

**Aus der Klinik für kleine Haustiere
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin**

**Untersuchungen zur Anwendung ausgewählter
serologischer und fäkaler Biomarker und deren
diagnostischen sowie prognostischen Nutzen bei Hunden
mit chronisch-entzündlichen Enteropathien**

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

**vorgelegt von
Charlotte Reimann
Tierärztin aus Berlin**

**Berlin 2020
Journal-Nr.: 4246**

**Aus der Klinik für kleine Haustiere
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin**

**Untersuchungen zur Anwendung ausgewählter serologischer und fäkaler Biomarker
und deren diagnostischen sowie prognostischen Nutzen bei Hunden mit chronisch-
entzündlichen Enteropathien**

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

vorgelegt von
Charlotte Reimann
Tierärztin aus Berlin

Berlin 2020

Journal-Nr.: 4246

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: PD Dr. Nadine Paßlack
Dritter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Salah Amasheh

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

dogs, biochemical markers, diagnostic techniques, laboratory methods, faeces,
serology, serological relationships, intestinal diseases, histology, endoscopy

Tag der Promotion: 17.12.2020

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <<https://dnb.de>> abrufbar.

ISBN: 978-3-96729-091-2

Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2020

Dissertation, Freie Universität Berlin

D188

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written authorization of the publisher.

alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© Mensch und Buch Verlag 2021

Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

Meiner Familie

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Tabellenverzeichnis	VI
Abbildungsverzeichnis	VIII
Anhangsverzeichnis	IX
Abkürzungsverzeichnis	IX
I Einleitung	1
II Literaturübersicht	3
1 Definition chronische Enteropathie und das Leitsymptom Durchfall	3
2 Ausprägung und Formen der chronisch-entzündlichen Enteropathien des Hundes.....	4
2.1 Definitionen und Nomenklatur	4
2.1.1 Definition und Nomenklatur der Futter-responsiven Enteropathie	4
2.1.2 Definition und Nomenklatur der Antibiotika-responsiven Enteropathie und neuere Ansätze	5
2.1.3 Definition und Nomenklatur der Immunsuppressiva-responsiven Enteropathie/ Inflammatory Bowel Disease	6
2.2 Prävalenz	7
2.2.1 Prävalenz der Futter-responsiven Enteropathie	7
2.2.2 Prävalenz der Antibiotika-responsiven Enteropathie	8
2.2.3 Prävalenz der Inflammatory Bowel Disease	8
2.3 Ätiologie und Pathogenese.....	9
2.3.1 Schutz vor Hypersensitivität und die gastrointestinale Immunität.....	10
2.3.2. Kommensale Darmmikrobiota und die adäquate Immunantwort.....	11
2.4 Klinik	14
2.4.1 Klinische Aktivitätsscores	14
2.4.2 Klinik der Futter-responsiven Enteropathie	15

2.4.3 Klinik der Antibiotika-responsiven Enteropathie	15
2.4.4 Klinik der Inflammatory Bowel Disease.....	16
2.5 Diagnostik	16
2.5.1 Allgemeine Diagnostik einer chronisch-entzündlichen Enteropathie	16
2.5.2 Spezielle Diagnostik bei einer Futter-responsiven Enteropathie	20
2.5.3 Spezielle Diagnostik bei einer Antibiotika-responsiven Enteropathie	22
2.5.4 Spezielle Diagnostik bei einer Inflammatory Bowel Disease	22
2.6 Therapie.....	23
2.6.1 Therapie einer Futter-responsiven Enteropathie.....	24
2.6.2 Therapie einer Antibiotika-responsiven Enteropathie.....	24
2.6.3 Probiotische Therapie.....	25
2.6.4 Therapie einer Inflammatory Bowel Disease	26
3 Biomarker bei chronischen Enteropathien.....	27
3.1 Definition und Beschaffenheit eines Biomarkers.....	27
3.2 Ausgewählte Biomarker bei chronischer Enteropathie in Serum und Faeces	28
3.2.1 S100A12	28
3.2.1.1 Struktur und Wirkung	28
3.2.1.2 S100A12 als Biomarker der chronischen Enteropathie des Menschen	29
3.2.1.3 S100A12 als Biomarker der chronischen Enteropathie des Hundes	29
3.2.2 Calprotectin C.....	30
3.2.2.1 Struktur und Wirkung	30
3.2.2.2 Calprotectin C als Biomarker der chronischen Enteropathie des Menschen	31
3.2.2.3 Calprotectin C als Biomarker der chronischen Enteropathie des Hundes	31
3.2.3 C-reaktives Protein (CRP).....	32
3.2.3.1 Struktur und Wirkung	32
3.2.3.2 CRP als Biomarker der chronischen Enteropathie des Menschen	32
3.2.3.3 CRP als Biomarker der chronischen Enteropathie des Hundes	33

3.2.4 N-Methylhistamin.....	33
3.2.4.1 Struktur und Wirkung	33
3.2.4.2 N-Methylhistamin als Biomarker der chronischen Enteropathie des Menschen.....	34
3.2.4.3 N-Methylhistamin als Biomarker der chronischen Enteropathie des Hundes.....	34
4 Ziele der Studie.....	35
III Material und Methoden	36
1 Beschreibung der Patientenpopulation.....	36
1.1 Einschlusskriterien	36
1.2 Ausschlusskriterien	37
1.3 Allgemeines Untersuchungskonzept	37
1.4 Signalement.....	37
1.5 Anamnese.....	38
1.6 Klinische Untersuchung.....	38
1.7 Aktivitätsindex	39
1.8 Charakterisierung der Diarrhö	40
1.9 Blutuntersuchung	41
1.10 Kotuntersuchung	43
1.11 Bildgebende Diagnostik.....	43
1.12 Endoskopie und Biopsieentnahme	44
1.13 Histologische Untersuchung.....	44
2 Probenmaterial.....	45
2.1 Proben	45
2.2 Aufarbeitung der Proben	45
2.3 Beprobungszeitraum	45
2.4 Versand der Proben	46
3 Messung der Biomarker	46

4 Diagnosestellung	46
4.1 Futter- responsive Enteropathie	47
4.2 Antibiotika- responsive Enteropathie	47
4.3 Inflammatory Bowel Disease	47
5 Therapieerfolg/Remission	48
6 Verlaufsmessungen und Therapiewechsel.....	48
7 Statistische Auswertung.....	49
IV Ergebnisse	50
1. Teil 1: Beschreibung der Patientenpopulation	50
1.1 Signalement	50
1.2 Anamnese.....	53
1.2.1 Lokalisation	53
1.2.2 Aktivitätsindizes der chronischen Darmerkrankung bei Erstvorstellung	54
1.2.2.1 Canine Inflammatory Bowel Disease Activity Index.....	54
1.2.2.2 Canine Chronic Enteropathy Clinical Activity Index.....	58
1.2.2.3 Weitere Symptome	58
1.2.3 Vorbehandlung vor Studienbeginn.....	60
1.3 Laborparameter.....	62
1.3.1 Blutuntersuchungen.....	62
1.4 Endoskopie und Biopsieentnahme	65
1.5 Therapie.....	65
1.6 Schweregrad der Erkrankung und Remission.....	66
2. Biomarker	68
2.1 Biomarker bei Erstvorstellung.....	68
2.1.1 Biomarker bei Erstvorstellung hinsichtlich der Krankheitsgruppen.....	68
2.1.2 Biomarker bei Erstvorstellung hinsichtlich der klinischen Remission.....	73

2.2 Korrelationen der Biomarker mit ausgewählten klinischen Parametern und Blutparametern zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung.....	77
2.2.1 Korrelationen zwischen den Serum- und fäkalen Biomarkern.....	77
2.2.2 Korrelationen zwischen Serum und fäkalen Biomarkern und dem CIBDAI- Score....	77
2.2.3 Korrelationen zwischen Serum und fäkalen Biomarkern und Blutparametern.....	77
2.2.4 Korrelationen ausgewählter Blutparameter.....	77
2.3 Verlaufsuntersuchungen der Biomarker in Kot und Serum.....	78
2.3.1 Verlaufsuntersuchungen der Biomarker im Serum.....	78
2.3.2 Verlaufsuntersuchungen der Biomarker im Kot.....	78
2.3.3 Beschreibung der Einzelverläufe der Biomarker in Serum und Kot.....	85
2.3.3.1 Beschreibung der Einzelverläufe der Biomarker in Serum und Kot der ARE- und IBD-Gruppe	85
2.3.3.2 Therapiewechsel	89
V Diskussion	91
1.1 Patientenpopulation und allgemeines Studiendesign	91
1.2 Biomarker.....	93
1.3 Limitationen der Studie.....	102
VI Schlussfolgerung und Ausblick	103
VII Zusammenfassung	105
VIII Summary.....	107
IX Literaturverzeichnis.....	109
X Anhang	141
XI Vorveröffentlichung.....	148
XII Danksagung	149
XIII Finanzierungsquellen.....	150
XIV Interessenkonflikt.....	150
XV Selbstständigkeitserklärung	151

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Body Condition Score (Laflamme 1997).	37
Tabelle 2: CIBDAI/CCECAI (Jergens et al. 2003, Allenspach et al. 2007a).....	39
Tabelle 3: Referenzwerte der Hämatologie (Klinik für kleine Haustiere, Freie Universität Berlin).	41
Tabelle 4: Referenzwerte der blutchemischen Untersuchung (Klinik für kleine Haustiere, Freie Universität Berlin).....	42
Tabelle 5: Genutzte Methodik der Messung der Biomarker in Serum und Kot.....	46
Tabelle 6: Signalement von 32 Hunden mit chronisch- entzündlichen Enteropathien bei Erstvorstellung verglichen nach Diagnosegruppen.....	52
Tabelle 7: Lokalisation der gastrointestinalen Symptome zum Zeitpunkt der Erstvorstellung bei 32 Hunden verglichen nach Diagnosegruppen.	53
Tabelle 8: Vergleich des klinischen Aktivitätsindex für chronische Darmerkrankungen der 32 Hunde bei Erstvorstellung differenziert nach Diagnosegruppen.	56
Tabelle 9: Vergleich der Diagnosegruppen hinsichtlich weiterer klinischer und hämatologischer Befunde der 32 Hunde bei Erstvorstellung zur Bestimmung des Canine Chronic Enteropathy Clinical Activity Index.	59
Tabelle 10: Vergleich der Diagnosegruppen der Studienpopulation bei Erstvorstellung hinsichtlich weiterer gastrointestinaler Symptome, die nicht in den klinischen Aktivitätsindizes der chronischen Enteropathie erfasst werden.	60
Tabelle 11: Eingesetzte Diäten und Medikamente vor Studienbeginn von 17 der 32 Hunde der Studienpopulation differenziert nach Diagnosegruppen.	61
Tabelle 12: Hämatologische und blutchemische Parameter der Studienpopulation (n= 32) zum Zeitpunkt der Erstvorstellung im Vergleich der Diagnosegruppen.....	63
Tabelle 13: Deskriptive Beschreibung der histopathologischen Analyse der gastrointestinalen Biopsien von zehn Hunden der Studienpopulation mit chronisch-entzündlicher Enteropathie differenziert nach Diagnosegruppen.....	65
Tabelle 14: Vergleich der klinischen Remission hinsichtlich ausgewählter klinischer und hämatologischer sowie blutchemischer Parameter bei 32 Hunden.	67
Tabelle 15: Ergebnisse der Messung von ausgewählten Biomarkern in Serum und Kot zum Zeitpunkt der Erstvorstellung bei Hunden der Studienpopulation vergleichend zwischen den Diagnosegruppen.....	70

Tabelle 16: Ergebnisse der Messungen der ausgewählten Biomarker in Serum und Kot zum Zeitpunkt der Erstvorstellung bei Hunden der Studienpopulation vergleichend zwischen den Remissionsgruppen.	74
Tabelle 17: Ergebnisse der Verlaufsmessung zwischen Erst- und Letztuntersuchung ausgewählter Biomarker in Serum und Kot bei Hunden der Studienpopulation vergleichend zwischen den Diagnosegruppen.	79
Tabelle 18: Ergebnisse der Messungen ausgewählter Biomarker in Serum und Kot bei Hunden der Studienpopulation im Verlauf zwischen Erst- und Letztuntersuchung vergleichend zwischen den Remissionsgruppen.....	83

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Vergleich des klinischen Aktivitätsindex für die chronisch-entzündlichen Enteropathien am Tag der Erstuntersuchung der 32 Hunde differenziert nach Diagnosegruppen.....	55
Abbildung 2: Dot- Whisker- Plots für die im Serum gemessenen Biomarker S100A12 (A), Calprotectin (B), C-reaktives Protein (CRP) (C) und N-Methylhistamin (NMH) (D) am Tag der Erstuntersuchung der Hunde hinsichtlich der Diagnosegruppen.	71
Abbildung 3: Dot- Whisker- Plots für die im Kot gemessenen Biomarker S100A12 (A), Calprotectin (B) und N-Methylhistamin (NMH) (C) am Tag der Erstuntersuchung der Hunde hinsichtlich der Diagnosegruppen.	72
Abbildung 4: Dot- Whisker- Plots für die im Serum gemessenen Biomarker S100A12 (A), Calprotectin (B), C-reaktives Protein (CRP) (C) und N-Methylhistamin (NMH) (D) am Tag der Erstuntersuchung der Hunde hinsichtlich der klinischen Remission.	75
Abbildung 5: Dot- Whisker- Plots für die im Kot gemessenen Biomarker S100A12 (A), Calprotectin (B) und N-Methylhistamin (NMH) (C) am Tag der Erstuntersuchung der Hunde hinsichtlich der klinischen Remission.	76
Abbildung 6: Verlaufsmessungen der Biomarker im Serum zwischen Erst- und Letztuntersuchung differenziert nach Diagnosegruppen.....	81
Abbildung 7: Verlaufsmessungen der Biomarker im Kot zwischen Erst- und Letztuntersuchung differenziert nach Diagnosegruppen.....	82
Abbildung 8: Individuelle Einzelverlaufsmessungen der Konzentrationen ausgewählter Biomarker in Serum und Kot bei Hunden der IBD-Gruppe.	88
Abbildung 9: Verlaufsmessungen ausgewählter Hunde (n= 7) der Studienpopulation und ausgewählter Biomarker in Serum und Kot vor und nach Therapiewechsel.	90

Anhangsverzeichnis

Anhang I: Tabellarische Darstellung des Signalements und ausgewählter klinischer Parameter der Hunde der Studienpopulation.	141
Anhang II: Ergebnisse der Korrelationsanalyse ausgewählter klinischer Parameter und der Biomarker in Serum und Kot.	143
Anhang III: Fäkale Biomarkerkonzentrationen zum Zeitpunkt der Erstvorstellung hinsichtlich der Kotkonsistenz.	145
Anhang IIV: Individuelle Einzelverlaufsmessungen der Konzentrationen ausgewählter Biomarker in Serum und Kot bei Hunden der ARE-Gruppe.	146

Abkürzungsverzeichnis

%	pro cent
&	und
<	kleiner als
=	ist gleich
>	größer als
≥	größer gleich
µg	Mikrogramm
µm	Mikrometer
µmol	Mikromol
Abb.	Abbildung
ALT	Alanin-Amino- Transferase
AP	Alkalische Phosphatase
ARE	Antibiotika-responsive Enteropathie
BCS	Body Condition Score
bzgl.	bezüglich
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CCECAI	Canine Chronic Enteropathy Clinical Activity Index (engl.)
CD	cluster of differentiation (engl. für immunphänotypische Oberflächenmarker)

CE	Chronische Enteropathie
CFU	colony forming units (koloniebildende Einheiten)
chron.	chronisch
CIBDAI	Canine Inflammatory Bowel Disease Activity Index (engl.)
COLAP	Koloskopische Allergen-Provokationstest
cPLI	Kanine spezifische Pankreaslipase
CRP	C-reaktives Protein
DAMP	(endogenous) damage-associated molecular pattern (endogene Zerstörungs-assozierte molkeulare Muster)
DF	Durchfall
dl	Deziliter
DNA	Desoxyribonukleinsäure
Dr.	Doktor
DSH	Deutscher Schäferhund
E.	Escherichia
EACCI	Europäische Akademie für Allergologie und klinische Immunologie
EB	Erbrechen
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ELISA	enzyme-linked immunoabsorbent assay (enzymgekoppelter Immunadsorptionstest)
EPI	Exokrine Pankreasinsuffizienz
et al.	et alii
EV	Erstvorstellung
evtl.	Eventuell
fl	Femtoliter
FRE	Futter-responsive Enteropathie
g	Gramm
G	Giga
GALT	Gut Associated Lymphoid Tissue (darmassoziierte lymphatische Gewebe)
GFST	Gastroskopischer Futtersensitivitätstest
ggf.	gegebenenfalls
ggr.	geringgradig
GI Lab	Gastrointestinal Laboratory
GIT	Gastrointestinaltrakt

GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
hgr.	hochgradig
i.d.R.	in der Regel
IBD	Inflammatory Bowel Disease (idiopathische chronisch-entzündliche Darmerkrankung)
IgA	Immunglobulin A
IgE	Immunglobulin E
IGF	Insulin-like growth factor (Insulin-ähnlicher Wachstumsfaktor)
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
Inc.	Incorporated (inkorporiert)
inkl.	inklusive
IQR	Interquartile range
IRE	Immunsuppressiva-responsive Enteropathie
kDA	Kilodalton
kg	Kilogramm
	Liter
lat.	lateinisch
LV	Letztvorstellung
max.	Maximal
MCV	Mittleres korpuskuläres Volumen
mg	Milligramm
mgr.	Mittelgradig
mind.	Mindestens
mk	Männlich kastriert
ml	Milliliter
mmol	Millimol
n	Anzahl der Elemente einer Stichprobe
ng	Nanogramm
NMH	N-Methylhistamin
nmol	Nanomol
NF-κB	nuclear factor-Kappa B (nukleärer Faktor Kappa B)
p	asymptomatische Signifikanz

p-ANCA	p-anti-neutrophil cytoplasmic antibody (p-anti-neutrophiler zytoplasmatischer Antikörper)
PCR	Polymerase-Chain- Reaction (Polymerase-Ketten-Reaktion)
pg	Picogramm
pH	pondus hydrogнии (Gewicht Wasserstoff)
PLE	Protein Losing Enteropathy (Proteinverlustenteropathie)
p.o.	per os
Prof.	Professor
q	jede
r (ρ)	Spearman Korrelationskoeffizient
RAGE	receptor for advanced glycation end products
RB	Referenzbereich
RBC	Red blood cell count (Anzahl der roten Blutkörperchen)
resp.	respektive
SD	Standard deviation (Standardabweichung)
SIBO	Small intestinal bacterial overgrowth (Duodenale bakterielle Überwucherung)
SRE	Steroid-responsive Enteropathie
Tab.	Tabelle
TLI	Trypsin-like Immunoreactivity (Trypsin-ähnliche Immunreaktivität)
TLR	Toll-like Rezeptoren
TNF	Tumornekrosefaktor
U	Unit
Univ.	Universität
USA	United States of America (Vereinigte Staaten von Amerika)
VK	Verlaufskontrolle
WBC	White blood cell count (Anzahl der weißen Blutkörperchen)
wk	Weiblich kastriert
WSAVA	World Small Animal Veterinary Association (Weltvereinigung der Kleintier Veterinäre)
z.B.	zum Beispiel
α	alpha
α 1-PI	Alpha1-Proteinase- Inhibitor
β	beta

I Einleitung

Chronisch-entzündliche Enteropathien des Hundes sind mit einem hohen Leidensdruck für Tier und Mensch verbunden und sind ein häufiger Vorstellungsgrund in der tierärztlichen Praxis. Oft treten neben chronisch intermittierendem bzw. persistierendem Durchfall und/oder Erbrechen zusätzliche Symptome wie abdominale Schmerzen, Inappetenz, Gewichtsverlust sowie verminderte Aktivität auf (Jergens 2004, Allenspach et al. 2007). Ursächlich für die chronischen gastrointestinalen Symptome können sowohl primäre (gastrointestinale), als auch sekundäre (extragastrointestinale) Erkrankungen sein (Hall und German 2010). Zu den primären, nicht infektiösen chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen werden die Futter-responsive Enteropathie (FRE), die Antibiotika-responsive Enteropathie (ARE) und die Inflammatory Bowel Disease (IBD) gezählt, die anhand ihres Ansprechens auf eine bestimmte Therapie eingeteilt werden (Allenspach und Gaschen 2003, Hall und German 2010, Volkmann et al. 2017). Neuere Therapieansätze beinhalten alternativ zum ursprünglichen Antibiotikaeinsatz die Modulation des gastrointestinalen Mikrobioms mittels probiotischer Substanzen (Cerquetella et al. 2020).

Die Diagnostik und Therapie sind in der Regel langwierig und erfordern ein hohes Maß an Besitzer-Compliance. Die Diagnostik ist zumeist schwierig und kann oft nur über den Ausschluss anderer Ursachen erfolgen (Allenspach und Gaschen 2003). Dazu zählen unter anderem entzündliche, infektiöse oder neoplastische Erkrankungen sowie Erkrankungen des exokrinen Pankreas, der Leber oder Nieren und Endokrinopathien (Westermarck 2008).

Der Schweregrad der Erkrankung kann sowohl initial als auch im Therapieverlauf anhand klinischer Parameter und der Verwendung etablierter Scores (Canine Inflammatory Bowel Disease Activity Index, kurz CIBDAI und Canine Chronic Enteropathy Activity Index, kurz CCECAI) bestimmt werden (Jergens et al 2003, Allenspach et al 2007). Allerdings ist es schwer, mit Hilfe dieser Parameter eine prognostische Aussage zu treffen.

Daher ist es das Bestreben diverser Studien, Biomarker zu identifizieren, mit denen ein Monitoring sowie die frühzeitige Differenzierung der chronisch-entzündlichen Enteropathien des Hundes möglich sind. Dies wäre im Hinblick auf Diagnose, Therapie und Prognose von großem Vorteil. Zudem kann die Messung ausgewählter Biomarker eine minimalinvasive und kostengünstige Alternative zu gängigen diagnostischen Methoden darstellen. Verschiedene Parameter auf Proteinbasis wurden bereits in Kot und Serum untersucht und waren bei Hunden, die an IBD leiden, im Vergleich zu gesunden Kontrollhunden verändert. Zu diesen Markern gehören u.a. S100A12, Calprotectin, N-Methylhistamin und das C-reaktive Protein (Steiner 2014). Bis zum aktuellen Zeitpunkt liegen nur wenige Studien zum Vergleich oder der Kombination dieser

Biomarker vor.

Ziele dieser prospektiven Studie waren, mehrere ausgewählte Biomarker sowohl im Blut als auch im Kot von Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien diätetischen und idiopathischen Ursprungs zu bestimmen und jene Marker zu identifizieren, die allein oder in Kombination von diagnostischem und /oder prognostischem Nutzen sein könnten.

II Literaturübersicht

1 Definition chronische Enteropathie und das Leitsymptom Durchfall

Der Begriff Enteropathie beschreibt eine Erkrankung des Magen-Darm-Traktes, wobei die Unterscheidung von akuten und chronischen Störungen für die weitere Abklärung und Therapie notwendig ist (Hall und German 2010). Im Rahmen einer chronischen Erkrankung des Darmes können sowohl intermittierende als auch persistierende Symptome auftreten. Diese müssen zwei bis drei Wochen bestehen, um als chronische Enteropathie zu gelten (Westermarck 2008, Willard 2010).

Die häufigsten Symptome akuter und chronischer Enteropathien sind Durchfall und/oder Erbrechen (Hall und German 2010). Durchfall (lat. Diarrhoe) ist definiert als der übermäßige Verlust fäkalen Wassers durch eine verminderte intestinale Absorption und/ oder eine erhöhte intestinale Sekretion (Hall und German 2010). Oft kommen eine erhöhte Kotabsatzfrequenz, ein größeres Kotvolumen oder eine verminderte Kotkonsistenz vor (Hall und German 2010, Marks 2013). Die Beschaffenheit, die Absatzfrequenz, das Volumen des Kotes und zusätzliche klinische Merkmale wie Schleim- oder Blutbeimengungen können zudem bei der Lokalisation der gastrointestinalen Erkrankung behilflich sein (Allenspach und Gaschen 2003, Marks 2013). Grundsätzlich können zwischen Erkrankungen des Magens, Dünndarms und Dickdarms unterschieden werden, wobei auch Mischformen vorkommen können (Allenspach 2010, Willard 2010). Klinische Anzeichen für eine Erkrankung des Dünndarms sind stark erhöhtes Kotvolumen, Gewichtsverlust sowie Erbrechen. Eine erhöhte Kotabsatzfrequenz mit zum Teil schleimigen oder blutigen Beimengungen, Dyschezie, Tenesmus und ein geringes Kotvolumen weisen eher auf eine Dickdarmproblematik hin (Willard 2010). Die Kenntnis vom Sitz der Erkrankung ist entscheidend, um die Vielzahl der möglichen Differentialdiagnosen chronisch-entzündlicher Enteropathien eingrenzen zu können. Das Vorhandensein von Durchfall deutet auf eine intestinale Erkrankung primären oder sekundären Ursprungs hin. Jedoch kann eine intestinale Erkrankung durch das Fehlen von Durchfall nicht ausgeschlossen werden (Hall und German 2010).

Zu den primären Ursachen einer chronischen Enteropathie gehören beispielsweise entzündliche, infektiöse, neoplastische und mechanische Erkrankungen. Die sekundären Ursachen umfassen unter anderem Erkrankungen des exokrinen Pankreas, der Leber oder Nieren sowie Endokrinopathien (Westermarck 2008). Am häufigsten werden primäre gastrointestinale Enteropathien diätetischen bzw. idiopathischen Ursprungs diagnostiziert (Allenspach und

Gaschen 2003, Allenspach et al. 2007, Kühn 2012, Baumgart et al. 2014, Volkmann et al. 2017). Diese werden unter dem Begriff chronisch-entzündliche Enteropathien zusammengefasst und entsprechend ihres Ansprechens auf eine bestimmte Therapie (Diät, Antibiotika, Immunsuppressiva) in Futter-responsive Enteropathien (FRE), Antibiotika-responsive Enteropathien (ARE) und Immunsuppressiva-responsive Enteropathie/ Inflammatory Bowel Disease (IRE/IBD) eingeteilt (Allenspach und Gaschen 2003, Hall und German 2010, Erdmann und Heilmann 2017).

Die Übergänge zwischen den genannten diätetischen und idiopathischen Enteropathien sind mitunter fließend, wodurch die Diagnostik und die Einschätzung der Prognose dieser Erkrankungen erschwert ist. Die drei Krankheitsgruppen (FRE, ARE und IRE/IBD) sollen im Folgenden beschrieben werden.

2 Ausprägung und Formen der chronisch-entzündlichen Enteropathien des Hundes

2.1 Definitionen und Nomenklatur

2.1.1 Definition und Nomenklatur der Futter-responsiven Enteropathie

Die Futter-responsive Enteropathie (FRE) ist eine Nahrungsunverträglichkeitsreaktion mit daraus resultierenden gastrointestinalen Symptomen. Der Begriff Nahrungsunverträglichkeitsreaktionen (adverse food reactions, AFR) beschreibt eine abnorme klinische Reaktion nach der Aufnahme eines Futtermittels oder eines Futtermittelzusatzstoffes (Hillier und Griffin 2001). Im Falle einer FRE ist der Hauptsitz dieser Reaktion der Magendarmtrakt. Über die Ingestion eines Futtermittels und die darauffolgende Interaktion mit einem biologischen „Verstärkersystem“ kommt es zur Entstehung einer Entzündung. Daraus resultieren klinische gastrointestinale Anzeichen wie Durchfall und Erbrechen (Kniker 1987, Guilford 1996a, Guilford et al. 2001, Cianferoni und Spergel 2009). Das biologische „Verstärkersystem“ kann je nach auslösendem Agens aus Teilen des angeborenen oder erworbenen Immunsystems, der Arachidonsäurekaskade, dem Komplementsystem, verschiedenen Kininarten oder der Chemotaxis von Phagozyten bestehen (Guilford 1996a).

Die Ursachen einer FRE sind Futtermittelintoleranzen und Futtermittelallergien (Hillier und Griffin 2001, Verlinden et al. 2006). Die Europäische Akademie für Allergologie und klinische Immunologie (EACCI) erklärte im Jahre 1995, dass Nahrungsunverträglichkeitsreaktionen in der

Humanmedizin in immunologische (Nahrungsmittelallergie) und nicht-immunologische (Nahrungsmittelintoleranz) Ursachen unterteilt werden (Bruijnzeel-Koomen et al. 1995). Diese Einteilung wurde auch auf die Veterinärmedizin übertragen (Guilford 1996a, Verlinden et al. 2006). Futtermittelallergien sind definiert als wiederholbare Reaktionen auf Futtermittelbestandteile mit einer entsprechenden immunologischen Reaktion (Allenspach und Gaschen 2003, Cianferoni und Spergel 2009). Die Hauptfuttermittelantigene sind Glykoproteine mit einer Molekülgröße von 10.000 bis 60.000 Dalton. Sie sind stabil gegenüber Hitze, Säuren und Proteasen (Sampson und Burks 1996). Nach dem ersten Kontakt mit einem Allergen kommt es bei einer Futtermittelallergie zur Sensibilisierung (Hall 2002). Es wird zwischen einer IgE-vermittelten (sofortige Hypersensitivität bzw. Anaphylaxie und intermediäre Hypersensitivität) und einer nicht IgE-vermittelten Reaktion (verzögerte Hypersensitivität, Typ III und IV- Spätreaktionen) unterschieden (Sampson 1995).

Im Gegensatz dazu kann bei einer Futtermittelintoleranz keine immunologische Reaktion nachgewiesen werden (Allenspach und Gaschen 2003, Cianferoni und Spergel 2009). Daher können die Symptome schon nach der Erstexposition auftreten (Hall 2002). Die Futtermittelintoleranzen werden in Futtermittelvergiftung, Futteridiosynkrasie, pharmakologische Reaktionen auf Futter und metabolische Reaktionen auf Futter unterteilt (Guilford 1996a). Die Futtermittelintoxikationen können nach Gaschen und Merchant (2011) auch eine eigenständige Gruppe darstellen. Die klinischen Symptome lassen keine Unterscheidung zwischen Futtermittelallergie und Futtermittelintoleranz zu. Daher wurde als Überbegriff der Begriff „Futter(mittel)-responsive Enteropathie“ (Food responsive enteropathy (FRE)) eingeführt (Guilford et al. 2001, Allenspach et al. 2007, Hall und German 2010, Gaschen und Merchant 2011). Hunde, deren klinische Symptomatik sich durch die Fütterung einer Eliminationsdiät merklich verbessert, werden in diese Gruppe eingeteilt (Guilford et al. 2001, Hall und German 2010).

2.1.2 Definition und Nomenklatur der Antibiotika-responsiven Enteropathie und neuere Ansätze

Chronischer Durchfall ohne bekannte Ursache, der sich durch die Gabe von Antibiotika bessert, wird als Antibiotika-responsive Enteropathie (ARE) bezeichnet (Hall und Simpson 2000, German et al. 2003a, German et al 2003b, Hall 2011). Das Antibiotikum wird meistens als zweites Therapeutikum eingesetzt, wenn das Ansprechen des Patienten auf die Diät ungenügend war oder die Futterumstellung zu keiner Besserung der Symptomatik führte (Dandrieux 2016). Die ARE zählt wie die IRE/IBD zu den idiopathischen Erkrankungen des Magen-Darm-Traktes (Fogle und Bissett 2007). Eine eindeutige Ursache für die klinischen Symptome wird zumeist nicht

gefunden. In der älteren Literatur wurde für diese Erkrankung der Begriff SIBO (small intestinal bacterial overgrowth) genutzt (Batt 1982, Simpson 1982, Johnston 1999). Da es beim Hund aber nicht, wie ursprünglich angenommen, zu einer Erhöhung der absoluten Bakterienzahl im Darm kommt, sondern zu einer Verschiebung der Anteile der verschiedenen Bakterien (Suchodolski et al. 2012a), wird der Begriff so nicht mehr verwendet (Hall und Simpson 2000, German et al. 2003a, German et al. 2003b). Aktuell wird die Veränderung des Mikrobioms im Darm mit einer verminderten Diversität der verschiedenen Bakterienarten und einer Anreicherung von proinflammatorisch wirkenden Mikroorganismen, als Ursache vermutet (Xenoulis et al. 2008, Allenspach et al. 2010, Suchodolski et al. 2012b, Honneffer et al. 2014, Minamoto et al. 2019). Die ARE kann zudem sekundär zu anderen Erkrankungen wie einer exokrinen Pankreasinsuffizienz oder IBD auftreten (Allenspach und Gaschen 2003, Fogle und Bissett 2007). Fraglich ist, ob die ARE eine frühe Form der IBD darstellt (German et al. 2000a, German et al. 2001, Fogle und Bissett 2007).

Obwohl die Antibiotika-responsive Enteropathie einen Teil der klinischen Klassifizierung der chronischen Enteropathien des Hundes darstellt, wird der Einsatz von Antibiotika aktuell kontrovers diskutiert (Dandrieux und Mansfield 2019, Cerquetella et al. 2020). So gibt es bis auf einige Studien zum Einsatz von Tylosin (Westermarck et al. 2005, Kilpinen et al. 2011, Kilpinen et al. 2014, Kilpinen et al. 2015) nur wenig Daten zum klinischen Nutzen bei Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien, mit einer schwachen Evidenz (Makielski et al. 2019). Der Einsatz von Metronidazol wurde zwar in verschiedenen Studien untersucht, aber oft handelte es sich um eine Kombinationstherapie mit einer Diät und oder anderen Medikamenten (z.B. Glukokortikoiden) (Jergens et al. 2010, Rossi et al. 2014). Daher ist fraglich, ob Metronidazol allein zum klinischen Ansprechen geführt haben könnte (Makielski et al. 2019).

Generell scheint die Langzeitprognose nach einer antibiotischen Behandlung nicht sehr gut zu sein (Allenspach et al. 2016, Dandrieux und Mansfield 2019). So vermuten verschiedene Autoren, dass eine Beeinflussung des Mikrobioms das klinische Outcome von Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien verbessern könnte (Dandrieux und Mansfield 2019, Makielski et al. 2019, Cerquetella et al. 2020). So wurde in Onlineseminaren schon der Begriff Probiotika-responsive Enteropathie (PRE) genutzt (Neiger 2019, Neiger 2020).

2.1.3 Definition und Nomenklatur der Immunsuppressiva-responsiven Enteropathie/ Inflammatory Bowel Disease

Hunde mit immunsuppressiva-responsiver Enteropathie (IRE) zeigen keine vollständige klinische Besserung unter Futterumstellung oder antibiotischer Therapie. Erst die Gabe immunsuppressiver

Medikamente führt zu einer Verbesserung der Symptomatik. Häufig wurde hierfür der Begriff „Inflammatory bowel disease“ (IBD) benutzt. Die „chronisch-entzündliche idiopathische Enteropathie“ (IBD) kann mit intermittierenden oder persistierenden gastrointestinalen Symptomen einhergehen. Die Entzündung kann in jedem Abschnitt des Magendarmtrakts vorkommen. Charakteristisch sind entzündliche Infiltrate der Magendarmschleimhaut (Jergens et al. 1992, Guilford 1996c, Allenspach und Gaschen 2003, Jergens und Simpson 2012). Einige Autoren beschreiben die Krankheitsbezeichnung IBD beim Hund als ungenau, da verschiedene Formen der chronischen Enteropathie mit entzündlichen Veränderungen einhergehen können und das unterschiedliche Ansprechen auf verschiedene Therapiekonzepte nicht genügend hervorgehoben werden konnte (Dandrieux 2016, Erdmann und Heilmann 2017).

Bei der immunsuppressiven Therapie handelt es sich meist um Steroide (Prednisolon). Daher wurde der Begriff Steroid-responsive Enteropathie (SRE) eingeführt (Dandrieux 2016). Einige Hunde, die mit immunsuppressiven Medikamenten behandelt werden, sprechen nicht auf die Medikation an oder zeigen eine erneute Verschlechterung der Klinik nach wenigen Wochen bis Monaten. In verschiedenen Studien kam es in 13-30% der Fälle zu keiner adäquaten Besserung der Symptome durch die Therapie (Craven et al. 2004, Allenspach et al. 2007, Craven et al. 2010, Dye et al. 2013, Volkmann et al. 2017). Für diese Patienten wurde der Terminus Immunsuppressiva-refraktäre bzw. Nicht-responsive Enteropathie (NRE) eingeführt (Erdmann und Heilmann 2017). Neoplastische Ursachen, wie das intestinale Lymphom, müssen im Falle eines Therapieversagens differentialdiagnostisch erwogen werden (Hall und German 2010), da ein schlechtes klinisches Ergebnis meist mit einem Lymphom oder IRE assoziiert ist (Volkmann et al. 2017). In der vorliegenden Studie wurde auf Grund des heterogenen Ansprechens auf die Therapie in der Gruppe mit Immunsuppressiva-Gabe in dieser Schrift der Begriff IBD als Überbegriff für SRE/IRE und NRE genutzt.

2.2 Prävalenz

2.2.1 Prävalenz der Futter-responsiven Enteropathie

Die FRE scheint vor allem bei jungen Hunden aufzutreten (Hall und German 2005, Luckschander et al. 2006, Allenspach et al. 2007, Kühn 2012). Bis auf die Glutenunverträglichkeit des Irish Setters konnte bisher keine Rasse- oder Geschlechtsprädisposition für die FRE beschrieben werden (Batt et al. 1984, Batt et al. 1987). Der Schweregrad ist meist milder als bei anderen

Formen der chronisch-entzündlichen Enteropathie (Allenspach et al. 2007, Hall und German 2010, Kühn 2012, Uchida et al. 2016). Häufig können eine im Normbereich liegende Albuminkonzentration und ein niedriger CCECAI-Score (Canine Chronic Enteropathy Clinical Activity Index) nachgewiesen werden (Allenspach et al. 2007, Allenspach et al. 2016, Kawano et al. 2016, Heilmann et al. 2018). Jüngere Hunde mit mildereren Krankheitsverläufen und Dickdarmproblemen scheinen eher in die Gruppe der FRE zu gehören (Allenspach et al. 2007, Volkmann et al. 2017). Kühn (2012) konnte jedoch keine Häufung der Dickdarmprobleme in der FRE-Gruppe feststellen. In verschiedenen Studien konnte gezeigt werden, dass über die Hälfte bis Zweidrittel der Hunde mit chronischer Enteropathie eine FRE aufwiesen (Marks et al. 2002, Allenspach et al. 2007, Mandigers et al. 2010, Kühn 2012, Baumgart et al. 2014, Allenspach et al. 2016, Kawano et al. 2016, Volkmann et al. 2017, Dandrieux et al. 2019).

2.2.2 Prävalenz der Antibiotika-responsiven Enteropathie

Von der Antibiotika-responsiven Enteropathie sind vor allem junge Hunde großer Rassen betroffen (Allenspach et al. 2007, Allenspach et al. 2016, Volkmann et al. 2017). Besonders häufig erkranken Deutsche Schäferhunde (Batt et al. 1983). Ursächlich für diese Rasseprädisposition scheint ein verändertes T-Helferzellen (Th) 2- Zytokinmuster beim Deutschen Schäferhund zu sein, ähnlich wie bei Menschen mit Colitis ulcerosa, welches zur Schädigung des Darmepithels führt (Peiravan et al. 2018). So zeigen Deutsche Schäferhunde mit chronischer Enteropathie erniedrigte Interleukin (IL)- 13 und IL-33 Konzentrationen im Duodenum, im Vergleich zu erkrankten Hunden anderer Rassen und gesunden Hunden (Kathrani et al. 2019).

Hunde mit ARE zeigen chronischen oder intermittierenden Dünndarmdurchfall und seltener Kolutissymptome. In schweren Fällen kommt es zu Gewichtsverlust. Auch Polyphagie und Koprophagie sowie Borborygmen sind beschrieben (Willard et al. 1994, Allenspach und Gaschen 2003). Nach Hall (2011) sind kleine Hunderassen selten betroffen.

2.2.3 Prävalenz der Inflammatory Bowel Disease

In einer Studie trat diese Form der chronischen Enteropathie gehäuft bei kleinen Hunderassen auf (West Highland White Terrier, Yorkshire Terrier, Dackel) (Allenspach et al. 2007). Andere Veröffentlichungen zeigten ein gehäuftes Auftreten der IBD bei Deutschen Schäferhunden oder Rottweilern (Craven et al. 2004, Kathrani et al. 2011, Kühn 2012). Zumeist sind mittelalte bis alte Hunde mit schweren Krankheitsverläufen und Dünndarmproblemen betroffen. Diese Patienten benötigen immunsuppressive Therapie, um eine klinische Besserung zu erreichen (Allenspach et al. 2007)

Verschiedene Rasseprädispositionen für bestimmte Formen der IBD sind bekannt. Die immunproliferative Enteropathie der Basenjis und die Proteinverlustenteropathie des Soft-Coated Wheaten Terriers wurden beschrieben (Breitschwerdt et al. 1982, Breitschwerdt et al. 1984, Littman et al. 2000). Unter Proteinverlustenteropathie (Protein-Losing-Enteropathy (PLE)) versteht man eine besonders schwerwiegende Form der chronischen Enteropathie, die durch Proteinverlust in das Darmlumen gekennzeichnet ist. Ursächlich hierfür sind unter anderem der intestinale Verlust proteinreicher Lymphe durch eine Lymphangiektasie oder der Eiweißverlust infolge einer infiltrativen entzündlich oder neoplastischen Darmerkrankung (Hall und German 2010, Erdmann und Heilmann 2017, Craven und Washabau 2019). Die höchste Prävalenz für die Entwicklung einer PLE haben Yorkshire Terrier, Border Collies, Deutsche Schäferhunde und Rottweiler (Craven und Washabau 2019). Auch West Highland White Terrier zeigen ein besonders hohes Risiko zur Entwicklung einer PLE durch Lymphangiektasie (Kimmel et al. 2000). Bei prädisponierten Rottweilern scheint die Erkrankung mit einer schlechten Prognose einherzugehen (Dijkstra et al. 2010)

2.3 Ätiologie und Pathogenese

Die genaue Ätiopathogenese der chronisch-entzündlichen Enteropathien des Hundes ist komplex und noch nicht abschließend geklärt (Jergens und Simpson 2012). Sowohl eine genetische Prädisposition als auch eine Dysregulation der angeborenen und erworbenen Immunantwort sowie die kommensale Darmmikrobiota und Futtermittelantigene scheinen einen Einfluss auf die Entstehung der Erkrankung zu haben (Allenspach et al. 2010, Jergens und Simpson 2012, Suchodolski et al. 2012a, Suchodolski et al. 2012b). Es kommt zu einer unkontrollierten Entzündung, die zu den klinischen Symptomen führt (Dandrieux 2016). Verschiedene Studien haben drei Komplexe ausgemacht, die maßgeblich an der Entstehung der Erkrankung beteiligt zu sein scheinen (Jergens 1999, Hall und German 2010, Jergens und Simpson 2012):

- 1) eine intakte Darmschleimhaut mit Barrierefunktion gegenüber Pathogenen und Antigenen
- 2) die kommensale Darmmikrobiota
- 3) eine adäquate Immunantwort

Da die Übergänge der Pathogenese zwischen den drei hier beschriebenen Formen der chronisch-entzündlichen Enteropathie mitunter fließend sind, werden die Krankheitsgruppen FRE, ARE und IBD im Folgenden gemeinsam beschrieben.

2.3.1 Schutz vor Hypersensitivität und die gastrointestinale Immunität

Der Darm ist das größte immunologische Organ des Körpers (Strobel 1995). Die Darmmukosa stellt zudem die größte Oberfläche des Körpers mit dauerhaftem Kontakt zur äußeren Umwelt dar. Ihre Aufgaben beinhalten die Verarbeitung der aufgenommenen Nahrung und den Schutz des Körpers vor dem Eintritt pathogener Antigene (Chehade und Mayer 2005). Dieser Schutz wird durch verschiedene, miteinander in Wechselwirkung stehende immunologische und nicht-immunologische Komponenten ermöglicht.

Zu den nicht-immunologischen Mechanismen gehören: die intakte Schleimhautbarriere, die Schleimschicht auf der intestinalen Mukosa (Glykokalyx), die effektive Verdauung großer Moleküle, die Peristaltik und die Regulation der Bakterienzahl durch die intestinale Flora sowie bakterizide gastrointestinale Sekretionen. Diese Mechanismen stellen einen wichtigen Schutz vor Pathogenen dar (Guilford 1996b, Chehade und Mayer 2005). Zudem haben die Morphologie und Funktionalität der Enterozyten, die Effektivität der Verdauung, die Qualität des Futters, das Vorhandensein von Entzündungen, aber auch die Präsenz von Immunglobulin (Ig-)A einen Einfluss auf die Absorption von Proteinen. Bei einer unzureichenden Verdauung von Proteinen werden diese in größere Polypeptide zerlegt. Diese besitzen weiterhin antigenetische Wirksamkeit und können allergische Reaktionen auslösen (Guilford 1996a).

Die Penetration der Darmschleimhaut durch ein Antigen bewirkt eine immunologische Reaktion. Die Mukosa muss zwischen pathogenen, zu bekämpfenden und nicht pathogenen, tolerierbaren Substanzen unterscheiden (Guilford 1996b, Hall und German 2010). Diese wichtige Funktion wird vom darmassoziierten lymphatischen Gewebe (gut-associated lymphoid tissue, GALT) übernommen. Es besteht aus den Peyerschen Platten, den aggregierten Lymphfollikeln in der Mukosa, den in der Lamina propria gelegenen Lymphozyten und Plasmazellen, den intraepithelialen Lymphozyten sowie den mesenterialen Lymphknoten (Chehade und Mayer 2005, Gaschen und Merchant 2011). Das GALT soll den Körper vor feindlichen immunologischen Reaktionen auf ein potentiell gefährliches Antigen schützen, sowie gleichzeitig frühe Schutzmechanismen aktivieren, ohne dem Organismus zu schaden (Strobel 1995).

Auch die über die Nahrung aufgenommenen Proteine können mittels Zerstörung ihrer Konformation durch den pH-Wert der Magensäure und verschiedene Verdauungsenzyme in ihrer immunogenen Aktivität gestört werden. Dies führt zu einer immunologischen Ignoranz gegenüber diesen Partikeln. Wenn Proteine diese luminale Digestion überstehen, kommen sie mit dem Darmepithel in Kontakt. Daraus folgt eine umfangreiche Antwort des mukosalen Immunsystems (Chehade und Mayer 2005). Diese Immunantwort resultiert entweder in einer Sensitivität oder Toleranz gegenüber dem Antigen. Die Toleranz gegenüber einem gutartigen oder persistierenden

Antigen führt zur Vermeidung einer Entzündung, die wiederum schädlich für den gesamten Organismus sein kann. Antigen-Sensitivität resultiert in der Eliminierung des Antigens (Guilford 1996b). Sollte einer dieser Prozesse beeinträchtigt sein, führt dies zu einer Prädisposition für die Entwicklung einer FRE (Strobel 1995, Verlinden et al. 2006). Der Schutz gegen eine Hypersensitivität durch diätetisch aufgenommene Antigene ist daher multifaktoriell. Er besteht neben der mukosalen Barriere und dem GALT auch aus der oralen Toleranz (Guilford 1996a, Gaschen und Merchant 2011). Die orale Toleranz ist definiert als eine spezifische immunologische Hyporesponsivität nach einem primären mukosalen bzw. enteralen Kontakt mit einem bestimmten Antigen (Strobel 1995). Sie erfolgt nach der Ingestion von Futtermittelantigenen und wird vor allem durch die Induktion von regulatorischen T-Zellen (Treg) in den mesenterialen Lymphknoten vermittelt (Allenspach 2011). Die Antigene werden mit Hilfe sekretorischer IgA gebunden, welche von aus B-Lymphozyten differenzierten Plasmazellen sekretiert werden (Allenspach und Gaschen 2003, Kennis 2006). Diese Komplexe aus IgA und Antigen passieren die intestinale Barriere und werden über die Leber in die Galle abgegeben (Kennis 2006). Die orale Toleranz ist nicht angeboren, sondern entwickelt sich beim Hund, sobald Welpen beginnen, feste Nahrung aufzunehmen (Verlinden et al. 2006).

2.3.2. Kommensale Darmmikrobiota und die adäquate Immunantwort

Frühere Studien gingen von einer Erhöhung der absoluten Bakterienzahl im Darm als auslösende Ursache für chronisch-entzündliche Enteropathien des Hundes aus (Batt 1982, Simpson 1982). Eine Bakterienzahl von $> 10^5$ cfu/ml (colony forming units/ml, kolonieformende Einheiten/ml) aus Duodenalsaft von Hunden mit Durchfall ließ die Diagnosestellung SIBO (Small intestinal bacterial overgrowth) zu. Dieser Referenzbereich deckt sich mit den in der Humanmedizin verwendeten Werten (Batt et al. 1983).

Spätere Studien zeigten, dass die Anzahl von Bakterien im gesunden Hundedarm bei 10^9 cfu/ml liegt. Anaerobe Bakterien können mit bis zu 10^8 cfu/ml vertreten sein (Willard et al. 1994, Johnston 1999). Daher sollte der Begriff SIBO nur für Patienten mit einer nachgewiesenen abnormal hohen Anzahl an Bakterien im Duodenalsaft genutzt werden. ARE ist ein von SIBO abzugrenzender Begriff. Die genaue Pathogenese der ARE ist nicht geklärt. Sie beschreibt ein Ansprechen der klinischen Symptomatik auf Antibiotikatherapie ohne eine zugrundeliegende Erhöhung der Bakterienzahl (Johnston 1999, German et al. 2003a, German et al. 2003b, Hall 2011). Zudem können Bakterienzahlen nur schwer verlässlich bestimmt werden, ein Ansprechen auf eine bestimmte Therapie kann damit nicht überwacht werden (German et al. 2000a, German et al. 2003a, German et al. 2003b).

Aktuellere Hypothesen zur Entstehung von chronisch-entzündlichen Enteropathien beim Hund gehen von einer veränderten Wirts-Bakterien-Interaktion aus (Hall 2011). So kommen eine defekte Schleimhautbarriere, eine abnormale Schleimhautimmunität, eine Veränderung der Bakterienart im Darm (Dysbiose) oder eine Kombination dieser Veränderungen als mögliche Auslöser in Frage (Johnston 1999, Hall 2011, Hall und German 2011). Beim besonders prädisponierten Deutschen Schäferhund konnte ein, deutlich von gesunden Hunden bzw. von Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien anderer Rassen, abweichendes Mikrobiom mit vorrangig *Lactobacillales* festgestellt werden (Allenspach et al. 2010). Hunde mit chronisch-entzündlichen Enteropathien zeigten zudem Veränderungen der Bakterienvielfalt und -anzahl im Dünndarm und Kot (Suchodolski et al. 2012a, Suchodolski et al. 2012b, Honneffer et al. 2014). Ursächlich für die Klinik sind auch weitere Bakterien-Wirt-Interaktionen und Mechanismen. Ein Wettbewerb der intestinalen Bakterien um Nährstoffe mit anschließender Dysbiose oder die Zerstörung von Bürstensaumenzymen der Darmmukosa, mit einem daraus resultierenden gestörten Verdauungsprozess, sind beschrieben (Hall 2011). Durch die Dekonjugation von Gallensäuren durch bestimmte Bakterien kommt es zu einer Störung der Fettabsorption (German et al. 2003b). Über eine Hydroxylierung von Fettsäuren wird in Kombination mit den dekonjugierten Gallensäuren die Kolonsekretion stimuliert (Hall 2011). Weiterhin sind genetische Ursachen für die individuelle, abnormale Immunantwort gegenüber kommensalen Bakterien beschrieben. Bei Hunden mit chronischen Enteropathien wurde eine veränderte Expression von bestimmten, in der Darmschleimhaut befindlichen Oberflächenrezeptoren (u.a. Toll-like Rezeptoren (TLR-) 2,4,5 und 9) festgestellt (Burgener et al. 2008, Allenspach et al. 2010, McMahon et al. 2010). Diese Rezeptoren können Mikroben-assoziierte molekulare Muster (microbe-associated molecular patterns, MAMPs) erkennen. Eine Interaktion dieser hochregulierten Rezeptoren mit den kommensalen Bakterien könnte zur Entstehung einer Entzündung beitragen (Burgener et al. 2008). Es konnte bei betroffenen Hunden keine Veränderung der TLR-Anzahl nach Therapie, trotz klinischer Besserung, festgestellt werden. Daher scheint eine genetische Prädisposition möglich (Burgener et al. 2008). Die Schäden der Bürstensaumenzyme normalisieren sich unter antibiotischer Therapie. Somit könnte für die Entwicklung einer ARE und die damit einhergehende Durchfallsymptomatik die Art der Bakterien und die daraus resultierende Schädigung der Darmschleimhaut wichtig sein (German et al. 2003b, Hall 2011).

Auch eine IgA-Defizienz, ein relativer oder absoluter Mangel an IgA, trägt zur Pathogenese bei und wurde erstmals beim Deutschen Schäferhund beschrieben (Whitbread et al. 1984, Batt et al.

1991, Willard et al. 1994, German et al. 2000b, Littler et al. 2006, Olsson et al. 2014). Sekretorisches IgA besitzt protektive Eigenschaften, da es die Anheftung von Pathogenen an die Darmschleimhaut verhindert (Fubara und Freter 1973). Ursächlich für die Defizienz ist wahrscheinlich eine mangelhafte IgA-Sekretion innerhalb der Dünndarmschleimhaut (German et al. 2000b). Der Auslöser für diese Sekretionsstörung ist bisher nicht vollständig geklärt. Möglicherweise ist die reduzierte Zahl an regulatorischen T-Zellen (Treg), die in verschiedenen Studien bei Hunden mit IBD nachgewiesen wurde (Junginger et al. 2012, Volkmann et al. 2014), an der Pathogenese des IgA-Mangels beteiligt. Tregs exprimieren hohe Konzentrationen Retinsäure und transforming growth factor β (TGF β). Durch die Interaktion von Tregs mit B-Zellen werden diese angeregt, sich zu IgA-produzierenden Plasmazellen zu differenzieren (T-Zell abhängige IgA-Produktion) (Suzuki et al. 2007, Allenspach 2011). In verschiedenen Studien untersuchte Hunde wiesen normale bis erhöhte Zahlen von mukosalen IgA-Plasmazellen auf (Batt et al. 1991, German et al. 2000b, German et al. 2001). Da auch die Serum IgA-Konzentration im Normalbereich lag, geht man von einem relativen Mangel der lokalen IgA-Sekretion aus (German et al. 2000b, German et al. 2001). Eine erhöhte Anzahl von IgA-Plasmazellen in der Darmschleimhaut bei erkrankten Schäferhunden und eine gesteigerte Expression von bestimmten Zytokinen könnte für eine immune Dysregulation sprechen. Damit verbunden könnte es zum Verlust der Toleranz gegenüber endogenen bakteriellen Antigenen kommen (German et al. 2000a). Zudem zeigten Hunde mit IgA-Defizienz eine Erhöhung der Bakterienzahl im Darm (SIBO) (Batt et al. 1991, Willard et al. 1994). Unterstützt wird diese Hypothese durch das Ansprechen auf die antimikrobielle Therapie, da diese häufig auch immunmodulatorische Eigenschaften besitzt (Hall 2011, Erdmann und Heilmann 2017).

Weiterhin wurde bei Hunden mit FRE mittels proteomischer Untersuchungen ein Protein, die Immunglobulin J- Kette Isoform 1 (immunoglobulin J- chain isoform 1), im Kot festgestellt, welches nicht bei gesunden Hunden nachgewiesen werden konnte. Die J- Kette verbindet IgA- Monomere zu IgA- Dimeren und ist entscheidend für deren Sekretion an Schleimhautschnittstellen. Ursächlich für das Vorkommen der J- Kette im Kot von Hunden mit FRE ist wahrscheinlich die gesteigerte Aktivierung des Immunsystems und/ oder die Schleimhautzerstörung bei den betroffenen Hunden (Cerquetella et al. 2019).

Bisher noch unbekannte Pathogene könnten ebenfalls eine Rolle bei der Entstehung der chronisch-entzündlichen Enteropathie des Hundes spielen (Johnston 1999, Hall 2011).

Histologisch ist eine Unterscheidung zwischen FRE, ARE und IBD nicht möglich (Luckschander et al. 2006, Allenspach et al. 2007, Heilmann et al. 2012). Die häufigsten histopathologischen

Veränderungen sind lymphoplasmazelluläre Infiltrationen der gastrointestinalen Schleimhaut (Jacobs et al. 1990, Jergens et al. 1992, Munster 1995, Craven et al. 2004, Munster et al. 2006, Jergens und Simpson 2012). Weiterhin kommen eosinophile, granulomatöse oder neutrophile Infiltrationen, sowie Mischformen vor (Jergens und Simpson 2012). Hunde mit IBD zeigen signifikant höhere IgG-Plasmazellen, CD3+T-Zellen, CD4+-Zellen sowie Makrophagen und neutrophile Granulozyten in der Lamina propria der Darmschleimhaut. Die Anzahl der Mastzellen ist im Vergleich zu den anderen Krankheitsgruppen (FRE/ARE) erniedrigt. Es wird vermutet, dass die Veränderung des Zellmusters bei Hunden mit IBD die proinflammatorische Veränderung in der Mukosa bedingen könnten (German et al. 2001). Einen Unterschied in der gesamten Zellzahl oder der CD3+- Zellzahl bei Hunden vor und nach klinischer Remission konnte nicht nachgewiesen werden. Daher scheinen CD3+ Zellen keinen großen Einfluss auf die Schwere der Erkrankung oder das Therapieansprechen zu haben (Schreiner et al. 2008).

Eine Studie mit 18 Hunden mit chronisch- entzündlicher Enteropathie untersuchte die unterschiedliche Genexpression in Biopsien der Dünndarmschleimhaut im Vergleich zu gesunden Kontrollhunden. Es konnten 1875 Gene identifiziert werden, die im Vergleich zwischen kranken und gesunden Hunden unterschiedlich exprimiert wurden. Auch der Schweregrad der Erkrankung hatte einen Einfluss auf die Genexpression (Wilke et al. 2012).

2.4 Klinik

2.4.1 Klinische Aktivitätsscores

Zur Beurteilung der klinischen Aktivität der chronisch- entzündlichen Enteropathie des Hundes und um den Therapieerfolg semiobjektiv einschätzen zu können, werden verschiedene Krankheitsaktivitätsindizes („Canine Inflammatory Bowel Disease Activity Index“ (CIBDAI) und der „Canine Chronic Enteropathy Clinical Activity Index“ (CCECAI)) bestimmt (Jergens et al. 2003, Jergens 2004, Allenspach et al. 2007). Diese lassen anhand eines Punkte- Bewertungssystems verschiedener klinischer Symptome wie Häufigkeit von Erbrechen, Kotkonsistenz, Kotabsatzfrequenz, Gewicht, Appetit und Aktivität einen Rückschluss auf den Schweregrad der Erkrankung, aber auch das Therapieansprechen zu (Jergens et al. 2003, Jergens 2004, Allenspach et al. 2007). Im Falle des CCECAI werden auch noch die Parameter Aszites/Ödeme, die Albuminkonzentration im Serum und Juckreiz beurteilt (Allenspach et al. 2007). Sie ermöglichen die Einteilung in klinisch nicht signifikante (CIBDAI \leq 3), milde (CIBDAI 4-5), moderate (CIBDAI 6-8), oder schwere (CIBDAI \geq 9) Enteropathien (Jergens et al. 2003).

2.4.2 Klinik der Futter-responsiven Enteropathie

Klinisch kann eine Futtermittelunverträglichkeit mit gastrointestinalen und/oder dermatologischen Symptomen einhergehen. Futterunverträglichkeitsreaktionen können sich dabei im gesamten Gastrointestinaltrakt manifestieren (Guilford 1996a). Chronischer Durchfall und oder Erbrechen, sind dabei die häufigsten gastrointestinalen Symptome (Allenspach et al. 2007, Mueller und Olivry 2018). Auch eine erhöhte Kotabsatzfrequenz ist beschrieben (Paterson 1995, Johansen et al. 2017) sowie Flatulenzen und wechselnde Kotkonsistenz (Allenspach et al. 2007). Die betroffenen Hunde zeigen häufig Anzeichen einer Dickdarmerkrankung (Allenspach et al. 2007, Volkmann et al. 2017) mit erhöhter Kotabsatzfrequenz, schleimigen Kotbeimengungen und/oder Hämatochezie sowie Tenesmus (Paterson et al. 1995, Allenspach et al. 2007). Andere Studien zeigten, dass Dün- und Dickdarm als Lokalisation der Erkrankung gleichhäufig betroffen sein können (Kühn 2012). Kombinationen aus Symptomen des oberen und unteren Gastrointestinaltraktes sind beschrieben (Luckschander et al. 2006). Die gastrointestinalen Symptome können dabei auch zeitverzögert zur Allergenaufnahme auftreten (Guilford et al. 2001)

Juckreiz ist das Hauptsymptom bei dermatologischen Veränderungen (Kennis 2006). Auch ein gemeinsames Auftreten gastrointestinaler Symptome und dermatologischer Veränderungen ist beschrieben. Diese Kombination scheint jedoch nicht pathognomonisch für eine Futtermittelallergie zu sein (Verlinden et al. 2006). So konnte eine im Jahr 2018 verfasste Literaturstudie zeigen, dass nur 19%- 27% der Hunde mit durch eine Futtermittelallergie bedingten, dermatologischen Symptomen auch gleichzeitig gastrointestinale Symptome zeigten (Mueller und Olivry 2018).

2.4.3 Klinik der Antibiotika-responsiven Enteropathie

Hunde mit ARE haben häufig chronischen oder intermittierenden Dünndarmdurchfall (Willard et al. 1994, Allenspach und Gaschen 2003). Auch Kolitis-ähnliche Symptome können auftreten. Zudem zeigen die Hunde oft Polyphagie, seltener Koprophagie und Gewichtsverlust (Willard et al. 1994, Hall 2011).

2.4.3.1 Granulomatöse Kolitis

Die granulomatöse Kolitis ist bisher die einzige chronisch-entzündliche Darmerkrankung, die auf eine Besiedlung der Kolonmukosa mit pathogenen Keimen zurückzuführen ist. Diese durch adhärente und invasive *E. coli*- Bakterien ausgelöste Erkrankung tritt vor allem bei jungen Boxern und Französischen bzw. Englischen Bulldoggen auf, wurde aber auch schon beim Mastiff beschrieben (Churcher und Watson 1997, Stokes et al. 2001, Tanaka et al. 2003, Hostutler et al.

2004, Simpson et al. 2006, Manchester et al. 2013). Eine antibiotische Therapie mit einem Gyrasehemmer führt hier zur dauerhaften klinischen Besserung (Hostutler et al. 2004, Manchester et al. 2013). Im Gegensatz zur granulomatösen Kolitis kommt es bei der ARE nach erstem Ansprechen der Tiere auf eine antibiotische Therapie häufig zu Rückfällen, wobei der genaue Wirkmechanismus nicht bekannt ist (Westermarck et al. 2005, Kilpinen et al. 2011). Damit stellt die granulomatöse Kolitis eine Ausnahme hinsichtlich des Ansprechens der Hunde auf eine antibiotische Therapie dar (Erdmann und Heilmann 2017).

2.4.4 Klinik der Inflammatory Bowel Disease

Das klinische Erscheinungsbild einer IBD ist vielfältig. Die betroffenen Organe, der Aktivierungsgrad der Erkrankung und sekundäre Symptome durch Proteinverlust und/ oder Hypocobalaminämie sind entscheidend für die Ausprägung der Erkrankung (Jergens et al. 1992, Jergens 1999, Craven et al. 2004, Allenspach et al. 2007). Häufig sind mittelalte bis alte Hunde betroffen (Allenspach et al. 2016, Volkmann et al. 2017). Schwere Verläufe scheinen häufiger bei älteren Hunden vorzukommen (Munster et al. 2006). Je nach betroffenem Abschnitt des Gastrointestinaltraktes zeigen die Tiere Erbrechen, Dünndarmdurchfall oder Dickdarmdurchfall. Auch gemischte Formen sind möglich (Craven et al. 2004, Allenspach et al. 2007, Kühn 2012, Volkmann et al. 2017). Häufig treten Inappetenz und Gewichtsverlust auf (Jergens et al. 1992). Bei schweren Entzündungsformen kann es durch den Proteinverlust über die Darmschleimhaut zur Entstehung eines Aszites kommen (Jergens et al. 1992, Craven et al. 2004, Allenspach et al. 2007). Diese Form der Erkrankung tritt oft zyklisch auf. Es kann zu spontanem Auftreten oder Remission kommen (Jergens und Simpson 2012).

2.5 Diagnostik

2.5.1 Allgemeine Diagnostik einer chronisch-entzündlichen Enteropathie

Die diagnostische Abklärung einer chronisch-entzündlichen Enteropathie ist oftmals zeit- und kostenintensiv, da eine Abklärung vieler verschiedener Differentialdiagnosen erfolgen muss (Erdmann und Heilmann 2017). Die Diagnose einer chronisch-entzündlichen Enteropathie ist daher eine Ausschlussdiagnose (Jergens und Simpson 2012). Andere mögliche Ursachen der gastrointestinalen Symptome können durch eine ausführliche klinische Untersuchung und Anamnese- sowie Signalementerhebung, Blutuntersuchungen (Hämatologie, Blutchemie, Serumprofil), Urinuntersuchung, parasitologische Untersuchungen des Kotes und bildgebende

Diagnostik ausgeschlossen werden (Hall 1999, Jergens und Simpson 2012, Erdmann und Heilmann 2017). Im Folgenden werden die einzelnen Modalitäten genauer beschrieben.

2.5.1.1 Blutuntersuchungen

Zur minimalen Datenbasis der Abklärung einer chronisch-entzündlichen Enteropathie des Hundes gehören eine vollständige hämatologische und blutchemische Untersuchung (Erdmann und Heilmann 2017).

Das Blutbild liefert meist keine spezifischen Befunde. Hunde mit FRE zeigen häufiger eine Erhöhung der eosinophilen Granulozyten als Hunde mit ARE oder IBD. Vermutet wird eine Allergie auf das Futtermittel als Ursache für den Anstieg (Kühn 2012). Auch eine Parasiteninfektion wäre als Ursache für eine Eosinophilie möglich.

Die blutchemische Untersuchung dient vor allem dem Ausschluss von Nieren- und Lebererkrankungen, die auch zu chronischen gastrointestinalen Symptomen führen können (Jergens und Simpson 2012, Erdmann und Heilmann 2017).

Verschiedene Studien haben Abweichungen bestimmter Laborparameter als negativ prognostischen Faktor für die chronisch-entzündliche Enteropathie des Hundes ausgemacht. So stellen eine Anämie (Hämatokrit < 40%) und eine Hypoalbuminämie (<20 g/l) negativ prognostische Faktoren dar (Craven et al. 2004, Munster et al. 2006, Allenspach et al. 2007, Allenspach et al. 2016, Volkmann et al. 2017). Eine Anämie kann durch chronische Entzündungen und chronischen Blutverlust über die angegriffene Darmschleimhaut entstehen. Sie kommt häufig bei IBD und dem intestinalen Lymphom vor (Couto et al. 1989, Craven et al. 2004, Couto et al. 2018). Der Verlust von Albumin kann durch proteinreiche Exsudation sowie Blutverlust durch die geschädigte Darmmukosa und Malabsorption durch eine Villusatrophie oder Fibrose erklärt werden (Craven et al. 2004). Hierbei könnte die Schwere der Schädigung der Darmschleimhaut direkt mit der Albuminkonzentration zusammenzuhängen. Je niedriger der gemessene Albuminwert, desto stärker scheint die Darmschleimhaut geschädigt zu sein (Craven et al. 2004, Allenspach et al. 2007, Kühn 2012). Die Albuminkonzentration sollte abhängig vom Hydratationsstatus des Patienten ausgewertet werden, da der Wert durch eine Infusionstherapie beeinflusst werden kann (Allenspach et al. 2007).

Auch ein niedriger Cobalaminspiegel (<200pg/ml) wurde als negativ prognostischer Faktor ausgemacht (Allenspach et al. 2007). Cobalamin (Vitamin B12) und Folsäure (Vitamin B9) sind wasserlösliche Vitamine, die im distalen bzw. proximalen Dünndarm resorbiert werden. Die Serumkonzentrationen dieser Vitamine können bei chronischen Erkrankungen des Darmes

erniedrigt sein. Zu einer Hypocobalaminämie kommt es bei Erkrankungen des distalen Dünndarms, während ein Folsäuremangel eher auf Erkrankungen des proximalen Dünndarms hinweist (Batt und Morgan 1982). Laut Simpson et al. (1989) zeigen vor allem Hunde mit ARE oder exokriner Pankreasinsuffizienz erniedrigte Cobalaminwerte. Dies widerspricht den Ergebnissen von German et al. (2003). Auch bei an IBD erkrankten Hunden kommt es häufig zu Hypocobalaminämie (German et al. 2003b, Volkmann et al. 2017). Eine Unterscheidung der Art der chronisch-entzündlichen Enteropathie ist mittels der Cobalaminmessung nicht möglich. Im Referenzbereich gemessene Werte schließen eine Darmerkrankung nicht aus (Batt und Morgan 1982). Mögliche Ursachen für die schlechtere Aufnahme des Cobalamins aus dem Dünndarm bei Hunden mit chronisch-entzündlicher Enteropathie ist die Schädigung des Rezeptors in der Ileumschleimhaut zur Bindung des intrinsischen Faktors für Cobalamin oder der Mangel an genügend aufnahmefähigem Cobalamin durch die veränderte Bakterienzusammensetzung bei einer Dysbiose (Ruaux 2013). Cobalamin ist notwendig zur Regeneration der geschädigten Darmschleimhaut, sodass ein Mangel das Ansprechen auf die Therapie verzögern kann (Ruaux 2013, Erdmann und Heilmann 2017).

Zudem konnten vorangegangene Studien eine starke Korrelation zwischen den im Serum gemessenen Konzentrationen von Albumin und Cobalamin feststellen. Daher sollten diese beiden Parameter zusammen bestimmt werden (Allenspach et al. 2007). Auch eine Aussage über die mögliche Lokalisation der Erkrankung scheint über die kombinierte Messung beider Parameter möglich zu sein. So traten eine schwere Hypoalbuminämie und/oder schwere Hypocobalaminämie in einer Studie signifikant häufiger bei Erkrankungen des Dünndarms auf (Volkmann et al. 2017).

Das Basalcortisol sollte zum Ausschluss eines Hypoadrenokortizismus (Morbus Addison) gemessen werden. Vor allem die atypische Form dieser Erkrankung ist mit gastrointestinalen Symptomen verbunden. Daher sollte die Basalcortisolmessung auch bei einer normalen Kalium- und Natriumkonzentration im Blut durchgeführt werden (Erdmann und Heilmann 2017). Gemessene Werte unter 2µg/dl haben nur eine 80% Spezifität zum Ausschluss eines Morbus Addison. Somit sollte in diesen Fällen ein ACTH-Stimulationstest durchgeführt werden, welcher als Goldstandard zur Diagnostik eines Hypoadrenokortizismus gilt (Lennon et al. 2007).

Zum Ausschluss einer Erkrankung des Pankreas sollte die Messung der kaninen trypsin-ähnlichen Immunoreaktivität (canine trypsin-like immunoreactivity, cTLI) und der kaninen spezifischen Pankreaslipase (Spec cPL) erfolgen. Die Bestimmung einer normalen Serum TLI-Konzentration dient dem Ausschluss einer exokrinen Pankreasinsuffizienz (Erdmann und

Heilmann 2017). Vor allem beim Deutschen Schäferhund kann diese Erkrankung ähnliche Symptome wie eine chronisch-entzündliche Enteropathie auslösen (Williams et al. 1987, Hall 2011). Die Hunde mit Pankreasinsuffizienz zeigen zudem häufig Gewichtsverlust, Steatorrhö, Polyphagie und den Absatz großer oft breiiger Kotmengen (Erdmann und Heilmann 2017).

2.5.1.2 Kotuntersuchungen

Die Notwendigkeit einer parasitologischen Untersuchung des Kotes wird durch die aktuelle Literatur unterstrichen. Vor allem Giardieninfektionen stellen mit 11-28% eine häufige Ursache für chronischen Durchfall dar (Epe et al. 2010, Volkmann et al. 2017). Daher sollte eine Untersuchung des Kotes mittels Flotation bzw. Giardien-ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) erfolgen. Bei anhaltenden wässrig-blutigen Durchfällen kann eine mikrobiologische Untersuchung des Kotes auf bestimmte Bakterien oder Enterotoxine eingeleitet werden. Der diagnostische Nutzen dieser Untersuchung ist jedoch fraglich, da die meisten aus dem Kot kultivierten pathogenen Keime (*Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.*, *Clostridium perfringens* und *Clostridium difficile*) auch im Kot von gesunden Hunden zu finden sind (Marks et al. 2011). Zudem ist unklar, ob die Bakterien ursächlich für die klinischen Symptome sind. Auch andere gastrointestinale Erkrankungen, die zu einer Dysbiose führen, können Auslöser sein (Erdmann und Heilmann 2017). Bei therapieresistenten (blutigen) Durchfällen bzw. Anzeichen für Kolitis ist eine Untersuchung der Rektumschleimhaut auf Prototheken indiziert (Stenner et al. 2007, Ribeiro et al. 2009, Allenspach 2010, Vince et al. 2014).

2.5.1.3 Abdominale Sonographie

Zum Ausschluss struktureller Veränderungen des Darms mit Verlegungen des Darmlumens (Invagination, Neoplasie oder Fremdkörper) sollte ein Ultraschall durchgeführt werden (Kühn 2012, Leib et al. 2012). In einigen Fällen ermöglicht die Sonographie auch die Unterscheidung zwischen Dünn- und Dickdarmerkrankungen bzw. können extragastrointestinale Organe beurteilt werden (Erdmann und Heilmann 2017). Die Messung der Wanddicke des Darms besitzt jedoch nur eine geringe Sensitivität und Spezifität für die Diagnosestellung einer IBD beim Hund (Rudorf et al. 2005, Gaschen et al. 2008). Die Echogenität der Darmmukosa lässt hingegen einen Rückschluss auf den Schweregrad der Erkrankung zu. Hyperechoische Areale in der Darmmukosa (unterschieden in Flecken (engl. speckles) und Streifen (engl. striations)) konnten bei Hunden mit entzündlichen Darmerkrankungen festgestellt werden. Hyperechoische Streifen im Jejunum haben eine Sensitivität von 75% und einer Spezifität von 96% bei Hunden mit PLE (Gaschen et al. 2008). Grundsätzlich sollte eine vorherige Futteraufnahme vermieden werden, da dies auch

bei gesunden Hunden in knapp 50% der Fälle zu hyperechoischen Arealen in der Mukosa führt (Gaschen et al. 2016)

Die Durchführung eines abdominalen Ultraschalls sollte jedoch bei jedem Patienten mit Durchfall gut überlegt werden, da er nur bei 3-10% der Fälle ein nützliches Diagnostikum darstellt (Leib et al. 2012, Mapletoft et al. 2018). In einer Studie zeigte sich, dass bei 53% der untersuchten Hunde der Ultraschall keine nützlichen Informationen hinsichtlich der Ursache des Durchfalls ergab und in 7% sogar kontraproduktiv war. Kontraproduktiv bedeutete in dieser Studie, dass die Ergebnisse des Ultraschalls entweder falsch negativ oder falsch positiv waren. So war die Ursache des Durchfalls entweder mit morphologischen Läsionen assoziiert, die mittels anderer Testverfahren festgestellt wurden oder es wurden Läsionen ausgemacht, die bewiesenermaßen nicht ursächlich für den Durchfall sein konnten und weitere Diagnostik benötigten (Mapletoft et al. 2018).

2.5.2 Spezielle Diagnostik bei einer Futter-responsiven Enteropathie

Die eindeutige Diagnosestellung einer Futtermittelallergie ist schwierig, da entsprechende diagnostische Tests fehlen (Guilford 1996a). Als Goldstandard der Diagnostik gilt die Eliminationsdiät mit anschließender Provokation (Kennis 2006, Verlinden et al. 2006, Mandigers und German 2010). Allerdings kann dadurch nicht der zugrundeliegende Mechanismus aufgedeckt werden (Verlinden et al. 2006). Eine Futtermittelallergie ist wahrscheinlich, wenn das Tier unter der Fütterung einer Eliminationsdiät symptomfrei ist. Nach erneuter Fütterung des ursprünglichen Futters treten die Symptome wieder auf. Wenn erneut eine klinische Besserung der Symptome nach darauffolgender Gabe der Eliminationsdiät auftritt, kann die Diagnose einer Futtermittelallergie gestellt werden (Verlinden et al. 2006).

Die histologische Untersuchung erscheint wenig hilfreich zur Abgrenzung einer FRE von anderen Formen der chronisch-entzündlichen Enteropathie (ARE/IBD) zu sein (Luckschander et al. 2006, Allenspach et al. 2007, Schreiner et al. 2008). Jedoch kann der Grad der Entzündung geringer als bei den ARE/IBD Patienten ausfallen (Munster et al. 2006). Walker et al. (2013) konnten zudem zeigen, dass es nach sechswöchiger Fütterung einer Diät zu einer signifikanten Besserung von ultrastrukturellen Läsionen und zur Heilung des Bürstensaumes kommt.

Weitere Testverfahren zur Bestätigung einer Futtermittelallergie wurden untersucht.

Die semiquantitative Messung von futtermittelspezifischen Immunglobulinen (IgG und IgE) in Serumproben ist eine kommerziell verfügbare Methode. Eine Studie von Foster et al. (2003) zeigte, dass Hunde mit gastrointestinalen Symptomen höhere IgG-Spiegel aufweisen als Hunde mit Hautsymptomatik oder gesunde Tiere. Allerdings hatten vor allem klinisch gesunde Tiere

erhöhte Globulinwerte nach Kontakt mit Huhn, Ei und Truthahn. Daher scheint ein erhöhter Globulinspiegel eher eine Reaktion auf die Exposition der Futterantigene zu sein (Foster et al. 2003). Auch antigenetische und allergische Kreuzreaktionen zwischen verschiedenen Proteinen, die sich Epitope teilen, sind möglich (Bruijnzeel-Koomen et al. 1995, Foster et al. 2003). Neben der Messung von nahrungsspezifischen IgE im Serum konnten auch nahrungsspezifische IgM und IgA im Speichel untersucht werden (Udraite Vovk et al. 2019). Jedoch liefern diese Immunglobulinmessungen keine verlässlichen Ergebnisse und werden daher nicht empfohlen (Day 2005, Mandigers und German 2010, Udraite Vovk et al. 2019)

Auch endoskopisch gestützte Verfahren wurden untersucht. Diese sollten die direkte Beurteilung der sofortigen IgE-vermittelten Hypersensitivitätsreaktion in der Magendarmschleimhaut ermöglichen. Der Gastroskopische Futtersensitivitätstest (GFST) und der Koloskopische Allergen-Provokationstest (COLAP) sind beschrieben (Guilford et al. 1994, Allenspach et al. 2006a). Hierbei werden Allergenlösungen endoskopisch gestützt in die Magen- bzw. Kolonschleimhaut injiziert. Die Schleimhautveränderungen nach Injektion werden dokumentiert und die Entzündungsreaktion durch histopathologische Untersuchungen beurteilt. Der COLAP scheint hierbei die genauere Methode zur Diagnosestellung einer sofortigen Hypersensitivitätsreaktion auf Futtermittelallergene zu sein (Allenspach et al. 2006a). Beide Verfahren besitzen Limitationen und sind nicht weit verbreitet verfügbar (Gaschen und Merchant 2011). Auch die Messung des mesenterialen Blutflusses mittels Dopplersonografie (Kircher et al. 2004) scheint keine verlässlichen Ergebnisse bei Hunden mit adversen Futtermittelreaktionen zu liefern (Gaschen und Merchant 2011).

Serologische Marker können ebenfalls zur Diagnostik einer FRE genutzt werden.

Perinukleäre antineutrophile zytoplasmatische Antikörper (perinuclear antineutrophilic cytoplasmic antibodies (pANCA)) konnten in einer Studie bei Hunden mit FRE bei 62 % der Patienten detektiert werden. Dies stellte einen signifikanten Unterschied zu der pANCA-Konzentration der IBD Gruppe dar (23%). Somit kann die Bestimmung der pANCA vor Therapiebeginn helfen, um zwischen FRE und IBD zu unterscheiden (Luckschander et al. 2006). Ein weiterer Marker ist der sogenannte „nuclear factor-Kappa B“ (nukleärer Faktor Kappa B, NF-κB). Die Produktion und Aktivierung proinflammatorischer Zytokine wird durch Transkriptionsfaktoren wie NF-κB reguliert. Hunde mit FRE wiesen mehr NF-κB positive Zellen im Vergleich zu IBD Patienten auf. Zudem konnte eine Reduktion dieser Zellen unter erfolgreicher Therapie verzeichnet werden (Luckschander et al. 2010).

2.5.3 Spezielle Diagnostik bei einer Antibiotika-responsiven Enteropathie

Diagnostisch gilt eine ARE dann als hochwahrscheinlich, wenn für einen chronischen Durchfall keine andere Ursache gefunden werden kann und sich die Klinik unter antibiotischer Therapie bessert. Wenn nach dem Absetzen des Antibiotikums erneut Durchfall auftritt, gilt die ARE als bestätigt (Hall und Simpson 2000).

Neben der Messung von Cobalamin und Folsäure ist die Messung unkonjugierter Gallensalze im Serum eine mögliche Nachweismethode für eine Dysbiose. Darmbakterien können Gallensalze dekonjugieren. Diese werden dann absorbiert und nur teilweise über die Leber ausgeschieden und sind daher im Serum messbar. Da die unkonjugierten Gallensalze aber starken Konzentrationsunterschieden nach der Nahrungsaufnahme unterworfen sind und auch von bestimmten kommensalen Bakterien (*Lactobacilles*) gebildet werden können, ist ihr Nutzen fraglich (Hall 2011).

Die intestinale Permeabilitätsbeurteilung mittels der Absorptionsmessung verschiedener Zucker kann bei einer ARE abnormal sein und sich unter antibiotischer Therapie bessern (Batt et al. 1992, Rutgers et al. 1996). Allerdings handelt es sich hierbei nicht um pathognomonische Veränderungen (Hall 2011).

Auch die quantitative Bestimmung der Bakterien in der Duodenalflüssigkeit wurde als Nachweismethode für eine Dysbiose durchgeführt. Allerdings handelt es sich um ein invasives und kostenintensives Verfahren mit fraglicher Aussagekraft (Matz und Guilford 2003).

2.5.4 Spezielle Diagnostik bei einer Inflammatory Bowel Disease

Die Diagnostik einer IBD erfolgt anhand von endoskopisch oder laparotomisch gewonnenen Gewebeproben. So kann die Differenzierung der Entzündung von Neoplasien ermöglicht werden. Auch der Entzündungszelltyp und der Schweregrad können bestimmt werden (Day et al. 2008, Washabau et al. 2010). Die endoskopische Biopsie stellt eine minimalinvasive Möglichkeit zur Diagnosestellung dar. Die Darmmukosa kann hierbei direkt begutachtet werden (Erdmann und Heilmann 2017). Häufige abnormale endoskopische Befunde sind Erythem, Zerbrechlichkeit des Gewebes, erhöhte Körnung, Erosion oder Ulzeration der Darmschleimhaut (Roth et al. 1990). Die endoskopischen Befunde in Duodenum und Kolon sind mit dem Langzeitergebnis bei Hunden mit IBD assoziiert (Allenspach et al. 2007). Bei Hunden mit Dünn- und Dickdarmsymptomen sollte zur Diagnosestellung eine Beprobung des Ileums erfolgen (Casamian-Sorrosal et al. 2010). Bei Hunden, die eine endoskopische Untersuchung des Magens sowie des Doudenums oder des Kolons benötigen, ist eine Biopsie des Ileums indiziert (Washabau et al. 2010).

Auch die Heilung der Mukosa unter Therapie lässt sich mittels Endoskopie verfolgen (Garcia-Sancho et al. 2007). Jedoch konnten verschiedene Studien keinen einheitlichen Zusammenhang zwischen den histopathologischen Veränderungen und dem klinischen Schweregrad bzw. dem Ansprechen auf eine Therapie ausmachen (Jergens et al. 2003, Allenspach et al. 2006b, Allenspach et al. 2007, Garcia-Sancho et al. 2007, Schreiner et al. 2008, Kühn 2012). Fraglich ist, inwieweit das auf fehlende standardisierte histopathologische Richtlinien zurückgeführt werden kann (Allenspach et al. 2019). Die Qualität der entnommenen Proben kann die histopathologische Interpretation beeinflussen. Daher spielt auch die Erfahrung des Endoskopierenden sowie der Umgang mit den Proben eine wichtige Rolle (Willard et al. 2001, Slovak et al. 2014).

Zur Objektivierung und Vergleichbarkeit von Läsionen konnte ein endoskopischer Aktivitätsscore entwickelt und validiert werden (Slovak 2015). Für die histopathologische Befundung wurden zahlreiche Systeme zur Einteilung des Schweregrads und den beteiligten Zellen beschrieben. Es wurden vor allem Anzahl und Typ der Zellinfiltrate der Lamina propria zur Beschreibung eines normalen, milden, moderaten oder schweren Krankheitsverlaufs genutzt (Jergens et al. 1992, German et al. 2001, Allenspach et al. 2007). Allerdings gab es große Unterschiede bei der histopathologischen Befundung zwischen verschiedenen Pathologen (Willard et al. 2002). Daher wurden von der WSAVA (World Small Animal Veterinary Association) 2008 histopathologische Standards zur Befundung der endoskopischen Proben veröffentlicht (Day et al. 2008). Vereinfachte Formen konnte 2014 und 2019 publiziert werden. Hier zeigte sich eine sehr gute Übereinstimmung zwischen verschiedenen Pathologen (Jergens et al. 2014) und der klinischen Aktivität der Erkrankung (Allenspach et al. 2019).

2.6 Therapie

Die Therapie der chronisch-entzündlichen Enteropathie des Hundes erfolgt schrittweise und ist ein Teil der diagnostischen Aufarbeitung. Je nach Ansprechen auf die empirischen Therapieversuche kann die Unterscheidung in die einzelnen Formen: FRE, ARE oder IBD vorgenommen werden. Neuere Therapieansätze hinterfragen den routinemäßigen Einsatz von Antibiotika in diesem Zusammenhang und empfehlen eine probiotische Therapie (Cerquetella et al. 2020)

Grundsätzlich sollte beim Vorliegen einer Hypocobalaminämie bei allen Formen der chronisch-entzündlichen Enteropathie des Hundes die Substitution von Cobalamin erfolgen, da ein Mangel an Cobalamin das Ansprechen auf die Therapie verzögern kann (Ruaux 2013, Erdmann und

Heilmann 2017). Neben der subkutanen Injektion ist auch die orale Substitution möglich (Toresson et al. 2016).

2.6.1 Therapie einer Futter-responsiven Enteropathie

Die Eliminationsdiät ist der erste therapeutische Schritt bei Hunden mit Verdacht auf eine chronisch-entzündliche Enteropathie, wenn das Tier klinisch stabil ist und Appetit zeigt (Dandrieux 2016). Ziel einer Eliminationsdiät ist es, die krankheitsauslösenden Antigene zu vermeiden (Erdmann und Heilmann 2017) und ggf. zu identifizieren. Proteine sind der Hauptauslöser für Futtermittelallergien. Alle Futterproteine wirken als Antigen, jedoch löst nur ein kleiner Teil Allergien aus (Guilford und Matz 2003).

Es gibt verschiedene Therapieoptionen. (1) Die selbstgekochte Diät mit für den Hund unbekanntem Protein- und Kohlenhydratquellen sowie (2) die Verfütterung einer hydrolysierten Diät. Beide Diätformen zeigen gute Ergebnisse (Marks et al. 2002, Allenspach et al. 2007, Mandigers et al. 2010). Nach Allenspach et al. (2016) gibt es keinen signifikanten Unterschied zwischen beiden Formen der Eliminationsdiät hinsichtlich des Ansprechens auf die Therapie. Sofern sich die Tiere innerhalb von 2 Wochen nach Beginn der Diät klinisch verbessern, sollte die Diät mindestens für 12 Wochen gegeben werden (Allenspach et al. 2007, Allenspach et al. 2016). Eine Umstellung der Hunde auf die vorherige Fütterung führte in einer Studie zu einem Wiederauftreten der Symptome bei Zweidrittel der Patienten (Mandigers et al. 2010). Je nach Studie können 31-75% der betroffenen Hunde nach einer 12-wöchigen Eliminationsdiät wieder auf ihr ursprüngliches Futter umgestellt werden (Luckschander et al. 2006, Mandigers et al. 2010, Allenspach et al. 2016). Ein mögliches Wiederauftreten der Symptome nach der erneuten Gabe des ursprünglichen Futters ist möglich und wird daher von vielen Patientenbesitzern abgelehnt (Dandrieux 2016). Auch die Kombination einer sehr faserreichen Diät mit einem hochdosierten Probiotikum führte bei Hunden mit FRE, die Dickdarmsymptome aufwiesen, zur deutlichen Besserung der Symptomatik nach maximal 15 Tagen. Sowohl der CCECAI, als auch die histopathologischen Befunde verbesserten sich mit dieser Diätform signifikant (Rossi et al. 2020).

2.6.2 Therapie einer Antibiotika-responsiven Enteropathie

Eine antibiotische Therapie wird in der Regel durchgeführt, sollte es zu keiner oder nur partieller, nicht zufriedenstellender Besserung der Symptomatik kommen (Dandrieux 2016). Ziel der Therapie mit einem Antibiotikum ist es, Einfluss auf das intestinale Bakterienmilieu zu nehmen und zudem immunmodulatorisch zu wirken (Dandrieux 2016, Erdmann und Heilmann 2017). Die Veränderungen im Darm, die durch eine ARE ausgelöst werden, sind zwar nicht reversibel, aber

die klinischen Anzeichen können mit Hilfe von antibiotischen Therapien positiv beeinflusst werden (Batt et al. 1988, Kilpinen et al. 2011). Mögliche Medikamente sind Metronidazol (10-15mg/kg q 12h p.o.) und Tylosin (25mg/kg q 24h p.o. oder 12,5mg/kg q 12h p.o. initial) (Erdmann und Heilmann 2017). Auch Oxytetracyclin (10-20mg/kg q 8h p.o.) ist beschrieben (Hall 2011, Dandrieux et al. 2019). Basierend auf einer humanmedizinischen Studie mit einer 60%igen Antibiotikaresistenz auf diesen Wirkstoff bei Patienten mit SIBO wird es in der Tiermedizin eher nicht eingesetzt (Marks 2003). Außerdem führt es bei jungen Patienten vor dem Zahnwechsel zu Verfärbung des Zahnschmelzes und ist international nur begrenzt erhältlich (Hall 2011).

Es wird eine Therapie von 2-4 Wochen empfohlen. In der Regel erfolgt eine klinische Besserung innerhalb von 14 Tagen (Erdmann und Heilmann 2017). Bei ausbleibender Besserung sollte nach 2 Wochen ein Wechsel des Antibiotikums erfolgen (Hall 2011).

Genauere Angaben über die optimale Dauer der Behandlung mit einem entsprechenden Antibiotikum fehlen in der Literatur. Die Behandlungsdauer scheint keinen Effekt auf die Häufigkeit oder den Zeitpunkt eines Rückfalls zu haben (Dandrieux 2016). In zwei Studien wurde nach einer jeweils einwöchigen bzw. zweiwöchigen Therapie mit Tylosin eine Rückfallrate von 86% bzw. 88% verzeichnet (Westermarck et al. 2005, Kilpinen et al. 2014). Eine Studie von Allenspach et al. (2016) zeigte eine 100-prozentige Rückfallrate innerhalb eines Jahres nach antibiotischer Therapie. Daher ist der Nutzen der Antibiotikatherapie in einigen Fällen fraglich und die Gefahr für Resistenzen durch die Langzeitgabe dieser Medikamente gegeben (Nitzan et al. 2016). Sollten jedoch Bakterien in der Darmschleimhaut nachgewiesen werden, ist dies eine Indikation für eine antibiotische Therapie. Für den Nachweis eignet sich die Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH). Es ist eine neuere und sensitive Methode zur Identifizierung von Bakterien in Geweben und kann an Formalin-fixierten Präparaten angewendet werden (Jergens et al. 2009, Dandrieux 2016). Neueste Veröffentlichungen lassen die Behandlung aller Hunde ohne gutes klinisches Ansprechen auf eine Eliminationsdiät mit einem Antibiotikum kritisch hinterfragen. Nur Patienten mit Anzeichen einer primären Infektion, die von einer Antibiotikagabe profitieren, sollten eine antimikrobielle Therapie erhalten. Die Gabe von Prä-/Pro- und Synbiotika sollte alternativ erwogen werden (Cerquetella et al. 2020).

2.6.3 Probiotische Therapie

Mehrere Studien konnten zeigen, dass die kanine chronisch-entzündliche Enteropathie mit einer veränderten mikrobiellen Zusammensetzung im Darm assoziiert ist. So konnten eine verminderte Diversität der Bakterienarten, eine selektive Vermehrung gewisser Bakterien oder die veränderte Zahl bestimmter Bakterien in der Darmmukosa bei erkrankten Hunden festgestellt werden

(Xenoulis et al. 2008, Allenspach et al. 2010, Suchodolski et al. 2010, Suchodolski et al. 2012a, Suchodolski et al. 2012b, Cassmann et al. 2016). Daher beschäftigen sich neuere Therapieansätze mit probiotischen Präparaten. Ein Probiotikum besteht aus lebenden Mikroorganismen, die sich nach Einnahme positiv auf die Gesundheit auswirken sollen (Degnan 2008). Durch die Regulation der immunologischen Antwort oder die Modulation der Zusammensetzung bzw. Aktivität der Darmbakterien durch ein Probiotikum soll im Fall der IBD Linderung verschafft werden (Tuohy et al. 2003). Die positiven Effekte eines Probiotikums können in drei Kategorien eingeteilt werden: Erstens kommt es zu einer Veränderung des enteralen Mikrobioms. Das Probiotikum kann direkt mit pathogenen Keimen um Anhaftungsstellen an der Mukosa und folglich um Invasionsfähigkeit konkurrieren. Durch die Bildung von organischen Säuren entsteht ein saurer pH-Wert, um die Lebensbedingungen für pathogene Keime zu erschweren. Zweitens kann die Immunreaktion des Patienten moduliert werden. Dies wird unter anderem über die Erhöhung der IgA Produktion und Sekretion, über veränderte Zytokinmuster oder über eine verminderte Ansprechbarkeit der T-Zellen erreicht (Rioux et al. 2005, Sauter et al. 2005). Drittens wird die Barrierefunktion durch die Interaktion mit Epithel- und Immunzellen im Darm erhöht (Rioux et al. 2005). Rossi et al. (2014) konnten einen signifikanten positiven Effekt eines Probiotikums auf das klinische und histologische Bild bei Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien aufzeigen. Zudem konnten protektive Eigenschaften und eine Normalisierung der Dysbiose festgestellt werden. In einer 2017 veröffentlichten Studie konnte trotz klinischer Besserung keine Veränderung des histologischen Bildes durch die Zugabe eines Probiotikums beobachtet werden. Jedoch zeigte sich eine Hochregulierung bestimmter Proteine (E-Cadherin, Occludin, Zonulin), die für die Zellverbindungen im Darmepithel wichtig sind. Somit scheint eine probiotische Therapie einen positiven Einfluss auf die Homöostase des Darmes zu haben (White et al. 2017). Unter Einbeziehung aller bisher publizierten Artikel zum Effekt eines Probiotikums auf die chronisch-entzündliche Enteropathie des Hundes, scheint die Wirkung der Probiotika keine signifikanten Verbesserungen mit sich zu bringen. Die aktuelle Studienlage ist jedoch auf Grund sehr kleiner Studienpopulationen als eher ungenügend einzuschätzen (Jensen und Bjornvad 2019).

2.6.4 Therapie einer Inflammatory Bowel Disease

Die Therapie der IBD ist multimodal. Sie besteht aus Diät, ggf. antimikrobieller bzw. entzündungshemmender Therapie und Immunsuppressivgabe (Hall et al. 2011, Erdmann und Heilmann 2017). Am häufigsten wird Prednisolon genutzt. Es ist schnell wirksam und wird anfänglich in einer Dosierung von ca. 1-2mg/kg gegeben. Nach positivem Ansprechen sollte die

Dosis reduziert werden (Jergens et al. 1992, Sturgess 2005). Es wird eine Dosisreduktion von 25-33% alle 2-3 Wochen angestrebt (Sturgess 2005, Erdmann und Heilmann 2017). Bei längerer Gabe muss gegebenenfalls ein nebenwirkungsärmeres Medikament genutzt werden.

Budesonid zeigt einen deutlichen first-pass Effekt, damit weniger systemische Nebenwirkungen und kann zur Behandlung intestinaler Erkrankungen genutzt werden (Sturgess 2005). Die Wirkung des Budesonids soll vergleichbar mit der Prednisolonwirkung sein. Es konnte zwar keine Minimierung von Nebenwirkungen nachgewiesen werden, aber anders als bei der Prednisolongabe konnten keine schweren Nebenwirkungen durch die Budesonidtherapie verzeichnet werden (Dye et al. 2013). Eine Studie von Rychlik et al. (2016) zeigte keine Verbesserung der klinischen Symptome, eines Krankheitsaktivitätsindex (canine IBD activity index (CIBDAI)) oder der makroskopischen Veränderungen. Nur histologisch konnte eine Effektivität des Budesonids festgestellt werden (Rychlik et al. 2016).

Bei unzureichender Ansprechbarkeit oder unerwünschten Nebenwirkungen sollte auf eine Kombinationstherapie mit anderen immunsuppressiven Medikamenten umgestellt werden.

Für Ciclosporin konnte in einer Studie von Allenspach et al. (2006b) eine gute Wirksamkeit mit einer Ansprechrate von 78% bei Hunden mit chronisch-entzündlicher Enteropathie gezeigt werden. Die Anzahl der in die Mukosa-infiltrierenden T-Zellen konnte signifikant minimiert werden. Zudem scheint Ciclosporin gut verträglich zu sein (Allenspach et al. 2006b). Eine weitere Studie konnte hingegen nur einen Therapieerfolg bei 25% der erkrankten Hunde verzeichnen (Allenspach et al. 2007). Auch andere myelo- oder zytotoxische Medikamente wie Azathioprin, Chlormabucil, Mycophenolatmofetil oder Methotrexat wurden vereinzelt beschrieben (Yuki et al. 2006, Erdmann und Heilmann 2017).

3 Biomarker bei chronischen Enteropathien

3.1 Definition und Beschaffenheit eines Biomarkers

Biomarker können zur Evaluation von Organfunktionen, zur Risikoanalyse für Erkrankungen oder zum Quantifizieren der Erkrankungsschwere genutzt werden. Weiterhin lassen sie Voraussagen zu bestimmten Krankheitsverläufen, das Ansprechen auf eine bestimmte Therapie und die Prognose zu (Biomarkers Definitions Working Group 2001). Sie liefern genaue und reproduzierbare Ergebnisse (Strimbu und Tavel 2010). Verschiedene Biomarker wurden zur Aufarbeitung der chronischen Enteropathie des Hundes entwickelt. Sie stellen eine

minimalinvasive Methode der Diagnostik dar. Sie können in funktionelle, biochemische, zelluläre oder genomische Biomarker eingeteilt werden (Heilmann und Steiner 2018).

Die im Verlauf beschriebenen Biomarker S100A12, Calprotectin C, C-reaktives Protein und N-Methylhistamin gehören in die Gruppe der biochemischen Biomarker.

3.2 Ausgewählte Biomarker bei chronischer Enteropathie in Serum und Faeces

3.2.1 S100A12

3.2.1.1 Struktur und Wirkung

S100A12 (syn. Calgranulin C, extracellular newly identified RAGE-binding protein (EN-RAGE), migration inhibitory factor-related protein (MRP-)6 oder p6), gehört zur Familie der S100 Proteine (Guignard et al. 1995, Ilg et al. 1996, Hofmann et al. 1999). Diese stellt eine große Untergruppe der EF-Hand kalzium-bindenden Proteine dar (Kligmann und Hilt 1988, Sugimoto et al. 2006). S100A12 wurde erstmals 1995 in humanen neutrophilen Granulozyten und Monozyten identifiziert (Guignard et al. 1995). Es handelt sich hierbei um saure Proteine mit niedriger molekularer Masse, wobei S100A12 eine Größe von 6,5 kDa aufweist (Guignard et al. 1995). Charakteristisch für die S100 Proteinfamilie sind zwei kalzium-bindende Einheiten (EF-hand motifs). Die Konfirmation und Funktion der meisten S100 Proteine wird von der intra- oder extrazellulären Kalzium- oder Zinkkonzentration bestimmt (Moroz et al. 2003, Moroz et al. 2009). Über die Bindung von Kalzium an den EF-Hands kommt es zu einer Konfirmationsänderung des Proteins und eine hydrophobe Domäne wird freigelegt. Diese wiederum kann nun mit ähnlich hydrophoben Regionen der Effektorproteine interagieren (Kligmann und Hilt 1988, Guignard et al. 1995, Pietzsch und Hoppmann 2008).

Die regulatorischen Aufgaben der S100 Proteine sind sowohl intra- als auch extrazellulär sehr vielfältig. Sie agieren mit verschiedensten Effektorproteinen, regulieren Enzymaktivitäten und sind an Zellwachstum und Differenzierung sowie der Kalziumhomöostase beteiligt (Donato 1999, Donato 2003). Sie scheinen sowohl bei akuten als auch bei chronischen Entzündungen eine Rolle zu spielen (Hofmann et al. 1999, Heilmann et al. 2011a). Sie sind an der Migration, Chemotaxis und Aktivierung von Leukozyten beteiligt und gelten daher als DAMP („endogenous damage-associated molecular pattern“). Charakteristischerweise akkumulieren die Proteine der S100-Familie in Bereichen von Entzündungen. Der Mechanismus zur Vermittlung eines entzündlichen

Prozesses wird hierbei über die Interaktion mit dem RAGE („receptor for advanced glycation end products“) herbeigeführt. Dieser befindet sich auf Endothelzellen, Monozyten sowie Lymphozyten (Hofmann et al. 1999, Xie et al. 2007, Heilmann et al. 2010).

Neutrophile Granulozyten und Monozyten schütten S100A12 bei Zellzerstörung, Entzündung oder Infektion aus. Es kann dann als Ligand am RAGE-Rezeptor binden und führt über eine Aktivierung des nuklearen Faktor kappa B (NF- κ B) zu einer proinflammatorischen Antwort. Dies geschieht unter anderem über die Ausschüttung verschiedener proinflammatorischer Zyto- und Chemokine wie den Tumor Nekrose Faktor α (TNF α) und Interleukin 1 β (Hofmann et al. 1999, Donato 2003, Heilmann et al. 2010).

3.2.1.2 S100A12 als Biomarker der chronischen Enteropathie des Menschen

Die Pathogenese und Ätiologie der Inflammatory Bowel Disease des Menschen ist noch nicht abschließend aufgeklärt. Charakteristisch sind bei dieser Erkrankung ein vermehrtes Ansiedeln neutrophiler Granulozyten in der intestinalen Mukosa (Saverymuttu et al. 1985).

Im Jahr 2003 konnte gezeigt werden, dass es im entzündeten Darm von erkrankten Personen zu einer starken, über die neutrophilen Granulozyten vermittelten Expression von S100A12 kommt (Foell et al. 2003). Die Serumkonzentrationen von S100A12 bei diesen Patienten war hoch und korrelierte mit der Schwere der Erkrankung. Unter erfolgreicher immunsuppressiver Therapie sanken die S100A12-Werte schnell (Foell et al. 2003, Foell et al. 2004).

Auch als Marker im Kot konnte S100A12 etabliert werden. Es konnte gezeigt werden, dass sowohl im Vergleich zu gesunden Probanden als auch zu Patienten, die an Reizdarmsyndrom litten, S100A12 ein guter Marker zur Erkennung einer aktiven IBD war (Kaiser et al. 2007).

3.2.1.3 S100A12 als Biomarker der chronischen Enteropathie des Hundes

Die Aufreinigung und Charakterisierung von S100A12 des Hundes wurde erstmals 2010 beschrieben (Heilmann et al. 2010). Es folgte die Entwicklung und analytische Quantifizierung eines Radioimmunassays in Serum, Kot und Urin von kaninen Patienten (Heilmann et al. 2011a). Zudem wurde eine ELISA Methode zur Messung der S100A12 Konzentration in Serum und Kot als nichtinvasiver Marker einer IBD beim Hund entwickelt (Heilmann et al. 2014a, Heilmann et al. 2014b, Hanifeh et al. 2015, Heilmann et al. 2016a).

Die Quantifizierung des fäkalen S100A12 mittels des genannten ELISAs konnte signifikant höhere S100A12- Werte bei an IBD erkrankten Hunden im Vergleich zu gesunden Hunden zeigen. Zudem wurde eine Korrelation zwischen dem CCECAI bzw. den endoskopischen Läsionen in Duodenum und Kolon festgestellt. Auch die Anzahl der die Schleimhaut infiltrierenden Phagozyten, welche

vor allem im späteren Verlauf der IBD auftreten, scheint einen Einfluss auf das Ansteigen des S100A12-Moleküls zu haben (Heilmann et al. 2014a).

Die fäkalen S100A12-Werte lassen keine Aussage über den betroffenen Darmabschnitt oder die histologischen Subtypen der IBD des Hundes zu. Deshalb wurde in einer Studie von 2015 erstmals auch S100A12 in der intestinalen Mukosa gesunder Hunde gemessen. Dabei zeigte sich statistisch signifikant, dass die höchsten im Median gemessenen Werte im Ileum gefunden werden konnten (Hanifeh et al. 2015). Zudem scheint die intestinale Mukosa von Hunden mit chronisch entzündlichen Enteropathien eine erhöhte Anzahl von aktivierten Makrophagen zu haben, die S100A12 Proteine exprimieren und sezernieren (Heilmann et al. 2019). Auch die S100A12 Konzentration in der Darmmukosa ist bei Hunden mit chronischen Enteropathien erhöht. Es konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Höhe der S100A12-Konzentrationen in der Darmschleimhaut und dem Schweregrad der epithelialen Zerstörung festgestellt werden (Hanifeh et al. 2018). S100A12 eignete sich zur Therapiekontrolle und zum Monitoring der Erkrankung bei Hunden mit IBD (Heilmann et al. 2016b). Im Vergleich zu fäkalem Calprotectin ist die Sensitivität des fäkalen S100A12 zur Detektierung von Hunden mit einem CCECAI ≥ 12 oder histologischer intestinaler Inflammation höher. Jedoch zeigt es eine niedrigere Spezifität (Grellet et al. 2014).

3.2.2 Calprotectin C

3.2.2.1 Struktur und Wirkung

Calprotectin gehört ebenfalls zu den S100 Proteinen und ist strukturell vergleichbar mit S100A12. Es setzt sich aus S100A8 (syn. Calgranulin A, myeloid related protein 8, MRP) und S100A9 (syn. Calgranulin B, MRP 14) zusammen. Es wird von aktivierten Makrophagen, neutrophilen Granulozyten und Monozyten exprimiert und ausgeschüttet (Odink et al. 1987). Auch Epithelzellen können S100A8/A9 während einer Entzündung freisetzen (Foell et al. 2004).

S100A9 liegt in unterschiedlichen Isoformen vor. Diese können mit S100A8 unter Kalziumanwesenheit verschiedene Heterodimere bzw. Tetramere bilden (Leukert et al. 2005, Leukert et al. 2006). Alle diese Formen werden unter dem Begriff Calprotectin zusammengefasst. Durch Nekrose oder Zellerstörung kommt es zur passiven Freisetzung von S100A8/A9. Eine aktive Freisetzung der Proteine findet während entzündlicher Prozesse statt. Die Sekretion von S100A8/A9 stellt so ein Warnsignal für den Wirt dar (Pruenster et al. 2016). Extrazellulär interagieren S100A8/A9 mit dem TLR-4 und dem RAGE (Hofmann et al. 1999, Vogl et al. 2007). Zudem besitzt Calprotectin antimikrobielle und antimykotische Eigenschaften (Steinbakk et al. 1990). Erhöhte extrazelluläre S100A8/A9 sind bei verschiedenen entzündlichen Erkrankungen

nachweisbar und stellen einen guten Marker zur Erkennung von Entzündungen dar (Foell et al. 2004).

3.2.2.2 Calprotectin C als Biomarker der chronischen Enteropathie des Menschen

In der Humanmedizin ist Calprotectin ein sehr gut geeigneter Marker zur Diagnostik der chronischen Enteropathie (Tibble et al. 2000a, Tibble et al. 2000b). Die fäkale Messung zeigt erhöhte S100A8/A9 Werte bei Patienten mit Morbus Crohn. Zudem ermöglicht die Messung mit hoher Sensitivität und Spezifität eine Unterscheidung zwischen Morbus Crohn und „Irritable bowel syndrome“ (Reizdarmsyndrom) (Tibble et al. 2000a). Es besteht eine signifikante Korrelation zwischen den fäkalen Calprotectinwerten und dem endoskopischen und histologischen Grad der Erkrankung (Roseth et al. 1997). Es eignet sich für Verlaufskontrollen unter Therapie und kann Erkrankungsrückfälle mit 80%iger Sensitivität erkennen (Tibble et al. 2000b).

Auch die Serumkonzentrationen von Calprotectin sind bei Menschen mit IBD oft erhöht (Lugering et al. 1995).

3.2.2.3 Calprotectin C als Biomarker der chronischen Enteropathie des Hundes

Das kanine Calprotectin konnte erstmals im Jahre 2008 aufgereinigt und teilweise charakterisiert werden (Heilmann et al. 2008a). Ein Immunoassay für die Quantifizierung von kaninem Calprotectin in Serum und Kot wurde etabliert (Heilmann et al. 2008b). Bei Hunden befinden sich die S100A8/9 produzierenden Zellen in der Lamina Propria in allen Segmenten des Gastrointestinaltrakts (Heilmann et al. 2019).

An IBD erkrankte Hunde zeigten signifikant höhere Calprotectinwerte im Serum als gesunde Hunde. Das Serumcalprotectin ermöglicht eine Unterscheidung zwischen kranken und gesunden Tieren mit einer Sensitivität von 82,4% und einer Spezifität von 68,4%. Es konnte keine Korrelation zwischen den klinischen Scoringsystemen oder dem histologischen Schweregrad und den gemessenen Calprotectinwerten nachgewiesen werden (Heilmann et al. 2012).

Die fäkal gemessenen Calprotectinwerte sind bei Hunden mit IBD signifikant höher als bei gesunden Tieren (Otoni et al. 2018). Zudem zeigten Hunde mit hohem klinischen Aktivitätsscore (CCECAI) höhere Calprotectinwerte als Patienten mit niedrigem Aktivitätsscore. Auch die histologischen Befunde korrelierten mit den gemessenen Calprotectinwerten im Kot (Grellet et al. 2013). Mit Hilfe der fäkalen Calprotectinmessung ist aber nicht nur eine Aussage über den Schweregrad der Erkrankung bei Hunden mit chronischer Enteropathie möglich, sondern auch eine Unterscheidung zwischen IBD Hunden und Hunden mit FRE oder ARE vor Therapiebeginn. Die kombinierte Messung von fäkalem Calprotectin mit dem C-reaktiven Protein (CRP) und/ oder

dem CCECAI erhöht die Unterscheidbarkeit zwischen diesen Erkrankungen (Heilmann et al. 2018).

3.2.3 C-reaktives Protein (CRP)

3.2.3.1 Struktur und Wirkung

Das C-reaktive Protein ist ein positives Akute-Phase-Protein. Es gehört zum angeborenen unspezifischen Immunsystem und wird in der Leber gebildet. Die Synthese wird im Rahmen einer akuten Entzündung durch Interleukin (IL)-1, IL-6 und Tumor-Nekrose-Faktor (TNF)- α vermittelt (Hurlimann et al. 1966, Eckersall 1995).

Akute-Phase-Proteine ändern ihre Serumkonzentration um bis zu 25% als Antwort auf einen entzündlichen Stimulus. Dabei wird zwischen major, moderat und minor Akute-Phase-Proteinen unterschieden (Ceron et al. 2005, Eckersall und Bell 2010). CRP gehört zu den major Akute-Phase-Proteinen. Eine niedrige Serumkonzentration kann nach Stimulation durch eine Entzündung sehr schnell auf hohe Serumkonzentrationen ansteigen (Eckersall und Bell 2010). Ein Major Akute-Phase-Protein liegt bei einem gesunden Tier in einer Konzentration von $<1\mu\text{g/l}$ vor und kann innerhalb von 24-48 Stunden nach einem inflammatorischen Stimulus auf die 100 bis 1000-fache Serumkonzentration ansteigen (Eckersall und Bell 2010).

Das CRP opsonisiert nach Freisetzung aus der Leber Bakterien oder apoptotische bzw. nekrotische Zellen, um diese für eine Phagozytose zu markieren. Zudem kann es über die Bindung an spezifischen Rezeptoren Monozyten und Makrophagen aktivieren und kann eine Gewebemigration von neutrophilen Granulozyten verhindern (Zouki et al. 1997, Gershov et al. 2000, Pepys und Hirschfield 2003). CRP ist in der Lage, das Komplementsystem zu aktivieren (Volanakis 1982) und ist ein unspezifischer Entzündungsmarker, welcher in Human- und Tiermedizin große klinische Bedeutung besitzt. Ein Konzentrationsanstieg ist bei den unterschiedlichsten entzündlichen, infektiösen oder neoplastischen Erkrankungen beschrieben (Pepys und Hirschfield 2003, Petersen et al. 2004, Ceron et al. 2005). Sowohl das Fortschreiten einer Erkrankung als auch das Ansprechen auf die Therapie können überwacht werden.

3.2.3.2 CRP als Biomarker der chronischen Enteropathie des Menschen

Das humane CRP ist 115 kDa groß und wird in der Leber, aber auch extrahepatisch gebildet (Murphy et al. 1991, Jabs et al. 2003). Beim gesunden Menschen liegen Serumkonzentrationen um $800\mu\text{g/L}$ vor (Shine et al. 1981, Ford et al. 2003). Humanes CRP stellt einen sensitiven Marker

zur Differenzierung zwischen einer aktiven IBD und anderen Erkrankungen dar. Patienten mit Morbus Crohn weisen höhere Serumkonzentrationen auf als Patienten mit ulzerativer Colitis. Zudem korreliert die CRP- Konzentration mit der Wahrscheinlichkeit einer chirurgischen Versorgung bei Patienten mit Morbus Crohn (Mankowska-Wierzbicka et al. 2016). Trotz klinischer Remission haben Patienten mit erhöhten CRP-Werten ein höheres Risiko für Hospitalisation und intestinale Resektion sowie perianale Chirurgie. Daher stellt es auch in der Remission einen guten Marker zur weiteren, ggf. aggressiveren Therapieplanung dar (Oh et al. 2017). CRP korreliert zudem gut mit dem Schweregrad der klinischen Erscheinung (Andre et al. 1981).

3.2.3.3 CRP als Biomarker der chronischen Enteropathie des Hundes

Das canine CRP wurde erstmals 1984 beschrieben. Das Molekulargewicht liegt bei 100kDA und es besteht aus fünf gleichen Untereinheiten (Homopentamer). Bereits vier Stunden nach einem akuten Stimulus kann ein signifikanter Konzentrationsanstieg verzeichnet werden. Somit reagiert es schneller als das humane CRP (Caspi et al. 1984).

Das mittels eines spezifischen ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) gemessene kanine CRP ist ein nützlicher Marker zum Monitoring des Voranschreitens der Erkrankung sowie zur Therapiekontrolle bei Hunden mit IBD (Jergens et al. 2003, Jergens et al. 2010, Menozzi et al. 2016). Auch ein Zusammenhang zwischen dem Schweregrad der Erkrankung und den Serumkonzentrationen des CRPs ist beschrieben (Equilino et al. 2015). Andere Studien konnten keinen Zusammenhang zwischen klinischem Erscheinungsbild (CIBDAI), dem endoskopischen oder dem histologischen Grad der Erkrankung sowie dem Outcome und der CRP- Konzentration finden (Allenspach et al. 2007, McCann et al. 2007, Otoni et al. 2018). Das Fehlen eines Anstiegs der CRP- Konzentration ist auch bei an IBD erkrankten Tieren möglich. In einer Studie mit 11 an IBD erkrankten Hunden wurde bei acht Hunden eine niedrige CRP-Konzentration im Normalbereich gemessen. Nur bei drei der 11 Hunde konnte ein Anstieg der CRP-Konzentration verzeichnet werden (Perez-Merino et al. 2015).

3.2.4 N-Methylhistamin

3.2.4.1 Struktur und Wirkung

Das N-Methylhistamin (NMH) ist ein Marker für Mastzelldegranulation und stellt eine stabile Form des Histamins dar. Histamin wird durch die Degranulation von Mastzellen im Rahmen einer Entzündung freigesetzt. Es wird durch die N-Methyltransferase in die stabile Form, das N-

Methylhistamin umgebaut (Schayer 1959, Steiner 2014). Es scheint einen Einfluss auf die Pathophysiologie und das klinische Erscheinungsbild der IBD zu haben.

3.2.4.2 N-Methylhistamin als Biomarker der chronischen Enteropathie des Menschen

Menschen mit IBD weisen vor allem in entzündeten Bereichen eine höhere Anzahl intestinaler mukosaler Mastzellen auf (Dvorak 1980, Andoh et al. 2006). Die Sekretionsrate von Histamin ist bei Patienten mit Morbus Crohn im Vergleich zu gesunden Probanden erhöht. Die Höhe der Sekretion ist mit der Aktivität der Erkrankung vereinbar (Knutson 1990).

Menschen mit aktivem Morbus Crohn oder Colitis ulcerosa weisen höhere NMH-Werte im Urin auf als gesunde Patienten. Es besteht eine signifikante Korrelation zwischen den gemessenen NMH-Werten im Harn, dem endoskopisch festgestellten Schweregrad und dem klinischen Aktivitätsindex der Erkrankungen (Weidenhiller et al. 2000, Winterkamp et al. 2002).

3.2.4.3 N-Methylhistamin als Biomarker der chronischen Enteropathie des Hundes

Mittels einer Gas-chromatographischen Massenspektrometrie ist die NMH- Messung auch beim Hund möglich. Hierbei können Kot, Urin und Serum als Probenmaterial genutzt werden (Ruau et al. 2009, Heilmann und Steiner 2018). Über die Anzahl der Mastzellen im Darm bei Hunden mit IBD gibt es verschiedene Aussagen. Eine Studie zeigte eine höhere Anzahl von Mastzellen im Darm von an IBD erkrankten Hunde im Vergleich zu gesunden Kontrollhunden auf (Locher et al. 2001). German et al. beschrieben 2001 eine niedrigere Anzahl von Mastzellen im Darm von Hunden mit IBD im Vergleich zu Hunden mit ARE und gesunden Hunden (German et al. 2001). Die NMH-Werte in Urin und Kot waren bei einigen Hunden mit chronischer Enteropathie erhöht (Berghoff et al. 2014).

Eine Korrelation zwischen NMH-Werten in Harn und Kot von Hunden mit chronischer Enteropathie und den endoskopischen Ergebnissen im Duodenum, dem histologischen Schweregrad oder der klinischen Aktivität der Erkrankung lag nicht vor. Hunde, die eine immunsuppressive Therapie benötigen, hatten eine signifikant niedrigere Anzahl an Mastzellen im Duodenum als Hunde der FRE- bzw. ARE- Gruppe (Anfinsen et al. 2014). Beim norwegischen Lundehund und dem Soft-Coated Wheaten Terrier konnten bei chronischen gastrointestinalen Erkrankungen erhöhte NMH-Werte im Kot festgestellt werden (Vaden et al. 2000, Berghoff 2008).

Im Urin gemessene NMH-Werte von Hunden mit chronisch gastrointestinalen Erkrankungen hatten eine positive Assoziation mit dem histologischen Grad der Erkrankung und der Serum-CRP-Konzentration. Es zeigte sich keine Korrelation zum Aktivitätsindex der Erkrankung (CCECAI) oder der mukosalen Mastzellanzahl (Berghoff et al. 2014).

4 Ziele der Studie

Ziele dieser prospektiven Studie waren, mehrere ausgewählte Biomarker im Blut und Kot von Hunden mit chronischen Enteropathien diätetischen und idiopathischen Ursprungs zu bestimmen um jene Marker zu identifizieren, die allein oder in Kombination von diagnostischem und /oder prognostischem Nutzen sind. Hintergrund der parallelen Bestimmung mehrerer Biomarker war dass die ausgewählten Parameter in vorhergehenden Studien nur einzeln bei den Patienten untersucht wurden. Studien zur kombinierten Bestimmung aller hier untersuchten Biomarker in Serum und Kot liegen jedoch nicht vor und könnten für die Diagnostik und Prognostik von Interesse sein. Bei den zu untersuchenden Markern handelte es sich um die Proteine C-reaktives Protein, S100A12, Calprotectin und N-Methylhistamin. Überprüft werden sollte, ob durch die alleinige oder kombinierte Messung der Biomarker eine frühzeitige Diagnosestellung ermöglicht werden kann. Dies könnte die kosten- und zeitintensive Diagnostik vereinfachen. Die diagnostische Aufarbeitung und Therapie könnten so schnellstmöglich entsprechend angepasst werden. Zudem sollte die Beziehung der Biomarker zu anderen, bereits etablierten Routinelaborparametern und dem klinischen Aktivitätsscore CIBDAI betrachtet werden, um zu ermitteln, ob die Diagnosestellung und die Einschätzung des Schweregrades der Erkrankung durch die Hinzuziehung der Biomarker-Konzentrationen vereinfacht werden kann.

III Material und Methoden

Im Zeitraum von Mai 2015 bis März 2018 wurden an der Klinik für kleine Haustiere der Freien Universität Berlin Serum- und Kotproben von Hunden gesammelt, die anamnestisch mindestens 3 Wochen persistierende oder intermittierende gastrointestinale Symptome aufwiesen. Die Probengewinnung diente ausschließlich diagnostischen Zwecken und erfolgte im Rahmen der routinemäßigen Aufarbeitung der Patienten. Daher war eine Tierversuchsanzeige nicht notwendig. Es erfolgte die Durchführung eines vorher festgelegten Untersuchungs- und Behandlungskonzeptes, welches im Verlauf genauer beschrieben wird. Im Rahmen des Studiendesigns wurden Verlaufskontrollen der Hunde zu definierten Zeitpunkten vorgenommen. Sowohl bei Erstvorstellung als auch bei Verlaufskontrolle oder Therapiewechsel wurden Kot- und Serumproben zur späteren Messung der ausgewählten Biomarker gesichert.

Die Aufzeichnung der Patientendaten erfolgte mit Hilfe des Datenverwaltungsprogrammes Vetera[®] (GP. Software, Eltville am Rhein, Deutschland). Alle Patientendaten von Tieren mit chronisch-entzündlicher Enteropathie wurden mit Microsoft[®] Office Excel[®] 2011 erfasst. Dabei wurden Daten wie Körpergewicht, Alter und Laborergebnisse numerisch aufgenommen. Daten mit beschreibendem Charakter wie Rasse, Geschlecht, Befunde durchgeführter Untersuchungen oder das Ansprechen auf Therapie wurden kodiert und anschließend statistisch ausgewertet.

1 Beschreibung der Patientenpopulation

1.1 Einschlusskriterien

In die prospektive Studie wurden Hunde aufgenommen, die in der Klinik für kleine Haustiere der Freien Universität Berlin vorgestellt wurden und an chronisch persistierenden oder chronisch intermittierenden gastrointestinalen Symptomen diätetischen (FRE) oder idiopathischen Ursprungs (ARE, IBD) litten.

1.2 Ausschlusskriterien

Aus der Studie ausgeschlossen wurden Patienten mit persistierenden oder chronisch intermittierenden gastrointestinalen Symptomen, die durch andere primäre oder sekundäre Ursachen wie Infektionen, Erkrankungen der Bauchspeicheldrüse, Endokrinopathien, Tumore oder andere systemische Erkrankungen ausgelöst wurden.

1.3 Allgemeines Untersuchungskonzept

Von allen eingeschlossenen Hunden wurden Daten zu Signalement, Anamnese und der allgemeinen klinischen Untersuchung sowie weiteren speziellen klinischen Untersuchungen des Gastrointestinaltrakts erhoben. Weiterhin wurden bildgebende sowie hämatologische, blutchemische und serologische Diagnostiken durchgeführt. Eine Kotuntersuchung musste bei jedem Patienten vorhanden sein. Zum Teil wurden endoskopische Untersuchungen oder Probelaparotomien zur Entnahme von Gewebeprobe durchgeführt. Bei den Verlaufsuntersuchungen wurden Informationen über den Krankheitsverlauf und das Ansprechen auf eine bestimmte Therapie aufgezeichnet.

1.4 Signalement

Dokumentiert wurden: Alter, Rasse, Körpergewicht, Geschlecht.

Bei allen Tieren wurde bei Erstvorstellung und im Verlauf der Body Condition Score (BCS) bestimmt (Laflamme 1997) (Tab.1).

Tabelle 1: Body Condition Score (Laflamme 1997).

BCS 1 (Dünn/Kachektisch)	Rippen, Wirbelsäule und Beckenknochen gut zu sehen (auch aus Distanz) Kein Körperfett Deutlicher Verlust von Muskelmasse
BCS 2 (Untergewichtig)	Rippen gut sichtbar und tastbar Beckenknochen stehen hervor Deutliche Taille und hochgezogene Bauchlinie
BCS 3 (Idealgewicht)	Rippen tastbar

	Taille von oben gut sichtbar Leicht hochgezogene Bauchlinie
BCS 4 (Übergewichtig)	Rippen schwer tastbar, durch Fett überdeckt deutliche Fetteinlagerungen auf Rücken/ Schwanzansatz Taille kaum sichtbar
BCS 5 (Adipös)	Rippen nicht tastbar und massiv von Fett bedeckt massive Fetteinlagerungen auf Rücken/ Schwanzansatz Keine Taille, gerade Bauchlinie

1.5 Anamnese

Bei den Patienten wurde eine vollständige Anamnese erhoben. Hierbei wurden besonders Krankheitsdauer, Krankheitsverlauf, Krankheitserscheinungen, Vorbehandlungen, Haltung und Fütterung des Tieres sowie Impf- und Entwurmungsstatus erfragt. Zudem wurde eine Erhebung des Canine Inflammatory Bowel Disease Activity Index (CIBDAI) durchgeführt. Weitere klinisch relevante Symptome wie fäkaler Mukus, Hämatochezie, Meläna, Hämatemesis, Tenesmus, Flatulenzen, Borborygmen und abdominaler Schmerz wurden beurteilt. Aus der Anamnese wurden Angaben zur eventuellen Diätfütterung vor Therapiebeginn sowie eine Vorbehandlung mit Medikamenten gesammelt. Eine eventuelle Vorbehandlung mit einem Antibiotikum oder einem immunsuppressiven Medikament musste mindestens vier Wochen vor Erstvorstellung abgeschlossen gewesen sein. Zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses wurde kein Hund antimikrobiell oder immunsuppressiv therapiert. Weiterhin wurde die Lokalisation der gastrointestinalen Symptomatik evaluiert.

1.6 Klinische Untersuchung

Die klinische Allgemeinuntersuchung umfasste die Parameter Schleimhautfarbe, Schleimhautfeuchte, kapilläre Füllungszeit, Atem- und Herzfrequenz, Auskultation von Herz und Lunge, Palpation des Abdomens und der tastbaren Lymphknoten sowie die Messung der rektalen Körpertemperatur.

1.7 Aktivitätsindex

Bei allen Patienten wurde bei Erstvorstellung und im Verlauf ein klinischer Aktivitätsindex bestimmt. Hierzu wurde der Canine Inflammatory Bowel Disease Activity Index (CIBDAI) genutzt (Tab. 2). Dieser beinhaltet die Parameter Aktivität, Appetit, Vomitus, Kotkonsistenz, Kotabsatzfrequenz und Gewichtsverlust. Dieser ursprünglich für die IBD des Hundes entwickelte Aktivitätsindex eignet sich gut zur Einstufung des Schweregrades chronischer Enteropathien (Jergens et al. 2003). Wenn möglich wurde auch der Canine Chronic Enteropathy Clinical Activity Index (CCECAI) genutzt. Dieser beinhaltet zusätzlich zu den oben genannten Kriterien noch die Parameter Juckreiz, Aszites/Ödeme und Albuminkonzentration im Serum (Allenspach et al. 2007).

Tabelle 2: CIBDAI/CCECAI (Jergens et al. 2003, Allenspach et al. 2007a).

Parameter	CIBDAI	CCECAI
Aktivität	0= normal 1= geringgradig reduziert 2= mittelgradig reduziert 3= hochgradig reduziert	0= normal 1= geringgradig reduziert 2= mittelgradig reduziert 3= hochgradig reduziert
Appetit	0= normal 1= geringgradig reduziert 2= mittelgradig reduziert 3= hochgradig reduziert	0= normal 1= geringgradig reduziert 2= mittelgradig reduziert 3= hochgradig reduziert
Erbrechen	0= kein 1= 1x/Woche 2= 2-3x/ Woche 3= >3x/Woche	0= kein 1= 1x/Woche 2= 2-3x/ Woche 3= >3x/Woche
Kotkonsistenz	0= normal geformt 1= weich, ungeformt 2= sehr weich, breiig 3= wässrig	0= normal geformt 1= weich, ungeformt 2= sehr weich, breiig 3= wässrig
Kotabsatzfrequenz	0= 1x/Tag 1= 2-3x/Tag 2= 4-5x/Tag 3= >5x/Tag	0= 1x/Tag 1= 2-3x/Tag 2= 4-5x/Tag 3= >5x/Tag

Gewichtsverlust	0= kein 1= < 5% 2= 5-10% 3= >10%	0= kein 1= < 5% 2= 5-10% 3= >10%
Albumin (g/L)		0= >20 1= 15-19,9 2= 12-14,9 3= <12
Aszites/Ödeme		0= kein 1= geringgradig 2= mittelgradig 3= hochgradig
Juckreiz		0= kein 1= selten 2= regelmäßig 3= wacht davon auf
Auswertung (Summe der Punkte)	0-3 klinisch nicht signifikant 4-5 milde Enteropathie 6-8 moderate Enteropathie 9-11 schwere Enteropathie > 12 sehr schwere Enteropathie	

1.8 Charakterisierung der Diarrhö

Es wurden Informationen über die Kotbeschaffenheit gesammelt. Mittels der Parameter Kotkonsistenz, Kotabsatzfrequenz, Kotmenge, Tenesmus, Gewichtsverlust, Schleim- oder Blutbeimengungen im Kot oder Meläna konnte die Lokalisation des betroffenen Darmabschnittes definiert werden (Hall und German 2010). Dabei wurde zwischen folgenden Lokalisationen unterschieden:

- Dünndarmdurchfall: durch Gewichtsverlust, erhöhtes Kotvolumen, normale Absatzfrequenz charakterisiert (Hall und German 2010)
- Dickdarmdurchfall: durch Tenesmus, Schleimbeimengungen, erhöhte Absatzfrequenz charakterisiert (Hall und German 2010)
- Mischformen

1.9 Blutuntersuchung

Eine Blutuntersuchung wurde bei allen Probanden bei Erstvorstellung und im Verlauf durchgeführt. Die Verlaufsuntersuchungen beschränkten sich zum Teil auf eine reduzierte Anzahl ausgewählter Parameter, die in der vorherigen Kontrolle von der Norm abwichen oder dem Monitoring der Erkrankung dienen.

Die Blutentnahme erfolgte durch Punktion der *Vena cephalica dexter/sinister*, der *Vena saphena lateralis dexter/sinister* oder der *Vena jugularis dexter/sinister*. Das Blut wurde in EDTA- und heparinisierten bzw. mit Citratplasma-versetzten Blutröhrchen sowie Serumblutröhrchen aufgefangen.

Die Untersuchungen des Blutbildes und der Blutchemie erfolgten in der Klinik für kleine Haustiere der Freien Universität Berlin. Die genutzten Referenzbereiche sind in Tabelle 3 dargestellt. Die hämatologische Untersuchung erfolgte am Sysmex®XT-2000i Hämatologiesystem (Firma Sysmex GmbH, Norderstedt, Deutschland). Eine Differenzierung der Leukozyten erfolgte zumeist durch das manuelle Auszählen von 100 nach Pappenheim gefärbten weißen Blutzellen. Aus diesem ermittelten relativen Anteil wurde unter Berücksichtigung der Gesamtleukozytenzahl die absolute Zellzahl der einzelnen Leukozytenfraktionen berechnet.

Tabelle 3: Referenzwerte der Hämatologie (Klinik für kleine Haustiere, Freie Universität Berlin).

Parameter	Referenz	Einheit
WBC (Leukozyten)	6,000-12,000	/ μ l
RBC	5,9- 8,3	T/l
Hämoglobin	14,7- 19,9	g/dl
Hämatokrit	0,40- 0,55	l/l

MCV	62- 72	fl
MCH	22- 25	pg
MCHC	32- 36	g/dl
Thrombozyten	165- 400	G/l
Neutrophile Granulozyten	3,000- 9,000	/ μ l
Eosinophile Granulozyten	< 600	/ μ l
Lymphozyten	1,000- 3,600	/ μ l
Monozyten	< 500	/ μ l

RBC, Anzahl roter Blutzellen; MCV, mittleres korpuskuläres Volumen; MCH, mittleres korpuskuläres Hämoglobin; MCHC, mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration

Die blutchemische Untersuchung umfasste folgende Parameter: Elektrolyte (Natrium, Kalium, Kalzium (gesamt), Phosphor, Chlorid), Glukose, Kreatinin, Harnstoff, Alanin-Aminotransferase (ALT), Aspartat-Aminotransferase (AST), alkalische Phosphatase (AP), Bilirubin, Protein, Albumin, Blutglukose (Tab.4). Die Messungen wurden am Kone Lab prime 60 (Firma Thermo Fisher Scientific Inc., Vantaa, Finnland) aus Heparin-Plasma durchgeführt.

Tabelle 4: Referenzwerte der blutchemischen Untersuchung (Klinik für kleine Haustiere, Freie Universität Berlin).

Parameter	Referenz	Einheit
Natrium	140- 150	mmol/l
Kalium	3,6- 4,8	mmol/l
Kalzium gesamt	2,5- 2,9	mmol/l
Phosphor	0,96- 1,6	mmol/l
Chlorid	100- 113	mmol/l
Glukose	4,5- 6,2	mmol/l
Harnstoff	3,5- 10	mmol/l
Kreatinin < 20kg KGW > 20kg KGW	53- 106 53- 124	μ mol/l
Protein	54- 66	g/l

Albumin	28- 36	g/l
ALT	≤ 76	U/l
AP	≤ 97	U/l
AST	≤ 41	U/l
Bilirubin	≤ 5,1	μmol/l

KGW: Körpergewicht

Die Bestimmung des Basalcortisols und des Cobalaminspiegels im Serum erfolgte durch Laboklin (Labor für klinische Diagnostik GmbH & Co. KG Bad Kissingen). Bei einem Basalcortisol unter 20ng/ml wurde zum Ausschluss eines Morbus Addison (Hypoadrenokortizismus) ein ACTH-Stimulationstest durchgeführt. Hierzu wurde ein Venenzugang (Vasofix®Braunüle® (20 oder 22 Gauge), B. Braun, Deutschland) in die *Vena cephalica dexter/ sinister* oder die *Vena saphena lateralis dexter/ sinister* gelegt. Zum Zeitpunkt null wurde ein 4-ml-fassendes Serumröhrchen mit mindestens 0,5ml Vollblut gefüllt (Basalwert) und im Anschluss 5μg/kg ACTH (Synacthen®, Alfasigma S.p.A., Italien) intravenös injiziert. Nach einer Stunde wurde eine zweite Blutentnahme mit einem Serumröhrchen durchgeführt (Stimulationswert). Nur Hunde mit einem sicher ausgeschlossenen Hypoadrenokortizismus wurden in die Studie aufgenommen.

Messungen der spezifischen kaninen Pankreaslipase (cPLI®) sowie die Trypsin-like Immunoreactivity (TLI®) wurden bei IDEXX Vet•Med•Labor GmbH (Division of IDEXX Laboratories Inc., Ludwigsburg, Deutschland) durchgeführt.

1.10 Kotuntersuchung

Eine Sammelkotprobe von 3 Kotabsätzen jedes Probanden wurde durch die Firma Laboklin mittels Flotation und Sedimentation auf Wurmeier sowie auf Giardien- Antigene mittels Sandwich-Enzymimmunoassay untersucht. Hunde mit einem positiven kotparasitologischen Befund wurden aus der Studie ausgeschlossen. In Verdachtsfällen (hämorrhagischer Dickdarmdurchfall (Palm 2014) wurde zudem eine rektale Schleimhautprobe mittels Zytobrush entnommen, mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt und auf Prototheken untersucht.

1.11 Bildgebende Diagnostik

Die bildgebende Diagnostik wurde bei allen Hunden zum Ausschluss verschiedener Differentialdiagnosen chronischen Durchfalls durchgeführt. Eine röntgenologische Untersuchung

des Thorax und Abdomens erfolgte in latero-lateraler sowie ventro-dorsaler Lagerung mittels Philips Optimus 50/65/80 Version 3.x (Firma: Philips Medical Systems DMC GmbH, Hamburg). Die ultrasonographische Untersuchung des Abdomens wurde am LOGIQ P6 oder LOGIQ S7 Expert (Firma GE Medical Systems, Milwaukee, Wisconsin, USA) mittels linearem oder konvexem Schallkopf durchgeführt. Es wurde vor allem auf die Darmwandschichtung, die Dicke der Darmwände, die Echogenität und eventuell vergrößerte mesenteriale Lymphknoten geachtet und die Befunde dokumentiert.

1.12 Endoskopie und Biopsieentnahme

Die endoskopische Untersuchung des Magens, Duodenums und Kolons wurde an der Klinik für kleine Haustiere der Freien Universität Berlin durch einen erfahrenen Internisten durchgeführt. Die Patienten befanden sich zum Zeitpunkt der endoskopischen Untersuchung in Allgemeinanästhesie. Je nach Größe des Patienten wurde ein flexibles Gastroskop 60714 PK oder 60118 PKS der Firma Storz genutzt (KARL STORZ SE & Co. KG, Tuttlingen, Deutschland). Auch die flexiblen Gastroskope der Firma Pentax EG 2470K und V5B2900 wurden in Einzelfällen verwendet (PENTAX Europe GmbH, Hamburg). Zur Probenentnahme wurde eine löffelförmige, ovale Biopsiezange mit Dorn und Fenster oder eine löffelförmige, ovale, gezahnte Biopsiezange genutzt (KARL STORZ SE & Co. KG, Tuttlingen, Deutschland).

Informationen zur Schleimhautbeschaffenheit, Auflagerungen sowie Zubildungen auf der Schleimhaut, Erosionen und eventuell auftretenden Blutungen vor und nach der Probenentnahme wurden dokumentiert. Es wurden mehrere Proben aus den untersuchten Abschnitten Magen, Duodenum und Kolon entnommen. Diese wurden erst in eine Petrischale mit steriler Kochsalzlösung verbracht und anschließend in einer 7%igen Formalinlösung fixiert. Vollschichtbiopsien, die durch eine Probelaparotomie entnommen wurden, wurden direkt in 7%ige Formalinlösung eingelegt.

1.13 Histologische Untersuchung

Alle Proben wurden am Institut für Tierpathologie der Freien Universität Berlin untersucht. Die Proben wurden schichtweise aufgearbeitet. Die Kriterien: Lokalisation, Anzahl und Größe der entnommenen Proben, Entzündungscharakter sowie der Schweregrad der Entzündung und das Vorliegen von Neoplasien oder Lymphangiektasien wurden für jeden beprobten Magendarmabschnitt festgehalten.

2 Probenmaterial

2.1 Proben

Von den eingeschlossenen Patienten wurden Serum- und Kotproben gesammelt. Die Blutentnahme erfolgte im Rahmen der routinemäßigen Diagnostik und Kontrolle der Patienten. Die Kotproben wurden nach spontanem Absatz am Tag der Kontrolle durch den Besitzer eingesammelt und zum Termin mitgebracht. Serum- und Kotproben wurden gepaart an einem Tag gesammelt. Im Falle eines nicht stattgefunden Kotabsatzes, wurde die Kotprobe durch die Besitzer schnellstmöglich innerhalb weniger Tage in die Klinik für kleine Haustiere gebracht oder durch rektale Palpation am Vorstellungstag entnommen.

2.2 Aufarbeitung der Proben

Um Serum zu gewinnen, wurde Blut in einem Probenröhrchen mit Gerinnungsaktivator (Fa. Sarstedt AG & Co, Nümbrecht) aufgefangen. Es schloss sich eine 30-minütige Gerinnungszeit bei Raumtemperatur (20-25°C) an. Die Serumproben wurden im Anschluss in einer LabofugeTM400 (Thermo ScientificTM HeraeusTM LabofugeTM400 Tischzentrifuge, Firma Fisher Scientific GmbH, Schwerte) bei 2383 x g (Beschleunigungsgröße) für 5 Minuten zentrifugiert. Das Serum wurde anschließend in ein frisches Eppendorf-Gefäß (Reagiergefäß 1,5 ml, Sarstedt, Fa. Sarstedt AG & Co, Nümbrecht) pipettiert und bei -20°C eingefroren. Die Kotproben wurden direkt bei -20°C eingefroren.

2.3 Beprobungszeitraum

Alle Patienten wurden bei Erstvorstellung beprobt. Weitere Verlaufspuren wurden in den Wochen eins bis drei nach Erstvorstellung sowie bei Therapiewechsel genommen. Die Letztvorstellung erfolgte zwei bis neun Wochen nach dem jeweils letzten Therapiewechsel und stellte den letzten Beprobungszeitpunkt dar. Die Häufigkeit und Regelmäßigkeit der Untersuchung und damit auch der Probenentnahme war abhängig vom Grad der Besitzercompliance und der gestellten Diagnose bzw. dem Schweregrad der Erkrankung.

2.4 Versand der Proben

Der Probenversand an das GI Lab der Texas A&M Universität erfolgte dreimal im Studienzeitraum. Die Proben wurden zum Versand auf Trockeneis gelagert und mittels Expressversand verschickt.

3 Messung der Biomarker

Die Messung aller Biomarker erfolgte im GI Lab der Texas A&M Universität, nach der jeweils etablierten Methodik (Tab. 5).

Tabelle 5: Genutzte Methodik der Messung der Biomarker in Serum und Kot.

Biomarker	Test	RB	Einheit	Literatur
Serum S100A12	ELISA	56- 331	µg/L	(Heilmann et al. 2016a).
Serum Calprotectin	ELISA	0,9-11,9	mg/L	(Heilmann et al. 2011b)
C-reaktives Protein*	ELISA	2,5-7,6	mg/L	(Berghoff et al. 2006)
Serum N- Methylhistamin	GCMS	-		(Ruaux et al. 2009)
Fäkales S100A12**	ELISA	3-610	ng/g	(Heilmann et al. 2016a)
Fäkales Calprotectin	ELISA	3.2-65.4	µg/g	(Heilmann et al. 2008)
Fäkales N-Methylhistamin	GCMS	5.3-253.9	ng/g	(Ruaux et al. 2009)

RB: Referenzbereich; ELISA: Enzyme-linked immunosorbent assay; GCMS Gaschromatographie-Massenspektrometrie

*(ELISA) der Firma Tri-Delta Phase (Tri-Delta Diagnostic, Boonton Township, NJ)

**Das genutzte Assay scheint keine Kreuzreaktivität zu S100A8/A9 in Serum oder Kot aufzuweisen (Heilmann et al. 2011a).

4 Diagnosestellung

Das angewendete Schema zur Diagnosestellung und weiteren Differenzierung der chronischen Enteropathie des Hundes in der vorliegenden Studie bestand aus (1) einer mindestens zwei bis 3-wöchigen Eliminationsdiät und bei Bedarf einer (2) mindestens zweiwöchigen Gabe eines Antibiotikums (Metronidazol), bevor eine Beprobung der Magendarmschleimhaut mit anschließender immunsuppressiver Therapie durchgeführt wurde. Die genauen Schritte sind den

Kapiteln 4.1-4.3 zu entnehmen. Nur bei sehr schweren Erkrankungsformen mit starken Abweichungen der Laborergebnisse (Hypoalbuminämie, Panhyproteinämie) durfte von dem Schema abgewichen werden.

4.1 Futter- responsive Enteropathie

Um die Diagnose einer FRE zu stellen, erhielt der Patient eine strenge Eliminationsdiät. Hierbei konnte sowohl eine konventionelle Diät (Hill`s z/dTM) oder auch eine selbstgekochte Diät mit einer bis dahin für den Hund unbekanntem Proteinquelle (Pferd, Strauß, Rentier u.a.) verwendet werden. Die Diät musste konsequent über mindestens 4-8 Wochen verabreicht werden. Im Falle einer FRE kam es zu einer deutlichen Verbesserung der Symptome bzw. zu einer Symptombefreiheit innerhalb der ersten zwei bis drei Wochen der Eliminationsdiät. Bei ausbleibender Besserung der Klinik aber gutem Allgemeinbefinden des Hundes wurde ein Diätwechsel angestrebt. Auf eine anschließende Provokation durch die Fütterung des ursprünglichen Futters wurde auf Besitzerwunsch jedoch verzichtet. Zur unterstützenden symptomatischen Therapie wurden Medikamente wie Metamizol (Analgesie), Omeprazol (Magenschutz), Cyanocobalamin, Maropitant oder Metoclopramid (Antiemetikum) sowie Flohsamenschalen verwendet.

4.2 Antibiotika- responsive Enteropathie

Bei ausbleibender Besserung durch eine Ausschlussdiät, Verschlechterung des klinischen Bildes oder Wiederauftreten der Symptome im Rahmen der Diät wurde die Therapie um ein Antibiotikum ergänzt. Es erfolgte die orale Gabe von Metronidazol 10mg/kg zweimal täglich. Die Diät wurde weiterhin verabreicht. Es sollte zu einer zeitnahen, innerhalb von 14 Tagen, Verbesserung der klinischen Symptomatik kommen. Zur unterstützenden symptomatischen Therapie wurden Medikamente wie unter 4.1 aufgeführt verwendet. Zu Beginn der Studie wurde die, nach neuester Literatur empfohlene (Cerquetella et al. 2020), probiotische Therapie noch nicht routinemäßig eingesetzt.

4.3 Inflammatory Bowel Disease

Bei ausbleibender Besserung der Symptome, sowie Wiederauftreten der Symptomatik unter oder nach der Therapie mit einem Antibiotikum und der Eliminationsdiät oder Verschlechterung des Allgemeinzustandes des Patienten wurde den Besitzern zu einer Gastroduodeno- und Koloskopie geraten. In drei Fällen wurde zur Beprobung der gastrointestinalen Schleimhaut

eine Probelaparotomie durchgeführt, da für diese Hunde ein chirurgischer Eingriff (Ovarhysterektomie, Entfernung eines kryptorchiden Hodens) geplant war. Nach der Probengewinnung wurde die Therapie um ein immunsuppressives Medikament ergänzt. Es erfolgte in der Regel die Gabe von 0,5-1mg/kg Prednisolon einmal täglich. Wenn notwendig wurde die immunsuppressive Therapie um Ciclosporin 5mg/kg einmal täglich ergänzt. Die Diagnose IBD wurde auf Grund der histopathologischen Befunde erhoben. Zur unterstützenden symptomatischen Therapie wurden Medikamente wie unter 4.1 aufgeführt verwendet. Bei einigen Patienten kam zusätzlich ein Probiotikum (SIVOMIXX™, Acom Healthcare) zum Einsatz.

5 Therapieerfolg/Remission

Der Therapieerfolg wurde mittels Kontrolluntersuchungen verifiziert. Hierfür wurden Daten zum Allgemeinbefinden des Patienten, der Gewichtsverlauf, klinische Symptome, der konsequenten Gabe von Eliminationsdiät und/oder Medikamenten und der CIBDAI erhoben.

Zur Einschätzung der Remission wurde folgendes Schema genutzt (Jergens et al. 2010):

- vollständige Remission: CIBDAI Besserung über 75% oder keine klinischen Anzeichen
- partielle Remission: CIBDAI Besserung von 25- 75%, Verbesserung der klinischen Anzeichen
- ausbleibende Remission: CIBDAI Besserung unter 25%, keine Verbesserung ggf. Verschlechterung der klinischen Anzeichen

6 Verlaufsmessungen und Therapiewechsel

Für die Verlaufsmessungen der untersuchten Biomarker wurden Daten von 30 Hunden ausgewertet. Die Erstuntersuchung stellte den ersten Untersuchungszeitpunkt dar. Die Verlaufskontrolle fand 7-21 Tage nach der Erstuntersuchung statt. Die Letztuntersuchung wurde 2-9 Wochen nach dem letzten Therapiewechsel durchgeführt (Hunde mit FRE 2-7 Wochen, ARE/IBD- Hunde 3-9 Wochen).

Daten zum Therapiewechsel wurden von elf Hunden ausgewertet. Die Serum- und Kotproben vor Therapiewechsel sind zum Zeitpunkt der Umstellung der Medikamente entnommen worden. Nach zwei bis acht Wochen fand eine erneute Probenentnahme statt. Diese gemessenen Werte wurden zur Auswertung der Biomarker nach Therapiewechsel genutzt.

7 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung wurde mittels SPSS[®] Version 23 (SPSS, Chicago; Illinois, USA) durchgeführt. Zuerst wurden die metrischen Daten mittels Shapiro-Wilk-Test auf Normalverteilung überprüft. Diese Daten wurden dann mittels Median sowie Minimum und Maximum beschrieben. Blutwerte wurden mittels Median, Minimum, Maximum und Anzahl der vom Referenzbereich abweichenden Daten beschrieben. Kategorielle Daten wurden als Anzahl (n) und Prozente angegeben. Konzentrationen des C-reaktiven Proteins <2,5mg/dL wurden zur statistischen Auswertung auf 2,5mg/dL gesetzt.

Da keine Normalverteilung der Daten vorlag, wurden zur Überprüfung eventueller Zusammenhänge zwischen kategoriellen Daten nicht-parametrische Tests wie der Chi-Quadrat-Test bzw. Fisher-Exakt-Test verwendet. Zum Vergleich der Mediane zwischen den Krankheits- oder Remissionsgruppen wurde der Kruskal-Wallis-Test (bei drei Gruppen) und der Mann-Whitney-U-Test (bei zwei Gruppen) genutzt. Die statistische Signifikanz wurde auf $p < 0,5$ festgelegt. Um Korrelationen zwischen den Parametern zu überprüfen, wurde ein nicht-parametrischer Spearman-Test genutzt. Der Spearman ρ -Wert (r_s) wurde als perfekte (1), sehr starke (0,9- 1), starke (0,7- 0,9), mittlere (0,5- 0,7), schwache (0,2- 0,5), sehr schwache (0- 0,2) oder keine (0) Korrelation beschrieben. Die grafische Darstellung der Daten erfolgte mittels GraphPad Prism[®] Version 8 (GraphPad Software, San Diego, Kalifornien, USA).

IV Ergebnisse

1. Teil 1: Beschreibung der Patientenpopulation

Im Zeitraum von März 2015 bis März 2018 wurden 32 Hunde in die Studie aufgenommen. Die ausgewählten Patienten zeigten seit mindestens 3 Wochen intermittierende oder persistierende gastrointestinale Beschwerden. Folgende Diagnosen konnten bei den Hunden gestellt werden: FRE (n= 11), ARE (n= 9) sowie IBD (n= 12). Es konnten jeweils Serum- und Kotproben gewonnen werden. Bei der Mehrzahl der Hunde (30/ 32, 93,7%) wurden Verlaufsuntersuchungen durchgeführt und dokumentiert. Zwei Hunde wurden nur mit den Proben der Erstuntersuchung eingeschlossen.

1.1 Signalement

Es wurden Alter, Geschlecht, Rasse und Gewicht ausgewertet (Tab. 6). Das Alter bei Erstvorstellung lag im Median bei 3,5 Jahren (Altersspanne: 6 Monate- 14 Jahre). Im Vergleich der Krankheitsgruppen waren die Hunde der ARE-Gruppe im Median (medianes Alter: 3,0 Jahre) jünger als die Hunde der FRE- (medianes Alter: 4,0 Jahre) und IBD- Gruppe (medianes Alter: 4,5 Jahre). Die Altersunterschiede waren im Krankheitsgruppenvergleich nicht signifikant ($p= 0,748$). Es wurden keine signifikanten Altersunterschiede zwischen den Geschlechtern ($p= 0,250$) festgestellt. Das Geschlechterverhältnis der Hunde war ausgeglichen (weiblich intakt, 9/ 32, 28,1%; weiblich kastriert, 7/ 32, 21,9%; männlich intakt, 10/ 32, 31,3%; männlich kastriert, 6/ 32, 18,8%).

In die vorliegende Studie wurden 22 verschiedene Hunderassen eingeschlossen, wobei Mischlingshunde unterschiedlicher Gewichtsklassen am häufigsten vorgestellt wurden (11/ 32, 34,3%), gefolgt von Pudel, Französischer Bulldogge, Cocker Spaniel und Labrador (2/ 32, 6,3%). Einmal vertreten (je 1/ 32, 3,1%) waren: Rauhaarteckel, Leonberger, Coton de Tulear, Zwergkurzhaarteckel, Hollandse Herdershond, Boston Terrier, sibirischer Husky, Cocker Spaniel, Labradoodle, Airedale Terrier, Chihuahua, Mops, Deutscher Schäferhund, Border Collie und Bolonka Zwetna. Die Diagnose IBD wurde vor allem bei Mischlingshunden der unterschiedlichen Gewichtsklassen (5/ 32, 15,6%) sowie bei beiden Cocker Spaniern gestellt. Ein signifikanter

Unterschied zwischen den Krankheitsgruppen hinsichtlich der Hunderassenverteilung konnte nicht ausgemacht werden ($p= 0,327$).

Die 32 untersuchten Hunde hatten im Median ein Gewicht von 10,7kg (3,10kg- 38,5kg). Die Hunde der ARE-Gruppe hatten im Median das höchste Gewicht (Median: 24,5 kg) im Vergleich zu den FRE- und IBD-Patienten. In der Studienpopulation konnte kein signifikanter Unterschied für den Faktor Gewicht detektiert werden ($p= 0,455$).

Von den fünf möglichen Graden des Body Condition Scores (BCS) wurden in der Studienpopulation nur Hunde mit Untergewicht (BCS= 2, 9/ 32, 28,1%), Idealgewicht (BCS= 3, 21/ 32, 65,6%) und Übergewicht (BCS= 4, 2/ 32, 6,3%) vorgestellt. Kachektische (BCS= 1) und adipöse Hunde (BCS= 5) waren nicht vertreten. Der mediane BCS der Studienpopulation sowie der drei Krankheitsgruppen lag bei 3. Die meisten untergewichtigen Hunde ($n= 9$) gehörten zur IBD-Gruppe (4/ 9, 44,4%). Es gab keinen signifikanten Unterschied des BCS zwischen den Krankheitsgruppen ($p= 0,822$).

Tabelle 6: Signalement von 32 Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien bei Erstvorstellung verglichen nach Diagnosegruppen.

Diagnosegruppe	n	Geschlecht M/MK/ W/WK	Charakteristika						
			Alter		Gewicht		Body Condition Score		
			in Jahren		in kg		ordinal (1-5 Punkte)	Kategorie	
			Median	Spanne	Median	Spanne	Median	Spanne	UG/IG/ÜG
Total	32	10/6 9/7	3,5	0,5-14,0	10,7	3,1-38,5	3	2-4	9/21/2
Diagnosen									
(P Wert †)		0,318	0,748		0,455		0,822		
FRE	11	3/1/5/2	4,0	0,5-11,0	10,2	6,6-36,0	3	2-3	3/8/0
ARE	9	5/1/1/2	3,0	0,6-14,0	24,5	6,6-38,5	3	2-4	2/6/1
IBD	12	2/4/3/3	4,5	1,0-12,0	10,7	3,1-29,5	3	2-4	4/7/1

†P Werte bestimmt mit Pearson Chi-Quadrat oder Fisher`s Exact Test, um kategorielle Variablen zu vergleichen. Kruskal-Wallis Test zum Vergleich der Mediane. Signifikanz < 0,05; M, männlich; MK, männlich kastriert; W, weiblich; WK, weiblich kastriert; UG, Untergewicht; I, Idealgewicht; ÜG, Übergewicht; FRE, Futter-responsive Enteropathie; ARE, Antibiotika-responsive Enteropathie; IBD, Inflammatory Bowel Disease

1.2 Anamnese

Daten zur Lokalisation der gastrointestinalen Erkrankung, der klinischen Aktivitätsindices (CIBDAI/ CCECAI), weitere klinische Symptome und eine gegebenenfalls durchgeführte Vorbehandlung wurden erfasst und ausgewertet.

1.2.1 Lokalisation

Anhand von Informationen aus der Anamnese wurde die wahrscheinliche Lokalisation der chronischen Enteropathie im Darmtrakt (Dünndarm/Dickdarm) vorgenommen. Dabei waren Mischformen am häufigsten vertreten (21/ 32, 65,6%). Reiner Dünndarmdurchfall wurde in allen drei Krankheitsgruppen gleich häufig beobachtet (jeweils n= 1). Vorwiegend Dickdarmdurchfall zeigten vor allem Hunde der FRE- Gruppe. Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden (p= 0,922). Die Verteilung der Lokalisation der Erkrankung innerhalb der Studienpopulation ist in Tabelle 7 dargestellt. Es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen dem betroffenen Abschnitt des Gastrointestinaltraktes und der klinischen Remission festgestellt werden (p= 0,796).

Tabelle 7: Lokalisation der gastrointestinalen Symptome zum Zeitpunkt der Erstvorstellung bei 32 Hunden verglichen nach Diagnosegruppen.

Lokalisation	Total n (%)	Vergleich			P Wert †
		FRE (n=11) n (%)	ARE (n=9) n (%)	IBD (n=12) n (%)	
Dünndarmdurchfall	3/32 (9,4)	1 (9,1)	1 (11,1)	1 (8,3)	0,922
Dickdarmdurchfall	6/32 (18,8)	3 (27,3)	1 (11,1)	2 (16,6)	
Mischform	21/32 (65,6)	6 (54,5)	7 (77,7)	8 (66,6)	
Nur Erbrechen	2/32 (6,2)	1 (9,1)	0	1 (8,3)	

†P Werte bestimmt mit Pearson Chi-Quadrat oder Fisher`s Exact Test, um kategorielle Variablen zu vergleichen. Signifikanz < 0,05; FRE, Futter-responsive Enteropathie; ARE, Antibiotika-responsive Enteropathie; IBD, Inflammatory Bowel Disease

1.2.2 Aktivitätsindizes der chronischen Darmerkrankung bei Erstvorstellung

1.2.2.1 Canine Inflammatory Bowel Disease Activity Index

Der Median des CIBDAIs aller Patienten (n= 32) bei Erstvorstellung lag bei 7,5 (Mittelwert 7,68) mit einem Minimum von 4 und einem Maximum von 14. Kein Patient der Studienpopulation hatte einen klinisch nicht signifikanten CIBDAI Score (< 3 Punkte). Die meisten Hunde (13/ 32, 40,6%) wiesen nach CIBDAI- Einteilung eine moderate Enteropathie auf (6- 8 Punkte), gefolgt von 10 Hunden (10/ 32, 31,2%) mit einer schweren Enteropathie (9- 11 Punkte). Die Hunde der IBD-Gruppe zeigten am häufigsten schwere bis sehr schwere Enteropathien. Es konnte ein signifikanter Unterschied hinsichtlich des CIBDAIs zwischen den Diagnosegruppen FRE und IBD detektiert werden (p= 0,015) (Abb. 1).

Die Auswertung der einzelnen CIBDAI-Parameter zeigte, dass Hunde der IBD-Gruppe am häufigsten hochgradig (mehr als dreimal wöchentlich) Erbrechen (4/12, 33,3%) und wässrige Kotkonsistenz (5/12, 41,7%) aufwiesen. Auch Gewichtsverlust von über 10% trat in der Gruppe der IBD-Hunde am häufigsten auf (3/12, 25,0%). Im Gegensatz dazu waren eine erhöhte Kotabsatzfrequenz von mehr als fünfmal täglich in allen drei Gruppen prozentual gleichermaßen vertreten. Die festgestellten Unterschiede der Parameter zwischen den Gruppen erreichten keine statistische Signifikanz. Die Einstufung in den Krankheitsschweregrad der Patienten ist in Tabelle 8 dargestellt.

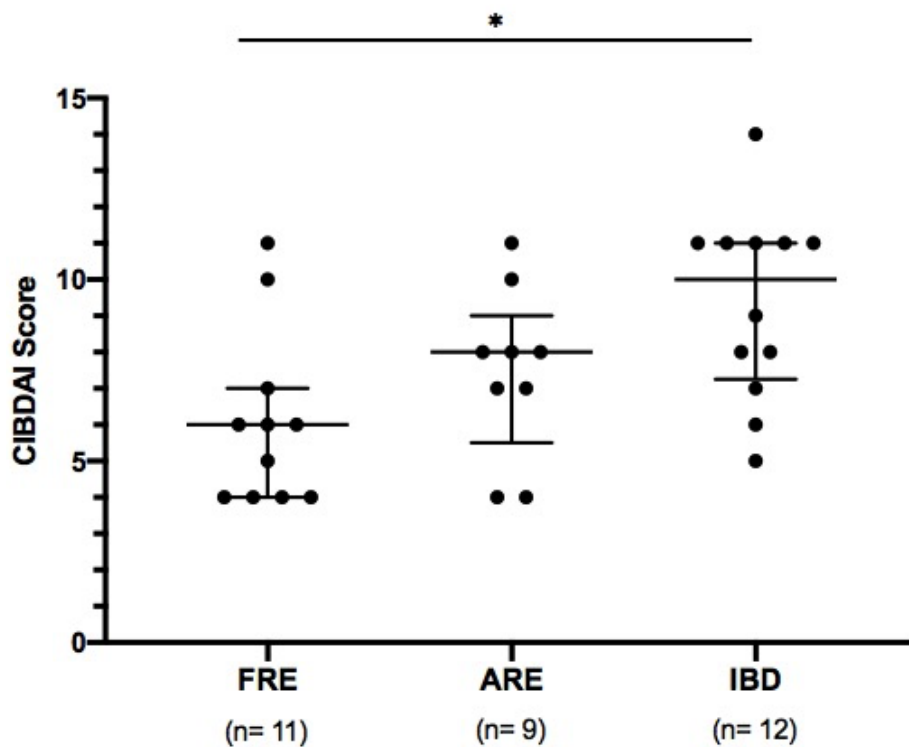


Abbildung 1: Vergleich des klinischen Aktivitätsindex für die chronisch-entzündlichen Enteropathien am Tag der Erstuntersuchung der 32 Hunde differenziert nach Diagnosegruppen.

CIBDAI, Canine Inflammatory Bowel Activity Index; FRE, Futter-responsive Enteropathie, ARE, Antibiotika-responsive Enteropathie; IBD, Inflammatory Bowel Disease. Die Punkte stellen die einzelnen ermittelten Ergebnisse der jeweiligen Patienten dar. Die mittlere horizontale Linie innerhalb der Punkte zeigt den Median. Die oberen und unteren Begrenzungen stellen den Interquartilabstand dar (IQR). Kruskal-Wallis Test zum Vergleich der Mediane. Post-hoc-Analyse mittels Mann-Whitney U-Test und Bonferroni Korrektur. Gruppen mit signifikanten Konzentrationsunterschieden sind mittels Querlinie verbunden. Signifikanz mit $p \leq 0,05$ ist mittels „“ oberhalb der Querlinie dokumentiert.*

Tabelle 8: Vergleich des klinischen Aktivitätsindex für chronische Darmerkrankungen der 32 Hunde bei Erstvorstellung differenziert nach Diagnosegruppen.

CIBDAI						
Parameter	Grad	Total (n=32) n (%)	FRE (n=11) n (%)	ARE (n=9) n (%)	IBD (n=12) n (%)	P-Wert †
Aktivität	0	13 (40,6)	6 (54,5)	3 (33,3)	4 (33,3)	0,257
	1	8 (25)	2 (18,2)	4 (44,4)	2 (16,7)	
	2	7 (21,9)	3 (27,3)	0	4 (33,3)	
	3	4 (12,5)	0	2 (22,2)	2 (16,7)	
Appetit	0	13 (40,6)	4 (36,4)	5 (55,6)	4 (33,3)	0,703
	1	9 (28,1)	3 (27,3)	3 (33,3)	3 (25,0)	
	2	9 (28,1)	4 (36,4)	1 (11,1)	4 (33,3)	
	3	1 (3,1)	0	0	1 (8,3)	
Erbrechen	0	13 (40,6)	5 (45,5)	5 (55,6)	3 (25,0)	0,574
	1	9 (28,1)	4 (36,4)	2 (22,2)	3 (25,0)	
	2	3 (9,4)	1 (9,1)	0	2 (16,7)	
	3	7 (21,9)	1 (9,1)	2 (22,2)	4 (33,3)	
Kotkonsistenz	0	4 (12,5)	2 (18,2)	1 (11,1)	1 (8,3)	0,071
	1	4 (12,5)	4 (36,4)	0	0	
	2	14 (43,8)	2 (18,2)	6 (66,7)	6 (50,0)	
	3	10 (31,3)	3 (27,3)	2 (22,2)	5 (41,7)	
Kotabsatzfrequenz	0	4 (12,5)	2 (18,2)	0	2 (16,7)	0,649
	1	9 (28,1)	4 (36,4)	3 (33,3)	2 (16,7)	
	2	7 (21,9)	1 (9,1)	2 (22,2)	4 (33,3)	
	3	12 (37,5)	4 (36,4)	4 (44,4)	4 (33,3)	
Gewichtsverlust	0	16 (50,0)	8 (72,7)	3 (33,3)	5 (41,7)	0,413
	1	8 (25,0)	2 (18,2)	3 (33,3)	3 (25,0)	
	2	4 (12,5)	1 (9,1)	2 (22,2)	1 (8,3)	

Ergebnisse

		3	4 (12,5)	0	1 (11,1)	3 (25,0)	
CIBDAI-Score	Median		7,5	6,0 ^a	8,0 ^a	10 ^b	
(1-18 Punkte)	Spanne		4-14	4-11	4-11	5-14	0,015
Einstufung	des	NS	0	0	0	0	
		CIBDAI					
		MI	8 (25,0)	5 (45,5)	2 (22,2)	1 (8,3)	
		MO	13 (40,6)	4 (36,4)	5 (55,6)	4 (33,3)	0,257
		SE	10 (31,3)	2 (18,2)	2 (22,2)	6 (50,0)	
		SSE	1 (3,1)	0	0	1 (1,3)	

[†]P Werte bestimmt mit Pearson Chi-Quadrat, um kategoriale Variablen zu vergleichen. Kruskal-Wallis Test zum Vergleich der Mediane. Post- hoc- Analyse mittels Mann-Whitney U-Test und Bonferroni Korrektur. Mediane mit hochgestellten Buchstaben zeigen eine statistische Signifikanz. Signifikanz < 0,05; CIBDAI, Canine Inflammatory Bowel Activity Index; FRE, Futter-responsive Enteropathie; ARE, Antibiotika-responsive Enteropathie; IBD, Inflammatory Bowel Disease; NS, klinisch nicht signifikant; MI, milde Enteropathie; MO, moderate Enteropathie; SE, schwere Enteropathie; SSE, sehr schwere Enteropathie.

1.2.2.2 Canine Chronic Enteropathy Clinical Activity Index

Zusätzlich konnten zum Zeitpunkt der Erstvorstellung noch die Parameter zur Erhebung des CCECAI (ergänzend zum CIBDAI) aller Hunde ausgewertet werden (Tab. 9). Eine geringgradig erniedrigte Albuminkonzentration und dementsprechend auch Aszites- bzw. Ödembildung wurde nur in der IBD-Gruppe bei zwei Tieren (ID: 5, 10; 2/ 12, 16,7%) festgestellt. Pruritus war unabhängig des Schweregrades am häufigsten in der FRE-Gruppe vorhanden (insgesamt 3/ 11, 27,3%). In der ARE- Gruppe zeigte kein Hund Abweichungen der mittels CCECAI untersuchten Parameter. Es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Diagnosegruppen festgestellt werden. Tabelle 9 stellt die Verteilung der CCECAI-Parameter in der Studienpopulation dar.

1.2.2.3 Weitere Symptome

Zusätzlich zu den Parametern zur Einteilung der Patienten nach klinischen Aktivitätsindices (CIBDAI/CCECAI) wurden weitere Symptome bei Erstuntersuchung erfragt (Tab. 10). Fäkaler Mukus (19/ 32, 59,4%) gefolgt von Borborygmen (18/ 32, 56,3%) und abdominalem Schmerz (14/ 32, 43,8%) waren die am häufigsten ausgewerteten weiteren klinischen Symptome innerhalb der Studienpopulation. Fäkales Blut wurde am häufigsten in der ARE-Gruppe beobachtet (4/ 9, 44,4%). Die Hunde der FRE-Gruppe zeigten vermehrt Flatulenzen (5/ 11, 45,5%). Die Unterschiede zwischen den Gruppen erreichten keine statistische Signifikanz.

Tabelle 9: Vergleich der Diagnosegruppen hinsichtlich weiterer klinischer und hämatologischer Befunde der 32 Hunde bei Erstvorstellung zur Bestimmung des Canine Chronic Enteropathy Clinical Activity Index.

CCECAI						
Parameter	Grad	Total n (%)	FRE (n=11) n (%)	ARE (n=9) n (%)	IBD (n=12) n (%)	P- Wert [†]
Hypoalbuminämie	0	30 (93,8)	11 (100,0)	9 (100)	10 (83,3)	0,169
	1	2 (6,3)	0	0	2 (16,7)	
	2	0	0	0	0	
	3	0	0	0	0	
Pruritus	0	27 (84,4)	8 (72,7)	9 (100)	10 (83,3)	0,559
	1	2 (6,3)	1 (9,1)	0	1 (8,3)	
	2	3 (9,4)	2 (18,2)	0	1 (8,3)	
	3	0	0	0	0	
Aszites/Ödeme	0	30 (93,8)	11 (100,0)	9 (100)	10 (83,3)	0,469
	1	1 (3,1)	0	0	1 (8,3)	
	2	1 (3,1)	0	0	1 (8,3)	
	3	0	0	0	0	

[†]P Werte bestimmt mit Pearson Chi-Quadrat oder Fisher`s Exact Test um kategorielle Variablen zu vergleichen. Signifikanz < 0,05; CCECAI, Canine Chronic Enteropathy Clinical Activity Index; FRE, Futter-responsive Enteropathie; ARE, Antibiotika-responsive Enteropathie; IBD, Inflammatory Bowel Disease

Tabelle 10: Vergleich der Diagnosegruppen der Studienpopulation bei Erstvorstellung hinsichtlich weiterer gastrointestinaler Symptome, die nicht in den klinischen Aktivitätsindizes der chronischen Enteropathie erfasst werden.

Klinische Parameter					
Parameter	Total n (%)	FRE (n=11) n (%)	ARE (n=9) n (%)	IBD (n=12) n (%)	<i>P-Wert</i> [†]
Fäkaler Mukus	19 (59,4)	7 (63,6)	7 (77,8)	5 (41,7)	0,234
Borborygmen	18 (56,3)	7 (63,6)	5 (55,6)	6 (50,0)	0,804
Abdominaler Schmerz	14 (43,8)	4 (36,4)	4 (44,4)	6 (50,0)	0,804
Flatulenzen	12 (37,5)	5 (45,5)	3 (33,3)	4 (33,3)	0,798
Fäkales Blut	9 (28,1)	2 (18,2)	4 (44,4)	3 (25,0)	0,410
Meläna	2 (6,3)	0	0	2 (16,7)	0,169
Tenesmus	2 (6,3)	1 (9,1)	0	1 (8,3)	0,657
Hämatemesis	2 (6,3)	1 (9,1)	1 (11,1)	0	0,518

[†]P Werte bestimmt mit Pearson Chi-Quadrat, um kategoriale Variablen zu vergleichen. Signifikanz < 0,05; FRE, Futter-responsive Enteropathie; ARE, Antibiotika-responsive Enteropathie; IBD, Inflammatory Bowel Disease

1.2.3 Vorbehandlung vor Studienbeginn

Siebzehn von 32 Hunden der Studienpopulation (53,1%) waren zum Zeitpunkt der Erstvorstellung bereits mit Diät und /oder einem oder mehreren Medikamenten behandelt worden (Tab. 11). Acht der 17 vorbehandelten Patienten (8/ 17, 47,0%) wurden mit mehr als einem Medikament, bzw. mit einer Kombination aus Diät und einem oder mehreren Medikamenten behandelt. Am häufigsten wurde eine Diät als Vorbehandlung verzeichnet (15/ 17, 88,2%). Die Hunde der FRE-Gruppe waren am seltensten von allen drei Gruppen vorbehandelt (3/ 12, 27%). Gleich häufig erhielten die Hunde der ARE- und IBD-Gruppe eine Therapie mit Diät und/oder Medikamenten vom jeweiligen Haustierarzt vor Studienbeginn (ARE: 6/ 9, 66,6%; IBD: 8/ 12, 66,6%). Sofern Hunde mit mehreren Medikamenten/Diäten vorbehandelt wurden, sind Doppelnennungen möglich.

Tabelle 11: Eingesetzte Diäten und Medikamente vor Studienbeginn von 17 der 32 Hunde der Studienpopulation differenziert nach Diagnosegruppen.

		Vorbehandlung vor Erstvorstellung (n= 17)**			
		Total	FRE (n=3)	ARE (n=6)	IBD (n=8)
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Diät	Hydrolysierte Diät	1 (5,8)			1 (12,5)
	Fettarme Diät	2 (11,7)		1 (16,6)	1 (12,5)
	Hypoallergenes Futter (selbstgekocht/kommerziell)	2 (11,7)		1 (16,6)	1 (12,5)
	Diät nicht weiter definiert	10 (58,8)	2 (66,6)	4 (66,6)	4 (50,0)
Antibiotikum*	Metronidazol	3 (17,6)		1 (16,6)	2 (25,0)
	Amoxicillin-Clavulansäure	1 (5,8)	1 (33,3)		
	Antibiotikum nicht weiter definiert	2 (11,7)			2 (25,0)
Immunsuppressivum*	Prednisolon	3 (17,6)		1 (16,6)	2 (25,0)
Weiteres	Cobalamin s.c.	1 (5,8)		1 (16,6)	
	H2-Rezeptorblocker	1 (5,8)		1 (16,6)	
	Pankreasenzyme	1 (5,8)		1 (16,6)	

FRE, Futter-responsive Enteropathie; ARE, Antibiotika-responsive Enteropathie; IBD, Inflammatory Bowel Disease; s.c. subkutan

*Eine Vorbehandlung mit einem Antibiotikum oder einer immunsuppressiven Therapie musste mindestens vier Wochen vor Erstvorstellung und Studieneinschluss beendet worden sein.

**Sofern Hunde mit mehreren Medikamenten/Diäten vorbehandelt wurden, sind Doppelnennungen möglich.

1.3 Laborparameter

1.3.1 Blutuntersuchungen

Tabelle 12 zeigt alle ausgewerteten Blutparameter bei Erstuntersuchung. In der IBD-Gruppe wurden niedrigere Protein- sowie Albuminwerte als in der FRE- oder ARE-Gruppe gemessen. Weiterhin war das Cobalamin und das Kalzium (gesamt) in dieser Gruppe im Median deutlich niedriger als in den beiden anderen Krankheitsgruppen. Auch die Leukozyten waren im Median in der IBD-Gruppe am niedrigsten. Die ARE- Gruppe zeigte die niedrigsten Cortisol- und Thrombozytenwerte. Im Vergleich der Krankheitsgruppen erreichte keiner der untersuchten Parameter statistische Signifikanz.

Ergebnisse

Tabelle 12: Hämatologische und blutchemische Parameter der Studienpopulation (n= 32) zum Zeitpunkt der Erstvorstellung im Vergleich der Diagnosegruppen.

Laborwert (Referenzbereich)	FRE (n=11)			ARE (n=9)			IBD (n=12)			P Wert ^f
	Median (n)	Bereich	U/O (n)	Median (n)	Bereich	U/O (n)	Median (n)	Bereich	U/O (n)	
	Leukozyten (6,000-12,000/ μ l)	10,32 (10)	7,9-13,5	-/1	11,02 (8)	5,34-12,5	1/3	9,5 (12)	6,02-36,4	
Hämatokrit (0,40-0,55 l/l)	0,47 (10)	0,36-0,56	1/2	0,46 (8)	0,41-0,50	-/-	47,3 (12)	0,22-0,52	13/-	0,714
Thrombozyten (165-400 G/l)	256,5 (10)	79,0-504,0	2/1	223,5 (8)	155-387	1/-	252 (12)	125-519	3/2	0,723
Neutrophile (3,000-9,000 / μ l)	5,7 (9)	3,71-9,02	9/-	6,39 (8)	3,81-7,95	-/-	7,06 (12)	4,673-39,	-/6	0,655
Eosinophile (<600 / μ l)	530 (9)	0-1300	-/4	540 (8)	80-2340	-/3	320 (12)	10-900	-/5	0,432
Lymphozyten (1,000-3,600 / μ l)	2,21 (9)	1,04-3,77	-/1	3,14 (8)	0,99-4,20	-/2	2,69 (12)	0,79-3,52	5/2	0,465
Monozyten (<500 / μ l)	570 (9)	31-1810	-/7	550 (8)	29-800	-/4	320 (12)	21-3000	-/8	0,470
Protein (54-66 g/l)	59,8 (11)	49,1-69,9	3/3	60,55 (8)	40,8-65,7	2/-	55,1 (12)	27,1-85,5	7/2	0,724
Albumin (28-36 g/l)	30,1 (11)	25,7-34,3	3/-	30,3 (8)	20,7-41,4	1/2	28,9 (12)	16,2-42,4	11/-	0,436
Kalzium, ges. (2,5-2,9 mmol/l)	2,67 (11)	1,19-2,78	2/-	2,69 (8)	2,40-2,89	1/-	2,54 (12)	1,43-3,08	7/-	0,257
Phosphor (0,96-1,6 mmol/l)	1,29 (11)	0,97-2,54	-/1	1,22 (8)	0,71-1,95	1/-	1,27 (12)	0,88- 1,60	2/2	0,775
Kreatinin (<20kg 53- 106 μ mol/l) (>20kg 53- 124 μ mol/l)	75,0 (11)	60,0-99,0	-/-	90,5 (8)	67-139	-/1	69,0 (12)	42-96	-/1	0,071

Ergebnisse

Harnstoff (3,5-10 mmol/l)	7,2 (11)	2,2-13,10	1/1	6,75 (8)	3,8-17,2	-/1	6,75 (12)	4,10-9,0	2/3	0,814
Glukose (4,5-6,2 mmol/l)	5,93 (11)	4,90-6,35	-/2	5,3 (8)	2,40-6,01	1/-	5,61 (12)	1,8-8,73	2/2	0,156
Natrium (140-150 mmol/l)	147 (11)	142-149	-/-	146 (8)	142-150	-/-	146,5 (12)	141-152	2/3	0,979
Kalium (3,6-4,8 mmol/l)	4,08 (11)	3,40-4,85	1/1	4,16 (8)	3,79-5,50	-/2	4,18 (12)	3,54-5,20	-/1	0,780
Chlorid (100-113mmol/l)	108 (6)	105-113	-/-	110 (7)	107-116	-/1	106,5 (12)	100-112	-/-	0,089
ALT (<76 U/l)	62 (11)	26 -650	-/2	56,5 (8)	28-91	-/2	45,5 (12)	21-343	-/5	0,625
AP (<97 U/l)	37 (11)	16-172	-/2	42 (8)	19-108	-/2	30,5 (12)	15-102	-/7	0,428
AST (<41 U/l)	24 (11)	15-288	-/1	23,1 (8)	13,2-51	-/1	29 (12)	9,9-100	-/5	0,869
Bilirubin (<5,1µmol/l)	2,35 (8)	0,9-4,0	-/-	2,9 (7)	1,4-3,4	-/-	2,05 (8)	1,5-3,3		0,784
Cobalamin (300-800pg/ml)	518 (11)	247-759	1/-	528 (9)	181-889	17/1	457 (12)	201-901	7/-	0,887
Folsäure (3-10ng/ml)	-	-/-	-/-	8,5 (2)	2,2-24,0	1/18	11,3 (12)	4,9-17,8	-/8	0,655
Cortisol (5-20ng/ml)*	19 (11)	2,0-41,2	1/4	16,1 (9)	6,7-69,8	-/4	20,2 (12)	6,65-130	-/6	0,994
TLI (8,5-35µg/l)	-	-/-	-/-	33,5 (2)	21-46		19 (3)	18-46	-/1	0,819
cPLI (<400µg/l)	-(1)	35	-/-	40 (5)	5-187	-/-	30,5 (2)	16-45	-/-	0,824

†P Werte bestimmt mit Kruskal-Wallis-Test zur Bestimmung von Unterschieden der Mediane. Signifikanz < 0,05; FRE, Futter-responsive Enteropathie; ARE, Antibiotika-responsive Enteropathie; IBD, Inflammatory Bowel Disease; ALT, Alanin-Aminotransferase; AP, Alkalische Phosphatase; AST, Aspartat-Aminotransferase; TLI, Trypsin-like Immunoreactivity; cPLI, kanine Pankreaslipase; ges., gesamt; U, unterhalb des Referenzbereichs; O, oberhalb des Referenzbereichs; * Bei Patienten der Studienpopulation die initial Basalcortisolwerten < 20ng/ml aufwiesen wurde ein ACTH-Stimulationstest durchgeführt. Alle so untersuchten Hunde (n=15) hatten einen unauffälligen ACTH-Stimulationstest (Stimulationswert >20ng/ml)

1.4 Endoskopie und Biopsieentnahme

Biopsien der Magendarmschleimhaut wurden von 10/ 32 Hunden (31,3%) entnommen. Zwei der beprobten Hunde sind der ARE-Gruppe (ID: 3, 20) zuzuordnen, die restlichen Hunde zählten zur IBD-Gruppe. Bei sieben Hunden wurden die Proben endoskopisch entnommen. In drei Fällen wurde eine Probelaparotomie zur Probengewinnung durchgeführt. Diese drei Hunde (ID: 6, 12 und 18) gehörten zur IBD-Gruppe. Informationen zu den einzelnen Hunden sind in *Anhang I* aufgelistet. Tabelle 13 zeigt die Ergebnisse der histopathologischen Untersuchung der Biopate.

Tabelle 13: Deskriptive Beschreibung der histopathologischen Analyse der gastrointestinalen Biopsien von zehn Hunden der Studienpopulation mit chronisch-entzündlicher Enteropathie differenziert nach Diagnosegruppen.

		Total (n=10)	FRE (n=0)	ARE (n=2)	IBD (n=8)
Schweregrad	Mild	2	-	1	1
	Moderat	4	-	-	4
	Schwer	4	-	1	3
Entzündungszelltyp	Lymphoplasmazellulär	7	-	1	6
	Eosinophil	1	-	-	1
	Gemischt	2	-	1	1

FRE, Futter-responsive Enteropathie; ARE, Antibiotika-responsive Enteropathie; IBD, Inflammatory Bowel Disease

1.5 Therapie

Bei 32 Hunden wurde ein diätetischer Therapieversuch unternommen. Bei 34,3% der Tiere (11/ 32) war die Diät die einzige Therapie. Von diesen Hunden erhielten 63,6% (7/ 11) eine kommerzielle hydrolysierte Diät und 36,3% (4/ 11) eine selbstgekochte hypoallergene Diät.

Eine zusätzliche antibiotische Therapie erhielten 19 Tiere. Dabei wurden verschiedene Antibiotika verwendet. Am häufigsten wurde Metronidazol (17/ 19, 89,4%) als alleinige antibiotische Medikation genutzt. Zwei Hunden wurde zunächst Metronidazol verabreicht und im Anschluss noch weitere Antibiotika eingesetzt (ID: 4,18). Dies geschah auf Grund von ungenügendem Ansprechen auf die Therapie. Ein Hund der IBD-Gruppe verschlechterte sich klinisch zusehends

(ID: 18), woraufhin u.a. eine kotmikrobiologische Untersuchung durchgeführt wurde. Auf Grund des mikrobiologischen Befundes (*Salmonella enterica*) wurde die antibiotische Therapie dieses Hundes umgestellt. Weitere eingesetzte Antibiotika waren: Amoxicillin-Clavulansäure (2/ 19, 10,5% (ID 4 und 18), und einmal Enrofloxacin bzw. im späteren Verlauf Erythromycin (ID 18). Neun Hunde der Studienpopulation wurden erfolgreich mit einer Kombination aus Diät und Antibiotikum therapiert und als ARE diagnostiziert (9/ 32, 28,1%).

Eine zusätzliche immunsuppressive Therapie war bei 12/32 Hunden (37,5%) notwendig. In dieser Gruppe (IBD-Gruppe) erhielten die Hunde Prednisolon (11/12, 91,6%) und ein Hund Ciclosporin (1/12, 8,4%). Auf Grund von schlechtem Therapieansprechen musste bei vier Hunden eine Kombination immunsuppressiver Medikamente oder eine Umstellung der immunsuppressiven Medikamente im Therapieverlauf vorgenommen werden. Hierbei kamen Ciclosporin (n=4) sowie Budesonid (n=1) oder Sufasalazin (n=1) zum Einsatz.

Sechs der 32 Hunde (18,7%) erhielten im Verlauf der Therapie zusätzlich ein Probiotikum (SIVOMIXX™, Acom Healthcare), wobei vier der sechs Hunde zur IBD-Gruppe gehörten und jeweils ein Hund in die FRE- bzw. ARE-Gruppe. Die Hunde der IBD- Gruppe, die mit dem Probiotikum behandelt wurden, erreichten in drei von vier Fällen eine partielle klinische Remission. Der vierte Hund zeigte eine komplette klinische Remission zum Zeitpunkt des Studienendes.

1.6 Schweregrad der Erkrankung und Remission

Von allen Hunden lagen Informationen zum Therapieerfolg vor. Dabei erreichten 17/ 32 Tiere (53,2%) eine vollständige Remission und 13/ 32 Tiere (40,6%) eine partielle Remission. Bei zwei Tieren aus der IBD-Gruppe blieb die Remission aus (ID 16, 26) (2/32, 6,25%). Es wurde ein signifikanter Unterschied zwischen den Diagnosegruppen und der Remissionsrate festgestellt ($p=0,046$). Hunde, die eine vollständige Remission hatten, waren am häufigsten in der FRE-Gruppe. Patienten der IBD-Gruppe zeigten am häufigsten eine partielle bzw. keine Remission.

Beim Vergleich der beiden Gruppen (Hunde mit vollständiger Remission bzw. Hunde mit partieller/ ausbleibender Remission) wurde kein signifikanter Unterschied hinsichtlich des CIBDAIs festgestellt. Hunde der Gruppe partielle/keine Remission zeigten im Median deutlich niedrigere Albuminkonzentrationen als Hunde mit kompletter Remission. Hunde mit vollständiger Remission hatten im Median niedrigere Cobalaminkonzentrationen als Hunde mit schlechterem Therapieansprechen. Die Ergebnisse der ausgewählten Laborparameter erreichten keine Signifikanz. Die Daten sind in Tabelle 14 dargestellt.

Tabelle 14: Vergleich der klinischen Remission hinsichtlich ausgewählter klinischer und hämatologischer sowie blutchemischer Parameter bei 32 Hunden.

Diagnosegruppe	vollständige Remission (n=17)	partielle Remission/ keine Remission (n=15)	<i>P Wert</i> [†]
	n (%)	n (%)	
FRE	8 (47,05)	3 (20,0)	
ARE	6 (35,3)	3 (20,0)	0,046
IBD	3 (17,6)	9 (60,0)	
Klinische Parameter (CIBDAI)			
Milde Enteropathie	5 (29,4)	3 (20,0)	
Moderate Enteropathie	7 (58,3)	6 (40,0)	0,692
Schwere Enteropathie	5 (29,4)	5 (33,3)	
Sehr schwere Enteropathie	-	1 (6,6)	
Laborparameter, Median (min-max.)			
Protein (5.4-6.6 g/dl)	61,1 (27,1-69,9)	58,1 (30,9-85,5)	0,654
Albumin (2.8-3.6 g/dl)	39,1 (16,4-41,4)	30,0 (16,2-42,4)	0,800
Hämatokrit (44-50 l/l)	49,0 (36,5-56,5)	47,0 (22,2-55,1)	0,250
Cobalamin (300-800 pg/ml)	487 (181-776)	518 (201-901)	0,551

[†]P Werte bestimmt mit Pearson Chi-Quadrat oder Fisher`s Exact Test, um kategorielle Variablen zu vergleichen. Signifikanz < 0,05; CIBDAI, Canine Inflammatory Bowel Activity Index; FRE, Futter-responsive Enteropathie; ARE, Antibiotika-responsive Enteropathie; IBD, Inflammatory Bowel Disease

2. Biomarker

2.1 Biomarker bei Erstvorstellung

Für die im Serum gemessenen Biomarker S100A12, CRP und NMH konnten die Ergebnisse zum Zeitpunkt der Erstvorstellung bei 30 Hunden (30/ 32, 93,7%) der Studienpopulation ausgewertet werden. Bei zwei Hunden reichte die abgenommene Serummenge der Erstuntersuchung, nach der Messung von Cobalamin und Cortisol, nicht für die Bestimmung der Biomarkerkonzentrationen. Auf Grund von technischen Problemen bei der Messung der Calprotectin-Werte im Serum konnten für die statistische Berechnung nur die Daten von 25 Hunden (25/ 32, 78,1%) betrachtet werden. Für die im Kot gemessenen Marker S100A12 und NMH konnten die Ergebnisse von 25 Hunden der Studienpopulation (25/ 32, 78,1%) bei Erstvorstellung analysiert werden. Bei sieben von 32 Hunden lag eine Sammelkotprobe erst zum zweiten Untersuchungszeitpunkt vor. Da es auch beim fäkalen Calprotectin zu Messproblemen kam, konnten nur 19 Hunde statistisch ausgewertet werden (19/ 25, 76%). Die Ergebnisse sind in Tabelle 15 dargestellt.

2.1.1 Biomarker bei Erstvorstellung hinsichtlich der Krankheitsgruppen

Für die im Serum gemessenen S100A12 Werte hatte kein Hund unabhängig von der Diagnosegruppe einen erhöhten, über dem Referenzbereich liegenden Wert. Für die Marker S100A12, Calprotectin und NMH zeigten die Hunde der IBD-Gruppe im Median die höchsten gemessenen Ergebnisse. Die höchsten Einzelmesswerte des Calprotectins (ID 3) und NMHs (ID 9) im Serum wurden bei Hunden mit ARE detektiert. Bei einem Hund der IBD-Gruppe (ID 5) konnte der höchste maximal gemessene Wert des S100A12 bei Erstvorstellung festgestellt werden.

Die Hunde der FRE-Gruppe wiesen im Median die höchsten CRP- Werte auf (Tab. 15). Der höchste Einzelmesswert des CRPs wurde bei einem Hund der IBD- Gruppe (ID 10) gemessen. Es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Diagnosegruppen für die im Serum gemessenen Marker CRP oder S100A12 und NMH ausgemacht werden. Die Hunde der IBD-Gruppe wiesen einen signifikant höheren Calprotectinwert im Serum auf, als Hunde der FRE- bzw. ARE-Gruppe ($p= 0,048$) (Abb. 2).

Die fäkal gemessenen Werte für S100A12 und Calprotectin waren in der FRE-Gruppe im Median am höchsten. Auch die jeweils maximal detektierten Werte von fäkalem S100A12 und Calprotectin

wurden bei einem Hund mit FRE (ID 32) verzeichnet. In der IBD- Gruppe waren die fäkalen NMH- Ergebnisse höher als in den anderen Gruppen. Für keinen der drei fäkalen Biomarker wurde ein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Diagnosegruppen festgestellt (Abb. 3).

Ergebnisse

Tabelle 15: Ergebnisse der Messung von ausgewählten Biomarkern in Serum und Kot zum Zeitpunkt der Erstvorstellung bei Hunden der Studienpopulation vergleichend zwischen den Diagnosegruppen.

Laborwert (Referenzbereich)	FRE (n=11)			ARE (n=9)			IBD (n=12)			P Wert [†]
	Median (n)	Spanne	U/O (n)	Median (n)	Spanne	U/O (n)	Median (n)	Spanne	U/O (n)	
Serum S100A12 (56-331 µg/l)	78,9 (11)	21,4-184,3	3/-	75,8 (9)	39,7-276,8	1/-	115,5 (10)	51,3-292,7	1/-	0,259
Serum Calprotectin (0,9-11,9 mg/l)	1,7 (8) ^a	0,3-6,0	1/-	2,8 (8) ^a	1,6-13,1	-/1	4,4 (9) ^b	1,9-11,2	-/-	0,048
Serum N-Methylhistamin (-)*	25,7 (11)	5,3-130,1	-/-	19,4 (9)	7,3-426,2	-/-	62,1 (10)	16,3-336,6	-/-	0,118
CRP (2,5-7,6 mg/l)**	3,4 (11)	2,5-37,0	-/4	2,5 (9)	2,5-12,3	-/2	2,6 (10)	2,5-322,4	-/2	0,363
Fäkales S100A12 (3-610 ng/g)	195,5 (9)	2,5-60604,2	2/3	30,2 (6)	1,8-4667,7	2/1	14,4 (10)	0,0-15673,1	2/1	0,396
Fäkales Calprotectin (3,2-65,4 µg/g)	3,2 (6)	0,1-361,6	3/1	0,6 (5)	0,0-3,9	4/-	0,65 (8)	0,0-307,3	6/1	0,296
Fäkales NMH (5,3-253,9 ng/g)	176,1 (9)	42,9-372,1	-/2	132,1 (6)	59,8-273,2	-/1	439,4 (10)	48,8-4905,9	-/6	0,164

[†]P Werte bestimmt mit Kruskal-Wallis-Test zur Bestimmung von Unterschieden der Mediane. Post- hoc- Analyse mittels Mann-Whitney U-Test und Bonferroni Korrektur. Signifikanz < 0,05; Mediane mit hochgestellten Buchstaben zeigen eine statistische Signifikanz; FRE, Futter-responsive Enteropathie; ARE, Antibiotika-responsive Enteropathie; IBD, Inflammatory Bowel Disease; U, unterhalb des Referenzbereichs; O, oberhalb des Referenzbereichs; *Für das Serum N-Methylhistamin liegt aktuell kein etablierter Referenzbereich vor. **Zur statistischen Auswertung wurden CRP-Werte <2,5mg/l auf 2,5mg/l gesetzt.

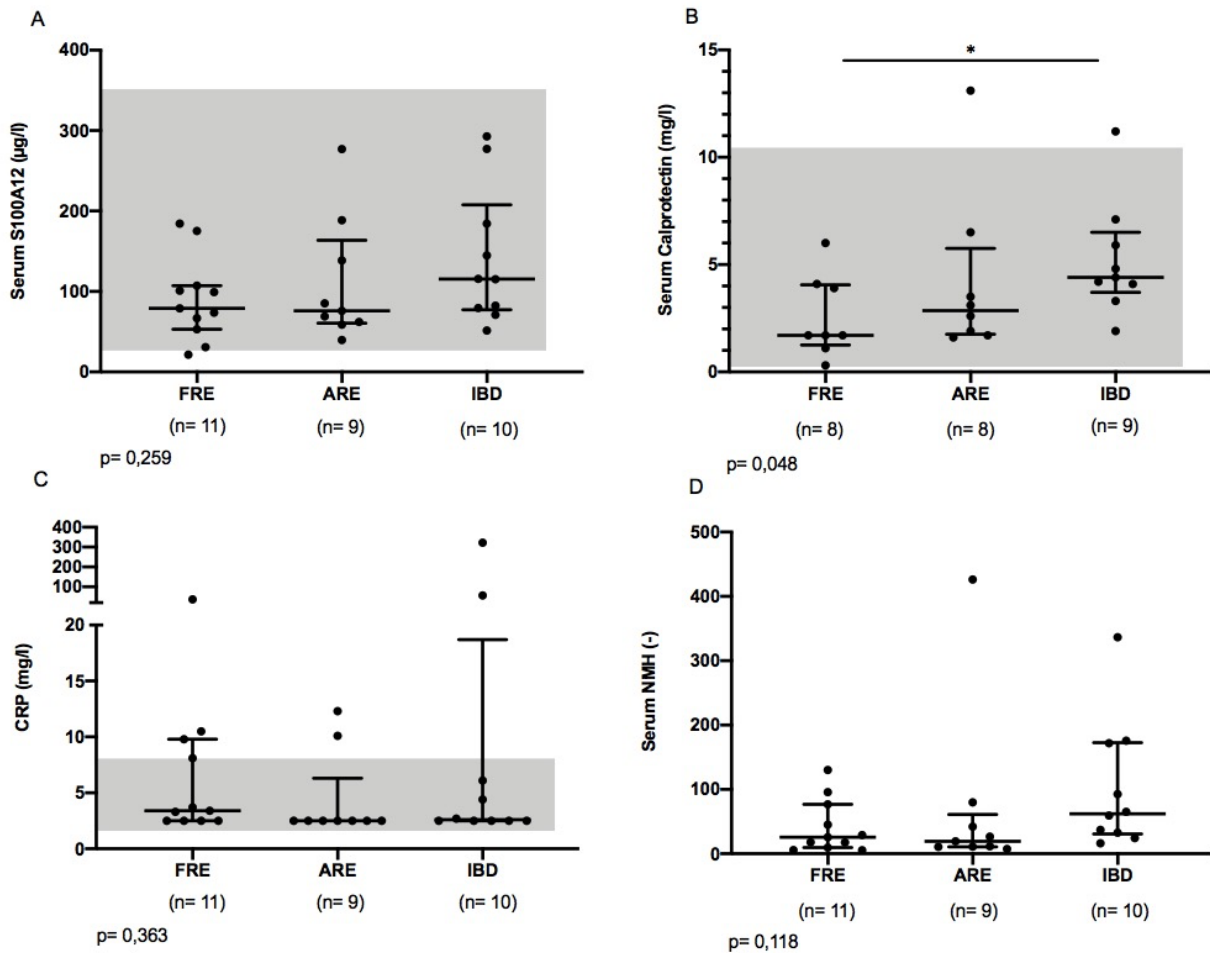


Abbildung 2: Dot-Whisker-Plots für die im Serum gemessenen Biomarker S100A12 (A), Calprotectin (B), C-reaktives Protein (CRP) (C) und N-Methylhistamin (NMH) (D) am Tag der Erstuntersuchung der Hunde hinsichtlich der Diagnosegruppen.

FRE, Futter-responsive Enteropathie; ARE, Antibiotika-responsive Enteropathie; IBD, Inflammatory Bowel Disease. Der grau hinterlegte Bereich zeigt den genutzten Referenzbereich. Für Serum NMH liegt aktuell kein etablierter Referenzbereich vor. Die Punkte stellen die einzelnen gemessenen Konzentrationen des jeweiligen Patienten dar. Die mittlere horizontale Linie innerhalb der Punkte zeigt den Median. Die oberen und unteren Begrenzungen stellen den Interquartilabstand dar (IQR). Kruskal-Wallis Test zum Vergleich der Mediane. Post-hoc-Analyse mittels Mann-Whitney U-Test und Bonferroni Korrektur. Gruppen mit signifikanten Konzentrationsunterschieden sind mittels Querlinie verbunden. Signifikanz mit $p \leq 0,05$ ist mittels „“ oberhalb der Querlinie dokumentiert.*

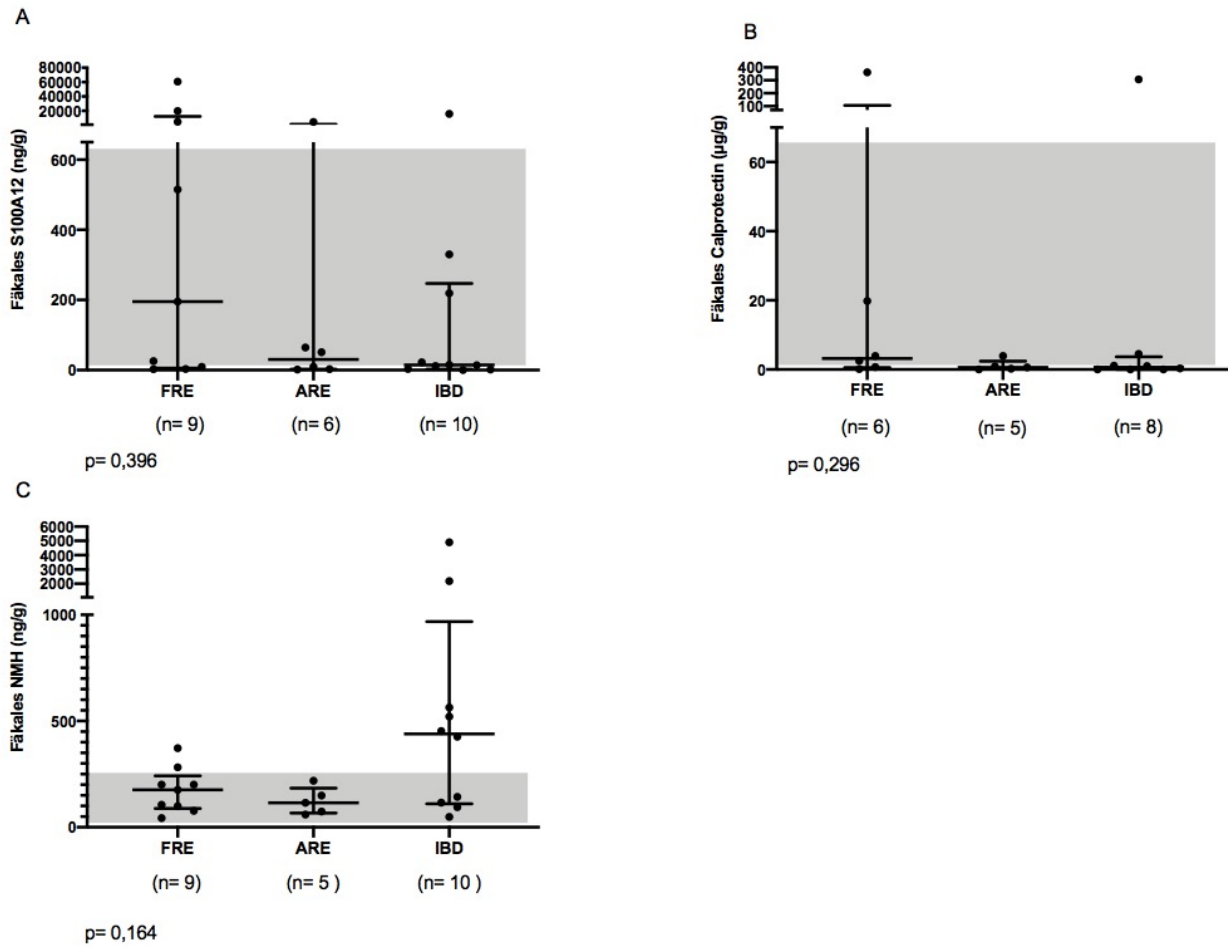


Abbildung 3: Dot- Whisker- Plots für die im Kot gemessenen Biomarker S100A12 (A), Calprotectin (B) und N-Methylhistamin (NMH) (C) am Tag der Erstuntersuchung der Hunde hinsichtlich der Diagnosegruppen.

FRE, Futter-responsive Enteropathie; ARE, Antibiotika-responsive Enteropathie; IBD, Inflammatory Bowel Disease. Der grau hinterlegte Bereich zeigt den genutzten Referenzbereich. Die Punkte stellen die einzelnen gemessenen Konzentrationen des jeweiligen Patienten dar. Die mittlere horizontale Linie innerhalb der Punkte zeigt den Median. Die oberen und unteren Begrenzungen stellen den Interquartilabstand dar (IQR).

2.1.2 Biomarker bei Erstvorstellung hinsichtlich der klinischen Remission

Hinsichtlich der klinischen Remission wurde ein signifikanter Unterschied für die im Serum gemessenen NMH- Werte zwischen Hunden mit kompletter Remission und partieller Remission/keiner Remission festgestellt ($p= 0,007$) (Tab. 16). Für die anderen gemessenen Biomarker Serum S100A12 ($p= 0,263$), Serum Calprotectin ($p= 0,605$) und CRP ($p= 0,385$), wurden keine signifikanten Konzentrationsunterschiede hinsichtlich der klinischen Remission detektiert (Abb. 4).

Die fäkalen Biomarker S100A12 und Calprotectin zeigten im Median die höchsten gemessenen Werte in der Gruppe mit gutem Therapieansprechen (VR= vollständige Remission). Ein Hund der FRE-Gruppe (ID 31) sowie ein Hund der ARE-Gruppe (ID 15) hatten eine deutliche Erhöhung des fäkalen S100A12 über den Referenzbereich. Auch zwei Hunde (ID 21, 32) mit partieller Remission aus der FRE-Gruppe sowie ein Hund mit ausbleibender klinischer Besserung (ID 26) der IBD Gruppe ließen eine deutliche Erhöhung des fäkalen S100A12 detektieren. Dieser Hund (ID 26) wies zudem eine über der Referenz liegende Konzentration des fäkalen Calprotectins zum gleichen Messzeitpunkt auf. Ein noch höherer fäkaler Calprotectinwert wurde, wie auch im Falle des fäkalen S100A12, bei Hund 32 gemessen.

Das fäkale NMH war bei zwei Hunden mit IBD (ID 6, 10) außerhalb des Referenzbereichs.

Für die beiden Marker S100A12 und NMH im Kot wurden die Maximalwerte in der Gruppe mit schlechterem Therapieansprechen (PR/KR= partielle Remission/ keine Remission) detektiert. Für fäkales S100A12 ($p= 1,0$), fäkales Calprotectin ($p= 1,0$) und fäkales NMH ($p= 0,936$) wurde kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Remission ausgemacht (Abb. 5).

Ergebnisse

Tabelle 16: Ergebnisse der Messungen der ausgewählten Biomarker in Serum und Kot zum Zeitpunkt der Erstvorstellung bei Hunden der Studienpopulation vergleichend zwischen den Remissionsgruppen.

Laborwert (Referenzbereich)	vollständige Remission (n=17)			partielle Remission/ keine Remission (n=15)			P Wert [†]
	Median (n)	Spanne	U/O (n)	Median (n)	Spanne	U/O (n)	
Serum S100A12 (56-331 µg/l)	101,7 (17)	21,4-292,7	3/-	78,9 (13)	39,7-144,8	2/-	0,263
Serum Calprotectin (0,9-11,9 mg/l)	3,5 (15)	0,3-13,1	1/-	3,7 (10)	1,7-6,0	-/-	0,605
Serum N-Methylhistamin (-)*	19,4 (17)	5,3-95,6	-/-	65,1 (13)	16,3-426,2	-/-	0,007
CRP (2,5-7,6 mg/l)**	2,5 (17)	2,5-12,3	-/4	2,7 (13)	2,5-322,4	-/4	0,385
Fäkales S100A12 (3-610 ng/g)	24,0 (14)	1,8-4698	2/2	15,0 (11)	0,0-60604,2	4/3	1,0
Fäkales Calprotectin (3,2-65,4 µg/g)	0,95 (12)	0,0-19,8	9/-	0,3 (7)	0,0-307,3	4/2	1,0
Fäkales NMH (5,3-253,9 ng/g)	163 (14)	42,9-2182,0	-/5	200 (11)	48,8-4905,9	-/4	0,936

[†]P Werte bestimmt mit Mann-Whitney U-Test zur Bestimmung von Unterschieden der Mediane. Signifikanz < 0,05; U, unterhalb des Referenzbereichs; O, oberhalb des Referenzbereichs; *Für das Serum N-Methylhistamin liegt aktuell kein etablierter Referenzbereich vor.

**Zur statistischen Auswertung wurden CRP-Werte <2,5mg/l auf 2,5mg/l gesetzt.

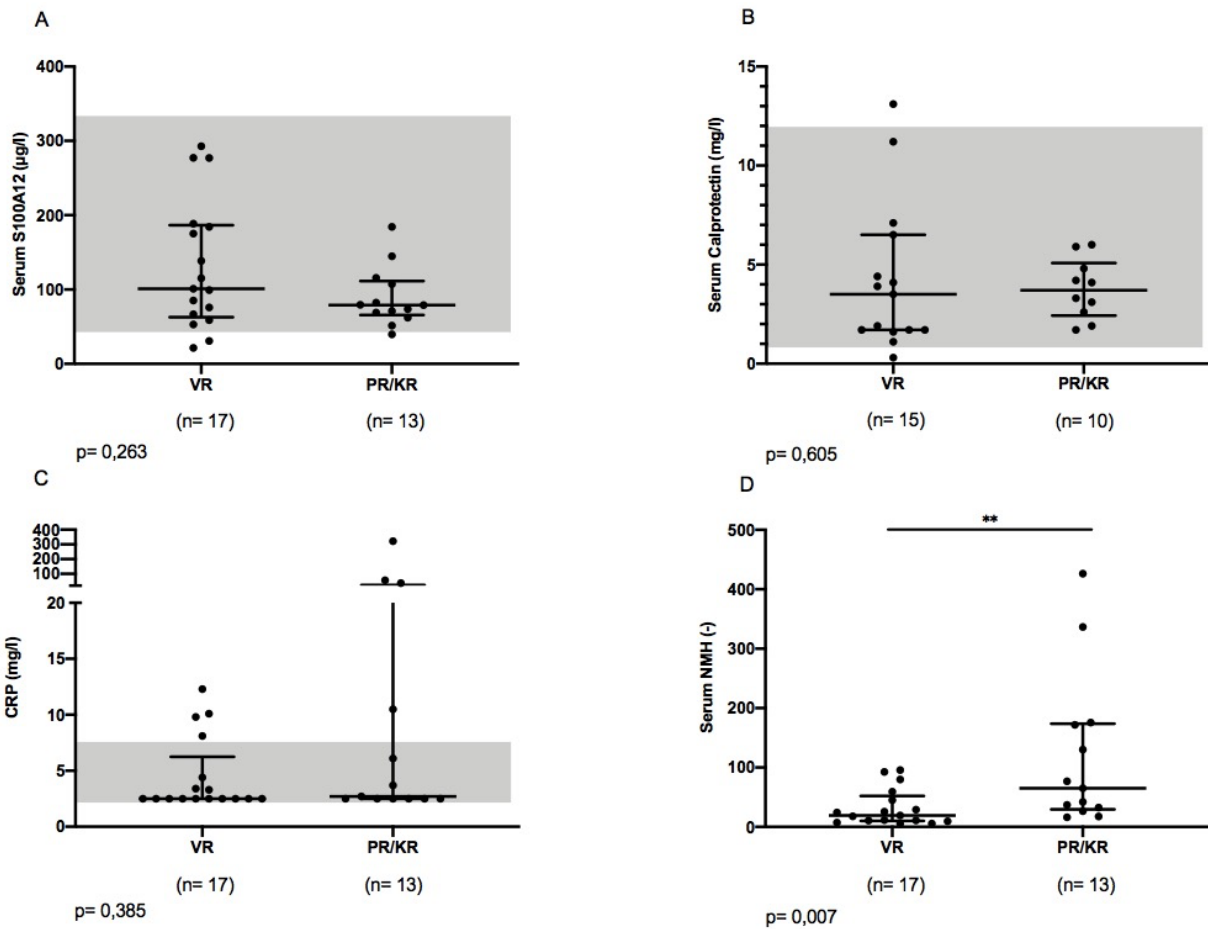


Abbildung 4: Dot- Whisker- Plots für die im Serum gemessenen Biomarker S100A12 (A), Calprotectin (B), C-reaktives Protein (CRP) (C) und N-Methylhistamin (NMH) (D) am Tag der Erstuntersuchung der Hunde hinsichtlich der klinischen Remission.

VR, vollständige Remission; PR, partielle Remission; KR, keine Remission. Der grau hinterlegte Bereich zeigt den genutzten Referenzbereich. Für Serum NMH liegt aktuell kein etablierter Referenzbereich vor. Die Punkte stellen die einzelnen gemessenen Konzentrationen des jeweiligen Patienten dar. Die mittlere horizontale Linie innerhalb der Punkte zeigt den Median. Die oberen und unteren Begrenzungen stellen den Interquartilabstand dar (IQR). Mann-Whitney U-Test zum Vergleich der Mediane. Gruppen mit signifikanten Konzentrationsunterschieden sind mittels Querlinie verbunden. Signifikante Konzentrationsunterschiede mit $p < 0,01$ sind mittels „**“ oberhalb der Querlinie dokumentiert.

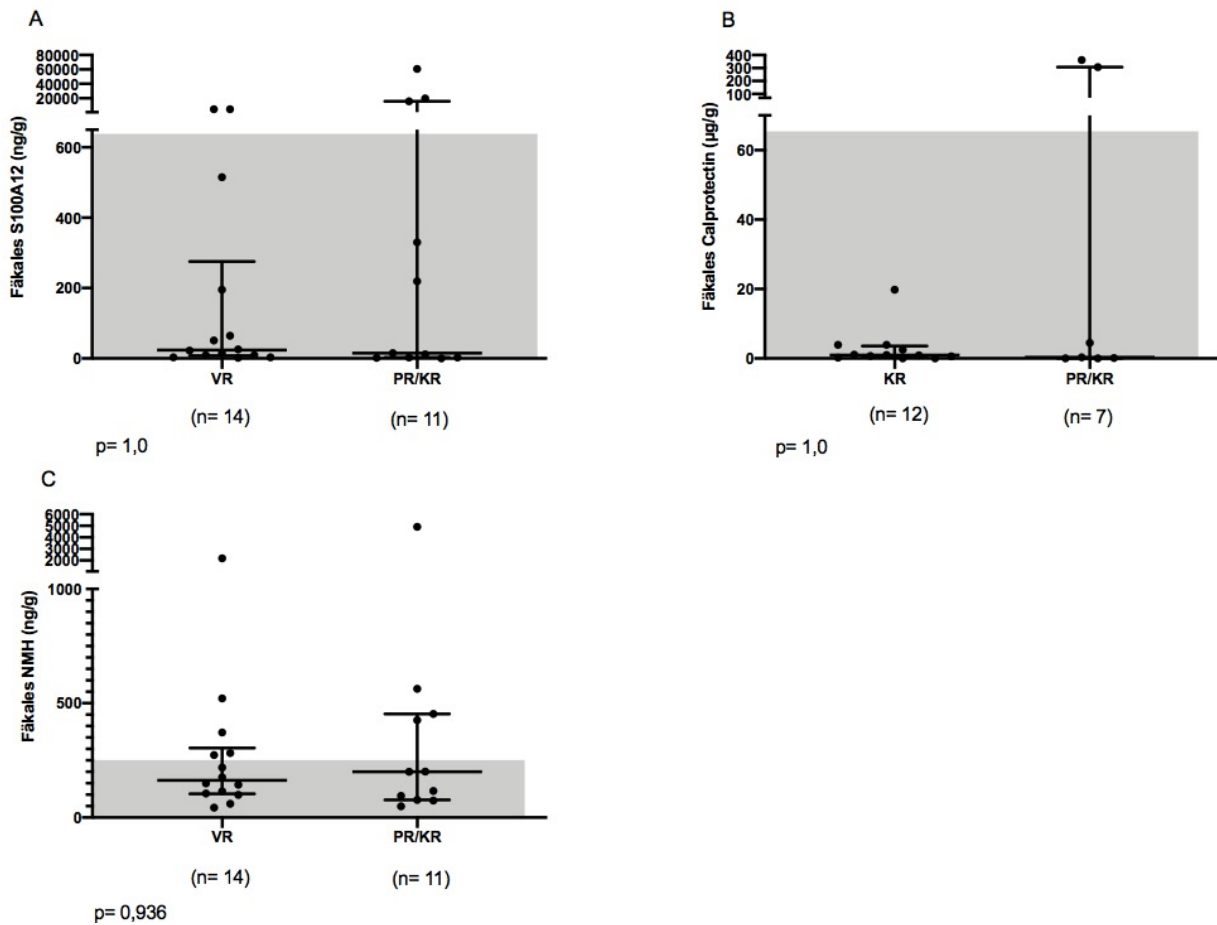


Abbildung 5: Dot- Whisker- Plots für die im Kot gemessenen Biomarker S100A12 (A), Calprotectin (B) und N-Methylhistamin (NMH) (C) am Tag der Erstuntersuchung der Hunde hinsichtlich der klinischen Remission.

VR, vollständige Remission; PR, partielle Remission; KR, keine Remission. Der grau hinterlegte Bereich zeigt den genutzten Referenzbereich. Die Punkte stellen die einzelnen gemessenen Konzentrationen des jeweiligen Patienten dar. Die mittlere horizontale Linie innerhalb der Punkte zeigt den Median. Die oberen und unteren Begrenzungen stellen den Interquartilabstand dar (IQR). Mann-Whitney U-Test zum Vergleich der Mediane.

2.2 Korrelationen der Biomarker mit ausgewählten klinischen Parametern und Blutparametern zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung

Alle Ergebnisse der Korrelationsanalyse sind in *Anhang II* dargestellt.

2.2.1 Korrelationen zwischen den Serum- und fäkalen Biomarkern

Zum Zeitpunkt der Erstvorstellung wurde eine Korrelation zwischen Serum S100A12 und Serum Calprotectin festgestellt ($r_s = 0,810$; $p < 0,0001$). Zudem konnte für Serum Calprotectin sowohl eine negative Korrelation mit dem fäkalen S100A12 ($r_s = -0,574$; $p < 0,013$) als auch dem fäkalen Calprotectin ($r_s = -0,474$; $p < 0,047$) detektiert werden. Fäkales Calprotectin korrelierte zudem mit dem fäkalen S100A12 ($r_s = 0,934$; $p < 0,0001$). Das im Serum gemessene NMH korrelierte mit dem fäkal gemessenen NMH ($r_s = 0,443$; $p < 0,034$). Die Ergebnisse waren signifikant.

2.2.2 Korrelationen zwischen Serum und fäkalen Biomarkern und dem CIBDAI- Score

Es wurde eine signifikante Korrelation des CIBDAIs mit Serum S100A12 ($r_s = 0,545$; $p < 0,002$) sowie Serum Calprotectin ($r_s = 0,679$; $p < 0,0001$) ausgemacht. Der CIBDAI korrelierte zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung nicht mit CRP oder den fäkal gemessenen Biomarkern.

2.2.3 Korrelationen zwischen Serum und fäkalen Biomarkern und Blutparametern

Serum S100A12 und Kalzium korrelierten negativ miteinander ($r_s = -0,397$; $p = 0,033$). CRP korrelierte negativ sowohl mit der absoluten Anzahl der eosinophilen Granulozyten im Blut ($r_s = -0,439$; $p = 0,025$), als auch dem Albumin ($r_s = -0,472$; $p < 0,010$) und dem Cobalamin ($r_s = -0,383$; $p = 0,037$). Zwischen dem fäkalen NMH und den eosinophilen Granulozyten wurde eine negative Korrelation detektiert ($r_s = -0,605$; $p = 0,004$). Negativ korrelierte das fäkale NMH zudem mit Albumin ($r_s = -0,449$; $p = 0,028$). Die Ergebnisse erreichten Signifikanz.

2.2.4 Korrelationen ausgewählter Blutparameter

Albumin korrelierte sowohl signifikant mit der absoluten Zahl der eosinophilen Granulozyten ($r_s = 0,531$; $p = 0,004$), als auch mit den gemessenen Kalziumwerten ($r_s = 0,403$; $p = 0,024$). Für Kalzium konnte zudem eine negative Korrelation mit dem Hämatokrit detektiert werden ($r_s = -0,443$; $p = 0,014$).

2.3 Verlaufsuntersuchungen der Biomarker in Kot und Serum

2.3.1 Verlaufsuntersuchungen der Biomarker im Serum

Für alle im Serum gemessenen Biomarker konnte im Verlauf für die Mehrzahl der Hunde mit FRE und IBD ein Abfall der detektierten Messergebnisse zwischen Erst- und Letztuntersuchung verzeichnet werden (Tab. 17). Die Einzelverläufe waren auffallend heterogen. So zeigte sich bei der Betrachtung der eingeschlossenen Hunde der Gruppen FRE (n= 10) und IBD (n= 9) ein Anstieg der Serum Konzentrationen von NMH (FRE 6/ 10; IBD 3/ 9), S100A12 (FRE 4/ 10; IBD 1/ 9) und CRP (FRE 2/ 10; IBD 1/ 9). Hunde der ARE-Gruppe wiesen für die Marker NMH und S100A12 zumeist einen Anstieg der gemessenen Konzentrationen von der Erst- zur Letztuntersuchung auf. Bei fünf von neun Hunden der ARE-Gruppe kam es zu einem Anstieg der Serumkonzentration von S100A12 und NMH. Abb. 6 stellt die Verlaufsuntersuchungen der Biomarker im Serum hinsichtlich der Diagnosegruppen grafisch dar.

Ein Hund (ID:18) der IBD- Gruppe mit nur partiellem Therapieansprechen hatte den höchsten generell gemessenen NMH-Wert im Serum zum Zeitpunkt der Letztuntersuchung.

2.3.2 Verlaufsuntersuchungen der Biomarker im Kot

Für den im Kot gemessenen Marker S100A12 zeigte sich bei den meisten hier untersuchten Hunden der FRE- und ARE- Gruppe ein Abfall der gemessenen Konzentrationen zwischen Erst- und Letztuntersuchung. Ein Anstieg der Konzentration von S100A12 im Kot konnte jedoch sowohl bei einzelnen hier eingeschlossenen Hunden der FRE-Gruppe (2/ 8), als auch bei Hunden der ARE-Gruppe (3/ 5) festgestellt werden. Hunde der IBD-Gruppe ließen zumeist einen Anstieg der detektierten Messergebnisse des fäkalen S100A12 zum Zeitpunkt der Letztuntersuchung erkennen (Tab. 17). Auch für das fäkale NMH konnte mehrheitlich ein Konzentrationsanstieg der Hunde mit ARE und IBD verzeichnet werden. Bei der Einzelbetrachtung der Hunde konnte für jeweils zwei von fünf Hunden der ARE- und IBD-Gruppe einen Abfall dieser Biomarkerkonzentration im Verlauf detektiert werden. Abb. 7 stellt die Verlaufsuntersuchungen der Biomarker im Kot hinsichtlich der Diagnosegruppen grafisch dar.

Die höchste generell gemessene NMH-Konzentration im Kot wurde bei einem Hund (ID: 17) der IBD-Gruppe mit vollständiger klinischer Remission zum Zeitpunkt der Letztuntersuchung verzeichnet. Das im Kot gemessene NMH zeigte zumeist einen Anstieg der Konzentration in der Gruppe mit partiellem oder ausbleibendem Therapieansprechen im Vergleich zu Hunden mit klinischer Remission (Tab. 18).

Ergebnisse

Tabelle 17: Ergebnisse der Verlaufsmessung zwischen Erst- und Letztuntersuchung ausgewählter Biomarker in Serum und Kot bei Hunden der Studienpopulation vergleichend zwischen den Diagnosegruppen.

Laborwert (Referenz- bereich)	FRE (n=11)				ARE (n=9)				IBD (n=12)				P Wert ^t
	Erst-US		Letzt-US		Erst-US		Letzt-US		Erst-US		Letzt-US		
	Median (n)	Spanne	Median (n)	Spanne	Median (n)	Spanne	Median (n)	Spanne	Median (n)	Spanne	Median (n)	Spanne	
Serum S100A12 (56-331 µg/l)	89,0 (10)	30,7- 184,3	68,7 (10)	38,2- 180,5	75,8 (9)	39,7- 276,8	78,2 (9)	31,7- 138,9	115,3 (9)	51,3- 292,7	86,1 (9)	42,0- 179,1	0,385
Serum Calprotectin (0,9-11,9 mg/l)	1,7 (7)	0,3-6,0	1,6 (7)	0,6-6,2	3,1 (7)	1,6-13,1	2,5 (7)	1,3-4,8	4,4 (5)	3,3-11,2	3,7 (5)	2,5-4,7	0,533
Serum N- Methylhistamin (-)*	21,8 (10)	5,4- 130,1	15,6 (10)	1,7- 132,0	19,4 (9)	7,3-426,2	20,3 (9)	10,5- 384,7	59,2 (9)	16,3- 336,6	28,2 (9)	12,3- 459,2	0,455
CRP (2,5-7,6 mg/l)**	3,5 (10)	2,5-37,0	2,5 (10)	2,5-5,1	2,5(9)	2,5-12,3	2,5 (9)	2,5-31,8	2,5 (9)	2,5-56,5	2,5 (9)	2,5-18,3	0,467
Fäkales S100A12 (3-610 ng/g)	195,5 (9)	2,5- 60604,2	18,3 (9)	3,9- 1205,5	30,2 (6)	1,8- 4667,7	12,6 (6)	4,5- 9766,3	15 (6)	3,2- 15673,2	511,9 (6)	64,2- 10505,1	0,225

Ergebnisse

Fäkales	3,2 (6)	0,1-	0,5 (6)	0,1-16,1	0,9 (3)	0,6-3,9	0,4 (3)	0,1-3,5	0,65 (2)	0,0-4,5	2,2 (2)	0,8-9,9	0,473
Calprotectin		361,6											
		(3,2-65,4 µg/g)											
Fäkales NMH	176,1	42,9-	124,7	32,5-	132,1	59,8-	147,7	55,2-	426,0	116,0-	764,7	4,0-	0,636
(5,3-253,9 ng/g)	(9)	372,1	(9)	918,0	(6)	273,2	(6)	864,3	(6)	563,4	(6)	7718,2	

†P Werte bestimmt mit Kruskal-Wallis-Test zur Bestimmung von Unterschieden der Mediane der Differenz von Letztuntersuchung-Erstuntersuchung. Signifikanz < 0,05; Erst-US, Erstuntersuchung; Letzt-US, Letztuntersuchung; FRE, Futter-responsive Enteropathie; ARE, Antibiotika-responsive Enteropathie; IBD, Inflammatory Bowel Disease; *Für das Serum N-Methylhistamin liegt aktuell kein etablierter Referenzbereich vor. **Zur statistischen Auswertung wurden CRP-Werte <2,5mg/l auf 2,5mg/l gesetzt.

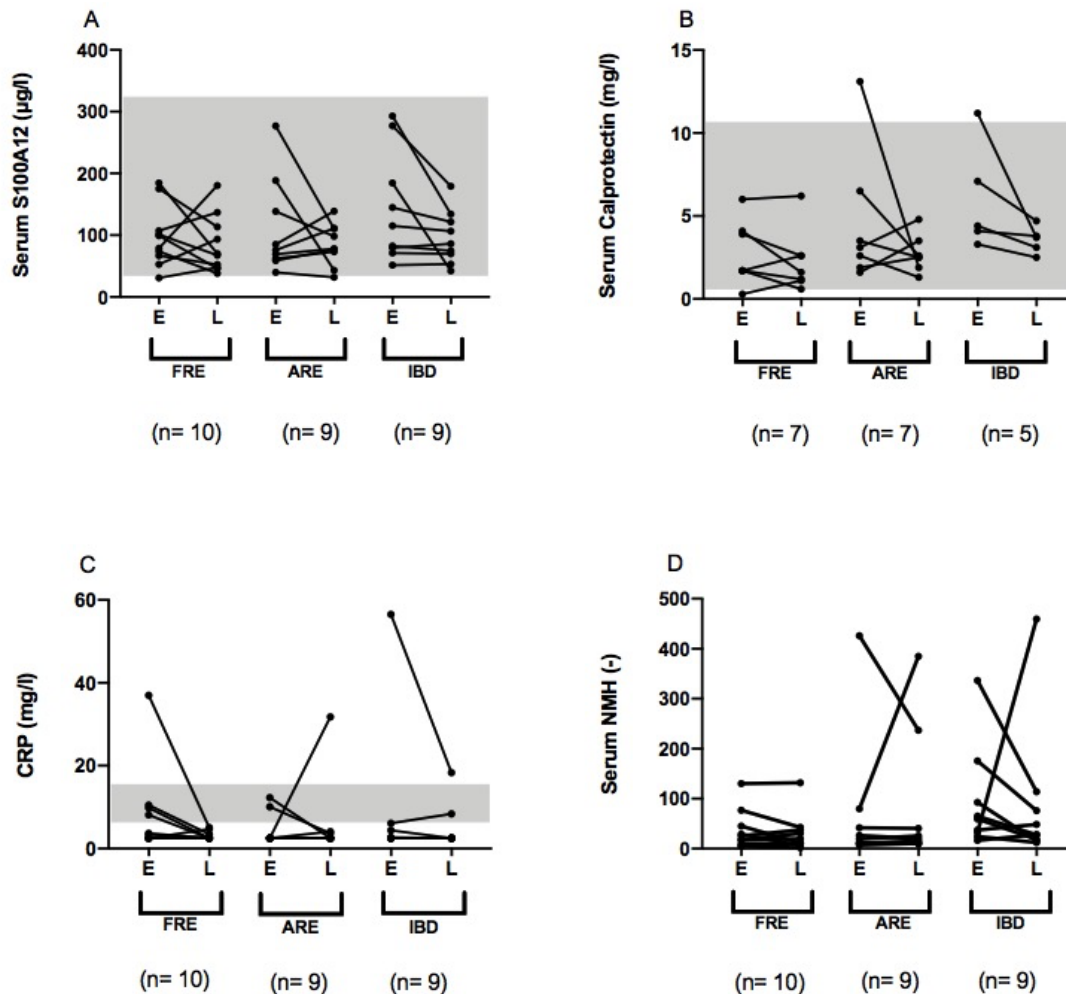


Abbildung 6: Verlaufsmessungen der Biomarker im Serum zwischen Erst- und Letztuntersuchung differenziert nach Diagnosegruppen.

Die y-Achse stellt den Messbereich der Biomarker im Serum: S100A12 (A), Calprotectin (B), C-reaktives Protein (CRP)(C), und N-Methylhistamin (NMH) (D) im Serum dar. Die x-Achse zeigt den Zeitpunkt der Untersuchung (E= Erstvorstellung; L= Letztvorstellung) sowie die drei Krankheitsgruppen: Futter-responsive Enteropathie (FRE), Antibiotika-responsive Enteropathie (ARE) und Inflammatory Bowel Disease (IBD). Die grau hinterlegten Bereiche stellen den genutzten Referenzbereich dar. Für Serum NMH liegt aktuell kein etablierter Referenzbereich vor. Die Messergebnisse sind mittels „●“ gekennzeichnet. CRP-Konzentrationen unter 2,5mg/l wurden auf 2,5mg/l gesetzt.

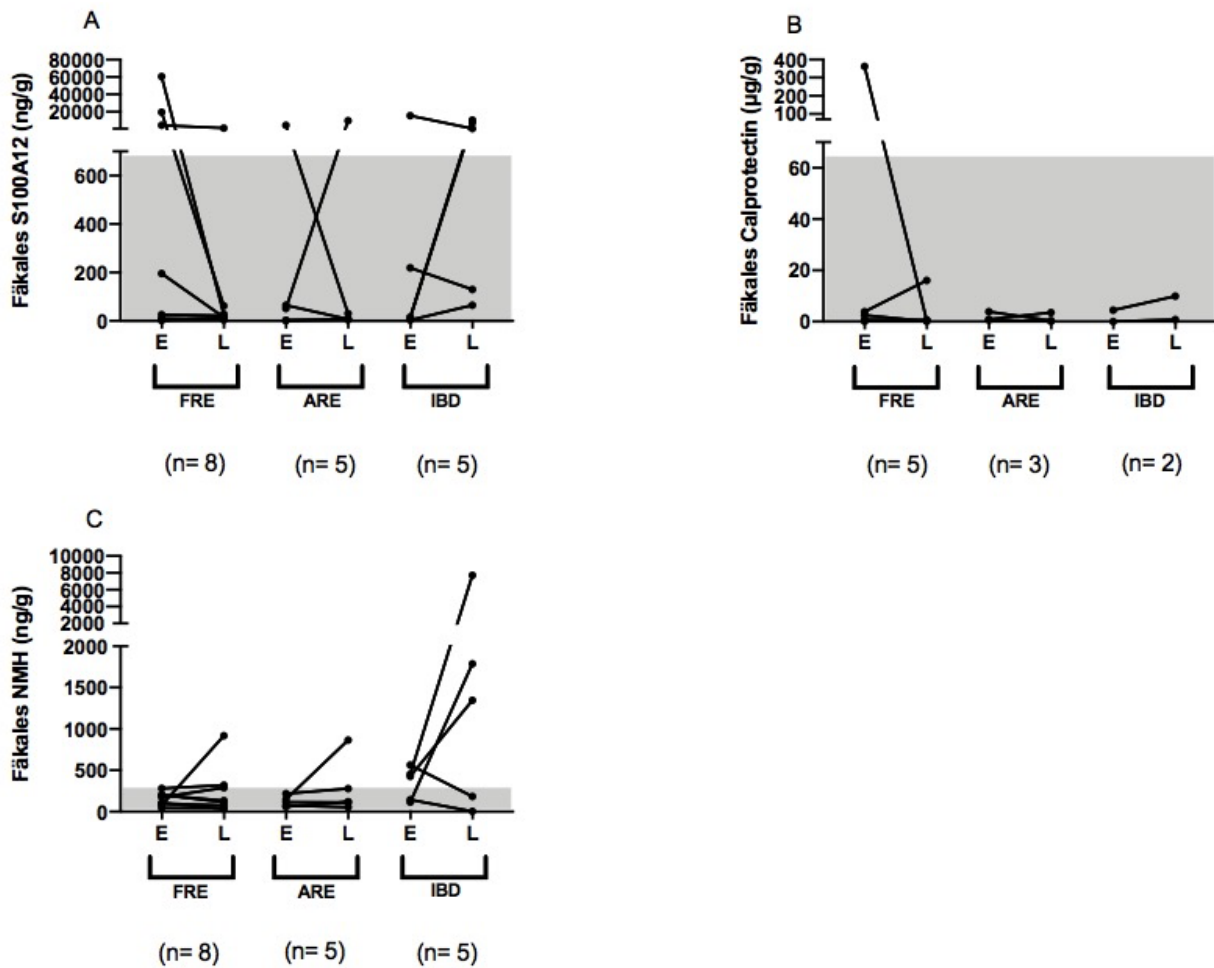


Abbildung 7: Verlaufsmessungen der Biomarker im Kot zwischen Erst- und Letztuntersuchung differenziert nach Diagnosegruppen.

Die y-Achse stellt den Messbereich der Biomarker im Serum: S100A12 (A), Calprotectin (B) und N-Methylhistamin (NMH) (C) im Kot dar. Die x-Achse zeigt den Zeitpunkt der Untersuchung (E= Erstvorstellung; L= Letztvorstellung) sowie die drei Krankheitsgruppen: Futter-responsive Enteropathie (FRE), Antibiotika-responsive Enteropathie (ARE) und Inflammatory Bowel Disease (IBD). Die grau hinterlegten Bereiche stellen den genutzten Referenzbereich dar. Die Messergebnisse sind mittels „•“ gekennzeichnet.

Ergebnisse

Tabelle 18: Ergebnisse der Messungen ausgewählter Biomarker in Serum und Kot bei Hunden der Studienpopulation im Verlauf zwischen Erst- und Letztuntersuchung vergleichend zwischen den Remissionsgruppen.

Laborwert (Referenzbereich)	VR (n=17)				PR/KR (n=15)				P Wert ^t
	Erst-US		Letzt-US		Erst-US		Letzt-US		
	Median (n)	Spanne	Median (n)	Spanne	Median (n)	Spanne	Median (n)	Spanne	
Serum S100A12 (56-331 µg/l)	108,2 (16)	30,7-292,7	95,7 (16)	38,2-180,5	76,3 (12)	43,0-179,1	73,8 (12)	31,7-180,5	0,173
Serum Calprotectin (0,9-11,9 mg/l)	3,9 (13)	0,3-13,1	3,0 (13)	1,1-4,7	3,2 (6)	1,7-6,0	3,1 (6)	0,6-6,2	0,322
Serum N-Methylhistamin (-)*	18,6 (16)	5,4-92,7	11,8 (16)	1,7-384,7	53,5 (12)	16,3-426,2	45,6 (12)	19,7-459,2	0,396
CRP (2,5-7,6 mg/l)**	2,5 (16)	2,5-12,3	2,5 (16)	2,5-4,7	2,6 (12)	2,5-56,5	3,0 (12)	2,5-31,8	0,803
Fäkales S100A12 (3-610 ng/g)	38,3 (10)	2,8-4698,0	18,3 (10)	4,5-9766,3	219,4 (9)	2,5-60604,3	95,9 (9)	7,9-10505,1	0,979
Fäkales Calprotectin (3,2-65,4 µg/g)	0,9 (7)	0-3,9	0,6 (7)	0,1-16,1	4,5 (3)	0,1-361,6	0,5 (3)	0,4-9,9	0,729

Ergebnisse

Fäkales NMH	129,0	43,0-218,5	115,9 (10)	4,0-864,3	200,0 (9)	74,3-563,4	551,0 (9)	55,2-7718,2	0,939
(5,3-253,9 ng/g)	(10)								

†P Werte bestimmt mit Mann-Whitney-U-Test zur Bestimmung von Unterschieden der Mediane der Differenz von Letztuntersuchung-Erstuntersuchung. Signifikanz < 0,05; VR, vollständige Remission; PR, partielle Remission; KR, keine Remission; Erst-US, Erstuntersuchung; Letzt-US, Letztuntersuchung; FRE, Futter-responsive Enteropathie; ARE, Antibiotika-responsive Enteropathie; IBD, Inflammatory Bowel Disease; *Für das Serum N-Methylhistamin liegt aktuell kein etablierter Referenzbereich vor. **Zur statistischen Auswertung wurden CRP-Werte <2,5mg/l auf 2,5mg/l gesetzt.

2.3.3 Beschreibung der Einzelverläufe der Biomarker in Serum und Kot

Die individuellen Verläufe der Biomarkerkonzentrationen in Serum und Kot bei ausgewählten Hunden mit ARE und IBD waren zu den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten sehr heterogen. Auch bei vergleichbarem klinischem Ansprechen auf die gewählte Therapie, im Sinne der kompletten, partiellen oder ausbleibenden Remission, wurde kein homogenes Verlaufsmuster der Konzentrationen der Biomarker ausgemacht. Auch im zeitlichen Zusammenhang mit einem Therapiewechsel konnte kein einheitlicher Konzentrationsverlauf zwischen den Hunden festgestellt werden.

Für die Mehrzahl der Hunde zeigte sich ein frühzeitigerer Anstieg der Konzentration des fäkalen S100A12 sowie des fäkalen NMHs vor den Serumbiomarkern S100A12 und NMH. Die detaillierten Beschreibungen sind in Kapitel 2.3.3.1 und 2.3.3.2 aufgeführt.

2.3.3.1 Beschreibung der Einzelverläufe der Biomarker in Serum und Kot der ARE- und IBD-Gruppe

Für elf Hunde der IBD-Gruppe (Abb. 6), sowie acht Hunde der ARE-Gruppe (*Anhang VI*) konnten die Einzelverläufe der Biomarker in Serum und Kot grafisch dargestellt werden. Bei jeweils einem Hund aus diesen Diagnosegruppen waren nicht genügend Messergebnisse zu unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten für die Auswertung der Einzelverläufe der Biomarker in Serum und Kot vorhanden.

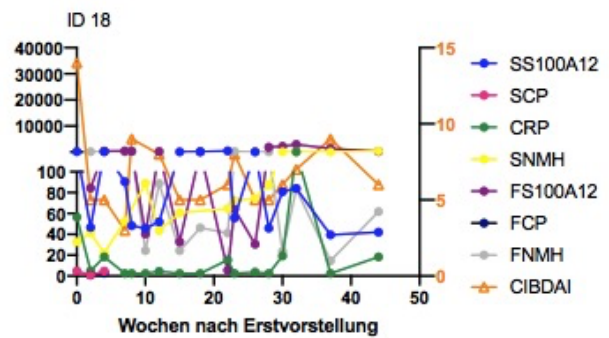
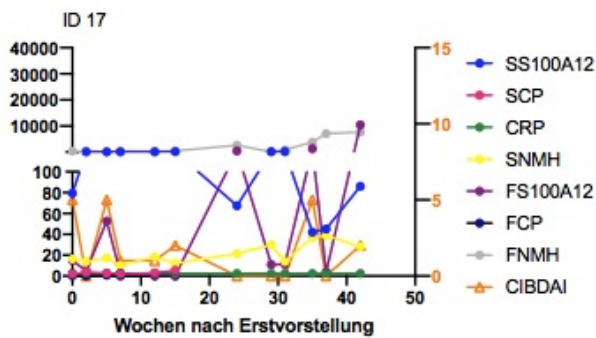
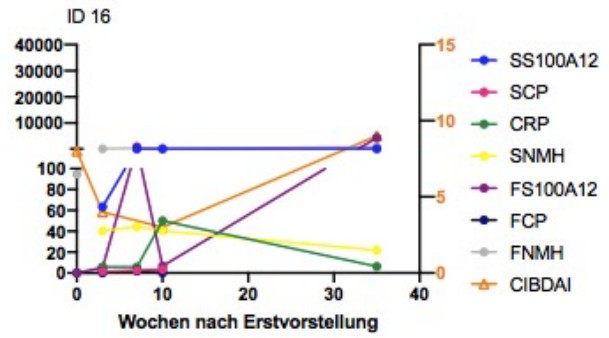
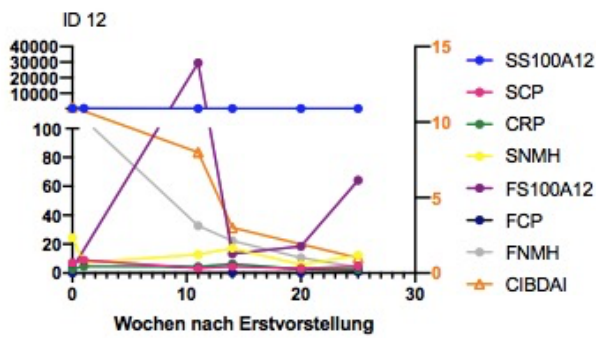
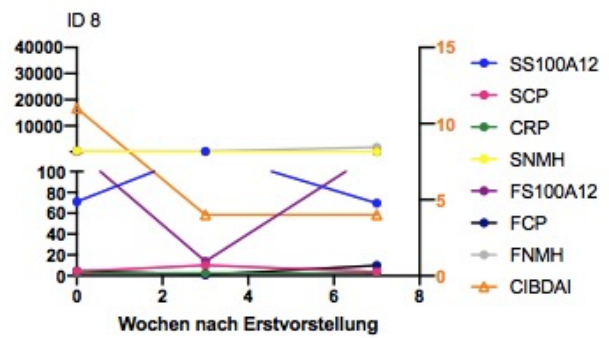
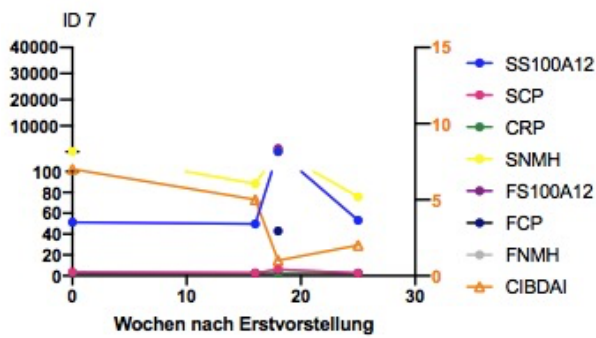
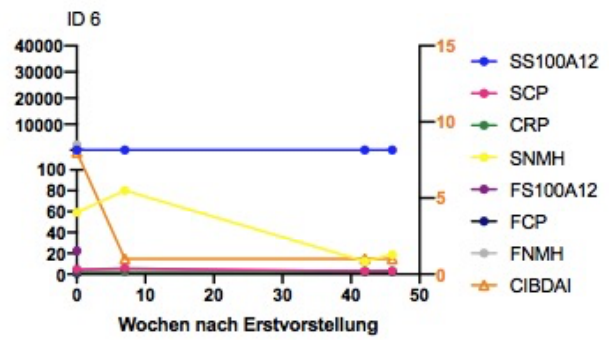
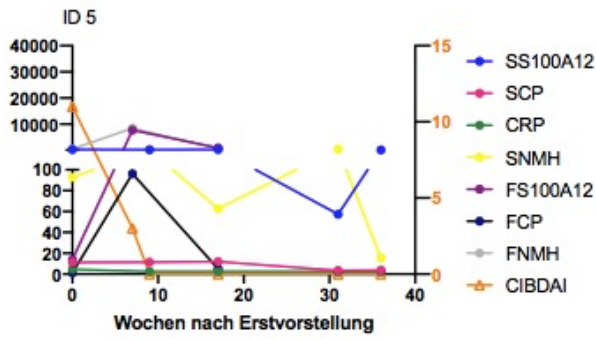
Sowohl für S100A12 als auch NMH zeigte sich bei acht von elf IBD- und fünf von acht ARE Hunden ein frühzeitigeres Ansteigen bzw. Abfallen der Biomarkerkonzentrationen im Kot im Vergleich zu den jeweiligen Serumkonzentrationen zu unterschiedlichen Zeitpunkten. Für Calprotectin konnte dieser Zusammenhang auf Grund fehlender Messdaten nicht ausgewertet werden.

Auch bei Hunden mit vollständiger klinischer Remission der IBD- Gruppe (ID: 12, 5, 6) wurde ein inhomogenes Bild der Konzentrationsverläufe verzeichnet. So wiesen zwei Hunde noch 30 Wochen nach der Erstvorstellung einen erneuten Anstieg der S100A12 Konzentration im Serum (ID: 12, 5) bzw. im Kot (ID 12) auf. Die Hunde mit partieller klinischer Remission (ID: 8, 17, 18, 22) zeigten einen Anstieg, bzw. eine dauerhaft erhöhte Konzentration der fäkalen Biomarker S100A12 und NMH, bei Besserung der klinischen Erscheinung gemessen am CIBDAI. So konnte beispielsweise bei Hund ID 22 um Woche fünf nach Erstvorstellung ein deutlicher Anstieg des fäkalen S100A12 mit einem Peak der Konzentration um Woche acht nach Erstvorstellung gemessen werden. Erst zum Zeitpunkt der zehnten Woche nach Erstuntersuchung konnte ein Anstieg des CIBDAIs und damit eine Verschlechterung der Klinik anamnestisch festgestellt

werden. Auf Grund der klinischen Verschlechterung wurde eine endoskopische Beprobung vorgenommen und der Hund mit immunsuppressiver Therapie behandelt. Der CIBDAI-Score besserte sich daraufhin, jedoch kam es zum erneuten Anstieg des fäkalen S100A12 bzw. NMHs. Im Vergleich dazu zeigte Hund ID 17 einen Peak des fäkalen S100A12, sowie ein konstant erhöhtes fäkales NMH um Woche 25 nach Erstvorstellung, mit niedrigem CIBDAI. Ein numerischer Anstieg des CIBDAIs konnte zu einem späteren Zeitpunkt (Woche 35) nach einer erneuten Erhöhung von fäkalem S100A12, NHM und Serum S100A12 detektiert werden.

Auch bei den zwei Hunden mit ausbleibender klinischer Remission (ID: 26, 16) zeigte sich kein einheitliches Bild der Biomarkerverläufe. Beide Hunde wiesen jedoch einen Anstieg des fäkalen NMHs über den etablierten Referenzbereich wenige Wochen nach der Erstvorstellung bzw. dem Therapiebeginn auf. Zudem zeigten beide einen Abfall des Serum NMHs im Verlauf. Während bei Hund 26 das fäkale S100A12 im Verlauf trotz konstant schlechter Klinik abfiel, zeigte sich bei Hund 16 trotz initialer klinischer Besserung ein erneuter Anstieg des fäkalen S100A12 um Woche zehn. Zum gleichen Zeitpunkt konnte auch eine Verschlechterung der Symptome dieses Hundes mittels CIBDAI erfasst werden.

Ergebnisse



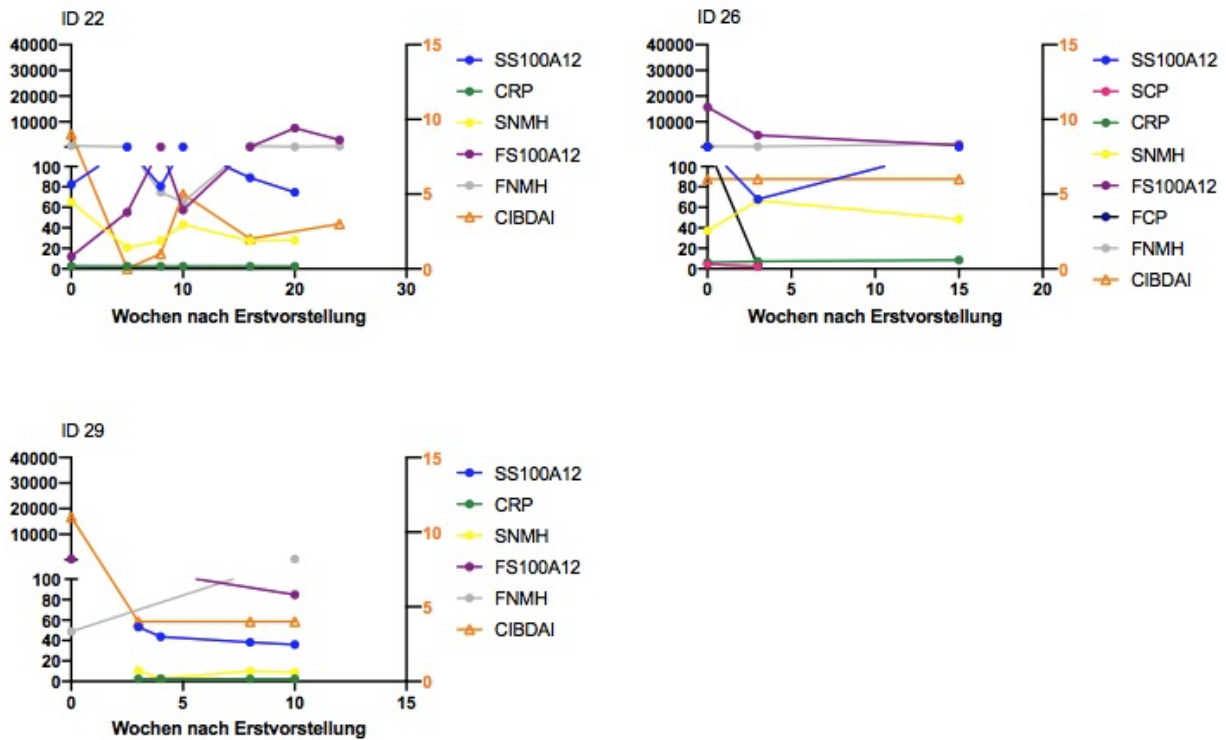


Abbildung 8: Individuelle Einzelverlaufsmessungen der Konzentrationen ausgewählter Biomarker in Serum und Kot bei Hunden der IBD-Gruppe.

Die Konzentrationen der Biomarker im Serum (Serum S100A12 (SS100A12), Serum Calprotectin (SCP), C-reaktives Protein (CRP), Serum NMH (SNMH)) und Kot (Fäkales S100A12 (FS100A12), Fäkales Calprotectin (FCP) und Fäkales NMH (FNMH)) sind auf der linken y-Achse dargestellt. Auf der rechten y-Achse ist der klinische Aktivitätsindex der chronischen Enteropathie des Hundes (Canine inflammatory bowel disease activity index (CIBDAI)) aufgetragen. Der Nullpunkt der x-Achse stellt den Zeitpunkt der Erstvorstellung dar. Probenentnahmen sind durch das Symbol „●“ gekennzeichnet. Die CIBDAI-Werte sind mit „Δ“ dargestellt. CRP-Messwerte unter 2,5mg/l wurden auf 2,5 mg/l gesetzt.

2.3.3.2 Therapiewechsel

Für einen Hund der ARE-Gruppe (ID 20) und sechs Hunde der IBD-Gruppe (ID: 8, 12, 17, 18, 22, 26) konnten die Biomarkerkonzentrationen von S100A12 und NMH im Serum nach einem Therapiewechsel untersucht werden. Zudem wurden die fäkalen Konzentrationen von S100A12 und NMH von vier Hunden der IBD-Gruppe (ID: 12, 17, 22, 26) und einem Hund der ARE-Gruppe (ID 20) zum gleichen Therapiewechsel ausgewertet. Hund 26 mit ausbleibender Remission hatte einen erneuten Anstieg des fäkalen NMHs nach Therapiewechsel über die Ausgangskonzentration des Markers hinaus. Auch S100A12 im Serum dieses Hundes stieg nach dem Therapiewechsel erneut an, ohne aber den Ausgangswert zu überschreiten. Die Hunde mit kompletter klinischer Remission (ID: 12, 20) ließen keinen einheitlichen Verlauf erkennen. Während der Hund mit ARE einen Abfall bzw. konstante Messergebnisse aufwies, konnte bei dem Hund der IBD-Gruppe alleinig ein Abfall des fäkalen NMHs detektiert werden. Alle anderen Biomarker zeigten einen erneuten Anstieg der Konzentrationen, im Falle des fäkalen S100A12 über den Ausgangswert hinaus.

Die anderen in Abbildung 7 dargestellten Hunde konnten eine partielle klinische Remission erreichen. Für die Hunde mit der ID: 17, 22 und 26 konnten sowohl für das fäkale S100A12, als auch für das fäkale NMH Messwerte über den etablierten Referenzbereichen detektiert werden. Hund 17 und 22 hatten einen deutlichen Anstieg des fäkalen S100A12 nach dem Therapiewechsel. Im Gegensatz dazu ließ nur Hund 17 auch einen Anstieg des fäkalen NMHs detektieren, wohingegen bei Hund 22 eine deutliche Minimierung der gemessenen NMH Konzentration im Kot ausgemacht werden konnte. Hinsichtlich der Serummarker hatten diese vier Hunde einen heterogenen Verlauf. Alleinig für Hund 22 konnte ein erniedrigter Messwert für NMH und S100A12 im Serum nach Therapiewechsel ausgemacht werden. Für Hund 8 und 18 konnten niedrigere Serum S100A12 Konzentrationen festgestellt werden, aber jeweils eine Erhöhung des Serum NMHs über den Ausgangswert. Hund 17 zeigte einen gegenläufigen Verlauf.

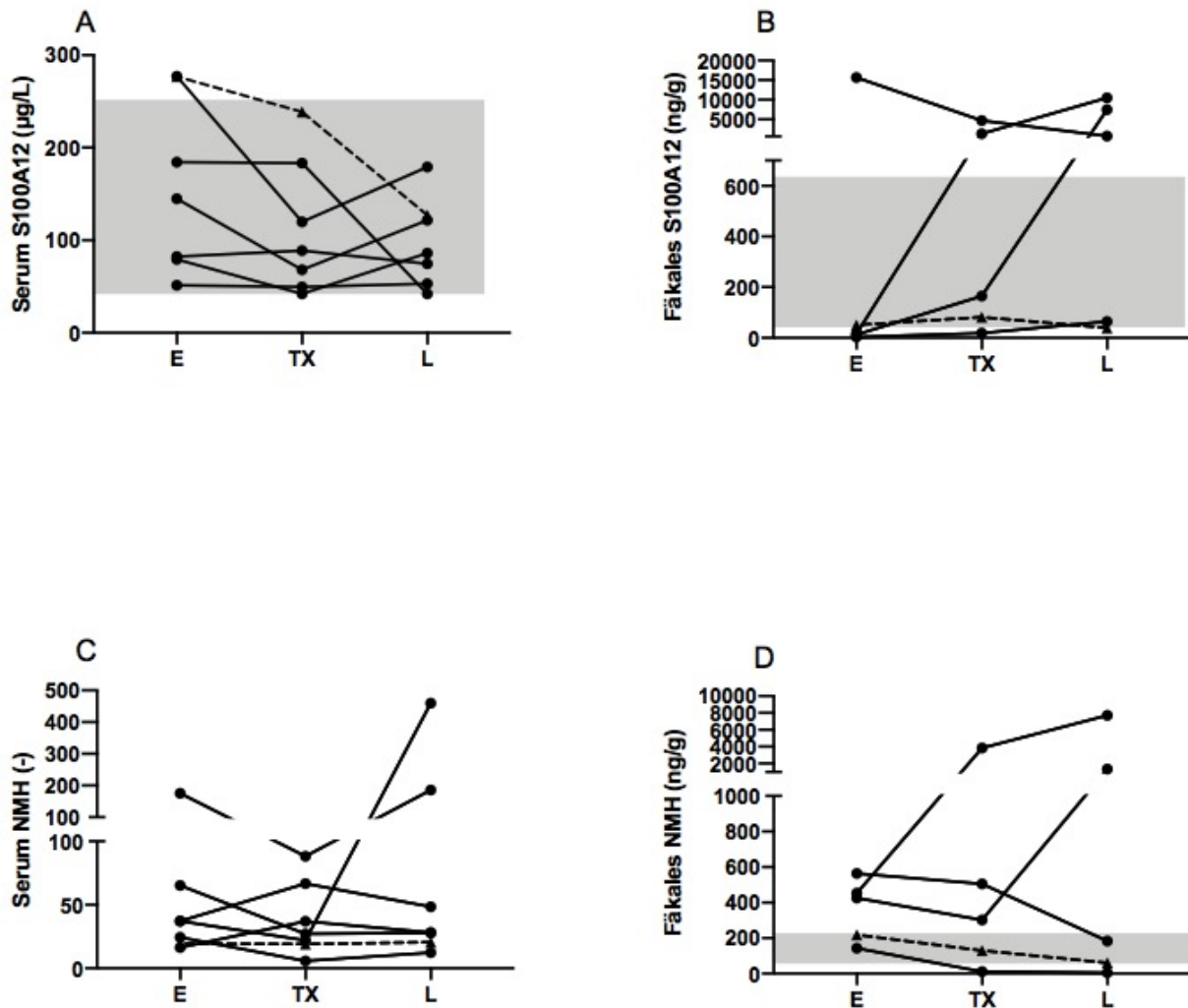


Abbildung 9: Verlaufsdaten ausgewählter Hunde (n= 7) der Studienpopulation und ausgewählter Biomarker in Serum und Kot vor und nach Therapiewechsel.

Die Konzentrationen der Biomarker im Serum (Serum S100A12 (A), Serum NMH (C)) und Kot (Fäkales S100A12 (B), Fäkales NMH (D)) sind auf der y-Achse dargestellt. Die x-Achse zeigt den jeweiligen Untersuchungszeitpunkt (E: Erstuntersuchung; L: Letztuntersuchung) und den Therapiewechsel (TX). Der grau hinterlegte Bereich zeigt den genutzten Referenzbereich. Für Serum NMH liegt aktuell kein etablierter Referenzbereich vor. Probenentnahmen der IBD- Hunde sind durch das Symbol „•“ gekennzeichnet. Probenentnahmen des Hundes mit ARE sind durch „---▲---“ dargestellt.

V Diskussion

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Messung verschiedener Biomarker in Serum und Kot bei Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien, um jene Marker zu identifizieren, die allein oder in Kombination von diagnostischem und/oder prognostischem Nutzen sein könnten. Mit Hilfe dieser Studie sollte eine möglichst frühzeitige Diagnosestellung der einzelnen Erkrankungsformen der chronisch-entzündlichen Enteropathien des Hundes (FRE, ARE, IBD) ermöglicht werden. Weiterhin sollte eine Aussage über das Ansprechen auf Therapie und eine mögliche Remission im frühen Stadium der Therapie getroffen werden können.

Bisher gibt es nur wenige Publikationen, die verschiedene Biomarker in Serum und Kot bei Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien untersucht haben (Heilmann et al. 2018, Otoni et al. 2018). Diese stellten vor allem die Nützlichkeit des fäkalen Calprotectins als Marker für den Schweregrad (Heilmann et al. 2018) sowie die Aktivität der Erkrankung (Otoni et al. 2018) fest. Bislang liegen nach Wissen der Autorin keine publizierten Daten zur gleichzeitigen Untersuchung der Biomarker S100A12, Calprotectin und NMH jeweils in Serum und Kot sowie CRP im Serum bei Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien zum Therapiebeginn und im Therapieverlauf vor.

1.1 Patientenpopulation und allgemeines Studiendesign

Zur Einteilung der Patienten hinsichtlich der klinischen Aktivität der Erkrankung wurde der CIBDAI nach Jergens et al. (2003) verwendet. Es konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den Diagnosegruppen der Studienpopulation zum Zeitpunkt der Erstvorstellung festgestellt werden. Wie bereits in vorangegangenen Studien beschrieben (Allenspach et al. 2007, Kühn 2012), zeigen auch die vorliegenden Daten, dass Hunde mit schweren Krankheitsverläufen und dementsprechend höherem Aktivitätsindex eher an einer IBD leiden. Jedoch bleibt fraglich, inwieweit der CIBDAI als alleiniger Parameter einen Rückschluss auf den Schweregrad der Erkrankung und die Prognose zulässt (Munster et al. 2006, Allenspach et al. 2007, Kühn 2012, Volkmann et al. 2017).

Eine Vorbehandlung der hier untersuchten Tiere wurde anamnestisch festgehalten und bei knapp der Hälfte der eingeschlossenen Tiere verzeichnet. Es handelte sich zumeist um Diätversuche. Auch deutlich größere Studien zur Untersuchung der klinischen Aktivität, bzw. negativ

prognostischer Faktoren (Allenspach et al. 2007) als auch der hier beschriebenen Biomarker (Heilmann et al. 2012, Heilmann et al. 2018) wurden an teilweise vorbehandelten Tieren durchgeführt. Die Zeit zwischen der letzten Behandlung mit einer antibiotischen und/oder immunsuppressiven Therapie und Studienbeginn musste mindestens zwei Wochen betragen (Allenspach et al. 2007, Heilmann et al. 2012, Heilmann et al. 2018). In der vorliegenden Studie wurde dafür ein Zeitfenster von vier Wochen festgelegt. Daher scheint eine Beeinflussung der klinischen Ergebnisse und der Biomarkermessungen durch eine eventuelle Vorbehandlung der Patienten unwahrscheinlich.

In dieser Studie wurde auf eine endoskopische Untersuchung bzw. Beprobung der gastrointestinalen Schleimhaut bei Hunden mit gutem Ansprechen auf Diät und/oder Antibiotikum verzichtet. Diese Untersuchungen stellen kostenintensive und invasive Methoden dar und eine Unterscheidung der einzelnen Erkrankungsformen ist dadurch nicht möglich (Jergens et al. 1992, Cave 2003, Allenspach 2007, Allenspach et al. 2007, Schreiner et al. 2008, Allenspach et al. 2016, Dandrieux 2016). Zudem scheint es keinen Zusammenhang zwischen der Art bzw. dem Schweregrad der Entzündung (endoskopisch wie histopathologisch) und der Prognose/ dem Therapieansprechen bzw. der klinischen Aktivität der Erkrankung zu geben (Craven et al. 2004, Munster et al. 2006, Allenspach et al. 2007, Garcia-Sancho et al. 2007, McCann et al. 2007, Schreiner et al. 2008, Jergens et al. 2010, Heilmann et al. 2018). Erst ein vereinfachtes histopathologisches Bewertungssystem, welches im Jahr 2019 und somit nach Studienende etabliert wurde, scheint eine Korrelation zwischen Ergebnissen der histopathologischen Untersuchung und der klinischen Aktivität der Erkrankung zu ermöglichen (Allenspach et al. 2019). Daher wurde in der vorliegenden Arbeit auf die statistische Überprüfung eventueller Zusammenhänge zwischen endoskopischen bzw. histopathologischen Befunden und der Diagnostik, Prognostik sowie den gemessenen Biomarkerkonzentrationen bei den Hunden der Studienpopulation verzichtet.

Die Diagnosestellung einer ARE basiert auf dem klinischen Ansprechen eines Hundes auf die Gabe eines Antibiotikums. Auch in der vorliegenden Studie wurden die Hunde mit ARE entsprechend diagnostiziert. Neueste Veröffentlichungen lassen die Behandlung aller Hunde ohne Ansprechen auf eine Eliminationsdiät mit einem Antibiotikum kritisch hinterfragen. Eine aktuelle Publikation zum rationalen Einsatz von Antibiotika beim Hund mit chronischer Enteropathie erklärt, dass antimikrobielle Medikamente nur nach einer erfolgten Diät und bei Bedarf Beprobung der gastrointestinalen Schleimhaut, bzw. nach der Durchführung anderer empirischer Therapieversuche verabreicht werden sollten (Cerquetella et al. 2020). Da der Einsatz von Antibiotika bei Hunden mit chronischer Enteropathie kontroverse Ergebnisse liefert (Westermarck

et al. 2005, Suchodolski et al. 2009, Jergens et al. 2010, Kilpinen et al. 2015), bleibt abzuwarten, inwieweit die Empfehlungen von Cerquetella et al (2020) klinisch umsetzbar sind. Zudem ist fraglich, welches Probiotikum für die Therapie von Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien genutzt werden soll, da verschiedene Studien teils widersprüchliche Resultate ergeben haben. So konnten Rossi et al. (2014) eine klinische und histopathologische Besserung nach achtwöchiger Probiotikumtherapie bei Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien verzeichnen. Eine spätere Studie konnte diese Ergebnisse trotz gleicher probiotischer Therapie nicht reproduzieren (White et al. 2017).

Für zukünftige Studien sollte ein entsprechend angepasstes Studiendesign überlegt werden und die Auswirkungen auf die klinische Remission der Hunde mit chronischen Enteropathien untersucht werden.

Hinsichtlich der klinischen Remission in der vorliegenden Studie ergab sich, dass Hunde mit IBD signifikant häufiger ein schlechtes Therapieansprechen zeigten. Auch vorangegangene Studien konnten feststellen, dass Hunde mit IBD seltener eine komplette klinische Remission erreichten (Allenspach et al. 2007, Volkmann et al. 2017). Zur statistischen Auswertung wurden die Gruppen (1) partielle Remission und (2) keine Remission auf Grund der kleinen Fallzahl der Hunde mit ausbleibendem Therapieansprechen (n=2) zusammengeführt und vergleichend zur Gruppe mit komplettem Therapieansprechen untersucht.

1.2 Biomarker

Die Einteilung der verschiedenen Formen der chronischen Enteropathie des Hundes erfolgt anhand des unterschiedlichen Ansprechens auf bestimmte Therapieformen in FRE, ARE und IBD, ohne dass die einzelnen Erkrankungsformen durch Endoskopie oder histopathologische Untersuchungen zu unterscheiden sind (Jergens et al. 1992, Cave 2003, Allenspach 2007, Allenspach et al. 2007, Schreiner et al. 2008, Allenspach et al. 2016, Dandrieux 2016). Ein nicht-invasiver Test zur frühzeitigen Identifizierung von Hunden ohne beziehungsweise mit nur unzureichender Besserung der klinischen Symptomatik unter Diät- und/oder antibiotischem Therapieversuch wäre ein nützliches Hilfsmittel in der tierärztlichen Praxis (Heilmann et al. 2018).

Serum S100A12 ermöglichte in der vorliegenden Studie keine Unterscheidung zwischen den Diagnosegruppen bei Erstvorstellung. Hunde mit IBD zeigten im Median zwar höhere Serum S100A12 Konzentrationen als Tiere der FRE- oder ARE Gruppe, jedoch statistisch nicht signifikant. Dies entspricht den Ergebnissen von Heilmann et al. (2018). Die Individualverläufe der

eingeschlossenen Hunde zeigten unabhängig von der Diagnosegruppe keine einheitlich gerichtete Konzentrationsänderung, sondern waren sehr heterogen. Eine Studie zeigte, dass Serum S100A12 bei Hunden mit verschiedenen entzündlichen Erkrankungen auch außerhalb des Magendarmtrakts ansteigen kann (Craig et al. 2016). Im Gegensatz dazu konnte eine andere Arbeit keinen Zusammenhang zwischen einer Vielzahl entzündlicher Erkrankungen und dem Anstieg von S100A12 im Serum bei Hunden verzeichnen (Koster et al. 2019). Die in die vorliegende Studie eingeschlossenen Hunde wurden regelmäßig klinisch und hämatologisch untersucht. Zu keinem Untersuchungszeitpunkt ergab sich ein Hinweis auf eine Entzündung außerhalb des Magendarmtraktes, welche für den Anstieg der S100A12-Konzentration im Verlauf bei einigen Hunden ursächlich sein könnte. Auch eine Behandlung mit Kortison hat laut Literatur keinen Einfluss auf S100A12 im Serum (Heilmann et al. 2016a). Da aber bei keinem der untersuchten Hunde eine Überschreitung des oberen Referenzintervalls detektiert wurde, sind die Schwankungen gegebenenfalls zu vernachlässigen. Daher scheint die klinische Nutzbarkeit fraglich.

Die vorliegenden Daten zeigten eine starke Korrelation der S100A12 im Serum und dem Schweregrad der Erkrankung, welcher mittels klinischem Aktivitätsscore CIBDAI bestimmt wurde. Daraus folgt, dass mit steigender S100A12-Konzentration auch der Krankheitsschweregrad (CIBDAI) ansteigt. Dieser Zusammenhang konnte jedoch nicht in einer aktuellen veterinärmedizinischen Studie sowie in einer humanmedizinischen Studie nachgewiesen werden (Leach et al. 2007, Heilmann et al. 2018). Auch für das im Serum gemessene Calprotectin zeigte sich eine starke Korrelation mit dem CIBDAI in der vorliegenden Studie. Zudem wurde hier eine sehr starke Korrelation von S100A12 und Calprotectin im Serum festgestellt. Das entspricht den Daten der humanmedizinischen Literatur (Leach et al. 2007, Boschetti et al. 2015). So könnte es im klinischen Alltag ausreichen, einen der beiden Marker (S100A12/ Calprotectin) im Serum zu bestimmen. Der alleinige Nutzen von S100A12 als prognostischer Marker zur Therapiekontrolle oder zur frühzeitigen Diagnosestellung bleibt fraglich.

Das **fäkale S100A12** war zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung im Median in der FRE-Gruppe am höchsten. Ursächlich hierfür könnte die Anzahl der immunhistochemisch S100A12-positiven Zellen (aktivierte mononukleäre Zellen) in der Darmmukosa der untersuchten Hunde sein. S100A12-positive Zellen scheinen bei Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien im gesamten Magendarmtrakt auffindbar zu sein und korrelieren stark mit der fäkalen S100A12-Konzentration (Heilmann et al. 2019). Die intestinale Mukosa von Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien weist vermutlich einen erhöhten Gehalt an neu rekrutierten und

damit aktivierten bzw. proinflammatorischen Makrophagen auf, die u.a. ursächlich für die chronische Entzündung des Darmes und die Expression der S100A12 Proteine sind (Bain und Mowat 2011, Nolte et al. 2017, Bujko et al. 2018, Heilmann et al. 2019). Die klinische Aktivität bzw. der Schweregrad der Erkrankung scheint aber weder mit der Anzahl der S100A12 positiven Zellen in der Darmschleimhaut (Heilmann et al. 2019) noch der intestinalen S100A12 Konzentration in der Mukosa (Hanifeh et al. 2018) zusammenzuhängen. So wiesen die Hunde mit erhöhten fäkalen S100A12 Konzentrationen unabhängig von der Erkrankungsform zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung in dieser Studie zumeist nur milde bis moderate Formen der chronischen Enteropathie laut CIBDAI auf. Ob der Gehalt der S100A12 positiven Zellen in der vorliegenden Studienpopulation einen Einfluss auf die fäkalen S100A12 Konzentrationen hatte ist fraglich, da nicht bei allen Hunden gastrointestinale Biopsien entnommen wurden. Eine immunhistochemische Untersuchung der Biopate mit Doppelfärbungen mit Makrophagenspezifischen Markern wird empfohlen (Heilmann et al. 2019). Da die routinemäßige histopathologische Untersuchung der Proben im Studienzeitraum vor 2019 stattgefunden hat, wurde dies nicht realisiert.

Heilmann et al. (2016) wiesen bei Hunden mit ausbleibender Remission signifikant erhöhte fäkale S100A12 Konzentrationen vor Therapiebeginn gegenüber Tieren mit gutem Therapieansprechen nach. In der vorliegenden Studie wiesen Hunde mit späterer kompletter Remission zum Zeitpunkt der Erstvorstellung im Median zwar eine geringgradig höhere Konzentration des fäkalen S100A12 als Hunde mit inkompletter Remission auf. Bei Betrachtung der Einzelverläufe waren die absolut höchsten gemessenen Werte allerdings bei Hunden mit partieller oder ausbleibender Remission zu finden. Dies deckt sich mit den Ergebnissen der Studie von Heilmann et al. (2016).

In der Humanmedizin gibt es zum prognostischen Nutzen des fäkalen S100A12 zum Zeitpunkt der Erstvorstellung unterschiedliche Angaben. Fäkales S100A12 korrelierte in einer Studie mit der klinischen Remission der Erkrankung bzw. einem möglichen Rückfall (Dabritz et al. 2013). In einer anderen Studie konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen den fäkalen S100A12-Konzentrationen und der Remission detektiert werden, auch wenn Patienten mit gutem Therapieansprechen initial niedrigere Konzentrationen von S100A12 im Kot aufwiesen als Patienten mit später schlechtem Ansprechen (Boschetti et al. 2015). Die Verlaufsuntersuchungen der hier untersuchten Hunde zeigten, dass vor allem Patienten mit partiellem Ansprechen einen Konzentrationsanstieg des fäkalen S100A12 zwischen Erst- und Letztuntersuchung aufwiesen. Da fäkales S100A12 einen guten Marker für entzündliche Veränderungen im Magendarmtrakt darstellt und mit dem Schweregrad der klinischen Veränderungen korreliert (Heilmann et al. 2014a, Heilmann et al. 2014b, Heilmann et al. 2016b, Heilmann et al. 2018), könnte dies als

mögliche Erklärung für die Ergebnisse herangezogen werden. Denn auch an IBD erkrankte Kinder wiesen trotz klinischer Remission erhöhte fäkale S100A12 Werte im Vergleich zu gesunden Kindern auf. Ursächlich hierfür scheint eine persistierende, subklinische Entzündung oder eine vermehrte Ausschüttung von S100A12 Proteinen bei erkrankten Individuen trotz klinischer Remission (de Jong et al. 2006). Eine fäkale S100A12 Konzentration $>0,5\text{mg/kg}$ im Verlauf scheint beim Menschen signifikant mit einem erneuten Krankheitsschub innerhalb der nächsten 18 Monate verbunden zu sein (Dabritz et al. 2013). Inwieweit ein erneuter Krankheitsschub bei den Hunden der IBD-Gruppe in dieser vorliegenden Studie nach Studienende einen Einfluss auf die erhöhten fäkalen S100A12 Konzentrationen hat, ist nicht untersucht worden. Auch ein Hund mit gutem Therapieansprechen und vollständiger klinischer Remission (ID 12) zeigte einen Anstieg des fäkalen S100A12 im Verlauf. Denkbar wäre, dass der Konzentrationsanstieg dieses Hundes mit kompletter Remission hinweisend für einen erneuten Krankheitsschub nach Studienende sein könnte. Auch ob die Tiere der FRE- oder ARE-Gruppe, die keinen Konzentrationsanstieg des fäkalen SA10012 im Verlauf aufwiesen, zukünftig keinen erneuten Krankheitsrückfall zeigen, bleibt unklar.

Serum Calprotectin ermöglichte in der vorliegenden Studie eine frühzeitige Unterscheidung zwischen den Diagnosegruppen. Hunde mit IBD zeigten im Median signifikant höhere Calprotectinkonzentrationen im Serum als Hunde mit FRE oder ARE. Auch eine weitere veterinärmedizinische Studie zeigte eine numerisch im Median höhere Konzentration des Calprotectins im Serum von Hunden mit IBD als bei Hunden mit FRE oder ARE, auch wenn keine statistische Signifikanz erreicht wurde (Heilmann et al. 2018). Hinsichtlich der Erkrankungsform scheint die Messung von Calprotectin im Serum zum Zeitpunkt der Erstvorstellung prognostisch von Nutzen zu sein. Somit könnte die kombinierte Bestimmung von Serum Calprotectin und CIBDAI eine frühzeitige Erkennung von Hunden, die an IBD erkrankt sind und eine frühzeitige Therapie mit entzündungshemmenden/immunsupprimierenden Medikamenten benötigen, ermöglichen. In größer angelegten Folgestudien könnte eine Regressionsanalyse dazu beitragen, den Effekt der kombinierten Messung dieser beiden Parameter ggf. auch in Kombination mit weiteren Biomarkern hinsichtlich eines diagnostischen und prognostischen Nutzens zu eruieren. In der vorliegenden Studie wäre der Stichprobenfehler auf Grund der kleinen Fallzahl zu hoch, weshalb auf die Regressionsanalyse, wie auch in anderen größeren Studien (Allenspach et al. 2007), verzichtet wurde. Somit bleibt fraglich, ob eine kombinierte Messung der Biomarker die Diagnostik und Prognostik bei Hunden mit chronisch-entzündlicher Enteropathie erleichtern kann. Eine Veröffentlichung aus dem Jahr 2015 beschreibt, dass die aktuelle Datenlage eine

kombinierte Messung, also den Einsatz von mehr als einem Kotmarker zu einem Zeitpunkt, die Diagnostik der IBD beim Menschen nicht unterstützt. Es würde nur zur Steigerung der diagnostischen Kosten, nicht aber zur Erhöhung der diagnostischen Aussagekraft führen (Lehmann et al. 2015).

Fäkales Calprotectin zeigte in der vorliegenden Studie einen ähnlichen Konzentrationsverlauf wie das oben beschriebene fäkale S100A12. Hunde der FRE-Gruppe wiesen bei Erstvorstellung eine im Median deutlich höhere Calprotectinkonzentration auf als Hunde der ARE- oder IBD-Gruppe. Eine aktuelle Studie zeigte, dass Hunde mit FRE eine deutlich höhere Anzahl an Calprotectin-positiven Zellen in den Krypten und Villi der Darmschleimhaut aufwiesen als gesunde Hunde bzw. Hunde mit ARE oder IBD (Dandrieux et al. 2018). Jedoch scheint die fäkale Calprotectinkonzentration nicht mit der Anzahl der Calprotectin-positiven Zellen im gesamten Magendarmtrakt zu korrelieren (Heilmann et al. 2019). Weiterhin ist fraglich, ob die Expression des Calprotectins im Rahmen der Reifung kaniner Makrophagen abnimmt (Nolte et al. 2017). Sowohl neutrophile Granulozyten (German et al. 2000c) als auch Epithelzellen (Foell et al. 2004) schütten Calprotectin im Rahmen einer Entzündung aus. Inwieweit diese Zelltypen Einfluss auf die hier gemessenen hohen Konzentrationen in der FRE-Gruppe haben, ist unklar.

Fäkales Calprotectin lässt nach einer humanmedizinischen Literaturanalyse mit einer Sensitivität und Spezifität von 43-100% Rückschlüsse auf eventuelle Krankheitsrückfälle beim Menschen zu (Musci et al. 2016). Asymptomatische Patienten mit wiederholt abnormalen fäkalen Calprotectinkonzentrationen scheinen eine 53-83%ige Wahrscheinlichkeit eines erneuten Krankheitsschubes in den nächsten 2-3 Monaten zu haben (Heida et al. 2017). In der hier vorliegenden Studie zeigten die meisten Hunde der IBD-Gruppe eine unzureichende bzw. keine Remission. Insofern ist ein erneuter Krankheitsrückfall nach Studienende eine mögliche Erklärung für die Konzentrationserhöhungen in dieser Gruppe. Weiterhin beschrieben Heilmann et al. (2012), dass der antiinflammatorische, proapoptotische Charakter des extrazellulären Calprotectins einen Einfluss auf den Anstieg der Biomarkerwerte nach der Therapie haben könnte. Zudem ist fraglich, in wieweit die teilweise durchgeführte rektale Palpation zur Sammlung der Kotproben in der vorliegenden Studie einen Einfluss auf die Höhe der gemessenen Calprotectinkonzentrationen hatte. Die Calprotectinmessung sollte mit natürlich abgesetztem Kot erfolgen, da die rektale Untersuchung gegebenenfalls Schleimhauttraumata verursacht, welche die Calprotectinwerte fälschlicherweise erhöht erscheinen lassen (Otoni et al. 2018). Zudem ist der fäkale Calprotectinwert zu verschiedenen Kotabsatzzeitpunkten variabel, wobei dieser Einfluss auf die Messergebnisse noch unklar ist (Heilmann et al. 2011a, Otoni et al. 2018). So ist

der diagnostische und prognostische Nutzen dieses Markers im Kot bei Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien fraglich.

Die Hunde der ARE-Gruppe der vorliegenden Studie zeigten sowohl zum Zeitpunkt der Erstvorstellung als auch im Verlauf niedrigere mediane fäkale Calprotectinkonzentrationen als Hunde der FRE- oder IBD-Gruppen. Ursächlich hierfür könnte die Bedeutung der Makrophagen in der Pathogenese der FRE bzw. IBD beim Hund sein. Hunde mit FRE oder IBD zeigten in einer aktuellen Studie deutlich erniedrigte Zahlen darmansässiger Makrophagen und eine erhöhte Zahl junger Makrophagen im Vergleich zu gesunden Kontrollhunden und Hunden mit ARE. Eine erniedrigte Anzahl darmansässiger Makrophagen scheint demnach eine wichtige Rolle in der Pathogenese von FRE und IBD zu spielen (Dandrieux et al. 2018). Dieser Zusammenhang, wenn auch nicht histopathologisch bestätigt, ist auch in der vorliegenden Studie möglich.

Wie bereits beschrieben (Heilmann et al. 2018) korrelieren fäkales Calprotectin und fäkales S100A12 auch in der vorliegenden Studie sehr stark positiv miteinander. Daher könnte es im klinischen Alltag ausreichen, einen der beiden Marker im Kot zu bestimmen. Zudem bestätigen die hier aufgezeigten Daten auch weitere Ergebnisse der Studie von Heilmann et al. (2018). So konnte keine Korrelation des fäkalen Calprotectins mit dem im Serum gemessenen S100A12 oder CRP detektiert werden. In der Humanmedizin werden das fäkale Calprotectin und das CRP bei Patienten mit IBD häufig kombiniert gemessen, um das Ansprechen auf die Therapie und das Outcome der Erkrankung überwachen zu können. Bei gutem Therapieansprechen fallen beide Biomarkerkonzentrationen ab. Ein erneuter Anstieg der Konzentrationen von Calprotectin bei Morbus Crohn, bzw. ein Anstieg von Calprotectin und CRP bei Patienten mit Colitis ulcerosa kann einen zukünftigen erneuten Krankheitsschub anzeigen (Engstrom et al. 2019). Zudem konnten Korrelationen dieser beiden Marker in verschiedenen humanmedizinischen Studien ausgemacht werden (Jones et al. 2008, Lin et al. 2015, Hoekman et al. 2016). Andere Studien stellten jedoch fest, dass eine kombinierte Messung keine Verbesserung des Vorhersagewertes zum Krankheitsverlauf bei Morbus Crohn oder Colitis ulcerosa zu haben scheint (Lin et al. 2015).

Für das **CRP** wurden in der vorliegenden Studie keine signifikanten Unterschiede zwischen den Diagnosegruppen bzw. der klinischen Remission ausgemacht. Diese Ergebnisse decken sich mit den Angaben der veterinärmedizinischen Literatur (Allenspach et al. 2007, Heilmann et al. 2018). Ursächlich hierfür scheint der unspezifische Charakter des CRP als Biomarker für eine Entzündung. Außerdem fehlen hochsensitive Messmethoden für das kanine CRP in der Veterinärmedizin (Jergens et al. 2003, Nakamura et al. 2008, Hillstrom et al. 2015, Heilmann et al. 2018, Heilmann und Steiner 2018). Zudem ist fraglich, inwieweit eine Entzündung des

Magendarmtraktes bei der chronischen Enteropathie des Hundes zu einer systemischen Entzündungsreaktion führt. Im Gegensatz zu einer veterinärmedizinischen Studie (Otoni et al. 2018) wurde in den vorliegenden Daten auch kein signifikanter Unterschied der CRP-Konzentration vor und nach der Behandlung detektiert.

Allerdings konnte für das CRP in dieser Studie eine negative Korrelation mit Serum-Albumin nachgewiesen werden. Ein niedriger Albuminwert stellt einen negativen prognostischen Faktor für Hunde mit chronisch-entzündlichen Enteropathien dar (Craven et al. 2004, Munster et al. 2006, Allenspach et al. 2007, Allenspach et al. 2016, Volkmann et al. 2017), der somit in Kombination mit einem ansteigenden CRP-Wert eine gute Aussagekraft über das Voranschreiten der Erkrankung besitzen könnte.

NMH im Kot korreliert in der vorliegenden Studie negativ mit dem Albumin. Dies unterstützt frühere Beschreibungen von einem Anstieg der Mastzelldegranulation bei Hunden mit Proteinverlustenteropathie (Vaden 2000). Auch die vorliegenden Daten ließen eine deutlich niedrigere Albuminkonzentration bei Hunden mit unvollständiger bzw. ausbleibender Remission zum Zeitpunkt der Erstvorstellung erkennen, die zudem die höchsten im Median gemessenen NMH-Konzentrationen in Serum und Kot aufwiesen. Ein Zusammenhang zwischen Proteinverlust und erhöhter NMH-Konzentration scheint daher möglich. In anderen Studien konnte jedoch keine Korrelation zwischen Albumin und fäkalem NMH ausgemacht werden (Berghoff 2008, Berghoff et al. 2014). Die vorliegenden Daten ergaben sowohl für das im Serum als auch im Kot gemessene NMH die im Median höchsten Konzentrationen in der IBD Gruppe. Zudem zeigte sich ein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Remission. Hunde mit partieller oder ausbleibender Remission wiesen signifikant höhere Serum NMH Werte auf als Hunde mit kompletter Remission. Fraglich ist, inwieweit die Anzahl der Mastzellen in der Darmmukosa einen Einfluss auf die detektierten NMH-Werte hat. Vorangegangene Studien zeigten keine Korrelation zwischen fäkalen NMH-Werten und Mastzellinfiltrationen der Darmschleimhaut auf (Anfinsen et al. 2014, Berghoff et al. 2014). Es konnte jedoch eine höhere Mastzellzahl in der Darmschleimhaut von Hunden mit FRE/ARE im Vergleich zu Hunden mit immunsuppressiver Therapie festgestellt werden (German et al. 2001, Anfinsen et al. 2014). Diese Ergebnisse in Kombination mit der in dieser Studie festgestellten negativen Korrelation des fäkalen NMH mit der absoluten Anzahl der eosinophilen Granulozyten, könnten die Relevanz einer allergischen bzw. Typ-I Hypersensitivitätsreaktion in Hunden mit Futter-responsiver Enteropathie unterstreichen. Unklar ist, ob die erhöhten gemessenen NMH-Konzentrationen in der IBD-Gruppe mit einer gesteigerten Mastzellaktivierung zusammenhängen. Es wird vermutet, dass aktivierte Mastzellen nach ihrer

Degranulierung schlechter färbbar sind und daher in entzündeten Geweben schwieriger nachgewiesen werden können (German et al. 2003a). Dies könnte die in vorangegangenen Studien detektierten niedrigen Mastzellzahlen in der Darmmukosa von Hunden, die eine immunsuppressive Behandlung benötigen, erklären (German et al. 2001, Anfinsen et al. 2014). Die Aktivierung bzw. Degranulierung dieser Zellen könnten aber ursächlich für die, in der vorliegenden Studie, hohen gemessenen NMH-Konzentrationen in der IBD-Gruppe sein. Da jedoch keine Untersuchung der Darmbiopsate hinsichtlich der Mastzellzahl durchgeführt wurde und nur Hunde mit ausbleibendem Ansprechen auf Diät und Antibiotikum beprobt wurden, bleibt dieser Zusammenhang unklar. Im Behandlungsverlauf zeigten sich auch zum Zeitpunkt der Letztuntersuchung die im Median am höchsten gemessenen NMH-Werte in Serum und Kot in der IBD-Gruppe. Weiterhin ergab sich ein Anstieg der medianen fäkalen NMH-Konzentration zwischen Erst- und Letztuntersuchung in der IBD-Gruppe. Fraglich ist, inwieweit eine bestehende aktive Entzündung einen Anstieg der Werte erklären kann, da keine Biopsie der Darmmukosa im Verlauf durchgeführt wurde. Auch ein möglicher Einfluss der Kortisontherapie auf die NMH-Messung bleibt ungeklärt (Berghoff et al. 2014). Zudem ist bisher nicht geklärt, ob die Zeit der gastrointestinalen Passage einen Einfluss auf die NMH-Konzentrationen im Kot hat. Somit könnten Hunde mit Diarrhö, die eine schnellere gastrointestinale Passage zeigen, Veränderungen in den fäkalen NMH-Konzentrationen aufweisen (Berghoff et al. 2014). In der vorliegenden Studie wurden die höchsten einzeln detektierten Werte bei breiigem Kot verzeichnet. Weitere Untersuchungen zur klinischen Nutzbarkeit von NMH sind daher notwendig.

Das im Serum gemessene NMH ermöglicht bereits zum Zeitpunkt der Erstvorstellung einen Rückschluss auf eine wahrscheinliche klinische Remission. Weiterhin scheinen Hunde mit IBD höhere Konzentrationen NMH im Serum aufzuweisen, womit eine frühzeitige Einschätzung des Erkrankungstyps möglich wäre. Auf Grund der positiven Korrelationen von fäkalem und im Serum gemessene NMH, scheint es ausreichend, nur einen der beiden Marker zu bestimmen. Für den klinischen Alltag ist die Nutzbarkeit des Serummarkers aber noch unklar, da bisher kein Referenzbereich etabliert werden konnte.

Die Betrachtung der **Einzelverläufe** der Hunde mit IBD zeigte für das fäkale S100A12 bzw. NMH in den meisten Fällen ein früheres Ansteigen bzw. entsprechendes Abfallen der Konzentrationen im Vergleich zu im Serum gemessenen S100A12 oder NMH. Dies deckt sich mit humanmedizinischen Studien. Fäkale Marker korrelieren besser als Serummarker mit der Krankheitsaktivität und den Veränderungen bzw. Abheilung der Darmschleimhaut (Langhorst et al. 2008, af Bjorkesten et al. 2012, Karczewski et al. 2015, Langhorst et al. 2016, Kawashima et

al. 2017). Zudem eignen sich fäkale Marker besser zum Monitoring des Krankheitsverlaufs, da der enge Kontakt des Kotes mit der intestinalen Mukosa die Aufnahme von intestinalen Entzündungsmarkern in die Fäzes ermöglicht. So spiegelt es direkt die entzündlichen Vorgänge im Darm wieder, wohingegen Serum Biomarker vor allem von zirkulierenden Leukozyten ausgeschüttet werden. So scheinen die im Serum gemessenen Marker eher hinweisend für systemische, als für gastrointestinale Entzündungen zu sein (Fukunaga et al. 2018). Limitierend für die Nutzbarkeit fäkaler Marker sind jedoch die, wie für Calprotectin beschrieben, Variationen der Biomarkerkonzentration zwischen unterschiedlichen Kotabsatzzeitpunkten und der bisher nicht geklärte Einfluss neoplastischer Erkrankungen des Darmes auf die Biomarkerkonzentration im Kot (Lehmann et al. 2015, Heilmann et al. 2018).

Die durchgeführten Verlaufsuntersuchungen in der vorliegenden Studie sollten die Nutzbarkeit ausgewählter Biomarker in Serum und Kot hinsichtlich des Monitorings der Erkrankung überprüfen. Die einzelnen Verläufe der Hunde in der IBD- Gruppe zeigten jedoch eine sehr heterogene Verteilung. Ursächlich hierfür könnten die jeweiligen Aktivitätsstadien der Erkrankung der einzelnen Hunde zu den hier ausgewählten Messzeitpunkten sein. Da es sich um eine klinische Studie handelte und die Hunde mit unterschiedlich langanhaltenden Krankheitssymptomen und unterschiedlicher klinischer Aktivität eingeschlossen wurden, ist eine Standardisierung der Messpunkte, wenn auch in einem einheitlichen Zeitfenster durchgeführt, nicht möglich. Auch das individuelle Verteilungsmuster der Erkrankung im Gastrointestinaltrakt scheint einen Einfluss auf die Biomarkerkonzentrationen zu haben und könnte die Heterogenität der individuellen Verläufe der Biomarker in der vorliegenden Studie erklären. Beim Menschen konnten Unterschiede hinsichtlich der Korrelation zwischen fäkalem Calprotectin und dem endoskopischen und klinischen Aktivitätsindex bei Patienten mit Morbus Crohn bzw. Colitis ulcerosa nachgewiesen werden. Patienten mit Morbus Crohn zeigten deutlich schwächere Korrelationen des Biomarkers und der klinischen Parameter. Vermutlich ist der fokale Entzündungscharakter bei Morbus Crohn hierfür ursächlich. Zudem sind tiefere Gewebeschichten in der Darmschleimhaut betroffen. Das führt zu einer unberechenbaren Ausschüttung des fäkalen Calprotectins aus der Darmschleimhaut (Fukunaga et al. 2018). Inwieweit eine fokale bzw. diffuse entzündliche Veränderung bei den in die vorliegende Studie eingeschlossenen Hunde einen Einfluss auf die fäkalen Biomarkerkonzentrationen hat ist unklar. Die Auswertung der anamnestisch erhobenen Daten ergab, dass Zweidrittel der in diese Studie eingeschlossenen Hunde Mischformen mit Dünn- und Dickdarmsymptomen aufwiesen. Auf Grund der geringen Anzahl an Patienten mit alleinigen Dünn- bzw. Dickdarmsymptomen wurde auf eine statistische Auswertung

eines eventuellen Zusammenhangs zwischen der Lokalisation der Erkrankung und der Biomarkerkonzentrationen verzichtet. Auch dieser Zusammenhang sollte in zukünftigen Studien untersucht werden.

1.3 Limitationen der Studie

Eine wesentliche Limitation dieser Studie ist die geringe Fallzahl. Daher sind die ermittelten Zusammenhänge kritisch zu hinterfragen und die Nutzbarkeit der hier untersuchten Biomarker sollte in Studien mit größeren Fallzahlen überprüft werden. Es war nicht möglich, von allen Tieren zu allen Untersuchungszeitpunkten sowohl Serum- als auch Kotproben zu gewinnen. Dies lag zum einen an fehlender Besitzercompliance vor allem bei klinisch deutlich gebessertem Allgemeinbefinden des Hundes. Zum anderen waren auf Grund technischer Probleme nicht alle Messungen des Calprotectins in Serum und Kot möglich.

Weiterhin waren mehrere Tierärzte an der Probensammlung beteiligt. Dies stellt eine weitere Limitation dar, da anamnestische Daten die zur Berechnung des CIBDAIs genutzt wurden, gegebenenfalls einer untersucherabhängigen Variabilität unterlagen. Da auch die Sonographie und Endoskopie von verschiedenen Tierärzten durchgeführt wurde und die Dokumentation der Ergebnisse nicht standardisiert war, ist auch hier keine einheitliche Auswertung möglich gewesen. Zudem wurden die histopathologischen Untersuchungen von verschiedenen Pathologen durchgeführt. Da eine Variabilität zwischen den Ergebnissen verschiedener Untersucher beschrieben ist, stellt dies eine weitere Limitation dar (Willard et al. 2010). Zudem sind Neoplasien als Ursache für die Magendarmerkrankungen der an der Studie beteiligten Hunde nicht sicher auszuschließen, da das Ileum endoskopisch nicht beprobt wurde. Eine erneute endoskopische Kontrolle der Patienten mit lymphoplasmazellulärer Entzündung, welche sich auf Grund unkontrollierter Zellproliferation auch zu Neoplasien entwickeln könnte (Cave 2003), fand nicht statt. Eine Langzeitnachverfolgung war nicht für alle Patienten möglich, was die Daten bezüglich der klinischen Remission beeinflusst haben könnte.

VI Schlussfolgerung und Ausblick

Die in dieser Studie erhobenen klinischen Daten entsprechen zum Großteil den Angaben der Literatur. Sowohl das Signalement als auch die Ergebnisse der klinischen Untersuchung besitzen nur eine geringe Aussagekraft über den Schweregrad und die Progression einer chronisch-entzündlichen Enteropathie des Hundes. Alter, Rasse, Geschlecht oder die Lokalisation der Erkrankung eines Hundes lassen nur selten Rückschlüsse auf die Ursache der chronischen Entzündung des Magendarmtraktes zu. Daher sollten verschiedene spezielle Untersuchungen genutzt werden, um die Diagnostik, die Therapieplanung und Aussagen über die Prognose zu erleichtern. Ultraschall und endoskopische Untersuchung sollten dabei kritisch abgewogen werden, da es sich um kostenintensive und im Falle der Endoskopie um invasive Methoden handelt, deren Aussagekraft bezüglich der Diagnostik einer chronisch-entzündlichen Enteropathie des Hundes limitiert ist. Deutlich weniger invasiv sind Untersuchungen von bestimmten Parametern in Blut und Kot des Patienten. Daher ist es Ziel zahlreicher Studien, die Nutzbarkeit verschiedener Biomarker und Laborparameter zu evaluieren. Auch in der vorliegenden Studie konnte gezeigt werden, dass die gemeinsame Betrachtung ausgewählter Laborparameter die Aussagekraft bezüglich der Diagnose und Prognose der chronisch-entzündlichen Enteropathie des Hundes erhöhen könnte.

Der klinische Aktivitätsscore (CIBDAI) lässt eine Einschätzung des Schweregrades der Erkrankung zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung des Hundes zu. Beide S100-Proteine (S100A12 und Calprotectin) im Serum korrelieren mit dem CIBDAI. Da beide Marker zudem signifikant miteinander korrelieren, kann es im klinischen Alltag ausreichen, einen der beiden Marker, S100A12 oder Calprotectin im Serum, zu bestimmen. Serum Calprotectin war signifikant bei Hunden der IBD-Gruppe erhöht und könnte eine Unterscheidung der Erkrankungsform zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung ermöglichen. CRP scheint in der vorliegenden Studie vor allem als Aktivitätsparameter für den Verlauf der Erkrankung hilfreich. Das Serum NMH war signifikant erhöht bei Hunden mit unvollständiger oder ausbleibender Remission, was eine frühzeitige Einschätzung der klinischen Remission von Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien ermöglichen könnte. Die fäkalen Marker NHM und S100A12 zeigten in der IBD-Gruppe zumeist einen frühzeitigeren Anstieg der Konzentration als die entsprechenden Biomarker im Serum. So scheinen die Serummarker vor allem im Hinblick auf die Diagnostik und Prognostik bei Erstuntersuchung nutzbar zu sein. Die fäkalen Marker könnten hilfreich beim Monitoring der

Erkrankung im Verlauf sein. Die Individualverläufe der Hunde mit ARE und IBD wiesen jedoch eine starke Heterogenität auf. Insofern sind keine allgemeingültigen Aussagen bezüglich des diagnostischen und prognostischen Nutzens der Marker möglich.

Die hier vorliegenden Ergebnisse weisen darauf hin, dass eine zeitgleiche Messung von Biomarkern in Serum und Kot die Aussagekraft bezüglich der Diagnostik und Prognostik der chronisch-entzündlichen Enteropathien des Hundes erhöhen könnte. Neben dem klinischen Aktivitätsindex CIBDAI scheinen hierfür vor allem die Marker NMH und Calprotectin im Serum, sowie fäkales NMH und S100A12 interessant. Weitere Studien sind jedoch notwendig, um diese Ergebnisse und das Potential der hier untersuchten Biomarker zu verifizieren und für die veterinärmedizinische Praxis nutzbar zu machen.

VII Zusammenfassung

Untersuchungen zur Anwendung ausgewählter serologischer und fäkaler Biomarker und deren diagnostischen sowie prognostischen Nutzen bei Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien

Die chronisch-entzündlichen Enteropathien des Hundes sind multifaktorielle Erkrankungen, deren Ätiopathogenese bisher nicht vollständig aufgeklärt werden konnte. Durch das Ansprechen auf eine bestimmte Therapie wird eine Unterscheidung in Futter-responsive Enteropathie (FRE), Antibiotika-responsive Enteropathie (ARE) und Inflammatory Bowel Disease (IBD) möglich. Diese Erkrankungsformen lassen sich klinisch teilweise schwer voneinander unterscheiden. Daher ist es das Ziel verschiedener Studien, Biomarker zu etablieren, deren Bestimmung die Aussagekraft bezüglich der Diagnostik und Prognostik der Erkrankung frühzeitig erhöht. Diese prospektive, unizentrische Studie sollte untersuchen, ob eine gleichzeitige Messung der Biomarker S100A12, Calprotectin, C-reaktives Protein (CRP) und N-Methylhistamin (NMH) in Serum und/ oder Kot das Monitoring der chronisch-entzündlichen Enteropathien des Hundes verbessern kann. Es sollten jene Marker identifiziert werden, die allein oder in Kombination von diagnostischem und/oder prognostischem Nutzen sein könnten. Dazu wurden von März 2015 bis März 2018 an der Klinik für kleine Haustiere der Freien Universität Berlin 32 Hunde mit chronisch intermittierenden oder persistierenden gastrointestinalen Symptomen in die Studie eingeschlossen. Daten zu Anamnese, Signalement, der klinischen Aktivität der Erkrankung (Canine Inflammatory Bowel Disease Activity Index (CIBDAI)), Laborparametern sowie bildgebender Diagnostik und Endoskopie wurden ausgewertet. An Hand des Ansprechens auf eine bestimmte Therapie wurden die Tiere in die Gruppen FRE (n= 11), ARE (n= 9) und IBD (n= 12) eingeteilt. Die Messung der Biomarker erfolgte wenn möglich zum Zeitpunkt der Erstvorstellung, im Verlauf und bei Letztvorstellung. Das Ansprechen auf die Therapie bzw. die Besserung der klinischen Anzeichen wurde eingeteilt in klinische Remission, partielle Remission oder keine Remission.

Die Daten der drei Diagnosegruppen wurden miteinander verglichen. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Diagnosegruppen hinsichtlich der Anamnese, des Signalements oder der Klinik. Der CIBDAI war zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung bei Hunden mit IBD gegenüber Hunden mit FRE oder ARE deutlich erhöht ($p= 0,015$). Hunde der IBD- Gruppe erreichten seltener eine vollständige klinische Remission ($p= 0,046$). Auch für das im Serum

gemessene Calprotectin zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen den Erkrankungsgruppen ($p = 0,048$). Hunde mit IBD wiesen deutlich höhere Calprotectinkonzentrationen im Serum auf als Hunde mit FRE oder ARE. Auf Grund der stark positiven Korrelation zwischen S100A12 und Calprotectin im Serum ($r_s = 0,810$; $p < 0,0001$) scheint eine alleinige Messung von Calprotectin im Serum ausreichend. Die fäkalen Marker S100A12 und Calprotectin zeigten bei Erstvorstellung die höchsten Konzentrationen in der FRE-Gruppe. Im Verlauf erreichten beide Marker die höchsten Konzentrationen in der IBD-Gruppe. Somit könnte eine Verlaufsmessung dieser Marker hinweisend für die Aktivität der Erkrankung sein. Da beide Marker auch im Kot sehr stark miteinander korrelierten ($r_s = 0,934$; $p < 0,0001$), scheint die Messung eines der beiden Marker, Calprotectin oder S100A12, im Kot ausreichend. Das im Serum gemessene NMH scheint zudem eine prognostische Aussage hinsichtlich des Therapieansprechens bei Erstuntersuchung zu ermöglichen. Hunde mit partieller oder ausbleibender klinischer Remission zeigten deutlich höhere Serum NMH-Konzentrationen ($p = 0,007$) als Hunde mit kompletter Remission. Hunde mit IBD wiesen zudem sowohl bei Erstvorstellung als auch im Verlauf höhere NMH-Werte im Kot als Hunde mit FRE oder ARE auf. Basierend auf den Ergebnissen dieser Studie scheinen NMH in Serum und Kot sowie Serum Calprotectin nützlich in der Diagnostik der chronisch-entzündlichen Enteropathie des Hundes zu sein.

Kotmarker scheinen hinweisend für eine erneute klinische Verschlechterung zu sein. Daher eignen sich die Biomarker im Kot vor allem für Verlaufsuntersuchungen, während die Biomarker im Serum eine Aussage bezüglich der Diagnose und Prognose bei Erstuntersuchung ermöglichen sowie die klinische Aktivität im Verlauf anzeigen können. Die kleine Studienpopulation stellt die größte Limitation dieser Studie dar. Größere prospektive Studien sollten sich anschließen, um die hier festgestellten Zusammenhänge zu verifizieren.

VIII Summary

Studies on the use of selected serological and fecal biomarkers and their diagnostic and prognostic benefits in dogs with chronic inflammatory enteropathies

Canine chronic inflammatory enteropathies are multifactorial diseases, whose aetiopathogeneses have yet to be fully understood. A classification as food-responsive enteropathy (FRE), antibiotic-responsive enteropathy (ARE) and inflammatory bowel disease (IBD) is possible by means of the response to a specific treatment. These disease forms are mostly difficult to differentiate clinically. Thus, it is the goal of various studies to establish biomarkers, whose purpose it is to increase the timely sensitivity of early diagnostics and prognostics of the disease. This prospective, single-center study examined, whether a simultaneous measurement of the biomarkers S100A12, calprotectin, C-reactive protein (CRP) and N-methylhistamine (NMH) in serum and/or faeces can improve the monitoring of canine chronic inflammatory enteropathies. Markers were to be identified, which could be of diagnostic and/or prognostic value, either alone or in combination. To this end, 32 dogs with chronic intermittent or persistent gastrointestinal symptoms presented from March 2015 to March 2018 at the Small Animal Clinic of the Freie Universität Berlin were included in this study. Data on their medical history, signalment, clinical disease activity (Canine Inflammatory Bowel Disease Activity Index (CIBDAI)), laboratory parameters as well as imaging diagnostics and endoscopy were analysed. Based on their response to a specific therapy, the animals were classified into the groups FRE (n= 11), ARE (n= 9) and IBD (n= 12). The measurement of the biomarkers ensued, whenever possible, at time of initial examination, follow-up and final presentation. The response to therapy or the improvement of symptoms were classified as clinical, partial or absent remission, respectively.

The data on the three diagnosis groups were compared. No significant differences between the diagnosis groups regarding medical history, signalment or symptoms were seen. The CIBDAI was significantly increased in the dogs with IBD compared to dogs with FRE or ARE ($p= 0.015$) at time of the initial examination. Dogs of the IBD-group achieved a complete clinical remission ($p= 0.046$) less often. A significant difference between the disease groups ($p= 0.048$) was also seen for calprotectin measured in serum. Dogs with IBD showed significantly increased calprotectin concentrations in serum compared to dogs with FRE or ARE. Based on this strong positive correlation between S100A12 and calprotectin in serum ($r_s = 0.810$; $p < 0.0001$), the sole

measurement of calprotectin in serum seems sufficient. The faecal markers S100A12 and calprotectin showed the highest concentrations at initial examination in the FRE-group. During disease progression, both markers reached the highest concentrations in the IBD-group. Therefore, follow-up measurements of these markers could be indicative of the disease activity. As both markers also strongly correlated in faeces ($r_s = 0.934$; $p < 0.0001$), the measurement of one of these markers – calprotectin or S100A12 – in faeces seems sufficient. Moreover, the NMH measured in serum seems to facilitate a prognostic prediction regarding the response to therapy at initial examination. Dogs with partial or absent clinical remission showed significantly increased serum NMH concentrations ($p = 0.007$) compared to dogs with complete remission. Furthermore, dogs with IBD presented with increased faecal NMH-values, both at initial examination as well as at follow-up examinations, than dogs with FRE or ARE. Based on the findings of this study NMH in serum and faeces as well as serum Calprotectin appear to be beneficial when diagnosing chronic-inflammatory enteropathies in dogs.

The faecal markers seem to be indicative of a renewed clinical deterioration. Thus, the faecal biomarkers are best suited for follow-up examinations, while the serum biomarkers enable a prediction regarding diagnosis and prognosis at initial examination, or show the clinical activity during disease progression, respectively. The small study population constitutes the largest limitation of this study. Larger prospective studies should follow, to verify the ascertained correlations herein.

IX Literaturverzeichnis

af Bjorkesten, C. G., U. Nieminen, U. Turunen, P. Arkkila, T. Sipponen and M. Farkkila (2012). "Surrogate markers and clinical indices, alone or combined, as indicators for endoscopic remission in anti-TNF-treated luminal Crohn's disease." Scand J Gastroenterol **47**(5): 528-537.

Allenspach, K. and F. Gaschen (2003). "[Chronic intestinal diseases in the dog: a review]." Schweiz Arch Tierheilkd **145**(5): 209-219, 221-202.

Allenspach, K., S. L. Vaden, T. S. Harris, A. Grone, M. G. Doherr, M. E. Griot-Wenk, S. C. Bischoff and F. Gaschen (2006a). "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., S. Rufenacht, S. Sauter, A. Grone, J. Steffan, G. Strehlau and F. Gaschen (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. (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., B. Wieland, A. Grone and F. Gaschen (2007). "Chronic enteropathies in dogs: evaluation of risk factors for negative outcome." J Vet Intern Med **21**(4): 700-708.

Allenspach, K. (2010). Diseases of the Large Intestine. Textbook of Veterinary Internal Medicine - Diseases of the Dog and the Cat. S. J. Ettinger and E. C. Feldman (eds.), Philadelphia, Saunders: 1573-1608.

Allenspach, K., A. House, K. Smith, F. M. McNeill, A. Hendricks, J. Elson-Riggins, A. Riddle, J. M. Steiner, D. Werling, O. A. Garden, B. Catchpole and J. S. Suchodolski (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. (2011). "Clinical immunology and immunopathology of the canine and feline intestine." Vet Clin North Am Small Anim Pract **41**(2): 345-360.

Allenspach, K., C. Culverwell and D. Chan (2016). "Long-term outcome in dogs with chronic enteropathies: 203 cases." Vet Rec **178**(15): 368.

Allenspach, K. A., J. P. Mochel, Y. Du, S. L. Priestnall, F. Moore, M. Slayter, A. Rodrigues, M. Ackermann, M. Krockenberger, J. Mansell, W. G. S. W. Group, N. Luckschander, C. Wang, J. Suchodolski, N. Berghoff and A. E. Jergens (2019). "Correlating Gastrointestinal Histopathologic Changes to Clinical Disease Activity in Dogs With Idiopathic Inflammatory Bowel Disease." Vet Pathol **56**(3): 435-443.

Andoh, A., Y. Deguchi, O. Inatomi, Y. Yagi, S. Bamba, T. Tsujikawa and Y. Fujiyama (2006). "Immunohistochemical study of chymase-positive mast cells in inflammatory bowel disease." Oncol Rep **16**(1): 103-107.

Andre, C., L. Descos, P. Landais and J. Fermanian (1981). "Assessment of appropriate laboratory measurements to supplement the Crohn's disease activity index." Gut **22**(7): 571-574.

Anfinsen, K. P., N. Berghoff, S. L. Priestnall, J. S. Suchodolski, J. M. Steiner and K. Allenspach (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.

Bain, C. C. and A. M. Mowat (2011). "Intestinal macrophages - specialised adaptation to a unique environment." Eur J Immunol **41**(9): 2494-2498.

Batt, R. M., M. W. Carter, T. J. Peters (1982). "Sub-cellular biochemical changes in the jejunal mucosa of dogs with naturally occurring bacterial overgrowth." Clin Sci (Lond) **63**(55).

Batt, R. M. and J. O. Morgan (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., J. R. Needham and M. W. Carter (1983). "Bacterial overgrowth associated with a naturally occurring enteropathy in the German shepherd dog." Res Vet Sci **35**(1): 42-46.
- Batt, R. M., M. W. Carter and L. McLean (1984). "Morphological and biochemical studies of a naturally occurring enteropathy in the Irish setter dog: a comparison with coeliac disease in man." Res Vet Sci **37**(3): 339-346.
- Batt, R. M., L. McLean and M. W. Carter (1987). "Sequential morphologic and biochemical studies of naturally occurring wheat-sensitive enteropathy in Irish setter dogs." Dig Dis Sci **32**(2): 184-194.
- Batt, R. M., L. McLean and J. E. Riley (1988). "Response of the jejunal mucosa of dogs with aerobic and anaerobic bacterial overgrowth to antibiotic therapy." Gut **29**(4): 473-482.
- Batt, R. M., A. Barnes, H. C. Rutgers and S. D. Carter (1991). "Relative IgA deficiency and small intestinal bacterial overgrowth in German shepherd dogs." Res Vet Sci **50**(1): 106-111.
- Batt, R. M., E. J. Hall, L. McLean and K. W. Simpson (1992). "Small intestinal bacterial overgrowth and enhanced intestinal permeability in healthy beagles." Am J Vet Res **53**(10): 1935-1940.
- Baumgart, K., M. Volkmann, J. M. Steiner and B. Kohn (2014). Final Diagnoses in 155 Dogs with Chronic Vomiting and/or Diarrhea. 24th ECVIM-CA Congress, Mainz. ESCG-P-10.
- Berghoff N, JS Suchodolski, JM Steiner (2006). Assessment of stability and determination of a reference range for canine C-reactive protein in serum. J Vet Intern Med **20**(3):790 (abstract).
- Berghoff, N., JM Steiner (2008). "Fecal N-methylhistamine concentrations in Norwegian Lundehunds with gastrointestinal disease." J Vet Intern Med **22**(3): 748.
- Berghoff, N., S. Hill, N. K. Parnell, J. Mansell, J. S. Suchodolski and J. M. Steiner (2014). "Fecal and urinary N-methylhistamine concentrations in dogs with chronic gastrointestinal disease." Vet J **201**(3): 289-294.
- Biomarkers Definitions Working Group (2001). "Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework." Clin Pharmacol Ther **69**(3): 89-95.

Boschetti, G., P. Garnero, D. Moussata, C. Cuerq, C. Preaudat, R. Duclaux-Loras, A. Mialon, J. Draï, B. Flourie and S. Nancey (2015). "Accuracies of serum and fecal S100 proteins (calprotectin and calgranulin C) to predict the response to TNF antagonists in patients with Crohn's disease." Inflamm Bowel Dis **21**(2): 331-336.

Breitschwerdt, E. B., C. Waltman, H. V. Hagstad, R. Ochoa, J. McClure and O. Barta (1982). "Clinical and epidemiologic characterization of a diarrheal syndrome in Basenji dogs." J Am Vet Med Assoc **180**(8): 914-920.

Breitschwerdt, E., R. Ochoa, M. Barta, O. Barta, J. McClure and C. Waltman (1984). "Clinical and laboratory characterization of Basenjis with immunoproliferative small intestinal disease." Am J Vet Res **45**(2): 267-273.

Bruijnzeel-Koomen, C., C. Ortolani, K. Aas, C. Bindslev-Jensen, B. Bjorksten, D. Moneret-Vautrin and B. Wuthrich (1995). "Adverse reactions to food. European Academy of Allergology and Clinical Immunology Subcommittee." Allergy **50**(8): 623-635.

Bujko, A., N. Atlasy, O. J. B. Landsverk, L. Richter, S. Yaqub, R. Horneland, O. Oyen, E. M. Aandahl, L. Aabakken, H. G. Stunnenberg, E. S. Baekkevold and F. L. Jahnsen (2018). "Transcriptional and functional profiling defines human small intestinal macrophage subsets." J Exp Med **215**(2): 441-458.

Burgener, I. A., A. König, K. Allenspach, S. N. Sauter, J. Boisclair, M. G. Doherr and T. W. Jungi (2008). "Upregulation of toll-like receptors in chronic enteropathies in dogs." J Vet Intern Med **22**(3): 553-560.

Casamian-Sorrosal, D., M. D. Willard, J. K. Murray, E. J. Hall, S. S. Taylor and M. J. Day (2010). "Comparison of histopathologic findings in biopsies from the duodenum and ileum of dogs with enteropathy." J Vet Intern Med **24**(1): 80-83.

Caspi, D., M. L. Baltz, F. Snel, E. Gruys, D. Niv, R. M. Batt, E. A. Munn, N. Buttress and M. B. Pepys (1984). "Isolation and characterization of C-reactive protein from the dog." Immunology **53**(2): 307-313.

Cassmann, E., R. White, T. Atherly, C. Wang, Y. Sun, S. Khoda, C. Mosher, M. Ackermann and A. Jergens (2016). "Alterations of the Ileal and Colonic Mucosal Microbiota in Canine Chronic Enteropathies." PLoS One **11**(2): e0147321.

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

Ceron, J. J., P. D. Eckersall and S. Martynez-Subiela (2005). "Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives." Vet Clin Pathol **34**(2): 85-99.

Cerquetella, M., G. Rossi, A. Spaterna, B. Tesei, A. Gavazza, G. Pengo, S. Pucciarelli, L. Scortichini, G. Sagratini, M. Ricciutelli, A. Marchegiani and S. Vincenzetti (2019). "Fecal Proteomic Analysis in Healthy Dogs and in Dogs Suffering from Food Responsive Diarrhea." Sci World J **2019**: 2742401.

Cerquetella, M., G. Rossi, J. S. Suchodolski, S. S. Schmitz, K. Allenspach, F. Rodriguez-Franco, T. Furlanello, A. Gavazza, A. Marchegiani, S. Unterer, I. A. Burgener, G. Pengo and A. E. Jergens (2020). "Proposal for rational antibacterial use in the diagnosis and treatment of dogs with chronic diarrhoea." J Small Anim Pract **61**(4): 211-215.

Cehade, M. and L. Mayer (2005). "Oral tolerance and its relation to food hypersensitivities." J Allergy Clin Immunol **115**(1): 3-12; quiz 13.

Churcher, R. K. and A. D. Watson (1997). "Canine histiocytic ulcerative colitis." Aust Vet J **75**(10): 710-713.

Cianferoni, A. and J. M. Spergel (2009). "Food allergy: review, classification and diagnosis." Allergol Int **58**(4): 457-466.

Couto, C. G., H. C. Rutgers, R. G. Sherding and J. Rojko (1989). "Gastrointestinal lymphoma in 20 dogs. A retrospective study." J Vet Intern Med **3**(2): 73-78.

Couto, K. M., P. F. Moore, A. L. Zwingenberger, J. L. Willcox and K. A. Skorupski (2018). "Clinical characteristics and outcome in dogs with small cell T-cell intestinal lymphoma." Vet Comp Oncol **16**(3): 337-343.

Craig, S. M., J. K. Fry, A. Rodrigues Hoffmann, P. Manino, R. M. Heilmann, J. S. Suchodolski, J. M. Steiner, H. A. Hottinger, S. L. Hunter and J. A. Lidbury (2016). "Serum C-reactive protein and S100A12 concentrations in dogs with hepatic disease." J Small Anim Pract **57**(9): 459-464.

Craven, M., J. W. Simpson, A. E. Ridyard and M. L. Chandler (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., B. Dogan, A. Schukken, M. Volkman, A. Chandler, P. L. McDonough and K. W. Simpson (2010). "Antimicrobial resistance impacts clinical outcome of granulomatous colitis in boxer dogs." J Vet Intern Med **24**(4): 819-824.

Craven, M. D. and R. J. Washabau (2019). "Comparative pathophysiology and management of protein-losing enteropathy." J Vet Intern Med **33**(2): 383-402.

Dabritz, J., J. Langhorst, A. Luger, J. Heidemann, M. Mohr, H. Wittkowski, T. Krummenerl and D. Foell (2013). "Improving relapse prediction in inflammatory bowel disease by neutrophil-derived S100A12." Inflamm Bowel Dis **19**(6): 1130-1138.

Dandrieux, J. R. (2016). "Inflammatory bowel disease versus chronic enteropathy in dogs: are they one and the same?" J Small Anim Pract **57**(11): 589-599.

Dandrieux, J. R., L. M. Martinez Lopez, A. Stent, A. Jergens, K. Allenspach, C. J. Nowell, S. M. Firestone, W. Kimpton and C. S. Mansfield (2018). "Changes in duodenal CD163-positive cells in dogs with chronic enteropathy after successful treatment." Innate Immun **24**(7): 400-410.

Dandrieux, J., L. M. Martinez Lopez, N. Prakash and C. S. Mansfield (2019). "Treatment response and long term follow up in nineteen dogs diagnosed with chronic enteropathy in Australia." Aust Vet J **97**(9): 301-307.

- Dandrieux, J. R. S. and C. S. Mansfield (2019). "Chronic Enteropathy In Canines: Prevalence, Impact And Management Strategies." Vet Med (Auckl) **10**: 203-214.
- Day, M. J. (2005). "The canine model of dietary hypersensitivity." Proc Nutr Soc **64**(4): 458-464.
- Day, M. J., T. Bilzer, J. Mansell, B. Wilcock, E. J. Hall, A. Jergens, T. Minami, M. Willard and R. Washabau (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.
- de Jong, N. S., S. T. Leach and A. S. Day (2006). "Fecal S100A12: a novel noninvasive marker in children with Crohn's disease." Inflamm Bowel Dis **12**(7): 566-572.
- Degnan, F. H. (2008). "The US Food and Drug Administration and probiotics: regulatory categorization." Clin Infect Dis **46 Suppl 2**: S133-136; discussion S144-151.
- Dijkstra, M., J. S. Kraus, J. T. Bosje and E. Den Hertog (2010). "Protein-losing enteropathy in Rottweilers." Tijdschr Diergeneeskd **135**(10): 406-412.
- Donato, R. (1999). "Functional roles of S100 proteins, calcium-binding proteins of the EF-hand type." Biochim Biophys Acta **1450**(3): 191-231.
- Donato, R. (2003). "Intracellular and extracellular roles of S100 proteins." Microsc Res Tech **60**(6): 540-551.
- Dvorak, A. M., RA; Osage, JE; Dickersin GR. (1980). "Crohn's disease: transmission electron microscopic studies. II. Immunologic inflammatory response. Alterations of mast cells, basophils, eosinophils, and the microvasculature." Hum Pathol **11**(6): 606-619.
- Dye, T. L., K. J. Diehl, S. L. Wheeler and D. S. Westfall (2013). "Randomized, Controlled Trial of Budesonide and Prednisone for the Treatment of Idiopathic Inflammatory Bowel Disease in Dogs." J Vet Intern Med. **27**(6): 1385-91

- Eckersall, P. D. (1995). "Acute phase proteins as markers of inflammatory lesions." Comp Haematol Int **5**(2): 93-97.
- Eckersall, P. D. and R. Bell (2010). "Acute phase proteins: Biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine." Vet J **185**(1): 23-27.
- Engstrom, J., M. Lonkvist, R. Befrits, T. Ljung, H. Diaz-Tartera, M. Holst and P. M. Hellstrom (2019). "Comparison of fecal calprotectin and serum C-reactive protein in early prediction of outcome to infliximab induction therapy." Scand J Gastroenterol **54**(9): 1081-1088.
- Epe, C., G. Rehker, T. Schnieder, L. Lorentzen and L. Kreienbrock (2010). "Giardia in symptomatic dogs and cats in Europe--results of a European study." Vet Parasitol **173**(1-2): 32-38.
- Equilino, M., V. Theodoloz, D. Gorgas, M. G. Doherr, R. M. Heilmann, J. S. Suchodolski, J. M. Steiner and I. A. Burgener Dvm (2015). "Evaluation of serum biochemical marker concentrations and survival time in dogs with protein-losing enteropathy." J Am Vet Med Assoc **246**(1): 91-99.
- Erdmann, C. and R. M. Heilmann (2017). "Diagnostic and therapeutic approach to chronic inflammatory enteropathies in dogs." Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere **45**(5): 317-327.
- Foell, D., T. Kucharzik, M. Kraft, T. Vogl, C. Sorg, W. Domschke and J. Roth (2003). "Neutrophil derived human S100A12 (EN-RAGE) is strongly expressed during chronic active inflammatory bowel disease." Gut **52**(6): 847-853.
- Foell, D., M. Frosch, C. Sorg and J. Roth (2004). "Phagocyte-specific calcium-binding S100 proteins as clinical laboratory markers of inflammation." Clin Chim Acta **344**(1-2): 37-51.
- Fogle, J. E. and S. A. Bissett (2007). "Mucosal immunity and chronic idiopathic enteropathies in dogs." Compend Contin Educ Vet **29**(5): 290-302.
- Ford, E. S., W. H. Giles, G. L. Myers, N. Rifai, P. M. Ridker and D. M. Mannino (2003). "C-reactive protein concentration distribution among US children and young adults: findings from the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999-2000." Clin Chem **49**(8): 1353-1357.

Foster, A. P., T. G. Knowles, A. H. Moore, P. D. Cousins, M. J. Day and E. J. Hall (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.

Fubara, E. S. and R. Freter (1973). "Protection against enteric bacterial infection by secretory IgA antibodies." J Immunol **111**(2): 395-403.

Fukunaga, S., K. Kuwaki, K. Mitsuyama, H. Takedatsu, S. Yoshioka, H. Yamasaki, R. Yamauchi, A. Mori, T. Kakuma, O. Tsuruta and T. Torimura (2018). "Detection of calprotectin in inflammatory bowel disease: Fecal and serum levels and immunohistochemical localization." Int J Mol Med **41**(1): 107-118.

Garcia-Sancho, M., F. Rodriguez-Franco, A. Sainz, C. Mancho and A. Rodriguez (2007). "Evaluation of clinical, macroscopic, and histopathologic response to treatment in nonhypoproteinemic dogs with lymphocytic-plasmacytic enteritis." J Vet Intern Med **21**(1): 11-17.

Gaschen, L., P. Kircher, A. Stussi, K. Allenspach, F. Gaschen, M. Doherr and A. Grone (2008). "Comparison of ultrasonographic findings with clinical activity index (CIBDAI) and diagnosis in dogs with chronic enteropathies." Vet Radiol Ultrasound **49**(1): 56-64.

Gaschen, F. P. and S. R. Merchant (2011). "Adverse food reactions in dogs and cats." Vet Clin North Am Small Anim Pract **41**(2): 361-379.

Gaschen, L., L. A. Granger, O. Oubre, D. Shannon, M. Kearney and F. Gaschen (2016). "The Effects of Food Intake and Its Fat Composition on Intestinal Echogenicity in Healthy Dogs." Vet Radiol Ultrasound **57**(5): 546-550.

German, A. J., C. R. Helps, E. J. Hall and M. J. Day (2000a). "Cytokine mRNA expression in mucosal biopsies from German shepherd dogs with small intestinal enteropathies." Dig Dis Sci **45**(1): 7-17.

German, A. J., E. J. Hall and M. J. Day (2000b). "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., E. J. Hall, D. F. Kelly, A. D. Watson and M. J. Day (2000c). "An immunohistochemical study of histiocytic ulcerative colitis in boxer dogs." J Comp Pathol **122**(2-3): 163-175.

German, A. J., E. J. Hall and M. J. Day (2001). "Immune cell populations within the duodenal mucosa of dogs with enteropathies." J Vet Intern Med **15**(1): 14-25.

German, A. J., E. J. Hall and M. J. Day (2003a). "Chronic intestinal inflammation and intestinal disease in dogs." J Vet Intern Med **17**(1): 8-20.

German, A. J., M. J. Day, C. G. Ruaux, J. M. Steiner, D. A. Williams and E. J. Hall (2003b). "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.

Gershov, D., S. Kim, N. Brot and K. B. Elkon (2000). "C-Reactive protein binds to apoptotic cells, protects the cells from assembly of the terminal complement components, and sustains an antiinflammatory innate immune response: implications for systemic autoimmunity." J Exp Med **192**(9): 1353-1364.

Grellet, A., R. M. Heilmann, P. Lecoindre, A. Feugier, M. J. Day, D. Peeters, V. Freiche, J. Hernandez, D. Grandjean, J. S. Suchodolski and J. M. Steiner (2013). "Fecal calprotectin concentrations in adult dogs with chronic diarrhea." Am J Vet Res **74**(5): 706-711.

Grellet, A., Heilmann, R.M., Lecoindre, P., Feugier, A., Day, M.J., Freiche, J., Hernandez, J., Suchodolski, J.S. and J. M. Steiner (2014). Comparison of fecal S100A12 and fecal Calprotectin concentrations as indicators of disease activity in dogs with chronic diarrhea. 24th ECVIM-CA Congress, Mainz, Germany. ESCG-O-8.

Guignard, F., J. Mael and M. Markert (1995). "Identification and characterization of a novel human neutrophil protein related to the S100 family." Biochem J **309** (Pt 2): 395-401.

Guilford, W. G., D. R. Strombeck, Q. Rogers, O. L. Frick and C. Lawoko (1994). "Development of gastroscopic food sensitivity testing in dogs." J Vet Intern Med **8**(6): 414-422.

Guilford, W. G. (1996a). Adverse reactions to food. Strombeck's Small Animal Gastroenterology. W. G. Guilford (eds.), Philadelphia, WB Saunders: 436-450.

Guilford, W. G. (1996b). Gastrointestinal Immune System. Strombeck's Small Animal Gastroenterology. W. G. Guilford (eds.), Philadelphia, WB Saunders: 20-39.

Guilford, W. G. (1996c). Idiopathic inflammatory bowel disease. Strombeck's Small Animal Gastroenterology. W. G. Guilford (eds.). Philadelphia, WB Saunders: 451-486.

Guilford, W. G., B. R. Jones, P. J. Markwell, D. G. Arthur, M. G. Collett and J. G. Harte (2001). "Food sensitivity in cats with chronic idiopathic gastrointestinal problems." J Vet Intern Med **15**(1): 7-13.

Guilford, W. G. and M. E. Matz (2003). "The nutritional management of gastrointestinal tract disorders in companion animals." N Z Vet J **51**(6): 284-291.

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 K. Simpson (2000). Disease of the Small Intestine. Textbook of Veterinary Internal Medicine - Diseases of the Dog and the Cat. S. J. Ettinger and E. C. Feldman (eds.). Philadelphia, WB Saunders: 1182-1237.

Hall, E. J. (2002). "Gastrointestinal adverse food reactions." Prakt Tierarzt **83**(1): 30-36.

Hall, E. J. and A. J. German (2005). Diseases of the Small Intestine. Textbook of Veterinary Internal Medicine - Diseases of the Dog and the Cat. S. J. Ettinger and E. C. Feldman (eds.), St. Louis, WB Saunders: 1367-1385.

Hall, E. J. and A. J. German (2010). Diseases of the Small Intestine. Textbook of Veterinary Internal Medicine - Diseases of the Dog and the Cat. S. J. Ettinger and E. C. Feldman (eds.), Philadelphia, WB Saunders: 1526-1572.

- Hall, E. J. (2011). "Antibiotic-responsive diarrhea in small animals." Vet Clin North Am Small Anim Pract **41**(2): 273-286.
- Hall, E. J. and A. J. German (2011). "Entzündliche Darmerkrankung (Inflammatory Bowel Disease) - Ätiologie, Pathogenese, Klinik." Prakt Tierarzt **92 (Suppl. 3)**: 3-8.
- Hall, E. J., A. J. German, J. Fritz, R. M. Heilmann and J. Steiner (2011). "Therapie der Inflammatory Bowel Disease (IBD)." Prakt Tierarzt **92 (Suppl. 3)**: 15-26.
- Hanifeh, M., R. M. Heilmann, S. Sankari, M. M. Rajamaki, L. Makitalo, P. Syrja, S. Kilpinen, J. S. Suchodolski, J. M. Steiner and T. Spillmann (2015). "S100A12 concentrations and myeloperoxidase activity in the intestinal mucosa of healthy dogs." BMC Vet Res **11**: 234.
- Hanifeh, M., S. Sankari, M. M. Rajamaki, P. Syrja, S. Kilpinen, J. S. Suchodolski, R. M. Heilmann, P. Guadiano, J. Lidbury, J. M. Steiner and T. Spillmann (2018). "S100A12 concentrations and myeloperoxidase activities are increased in the intestinal mucosa of dogs with chronic enteropathies." BMC Vet Res **14**(1): 125.
- Heida, A., K. T. Park and P. F. van Rheenen (2017). "Clinical Utility of Fecal Calprotectin Monitoring in Asymptomatic Patients with Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Review and Practical Guide." Inflamm Bowel Dis **23**(6): 894-902.
- Heilmann, R. M., J. S. Suchodolski and J. M. Steiner (2008a). "Purification and partial characterization of canine calprotectin." Biochimie **90**(9): 1306-1315.
- Heilmann, R. M., J. S. Suchodolski and J. M. Steiner (2008b). "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., J. S. Suchodolski and J. M. Steiner (2010). "Purification and partial characterization of canine S100A12." Biochimie **92**(12): 1914-1922.
- Heilmann, R. M., D. J. Lanerie, C. G. Ruaux, N. Grutzner, J. S. Suchodolski and J. M. Steiner (2011a). "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., B. C. Guard, K. Weber, J. S. Suchodolski, J. M. Steiner (2011b) "Development and analytical validation of an enzyme-linked immuno-sorbent assay for the quantification of canine calprotectin in serum and feces from dogs." J Vet Intern Med **25**(3):693 (abstract).

Heilmann, R. M., A. E. Jergens, M. R. Ackermann, J. W. Barr, J. S. Suchodolski and J. M. Steiner (2012). "Serum calprotectin concentrations in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease." Am J Vet Res **73**(12): 1900-1907.

Heilmann, R. M., A. Grellet, K. Allenspach, P. Lecoindre, M. J. Day, S. L. Priestnall, L. Toresson, F. Procoli, N. Grutzner, J. S. Suchodolski and J. M. Steiner (2014a). "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., C. C. Otoni, A. E. Jergens, N. Grutzner, J. S. Suchodolski and J. M. Steiner (2014b). "Systemic levels of the anti-inflammatory decoy receptor soluble RAGE (receptor for advanced glycation end products) are decreased in dogs with inflammatory bowel disease." Vet Immunol Immunopathol **161**(3-4): 184-192.

Heilmann, R. M., S. M. Cranford, A. Ambrus, N. Grutzner, S. Schellenberg, C. G. Ruaux, J. S. Suchodolski and J. M. Steiner (2016a). "Validation of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the measurement of canine S100A12." Vet Clin Pathol **45**(1): 135-147.

Heilmann, R. M., M. Volkmann, C. C. Otoni, N. Grutzner, B. Kohn, A. E. Jergens and J. M. Steiner (2016). "Fecal S100A12 concentration predicts a lack of response to treatment in dogs affected with chronic enteropathy." Vet J **215**: 96-100.

Heilmann, R. M., N. Berghoff, J. Mansell, N. Grutzner, N. K. Pamell, C. Gurtner, J. S. Suchodolski and J. M. Steiner (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 **32**(2):679-692.

Heilmann, R. M. and J. M. Steiner (2018). "Clinical utility of currently available biomarkers in inflammatory enteropathies of dogs." J Vet Intern Med **32**(5): 1495-1508.

Heilmann, R. M., J. Nestler, J. Schwarz, N. Grutzner, A. Ambrus, J. Seeger, J. S. Suchodolski, J. M. Steiner and C. Gurtner (2019). "Mucosal expression of S100A12 (calgranulin C) and S100A8/A9 (calprotectin) and correlation with serum and fecal concentrations in dogs with chronic inflammatory enteropathy." Vet Immunol Immunopathol **211**: 64-74.

Hillier, A. and C. E. Griffin (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.

Hillstrom, A., R. Hagman, J. Soder, J. Haggstrom, I. Ljungvall and M. Kjelgaard-Hansen (2015). "Validation and application of a canine-specific automated high-sensitivity C-reactive protein assay." J Vet Diagn Invest **27**(2): 182-190.

Hoekman, D. R., K. Diederens, B. G. Koot, M. M. Tabbers, A. Kindermann and M. A. Benninga (2016). "Relationship of clinical symptoms with biomarkers of inflammation in pediatric inflammatory bowel disease." Eur J Pediatr **175**(10): 1335-1342.

Hofmann, M. A., S. Drury, C. Fu, W. Qu, A. Taguchi, Y. Lu, C. Avila, N. Kambham, A. Bierhaus, P. Nawroth, M. F. Neurath, T. Slattery, D. Beach, J. McClary, M. Nagashima, J. Morser, D. Stern and A. M. Schmidt (1999). "RAGE mediates a novel proinflammatory axis: a central cell surface receptor for S100/calgranulin polypeptides." Cell **97**(7): 889-901.

Honneffer, J. B., Y. Minamoto and J. S. Suchodolski (2014). "Microbiota alterations in acute and chronic gastrointestinal inflammation of cats and dogs." World J Gastroenterol **20**(44): 16489-16497.

Hostutler, R. A., B. J. Luria, S. E. Johnson, S. E. Weisbrode, R. G. Sherding, J. Q. Jaeger and W. G. Guilford (2004). "Antibiotic-responsive histiocytic ulcerative colitis in 9 dogs." J Vet Intern Med **18**(4): 499-504.

Hurlimann, J., G. J. Thorbecke and G. M. Hochwald (1966). "The liver as the site of C-reactive protein formation." J Exp Med **123**(2): 365-378.

Ilg, E. C., H. Troxler, D. M. Burgisser, T. Kuster, M. Markert, F. Guignard, P. Hunziker, N. Birchler and C. W. Heizmann (1996). "Amino acid sequence determination of human S100A12 (P6, calgranulin C, CGRP, CAAF1) by tandem mass spectrometry." Biochem Biophys Res Commun **225**(1): 146-150.

Jabs, W. J., B. A. Logering, P. Gerke, B. Kreft, E. M. Wolber, M. H. Klinger, L. Fricke and J. Steinhoff (2003). "The kidney as a second site of human C-reactive protein formation in vivo." Eur J Immunol **33**(1): 152-161.

Jacobs, G., L. Collins-Kelly, M. Lappin and D. Tyler (1990). "Lymphocytic-plasmacytic enteritis in 24 dogs." J Vet Intern Med **4**(2): 45-53.

Jensen, A. P. and C. R. Bjornvad (2019). "Clinical effect of probiotics in prevention or treatment of gastrointestinal disease in dogs: A systematic review." J Vet Intern Med **33**(5): 1849-1864.

Jergens, A. E., F. M. Moore, J. S. Haynes and K. G. Miles (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., C. A. Schreiner, D. E. Frank, Y. Niyo, F. E. Ahrens, P. D. Eckersall, T. J. Benson and R. Evans (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., M. Pressel, J. Crandell, J. A. Morrison, S. D. Sorden, J. Haynes, M. Craven, M. Baumgart and K. W. Simpson (2009). "Fluorescence in situ hybridization confirms clearance of

visible *Helicobacter* spp. associated with gastritis in dogs and cats." J Vet Intern Med **23**(1): 16-23.

Jergens, A. E., J. Crandell, J. A. Morrison, K. Deitz, M. Pressel, M. Ackermann, J. S. Suchodolski, J. M. Steiner and R. Evans (2010). "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. and K. W. Simpson (2012). "Inflammatory bowel disease in veterinary medicine." Front Biosci (Elite Ed) **4**: 1404-1419.

Jergens, A. E., R. B. Evans, M. Ackermann, J. Hostetter, M. Willard, J. Mansell, T. Bilzer, B. Wilcock, R. Washabau, E. J. Hall, T. Minami, C. Wang and M. J. Day (2014). "Design of a simplified histopathologic model for gastrointestinal inflammation in dogs." Vet Pathol **51**(5): 946-950.

Johansen, C., C. Mariani and R. S. Mueller (2017). "Evaluation of canine adverse food reactions by patch testing with single proteins, single carbohydrates and commercial foods." Vet Dermatol **28**(5): 473-e109.

Johnston, K. L. (1999). "Small intestinal bacterial overgrowth." Vet Clin North Am Small Anim Pract **29**(2): 523-550, vii.

Jones, J., E. V. Loftus, Jr., R. Panaccione, L. S. Chen, S. Peterson, J. McConnell, L. Baudhuin, K. Hanson, B. G. Feagan, S. W. Harmsen, A. R. Zinsmeister, E. Helou and W. J. Sandborn (2008). "Relationships between disease activity and serum and fecal biomarkers in patients with Crohn's disease." Clin Gastroenterol Hepatol **6**(11): 1218-1224.

Junginger, J., U. Schwittlick, F. Lemensieck, I. Nolte and M. Hewicker-Trautwein (2012). "Immunohistochemical investigation of Foxp3 expression in the intestine in healthy and diseased dogs." Vet Res **43**(1): 23.

Kaiser, T., J. Langhorst, H. Wittkowski, K. Becker, A. W. Friedrich, A. Rueffer, G. J. Dobos, J. Roth and D. Foell (2007). "Faecal S100A12 as a non-invasive marker distinguishing inflammatory bowel disease from irritable bowel syndrome." Gut **56**(12): 1706-1713.

Karczewski, J., E. Swora-Cwynar, P. Rzymiski, B. Poniedzialek and Z. Adamski (2015). "Selected biologic markers of inflammation and activity of Crohn's disease." Autoimmunity **48**(5): 318-327.

Kathrani, A., D. Werling and K. Allenspach (2011). "Canine breeds at high risk of developing inflammatory bowel disease in the south-eastern UK." Vet Rec **169**(24): 635.

Kathrani, A., V. Lezcano, E. J. Hall, A. E. Jergens, Y. J. Seo, J. P. Mochel, T. Atherly and K. Allenspach (2019). "Interleukin-13 and interleukin-33 mRNA are underexpressed in the duodenal mucosa of German Shepherd dogs with chronic enteropathy." J Vet Intern Med **33**(4): 1660-1668.

Kawano, K., H. Shimakura, N. Nagata, Y. Masashi, A. Suto, Y. Suto, S. Uto, H. Ueno, T. Hasegawa, T. Ushigusa, T. Nagai, Y. Arawatari, K. Miyaji, K. Ohmori and T. Mizuno (2016). "Prevalence of food-responsive enteropathy among dogs with chronic enteropathy in Japan." J Vet Med Sci **78**(8): 1377-1380.

Kawashima, K., S. Ishihara, T. Yuki, N. Fukuba, H. Sonoyama, H. Kazumori, N. Yamashita, Y. Tada, R. Kusunoki, A. Oka, N. Oshima, Y. Mishima, I. Moriyama and Y. Kinoshita (2017). "Fecal Calprotectin More Accurately Predicts Endoscopic Remission of Crohn's Disease than Serological Biomarkers Evaluated Using Balloon-assisted Enteroscopy." Inflamm Bowel Dis **23**(11): 2027-2034.

Kennis, R. A. (2006). "Food allergies: update of pathogenesis, diagnoses, and management." Vet Clin North Am Small Anim Pract **36**(1): 175-184, vii-viii.

Kilpinen, S., T. Spillmann, P. Syrja, T. Skrzypczak, M. Louhelainen and E. Westermarck (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.

Kilpinen, S., T. Spillmann and E. Westermarck (2014). "Efficacy of two low-dose oral tylosin regimens in controlling the relapse of diarrhea in dogs with tylosin-responsive diarrhea: a prospective, single-blinded, two-arm parallel, clinical field trial." Acta Vet Scand **56**: 43.

Kilpinen, S., M. Rantala, T. Spillmann, J. Bjorkroth and E. Westermarck (2015). "Oral tylosin administration is associated with an increase of faecal enterococci and lactic acid bacteria in dogs with tylosin-responsive diarrhoea." Vet J **205**(3): 369-374.

Kimmel, S. E., L. S. Waddell and K. E. Michel (2000). "Hypomagnesemia and hypocalcemia associated with protein-losing enteropathy in Yorkshire terriers: five cases (1992-1998)." J Am Vet Med Assoc **217**(5): 703-706.

Kircher, P. R., K. A. Spaulding, S. Vaden, J. Lang, M. Doherr and L. Gaschen (2004). "Doppler ultrasonographic evaluation of gastrointestinal hemodynamics in food hypersensitivities: a canine model." J Vet Intern Med **18**(5): 605-611.

Kligmann, D. and D. C. Hilt (1988). "The S100 protein family." Trends Biochem Sci. **13**(11): 437-43.

Kniker, W. (1987). "Immunologically mediated reactions to food: State of the art." Ann Allergy **56**: 60-69.

Knutson, L. A., O;Odlind, B; Hällgren R. (1990). "The jejunal secretion of histamine is increased in active Crohn's disease." Gastroenterology **98**(4): 849-854.

Koster, L. S., G. T. Fosgate, J. Suchodolski, J. Lidbury and J. M. Steiner (2019). "Comparison of biomarkers adiponectin, leptin, C-reactive protein, S100A12, and the Acute Patient Physiologic and Laboratory Evaluation (APPLE) score as mortality predictors in critically ill dogs." J Vet Emerg Crit Care (San Antonio) **29**(2): 154-160.

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

Laflamme, D. (1997). "Development and Validation of a Body Condition Score System for Dogs." Canine Practice **22**(4): 10-15.

Langhorst, J., S. Elsenbruch, J. Koelzer, A. Rueffer, A. Michalsen and G. J. Dobos (2008). "Noninvasive markers in the assessment of intestinal inflammation in inflammatory bowel diseases: performance of fecal lactoferrin, calprotectin, and PMN-elastase, CRP, and clinical indices." Am J Gastroenterol **103**(1): 162-169.

Langhorst, J., J. Boone, R. Lauche, A. Rueffer and G. Dobos (2016). "Faecal Lactoferrin, Calprotectin, PMN-elastase, CRP, and White Blood Cell Count as Indicators for Mucosal Healing and Clinical Course of Disease in Patients with Mild to Moderate Ulcerative Colitis: Post Hoc Analysis of a Prospective Clinical Trial." J Crohns Colitis **10**(7): 786-794.

Leach, S. T., Z. Yang, I. Messina, C. Song, C. L. Geczy, A. M. Cunningham and A. S. Day (2007). "Serum and mucosal S100 proteins, calprotectin (S100A8/S100A9) and S100A12, are elevated at diagnosis in children with inflammatory bowel disease." Scand J Gastroenterol **42**(11): 1321-1331.

Lehmann, F. S., E. Burri and C. Beglinger (2015). "The role and utility of faecal markers in inflammatory bowel disease." Therap Adv Gastroenterol **8**(1): 23-36.

Leib, M. S., M. M. Larson, D. C. Grant, W. E. Monroe, G. C. Troy, D. L. Panciera, J. H. Rossmeisl and S. R. Werre (2012). "Diagnostic utility of abdominal ultrasonography in dogs with chronic diarrhea." J Vet Intern Med **26**(6): 1288-1294.

Lennon, E. M., T. E. Boyle, R. G. Hutchins, A. Friedenthal, M. T. Correa, S. A. Bissett, L. S. Moses, M. G. Papich and A. J. Birkenheuer (2007). "Use of basal serum or plasma cortisol concentrations to rule out a diagnosis of hypoadrenocorticism in dogs: 123 cases (2000-2005)." J Am Vet Med Assoc **231**(3): 413-416.

Leukert, N., C. Sorg and J. Roth (2005). "Molecular basis of the complex formation between the two calcium-binding proteins S100A8 (MRP8) and S100A9 (MRP14)." Biol Chem **386**(5): 429-434.

Leukert, N., T. Vogl, K. Strupat, R. Reichelt, C. Sorg and J. Roth (2006). "Calcium-dependent tetramer formation of S100A8 and S100A9 is essential for biological activity." J Mol Biol **359**(4): 961-972.

Lin, W. C., J. M. Wong, C. C. Tung, C. P. Lin, J. W. Chou, H. Y. Wang, M. J. Shieh, C. H. Chang, H. H. Liu, S. C. Wei and S. Taiwan Society of Inflammatory Bowel Disease Multicenter (2015). "Fecal calprotectin correlated with endoscopic remission for Asian inflammatory bowel disease patients." World J Gastroenterol **21**(48): 13566-13573.

Littler, R. M., R. M. Batt and D. H. Lloyd (2006). "Total and relative deficiency of gut mucosal IgA in German shepherd dogs demonstrated by faecal analysis." Vet Rec **158**(10): 334-341.

Littman, M. P., D. M. Dambach, S. L. Vaden and U. Giger (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.

Locher, C., A. Tipold, M. Welle, A. Busato, A. Zurbriggen and M. E. Griot-Wenk (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.

Luckschander, N., K. Allenspach, J. Hall, F. Seibold, A. Grone, M. G. Doherr and F. Gaschen (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.

Luckschander, N., J. A. Hall, F. Gaschen, U. Forster, N. Wenzlow, P. Hermann, K. Allenspach, D. Dobbelaere, I. A. Burgener and M. Welle (2010). "Activation of nuclear factor-kappaB in dogs with chronic enteropathies." Vet Immunol Immunopathol **133**(2-4): 228-236.

Lugering, N., R. Stoll, K. W. Schmid, T. Kucharzik, H. Stein, G. Burmeister, C. Sorg and W. Domschke (1995). "The myeloid related protein MRP8/14 (27E10 antigen)--usefulness as a potential marker for disease activity in ulcerative colitis and putative biological function." Eur J Clin Invest **25**(9): 659-664.

Makielski, K., J. Cullen, A. O'Connor and A. E. Jergens (2019). "Narrative review of therapies for chronic enteropathies in dogs and cats." J Vet Intern Med **33**(1): 11-22.

Manchester, A. C., S. Hill, B. Sabatino, R. Armentano, M. Carroll, B. Kessler, M. Miller, B. Dogan, S. P. McDonough and K. W. Simpson (2013). "Association between granulomatous colitis in French Bulldogs and invasive *Escherichia coli* and response to fluoroquinolone antimicrobials." J Vet Intern Med **27**(1): 56-61.

Mandigers, P. J., V. Biourge, T. S. van den Ingh, N. Ankringa and A. J. German (2010). "A randomized, open-label, positively-controlled field trial of a hydrolyzed protein diet in dogs with chronic small bowel enteropathy." J Vet Intern Med **24**(6): 1350-1357.

Mandigers, P. and A. J. German (2010). "Dietary hypersensitivity in cats and dogs." Tijdschr Diergeneeskd **135**(19): 706-710.

Mankowska-Wierzbicka, D., J. Karczewski, B. Poniedzialek, M. Grzymislawska, R. Staszewski, A. Krolczyk, A. Dobrowolska and M. Grzymislawski (2016). "C-reactive protein as a diagnostic and prognostic factor in inflammatory bowel diseases." Postepy Hig Med Dosw (Online) **70**(0): 1124-1130.

Mapletoft, E. K., K. Allenspach and C. R. Lamb (2018). "How useful is abdominal ultrasonography in dogs with diarrhoea?" J Small Anim Pract **59**(1): 32-37.

Marks, S. L., D. P. Laflamme and D. McAloose (2002). "Dietary trial using a commercial hypoallergenic diet containing hydrolyzed protein for dogs with inflammatory bowel disease." Vet Ther **3**(2): 109-118.

Marks, S. L. (2003). "Editorial: Small intestinal bacterial overgrowth in dogs--less common than you think?" J Vet Intern Med **17**(1): 5-7.

Marks, S. L., S. C. Rankin, B. A. Byrne and J. S. Weese (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 (eds.). St.Louis, Missouri, Elsevier Saunders: 99-108.
- Matz, M. E. and W. G. Guilford (2003). "Laboratory procedures for the diagnosis of gastrointestinal tract diseases of dogs and cats." N Z Vet J **51**(6): 292-301.
- McCann, T. M., A. E. Ridyard, R. W. Else and J. W. Simpson (2007). "Evaluation of disease activity markers in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease." J Small Anim Pract **48**(11): 620-625.
- McMahon, L. A., A. K. House, B. Catchpole, J. Elson-Riggins, A. Riddle, K. Smith, D. Werling, I. A. Burgener and K. Allenspach (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.
- Menozzi, A., M. Dall'Aglio, F. Quintavalla, L. Dallavalle, V. Meucci and S. Bertini (2016). "Rifaximin is an effective alternative to metronidazole for the treatment of chronic enteropathy in dogs: a randomised trial." BMC Vet Res **12**(1): 217.
- Minamoto, Y., T. Minamoto, A. Isaiah, P. Sattasathuchana, A. Buono, V. R. Rangachari, I. H. McNeely, J. Lidbury, J. M. Steiner and J. S. Suchodolski (2019). "Fecal short-chain fatty acid concentrations and dysbiosis in dogs with chronic enteropathy." J Vet Intern Med **33**(4): 1608-1618.
- Moroz, O. V., G. G. Dodson, K. S. Wilson, E. Lukanidin and I. B. Bronstein (2003). "Multiple structural states of S100A12: A key to its functional diversity." Microsc Res Tech **60**(6): 581-592.
- Moroz, O. V., W. Burkitt, H. Wittkowski, W. He, A. Ianoul, V. Novitskaya, J. Xie, O. Polyakova, I. K. Lednev, A. Shekhtman, P. J. Derrick, P. Bjoerk, D. Foell and I. B. Bronstein (2009). "Both Ca²⁺ and Zn²⁺ are essential for S100A12 protein oligomerization and function." BMC Biochem **10**: 11.
- Müller, R. S. and T. Olivry (2018). "Critically appraised topic on adverse food reactions of companion animals (6): prevalence of noncutaneous manifestations of adverse food reactions in dogs and cats." BMC Vet Res **14**(1): 341.

Münster, M. (1995). "Die lympho-plasmazelluläre Enteritis bei Hund und Katze - Klinische Befunde und Therapieergebnisse." Kleintierpraxis **8**: 565-632.

Münster, M., A. Horauf and T. Bilzer (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.

Murphy, T. M., L. L. Baum and K. D. Beaman (1991). "Extrahepatic transcription of human C-reactive protein." J Exp Med **173**(2): 495-498.

Musci, J. O., J. S. Cornish and J. Dabritz (2016). "Utility of surrogate markers for the prediction of relapses in inflammatory bowel diseases." J Gastroenterol **51**(6): 531-547.

Nakamura, M., M. Takahashi, K. Ohno, A. Koshino, K. Nakashima, A. Setoguchi, Y. Fujino and H. Tsujimoto (2008). "C-reactive protein concentration in dogs with various diseases." J Vet Med Sci **70**(2): 127-131.

Neiger, R. (2019). „IBD, CE, ARE, PLE...da soll noch einer was verstehen- Aufarbeitung von Magen-Darm-Fällen.“ Hills- Webinar. Hills, Deutschland 05.11.2019.

Neiger, R. (2020). „Chronischer Durchfall beim Hund- Antibiotika sind out.“ Hills- Webinar- 2020. Hills, Deutschland 26.05.2020.

Nitzan, O., M. Elias, A. Peretz and W. Saliba (2016). "Role of antibiotics for treatment of inflammatory bowel disease." World J Gastroenterol **22**(3): 1078-1087.

Nolte, A., J. Junginger, B. Baum and M. Hewicker-Trautwein (2017). "Heterogeneity of macrophages in canine histiocytic ulcerative colitis." Innate Immun **23**(3): 228-239.

Odink, K., N. Cerletti, J. Bruggen, R. G. Clerc, L. Tarcsay, G. Zwadlo, G. Gerhards, R. Schlegel and C. Sorg (1987). "Two calcium-binding proteins in infiltrate macrophages of rheumatoid arthritis." Nature **330**(6143): 80-82.

Oh, K., E. H. Oh, S. Baek, E. M. Song, G. U. Kim, M. Seo, S. W. Hwang, S. H. Park, D. H. Yang, K. J. Kim, J. S. Byeon, S. J. Myung, S. K. Yang and B. D. Ye (2017). "Elevated C-reactive protein level during clinical remission can predict poor outcomes in patients with Crohn's disease." PLoS One **12**(6): e0179266.

Olsson, M., M. Frankowiack, K. Tengvall, P. Roosje, T. Fall, E. Ivansson, K. Bergvall, H. Hansson-Hamlin, K. Sundberg, A. Hedhammar, K. Lindblad-Toh and L. Hammarstrom (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.

Otoni, C. C., R. M. Heilmann, M. Garcia-Sancho, A. Sainz, M. R. Ackermann, J. S. Suchodolski, J. M. Steiner and A. E. Jergens (2018). "Serologic and fecal markers to predict response to induction therapy in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease." J Vet Intern Med **32**(3): 999-1008.

Palm, V. (2014). „Entwicklung eines indirekten ELISA-Testsystems zur Serodiagnostik der caninen Protothekeninfektion und nachfolgender Untersuchung der Prävalenz der caninen Protothekose.“ Dissertation, Freie Universität Berlin.

Paterson, S. (1995). "Food hypersensitivity in 20 dogs with skin and gastrointestinal signs." J Small Anim Pract **36**(12): 529-534.

Peiravan, A., F. Bertolini, M. F. Rothschild, K. W. Simpson, A. E. Jergens, K. Allenspach and D. Werling (2018). "Genome-wide association studies of inflammatory bowel disease in German shepherd dogs." PLoS One **13**(7): e0200685.

Pepys, M. B. and G. M. Hirschfield (2003). "C-reactive protein: a critical update." J Clin Invest **111**(12): 1805-1812.

Perez-Merino, E. M., J. M. Uson-Casaus, C. Zaragoza-Bayle, J. Duque-Carrasco, L. Marinas-Pardo, M. Hermida-Prieto, R. Barrera-Chacon and M. Gualtieri (2015). "Safety and efficacy of allogeneic adipose tissue-derived mesenchymal stem cells for treatment of dogs with inflammatory bowel disease: Clinical and laboratory outcomes." Vet J **206**(3): 385-390.

Petersen, H. H., J. P. Nielsen and P. M. Heegaard (2004). "Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry." Vet Res **35**(2): 163-187.

Pietzsch, J. and S. Hoppmann (2008). "Human S100A12: a novel key player in inflammation?". Amino Acids **36** (3):381-9.

Pruenster, M., T. Vogl, J. Roth and M. Sperandio (2016). "S100A8/A9: From basic science to clinical application." Pharmacol Ther **167**: 120-131.

Ribeiro, M. G., M. Rodrigues de Farias, U. Roesler, K. Roth, S. M. Rodigheri, M. A. Ostrowsky, T. Salerno, A. K. Siqueira and M. C. Fernandes (2009). "Phenotypic and genotypic characterization of *Prototheca zopfii* in a dog with enteric signs." Res Vet Sci **87**(3): 479-481.

Rioux, K. P., K. L. Madsen and R. N. Fedorak (2005). "The role of enteric microflora in inflammatory bowel disease: human and animal studies with probiotics and prebiotics." Gastroenterol Clin North Am **34**(3): 465-482, ix.

Roseth, A., Aadland, E., Jahnsen, J. (1997). "Assessment of disease activity in ulcerative colitis by faecal calprotectin, a novel granulocyte marker protein." Digestion (58): 176-180.

Rossi, G., M. Cerquetella, A. Gavazza, L. Galosi, S. Berardi, S. Mangiaterra, S. Mari, J. S. Suchodolski, J. A. Lidbury, J. M. Steiner and G. Pengo (2020). "Rapid Resolution of Large Bowel Diarrhea after the Administration of a Combination of a High-Fiber Diet and a Probiotic Mixture in 30 Dogs." Vet Sci **7**(1).

Roth, L., M. S. Leib, D. J. Davenport and W. E. Monroe (1990). "Comparisons between endoscopic and histologic evaluation of the gastrointestinal tract in dogs and cats: 75 cases (1984-1987)." J Am Vet Med Assoc **196**(4): 635-638.

Ruaux, C. G., J. M. Wright, J. M. Steiner and D. A. Williams (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.

Ruau, C. G. (2013). "Cobalamin in companion animals: diagnostic marker, deficiency states and therapeutic implications." Vet J **196**(2): 145-152.

Rudorf, H., G. van Schaik, R. T. O'Brien, P. J. Brown, F. J. Barr and E. J. Hall (2005). "Ultrasonographic evaluation of the thickness of the small intestinal wall in dogs with inflammatory bowel disease." J Small Anim Pract **46**(7): 322-326.

Rutgers, H. C., R. M. Batt, F. J. Proud, S. H. Sorensen, C. M. Elwood, G. Petrie, L. A. Matthewman, M. A. Forster-van Hijfte, A. Boswood, M. Entwistle and R. H. Fensome (1996). "Intestinal permeability and function in dogs with small intestinal bacterial overgrowth." J Small Anim Pract **37**(9): 428-434.

Rychlik, A., A. Kolodziejska-Sawerska, M. Nowicki and M. Szweda (2016). "Clinical, endoscopic and histopathological evaluation of the efficacy of budesonide in the treatment of inflammatory bowel disease in dogs." Pol J Vet Sci **19**(1): 159-164.

Sampson, H. A. (1995). "Mechanisms in adverse reactions to food. The skin." Allergy **50**(20 Suppl): 46-51.

Sampson, H. A. and A. W. Burks (1996). "Mechanisms of food allergy." Annu Rev Nutr **16**: 161-177.

Sauter, S. N., K. Allenspach, F. Gaschen, A. Grone, E. Ontsouka and J. W. Blum (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.

Saverymuttu, S. H., A. M. Peters, J. P. Lavender, V. S. Chadwick and H. J. Hodgson (1985). "In vivo assessment of granulocyte migration to diseased bowel in Crohn's disease." Gut **26**(4): 378-383.

Schayer, R. W. (1959). "Catabolism of physiological quantities of histamine in vivo." Physiol Rev **39**(1): 116-126.

Schreiner, N. M., F. Gaschen, A. Grone, S. N. Sauter and K. Allenspach (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.

Shine, B., F. C. de Beer and M. B. Pepys (1981). "Solid phase radioimmunoassays for human C-reactive protein." Clin Chim Acta **117**(1): 13-23.

Simpson, J. W. (1982). "Bacterial Overgrowth causing intestinal malabsorption in a dog." Vet Rec **110**: 335-336.

Simpson, K. W., D. B. Morton and R. M. Batt (1989). "Effect of Exocrine Pancreatic Insufficiency on Cobalamin Absorption in Dogs." Am J Vet Res **50**(8): 1233-1236.

Simpson, K. W., B. Dogan, M. Rishniw, R. E. Goldstein, S. Klaessig, P. L. McDonough, A. J. German, R. M. Yates, D. G. Russell, S. E. Johnson, D. E. Berg, J. Harel, G. Bruant, S. P. McDonough and Y. H. Schukken (2006). "Adherent and invasive Escherichia coli is associated with granulomatous colitis in boxer dogs." Infect Immun **74**(8): 4778-4792.

Slovak, J. E., C. Wang, J. A. Morrison, K. L. Deitz, D. N. LeVine, C. Otoni, R. R. King, L. E. Gerber, K. R. Hanson, A. P. Lundberg and A. E. Jergens (2014). "Endoscopic assessment of the duodenum in dogs with inflammatory bowel disease." J Vet Intern Med **28**(5): 1442-1446.

Slovak, J. E. (2015). "Development and validation of an endoscopic activity score for canine inflammatory bowel disease." Vet J **203**: 290-295.

Steinbakk, M., C. F. Naess-Andresen, E. Lingaas, I. Dale, P. Brandtzaeg and M. K. Fagerhol (1990). "Antimicrobial actions of calcium binding leucocyte L1 protein, calprotectin." Lancet **336**(8718): 763-765.

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.

Stenner, V. J., B. Mackay, T. King, V. R. Barrs, P. Irwin, L. Abraham, N. Swift, N. Langer, M. Bernays, E. Hampson, P. Martin, M. B. Krockenberger, K. Bosward, M. Latter and R. Malik (2007).

"Protothecosis in 17 Australian dogs and a review of the canine literature." Med Mycol **45**(3): 249-266.

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): 461-65.

Strimbu, K. and J. A. Tavel (2010). "What are biomarkers?" Curr Opin HIV AIDS **5**(6): 463-466.

Strobel, S. (1995). "Mechanisms in adverse reactions to food. Mechanisms of tolerance and sensitization in the intestine and other organs of the body." Allergy **50**(20 Suppl): 18-25.

Sturgess, K. (2005). "Diagnosis and management of idiopathic inflammatory bowel disease in dogs and cats." In Practice **27**(6): 291-301.

Suchodolski, J. S., S. E. Dowd, E. Westermarck, J. M. Steiner, R. D. Wolcott, T. Spillmann and J. A. Harmoinen (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., P. G. Xenoulis, C. G. Paddock, J. M. Steiner and A. E. Jergens (2010). "Molecular analysis of the bacterial microbiota in duodenal biopsies from dogs with idiopathic inflammatory bowel disease." Vet Microbiol **142**(3-4): 394-400.

Suchodolski, J. S., S. E. Dowd, V. Wilke, J. M. Steiner and A. E. Jergens (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., M. E. Markel, J. F. Garcia-Mazcorro, S. Unterer, R. M. Heilmann, S. E. Dowd, P. Kachroo, I. Ivanov, Y. Minamoto, E. M. Dillman, J. M. Steiner, A. K. Cook and L. Toresson (2012b). "The fecal microbiome in dogs with acute diarrhea and idiopathic inflammatory bowel disease." PLoS One **7**(12): e51907.

Sugimoto, N., T. Oida, K. Hirota, K. Nakamura, T. Nomura, T. Uchiyama and S. Sakaguchi (2006). "Foxp3-dependent and -independent molecules specific for CD25+CD4+ natural regulatory T cells revealed by DNA microarray analysis." Int Immunol **18**(8): 1197-1209.

Suzuki, K., S. A. Ha, M. Tsuji and S. Fagarasan (2007). "Intestinal IgA synthesis: a primitive form of adaptive immunity that regulates microbial communities in the gut." Semin Immunol **19**(2): 127-135.

Tanaka, H., M. Nakayama and K. Takase (2003). "Histiocytic ulcerative colitis in a French bulldog." J Vet Med Sci **65**(3): 431-433.

Tibble, J., K. Teahon, B. Thjodleifsson, A. Roseth, G. Sigthorsson, S. Bridger, R. Foster, R. Sherwood, M. Fagerhol and I. Bjarnason (2000a). "A simple method for assessing intestinal inflammation in Crohn's disease." Gut **47**(4): 506-513.

Tibble, J. A., G. Sigthorsson, S. Bridger, M. K. Fagerhol and I. Bjarnason (2000b). "Surrogate markers of intestinal inflammation are predictive of relapse in patients with inflammatory bowel disease." Gastroenterology **119**(1): 15-22.

Toresson, L., J. M. Steiner, J. S. Suchodolski and T. Spillmann (2016). "Oral Cobalamin Supplementation in Dogs with Chronic Enteropathies and Hypocobalaminemia." J Vet Intern Med **30**(1): 101-107.

Tuohy, K. M., H. M. Probert, C. W. Smejkal and G. R. Gibson (2003). "Using probiotics and prebiotics to improve gut health." Drug Discov Today **8**(15): 692-700.

Uchida, T., M. Himuro, K. Komiya, H. Goto, K. Takeno, A. Honda, J. Sato, Y. Kawano, R. Suzuki and H. Watada (2016). "Evanescant Hyperechoic Changes After Fine-Needle Aspiration Biopsy of the Thyroid in a Series With a Low Overall Prevalence of Complications." J Ultrasound Med **35**(3): 599-604.

Udraite Vovk, L., A. Watson, W. J. Dodds, C. J. Klinger, J. Classen and R. S. Mueller (2019). "Testing for food-specific antibodies in saliva and blood of food allergic and healthy dogs." Vet J **245**: 1-6.

Vaden, S. H., B. Hammerberg, D. J. Davenport, S. M. Orton, M. M. Trogdon, L. Tonatiuh Melgarejo, S. D. VanCamp, D. A. Williams (2000). "Mast cell degranulation responses in Soft-Coated Wheaten Terriers with protein-losing enteropathy and/or nephropathy." J Vet Intern Med **14**: 348.

Verlinden, A., M. Hesta, S. Millet and G. P. Janssens (2006). "Food allergy in dogs and cats: a review." Crit Rev Food Sci Nutr **46**(3): 259-273.

Vince, A. R., C. Pinard, A. T. Ogilvie, E. O. Tan and A. C. Abrams-Ogg (2014). "Protothecosis in a dog." Can Vet J **55**(10): 950-954.

Vogl, T., K. Tenbrock, S. Ludwig, N. Leukert, C. Ehrhardt, M. A. van Zoelen, W. Nacken, D. Foell, T. van der Poll, C. Sorg and J. Roth (2007). "Mrp8 and Mrp14 are endogenous activators of Toll-like receptor 4, promoting lethal, endotoxin-induced shock." Nat Med **13**(9): 1042-1049.

Volanakis, J. E. (1982). "Complement activation by C-reactive protein complexes." Ann N Y Acad Sci **389**: 235-250.

Volkman, M., M. R. Hepworth, F. Ebner, S. Rausch, B. Kohn and S. Hartmann (2014). "Frequencies of regulatory T cells in the peripheral blood of dogs with primary immune-mediated thrombocytopenia and chronic enteropathy: A pilot study." Vet J **202**(3): 630-633.

Volkman, M., J. M. Steiner, G. T. Fosgate, J. Zentek, S. Hartmann and B. Kohn (2017). "Chronic Diarrhea in Dogs - Retrospective Study in 136 Cases." J Vet Intern Med **31**(4): 1043-1055.

Walker, D., A. Knuchel-Takano, A. McCutchan, Y. M. Chang, C. Downes, S. Miller, K. Stevens, K. Verheyen, A. D. Phillips, S. Miah, M. Turmaine, A. Hibbert, J. M. Steiner, J. S. Suchodolski, K. Mohan, J. Eastwood, K. Allenspach, K. Smith and O. A. Garden (2013). "A comprehensive pathological survey of duodenal biopsies from dogs with diet-responsive chronic enteropathy." J Vet Intern Med **27**(4): 862-874.

Washabau, R. J., M. J. Day, M. D. Willard, E. J. Hall, A. E. Jergens, J. Mansell, T. Minami and T. W. Bilzer (2010). "Endoscopic, biopsy, and histopathologic guidelines for the evaluation of gastrointestinal inflammation in companion animals." J Vet Intern Med **24**(1): 10-26.

Weidenhiller, M., M. Raithel, S. Winterkamp, P. Otte, J. Stolper and E. G. Hahn (2000). "Methylhistamine in Crohn's disease (CD): increased production and elevated urine excretion correlates with disease activity." Inflamm Res **49 Suppl 1**: S35-36.

Westermarck, E., T. Skrzypczak, J. Harmoinen, J. M. Steiner, C. G. Ruaux, D. A. Williams, E. Eerola, P. Sundback and M. Rinkinen (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 (eds). Hannover, Schlütersche: 127-133.

Whitbread, T. J., R. M. Batt and G. Garthwaite (1984). "Relative deficiency of serum IgA in the german shepherd dog: a breed abnormality." Res Vet Sci **37**(3): 350-352.

White, R., T. Atherly, B. Guard, G. Rossi, C. Wang, C. Mosher, C. Webb, S. Hill, M. Ackermann, P. Sciabarra, K. Allenspach, J. Suchodolski and A. E. Jergens (2017). "Randomized, controlled trial evaluating the effect of multi-strain probiotic on the mucosal microbiota in canine idiopathic inflammatory bowel disease." Gut Microbes **8**(5): 451-466.

Wilke, V. L., D. Nettleton, M. J. Wymore, J. M. Gallup, C. Y. Demirkale, M. R. Ackermann, C. K. Tuggle, A. E. Ramer-Tait, M. J. Wannemuehler and A. E. Jergens (2012). "Gene expression in intestinal mucosal biopsy specimens obtained from dogs with chronic enteropathy." Am J Vet Res **73**(8): 1219-1229.

Willard, M. D., R. B. Simpson, T. W. Fossum, N. D. Cohen, E. K. Delles, D. L. Kolp, D. P. Carey and G. A. Reinhart (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., S. L. Lovering, N. D. Cohen and B. R. Weeks (2001). "Quality of tissue specimens obtained endoscopically from the duodenum of dogs and cats." J Am Vet Med Assoc **219**(4): 474-479.

Willard, M. D., A. E. Jergens, R. B. Duncan, M. S. Leib, M. D. McCracken, R. C. DeNovo, R. G. Helman, M. R. Slater and J. L. Harbison (2002). "Interobserver variation among histopathologic evaluations of intestinal tissues from dogs and cats." J Am Vet Med Assoc **220**(8): 1177-1182.

Willard, M. (2010). Diarrhea. Diseases of the Small Intestine. Textbook of Veterinary Internal Medicine - Diseases of the Dog and the Cat. S. J. Ettinger and E. C. Feldman (eds), Philadelphia. WB Saunders, 201-203.

Williams, D. A., R. M. Batt and L. McLean (1987). "Bacterial overgrowth in the duodenum of dogs with exocrine pancreatic insufficiency." J Am Vet Med Assoc **191**(2): 201-206.

Winterkamp, S., M. Weidenhiller, P. Otte, J. Stolper, D. Schwab, E. G. Hahn and M. Raithel (2002). "Urinary excretion of N-methylhistamine as a marker of disease activity in inflammatory bowel disease." Am J Gastroenterol **97**(12): 3071-3077.

Xenoulis, P. G., B. Palculict, K. Allenspach, J. M. Steiner, A. M. Van House and J. S. Suchodolski (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.

Xie, J., D. S. Burz, W. He, I. B. Bronstein, I. Lednev and A. Shekhtman (2007). "Hexameric calgranulin C (S100A12) binds to the receptor for advanced glycated end products (RAGE) using symmetric hydrophobic target-binding patches." J Biol Chem **282**(6): 4218-4231.

Yuki, M., N. Sugimoto, K. Takahashi, H. Otsuka, N. Nishii, K. Suzuki, T. Yamagami and H. Ito (2006). "A case of protein-losing enteropathy treated with methotrexate in a dog." J Vet Med Sci **68**(4): 397-399.

Zouki, C., M. Beauchamp, C. Baron and J. G. Filep (1997). "Prevention of In vitro neutrophil adhesion to endothelial cells through shedding of L-selectin by C-reactive protein and peptides derived from C-reactive protein." J Clin Invest **100**(3): 522-529.

X Anhang

Anhang I: Tabellarische Darstellung des Signalements und ausgewählter klinischer Parameter der Hunde der Studienpopulation.

Nr.	Rasse	Alter in Jahren	Geschlecht	Diagnose	CIBDAI EV	Remission
1	Rauhaarteckel	7	m	FRE	7	PR
2	Mischling (10-20kg)	<1	wk	FRE	4	VR
3	Leonberger	<1	wk	ARE	10	VR
4	Coton de Tulear	3	wk	ARE	8	PR
5	Zwergkurzhaarteckel	10	w	IBD	11	VR
6	Mischling (20-30kg)	6	wk	IBD	8	VR
7	Mischling (20-30kg)	2	wk	IBD	7	PR
8	Labrador	1	m	IBD	11	PR
9	Hollandse Herdershond	6	m	ARE	7	PR
10	Boston Terrier	9	wk	IBD	11	PR
11	Sibirischer Husky	9	m	ARE	8	VR
12	Cocker Spaniel	3	mk	IBD	11	VR
13	Labrador	4	w	FRE	4	VR
14	Labradoodle	3	wk	FRE	4	VR
15	Mischling (10-20kg)	14	m	ARE	4	VR
16	Cocker Spaniel	12	w	IBD	8	KR
17	Mischling (10-20kg)	3	m	IBD	5	PR
18	Mischling (10-20kg)	6	mk	IBD	14	PR
19	Airedale Terrier	<1	m	ARE	8	VR
20	Pudel	2	m	ARE	11	VR
21	Deutscher Schäferhund	1	m	FRE	5	PR
22	Französische Bulldogge	1	w	IBD	9	PR

Anhang

23	Border Collie	2	mk	ARE	4	PR
24	Mischling (10-20kg)	<1	w	FRE	6	VR
25	Bolonka Zwetna	10	mk	FRE	10	VR
26	Chihuahua	8	mk	IBD	6	KR
27	Mischling (bis 10kg)	5	w	ARE	7	VR
28	Mischling (bis 10kg)	11	w	FRE	6	VR
29	Mischling (20-30kg)	3	mk	IBD	11	PR
30	Mischling (bis 10kg)	9	w	FRE	6	VR
31	Französische Bulldogge	2	w	FRE	4	VR
32	Pudel	4	m	FRE	11	PR

Nr., Fallnummer; w, weiblich; wk, weiblich kastriert; m, männlich; mk, männlich kastriert; EV, Erstvorstellung; FRE, Futter-responsive Enteropathie; ARE, Antibiotika-responsive Enteropathie; IBD, Inflammatory Bowel Disease; VR, vollständige Remission; PR, partielle Remission; KR, keine Remission

Anhang

Anhang II: Ergebnisse der Korrelationsanalyse ausgewählter klinischer Parameter und der Biomarker in Serum und Kot.

	Outcome	CIBDAI	SS100A12 µg/l	SCP mg/l	CRP mg/l	SNMH (-)	FS100A12 ng/g	FCP µg/g	FNMH ng/g	HKT l/l	Eos. abs.	Albumin g/l	Kalzium mmol/l	Cobalamin pg/ml	
Outcome	ρ	1,000	,199	-,210	,108	,181	,494**	,000	,000	,022	-,220	-,146	,047	-,033	,112
	Sig. †	.	,275	,266	,608	,337	,006	1,000	1,000	,916	,244	,459	,802	,862	,542
	N	32	32	30	25	30	30	25	19	25	30	28	31	31	32
CIBDAI	ρ	,199	1,000	,545**	,679**	,004	,165	-,246	-,279	,158	,219	-,219	,026	-,235	,176
	Sig. †	,275	.	,002	,000	,983	,385	,235	,248	,451	,245	,262	,889	,203	,337
	N	32	32	30	25	30	30	25	19	25	30	28	31	31	32
SS100A12	ρ	-,210	,545**	1,000	,810**	,166	-,215	-,346	-,389	,142	,220	-,183	-,175	-,397*	-,034
µg/l	Sig. †	,266	,002	.	,000	,381	,254	,106	,111	,517	,262	,372	,363	,033	,856
	N	30	30	30	25	30	30	23	18	23	28	26	29	29	30
SCP	ρ	,108	,679**	,810**	1,000	,129	,278	-,574*	-,474*	,216	-,010	-,080	-,167	-,308	,074
mg/l	Sig. †	,608	,000	,000	.	,537	,178	,013	,047	,389	,964	,724	,435	,144	,724
	N	25	25	25	25	25	25	18	18	18	24	22	24	24	25
CRP	ρ	,181	,004	,166	,129	1,000	,318	,085	,010	,174	-,170	-,439*	-,472**	-,048	-,383*
mg/l	Sig. †	,337	,983	,381	,537	.	,087	,701	,969	,428	,387	,025	,010	,806	,037
	N	30	30	30	25	30	30	23	18	23	28	26	29	29	30
SNMH	ρ	,494**	,165	-,215	,278	,318	1,000	-,089	,041	,443*	-,322	-,164	-,285	,011	,092
(-)	Sig. †	,006	,385	,254	,178	,087	.	,687	,870	,034	,094	,423	,135	,953	,629
	N	30	30	30	25	30	30	23	18	23	28	26	29	29	30
FS100A12	ρ	,000	-,246	-,346	-,574*	,085	-,089	1,000	,934**	,088	,108	-,336	-,264	-,285	-,315
ng/g	Sig. †	1,000	,235	,106	,013	,701	,687	.	,000	,677	,625	,137	,212	,177	,125
	N	25	25	23	18	23	23	25	19	25	23	21	24	24	25
FCP	ρ	,000	-,279	-,389	-,474*	,010	,041	,934**	1,000	,147	-,109	-,326	-,264	-,173	-,119

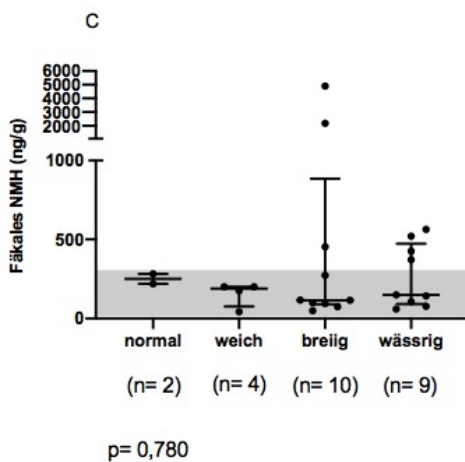
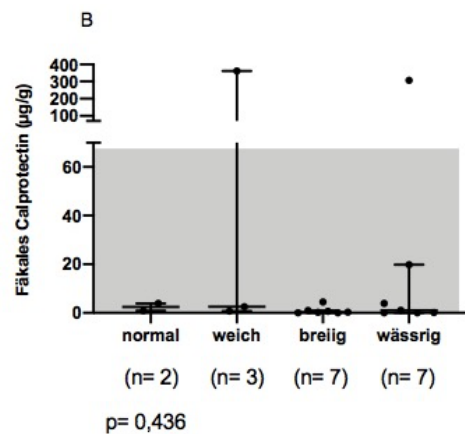
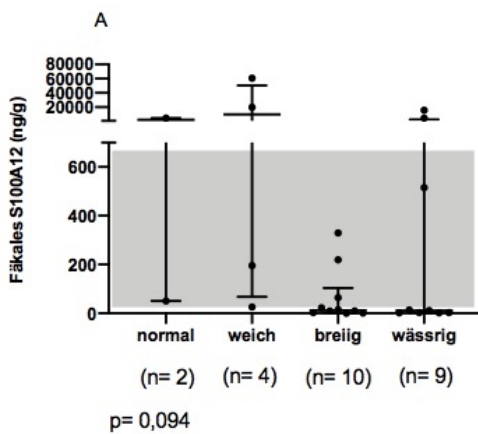
Anhang

µg/g	Sig. †	1,000	,248	,111	,047	,969	,870	,000	.	,548	,667	,218	,291	,493	,628
	N	19	19	18	18	18	18	19	19	19	18	16	18	18	19
FNMH	ρ	,022	,158	,142	,216	,174	,443*	,088	,147	1,000	-,235	-,605**	-,449†	-,147	-,051
ng/g	Sig. †	,916	,451	,517	,389	,428	,034	,677	,548	.	,280	,004	,028	,493	,810
	N	25	25	23	18	23	23	25	19	25	23	21	24	24	25
HKT l/l	ρ	-,220	,219	,220	-,010	-,170	-,322	,108	-,109	-,235	1,000	,222	,172	-,443†	,062
	Sig. †	,244	,245	,262	,964	,387	,094	,625	,667	,280	.	,256	,363	,014	,745
	N	30	30	28	24	28	28	23	18	23	30	28	30	30	30
Eos. absolut	ρ	-,146	-,219	-,183	-,080	-,439*	-,164	-,336	-,326	-,605**	,222	1,000	,531**	,217	,302
	Sig. †	,459	,262	,372	,724	,025	,423	,137	,218	,004	,256	.	,004	,267	,118
	N	28	28	26	22	26	26	21	16	21	28	28	28	28	28
Albumin	ρ	,047	,026	-,175	-,167	-,472**	-,285	-,264	-,264	-,449†	,172	,531**	1,000	,403*	,230
g/l	Sig. †	,802	,889	,363	,435	,010	,135	,212	,291	,028	,363	,004	.	,024	,214
	N	31	31	29	24	29	29	24	18	24	30	28	31	31	31
Kalzium	ρ	-,033	-,235	-,397*	-,308	-,048	,011	-,285	-,173	-,147	-,443†	,217	,403†	1,000	,121
mmol/l	Sig. †	,862	,203	,033	,144	,806	,953	,177	,493	,493	,014	,267	,024	.	,517
	N	31	31	29	24	29	29	24	18	24	30	28	31	31	31
Cobalamin	ρ	,112	,176	-,034	,074	-,383*	,092	-,315	-,119	-,051	,062	,302	,230	,121	1,000
pg/ml	Sig. †	,542	,337	,856	,724	,037	,629	,125	,628	,810	,745	,118	,214	,517	.
	N	32	32	30	25	30	30	25	19	25	30	28	31	31	32

ρ- Wert (r_s) bestimmt mittels einer Korrelationsanalyse nach Spearman. * Die Korrelation ist auf dem 0,05 Niveau signifikant (zweiseitig). ** Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig). Sig. †, Signifikanz zweiseitig; CIBDAI; Canine Inflammatory Bowel Disease Activity Index; SS100A12, Serum S100A12; SCP, Serum Calprotectin; CRP, C-reaktives Protein; SNMH, Serum N-Methylhistamin; FS100A12, Fäkales S100A12; FCP, Fäkales Calprotectin; FNMH, Fäkales N-Methylhistamin; HKT, Hämatokrit; Eos. abs., absolute Zahl der eosinophilen Granulozyten. (-) Für das Serum N-Methylhistamin liegt aktuell kein etablierter Referenzbereich vor.

Anhang III: Fäkale Biomarkerkonzentrationen zum Zeitpunkt der Erstvorstellung hinsichtlich der Kotkonsistenz.

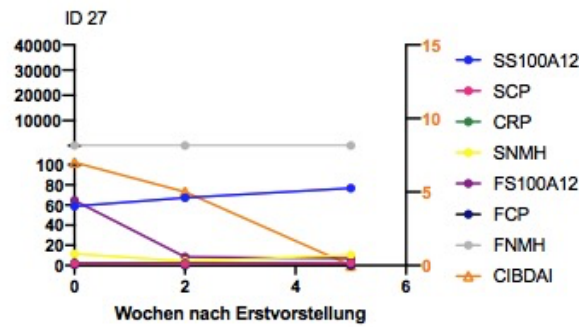
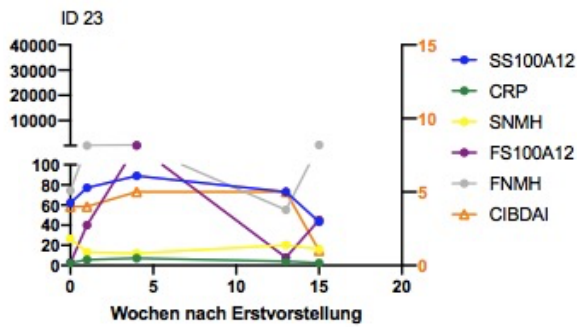
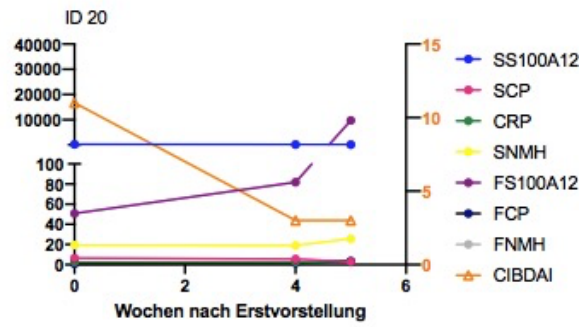
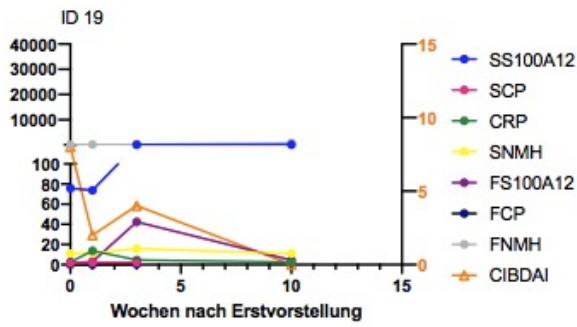
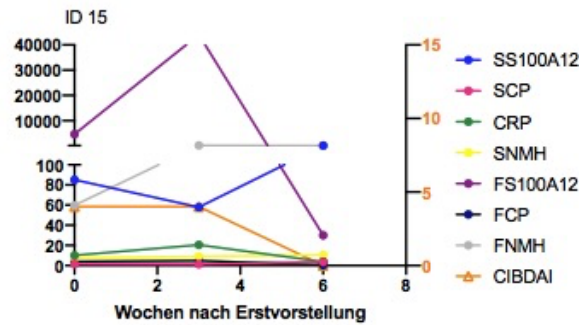
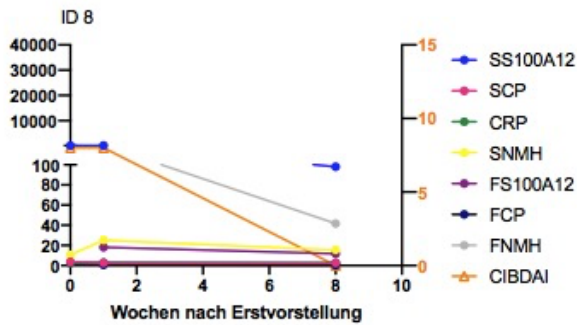
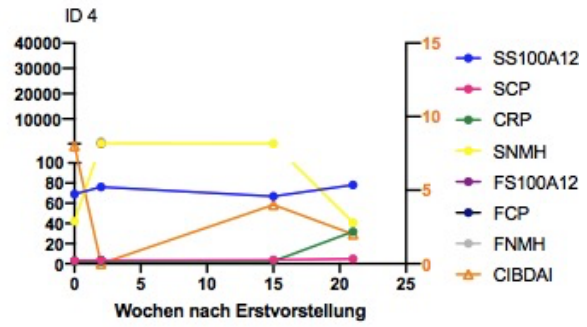
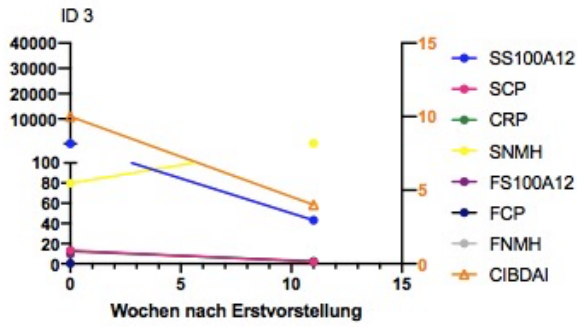
Die y-Achse stellt den Messbereich des jeweiligen Biomarkers dar. Auf der x-Achse sind die unterschiedlichen Kotkonsistenzen aufgetragen. Der grau hinterlegte Bereich zeigt den genutzten Referenzbereich. Die Punkte stellen die einzelnen gemessenen Konzentrationen des jeweiligen Patienten dar. Die mittlere horizontale Linie innerhalb der Punkte zeigt den Median. Die oberen und unteren Begrenzungen stellen den Interquartilabstand dar (IQR).



Anhang IV: Individuelle Einzelverlaufsmessungen der Konzentrationen ausgewählter Biomarker in Serum und Kot bei Hunden der ARE-Gruppe.

Die Konzentrationen der Biomarker im Serum (Serum S100A12 (SS100A12), Serum Calprotectin (SCP), C-reaktives Protein (CRP), Serum NMH (SNMH)) und Kot (Fäkales S100A12 (FS100A12), Fäkales Calprotectin (FCP) und Fäkales NMH (FNMH)) sind auf der linken y-Achse dargestellt. Auf der rechten y-Achse ist der klinische Aktivitätsindex der chronischen Enteropathie des Hundes (Canine inflammatory bowel disease activity index (CIBDAI)) aufgetragen. Der Nullpunkt der x-Achse stellt den Zeitpunkt der Erstvorstellung dar. Probenentnahmen sind durch das Symbol „•“ gekennzeichnet. Die CIBDAI-Werte sind mit „Δ“ dargestellt. CRP-Messwerte unter 2,5mg/l wurden auf 2,5 mg/l gesetzt.

Anhang



XI Vorveröffentlichung

Posterbeitrag

1) Reimann, C.; Volkmann, M.; Lidbury, J.; Suchodolski, J.S.; Steiner, J.M.; Kohn, B. (2017):
„Biomarker im Serum von Hunden mit chronisch entzündlichen Enteropathien.“

63.Jahreskongress DKG-DVG

Berlin – 09.11.-12.11.2017

In: 63. Jahreskongress DKG-DVG

Gießen: Verlag der DVG Service GmbH, S. 201-203

ISBN: 978-3-86345-393-0

2) Reimann, C.; Volkmann, M.; Lidbury, J.; Suchodolski, J.S.; Steiner, J.M.; Kohn, B. (2018):
“Evaluation of Serological Markers in Dogs with Chronic Enteropathies.”

DVG-Tagung, Fachgruppe Innere Medizin und klinische Labordiagnostik (Innlab)

Hannover – 02.-03.03.2018

Vorträge

1) Reimann, C.; Volkmann, M.; Lidbury, J.; Suchodolski, J.S.; Steiner, J.M.; Kohn, B. (2019):
„Untersuchung zum diagnostischen sowie prognostischen Nutzen verschiedener serologischer
und fäkaler Biomarker bei Hunden mit chronisch-entzündlichen Enteropathien.“

65.Jahreskongress DKG-DVG

Berlin – 14.11.-16.11.2019

In: 65. Jahreskongress DKG-DVG

Gießen: Verlag der DVG Service GmbH, S. 51-53

ISBN: 978-3-86345-502-6

XII Danksagung

An erster Stelle möchte ich mich bei Frau Prof. Dr. B. Kohn für die Vergabe des Promotionsthemas, die schnelle und konstruktive Durchsicht des Manuskriptes und die fachliche Unterstützung bei der Aufarbeitung der Patienten dieser Studie bedanken.

Weiterhin danke ich Prof. Dr. J. Steiner und seinem Laborteam um Nancy Cangelose vom GI Lab der A&M University Texas, USA für die unkomplizierte und gute Zusammenarbeit und das verlässliche Messen der Biomarker sowie die fachliche Beratung.

Mein besonderer Dank gilt Frau Dr. Maria Volkmann für die immerwährende fachliche Unterstützung, die Hilfe bei der statistischen Auswertung der Daten und die Korrektur dieses Manuskriptes. Ohne ihre Ideen und Hilfestellungen wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

Der Dres. Jutta und Georg Bruns-Stiftung zur Förderung innovativer Veterinärmedizin danke ich für das bereitgestellte Stipendium und somit der finanziellen Unterstützung dieses Studienvorhabens.

Weiterhin bedanke ich mich bei den Tierärzten und Tierärztinnen sowie Labormitarbeiterinnen der Klinik für kleine Haustiere der Freien Universität Berlin. Sowohl für die Mitbetreuung der Patienten, die Sammlung und Archivierung des Probenmaterials als auch die netten Ablenkungen vor allem im „Super Büro“ sowie Ingos Hilfe bei den letzten Formatierungshürden bedanke ich mich herzlich.

Mein größter Dank gilt meiner Familie, besonders meinen Eltern und Mathias.

Meinen Eltern danke ich für die mentale und finanzielle Unterstützung während des Studiums und der Doktorarbeit. Mathias danke ich für die Motivation, die unzähligen Gespräche zu dieser Arbeit, das Korrekturlesen und die schönen Ablenkungen nebenher.

XIII Finanzierungsquellen

Die Arbeit wurde finanziell durch die Dres. Jutta und Georg Bruns-Stiftung zur Förderung innovativer Veterinärmedizin unterstützt.

XIV Interessenkonflikt

Es besteht kein Interessenkonflikt durch die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit.

XV Selbstständigkeitserklärung

Hiermit bestätige ich, Charlotte Reimann, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Berlin, den 17.12.2020

Charlotte Reimann



9 783967 2909 12
mbvberlin mensch und buch verlag

49,90 Euro | ISBN: 978-3-96729-091-2