., KNECHT, H., NEULINGER, S. C., SCHMITZ, R. A., KNECHT, C., KUHbacher, T., ROSENSTIEL, P. C., SCHREIBER, S., FRIEDRICH, A. K. and OTT, S. J. (2015):

Dynamic changes of the luminal and mucosa-associated gut microbiota during and after antibiotic therapy with paromomycin.

Gut Microbes 6(4): 243-254.

HENRIKSEN, M., JAHNSEN, J., LYGREN, I., STRAY, N., SAUAR, J., VATN, M. H., MOUM, B. and GROUP, I. S. (2008):

C-reactive protein: a predictive factor and marker of inflammation in inflammatory bowel disease. Results from a prospective population-based study.

Gut 57(11): 1518-1523.

HIJNEN, D., HAECK, I., VAN KRAATS, A. A., NIJHUIS, E., DE BRUIN-WELLER, M. S., BRUIJNZEEL-KOOMEN, C. A. and KNOL, E. F. (2009):

Cyclosporin A reduces CD4(+)CD25(+) regulatory T-cell numbers in patients with atopic dermatitis.

J Allergy Clin Immunol 124(4): 856-858.

HILLIER, A. and GRIFFIN, C. E. (2001):

The ACVD task force on canine atopic dermatitis (X): is there a relationship between canine atopic dermatitis and cutaneous adverse food reactions?

Vet Immunol Immunopathol 81(3-4): 227-231.

- HONNEFFER, J. B., MINAMOTO, Y. and SUCHODOLSKI, J. S. (2014):
Microbiota alterations in acute and chronic gastrointestinal inflammation of cats and dogs.
World J Gastroenterol 20(44): 16489-16497.
- HORIUCHI, Y., TOMINAGA, M., ICHIKAWA, M., YAMASHITA, M., JIKUMARU, Y., NARIAI, Y., NAKAJIMA, Y., KUWABARA, M. and YUKAWA, M. (2009):
Increase of regulatory T cells in the peripheral blood of dogs with metastatic tumors.
Microbiol Immunol 53(8): 468-474.
- HOSTUTLER, R. A., LURIA, B. J., JOHNSON, S. E., WEISBRODE, S. E., SHERDING, R. G., JAEGER, J. Q. and GUILFORD, W. G. (2004):
Antibiotic-responsive histiocytic ulcerative colitis in 9 dogs.
J Vet Intern Med 18(4): 499-504.
- IGARASHI, H., MAEDA, S., OHNO, K., HORIGOME, A., ODAMAKI, T. and TSUJIMOTO, H. (2014):
Effect of oral administration of metronidazole or prednisolone on fecal microbiota in dogs.
PLoS One 9(9): e107909.
- IIDA, S., KOHNO, K., YOSHIMURA, J., UEDA, S., USUI, M., MIYAZAKI, H., NISHIDA, H., TAMAKI, K. and OKUDA, S. (2006):
Carbonic-adsorbent AST-120 reduces overload of indoxyl sulfate and the plasma level of TGF-beta1 in patients with chronic renal failure.
Clin Exp Nephrol 10(4): 262-267.
- ISHIDA, R., MASUDA, K., KURATA, K., OHNO, K. and TSUJIMOTO, H. (2004):
Lymphocyte blastogenic responses to inciting food allergens in dogs with food hypersensitivity.
J Vet Intern Med 18(1): 25-30.
- JACKSON, H. A., JACKSON, M. W., COBLENTZ, L. and HAMMERBERG, B. (2003):
Evaluation of the clinical and allergen specific serum immunoglobulin E responses to oral challenge with cornstarch, corn, soy and a soy hydrolysate diet in dogs with spontaneous food allergy.
Vet Dermatol 14(4): 181-187.
- JANEWAY, C. A., TRAVERS, P., WALPORT, M. and SHLOMCHIK, M. (2005):
Allergie und Hypersensibilität.
Immunologie.
F. Wigger and B. Saglio. Heidelberg, Berlin, Spektrum Akademischer Verlag GmbH: 505-536.
- JEFFERS, J. G., SHANLEY, K. J. and MEYER, E. K. (1991):
Diagnostic testing of dogs for food hypersensitivity.
J Am Vet Med Assoc 198(2): 245-250.
- JEFFERS, J. G., MEYER, E. K. and SOSIS, E. J. (1996):
Responses of dogs with food allergies to single-ingredient dietary provocation.
J Am Vet Med Assoc 209(3): 608-611.
- JERGENS, A. E., MOORE, F. M., HAYNES, J. S. and MILES, K. G. (1992):
Idiopathic inflammatory bowel disease in dogs and cats: 84 cases (1987-1990).
J Am Vet Med Assoc 201(10): 1603-1608.

- JERGENS, A. E. (1999):
Inflammatory bowel disease. Current perspectives.
Vet Clin North Am Small Anim Pract 29(2): 501-521, vii.
- JERGENS, A. E., SCHREINER, C. A., FRANK, D. E., NIYO, Y., AHRENS, F. E.,
ECKERSALL, P. D., BENSON, T. J. and EVANS, R. (2003):
A scoring index for disease activity in canine inflammatory bowel disease.
J Vet Intern Med 17(3): 291-297.
- JERGENS, A. E. (2004):
Clinical assessment of disease activity for canine inflammatory bowel disease.
J Am Anim Hosp Assoc 40(6): 437-445.
- JERGENS, A. E., SONEA, I. M., O'CONNOR, A. M., KAUFFMAN, L. K., GROZDANIC, S. D.,
ACKERMANN, M. R. and EVANS, R. B. (2009):
Intestinal cytokine mRNA expression in canine inflammatory bowel disease: a meta-analysis
with critical appraisal.
Comp Med 59(2): 153-162.
- JERGENS, A. E., CRANDELL, J., MORRISON, J. A., DEITZ, K., PRESSEL, M.,
ACKERMANN, M., SUCHODOLSKI, J. S., STEINER, J. M. and EVANS, R. (2010a):
Comparison of oral prednisone and prednisone combined with metronidazole for induction
therapy of canine inflammatory bowel disease: a randomized-controlled trial.
J Vet Intern Med 24(2): 269-277.
- JERGENS, A. E., CRANDELL, J. M., EVANS, R., ACKERMANN, M., MILES, K. G. and
WANG, C. (2010b):
A clinical index for disease activity in cats with chronic enteropathy.
J Vet Intern Med 24(5): 1027-1033.
- JERGENS, A. E. and SIMPSON, K. W. (2012):
Inflammatory bowel disease in veterinary medicine.
Front Biosci (Elite Ed) 4: 1404-1419.
- JERGENS, A. J. and MAY, E. R. (2008):
Adverse Reactions to Food - Allergy versus Intolerance.
Small Animal Gastroenterology.
J. M. Steiner. Hannover, Schluetersche: 307-312.
- JEUSETTE, I., GRECO, D., AQUINO, F., DETILLEUX, J., PETERSON, M., ROMANO, V.
and TORRE, C. (2010):
Effect of breed on body composition and comparison between various methods to estimate
body composition in dogs.
Res Vet Sci 88(2): 227-232.
- JUNGINGER, J., SCHWITTLICK, U., LEMENSIECK, F., NOLTE, I. and HEWICKER-
TRAUTWEIN, M. (2012):
Immunohistochemical investigation of Foxp3 expression in the intestine in healthy and
diseased dogs.
Vet Res 43(1): 23.
- JUNGINGER, J., LEMENSIECK, F., MOORE, P. F., SCHWITTLICK, U., NOLTE, I. and
HEWICKER-TRAUTWEIN, M. (2014):

Canine gut dendritic cells in the steady state and in inflammatory bowel disease.
Innate Immun 20(2): 145-160.

KATHRANI, A., STEINER, J. M., SUCHODOLSKI, J., EASTWOOD, J., SYME, H., GARDEN, O. A. and ALLENSPACH, K. (2009):
Elevated canine pancreatic lipase immunoreactivity concentration in dogs with inflammatory bowel disease is associated with a negative outcome.
J Small Anim Pract 50(3): 126-132.

KATHRANI, A., HOUSE, A., CATCHPOLE, B., MURPHY, A., GERMAN, A., WERLING, D. and ALLENSPACH, K. (2010):
Polymorphisms in the TLR4 and TLR5 gene are significantly associated with inflammatory bowel disease in German shepherd dogs.
PLoS One 5(12): e15740.

KATHRANI, A., HOUSE, A., CATCHPOLE, B., MURPHY, A., WERLING, D. and ALLENSPACH, K. (2011a):
Breed-independent toll-like receptor 5 polymorphisms show association with canine inflammatory bowel disease.
Tissue Antigens 78(2): 94-101.

KATHRANI, A., SCHMITZ, S., PRIESTNALL, S. L., SMITH, K. C., WERLING, D., GARDEN, O. A. and ALLENSPACH, K. (2011b):
CD11c(+) Cells are Significantly Decreased in the Duodenum, Ileum and Colon of Dogs with Inflammatory Bowel Disease.
Journal of Comparative Pathology 145(4): 359-366.

KATHRANI, A., WERLING, D. and ALLENSPACH, K. (2011c):
Canine breeds at high risk of developing inflammatory bowel disease in the south-eastern UK.
Vet Rec 169(24): 635.

KATHRANI, A., HOLDER, A., CATCHPOLE, B., ALVAREZ, L., SIMPSON, K., WERLING, D. and ALLENSPACH, K. (2012):
TLR5 risk-associated haplotype for canine inflammatory bowel disease confers hyper-responsiveness to flagellin.
PLoS One 7(1): e30117.

KATZ, K. D., HOLLANDER, D., VADHEIM, C. M., MCELREE, C., DELAHUNTY, T., DADUFALZA, V. D., KRUGLIAK, P. and ROTTER, J. I. (1989):
Intestinal permeability in patients with Crohn's disease and their healthy relatives.
Gastroenterology 97(4): 927-931.

KILPINEN, S., SPILLMANN, T., SYRJA, P., SKRZYPCZAK, T., LOUHELAINEN, M. and WESTERMARCK, E. (2011):
Effect of tylosin on dogs with suspected tylosin-responsive diarrhea: a placebo-controlled, randomized, double-blinded, prospective clinical trial.
Acta Vet Scand 53: 26.

KIRCHER, P. R., SPAULDING, K. A., VADEN, S., LANG, J., DOHERR, M. and GASCHEN, L. (2004):
Doppler ultrasonographic evaluation of gastrointestinal hemodynamics in food hypersensitivities: a canine model.

J Vet Intern Med 18(5): 605-611.

KLEINSCHMIDT, S., MENESES, F., NOLTE, I. and HEWICKER-TRAUTWEIN, M. (2007):
Characterization of mast cell numbers and subtypes in biopsies from the gastrointestinal tract
of dogs with lymphocytic-plasmacytic or eosinophilic gastroenterocolitis.
Vet Immunol Immunopathol 120(3-4): 80-92.

KLEINSCHMIDT, S., HARDER, J., NOLTE, I., MARSILIO, S. and HEWICKER-TRAUTWEIN,
M. (2010):
Chronic inflammatory and non-inflammatory diseases of the gastrointestinal tract in cats:
diagnostic advantages of full-thickness intestinal and extraintestinal biopsies.
J Feline Med Surg 12(2): 97-103.

KOBAYASHI, S., OHNO, K., UETSUKA, K., NAKASHIMA, K., SETOGUCHI, A., FUJINO, Y.
and TSUJIMOTO, H. (2007):
Measurement of intestinal mucosal permeability in dogs with lymphocytic-plasmacytic
enteritis.
Journal of Veterinary Medical Science 69(7): 745-749.

KÖHNE, K., SCHNEIDER, T. and MARTIN, Z. (1999):
Mukosales, gastrointestinales Immunsystem (GIS).
Immunsystem und Infektiologie - Handbuch der Molekularen Medizin, Band 4.
D. Ganten and K. Ruckpaul. Heidelberg, Springer-Verlag Berlin Heidelberg: 106-125.

KOLODZIEJSKA-SAWERSKA, A., RYCHLIK, A., DEPTA, A., WDOWIAK, M., NOWICKI, M.
and KANDER, M. (2013):
Cytokines in canine inflammatory bowel disease.
Pol J Vet Sci 16(1): 165-171.

KOVALIK, M., THODAY, K. L., HANDEL, I. G., BRONSVOORT, B. M., EVANS, H., VAN
DEN BROEK, A. H. and MELLANBY, R. J. (2011):
Ciclosporin A therapy is associated with disturbances in glucose metabolism in dogs with
atopic dermatitis.
Vet Dermatol 22(2): 173-180.

KUEHN, M. (2012).
Retrospektive Analyse chronischer Enteropathien beim Hund.
Dissertation, LMU München.

KUNKLE, G. and HORNER, S. (1992):
Validity of skin testing for diagnosis of food allergy in dogs.
J Am Vet Med Assoc 200(5): 677-680.

LEBLANC, C. J., DIETRICH, M. A., HOROHOV, D. W., BAUER, J. E., HOSGOOD, G. and
MAULDIN, G. E. (2007):
Effects of dietary fish oil and vitamin E supplementation on canine lymphocyte proliferation
evaluated using a flow cytometric technique.
Vet Immunol Immunopathol 119(3-4): 180-188.

LEE, A., KATHRANI, A., PRIESTNALL, S. L., SMITH, K., WERLING, D. and ALLENSPACH,
K. (2015):
Lack of Correlation between Mucosal Immunoglobulin A-positive Plasma Cell Numbers and
TLR5 Genotypes in German Shepherd Dogs with Idiopathic Chronic Enteropathy.

J Comp Pathol 152(2-3): 201-205.

LEIB, M. S. (2000):

Treatment of chronic idiopathic large-bowel diarrhea in dogs with a highly digestible diet and soluble fiber: a retrospective review of 37 cases.

J Vet Intern Med 14(1): 27-32.

LEISTRA, M. H., MARKWELL, P. J. and WILLEMSE, T. (2001):

Evaluation of selected-protein-source diets for management of dogs with adverse reactions to foods.

J Am Vet Med Assoc 219(10): 1411-1414.

LI, J., WANG, Z., HU, S., ZHAO, X. and CAO, L. (2013):

Correction of abnormal T cell subsets by high-dose dexamethasone in patients with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura.

Immunol Lett 154(1-2): 42-48.

LI, Z., MOU, W., LU, G., CAO, J., HE, X., PAN, X. and XU, K. (2011):

Low-dose rituximab combined with short-term glucocorticoids up-regulates Treg cell levels in patients with immune thrombocytopenia.

Int J Hematol 93(1): 91-98.

LIEBICH, H. (2004):

Verdauungsapparat (Apparatus digestorius).

Funktionelle Histologie der Haussäugetiere - Lehrbuch und Farbatlas für Studium und Praxis. H. Liebich. Stuttgart, Schattauer: 187-238.

LING, Y., CAO, X., YU, Z. and RUAN, C. (2007):

Circulating dendritic cells subsets and CD4+Foxp3+ regulatory T cells in adult patients with chronic ITP before and after treatment with high-dose dexamethasone.

Eur J Haematol 79(4): 310-316.

LINSKENS, R. K., MALLANT-HENT, R. C., GROOTHUISMINK, Z. M., BAKKER-JONGES, L. E., VAN DE MERWE, J. P., HOOIJKAAS, H., VON BLOMBERG, B. M. and MEUWISSEN, S. G. (2002):

Evaluation of serological markers to differentiate between ulcerative colitis and Crohn's disease: pANCA, ASCA and agglutinating antibodies to anaerobic coccoid rods.

Eur J Gastroenterol Hepatol 14(9): 1013-1018.

LITTMAN, M. P., DAMBACH, D. M., VADEN, S. L. and GIGER, U. (2000):

Familial protein-losing enteropathy and protein-losing nephropathy in Soft Coated Wheaten Terriers: 222 cases (1983-1997).

J Vet Intern Med 14(1): 68-80.

LLOYD, D. (2006):

Diagnosis and Management of Adverse Food Reactions in the Dog.

31st World Small Animal Veterinary Association, Prague, IVIS. 4.

LOCHER, C., TIPOLD, A., WELLE, M., BUSATO, A., ZURBRIGGEN, A. and GRIOT-WENK, M. E. (2001):

Quantitative assessment of mast cells and expression of IgE protein and mRNA for IgE and interleukin 4 in the gastrointestinal tract of healthy dogs and dogs with inflammatory bowel disease.

Am J Vet Res 62(2): 211-216.

LOEFFLER, A., LLOYD, D. H., BOND, R., KIM, J. Y. and PFEIFFER, D. U. (2004):
Dietary trials with a commercial chicken hydrolysate diet in 63 pruritic dogs.
Vet Rec 154(17): 519-522.

LOEFFLER, A., SOARES-MAGALHAES, R., BOND, R. and LLOYD, D. H. (2006):
A retrospective analysis of case series using home-prepared and chicken hydrolysate diets
in the diagnosis of adverse food reactions in 181 pruritic dogs.
Vet Dermatol 17(4): 273-279.

LOWN, K. S., MAYO, R. R., LEICHTMAN, A. B., HSIAO, H. L., TURGEON, D. K.,
SCHMIEDLIN-REN, P., BROWN, M. B., GUO, W., ROSSI, S. J., BENET, L. Z. and
WATKINS, P. B. (1997):
Role of intestinal P-glycoprotein (mdr1) in interpatient variation in the oral bioavailability of
cyclosporine.
Clin Pharmacol Ther 62(3): 248-260.

LUCKSCHANDER, N., ALLENSPACH, K., HALL, J., SEIBOLD, F., GRONE, A., DOHERR,
M. G. and GASCHEN, F. (2006):
Perinuclear antineutrophilic cytoplasmic antibody and response to treatment in diarrheic dogs
with food responsive disease or inflammatory bowel disease.
J Vet Intern Med 20(2): 221-227.

MAEDA, S., OHNO, K., FUJIWARA-IGARASHI, A., UCHIDA, K. and TSUJIMOTO, H.
(2016):
Changes in Foxp3-Positive Regulatory T Cell Number in the Intestine of Dogs With Idiopathic
Inflammatory Bowel Disease and Intestinal Lymphoma.
Vet Pathol 53(1): 102-112.

MALEWSKA, K., RYCHLIK, A., NIERADKA, R. and KANDER, M. (2011):
Treatment of inflammatory bowel disease (IBD) in dogs and cats.
Pol J Vet Sci 14(1): 165-171.

MANCHESTER, A., HILL, S., SABATINO, B., ARMENTANO, R., KESSLER, B., MILLER, M.,
DOGAN, B., MCDONOUGH, S. and SIMPSON, K. (2012):
Granulomatous Colitis in French Bulldogs is associated with invasive E.Coli and Clinical
Response to Fluoroquinolone Antibiotics.
J Vet Intern Med(26): 769 (Abstract GI-715).

MANCHO, C., SAINZ, A., GARCIA-SANCHO, M., VILLAESCUSA, A. and RODRIGUEZ-
FRANCO, F. (2011):
Evaluation of perinuclear antineutrophilic cytoplasmic antibodies in sera from dogs with
inflammatory bowel disease or intestinal lymphoma.
Am J Vet Res 72(10): 1333-1337.

MANDIGERS, P. and GERMAN, A. J. (2010):
Dietary hypersensitivity in cats and dogs.
Tijdschr Diergeneeskd 135(19): 706-710.

MANSFIELD, C. S., JAMES, F. E., CRAVEN, M., DAVIES, D. R., O'HARA, A. J., NICHOLLS,
P. K., DOGAN, B., MACDONOUGH, S. P. and SIMPSON, K. W. (2009):
Remission of histiocytic ulcerative colitis in Boxer dogs correlates with eradication of invasive

intramucosal *Escherichia coli*.
J Vet Intern Med 23(5): 964-969.

MARKS, S. L., RANKIN, S. C., BYRNE, B. A. and WEESE, J. S. (2011):
Enteropathogenic bacteria in dogs and cats: diagnosis, epidemiology, treatment, and control.
J Vet Intern Med 25(6): 1195-1208.

MARKS, S. L. (2013):
Diarrhea.
Canine and Feline Gastroenterology.
R. J. Washabau and M. J. Day. St.Louis, Missouri, Elsevier Saunders: 99-108.

MARTIN, A., SIERRA, M. P., GONZALEZ, J. L. and AREVALO, M. A. (2004):
Identification of allergens responsible for canine cutaneous adverse food reactions to lamb,
beef and cow's milk.
Vet Dermatol 15(6): 349-356.

MARTIN, M. and RESCH, K. (2009):
Immunsystem und Krankheiten.
Immunologie.
Hecker B and K. A. Stuttgart, Eugen Ulmer: 244-313.

MASCLEE, A., TANGERMAN, A., VAN SCHAİK, A., VAN DER HOEK, E. W. and VAN
TONGEREN, J. H. (1989):
Unconjugated serum bile acids as a marker of small intestinal bacterial overgrowth.
Eur J Clin Invest 19(4): 384-389.

MASILAMANI, M., WEI, J. and SAMPSON, H. A. (2012):
Regulation of the immune response by soybean isoflavones.
Immunologic Research 54(1): 95-110.

MATZ, M. E. and GUILFORD, W. G. (2003):
Laboratory procedures for the diagnosis of gastrointestinal tract diseases of dogs and cats.
N Z Vet J 51(6): 292-301.

MATZINGER, P. (1994):
Tolerance, danger, and the extended family.
Annu Rev Immunol 12: 991-1045.

MAUL, J., LODDENKEMPER, C., MUNDT, P., BERG, E., GIESE, T., STALLMACH, A.,
ZEITZ, M. and DUCHMANN, R. (2005):
Peripheral and intestinal regulatory CD4⁺ CD25^(high) T cells in inflammatory bowel disease.
Gastroenterology 128(7): 1868-1878.

MCCANN, T. M., RIDYARD, A. E., ELSE, R. W. and SIMPSON, J. W. (2007):
Evaluation of disease activity markers in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease.
J Small Anim Pract 48(11): 620-625.

MCCMAHON, L. A., HOUSE, A. K., CATCHPOLE, B., ELSON-RIGGINS, J., RIDDLE, A.,
SMITH, K., WERLING, D., BURGNER, I. A. and ALLENSPACH, K. (2010):
Expression of Toll-like receptor 2 in duodenal biopsies from dogs with inflammatory bowel
disease is associated with severity of disease.
Vet Immunol Immunopathol 135(1-2): 158-163.

- MELGAREJO, T., WILLIAMS, D. A. and ASEM, E. K. (1998):
Enzyme-linked immunosorbent assay for canine alpha 1-protease inhibitor.
Am J Vet Res 59(2): 127-130.
- MELGAREJO, T., WILLIAMS, D. A., O'CONNELL, N. C. and SETCHELL, K. D. (2000):
Serum unconjugated bile acids as a test for intestinal bacterial overgrowth in dogs.
Dig Dis Sci 45(2): 407-414.
- MIROUX, C., MORALES, O., CARPENTIER, A., DHARANCY, S., CONTI, F., BOLESLOWSKI, E., PODEVIN, P., AURIAULT, C., PANCRE, V. and DELHEM, N. (2009):
Inhibitory effects of cyclosporine on human regulatory T cells in vitro.
Transplant Proc 41(8): 3371-3374.
- MIROUX, C., MORALES, O., OUAGUIA, L., AOUDJEHANE, L., BOLESLOWSKI, E., PANCRE, V., DE LAUNOIT, Y., CALMUS, Y., CONTI, F. and DELHEM, N. (2012):
Corticosteroids do not reverse the inhibitory effect of cyclosporine on regulatory T-cell activity in contrast to mycophenolate mofetil.
Transplant Proc 44(9): 2834-2839.
- MIZUNO, T., SUZUKI, R., UMEKI, S. and OKUDA, M. (2009):
Crossreactivity of antibodies to canine CD25 and Foxp3 and identification of canine CD4+CD25+Foxp3+ cells in canine peripheral blood.
J Vet Med Sci 71(12): 1561-1568.
- MUELLER, R. S., SPECHT, L., HELMER, M., EPE, C., WOLKEN, S., DENK, D., MAJZOUB, M. and SAUTER-LUIS, C. (2011):
The effect of nematode administration on canine atopic dermatitis.
Vet Parasitol 181(2-4): 203-209.
- MUNSTER, M., HORAUF, A. and BILZER, T. (2006):
[Assessment of disease severity and outcome of dietary, antibiotic, and immunosuppressive interventions by use of the canine IBD activity index in 21 dogs with chronic inflammatory bowel disease].
Berl Munch Tierarztl Wochenschr 119(11-12): 493-505.
- MUNSTER, M., SUCHODOLSKI, J. S., BILZER, T., BILZER, C., HORAUF, A. and STEINER, J. M. (2010):
[Influence of physiological disturbances on treatment success of dietary therapy in dogs with chronic enteropathies].
Berl Munch Tierarztl Wochenschr 123(1-2): 74-82.
- MURPHY, K. F., GERMAN, A. J., RUAUX, C. G., STEINER, J. M., WILLIAMS, D. A. and HALL, E. J. (2003):
Fecal alpha1-proteinase inhibitor concentration in dogs with chronic gastrointestinal disease.
Vet Clin Pathol 32(2): 67-72.
- NAKAMURA, R. M. and BARRY, M. (2001):
Serologic markers in inflammatory bowel disease (IBD).
MLO Med Lab Obs 33(11): 8-15; quiz 16-19.
- NAKAMURA, T., SATO, E., FUJIWARA, N., KAWAGOE, Y., SUZUKI, T., UEDA, Y. and YAMAGISHI, S. (2011):
Oral adsorbent AST-120 ameliorates tubular injury in chronic renal failure patients by

reducing proteinuria and oxidative stress generation.
Metabolism 60(2): 260-264.

NAKASHIMA, K., HIYOSHI, S., OHNO, K., UCHIDA, K., GOTO-KOSHINO, Y., MAEDA, S., MIZUTANI, N., TAKEUCHI, A. and TSUJIMOTO, H. (2015):
Prognostic factors in dogs with protein-losing enteropathy.
Vet J 205(1): 28-32.

NATIVIDAD, J. M., PETIT, V., HUANG, X., DE PALMA, G., JURY, J., SANZ, Y., PHILPOTT, D., GARCIA RODENAS, C. L., MCCOY, K. D. and VERDU, E. F. (2012):
Commensal and probiotic bacteria influence intestinal barrier function and susceptibility to colitis in Nod1^{-/-}; Nod2^{-/-} mice.
Inflamm Bowel Dis 18(8): 1434-1446.

NEURATH, M. F., FINOTTO, S., FUSS, I., BOIRIVANT, M., GALLE, P. R. and STROBER, W. (2001):
Regulation of T-cell apoptosis in inflammatory bowel disease: to die or not to die, that is the mucosal question.
Trends Immunol 22(1): 21-26.

NIWA, T., NOMURA, T., SUGIYAMA, S., MIYAZAKI, T., TSUKUSHI, S. and TSUTSUI, S. (1997):
The protein metabolite hypothesis, a model for the progression of renal failure: an oral adsorbent lowers indoxyl sulfate levels in undialyzed uremic patients.
Kidney Int Suppl 62: S23-28.

O'NEILL, K., GUTH, A., BILLER, B., ELMSLIE, R. and DOW, S. (2009):
Changes in regulatory T cells in dogs with cancer and associations with tumor type.
J Vet Intern Med 23(4): 875-881.

OCKLENBURG, F. (2005).
Bedeutung des Transkriptionsfaktors für die T-Zell Funktion.
Dr.rer.nat., Hannover.

OHTA, H., TAKADA, K., SUNDEN, Y., TAMURA, Y., OSUGA, T., LIM, S. Y., MURAKAMI, M., SASAKI, N., WICKRAMASEKARA RAJAPAKSHAGE, B. K., NAKAMURA, K., YAMASAKI, M. and TAKIGUCHI, M. (2014):
CD4(+) T cell cytokine gene and protein expression in duodenal mucosa of dogs with inflammatory bowel disease.
J Vet Med Sci 76(3): 409-414.

OKAMURA, J. M., MIYAGI, J. M., TERADA, K. and HOKAMA, Y. (1990):
Potential clinical applications of C-reactive protein.
J Clin Lab Anal 4(3): 231-235.

OKANISHI, H., KABEYA, H., MARUYAMA, S., KAGAWA, Y. and WATARI, T. (2013a):
Activation of nuclear factor-kappa B and cell adhesion molecule mRNA expression in duodenal mucosa of dogs with lymphocytic-plasmacytic enteritis.
Vet Immunol Immunopathol 154(3-4): 145-152.

OKANISHI, H., SANO, T., YAMAYA, Y., KAGAWA, Y. and WATARI, T. (2013b):
The characteristics of short- and long-term surviving Shiba dogs with chronic enteropathies and the risk factors for poor outcome.

Acta Vet Scand 55: 32.

OLIVEIRA-BARROS, L., HEILMANN, R., STEINER, J., SUCHODOLSKI, J., BARROS, L., LUCAS, S. and MATERA, J. (2012):

C-reactive Protein Concentrations in Dogs with Inflammatory Bowel Disease and Correlation with Clinical Disease Activity Index and Serum Albumin Concentrations.

J Vet Intern Med(26): 773 (Abstract GI-725).

OLSSON, M., FRANKOWIACK, M., TENGVALL, K., ROOSJE, P., FALL, T., IVANSSON, E., BERGVALL, K., HANSSON-HAMLIN, H., SUNDBERG, K., HEDHAMMAR, A., LINDBLAD-TOH, K. and HAMMARSTROM, L. (2014):

The dog as a genetic model for immunoglobulin A (IgA) deficiency: identification of several breeds with low serum IgA concentrations.

Vet Immunol Immunopathol 160(3-4): 255-259.

ONTSOUKA, C. E., BURGNER, I. A., MANI, O. and ALBRECHT, C. (2010):

Polyunsaturated fatty acid-enriched diets used for the treatment of canine chronic enteropathies decrease the abundance of selected genes of cholesterol homeostasis.

Domest Anim Endocrinol 38(1): 32-37.

OTONI, C., HEILMANN, R., GARCIA-SANCHO, M., SUCHODOLSKI, J., STEINER, J. and JERGENS, A. (2012):

Serologic and Fecal Markers in Prediction of Acute Disease Course in Canine Chronic Enteropathies.

J Vet Intern Med(26): 768 (Abstract GI-769).

PACKEY, C. D. and SARTOR, R. B. (2008):

Interplay of commensal and pathogenic bacteria, genetic mutations, and immunoregulatory defects in the pathogenesis of inflammatory bowel diseases.

J Intern Med 263(6): 597-606.

PAPADAKIS, K. A. and TARGAN, S. R. (2000):

Role of cytokines in the pathogenesis of inflammatory bowel disease.

Annu Rev Med 51: 289-298.

PATERSON, S. (1995):

Food hypersensitivity in 20 dogs with skin and gastrointestinal signs.

J Small Anim Pract 36(12): 529-534.

PETERS, I. R., HELPS, C. R., CALVERT, E. L., HALL, E. J. and DAY, M. J. (2005):

Cytokine mRNA quantification in duodenal mucosa from dogs with chronic enteropathies by real-time reverse transcriptase polymerase chain reaction.

J Vet Intern Med 19(5): 644-653.

PHILIPP, P. I. (2013).

Der Effekt einer unterschiedlichen Proteinversorgung auf immunologische und verdauungsphysiologische Parameter während der postnatalen Entwicklung von Beaglewelpen.

Doktor der Veterinärmedizin, Freie Universität Berlin.

PINHEIRO, D., SINGH, Y., GRANT, C. R., APPLETON, R. C., SACCHINI, F., WALKER, K. R., CHADBOURNE, A. H., PALMER, C. A., ARMITAGE-CHAN, E., THOMPSON, I., WILLIAMSON, L., CUNNINGHAM, F. and GARDEN, O. A. (2011):

Phenotypic and functional characterization of a CD4(+) CD25(high) FOXP3(high) regulatory T-cell population in the dog.
Immunology 132(1): 111-122.

PINHEIRO, D., CHANG, Y. M., BRYANT, H., SZLADOVITS, B., DALESSANDRI, T., DAVISON, L. J., YALLOP, E., MILLS, E., LEO, C., LARA, A., STELL, A., POLTON, G. and GARDEN, O. A. (2014):

Dissecting the regulatory microenvironment of a large animal model of non-Hodgkin lymphoma: evidence of a negative prognostic impact of FOXP3+ T cells in canine B cell lymphoma.

PLoS One 9(8): e105027.

POLVI, A., GARDEN, O. A., HOULSTON, R. S., MAKI, M., BATT, R. M. and PARTANEN, J. (1998):

Genetic susceptibility to gluten sensitive enteropathy in Irish setter dogs is not linked to the major histocompatibility complex.

Tissue Antigens 52(6): 543-549.

POWELL-TUCK, J., DAY, D. W., BUCKELL, N. A., WADSWORTH, J. and LENNARD-JONES, J. E. (1982):

Correlations between defined sigmoidoscopic appearances and other measures of disease activity in ulcerative colitis.

Dig Dis Sci 27(6): 533-537.

RADE, C. (2009):

Compliance bei Reduktionsdiäten - So macht der Besitzer mit.

kleintier.konkret 4: 11-16.

RADEKE, H. and RESCH, K. (1999):

Molekulare Aspekte der chronischen Entzündung.

Immunsystem und Infektiologie - Handbuch der Molekularen Medizin, Band 4.

D. Ganten and K. Ruckpaul. Heidelberg, Springer-Verlag Berlin Heidelberg: 157-198.

RANKIN, G. B. (1990):

Extraintestinal and systemic manifestations of inflammatory bowel disease.

Med Clin North Am 74(1): 39-50.

REIMANN, C., VOLKMANN, M., LIDBURY, J. A., SUCHODOLSKI, J. S., STEINER, J. M. and KOHN, B. (2018):

Untersuchung serologischer Entzündungsmarker bei Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien.

26. Jahrestagung der FG "Innere Medizin und Klinische Labordiagnostik" (InnLab) der DVG, Hannover.

REISSIG, S., TANG, Y., NIKOLAEV, A., GERLACH, K., WOLF, C., DAVARI, K., GALLUS, C., MASRI, J., MUFAZALOV, I. A., NEURATH, M. F., WUNDERLICH, F. T., SCHATTEBERG, J. M., GALLE, P. R., WEIGMANN, B., WAISMAN, A., GLASMACHER, E. and HOVELMEYER, N. (2017):

Elevated levels of Bcl-3 inhibits Treg development and function resulting in spontaneous colitis.

Nat Commun 8: 15069.

RIBEIRO, M. G., RODRIGUES DE FARIAS, M., ROESLER, U., ROTH, K., RODIGHERI, S.

- M., OSTROWSKY, M. A., SALERNO, T., SIQUEIRA, A. K. and FERNANDES, M. C. (2009): Phenotypic and genotypic characterization of *Prototheca zopfii* in a dog with enteric signs. *Res Vet Sci* 87(3): 479-481.
- RICHTER, K., DEBIASIO, J., WESTERMARCK, E. and MEDINGER, T. (2008): Clinical Evaluation of Dogs and Cats with Specific Clinical Signs. *Small Animal Gastroenterology*. J. M. Steiner. Hannover, Schluetersche: 115-136.
- RIDGWAY, J., JERGENS, A. E. and NIYO, Y. (2001): Possible causal association of idiopathic inflammatory bowel disease with thrombocytopenia in the dog. *J Am Anim Hosp Assoc* 37(1): 65-74.
- RIDYARD, A. E., NUTTALL, T. J., ELSE, R. W., SIMPSON, J. W. and MILLER, H. R. (2002): Evaluation of Th1, Th2 and immunosuppressive cytokine mRNA expression within the colonic mucosa of dogs with idiopathic lymphocytic-plasmacytic colitis. *Vet Immunol Immunopathol* 86(3-4): 205-214.
- ROSSER, E. J., Jr. (1993): Diagnosis of food allergy in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 203(2): 259-262.
- ROSSI, G., PENGO, G., CALDIN, M., PALUMBO PICCIONELLO, A., STEINER, J. M., COHEN, N. D., JERGENS, A. E. and SUCHODOLSKI, J. S. (2014): Comparison of microbiological, histological, and immunomodulatory parameters in response to treatment with either combination therapy with prednisone and metronidazole or probiotic VSL#3 strains in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. *PLoS One* 9(4): e94699.
- RUAUX, C. G., STEINER, J. M. and WILLIAMS, D. A. (2005): Early biochemical and clinical responses to cobalamin supplementation in cats with signs of gastrointestinal disease and severe hypocobalaminemia. *J Vet Intern Med* 19(2): 155-160.
- RUAUX, C. G. (2008): Diagnostic Tools - Laboratory tests for the diagnosis of intestinal disorders. *Small Animal Gastroenterology*. J. M. Steiner. Hannover, Schluetersche: 50-55.
- RUAUX, C. G., WRIGHT, J. M., STEINER, J. M. and WILLIAMS, D. A. (2009): Gas chromatography-mass spectrometry assay for determination of Ntau-methylhistamine concentration in canine urine specimens and fecal extracts. *Am J Vet Res* 70(2): 167-171.
- RUAUX, C. G. (2013): Cobalamin in companion animals: diagnostic marker, deficiency states and therapeutic implications. *Vet J* 196(2): 145-152.
- RUNGPUPRADIT, J. (2003). The influence of breed, age, gender and methylprednisolone on the distribution of lymphocyte subpopulations in the dog: a flow cytometric study.

Doktor der Veterinärmedizin Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover.

RUTGERS, H. C., BATT, R. M., ELWOOD, C. M. and LAMPORT, A. (1995a):
Small intestinal bacterial overgrowth in dogs with chronic intestinal disease.
J Am Vet Med Assoc 206(2): 187-193.

RUTGERS, H. C., BATT, R. M., HALL, E. J., SORENSEN, S. H. and PROUD, F. J. (1995b):
Intestinal permeability testing in dogs with diet-responsive intestinal disease.
J Small Anim Pract 36(7): 295-301.

RUTGERS, H. C., BATT, R. M., PROUD, F. J., SORENSEN, S. H., ELWOOD, C. M.,
PETRIE, G., MATTHEWMAN, L. A., FORSTER-VAN HIJFTE, M. A., BOSWOOD, A.,
ENTWISTLE, M. and FENSOME, R. H. (1996):
Intestinal permeability and function in dogs with small intestinal bacterial overgrowth.
J Small Anim Pract 37(9): 428-434.

RYCHLIK, A., NIERADKA, R., KANDER, M., NOWICKI, M., WADOWIAK, M. and
KOLODZIEJSKA-SAWERSKA, A. (2012):
A correlation between the canine Inflammatory Bowel Disease Activity Index score and the
histopathological evaluation of the small intestinal mucosa in canine inflammatory bowel
disease.
Pol J Vet Sci 15(2): 315-321.

SAMPSON, H. A. and BURKS, A. W. (1996):
Mechanisms of food allergy.
Annu Rev Nutr 16: 161-177.

SANDBORN, W. J., FEAGAN, B. G., HANAUER, S. B., LOCHS, H., LOFBERG, R.,
MODIGLIANI, R., PRESENT, D. H., RUTGEERTS, P., SCHOLMERICH, J., STANGE, E. F.
and SUTHERLAND, L. R. (2002):
A review of activity indices and efficacy endpoints for clinical trials of medical therapy in
adults with Crohn's disease.
Gastroenterology 122(2): 512-530.

SARTOR, R. B. (2004):
Therapeutic manipulation of the enteric microflora in inflammatory bowel diseases:
antibiotics, probiotics, and prebiotics.
Gastroenterology 126(6): 1620-1633.

SARTOR, R. B. (2008):
Microbial influences in inflammatory bowel diseases.
Gastroenterology 134(2): 577-594.

SAUTER, S., ALLENSPACH, K. and BLUM, J. (2007):
Cytokine mRNA abundance in intestinal biopsies from dogs with chronic diarrhea.
Veterinarni Medicina 52(8): 353-364.

SAUTER, S. N., ALLENSPACH, K., GASCHEN, F., GRONE, A., ONTSOUKA, E. and BLUM,
J. W. (2005):
Cytokine expression in an ex vivo culture system of duodenal samples from dogs with
chronic enteropathies: modulation by probiotic bacteria.
Domest Anim Endocrinol 29(4): 605-622.

- SCHIFF, E. R., SMALL, N. C. and DIETSCHY, J. M. (1972):
Characterization of the kinetics of the passive and active transport mechanisms for bile acid absorption in the small intestine and colon of the rat.
J Clin Invest 51(6): 1351-1362.
- SCHMITZ, S., GARDEN, O. A., WERLING, D. and ALLENSPACH, K. (2012):
Gene expression of selected signature cytokines of T cell subsets in duodenal tissues of dogs with and without inflammatory bowel disease.
Vet Immunol Immunopathol 146(1): 87-91.
- SCHMITZ, S., HILL, S., WERLING, D. and ALLENSPACH, K. (2013):
Expression of trefoil factor genes in the duodenum and colon of dogs with inflammatory bowel disease and healthy dogs.
Vet Immunol Immunopathol 151(1-2): 168-172.
- SCHMITZ, S., WERLING, D. and ALLENSPACH, K. (2015):
Effects of ex-vivo and in-vivo treatment with probiotics on the inflammasome in dogs with chronic enteropathy.
PLoS One 10(3): e0120779.
- SCHMITZ, S. and SUCHODOLSKI, J. (2016):
Understanding the canine intestinal microbiota and its modification by pro-, pre- and synbiotics - what is the evidence?
Veterinary Medicine and Science: 1-24.
- SCHOEPFER, A. M., BEGLINGER, C., STRAUMANN, A., TRUMMLER, M., RENZULLI, P. and SEIBOLD, F. (2009):
Ulcerative colitis: correlation of the Rachmilewitz endoscopic activity index with fecal calprotectin, clinical activity, C-reactive protein, and blood leukocytes.
Inflamm Bowel Dis 15(12): 1851-1858.
- SCHREINER, N. M., GASCHEN, F., GRONE, A., SAUTER, S. N. and ALLENSPACH, K. (2008):
Clinical signs, histology, and CD3-positive cells before and after treatment of dogs with chronic enteropathies.
J Vet Intern Med 22(5): 1079-1083.
- SEGARRA, S., MARTINEZ-SUBIELA, S., CERDA-CUELLAR, M., MARTINEZ-PUIG, D., MUNOZ-PRIETO, A., RODRIGUEZ-FRANCO, F., RODRIGUEZ-BERTOS, A., ALLENSPACH, K., VELASCO, A. and CERON, J. (2016):
Oral chondroitin sulfate and prebiotics for the treatment of canine Inflammatory Bowel Disease: a randomized, controlled clinical trial.
BMC Vet Res 12: 49.
- SIMPSON, K. W., MORTON, D. B. and BATT, R. M. (1989):
Effect of Exocrine Pancreatic Insufficiency on Cobalamin Absorption in Dogs.
American Journal of Veterinary Research 50(8): 1233-1236.
- SIMPSON, K. W., FYFE, J., CORNETTA, A., SACHS, A., STRAUSS-AYALI, D., LAMB, S. V. and REIMERS, T. J. (2001):
Subnormal concentrations of serum cobalamin (vitamin B12) in cats with gastrointestinal disease.
J Vet Intern Med 15(1): 26-32.

SIMPSON, K. W., DOGAN, B., RISHNIW, M., GOLDSTEIN, R. E., KLAESSIG, S., MCDONOUGH, P. L., GERMAN, A. J., YATES, R. M., RUSSELL, D. G., JOHNSON, S. E., BERG, D. E., HAREL, J., BRUANT, G., MCDONOUGH, S. P. and SCHUKKEN, Y. H. (2006): Adherent and invasive *Escherichia coli* is associated with granulomatous colitis in boxer dogs.

Infect Immun 74(8): 4778-4792.

SIMPSON, K. W. (2015):

Pancreatitis and triaditis in cats: causes and treatment.

J Small Anim Pract 56(1): 40-49.

SMITH, B. N. and DILGER, R. N. (2018):

Immunomodulatory potential of dietary soybean-derived isoflavones and saponins in pigs.

J Anim Sci 96(4): 1288-1304.

SOLEM, C. A., LOFTUS, E. V., Jr., TREMAINE, W. J., HARMSSEN, W. S., ZINSMEISTER, A. R. and SANDBORN, W. J. (2005):

Correlation of C-reactive protein with clinical, endoscopic, histologic, and radiographic activity in inflammatory bowel disease.

Inflamm Bowel Dis 11(8): 707-712.

SORENSEN, S. H., PROUD, F. J., RUTGERS, H. C., MARKWELL, P., ADAM, A. and BATT, R. M. (1997):

A blood test for intestinal permeability and function: a new tool for the diagnosis of chronic intestinal disease in dogs.

Clin Chim Acta 264(1): 103-115.

STANGE, E. F., TRAVIS, S. P., VERMEIRE, S., BEGLINGER, C., KUPCINKAS, L., GEBOES, K., BARAKAUSKIENE, A., VILLANACCI, V., VON HERBAY, A., WARREN, B. F., GASCHE, C., TILG, H., SCHREIBER, S. W., SCHOLMERICH, J., REINISCH, W., EUROPEAN, C. s. and COLITIS, O. (2006):

European evidence based consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: definitions and diagnosis.

Gut 55 Suppl 1: i1-15.

STANGE, E. F., TRAVIS, S. P., VERMEIRE, S., REINISCH, W., GEBOES, K., BARAKAUSKIENE, A., FEAKINS, R., FLEJOU, J. F., HERFARTH, H., HOMMES, D. W., KUPCINKAS, L., LAKATOS, P. L., MANTZARIS, G. J., SCHREIBER, S., VILLANACCI, V., WARREN, B. F., EUROPEAN, C. s. and COLITIS, O. (2008):

European evidence-based Consensus on the diagnosis and management of ulcerative colitis: Definitions and diagnosis.

J Crohns Colitis 2(1): 1-23.

STEINER, J. M. and WILLIAMS, D. A. (1999):

Feline exocrine pancreatic disorders.

Vet Clin North Am Small Anim Pract 29(2): 551-575.

STEINER, J. M., WILLIAMS, D. A. and MOELLER, E. M. (2002):

Kinetics of urinary recovery of five sugars after orogastric administration in healthy dogs.

Am J Vet Res 63(6): 845-848.

STEINER, J. M. (2003):

Diagnosis of pancreatitis.

Vet Clin North Am Small Anim Pract 33(5): 1181-1195.

STEINER, J. M. (2011):

Chronischer Durchfall - allgemeine Abklärung.

32. Internationaler Fortbildungskurs Kleintierkrankheiten "Gastroenterologie", Flims, Hill's. 109-113.

STEINER, J. M. (2014):

Review of commonly used clinical pathology parameters for general gastrointestinal disease with emphasis on small animals.

Toxicol Pathol 42(1): 189-194.

STOKES, J. E., KRUGER, J. M., MULLANEY, T., HOLAN, K. and SCHALL, W. (2001):

Histiocytic ulcerative colitis in three non-boxer dogs.

J Am Anim Hosp Assoc 37(5): 461-465.

STRODA, A., WAKAMATSU, N., GASCHEN, L., JEARNEY, M. and GASCHEN, F. (2012):

Histopathological, Clinical, Endoscopic, And Ultrasound Features of Dogs with Chronic Enteropathies and Small Intestinal Crypt Lesions.

J Vet Intern Med(26): 767-768 (Abstract GI-766).

STULIC, M., CULAFIC, D., MIJAC, D., JANKOVIC, G., JOVICIC, I., KRSTIC, M. and MILOSAVLJEVIC, T. (2013):

Correlation between extraintestinal manifestations and clinical parameters with the histologic activity index in patients with inflammatory bowel diseases.

Vojnosanit Pregl 70(10): 947-952.

STURGESS, K. (2005):

Diagnosis and management of idiopathic inflammatory bowel disease in dogs and cats.

In Practice 27(6): 293-301.

SUCHODOLSKI, J. S. and STEINER, J. M. (2003):

Laboratory assessment of gastrointestinal function.

Clin Tech Small Anim Pract 18(4): 203-210.

SUCHODOLSKI, J. S., DOWD, S. E., WESTERMARCK, E., STEINER, J. M., WOLCOTT, R. D., SPILLMANN, T. and HARMOINEN, J. A. (2009):

The effect of the macrolide antibiotic tylosin on microbial diversity in the canine small intestine as demonstrated by massive parallel 16S rRNA gene sequencing.

BMC Microbiol 9: 210.

SUCHODOLSKI, J. S. (2011):

Companion animals symposium: microbes and gastrointestinal health of dogs and cats.

J Anim Sci 89(5): 1520-1530.

SUCHODOLSKI, J. S., DOWD, S. E., WILKE, V., STEINER, J. M. and JERGENS, A. E. (2012a):

16S rRNA gene pyrosequencing reveals bacterial dysbiosis in the duodenum of dogs with idiopathic inflammatory bowel disease.

PLoS One 7(6): e39333.

SUCHODOLSKI, J. S., MARKEL, M. E., GARCIA-MAZCORRO, J. F., UNTERER, S., HEILMANN, R. M., DOWD, S. E., KACHROO, P., IVANOV, I., MINAMOTO, Y., DILLMAN, E.

- M., STEINER, J. M., COOK, A. K. and TORESSON, L. (2012b):
The fecal microbiome in dogs with acute diarrhea and idiopathic inflammatory bowel disease.
PLoS One 7(12): e51907.
- SUMMERS, R. W., ELLIOTT, D. E., URBAN, J. F., Jr., THOMPSON, R. and WEINSTOCK, J. V. (2005a):
Trichuris suis therapy in Crohn's disease.
Gut 54(1): 87-90.
- SUTER, P. F. (2006):
Darmerkrankungen.
Praktikum der Hundeklinik.
P. F. Suter and B. Kohn. Stuttgart, Parey. **10**: 705-749.
- SWANSON, K. S., GRIESHOP, C. M., FLICKINGER, E. A., BAUER, L. L., CHOW, J., WOLF, B. W., GARLEB, K. A. and FAHEY, G. C., Jr. (2002a):
Fructooligosaccharides and Lactobacillus acidophilus modify gut microbial populations, total tract nutrient digestibilities and fecal protein catabolite concentrations in healthy adult dogs.
J Nutr 132(12): 3721-3731.
- SWANSON, K. S., GRIESHOP, C. M., FLICKINGER, E. A., MERCHEN, N. R. and FAHEY, G. C., Jr. (2002b):
Effects of supplemental fructooligosaccharides and mannanoligosaccharides on colonic microbial populations, immune function and fecal odor components in the canine.
J Nutr 132(6 Suppl 2): 1717S-1719S.
- TACK, J. F., MINER, P. B., Jr., FISCHER, L. and HARRIS, M. S. (2011):
Randomised clinical trial: the safety and efficacy of AST-120 in non-constipating irritable bowel syndrome - a double-blind, placebo-controlled study.
Aliment Pharmacol Ther 34(8): 868-877.
- TAKEDA, J., UEDA, E., TAKAHASHI, J. and FUKUSHIMA, K. (1995):
Plasma N-methylhistamine concentration as an indicator of histamine release by intravenous d-tubocurarine in humans: preliminary study in five patients by radioimmunoassay kits.
Anesth Analg 80(5): 1015-1017.
- TAMURA, Y., OHTA, H., YOKOYAMA, N., LIM, S. Y., OSUGA, T., MORISHITA, K., NAKAMURA, K., YAMASAKI, M. and TAKIGUCHI, M. (2014):
Evaluation of selected cytokine gene expression in colonic mucosa from dogs with idiopathic lymphocytic-plasmacytic colitis.
J Vet Med Sci 76(10): 1407-1410.
- TAPP, T., GRIFFIN, C., ROSENKRANTZ, W., MUSE, R. and BOORD, M. (2002):
Comparison of a commercial limited-antigen diet versus home-prepared diets in the diagnosis of canine adverse food reaction.
Vet Ther 3(3): 244-251.
- TAYLOR, S. L., LEMANSKE, R. F., Jr., BUSH, R. K. and BUSSE, W. W. (1987):
Food allergens: structure and immunologic properties.
Ann Allergy 59(5 Pt 2): 93-99.
- THALHEIM, L., WILLIAMS, L. E., BORST, L. B., FOGLE, J. E. and SUTER, S. E. (2013):
Lymphoma Immunophenotype of Dogs Determined by Immunohistochemistry, Flow

Cytometry, and Polymerase Chain Reaction for Antigen Receptor Rearrangements.
J Vet Intern Med.

THIEBAUT, F., TSURUO, T., HAMADA, H., GOTTESMAN, M. M., PASTAN, I. and WILLINGHAM, M. C. (1987):

Cellular localization of the multidrug-resistance gene product P-glycoprotein in normal human tissues.

Proc Natl Acad Sci U S A 84(21): 7735-7738.

TITMARSH, H., GOW, A. G., KILPATRICK, S., SINCLAIR, J., HILL, T., MILNE, E., PHILBEY, A., BERRY, J., HANDEL, I. and MELLANBY, R. J. (2015):

Association of Vitamin D Status and Clinical Outcome in Dogs with a Chronic Enteropathy.
J Vet Intern Med 29(6): 1473-1478.

TIZARD, I. R. (2013a):

Immunity at Body Surfaces.

Veterinary Immunology.

I. R. Tizard. St.Louis, Elsevier: 240-257.

TIZARD, I. R. (2013b):

Type I Hypersensitivity.

Veterinary Immunology.

I. R. Tizard. St.Louis, Elsevier Saunders: 326-345.

TIZARD, I. R. (2013c):

Helper T Cells and Their Response to Antigen.

Veterinary Immunology.

I. R. Tizard. St. Louis, Elsevier: 137-149.

TIZARD, I. R. (2013d):

Regulation of Adaptive Immunity.

Veterinary Immunology. St. Louis, Elsevier Saunders: 209-224.

TOMINAGA, M., HORIUCHI, Y., ICHIKAWA, M., YAMASHITA, M., OKANO, K., JIKUMARU, Y., NARIAI, Y. and KADOSAWA, T. (2010):

Flow cytometric analysis of peripheral blood and tumor-infiltrating regulatory T cells in dogs with oral malignant melanoma.

J Vet Diagn Invest 22(3): 438-441.

TORESSON, L., STEINER, J. M., SUCHODOLSKI, J. S. and SPILLMANN, T. (2016):

Oral Cobalamin Supplementation in Dogs with Chronic Enteropathies and Hypocobalaminemia.

J Vet Intern Med 30(1): 101-107.

TORESSON, L., STEINER, J. M., RAZDAN, P., SPODSBERG, E., OLMEDAL, G., SUCHODOLSKI, J. S. and SPILLMANN, T. (2018):

Comparison of efficacy of oral and parenteral cobalamin supplementation in normalising low cobalamin concentrations in dogs: A randomised controlled study.

The Veterinary Journal 232: 27-32.

TRIVEDI, S., MARKS, S. L., KASS, P. H., LUFF, J. A., KELLER, S. M., JOHNSON, E. G. and MURPHY, B. (2011):

Sensitivity and specificity of canine pancreas-specific lipase (cPL) and other markers for

pancreatitis in 70 dogs with and without histopathologic evidence of pancreatitis.
J Vet Intern Med 25(6): 1241-1247.

UEDA, H., SHIBAHARA, N., TAKAGI, S., INOUE, T. and KATSUOKA, Y. (2007):
AST-120, an oral adsorbent, delays the initiation of dialysis in patients with chronic kidney diseases.
Ther Apher Dial 11(3): 189-195.

UHLIG, H. H. and POWRIE, F. (2005):
The role of mucosal T lymphocytes in regulating intestinal inflammation.
Springer Semin Immunopathol 27(2): 167-180.

UNTERER, S., STROHMEYER, K., KRUSE, B. D., SAUTER-LOUIS, C. and HARTMANN, K. (2011):
Treatment of aseptic dogs with hemorrhagic gastroenteritis with amoxicillin/clavulanic acid: a prospective blinded study.
J Vet Intern Med 25(5): 973-979.

VADEN, S. (2008):
Protein-losing enteropathies - Small Intestinal Disease.
Small Animal Gastroenterology.
J. Steiner. Hannover, Schlütersche: 207-210.

VADEN, S. L., HAMMERBERG, B., DAVENPORT, D. J., ORTON, S. M., TROGDON, M. M., MELGAREJO, L. T., VANCAMP, S. D. and WILLIAMS, D. A. (2000):
Food hypersensitivity reactions in Soft Coated Wheaten Terriers with protein-losing enteropathy or protein-losing nephropathy or both: gastroscopic food sensitivity testing, dietary provocation, and fecal immunoglobulin E.
J Vet Intern Med 14(1): 60-67.

VERLINDEN, A., HESTA, M., MILLET, S. and JANSSENS, G. P. (2006):
Food allergy in dogs and cats: a review.
Crit Rev Food Sci Nutr 46(3): 259-273.

VERMEIRE, S., VAN ASSCHE, G. and RUTGEERTS, P. (2004):
C-reactive protein as a marker for inflammatory bowel disease.
Inflamm Bowel Dis 10(5): 661-665.

VOLKMANN, M., WIRTHERLE, N. C., BEDDIES, G. F. and KOHN, B. (2013):
Efficacy of AST-120 in Dogs with Chronic Idiopathic Enteropathies.
Journal of Veterinary Internal Medicine 27: 1637-1641.

VOLKMANN, M., HEPWORTH, M. R., EBNER, F., RAUSCH, S., KOHN, B. and HARTMANN, S. (2014):
Frequencies of regulatory T cells in the peripheral blood of dogs with primary immune-mediated thrombocytopenia and chronic enteropathy: A pilot study.
Veterinary Journal 202(3): 630-633.

VOLKMANN, M. and KOHN, B. (2015):
Durchfall und Erbrechen beim Hund.
CVE 1(6): 1-20.

VOLKMANN, M., STEINER, J. M., FOSGATE, G. T., ZENTEK, J., HARTMANN, S. and

- KOHN, B. (2017):
Chronic Diarrhea in Dogs - Retrospective Study in 136 Cases.
J Vet Intern Med 31(4): 1043-1055.
- WAGNER, R. D., WARNER, T., ROBERTS, L., FARMER, J. and BALISH, E. (1997):
Colonization of congenitally immunodeficient mice with probiotic bacteria.
Infect Immun 65(8): 3345-3351.
- WALKLEY, H. M. and NEIGER, R. (2000):
Accuracy of three non-invasive tests to diagnose small intestinal bacterial overgrowth in dogs.
BSAVA Congress.
- WALMSLEY, R. S., AYRES, R. C., POUNDER, R. E. and ALLAN, R. N. (1998):
A simple clinical colitis activity index.
Gut 43(1): 29-32.
- WANDER, R. C., HALL, J. A., GRADIN, J. L., DU, S. H. and JEWELL, D. E. (1997):
The ratio of dietary (n-6) to (n-3) fatty acids influences immune system function, eicosanoid metabolism, lipid peroxidation and vitamin E status in aged dogs.
J Nutr 127(6): 1198-1205.
- WANG, Y., LIU, X. P., ZHAO, Z. B., CHEN, J. H. and YU, C. G. (2011):
Expression of CD4+ forkhead box P3 (FOXP3)+ regulatory T cells in inflammatory bowel disease.
J Dig Dis 12(4): 286-294.
- WASHABAU, R. J., DAY, M. J., WILLARD, M. D., HALL, E. J., JERGENS, A. E., MANSELL, J., MINAMI, T. and BILZER, T. W. (2010):
Endoscopic, biopsy, and histopathologic guidelines for the evaluation of gastrointestinal inflammation in companion animals.
J Vet Intern Med 24(1): 10-26.
- WASHABAU, R. J. (2013):
Vomiting.
Canine and Feline Gastroenterology.
R. J. Washabau and M. J. Day. St.Louis, Elsevier Saunders: 167-173.
- WEINSTOCK, J. V., SUMMERS, R. W. and ELLIOTT, D. E. (2005):
Role of helminths in regulating mucosal inflammation.
Springer Semin Immunopathol 27(2): 249-271.
- WEISS, D. J., GAGNE, J. M. and ARMSTRONG, P. J. (1996):
Relationship between inflammatory hepatic disease and inflammatory bowel disease, pancreatitis, and nephritis in cats.
J Am Vet Med Assoc 209(6): 1114-1116.
- WELLEK, S. and BLETTNER, M. (2012):
On the proper use of the crossover design in clinical trials: part 18 of a series on evaluation of scientific publications.
Dtsch Arztebl Int 109(15): 276-281.
- WESTERMARCK, E., MYLLYS, V. and AHO, M. (1993):

Effect of treatment on the jejunal and colonic bacterial flora of dogs with exocrine pancreatic insufficiency.
Pancreas 8(5): 559-562.

WESTERMARCK, E., SKRZYPCZAK, T., HARMOINEN, J., STEINER, J. M., RUAUX, C. G., WILLIAMS, D. A., EEROLA, E., SUNDBACK, P. and RINKINEN, M. (2005):
Tylosin-responsive chronic diarrhea in dogs.
J Vet Intern Med 19(2): 177-186.

WESTERMARCK, E. (2008):
Clinical Evaluation of Patients with Chronic Diarrhea.
Small Animal Gastroenterology.
J. M. Steiner. Hannover, Schlütersche: 127-133.

WHELAN, R. A., RAUSCH, S., EBNER, F., GUNZEL, D., RICHTER, J. F., HERING, N. A., SCHULZKE, J. D., KUHL, A. A., KELES, A., JANCZYK, P., NOCKLER, K., WIELER, L. H. and HARTMANN, S. (2014):
A transgenic probiotic secreting a parasite immunomodulator for site-directed treatment of gut inflammation.
Mol Ther 22(10): 1730-1740.

WHITE, S. D. (1998):
Food allergy in dogs.
Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian 20(3): 261-+.

WHITLEY, N. T. and DAY, M. J. (2011):
Immunomodulatory drugs and their application to the management of canine immune-mediated disease.
J Small Anim Pract 52(2): 70-85.

WILLARD, M. (2014):
Chronic Small Bowel Diarrheas: IBD is Not the Most Common Cause.
CVC, Washington, D.C.

WILLARD, M. D., SIMPSON, R. B., FOSSUM, T. W., COHEN, N. D., DELLES, E. K., KOLP, D. L., CAREY, D. P. and REINHART, G. A. (1994):
Characterization of naturally developing small intestinal bacterial overgrowth in 16 German shepherd dogs.
J Am Vet Med Assoc 204(8): 1201-1206.

WILLARD, M. D., MANSELL, J., FOSGATE, G. T., GUALTIERI, M., OLIVERO, D., LECOINDRE, P., TWEDT, D. C., COLLETT, M. G., DAY, M. J., HALL, E. J., JERGENS, A. E., SIMPSON, J. W., ELSE, R. W. and WASHABAU, R. J. (2008):
Effect of sample quality on the sensitivity of endoscopic biopsy for detecting gastric and duodenal lesions in dogs and cats.
J Vet Intern Med 22(5): 1084-1089.

WILLMER, J., ANDERSON, K., PROKSCH, S., LAPLACA, C. and HARRIS, M. (2008):
Absence of Pharmacokinetic drug-drug interactions in healthy volunteers between AST-120, a novel oral adsorbent and concomittant medications: CiproXR(CFXR) and azathioprine (AZA).
Gut 57(Suppl.2): A374.

WILLS, J. and HARVEY, R. (1994):

Diagnosis and management of food allergy and intolerance in dogs and cats.
Aust Vet J 71(10): 322-326.

WRIGHT, E. K., KAMM, M. A., DE CRUZ, P., HAMILTON, A. L., RITCHIE, K. J., KREJANY, E. O., LEACH, S., GORELIK, A., LIEW, D., PRIDEAUX, L., LAWRENCE, I. C., ANDREWS, J. M., BAMPTON, P. A., JAKOBOVITS, S. L., FLORIN, T. H., GIBSON, P. R., DEBINSKI, H., MACRAE, F. A., SAMUEL, D., KRONBORG, I., RADFORD-SMITH, G., SELBY, W., JOHNSTON, M. J., WOODS, R., ELLIOTT, P. R., BELL, S. J., BROWN, S. J., CONNELL, W. R., DAY, A. S., DESMOND, P. V. and GEARRY, R. B. (2015):

Measurement of fecal calprotectin improves monitoring and detection of recurrence of Crohn's disease after surgery.

Gastroenterology 148(5): 938-947 e931.

XENOULIS, P. G., PALCULICT, B., ALLENSPACH, K., STEINER, J. M., VAN HOUSE, A. M. and SUCHODOLSKI, J. S. (2008):

Molecular-phylogenetic characterization of microbial communities imbalances in the small intestine of dogs with inflammatory bowel disease.

FEMS Microbiol Ecol 66(3): 579-589.

ZENTEK, J. (2011a):

Futtermittelallergie, Ernährung mit hypoallergenem Futter.

Arbeitstagung der Deutschen Gesellschaft für Kleintiermedizin: Dünndarm-Dickdarm, nicht nur für Spezialisten, Saarbrücken, DVG GmbH Service GmbH. 106-112.

ZENTEK, J. (2011b):

Gezielte Ernährung bei den verschiedenen Darmerkrankungen.

Arbeitstagung der Deutschen Gesellschaft für Kleintiermedizin: Dünndarm-Dickdarm, nicht nur für Spezialisten, Saarbrücken, DVG Service GmbH. 75-84.

ZIMMER, A., BEXLEY, J., HALLIWELL, R. E. and MUELLER, R. S. (2011):

Food allergen-specific serum IgG and IgE before and after elimination diets in allergic dogs.

Vet Immunol Immunopathol 144(3-4): 442-447.

10 Übersicht Publikationen 2010-2018

10.1 Journals und tierärztliche Fachzeitschriften mit Begutachtungssystem (*Peer Review*)

Volkman M, Skiebe E, Kerrinnes T, Faber F, Lepka D, Pfeifer Y, Holland G, Bannert N, Wilharm G. **2010**. *Orbus hercynius* gen. nov., sp. nov., isolated from faeces of wild boar, is most closely related to members of the orders 'Enterobacteriales' and Pasteurellales. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60: 2601–2605.

Craven M, Dogan B, Schukken A, Volkman M, Chandler A, McDonough PL, Simpson KW. **2010**. Antimicrobial Resistance Impacts Clinical Outcome of Granulomatous Colitis in Boxer Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 24: 819–824.

Volkman M, Wirtherle NC, Beddies GF, Kohn B. **2013**. Efficacy of AST-120 in Dogs with Chronic Idiopathic Enteropathies. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 27: 1637-1641. (Bestandteil der Dissertation)

Volkman M, Hepworth MR, Ebner F, Rausch S, Kohn B, Hartmann S. **2014**. Frequencies of regulatory T cells in the peripheral blood of dogs with primary immune-mediated thrombocytopenia and chronic enteropathy: A pilot study. *Veterinary Journal* 202(3): 630-633. (Bestandteil der Dissertation)

Volkman M, Kohn B. **2015**. Durchfall und Erbrechen beim Hund. *CVE* 2015, 1 (6): 1-20. Veterinär Verlag.

Heilmann RM, Volkman M, Otoni CC, Grützner N, Kohn B, Jergens AE, Steiner JM. **2016**. Fecal S100A12 concentration predicts a lack of response to treatment in dogs with chronic enteropathies. *Veterinary Journal*, 2016. (Enthält Daten der Dissertation)

Volkman M, Steiner JM, Fosgate GT, Zentek J, Hartmann S, Kohn B. **2017**. Chronic Diarrhea in Dogs – Retrospective Study in 136 cases. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 2017. (Bestandteil der Dissertation)

10.2 Abstracts/Proceedings

(Vorträge und Posterpräsentationen sind als solche vermerkt)

Volkman M, Kohn B, Eule C, Roesler U. **2011**. Systemische Infektion mit *Prototheca zopfii* bei zwei Hunden. 19. Jahrestagung der FG Innere Medizin und klinische Labordiagnostik der DVG (Innlab). Leipzig, 04.-05.02.2011. *Tierärztliche Praxis Kleintiere* 1/2011. S. A23. (Poster)

Volkman M, Kohn B, Eule C, Roesler U. **2011**. Systemische Infektion mit *Prototheca zopfii* Genotyp 2 bei zwei Hunden. 6. Doktorandensymposium; Veterinärmedizin; FU Berlin, ISBN 978-3-86664-980-4; S. 59. Berlin, 1.7.2011. (Poster)

- Volkman M, Kohn B, Eule C, Roesler U. **2011**. Systemische Infektion mit *Prototheca zopfii* Genotyp 2 bei zwei Hunden. 57. Jahreskongress der Deutschen Gesellschaft für Kleintiermedizin, ISBN 978-3-86345-043-4; S. 389. Berlin, 10.-13.11.2011. (Poster)
- Volkman M, Steiner J, Kohn B. **2011**. Differentialdiagnosen bei 117 Hunden mit chronischem Durchfall. 57. Jahreskongress der Deutschen Gesellschaft für Kleintiermedizin, ISBN 978-3-86345-043-4; S.303. Berlin, 10.-13.11.2011. (Vortrag)
- Volkman M, Steiner JM, Kohn B. **2012**. Chronischer Durchfall bei 136 Hunden (2009-2011) – eine epidemiologische Studie. 20. Jahrestagung der FG Innere Medizin und klinische Labordiagnostik der DVG (InnLab), Tierärztliche Praxis Kleintiere 1/2012, V03. Göttingen, 03.-04.02.2012. (Vortrag)
- Kohn B, Baumgart K, Volkman M. **2012**. Chronischer Durchfall beim Hund: Ein Symptom – viele Ursachen. 2. Tierärztetag der Tierärztekammer Schleswig-Holstein, ISBN 978-386345-060-1; S. 25-28. Schleswig, 18.02.2012.
- Kohn B, Baumgart K, Volkman M. **2012**. Chronischer Durchfall beim Hund: alte und neue Therapiemöglichkeiten. 2. Tierärztetag der Tierärztekammer Schleswig-Holstein, ISBN 978-386345-060-1; S. 30-35. Schleswig, 18.02.2012.
- Volkman M, Kohn B, Eule C, Roesler U. **2012**. Systemische Infektion mit *Prototheca zopfii* Genotyp 2 bei zwei Hunden. *Kleintierpraxis* 57: Ausgabe 4, Seite 212.
- Volkman M, Fosgate GT, Steiner JM, Kohn B. **2012**. Final Diagnoses in 136 dogs with chronic diarrhea. *JVIM*, 26 (3): 766. *Proceedings 30th ACVIM congress 2012. New Orleans, USA, 30.05.-02.06.2012*. (Vortrag)
- Volkman M, Wirtherle NC, Beddies GF, Kohn B. **2012**. Effectivity of AST-120 in dogs with chronic inflammatory enteropathies. *JVIM*, 26 (3): 772. *Proceedings 30th ACVIM congress 2012. New Orleans, USA, 30.05.-02.06.2012*. (Poster)
- Dogan B, Volkman M, Oh J, Schukken A, Klaessig S, Simpson KW. **2012**. Comparison of *E.coli* associated with granulomatous colitis of boxer dogs and *E.coli* from healthy controls. *JVIM*, 26 (3): 767. *Proceedings 30th ACVIM congress 2012, New Orleans, USA, 30.05.-02.06.2012*.
- Palm V, Volkman M, Kohn B, Rösler U. **2012**. Prävalenz der Protothekeninfektion bei gesunden und an Enteritis erkrankten Hunden. Tagung der DVG-Fachgruppe "Bakteriologie und Mykologie", Leipzig, 27.-29.06.2012. Tagungsband ISBN 978-3-86345-080-9.
- Volkman M. **2012**. *Trichuris suis* E/S products in dogs with chronic inflammatory enteropathies and allergies. Seminar "Current Research Topics in Infection Immunology", Institut für Immunologie, Fachbereich Veterinärmedizin, Freie Universität Berlin. Berlin, 02.07.2012. (Vortrag)
- Volkman M. **2012**. Chronische Diarrhö in Hunden - neue diagnostische und therapeutische Ansätze. Tierbiochemisches Seminar, Institut für Veterinär-Biochemie, Fachbereich Veterinärmedizin, Freie Universität Berlin. Berlin, 06.07.2012. (Vortrag)

Volkman M, Wirtherle NC, Beddies GF, Kohn B. **2012**. Wirksamkeit von AST-120 bei Hunden mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen. 7. Doktorandensymposium: Veterinärmedizin, FU Berlin, ISBN 978-3-86387-153-6; S. 49. Berlin, 13.07.2012. (Poster)

Palm V, Volkman M, Kohn B, Rösler U. **2012**. Prävalenz der Protothekeninfektion bei Hunden in Nordostdeutschland. 7. Doktorandensymposium: Veterinärmedizin, FU Berlin; Abstractband ISBN: 978-3-86387-153-6, S. 63. Berlin, 13.07.2012.

Volkman M, Hepworth MR, Ebner F, Rausch S, Kohn B, Hartmann S. **2013**. Peripher zirkulierende CD4+CD25+FoxP3+ regulatorische T-Zellen bei Hunden mit chronischer Enteropathie und autoimmuner Anämie/Thrombozytopenie. 59. Jahreskongress der Deutschen Gesellschaft für Kleintiermedizin, ISBN 978-3-86345-174-5; S.179. Berlin, 6.-10.11.2013. (Vortrag)

Baumgart K, Volkman M, Kohn B. **2013**. Differentialdiagnosen bei 143 Hunden mit chronischen gastrointestinalen Symptomen. 59. Jahreskongress der Deutschen Gesellschaft für Kleintiermedizin, ISBN: 978-3-86345-174-5; S.177. Berlin, 6.-10.11.2013.

Baumgart K, Volkman M, Kohn B. Chronisch gastrointestinale Symptome: Differentialdiagnosen bei 155 Hunden. **2014**. 22. Jahrestagung der FG Innere Medizin und klinische Labordiagnostik der DVG (Innlab). Giessen, 31.01.-01.02.2014. Tierärztliche Praxis Kleintiere 2/2014.

Volkman M, Hepworth MR, Ebner F, Rausch S, Kohn B, Hartmann S. **2014**. Frequencies of CD4+CD25+FoxP3+ lymphocytes in peripheral blood of dogs with primary immune-mediated thrombocytopenia, food responsive enteropathy and chronic idiopathic enteropathy. VIA meeting 2014, S. 37 (P10). Jena, 02.-03.05.2014. (Poster)

Volkman M, Fosgate GT, Steiner JM, Zentek J, Hartmann S, Kohn B. **2014**. Chronic Diarrhea in Dogs: A Comparison of Dogs with Intestinal Lymphoma and Inflammatory Enteropathies. Proceedings 24th ECVIM-CA Congress, ESCG-P-6. Mainz, 04.-06.09.2014. (Poster)

Baumgart K, Volkman M, Steiner JM, Kohn B. **2014**. Final Diagnoses in 155 Dogs with Chronic Vomiting and/or Diarrhea. Proceedings 24th ECVIM-CA Congress, ESCG-P-10. Mainz, 04.-06.09.2014.

Volkman M, Baumgart K, Steiner JM, Kohn B. **2015**. Vorkommen von Hypoadrenokortizismus bei Hunden mit chronischem Durchfall. 23. Jahrestagung der DVG-FG Innere Medizin und klinische Labordiagnostik (InnLab), Tierärztliche Praxis Kleintiere 2/2015, P18. Leipzig, 23.-24.01.2015. Auszeichnung 3. Platz Posterpreis.

Kohn B, Volkman M. **2015**. Chronische gastrointestinale Symptome bei Hund und Katze – Ursachen, Klinik, Diagnostik und Therapie. 12. Thüringer Tierärztetag 2015. Friedrichroda, 04.-05.09.2015.

Volkman M, Kohn B. **2015**. Differentialdiagnosen und Diagnostik bei Hunden mit Durchfall. 6. Nordrhein-Westfälischer Tierärztetag 2015, Dortmund, 05.09.2015. Hauptprogramm Kleintiere, S. 67-71. (Vortrag)

Heilmann RM, Volkman M, Otoni CC, Grütznert N, Kohn B, Jergens AE, Steiner JM. **2015**. Fecal S100A12 concentration predicts a lack of response to treatment in dogs with chronic enteropathies. Proceedings 25th ECVIM-CA Congress, ESVIM. Lissabon, Portugal, 10.-12.09.2015.

Volkman M, Fosgate GT, Steiner JM, Zentek J, Hartmann S, Kohn B. **2015**. Chronischer Durchfall beim Hund – Vergleich von Hunden mit intestinalemt Lymphom und entzündlichen Enteropathien. 61. Jahreskongress der Deutschen Gesellschaft für Kleintiermedizin. Berlin, 12.-15.11.2015. (Poster)

Volkman M, Baumgart K, Steiner JM, Kohn B. **2015**. Chronischer Durchfall beim Hund – Prävalenz des Hypoadrenokortizismus. 61. Jahreskongress der Deutschen Gesellschaft für Kleintiermedizin. Berlin, 12.-15.11.2015. (Poster)

Reimann C, Volkman M, Lidbury J, Suchodolski JS, Steiner JM, Kohn B. **2017**. Serological Markers in Dogs with Chronic Enteropathies. 10. Doktorandensymposium & DRS Präsentationsseminar „Biomedical Sciences“, Freie Universität Berlin. Berlin, 22.09.2017.

Reimann C, Volkman M, Steiner JM, Kohn B. **2017**. Biomarker im Serum von Hunden mit chronisch entzündlichen Enteropathien. 63. Jahreskongress der Deutschen Gesellschaft für Kleintiermedizin. Berlin, 09.-12.11.2017.

Reimann C, Volkman M, Steiner JM, Kohn B. **2018**. Untersuchung serologischer Entzündungsmarker bei Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien. 26. Jahrestagung der DVG-FG Innere Medizin und klinische Labordiagnostik (InnLab), Tierärztliche Praxis Kleintiere 1/2018, P19. Hannover, 02.-03.02.2018.

11 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich ganz herzlich bedanken bei...

...Frau Prof. Dr. Barbara Kohn, für die Möglichkeit, eine vielgestaltige Doktorarbeit zu meinem „Herzensthema“ anfertigen zu können. In diesem Sinne bedanke ich mich für ihr Vertrauen in meine Arbeit mit den Patienten und deren Besitzern, aber vielmehr noch für ihre Unterstützung, Geduld und ihre Zuversicht, dass, trotz schwieriger Phasen und mancher Umwege, diese Arbeit einen schönen Abschluss findet.

...Frau Prof. Dr. Susanne Hartmann, für die Kooperation und Begleitung dieser Arbeit sowie die Überlassung der Labore - erst in Mitte und dann hier am Fachbereich in Düppel. Ganz besonders bedanke ich mich für die mehr als herzliche Aufnahme im Team, die angenehme Atmosphäre, den unwahrscheinlich bereichernden wissenschaftlichen Austausch und die stetige Unterstützung - nicht nur in der „sportlichen“ Schlussphase.

...Herrn Prof. Dr. Jörg Steiner, für die uneingeschränkte Hilfsbereitschaft, die tolle Arbeitsatmosphäre und wissenschaftliche Diskussion, die Zusammenarbeit mit Prof. Geoffrey T. Fosgate und die Bereitstellung des GI Labores. In diesem Sinne gilt mein Dank auch Romy Heilmann und allen Mitarbeitern des Gastrointestinal Laboratory der Texas A&M University, USA, für die labordiagnostische Aufarbeitung zahlreicher Serum- und Kotproben.

...Drs. Jutta und Georg Bruns, der Akademie für Tiergesundheit und der Ernst-Reuter Stiftung der Freien Universität Berlin für die finanzielle Unterstützung des Promotionsvorhabens sowie der Bayer Animal Health Care GmbH Leverkusen für die finanzielle Unterstützung der AST-120 Studie.

...dem Institut für Veterinär-Parasitologie und Tropenveterinärmedizin der Freien Universität Berlin und dessen Mitarbeitern für die Unterstützung bei der Rekrutierung und Probengewinnung von gesunden Hunden und die stets freundliche Zusammenarbeit.

...allen Kolleginnen, Kollegen und promovierenden Mitstreitern der Kleintierklinik und dem Institut für Veterinär-Immunologie für die unermüdliche Unterstützung, das klinische und labortechnische Know-how, ermunternde Worte oder Gummibärchen aus geheimen Schubladen sowie das ein oder andere Entspannungs- und Besprechungskäffchen zwischendurch.

... Alex, dafür dass es Dich gibt und dass Du immerwährend meine Nachtschichten und sich anschließendes morgendliches Grummeln ertragen, zum Durchhalten motiviert und zur Fertigstellung dieser Arbeit beigetragen hast. Deine strahlenden Augen als Antwort auf meine Verkündung „ich reiche morgen meine Arbeit ein“ werden unvergesslich bleiben.

...nicht zuletzt meinen Eltern und meiner Familie für die Unterstützung und Zuversicht während des gesamten Studiums und für die liebevolle Ungeduld während des noch länger währenden Promotionsstudiums.

DANKE!!!

12 Selbständigkeitserklärung

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Berlin, den 26.06.2018

Maria Volkmann

In der Mühelosigkeit liegt keine Tugend.
Drohendes Versagen ist die Würze, die die Früchte des Sieges begehrenswert machen.
- Sir Peter Ustinov -

