

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

Arbeit angefertigt unter der Leitung von  
Univ.-Prof. Dr. med.vet. Dr. habil. Ralf S. Müller

Immunmodulierende Therapie durch orale Verabreichung von Eiern  
des Schweinepeitschenwurmes bei Hunden mit  
Perianalfisteln

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

von Susanne Edhofer  
aus Passau

München 2013



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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Joachim Braun  
Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Ralf S. Müller

Korreferent: Priv.-Doz. Dr. Cornelia Silaghi

Tag der Promotion: 20. Juli 2013





Für meine Eltern

**INHALTSVERZEICHNIS**

<b>1.</b>	<b>EINLEITUNG .....</b>	<b>1</b>
<b>2.</b>	<b>LITERATURÜBERSICHT .....</b>	<b>3</b>
2.1	Perianalfisteln .....	3
2.1.1	Canine Perianalfisteln.....	3
2.1.1.1	Prädisposition .....	4
2.1.1.2	Pathologie .....	4
2.1.1.3	Klinik.....	6
2.1.1.4	Diagnose.....	7
2.1.1.5	Therapie.....	9
2.1.1.5.1	Chirurgische Therapie .....	9
2.1.1.5.2	Medikamentöse Therapie .....	14
2.1.2	Morbus Crohn.....	19
2.1.2.1	Epidemiologie .....	20
2.1.2.2	Genetik .....	22
2.1.2.3	Pathologie.....	22
2.1.2.4	Klinik.....	25
2.1.2.5	Diagnose.....	25
2.1.2.6	Therapie.....	27
2.2	Helminthen .....	28
2.1.3	<i>Trichuris suis</i> .....	28
2.1.4	Immunmodulation durch Helminthen .....	29
2.1.5	Studien mit Helminthen beim Menschen .....	32
2.1.6	Studien mit Helminthen beim Hund.....	33
<b>3.</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN.....</b>	<b>35</b>
3.1	Material .....	35
3.1.1	<i>Trichuris suis</i> .....	35
3.1.2	Hunde .....	35
3.1.3	Verwendete Chemikalien und Reagenzien.....	35
3.2	Methoden.....	36
3.2.1	Einschlusskriterien für die Hunde .....	36
3.2.2	Ausschlusskriterien für die Hunde.....	37

---

3.2.3	Behandlungsgruppen .....	37
3.2.4	Studienprotokoll .....	37
3.2.5	Blutprobenentnahme .....	41
3.2.6	Orale Eingabe des Medikamentes .....	41
3.2.7	Blutprobenbearbeitung .....	41
3.2.8	Gewinnung und Lagerung der infektiösen Helminthenstadien.....	42
3.2.9	Kotuntersuchung mittels Flotationsverfahren .....	43
3.2.10	Statistik.....	44
<b>4.</b>	<b>ERGEBNISSE .....</b>	<b>45</b>
4.1	Hunde .....	45
4.1.1	Altersverteilung .....	45
4.1.2	Geschlechterverteilung.....	45
4.1.3	Rasseverteilung .....	45
4.2	Datenauswertung .....	46
4.2.1	Läsions-Score modifiziert nach Hardie.....	46
4.2.2	Beurteilung der Lebensqualität .....	48
4.2.3	Medikamenten-Score.....	48
4.2.4	Blutparameter .....	49
4.2.5	Nebenwirkungen und Ausschluss von Patienten.....	50
<b>5.</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>52</b>
5.1	Zusammenfassung der Studie.....	52
5.2	Nebenwirkungen .....	52
5.3	Zoonosegefahr .....	52
5.4	Einfluss von <i>Trichuris suis</i> auf den klinischen Heilungsverlauf der Perianalfisteln.....	53
5.5	Beeinflussung des Blutbildes .....	56
<b>6.</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG.....</b>	<b>57</b>
<b>7.</b>	<b>SUMMARY .....</b>	<b>59</b>
<b>8.</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>61</b>
<b>9.</b>	<b>ANHANG .....</b>	<b>77</b>



---

9.1	Abbildungsverzeichnis .....	77
9.2	Tabellenverzeichnis .....	77
9.3	Anhang 1: Besitzereinverständniserklärung.....	78
9.4	Anhang 2: Läsions-Score .....	79
9.5	Anhang 3: Medikamenten-Score.....	81
9.6	Anhang 4: Fragebogen für Besitzer.....	82
<b>10.</b>	<b>DANKSAGUNG .....</b>	<b>84</b>

## Abkürzungsverzeichnis

®	Registrierte Marke
°C	Grad Celsius
µl	Mikroliter
Abb.	Abbildung
bzw.	beziehungsweise
CAD	Canine Atopische Dermatitis
CADESI	Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index
CED	chronisch-entzündliche Darmerkrankungen
CT	Computertomographie
DDS	Dextran Sulfate Sodium
DNA	Desoxyribonucleinsäure (engl. desoxyribonucleic acid)
Dr.	Doktor
DSH	Deutscher Schäferhund
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
et al.	et alii
etc.	et cetera
Foxp3	Forkhead-Box-Protein P3
<i>H. polygyrus</i>	<i>Heligmosoides polygyrus</i>
IBD	Inflammatory Bowel Disease
IgE	Immunglobulin E
IL	Interleukin
INF -	Interferon -
kg	Kilogramm
L1	Larve 1

---

L2	Larve 2
LMU	Ludwig-Maximilians-Universität
LPMC	Mononukleäre Zellen der Lamina propria (engl. lamina propria mononuclear cells)
LRR	eine Strukturformel von Proteinen (engl. leucine-rich-repeat)
<i>M. avium</i>	<i>Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis</i>
MC	Morbus Crohn
Mg	Milligramm
ml	Milliliter
MRT	Magnetresonanztomographie
MS	Multiple Sklerose
<i>N. americanus</i>	<i>Necator americanus</i>
<i>N. brasiliensis</i>	<i>Nippostrongylus brasiliensis</i>
ND : YAG-Laser	Neodym : Yttrium-Aluminium-Granat-Laser
NF-κB	Spezifischer Transkriptionsfaktor (engl. nuclear factor Kappa-light-chain-enhancer of activated B cells)
NOD 2	ein Rezeptorprotein (engl. nucleotide-binding oligomerization domain)
NSAID	nicht-steroidale Antiphlogistika (engl. non steroidal anti-inflammatory drugs)
PAF	Plättchenaktivierender Faktor (engl. platelet-activating factor)
PGE <sub>2</sub>	Prostaglandin-E <sub>2</sub>
pH	Pondus hydrognii
<i>S. mansoni</i>	<i>Schistosoma mansoni</i>
SNP	Einzelnukleotid-Polymorphismus (engl. single-nucleotide polymorphisme)
SPF	keimfrei (engl. specific pathogen-free)

---

<i>T. spiralis</i>	<i>Trichinella spiralis</i>
<i>T. muris</i>	<i>Trichuris muris</i>
<i>T. suis</i>	<i>Trichuris suis</i>
<i>T. vulpis</i>	<i>Trichuris vulpis</i>
T4-Wert	Thyroxin-Wert
T <sub>eff</sub>	T-Effektorzellen
TGF- $\beta$	Transformierender Wachstumsfaktor- $\beta$ (engl. transforming growth factor- $\beta$ )
Th	T-Helferzellen
TLR	Toll-ähnlicher Rezeptor (engl. toll-like receptor)
TNF- $\alpha$	Tumornekrosefaktor- $\alpha$ (engl. tumor necrosis factor- $\alpha$ )
T <sub>reg</sub>	T-Regulatorzellen
TSE	<i>Trichuris suis</i> -Eier
<i>U. stenocephala</i>	<i>Uncinaria stenocephala</i>
UC	Colitis ulcerosa (engl. ulcerative colitis)
v. a.	vor allem
z. B.	zum Beispiel

## 1. EINLEITUNG

Perianalfisteln sind eine hauptsächlich beim deutschen Schäferhund (DSH) auftretende Hauterkrankung. Die Perianalregion der betroffenen Hunde weist tiefe Geschwüre und Fissuren auf und der Krankheitsverlauf ist in den meisten Fällen chronisch-progressiv. Typischerweise treten vor allem am mukokutanen Übergang multiple chronische Fistelgänge und tiefe Ulzerationen auf. Die Klinik dieser Erkrankung ist geprägt durch schmerzhaften Stuhl drang, Probleme beim Kotabsatz, Verstopfung, gehäuftes Belecken der Perianalregion und Selbstverletzung (JAEGER & MUELLER, 2005).

Die Fisteln äußern sich zunächst als unscheinbare, nässende Vertiefungen der perianalen Haut. Durch die fortschreitende Entzündung dehnen sich die Läsionen zunehmend aus und konfluieren, bis als Folge davon großflächige Ulzerationen mit Granulationsgewebe entstehen (WELCH FOSSUM, 2006).

Es wird über Ähnlichkeiten in der klinischen Erscheinung der caninen Perianalfisteln und den Analfisteln bei Menschen in Zusammenhang mit Morbus Crohn (MC) berichtet. In beiden Fällen ist die Ätiologie nicht eindeutig geklärt, das Immunsystem scheint aber eine wichtige Rolle zu spielen (MATHEWS et al., 1997). Die Diagnose der Perianalfisteln basiert hauptsächlich auf den klinischen Symptomen und der klinischen Untersuchung. Durch eine Biopsie der betroffenen Region kann diese Diagnose bestätigt und mögliche Differentialdiagnosen wie ein perianales Adenom oder Adenokarzinom ausgeschlossen werden (TAKARA & BISSETT, 2009). Die langwierige Behandlung der Perianalfisteln beim Hund ist für die Besitzer oft sehr frustrierend, da Rezidive häufig auftreten. Früher wurden Perianalfisteln überwiegend chirurgisch behandelt, wobei das erkrankte Gewebe vollständig entfernt und dadurch die Sekundärheilung stimuliert wurde. Heute hingegen wird die medikamentöse Therapie mit Immunsuppressiva bevorzugt. Neben den Rezidiven traten bei den operativen Behandlungsversuchen nicht selten Komplikationen wie Flatulenz, Kotinkontinenz oder anale Strikturen auf (JAEGER & MUELLER, 2005). Bei der medikamentösen Therapie kann sowohl mit Kortison in immunsuppressiver Dosis als auch mit anderen immunmodulierend wirkenden Medikamenten eine Besserung erreicht werden (MATHEWS et al., 1997; MATHEWS & SUKHIANI, 1997). Nachteil der medikamentösen Therapie sind die vielen und zum Teil auch schwerwiegenden Nebenwirkungen der Arzneimittel.

In der Humanmedizin konnte ein protektiver Effekt von Helminthen gegenüber MC nach-

gewiesen werden (SUMMERS et al., 2005b; OSADA & KANAZAWA, 2010).

Chronisch-entzündliche Darmerkrankungen (CED) zeigen eine deutlich niedrigere Prävalenz in Entwicklungsländern als in Industriestaaten. Die dort häufig auftretenden Helmintheninfektionen korrelieren dabei negativ mit dem Auftreten von MC (SUMMERS et al., 2005b). In Südamerika wurde nach erfolgreichen Entwurmungskuren ein starker Anstieg allergischer Reaktionen beobachtet, möglicherweise behindert ein verminderter Kontakt mit infektiösen Erregern die Entwicklung des Immunsystems und führt so zu einer größeren Anfälligkeit für Allergien und Autoimmunerkrankungen (VAN DEN BIGGELAAR et al., 2004a).

Bei der Entstehung von Perianalfisteln beim Hund scheint eine erhöhte Aktivität der T-Helferzellen (Th) 1-Zellen mit gleichzeitiger Hemmung der Th2-Zellen ursächlich mitbeteiligt zu sein (HOUSE et al., 2003). In Mausmodellen wurde gezeigt, dass die Wurminfektion die übersteigerte Th1-Aktivität dämpft. Der Wirt entwickelt eine Th2-Antwort in Verbindung mit einer gesteigerten Produktion von Interleukin (IL) -4 und IL-13, welche wiederum die Th1-Zellen hemmen. Helminthen induzieren daneben auch die regulatorischen T-Zellen ( $T_{reg}$ ), welche die Ausschüttung immunmodulatorischer Mediatoren wie IL-10, Transforming growth factor  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) und Prostaglandin-E2 (PGE<sub>2</sub>) begünstigen (WEINSTOCK & ELLIOTT, 2009).

Verschiedene Modelle bei Mäusen (BASHIR et al., 2002; LIMA et al., 2002; MANGAN et al., 2004), Rindern (GRAHAM et al., 2001) und Schweinen (HURST et al., 2006) stützen diese Erkenntnisse.

Bisher existieren keine Daten über die Immunmodulation durch Helminthen bei Hunden mit Perianalfisteln.

Ziel dieser Studie ist es, die immunmodulatorische Wirkung von Larven des *Trichuris suis*-Wurmes (Schweinepeitschenwurm) auf den Heilungsverlauf bei Perianalfisteln beim Hund zu untersuchen.

## **2. LITERATURÜBERSICHT**

### **2.1 Perianalfisteln**

Das Wort Fistel leitet sich vom lateinischen Wort „fistula“ ab, was so viel wie „hohles Rohr“ bedeutet (DUDUKGIAN & ABCARIAN, 2011). Perianalfisteln oder Analfisteln sind entzündlich veränderte Gänge in der perianalen oder analen Region.

Man unterscheidet zwischen inneren Fisteln, welche benachbarte Organe verbinden (z. B. Rectovaginalfisteln), und äußeren Fisteln, welche mit der Hautoberfläche kommunizieren (z. B. Perianalfisteln). Analfisteln treten beim Menschen häufig als Komplikation bei der entzündlichen Darmerkrankung MC auf (TAXONERA et al., 2009).

Daneben können Analfisteln auch unabhängig von einer chronischen Darmentzündung auftreten. In diesem Fall geht man davon aus, dass sie als Folge einer Entzündung der Proktodealdrüsen entstehen. Man kann hierbei den Abszess als akute und die Fistel als chronische Form derselben anorektalen Entzündung betrachten. Diese Infektion im Bereich der Analkrypten breitet sich anschließend in das umliegende Gewebe aus und resultiert oft in der Ausbildung von Fistelgängen (TAXONERA et al., 2009).

#### **2.1.1 Canine Perianalfisteln**

Die Perianalfistel beim Hund ist eine chronische, entzündlich fortschreitende und teilweise auch ulzerative Erkrankung des perianalen, analen und perirektalen Gewebes. Die fokalen oder multifokal zergliederten, ulzerierten Gänge sind sehr schmerzhaft für Hunde und schränken deren Lebensqualität stark ein. Meist tritt aus den Fistelöffnungen übelriechendes, mukopurulenten Sekret aus (PATTERSON & CAMPBELL, 2005).

Fistelgänge zwischen Rektum und der Perianalregion, wie sie häufig beim Menschen diagnostiziert werden, sind bei Hunden eher selten zu finden (MATUSHEK & ROSIN, 1991). Meist entwickeln sich die mit Epithel ausgekleideten Fistelgänge direkt im perianalen Gewebe. Der Durchmesser, die Tiefe und die Verzweigungen der Fisteln können extrem variieren und der betroffene Bereich kann sich bis zu 360° um den Anus herum ausdehnen (PATTERSON & CAMPBELL, 2005). In manchen Fällen sind auch die Analbeutel involviert (MATUSHEK & ROSIN, 1991). Die Perianalfisteln des Hundes ähneln in ihrer klinischen Erscheinung den Analfisteln des Menschen, welche häufig als Komplikation bei MC auftreten (PATTERSON & CAMPBELL, 2005). Daneben kann bei erkrankten Hunden oft sowohl klinisch als auch histologisch eine Kolitis nachgewiesen werden. Da außerdem

beide Erkrankungen gut auf immunsuppressive Therapieformen ansprechen, liegt die Vermutung nahe, dass beiden Fällen dieselbe Ätiologie zugrunde liegt (JAMIESON et al., 2002).

### **2.1.1.1 Prädisposition**

Der DSH ist mit Abstand am häufigsten von dieser Erkrankung betroffen. Mehrere Studien belegen, dass über 80 % der betroffenen Hunde Deutsche Schäferhunde sind und diese Rasse damit prädisponiert ist (KILLINGSWORTH et al., 1988; DAY & WEAVER, 1992). Daneben gibt es aber auch Berichte über betroffene Irische Setter, Collies, Border Collies, Bobtails, Labrador Retriever, Englische Bulldoggen, Beagles, Bouvier des Flandres, Spaniels und Mischlinge (KILLINGSWORTH et al., 1988; MATUSHEK & ROSIN, 1991; DAY & WEAVER, 1992; ELLISON, 1995; MATHEWS et al., 1997). Perianalfisteln treten vor allem bei Hunden im Alter zwischen vier und sieben Jahren auf. Obwohl manche Autoren der Meinung sind, es wären v. a. männliche Hunde betroffen (VASSEUR, 1981), konnte eine eindeutige geschlechtliche Prädisposition bisher nicht nachgewiesen werden (HARVEY, 1972; HOULTON, 1980a). Auch über die Prävalenz und Inzidenz der Erkrankung kann man bis heute keine Angaben machen.

### **2.1.1.2 Pathologie**

Die Ätiologie der Perianalfisteln ist nicht definitiv geklärt. Zu den am häufigsten diskutierten Ursachen gehören durch Impaktbildung von Koprolithen verursachte Mikroabszesse, die rasseabhängige Gestaltung der Perianalregion und des Schwanzansatzes sowie die infektiöse Ausbreitung eines Analbeutelabszesses (PATTERSON & CAMPBELL, 2005). Budsberg versuchte, in seiner Studie eine Erklärung für das gehäufte Auftreten der Perianalfisteln beim DSH durch die genaue Untersuchung der anatomischen Strukturen des Perianalbereiches zu finden. Dazu wurden zwei Gruppen gesunder Hunde verglichen: eine prädisponierte Gruppe Deutscher Schäferhunde und eine Kontrollgruppe verschiedener Hunderassen, welche keine Prädisposition für Perianalfisteln aufweisen. Zunächst wurde das Ausmaß (Tiefe, Länge, Basisbreite) der Analkrypten gemessen. Obwohl sich beim DSH eine größere Standardabweichung der Dimensionen einzelner Analkrypten feststellen ließ, konnte insgesamt kein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden. Im zweiten Abschnitt der Studie wurden die Gewebekomponenten (Höhe der Epithelialzellschicht in jeder Zone, Dicke der Lamina Propria in jeder Zone, Dicke des internen und externen Analsphinktermuskels, Dichte der Zirkumanal-, Talg- und apokrinen Schweißdrüsen) des Analkanals mikroskopisch untersucht und verglichen. Der einzige Befund war der Nach-



weis einer erhöhten Dichte der apokrinen Drüsen in der Zona cutanea bei den Deutschen Schäferhunden. Im letzten Teil der Studie wurden Entzündungsreaktionen, welche häufig auch in Analdrüsen klinisch gesunder Hunde gefunden werden können, vergleichend beurteilt. Dabei stellte sich heraus, dass bei der Gruppe der DSH geringfügig mehr Analdrüsen entzündet waren, sich die Quantität der Entzündungszellen aber kaum unterschied. Allerdings konnte bei den Deutschen Schäferhunden eine stärkere Anhäufung der Entzündungszellen und mehr reifes und unreifes fibröses Bindegewebe gefunden werden als in der Kontrollgruppe. Obwohl keiner dieser Faktoren für sich alleine die Prädisposition des DSH für Perianalfisteln erklärt, so könnten sie doch in Verbindung mit weiteren, bisher noch nicht endgültig bekannten physiologischen und immunologischen Faktoren von Relevanz sein (BUDSBERG et al., 1985). Einige Autoren vermuten, dass der breite Schwanzansatz und die niedrige Schwanzhaltung des DSH die Entstehung der Fisteln fördern, weil dadurch das Milieu der Perianalregion meist feucht und mit Kotverunreinigungen behaftet ist (HARVEY, 1972; WALSHAW & HARVEY, 1981). Allerdings müssten dann auch andere Rassen mit einer ähnlichen Anatomie für diese Erkrankung prädisponiert sein, was nicht der Fall ist. Zudem müsste man bei der histologischen Untersuchung des Perianalbereiches Anzeichen für diese chronische Irritation finden, dies wurde aber bisher nicht berichtet (KILLINGSWORTH et al., 1988). Die Analbeutel liegen beim DSH tiefer im Gewebe als bei anderen Rassen. Kommt es zur Bildung eines Analbeutelabszesses mit Ruptur des Analbeutels, gelangt das infektiöse Material somit tiefer in das perianale Gewebe. Dort kommt es dann zu einer granulomatösen Reaktion mit anschließender Abszess- bzw. Fistelbildung (JOHNSTON, 1985). Beim größten Teil der erkrankten Hunde sind die Analbeutel aber nicht mit betroffen, weshalb die meisten Autoren vielmehr davon ausgehen, dass die Analbeutel lediglich sekundär involviert sind (HARVEY, 1972; HOULTON, 1980a; GORING et al., 1986).

Als weiterer auslösender Faktor der Perianalfisteln wird eine Staphylokokkeninfektion diskutiert (DAY, 1993). Bei histologischen Untersuchungen von im Frühstadium betroffenem Perianalgewebe zeigen sich mit epidermalen Hautanhangsdrüsen assoziierte, entzündliche Reaktionen ohne begleitende epidermale Ulzerationen (KILLINGSWORTH et al., 1988). Im weiteren Verlauf der Entzündung entwickeln sich Follikulitis bzw. Furunkulose und nicht verzweigte Fistelgänge in der perianalen Dermis. Anschließend bilden sich perifollikuläre, oberflächliche, epidermale Ulzerationen und sich über das ganze perianale Gewebe erstreckende Cellulitis (KILLINGSWORTH et al., 1988).

Die derzeit am häufigsten vertretene Theorie geht von einem multifaktoriellen, immun-

medierten Prozess aus. Dafür spricht, dass sowohl die Perianalfisteln des Hundes als auch die Erkrankung des MC in der Humanmedizin sehr gut auf immunsuppressive Therapien reagieren (MATHEWS et al., 1997; MATHEWS & SUKHIANI, 1997; DOUST et al., 2003). Es finden sich immer mehr Hinweise darauf, dass MC das Ergebnis einer unausgeglichene Immunantwort auf intestinale Auslöser genetisch veranlagter Menschen zu sein scheint (MACPHERSON et al., 1996; OGURA et al., 2001; BROOKES & GREEN, 2004). Dies ist umso interessanter, da Deutsche Schäferhunde neben Perianalfisteln oft zeitgleich eine Kolitis haben. Vielleicht sind solche intestinalen Auslöser wie Nahrungsmittelallergene oder bakterielle Antigene ebenfalls an caninen Perianalfisteln beteiligt (HARKIN et al., 1996). Eine Studie von Day zur Immunpathologie der caninen Analfurunkulose konnte allerdings keinen einfachen immunologischen Defekt nachweisen, der die Prädisposition der Deutschen Schäferhunde erklären würde (DAY, 1993).

Auch eine Futtermittelreaktion wird als eventueller Auslöser der Perianalfisteln in Betracht gezogen. So konnte in einer Studie zu Futtermittelallergien bei Hunden mit dermatologischen Problemen eine signifikante Assoziation zwischen Perianalfisteln und Futtermittelreaktionen nachgewiesen werden (PROVERBIO et al., 2010).

Im Jahr 2001 wurde ein Fallbericht veröffentlicht, in welchem drei klinisch inapparent an Babesien erkrankte Hunde zeitgleich auch an Perianalfisteln litten. Alle drei Hunde wiesen keine Anzeichen einer Babesiose wie beispielsweise Lethargie, Fieber oder Splenomegalie auf. Die Krankheit wurde jeweils durch den Nachweis von Babesien im frischen Blutaussstrich diagnostiziert. Die Hunde wurden anschließend für einen Monat einmal wöchentlich mit Imidocarb-Injektionen behandelt, woraufhin die Perianalfisteln abheilten und es in keinem Fall zu einem Rezidiv kam. Am Ende der Therapie waren die Blutaussstriche der Hunde negativ (TARELLO, 2001). Die Überlegung, die subklinische Babesiose als Cofaktor der caninen Analfurunkulose in Betracht zu ziehen, steht nicht im Kontrast mit der Theorie der immunvermittelten Erkrankung. Man geht heute davon aus, dass die Babesiose auch sekundäre allergische Reaktionen und immune Dysfunktionen auslösen kann (MÁTHÉ et al., 2006).

### **2.1.1.3 Klinik**

Die klinischen Anzeichen der Erkrankung sind im Allgemeinen auf die Irritation des perianalen Gewebes bzw. auf die Schmerzen in diesem Bereich zurückzuführen (MATUSHEK & ROSIN, 1991). Am häufigsten können Tenesmus, Dyschezie, andauerndes Belecken der Perianalregion und Selbstverletzungen in diesem Bereich beobachtet werden

(MATUSHEK & ROSIN, 1991; PATTERSON & CAMPBELL, 2005). Auf Grund der Schmerzhaftigkeit während des Kotabsatzes oder eines durch anale Strikturen erschwerten Kotabsatzes leiden viele Hunde an Konstipation, und in der Folge an Obstipation. In manchen Fällen kann durch die Entzündung verursachtes Narbengewebe zu rektalen Strikturen führen.

Im Gegensatz dazu gibt es Patienten, bei denen die Kotabsatzfrequenz zunimmt, bis hin zur Entwicklung von Durchfall mit oft bleistiftdünnem Kot (PATTERSON & CAMPBELL, 2005). Werden der Analsphinktermuskel und seine dazugehörigen Nerven beschädigt, entwickeln einige Hunde Kotinkontinenz. Hematochezie, perianale Blutungen oder perianaler, purulenter Ausfluss mit übelriechendem Geruch treten ebenfalls häufig auf. Manchmal weisen betroffene Hunde eine niedrige Schwanzhaltung auf, da ihnen das Hochhalten des Schwanzes Schmerzen bereitet. Bei weit fortgeschrittenem Erkrankungsstadium magern die Hunde ab und werden lethargisch (JAEGER & MUELLER, 2005; PATTERSON & CAMPBELL, 2005).

#### **2.1.1.4 Diagnose**

Die Diagnose der Perianalfisteln beim Hund wird meist basierend auf dem typischen Signalement (DSH), der Krankheitsgeschichte, der klinischen Präsentation und dem Ausschluss der primären Differentialdiagnosen gestellt. Die genaue Untersuchung der Perianalregion durch den Tierarzt ist auf Grund der Schmerzhaftigkeit bei einigen Tieren nur in Sedation oder gegebenenfalls in allgemeiner Anästhesie möglich (ETTINGER & FELDMAN, 2000; PATTERSON & CAMPBELL, 2005). Um das ganze Ausmaß der betroffenen Fläche erkennen zu können, sollte der gesamte Perianalbereich ausrasiert und gereinigt werden. Bei der Adspektion zeigen sich multiple Fistelöffnungen, deren Größe und Ausdehnung in das umliegende Gewebe beträchtlich variieren können (ETTINGER & FELDMAN, 2000). Um die Dimension, den Verlauf und die Beteiligung regionaler Strukturen abschätzen zu können, empfiehlt es sich, die Fistelgänge zu sondieren. Bei der anschließenden digitalen rektalen Untersuchung werden der äußere Analsphinktermuskel, die Analbeutel und die rektale Schleimhaut untersucht (PATTERSON & CAMPBELL, 2005). Dabei können anorektale Strikturen, perianale Hernien, abnormaler Analtonus oder granulomatöse Rektalschleimhaut als palpatorische Befunde erhoben werden (ETTINGER & FELDMAN, 2000). Die Analbeutel können derart von betroffenem Gewebe umgeben sein, dass schwierig zu entscheiden ist, ob sie involviert sind. Durch Sondieren der Analbeutel kann eine eventuelle Verstopfung festgestellt werden. Auch das Spülen der Analbeutel mit steriler Kochsalzlösung ist anzuraten, um zunächst nicht erkennbare Fistelverbindungen

darzustellen (PATTERSON & CAMPBELL, 2005).

Zu den Differentialdiagnosen zählen

- Analbeutelabszess mit sekundärer Fistelbildung
- Analbeutelmyiasis
- perianales Adenom
- Analbeuteladenokarzinom
- Anales Plattenepithelkarzinom
- Rektale / anale Neoplasie
- Atypische bakterielle Infektion
- Mykose
- Verätzungen
- Unbehandelte Hundebisse

(ETTINGER & FELDMAN, 2000; JAEGER & MUELLER, 2005; PATTERSON & CAMPBELL, 2005)

Bei den erkrankten Hunden sollte sowohl für eine eventuell notwendige Anästhesie als auch zum Ausschluss anderer Differentialdiagnosen ein Blutbild mit Serumbiochemie und eine Urinuntersuchung durchgeführt werden. Mit Hilfe eines zytologischen Abklatsches kann das Mikroklima der ulzerierten Bereiche besser beurteilt werden. Meistens zeigt sich eine pyogranulomatöse Entzündung mit einer gemischten Bakterienpopulation. Da die Behandlung sekundärer bakterieller Infektionen in diesem Fall Wochen bis Monate dauern kann, ist es ratsam, gleich zu Beginn eine sterile Tupferprobe oder eine sterile Biopsie zur Anzüchtung einer bakteriellen Kultur und Erstellung eines Antibigrammes zu nehmen. Erscheint einer der Analbeutel bei der rektalen Untersuchung vergrößert, kann ein Analbeutelabszess oder eine Neoplasie des Analbeutels durch eine Feinnadelaspiration ausgeschlossen werden. Letztendlich sollte dem Tierbesitzer immer zu einer Biopsie der Perianalregion geraten werden, da damit die Diagnose der Perianalfisteln bestätigt und Neoplasien ausgeschlossen werden können. Manche Autoren befürworten bei der kompletten Aufarbeitung eines Hundes auch die Durchführung einer Eliminationsdiät, um eventuell vorhandene Futtermittelreaktionen auszuschließen (PATTERSON & CAMPBELL, 2005). Da etwa 50 % der an Perianalfisteln erkrankten Hunde zugleich an einer Kolitis leiden,

wird eine Proktoskopie oder besser noch Kolonoskopie mit Biopsie empfohlen (HARKIN et al., 1996). Hunde mit Wurmbefall zeigen ebenfalls oft Juckreiz mit Lecken im perianalen Bereich und weisen dadurch bedingte Hautveränderungen auf. Daher sollte gegebenenfalls auch an eine Kotuntersuchung gedacht werden (PATTERSON & CAMPBELL, 2005). Zum Ausschluss einer Mykose sollte eine Pilzkultur angelegt werden (DODI et al., 1985). Mit Hilfe eines tiefen Hautgeschabels werden Demodexmilben ausgeschlossen. Diese Milben führen oft zu einer sekundären bakteriellen Pyodermie, die in ihrer Erscheinung den Perianalfisteln ähneln könnte. Die Lokalisation ist allerdings nicht typisch für Demodexmilben (SHIPSTONE, 2000).

### **2.1.1.5 Therapie**

#### **2.1.1.5.1 Chirurgische Therapie**

In den 1970er Jahren schien das operative Vorgehen bei Perianalfisteln die Therapie der Wahl zu sein. Dabei wurden verschiedene Verfahren mit unterschiedlichem Erfolg angewandt. Harvey empfahl 1972 die radikale chirurgische Entfernung des gesamten betroffenen Perianalgewebes, wobei der Analsphinktermuskel und die Coccygealmuskeln möglichst geschont werden sollten (HARVEY, 1972). Manche Autoren empfahlen eine gleichzeitige Entfernung beider Analbeutel (VASSEUR, 1981, 1984), wohingegen Andere nur im Falle einer Beteiligung der Analbeutel deren Entfernung befürworteten (HARVEY, 1972; HOULTON, 1980b). Nach der Exzision des erkrankten Gewebes wurden die tieferen Schichten mit absorbierbarem Nahtmaterial genäht, um Totraum zu vermeiden. Die oberflächlichen Schichten der Haut und die rektale Darmwand wurden spannungsfrei als mukokutane Anastomose mit nichtresorbierbarem Faden vernäht. Wenn großflächige Resektionen notwendig waren, war es v. a. im dorsalen Bereich manchmal nicht möglich, die rektale Wand und die Haut ohne erhebliche Spannung aneinanderzufügen. In dem Fall konnte in diesen Bereichen eine sekundäre Wundheilung erfolgen (HARVEY, 1972; HOULTON, 1980b; VASSEUR, 1981, 1984). Betrachtet man vergleichend die Ergebnisse der chirurgischen Exzision in vier Studien, variieren die Erfolgsraten von 51 bis 83 %. Auch der Anteil an von Rezidiven betroffenen Hunde ist in den einzelnen Studien sehr unterschiedlich (13-56 %). Als postoperative Komplikationen traten am häufigsten Kotinkontinenz (13-29 %), Flatulenzen (17 %) und anale Stenosen (8-15 %) auf (HARVEY, 1972; HOULTON, 1980b; VASSEUR, 1981, 1984). Vereinzelt zeigten sich auch Durchfall, Blutungen, Tenesmus und Nahtdehiszenz. Dabei korrelierte meist die Häufigkeit des Auftretens von Komplikationen mit dem Schweregrad der Erkrankung (VASSEUR, 1981).

Das Ziel der Kryochirurgie ist die Zerstörung des erkrankten Gewebes mittels Kälteapplikation. Dazu wird entweder ein Sondenspitzenapplikator mit flüssigem Nitrogen für kleinere Flächen oder ein Flüssignitrogenspray für größere Bereiche verwendet (SEIM, 1980; VASSEUR, 1981). Bei der Anwendung des Sondenspitzenapplikators entsteht stufenweise ein „Gewebe-Eisball“ mit gut definierten Rändern um die Sondenspitze herum. Pyrometernadeln im umgebenden Gewebe messen die Temperatur, was eine genaue Beurteilung der Zellzerstörung erlaubt, ohne dass unnötig viel Gewebe zerstört wird. Eine maximale Wirkung wird erreicht, indem das Gewebe mehreren Gefrierzyklen unterzogen wird.

Bei der Anwendung des Kältesprays wird das umliegende Gewebe mit einer dicken Schicht Vaseline geschützt und die Temperatur ebenfalls mittels Pyrometernadeln kontrolliert (LISKA et al., 1975; WITHROW et al., 1975; VASSEUR, 1981). Der Hauptanteil der kälteinduzierten Zellzerstörung erfolgt sofort durch die Bildung intrazellulärer Eiskristalle. In einer anschließenden verzögerten Phase sterben weitere Zellen auf Grund vaskulärer Stauung mit Thrombosen und Ischämie ab (SEIM, 1980).

In den folgenden sieben bis 14 Tagen löst sich das behandelte Gewebe auf Grund der Kryonekrose ab. Es bleibt ein Granulationsbett zurück, und die Farbe verändert sich in den trockenen Wundbereichen zu dunkelbraun und in den feuchten Regionen zu käsig-gelb. Nach etwa 14 Tagen sollte keine Wundflüssigkeit mehr austreten und bereits eine langsame Reepithelisierung erfolgen (LANE & BURCH, 1975; SEIM, 1980).

Die Erfolgsraten variieren ähnlich stark wie bei der chirurgischen Exzision von 48 % (BUDSBERG et al., 1981) bis 97 % (HOULTON, 1980a). Eine mögliche Erklärung für diese divergierenden Ergebnisse könnte sein, dass bei den einzelnen Studien zahlreiche Operateure mit unterschiedlich guten Kenntnissen und Fähigkeiten beteiligt waren. Wie bereits Harvey betonte, ist es für den Erfolg der Operation essentiell, das gesamte betroffene Gewebe zu entfernen, zugleich aber den Analsphinkter zu schonen, was selbst für einen erfahrenen Chirurgen eine Herausforderung darstellt (HARVEY, 1972).

Bei dieser Technik treten insgesamt relativ wenig Rezidive auf (LANE & BURCH, 1975; HOULTON, 1980b, 1980a; BUDSBERG et al., 1981), nur in einer Studie wird von einer Rezidivrate von 45 % berichtet (VASSEUR, 1981). Von einigen Autoren wird der analgetische Effekt der Kryotherapie als großer Vorteil dieser Therapieform angeführt (HOULTON, 1980a; VASSEUR, 1981). Allerdings waren bei kryochirurgischen Behandlungen meist mehr Eingriffe als bei der chirurgischen Exzision notwendig. In einer vergleichenden Studie mussten die Hunde in der Kryotherapie-Gruppe durchschnittlich 2,4-

mal behandelt werden, während die Hunde der Exzisions-Gruppe durchschnittlich nur 1,6-mal behandelt werden mussten. In derselben Studie zeigte sich auch, dass bei der Behandlung mit Kältechirurgie ein höheres Risiko für Strikturen und Rezidive bestand. Dagegen trat Kotinkontinenz als Komplikation häufiger bei Hunden auf, bei denen die Perianalfisteln mit konservativer, chirurgischer Exzision behandelt wurden (VASSEUR, 1981).

In zwei Studien wurde der Erfolg der chemischen Kauterisation als Behandlungsmethode bei Perianalfisteln evaluiert (ROBINS & LANE, 1973; ELKINS & HOBSON, 1982). In beiden Studien wurden zunächst die Analbeutel als mögliche Infektionsquelle entfernt. Anschließend erfolgte ein sorgfältiges Wund-Debridement der gesamten betroffenen Region, bei dem die einzelnen Fistelgänge eröffnet wurden. Dann wurden die so präparierten Flächen bei Robins & Lane mit 75 % Silbernitratlösung oder mit 80 % flüssigem Phenol (ROBINS & LANE, 1973), bei Elkins & Hobson mit 10 % Lugol'scher Lösung verätzt (ELKINS & HOBSON, 1982). In der Studie von Robins & Lane bekamen die Hunde nach der Operation ein Laxativum, um Kotabsatzprobleme während der Heilungsphase möglichst zu vermeiden. Außerdem erhielten die Tiere für fünf Tage eine systemische Antibiose und für etwa dreieinhalb Wochen eine topische Behandlung mit einer antibiotisch-kortikosteroidhaltigen Creme (ROBINS & LANE, 1973). Die Erfolgsraten waren mit 87 % (ELKINS & HOBSON, 1982) und 96 % (ROBINS & LANE, 1973) vielversprechend, und auch die Rezidivraten waren gering. In beiden Studien traten kaum Stenosen als postoperative Komplikationen auf, und nur bei einer Studie lag die Zahl der Hunde mit postoperativer Kotinkontinenz bei 20 % (ELKINS & HOBSON, 1982). Leider nahmen in der einen Studie nur 20 (ELKINS & HOBSON, 1982) und in der anderen Studie nur 28 Hunde (ROBINS & LANE, 1973) teil, so dass diese Ergebnisse allenfalls eine positive Tendenz zeigen können.

Goring beurteilte 1986 retrospektiv die Behandlung von 30 an Perianalfisteln erkrankten Hunden mittels Gewebeabtragung und anschließender Elektrofulguration. Hierfür wurden zunächst alle Fistelgänge eröffnet, chronisches Granulations- und Narbengewebe entfernt und die Auskleidung der Wundhöhlen elektrofulguriert. Dabei verdampft die Intra- und Extrazellulärflüssigkeit durch den Funkenüberschlag von der Spitze der Elektrode, die wenige Millimeter über dem Gewebe gehalten wird, so dass eine oberflächliche Koagulation entsteht. Die Gewebeerstörung ist in diesem Fall durch den Luftzwischenraum, welchen der Funke überbrücken muss, limitiert. Trotzdem sollte das Fulgurationsinstrument kontinuierlich bewegt werden, um eine zu starke lokale Gewebeerstörung zu vermeiden. Die Wunden wurden dann für eine sekundäre Wundheilung offen gelassen. Bei Hunden, bei

denen weniger als 180° des Perianalbereiches betroffen waren, wurden mit dieser Methode zufriedenstellende Ergebnisse erzielt. Die Rezidivrate beträgt allerdings 70 %, wobei in dieser Studie jeder Hund, der mehrere Behandlungen benötigte, als Rezidivfall gewertet wurde. Einige dieser Hunde erreichten aber mit zusätzlicher Therapie eine komplette Remission. Als häufigste Komplikationen wurden Tenesmus (20 %) und Kotinkontinenz (23 %) vermerkt, welche in den meisten Fällen nur transient auftrat (GORING et al., 1986).

In einer Studie von Ellison et al. wurden bei 20 erkrankten Hunden die Perianalfisteln mit einem Neodym: Yttrium-Aluminium-Granat-Laser exzidiert (ELLISON et al., 1995). Das im Weichteilgewebe eingelagerte Wasser absorbiert den Strahl des Lasers, so dass es zunächst nur in den oberen Hautschichten zu einem thermischen Effekt kommt und kaum kollaterale Gewebeschädigungen entstehen. Dabei wird das Gewebe durch Verdampfung mit der Energie des Laserstrahls geschnitten. Ein Vorteil bei dieser Methode ist, dass mit dem Laserstrahl zugleich alle Blutgefäße verschlossen werden und kaum Blutungen auftreten. Außerdem werden gleichzeitig Nervenendigungen versiegelt, wodurch die Patienten unter geringen postoperativen Schmerzen leiden (NELSON & BERNS, 1988; SW, 1993; BARTELS, 2002). In der vorher bereits erwähnten Studie wurden mittels eines Laserskalpells vorsichtig unter bestmöglicher Schonung des externen Analsphinkters die einzelnen Fistelgänge heraus präpariert. Anschließend wurden die Subkutis mit der Rektalwand bzw. dem externen Analsphinkter und die oberflächliche Haut mit der rektalen Schleimhaut vernäht. In 70 % der Fälle trat eine geringe Wunddehiszenz auf, die zumeist nicht chirurgisch nachbehandelt werden musste und sekundär abheilte. 80 % der behandelten Hunde kamen bereits nach der ersten Laserbehandlung in eine Remission, welche durchschnittlich 22,9 Monate andauerte. Nach maximal drei Behandlungen waren 95 % der insgesamt 20 Hunde vorübergehend frei von Perianalfisteln. Bei der rektalen digitalen Untersuchung war der Analtonus bei 60 % der Patienten erniedrigt, wobei laut Besitzerangaben nicht alle dieser Hunde Kotinkontinenz zeigten. Verstärktes Auftreten von Flatulenzen wurde allerdings bei allen diesen Tieren berichtet. Bei den meisten Hunden war der Perianalbereich die ersten Tage nach der Operation stärker verschmutzt. Ellison vermutete, dass dies entweder durch eine postoperative Entzündung oder durch die Dehnung des externen Analsphinktermuskels auf Grund der rektokutanen Wundnaht bedingt sei. Diese vorübergehende Kotinkontinenz verschwand in der Regel nach dem Fädenziehen. Eine dauerhafte Inkontinenz trat bei vier Hunden auf, welche bei drei Tieren gut mit entsprechender Futterumstellung gemanagt werden konnte. Die Rezidivrate war mit 5 % über einen durchschnittlichen Beobachtungszeitraum von knapp zwei Jahren relativ niedrig (ELLISON et al., 1995).



Nachdem bereits früher schon versucht wurde, durch die Fixierung des Schwanzes mit Hilfe von Tapes oder Gurten ein verändertes Mikroklima im Perianalbereich zu schaffen, ließ Palminteri 1986 im Rahmen einer Studie bei 25 Hunden den Schwanz amputieren (VAN FE & PALMINTERI, 1987). Auch Harvey war der Meinung, dass der breite Schwanzansatz des DSH die Schaffung und Erhaltung eines feucht-warmen, bakterienreichen Milieus fördere und somit die Kontamination der Haarfollikel, der Analbeutel, der tubulären Drüsen oder der Talgdrüsen unterstütze (HARVEY, 1972). Bei der oben genannten Studie wurde den Hunden der Schwanz auf Höhe des zweiten bis dritten Schwanzwirbels amputiert, die Läsionen der Perianalfisteln allerdings wurden nicht zusätzlich behandelt. Die anschließende Heilung der Fisteln sollte auf Grund der besseren Belüftung und Drainage sekundär erfolgen. Allen Hunden schien es zunächst besser zu gehen. Vier Wochen nach der Operation wurde der bestehende Zustand der Perianalregion beurteilt. Bei fünf der 25 Hunde waren die Fisteln noch nicht abgeheilt, bei drei von ihnen heilten sie jedoch noch in der Folgezeit vollständig aus. Während eines durchschnittlichen Beobachtungszeitraumes von 16 Monaten hatten 20 % der Hunde, deren Fisteln zum Zeitpunkt der Stuserhebung abgeheilt waren, erneut Rezidive. Komplikationen in Form von Analstrikturen, Analbeutelabszess oder Wunddehiszenz traten jeweils bei einem Hund auf. Da bei dieser Operation der externe Analsphinkter nicht involviert war, kam es in keinem Fall zu postoperativer Kotinkontinenz. Auffallend war, dass sich mit dem Nachwachsen des Fells der Zustand des Perianalbereiches bei drei Hunden verschlechterte, wobei sich nach erneutem Ausrasieren bei zwei Hunden die Situation ohne weiteres Zutun wieder besserte. Diese Beobachtung stützt die Theorie, dass lokale Faktoren die Entwicklung der Fisteln beeinflussen (VAN FE & PALMINTERI, 1987).

In der bereits erwähnten Studie zur Behandlung der Perianalfisteln mit Lasertherapie erfolgte bei vier Hunden zusätzlich eine Schwanzamputation. Für die folgende Verbesserung machte der Autor die Lasertherapie verantwortlich. Allerdings gibt er auch zu bedenken, dass durch die Caudektomie die lokale Therapie in Form von täglichem Reinigen der Perianalregion besser und leichter durchführbar sei (ELLISON et al., 1995).

Zusammenfassend ist festzustellen, dass ein Vergleich der verschiedenen chirurgischen Techniken zur Behandlung der Perianalfisteln schwer möglich ist, da es bisher keine Standardkriterien zur postoperativen Evaluation der erkrankten Hunde gibt.

### 2.1.1.5.2 Medikamentöse Therapie

Da man heutzutage mehr von einer Fehlfunktion des Immunsystems als von lokalen krankheitsverursachenden Faktoren ausgeht, ist man in den letzten Jahren zunehmend von der chirurgischen Behandlung abgekommen. Nachdem in der Humanmedizin in mehreren Studien gezeigt wurde, dass Patienten mit MC gut auf immunsuppressive Therapien ansprechen (HANAUER & SMITH, 1993; PRESENT & LICHTIGER, 1994), versuchte man erfolgreich, diesen Ansatz in die Veterinärmedizin zu übertragen (MATHEWS et al., 1997; MATHEWS & SUKHIANI, 1997).

Unabhängig von jeder systemischen Behandlung sollte die Perianalregion lokal immer gut gereinigt und möglichst trocken gehalten werden. Dazu empfiehlt es sich, die Haare in diesem Bereich kurz zu halten, nekrotisches Gewebe und auch intraläsionale Haare sollten entfernt werden. Antimikrobielle Shampoos eignen sich sehr gut, um den eitrigen Ausfluss zu entfernen und bakterielle Entzündungen zu vermindern. Daneben kann auch durch die topische Anwendung von antibiotischen oder kortisonhaltigen Salben ein gewisser Fortschritt erreicht werden. Obwohl mit dieser lokalen Therapie sicher keine Heilung erzielt werden kann, erreicht man doch oft eine wesentliche Verbesserung der klinischen Symptomatik (BURROWS & ELLISON, 1989; MATUSHEK & ROSIN, 1991; ELLISON, 1995; PATTERSON & CAMPBELL, 2005).

Harkin führte 1996 eine Studie mit 27 an Perianalfisteln erkrankten Deutschen Schäferhunden durch, bei denen zusätzlich histologisch eine Kolitis nachgewiesen wurde. Dabei wurde das Ansprechen der Hunde auf immunsupprimierende Dosen Prednison und eine Futterumstellung überprüft. Die Tiere bekamen initial 2 mg/kg/Tag Prednison für die ersten zwei Wochen, dann erfolgte eine Reduktion auf 1 mg/kg/Tag für weitere vier Wochen. Als Erhaltungsdosis erhielten die Hunde 1 mg/kg Prednison jeden zweiten Tag. Vier und acht Wochen nach Therapiebeginn erfolgte eine Reevaluierung. Hunde, bei denen die perianalen Läsionen nach acht Wochen noch nicht abgeheilt waren, wurden nach 16 Wochen noch einmal kontrolliert. Insgesamt galten ein Drittel der teilnehmenden Hunde nach Studienabschluss als geheilt, bei einem Drittel hatte sich der gesundheitliche Zustand verbessert und bei wiederum einem Drittel hatten sich die perianalen Läsionen während der Studie nicht verändert. Erstaunlicherweise verbesserten sich aber bei den meisten Hunden die klinischen Symptome wie Tenesmus, Hämatochezie, häufiger Kotabsatz, Dyschezie und Kotinkontinenz, selbst wenn der Zustand der Perianalfisteln sich nicht auffällig veränderte. Leider kann anhand dieser Studie nicht festgestellt werden, inwieweit die Prednisontherapie oder die Futterumstellung auf ein kohlenhydratreiches Futter mit einer alternativen

Proteinquelle Einfluss auf die Heilung hatte (HARKIN et al., 1996). Da Glukokortikoide sehr viele antiinflammatorische Effekte haben und entzündliche Prozesse schnell beruhigen (BOOTHE & MEALEY, 2001), werden sie auch heute noch oft zur Behandlung der Perianalfisteln verwendet. So empfiehlt zum Beispiel Patterson Prednison in stärker immunsuppressiven Dosen (3 – 4 mg/kg/Tag für drei bis sechs Wochen) einzusetzen und dann bis zur niedrigsten effektiven Dosis zu reduzieren (PATTERSON & CAMPBELL, 2005). Auf Grund der zahlreichen, zum Teil schweren Nebenwirkungen wie Polyurie, Polydypsie, Polyphagie, Haut- und Muskelatrophie sollten Kortikosteroide jedoch nicht als Mittel der Wahl für eine Langzeittherapie angesehen werden. Außerdem muss bei jedem einzelnen Patienten abgewogen werden, ob sie als Medikamente eingesetzt werden können (BOOTHE & MEALEY, 2001). Ein Vorteil der Kortisontherapie ist aber, dass sie nicht sehr kostenintensiv ist und damit auch für finanziell limitierte Besitzer in Frage kommt (PATTERSON & CAMPBELL, 2005).

Zusätzlich kann Azathioprin als weiteres Immunsuppressivum angewendet werden (PATTERSON & CAMPBELL, 2005). Als initiale Therapie eignet sich Azathioprin als alleiniges Medikament nicht, da es bis zum Wirkungseintritt etwa fünf bis sechs Wochen dauert. Aus diesem Grund wird es zu Beginn in Kombination mit Glukokortikoiden verabreicht. Diese können dann, sobald die immunsuppressiven Effekte des Azathioprin einsetzen, schneller in ihrer Dosis gesenkt werden (BEALE, 1988).

Daneben schlägt Patterson als Alternative zu Azathioprin zusätzlich zu einer Kortisontherapie Metronidazol vor (PATTERSON & CAMPBELL, 2005). Der Vorteil dieses Antibiotikums ist, dass es nicht nur gegen Protozoen wirksam ist und die Besiedlung des Perianalbereiches mit fäkalen Anaerobiern effektiv bekämpft, sondern außerdem immunmodulatorische Wirkung hat (LEIB & MATZ, 1995; PAPICH, 1995).

Im Jahr 1999 erschien eine Studie von Tisdall et al. in der fünf Hunde mit Perianalfisteln zeitgleich sowohl mit Azathioprin (50 mg/Hund/Tag oral) als auch mit Metronidazol (400 mg/Hund/Tag oral) behandelt wurden (TISDALL et al., 1999). Bei allen Hunden gingen die Anzeichen für die Irritationen im Perianalbereich wie häufiges Lecken, Dyschezie und Tenesmus innerhalb der ersten zwei Wochen deutlich zurück. Es heilten nicht alle Fisteln ab, insgesamt wurden die ulzerierten Läsionen und die betroffenen Flächen aber kleiner und oberflächlicher, und die mit den Fisteln assoziierten Entzündungen und der Ausfluss nahmen ab. Nach dieser anfänglichen Besserung stagnierte die Heilung allerdings bei allen fünf Hunden nach etwa vier bis sechs Wochen und keiner der Studienteilnehmer ging nur mit der medikamentösen Therapie in Remission. Aus diesem Grund wurde anschließend

bei jedem der erkrankten Hunde eine chirurgische Exzision des betroffenen Gewebes durchgeführt und die Kombinationstherapie mit Azathioprin und Metronidazol noch für weitere drei bis sechs Wochen postoperativ gegeben. Danach schienen die Hunde geheilt zu sein. Während des darauffolgenden sieben- bis zehnmonatigen Überwachungszeitraumes hatte keiner der Hunde einen Rückfall. Da Azathioprin eine gewisse Zeit braucht, bis es seine volle systemische Wirkung entwickelt (BEALE, 1988), kann entsprechend den Ergebnissen dieser Studie die Beteiligung des Metronidazols an dem schnellen Therapieerfolg innerhalb der ersten beiden Wochen kaum von der Hand gewiesen werden. Dabei wäre es interessant zu wissen, inwieweit die immunmodulatorische Komponente oder die antibiotische Wirkung dieses Medikaments das erkrankte und meist sekundär entzündete Gewebe beeinflussen.

Dieses Therapieprotokoll hat den Vorteil, dass es auf Grund der einmal täglichen Medikamentengaben für die Besitzer einfach durchführbar ist, auch für Hunde größerer Rassen finanziell überschaubar bleibt und in moderaten Dosen relativ sicher ist. Auch das notwendige Monitoring, um eine durch Azathioprin ausgelöste Knochenmarksuppression festzustellen, ist mit einer Untersuchung des Blutbildes auf eine eventuelle Neutropenie oder Thrombozytopenie schnell ausführbar und nicht sehr kostenintensiv. Zwar war es als alleinige Behandlung in dieser Studie nicht ausreichend, als Vorbereitung auf eine anschließende chirurgische Behandlung scheint diese Kombinationstherapie aber die chirurgischen Ergebnisse zu verbessern (TISDALL et al., 1999).

Seit Anfang der 1990er Jahre gilt Zyklosporin als ein bewährtes Immunsuppressivum zur Behandlung von MC (LOBO et al., 1991). Aus diesem Grund führte Mathews eine Pilotstudie mit zehn an Perianalfisteln erkrankten Hunden durch, um die Effektivität des Medikamentes zur Behandlung dieser Erkrankung zu testen (MATHEWS et al., 1997). Bereits in den ersten beiden Wochen der Therapie ging die Entzündung im betroffenen Bereich deutlich zurück und auch die klinischen Symptome wie ständiges Belecken der Perianalregion und Dyschezie nahmen langsam ab. In dieser Studie wurden die Hunde so lange behandelt, bis alle Fisteln verheilt waren. Es stellte sich heraus, dass dies von der Größe und Tiefe der Läsionen abhängig war und zwischen zwei und 20 Wochen dauerte. Die Besitzer der Studienteilnehmer bevorzugten klar die medikamentöse Therapie, im Gegensatz zur chirurgischen, da dabei kein Risiko für die Entstehung von Kotinkontinenz oder analen Strikturen besteht, die Hunde nicht unter zusätzlichen Schmerzen leiden und auch den Besitzern kein aufwendiges Management abverlangt wird (MATHEWS et al., 1997). In einer zweiten Placebo-kontrollierten Studie konnte Mathews die positiven Erfolge der Zyklospo-

rinbehandlung abermals bestätigen. Heute ist es das Mittel der Wahl zur Behandlung der Perianalfisteln beim Hund. Weitere sich anschließende Studien bestätigten das allgemein gute Ansprechen der Perianalfisteln auf die Gaben dieses Immunsuppressivums (GRIFFITHS et al., 1999; HARDIE et al., 2005). Es zeigte sich aber, dass das Medikament in manchen Fällen längerfristig gegeben werden musste, um die Redizivgefahr zu senken (MATHEWS et al., 1997; HARDIE et al., 2005). Nebenwirkungen, die während der Verabreichungen auftraten (exzessiver Haarverlust, Erbrechen, Durchfall, Lethargie, Hinterfußlahmheit), stellten meist nur in den ersten Behandlungswochen ein Problem dar und verschwanden spätestens mit Absetzen des Zyklosporins (MATHEWS & SUKHIANI, 1997; HARDIE et al., 2005; HOUSE et al., 2006). Allerdings ist eine Behandlung mit Zyklosporin sehr kostspielig, so dass man schnell begann, nach der niedrigsten, noch effektiven Dosis zu suchen. In den ersten Studien wurden die Dosisempfehlungen zur immunsuppressiven Behandlung von Hunden nach Nierentransplantationen übernommen (5 – 10 mg/kg zweimal täglich) (HOUSE et al., 2006) und die Zyklosporinblutkonzentrationen gemessen (MATHEWS & SUKHIANI, 1997; GRIFFITHS et al., 1999; HOUSE et al., 2006). Angelehnt an die Zielblutkonzentrationen zur Behandlung des MC in der Humanmedizin, sollte der Spiegel bei 400 – 600 ng/ml liegen (GRIFFITHS et al., 1999). Es stellte sich aber heraus, dass auch bei Hunden, bei denen der Konzentrationsspiegel nicht in dem gewünschten Bereich lag, eine Verbesserung der Klinik und der Läsionen eintrat (GRIFFITHS et al., 1999). Deshalb verglich House 2006 zwei Gruppen erkrankter Hunde, welche acht Wochen lang mit unterschiedlicher Zyklosporindosierung behandelt wurden. Dabei erkannte er, dass die höher dosierte Gruppe eine wesentlich schnellere Verbesserung der klinischen Symptome und Läsionen aufwies und somit eine niedrige Dosierung nicht ebenso effektiv zu sein scheint (HOUSE et al., 2006).

Da Zyklosporin auch heute noch sehr teuer ist und die Ausscheidungsrate beim Hund etwa 2,8-mal höher ist als beim Menschen, wird es manchmal in Kombination mit Ketokonazol verabreicht (D'MELLO et al., 1989; GRIMSLEY et al., 1991). Zyklosporin wird vor allem in der Leber durch das mikrosomale Leberenzym Zytochrom P-450 metabolisiert. Medikamente, welche diese Metabolisierung durch kompetitive Hemmung verlangsamen, vermindern so die Zyklosporinausscheidung und ermöglichen damit bei kontinuierlicher Gabe des Medikaments einen höheren Zyklosporinblutspiegel. Ketokonazol bindet einige der Isoenzyme des P-450 Systems, wodurch folglich der Abbau von Medikamenten gestört wird, deren Metabolisierung durch dieses System erfolgt (DAHLINGER et al., 1998; MCANULTY & LENSMEYER, 1999). Durch diese Wechselwirkung erhöht sich die

Halbwertszeit von Zyklosporin um das Zweifache (D'MELLO et al., 1989), manche Autoren berichten sogar von einer Senkung der Zyklosporin-Clearance von 75-85 % (MYRE et al., 1991; DAHLINGER et al., 1998). In Studien konnte gezeigt werden, dass auf diese Weise eine Reduktion der Zyklosporindosis von 50-90 % möglich war und damit eine Kostenersparnis von bis zu 70 % erreicht wurde. Ein erhöhtes Nebenwirkungspotential wurde bei keiner Studie nachgewiesen. Die Hunde zeigten vor allem in den ersten Wochen die für Zyklosporin bekannten Nebenwirkungen (Anorexie, Erbrechen, Lethargie, Haarverlust, Gingivahyperplasie) (MOUATT, 2002; PATRICELLI et al., 2002; O'NEILL et al., 2004). Im Zusammenhang mit Ketokonazol können Lebertoxizität im Sinne einer Cholangiohepatitis und erhöhte Leberenzymaktivitäten auftreten (PLUMB, 1999). Aus diesem Grund sollte bei Hunden mit bereits bekannten Leberproblemen auf die zusätzliche Gabe von Ketokonazol verzichtet werden. Aber auch bei Tieren mit normalen Leberfunktionswerten ist es bei langfristiger Therapie empfehlenswert, in regelmäßigen Abständen die Leberenzymwerte zu kontrollieren (DAIGLE, 2002). Trotz dieses etwas aufwendigeren Monitoring ist die Kombinationstherapie mit Ketokonazol / Zyklosporin immer noch kostensparender als eine alleinige Zyklosporintherapie (MOUATT, 2002).

Da die Erkrankung lokal begrenzt auftritt, kann man auch versuchen, topisch immunsuppressiv-wirkende Medikamente einzusetzen. Tacrolimus blockiert ähnlich wie Zyklosporin die T-Lymphozytenaktivierung in einem sehr frühen Stadium (WIEDERRECHT et al., 1993), indem es die Produktion von und die Reaktionsfähigkeit auf IL-2, Tumornekrosefaktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), IL-4 und IL-5 hemmt (SPENCER et al., 1997). In einer humanmedizinischen Studie konnte gezeigt werden, dass Tacrolimus besser durch die Haut resorbiert wird als Zyklosporin (LAUERMA et al., 1997). Außerdem weist Tacrolimus eine höhere biologische Aktivität auf und ist bis zu 100-mal potenter (WIEDERRECHT et al., 1993). So kann lokal eine wesentlich höhere Konzentration des Medikamentes erreicht werden, was wahrscheinlich wiederum eine schnellere und umfangreichere Heilung der Perianalfisteln fördert (MISSEGHES et al., 2000). Gleichzeitig werden aber mit der gebräuchlichen 0,1 % Tacrolimus-Salbenmischung keine nachweisbaren Blutkonzentrationen erreicht (YUZAWA et al., 1996). Sowohl bei Zyklosporin als auch bei Tacrolimus ist das Auftreten von Nebenwirkungen dosisabhängig (SPENCER et al., 1997). Wenn bei einer topischen Tacrolimus-Therapie also keine systemischen Wirkspiegel aufgebaut werden, sinkt das Nebenwirkungspotential enorm. Auf Grund der höheren Potenz von Tacrolimus wird eine wesentlich geringere Menge des Wirkstoffes benötigt als bei einer oralen Zyklosporintherapie, wodurch eine Kostenersparnis von bis zu 85 % erreicht werden kann

(MISSEGHERS et al., 2000). In einer 16-wöchigen Studie von Missegheers sprachen neun von zehn Hunden auf die lokale Tacrolimus-Anwendung an, bei 50 % konnte sogar eine vollständige Heilung erreicht werden. Keines der Tiere zeigte Nebenwirkungen. Da sich bei dieser Studie kein Unterschied zwischen einmal oder zweimal täglicher Anwendung zeigte, empfiehlt der Autor, Tacrolimus 0,1 % Salbenmischung einmal täglich nach dem Reinigen der Perianalregion aufzutragen. Um einen Rückfall zu vermeiden, empfiehlt Missegheer außerdem, die Therapie mindestens vier Wochen über das Abheilen der Fisteln hinaus weiterzuführen (MISSEGHERS et al., 2000).

Die meisten Autoren raten mittlerweile zu einer einleitenden oralen Therapie mit Zyklosporin und einer anschließenden Erhaltungstherapie mit Tacrolimus (MISSEGHERS et al., 2000; PATTERSON & CAMPBELL, 2005). Aus humanmedizinischen Studien ist bekannt, dass Tacrolimus beim Auftragen auf die Haut brennen kann (LAEIJENDECKER et al., 2006). Auch aus diesem Grund erscheint Tacrolimus besser als Fortsetzungstherapie geeignet zu sein, wenn die großflächigen Ulzerationen bereits abgeheilt sind.

Meist kann durch die zusätzliche lokale Therapie die Zyklosporindosis schneller reduziert werden und die Rezidivgefahr längerfristig gesenkt werden (MISSEGHERS et al., 2000; PATTERSON & CAMPBELL, 2005).

### **2.1.2 Morbus Crohn**

Bei den entzündlichen Darmerkrankungen des Menschen wird grundsätzlich unterschieden in Entzündungen bekannter Genese (Infektionen, Ischämie, physischer Schaden wie Bestrahlungen, spezifische immunologische Empfindlichkeit) und Entzündungen unbekannter Ursache (LENNARD-JONES, 1989).

Neben MC ist die Colitis ulcerosa (CU) die am häufigsten auftretende nicht-spezifische Darmentzündung. Beide Erkrankungen zählen zu den CED und zeigen einen in Schüben auftretenden Verlauf. Die genaue Ätiologie beider Krankheiten ist nicht bekannt, man geht aber in beiden Fällen von einer immunen Dysregulation aus (SARTOR, 1995; YOSHIDA, 1999). Während bei einer CU nur im Kolon und distalen Rektum ineinander übergehende Entzündungen vorhanden sind, können beim MC einzelne über den kompletten Verdauungstrakt (meist das distale Ileum und Kolon) verteilte Entzündungen nachgewiesen werden. Die Entzündungen sind beim MC meist tiefreichender und führen häufiger zu Komplikationen (intestinale Fibrosen, Fistel- und Abszessbildungen) als bei CU, bei welcher die Entzündungen auf die Mucosa beschränkt sind (OGOREK & FISHER, 1994). Das Krankheitsbild des MC ist sehr heterogen und die Betroffenen können unter einer Vielzahl

verschiedener Symptome leiden. Dabei muss unterschieden werden, ob die Symptome durch eine akute Entzündungsaktivität oder durch Veränderungen auf Grund früherer Entzündungen (Stenosen, Strikturen) hervorgerufen werden (VAN HEES et al., 1980). Neben den für MC charakteristischen diskontinuierlichen Darmentzündungen können auch extra-intestinale Manifestationen der Erkrankung auftreten. Am häufigsten wird dabei eine CED-assoziierte periphere und / oder axiale Arthritis beobachtet. Daneben können auch Hautmanifestationen wie Erythema nodosum oder Pyoderma gangraenosum und hepatobiliäre Erkrankungen wie Pericholangitis oder chronische Hepatitis im Zusammenhang mit MC gesehen werden. Außerdem gibt es mehrere Fallberichte über MC-assoziierte Augenerkrankungen (GREENSTEIN et al., 1976).

### **2.1.2.1 Epidemiologie**

Die Prävalenz der CED hat im Laufe des letzten Jahrhunderts weltweit stark zugenommen. Laut einer 1996 publizierten Studie lag damals die Gesamtinzidenz für MC in Europa bei 5,6 Neuerkrankungen pro 100 000 Einwohner und Jahr. Dabei zeigte sich auch, dass die Inzidenzrate in Nordeuropa um 80 % höher war als im südlichen Europa. Die meisten Neuerkrankungen wurden demnach in Maastrich (Niederlande) und Amiens (Nordwestfrankreich) verzeichnet, die wenigsten hingegen in Ioannina (Nordwestgriechenland). Die höchste altersspezifische Inzidenz lag bei den 15-34 Jährigen, wobei Männer und Frauen gleichermaßen betroffen zu sein scheinen (SHIVANANDA et al., 1996). Ein ähnliches Nord-Süd-Gefälle konnte auch in den USA dokumentiert werden (SONNENBERG et al., 1991). In Asien, Afrika und Neuseeland ist die Inzidenz für MC insgesamt relativ niedrig (EASON et al., 1982; MAYBERRY & MANN, 1989; MORITA et al., 1995). In Deutschland lag die Inzidenz für MC 1995 bei 5,2 Erkrankten pro 100 000 Einwohnern und Jahr, die Prävalenz dürfte etwa 120-200 MC-Kranke pro 100 000 Einwohnern betragen. In einer Studie von Timmer et al. wurde die Inzidenzrate zweier Zeiträume (1980-1984 und 1991-1995) miteinander verglichen. Dabei stellte sich heraus, dass die Anzahl der jährlichen Neuerkrankungen in etwa stabil blieb, allerdings im zweiten Zeitraum das Altersspektrum bei der Erstdiagnose breiter war und mehr Menschen über 50 Jahre betroffen waren. Der Altersspek lag dennoch in beiden Messzeiträumen genauso wie bei den bisherigen Studien bei den 15-34 Jährigen. Der Zuwachs an älteren Patienten erklärt sich einerseits durch das Älterwerden der Gesamtpopulation an sich. Außerdem scheinen ältere Personen häufig einen milderen Verlauf zu haben. Somit drängt sich der Gedanke auf, dass diese Altersgruppe mittlerweile stärker vertreten ist, weil -auf Grund verbesserter Diagnosemöglichkeiten- heute auch milde Krankheitsverläufe sicher als MC diagnostiziert werden können.



Eine zweite Auffälligkeit zeigte sich beim Vergleich der betroffenen Darmregionen innerhalb der beiden Zeiträume. Dabei konnte eine distale Verlagerung des MC nachgewiesen werden. Bei den von 1991-1995 neu diagnostizierten MC-Patienten war überwiegend das distale Kolon betroffen (TIMMER et al., 1999).

Die weltweite Zunahme der CED legt die Vermutung nahe, dass veränderte Umweltfaktoren als Trigger für das Auftreten dieser Erkrankungen fungieren (DANESE et al., 2004). Ein mittlerweile nachgewiesener Risikofaktor für MC ist das Rauchen von Zigaretten. Rauchen erhöht nicht nur die Rezidivgefahr, sondern auch die Notwendigkeit chirurgischer Eingriffe bei MC-Kranken, wohingegen das Einstellen des Nikotinkonsums den weiteren Krankheitsverlauf deutlich positiv beeinflusst (SILVERSTEIN et al., 1989; COTTONE et al., 1994).

Seit Jahren wird die Rolle von *Mykobakterium avium subspecies paratuberculosis* (*M. avium*.) bei der Entstehung des MC diskutiert. Dieses Mykobakterium gilt heute als Erreger der Johne`s Disease, einer chronischen, granulomatösen Ileitis der Wiederkäuer, welche in ihrer klinischen Erscheinung dem MC sehr ähnlich ist (CHACON et al., 2004). In den 1980er Jahren wurde diese These vor allem dadurch gestützt, dass aus erkranktem Gewebe *M. avium* isoliert werden konnte (CHIODINI et al., 1984). Allerdings brachten anschließende Studien, bei denen gezielt spezifische DNA-Sequenzen von *M. avium* in betroffenem Gewebe oder entsprechende Serumantikörper nachgewiesen werden sollten, sehr widersprüchliche Ergebnisse (FELLER et al., 2007). Auch der sich aus dieser These ergebende Therapieansatz, MC-Kranke mit einer Antituberkulose-Therapie zu behandeln, erbrachte keine eindeutigen Resultate (SWIFT et al., 1994).

Seit langem werden außerdem diätische Faktoren im Zusammenhang mit dem Verlauf des Krankheitsgeschehens diskutiert. Van den Bogaerde konnte 2002 zeigen, dass MC-Patienten sensibler auf Nahrungsmittelallergene reagierten als eine gesunde Kontrollgruppe (VAN DEN BOGAERDE et al., 2002). Orale Kontrazeptiva und nicht-steroidale Antiphlogistika (NSAIDs) scheinen sich ebenfalls negativ auszuwirken (GODET et al., 1995; BERG et al., 2002). Als weiterer beeinflussender Faktor wird häufig psychischer Stress angeführt. Hierzu zeigte sich in den letzten Jahren, dass Stresssituationen zwar den Krankheitsverlauf und die Krankheitsmanifestation moduliert, weniger aber als auslösender Trigger gesehen werden sollte (COLLINS, 2001; HART & KAMM, 2002).

### 2.1.2.2 Genetik

Die Ätiologie des MC ist sehr komplex und bis heute nicht komplett aufgeklärt. Zum momentanen Zeitpunkt geht man von drei interagierenden Elementen aus: Prädisponierende genetische Faktoren, die intestinale mikrobielle Flora und eine immunmedierte Gewebeschädigung.

Lange deuteten klinische Beobachtungen, wie die familiäre Häufung der Erkrankung, auf eine Erbkrankheit hin (BINDER, 1998). Der erste prädisponierende Locus, der 1996 identifiziert werden konnte, ist an der perizentrometrischen Region des Chromosoms 16 gelegen und wurde folglich als „IBD 1 locus“ (Inflammatory Bowel Disease) bezeichnet (HUGOT et al., 1996). Anschließend konnte in mehreren Studien eine Assoziation zwischen einer Mutation des in dieser Region gelegenen „nucleotide-binding oligomerization-domain 2“ (NOD2)-Genes und MC belegt werden (HAMPE et al., 2001; HUGOT et al., 2001; OGURA et al., 2001). Eine Rastermutation, welche durch eine Cytosinininsertion in das im Exon 11 gelegene Nucleotid 3020 verursacht wird (*>3020insC*), bewirkt die Codierung eines verkürzten NOD2-Proteins. Im Gegensatz zum ursprünglichen NOD2-Protein mit 1040 Aminosäuren besteht das vom mutierten NOD2-Gen codierte Protein nur aus 1007 Aminosäuren (OGURA et al., 2001). Dieses NOD2-Protein wird unter anderem von Makrophagen exprimiert. Es erkennt Bestandteile intrazellulärer Bakterien, v. a. Muramyl-dipeptidkomponenten von Peptidoglykanen, und aktiviert dann den Transkriptionsfaktor „nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells“ (NF- $\kappa$ B). Die Aktivierung von NF- $\kappa$ B gilt als ein Schlüsselmoment in der Initiierung der entzündlichen Immunantwort (VAN HEEL et al., 2001; MAHIDA & ROLFE, 2004). Das verkürzte NOD2-Protein erreicht eine deutlich verminderte NF- $\kappa$ B-Aktivierung (OGURA et al., 2001).

Allerdings zeigte sich auch, dass die Mutation des NOD2 Genes zwar mit MC korreliert, allerdings nicht alle Erkrankten diese Mutation aufweisen. Folglich lag es nahe, nach weiteren veränderten Genloci zu suchen. Im Jahre 2008 konnte man bereits über 30 voneinander unabhängige, aber eindeutig mit MC assoziierte Loci (BARRETT et al., 2008).

### 2.1.2.3 Pathologie

Nach der heutigen Kenntnislage spricht viel dafür, dass eine gestörte Balance zwischen der Wirtsabwehr der Darmschleimhaut und den kommensalen Darmbakterien eine zentrale Rolle bei der Auslösung und Pathogenese der CED spielt. Die Bewahrung einer intakten Schleimhautbarriere ist eine der essentiellen Funktionen der Mucosa. Interessanterweise besitzen Verwandte ersten Grades von MC-Patienten häufig eine erhöhte Permeabilität der

Schleimhautbarriere, was das Eindringen von Makromolekülen und intakten Bakterien erleichtert (FRIES et al., 2005; XAVIER & PODOLSKY, 2007). Die Funktion der *epithelialen tight junctions* ist durch Zytokine (TNF- $\alpha$ , IL-17, Interferon- $\gamma$  (INF- $\gamma$ )), Chemokinen und die zugrunde liegende Immunzellantwort reguliert (XAVIER & PODOLSKY, 2007).

Spezialisierte epitheliale M-Zellen nehmen Antigene aus der enterischen Mikroumgebung auf und übergeben sie mit Hilfe von Antigen-präsentierenden-Zellen, wie z. B. dendritischen Zellen und Makrophagen, dem Immunsystem. Die darauf folgende Zytokinantwort ist nicht nur speziesabhängig, sondern wird auch durch genetische und Umweltfaktoren sowie durch die Bakterienflora beeinflusst (SHANAHAN, 2002).

In den intestinalen Epithelzellen, Paneth-Zellen und Antigen-präsentierenden Zellen werden mit Hilfe der „leucine-rich-repeat“ (LRR) -Domänen von NOD2 bakterielle Peptidoglykane (v. a. Muramyl-dipeptide) erkannt, was zur Aktivierung von NF- $\kappa$ B führt. In den, an der Basis der Darmkrypten gelegenen, Paneth-Zellen bewirkt dies eine Induktion von antimikrobiellen Peptiden, einschließlich der  $\alpha$ -Defensine. Einige Beobachtungen sprechen dafür, dass eine Reduktion der  $\alpha$ -Defensine maßgeblich an der Pathogenese des MC bei Patienten mit mutiertem NOD2 beteiligt ist.

In den Antigen-präsentierenden Zellen ist die NOD2-Signalübertragung durch Signaleingaben von Toll-like Rezeptoren (TLR) moduliert und reguliert die proinflammatorische Zytokinproduktion. Der Einsatz der TLR, getriggert durch mikrobielle Peptide, aktiviert eine Signalkaskade, die zur Induktion von Genen führt, die ebenfalls bei der antimikrobiellen Abwehr beteiligt sind. Neben der Mutation des NOD2-Genes konnten auch Veränderungen in den TLRs mit einem erhöhten MC-Risiko in Verbindung gebracht werden (XAVIER & PODOLSKY, 2007).

Die, durch das mikrobielle Erfassungssystem induzierte, muköse Immunantwort aktiviert dann das adaptive Immunsystem. Bei einem genetisch prädisponierten Wirt durchbrechen sowohl pathogene Bakterien als auch kommensale Darmbakterien die epitheliale Barriere und leiten die Anwerbung und Aktivierung des angeborenen Immunsystems und der CD4<sup>+</sup>T-Zellen ein. Die Balance zwischen Effektor-T-Zellen ( $T_{\text{eff}}$ ) und regulatorischen T-Zellen ( $T_{\text{reg}}$ ) bestimmt die intestinale Immunität und Entzündlichkeit. In der intestinalen Schleimhaut kommen  $T_{\text{H}1}$ ,  $T_{\text{H}2}$ ,  $T_{\text{H}17}$  und  $T_{\text{reg}}$ -Zellen vor. Ihre Differenzierung wird moduliert durch Zytokine, Chemokine, Self-Liganden und mikrobielle Produkte aus dem lokalen und systemischen Milieu. Mikroben stimulieren die Produktion von INF- $\gamma$  und IL-12p40, was die vermehrte Entwicklung von  $T_{\text{H}1}$ -Zellen zur Folge hat. Aus diesem Grund

weist MC ein T<sub>H</sub>1-Profil auf. Daneben spielt eine weitere CD4<sup>+</sup>-T-Zelllinie eine entscheidende Rolle, nämlich T<sub>H</sub>17. Diese Zellen sind charakterisiert durch die Produktion von IL-17. Dessen Produktion wird durch IL-23 stimuliert und durch Transkriptionsfaktoren supprimiert. IL-17 wird für die T<sub>H</sub>1 und T<sub>H</sub>2-Zellen benötigt. IL-23 ist damit essentiell für die Entstehung von MC. Es wird hauptsächlich von aktivierten dendritischen Zellen und phagozytotischen Zellen produziert. Neben dem positiven Einfluss auf die Entwicklung der T<sub>H</sub>17-Zellen, induziert IL-23 auch die Sekretion von IL-17 bei anderen Zellen wie Monozyten und beide, sowohl T-Zellen als auch Monozyten, zeigen eine erhöhte Expression in der Schleimhaut von CED-Patienten. Neueren Vermutungen zufolge veranlasst IL-17 die Freisetzung von antimikrobiellen Peptiden und reguliert vielleicht auch die Tight-junction-Barriere Formation (XAVIER & PODOLSKY, 2007).

Die erhöhte Expression der T<sub>H</sub>1-Zytokine, wie IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$ , löst die Aktivierung und Freisetzung von Matrix Metalloproteasen aus. Diese zerstören das stromale Gewebe. Zusätzlich wird, wie bereits oben erwähnt, die epitheliale Barrierefunktion durch Zytokine verändert, was eine Ansammlung von Neutrophilen aus der Zirkulation zur Folge hat. Dadurch wird der lokale Gewebeschaden verstärkt und dehnt sich transepithelial aus, was wiederum die Permeabilität erhöht und das Eindringen von Bakterien aus dem Lumen erleichtert (SHANAHAN, 2002).

Ein weiterer bedeutender Faktor bei der Entwicklung von CED ist die Autophagie der Zellen. Autophagozytose ist eine Zellfunktion, mit der die Zelle eigene Bestandteile oder auch fremde Moleküle, welche sich in der Zelle anhäufen, abbauen kann. Autophagie schützt Säugetierzellen vor verschiedenen endogenen und exogenen Belastungen, wie beispielsweise bakteriellen Pathogenen oder zytotoxischen Effekten bakterieller Toxine. Sie ist der primäre Versuch des Organismus die zelluläre Homeostase wieder herzustellen. Stressfaktoren, welche eine Autophagozytose hervorrufen können, sind z. B. intrazelluläre Pathogene, Ischämie, Hypoxie, Zytokinimbalance oder Nährstoffmangel. Mit Hilfe der Autophagozytose werden intrazelluläre Pathogene aufgeteilt und eliminiert, geschädigte Zellbestandteile entfernt, Antigene für die Antigen-Präsentation aufbereitet, die angeborene Immunantwort verbessert und das Verhältnis der Epithelial- und Immunzellen kontrolliert. Wenn die Kapazität der Autophagie überschritten wird, schließt sich als zweiter Schritt die zelluläre Apoptose an (XAVIER & PODOLSKY, 2007). Studien haben vor kurzem gezeigt, dass zwei Autophagozytose-assoziierte Gene (ATG16L1 und IRGM), deren Rolle für die antibakterielle Autophagozytose bekannt ist, mit einem erhöhten Risiko für MC in Verbindung stehen. Das Gen ATG16L wird unter anderem vorrangig im intestinalen Epi-

thel exprimiert und ist bei der Wirtsantwort auf intrazelluläre Bakterien beteiligt. Somit scheint eine veränderte Phagozytose ursächlich an der Entstehung des MC beteiligt zu sein (KUBALLA et al., 2008; XAVIER & PODOLSKY, 2007).

Bei MC-Kranken setzen aktivierte Makrophagen IL-6 frei, dadurch werden antiapoptotische Gene innerhalb intestinalen T-Zellen exprimiert. Daher sind die mukösen T-Zellen resistent gegenüber Apoptose und akkumulieren. Dies wirkt wiederum proinflammatorisch und unterhält die bereits bestehende Entzündung (SHANAHAN, 2002)

#### **2.1.2.4 Klinik**

Das klinische Bild des MC ist sehr heterogen. Sehr häufig tritt die klassische Symptomtrias, bestehend aus chronischen Durchfällen, Bauchschmerzen und Gewichtsverlust, auf. Als chronischer Durchfall ist hierbei ein länger als sechs Wochen andauernder Durchfall definiert. Bei den betroffenen Kindern leidet nur etwa ein Viertel an diesen typischen Symptomen. Dafür treten bei pädiatrischen Patienten häufig Wachstumsstörungen auf (HOFFMANN et al., 2008). Bei knapp der Hälfte der Erkrankten kann Blut oder Schleim im Stuhl gesehen werden (STANGE et al., 2006). Meist fühlen sich die Patienten allgemein unwohl, sind anorektisch und haben häufig Fieber. In der Folge des Krankheitsverlaufes können zahlreiche Komplikation, wie z. B. intestinale Obstruktionen, Abszesse und Fisteln entstehen (CARTER et al., 2004). Extraintestinale Manifestationen (periphere und axiale Arthritis, Osteoporose, Erythema nodosum, Pyoderma gangraenosum, Episkleritis, Uveitis) treten bei ungefähr 30 % aller MC-Kranken auf (HOFFMANN et al., 2008).

#### **2.1.2.5 Diagnose**

Die Diagnose des MC setzt sich aus einer sehr ausführlichen Anamnese (inklusive einer Reiseanamnese, einer Befragung über Nahrungsmittelunverträglichkeiten, über Kontakt mit infektiösen Durchfallerregern, über extraintestinalen Manifestationen, einer Medikamenten-, Raucher-, Familienanamnese), der klinischen Symptomatik und einer Kombination aus biochemischen, sonographischen, endoskopischen, histologischen und radiologischen Befunden zusammen.

Nach der Aufnahme der kompletten Krankheitsgeschichte und einer Untersuchung erfolgt die initiale Laboruntersuchung. Dabei sollten das Blutbild und die Biochemie auf Zeichen einer chronischen und / oder akuten Entzündung, einer Anämie, eines Flüssigkeitsdefizites und einer Malabsorption geprüft werden. Die häufigste Veränderung im Blutbild der Erkrankten sind eine Anämie und eine Thrombozytose. Die Erhöhung des C-reaktiven Proteins in der Biochemie ist zwar nicht spezifisch für MC, korreliert aber annäherungsweise

mit der Krankheitsaktivität und ist daher gut für Verlaufskontrollen geeignet.

Bei einer Erstdiagnose sollte zudem eine Stuhlkultur angelegt werden, um selbstlimitierende Infektionen auszuschließen. Zur Etablierung der Verdachtsdiagnose MC sollte sich ein transabdominaler Ultraschall anschließen. Bei einem erfahrenen Untersucher ist dies eine sehr gute Screeninguntersuchung, um entzündete Darmsegmente zu identifizieren. Bei der erweiterten Dünndarmdiagnostik empfiehlt es sich, zusätzlich zu einer abdominalen Ultraschalluntersuchung eine Doppelkontrastuntersuchung durchzuführen. Endoskopisch nicht erreichbare Dünndarmabschnitte können mit einer MRT-Untersuchung mit oraler Kontrastierung dargestellt werden (HOFFMANN et al., 2008). MRT- und CT-Enterographie sind die beiden erfolgreichsten bildgebenden Untersuchungstechniken zur Darstellung der involvierten Darmsegmente. Außerdem können mit diesen beiden Methoden extramurale Komplikationen wie Fistelgänge oder Abszesse entdeckt werden. Auf Grund der fehlenden Strahlenbelastung sollte, wenn möglich, die MRT-Enterographie bevorzugt werden (VAN ASSCHE et al., 2010).

Die spezifische Diagnostik erfolgt letztendlich durch eine Ileokoloskopie mit Biopsieentnahme aus dem terminalen Ileum und jedem Dickdarmsegment. Für MC charakteristische, makroskopisch wahrnehmbare Veränderungen sind ein diskontinuierliches Befallsmuster, Analbefall, tiefe, longitudinale Ulzera und ein „kopfsteinpflasterartiges“ Bild. Bei der Erstdiagnose sollte zusätzlich eine Ösophago-Gastro-Duodenoskopie mit Biopsie gemacht werden, um das komplette Ausmaß der Erkrankung erfassen zu können.

Die Diagnose erhärtende histopathologische Befunde sind

- diskontinuierliche Störung der Krypten- / Villusarchitektur, Kryptenatrophie
- fokale Entzündungen mit einem lympho- und plasmazytären Infiltrat
- Plasmazytose im basalen Schleimhautstroma
- epitheloidzellige Granulome
- Panethzell-Metaplasien distal der rechten Kolonflexur
- fokale Reduktion des Muzingehaltes und / oder Anzahl der Becherzellen
- Präservierung von Muzin im Randbereich von Ulzerationen und Erosionen.

Die Kapselendoskopie ist sehr sensitiv für Dünndarmläsionen. Um eine Kapselretention zu vermeiden, darf sie allerdings ausschließlich bei Patienten angewendet werden, bei denen Strikturen und Stenosen bereits ausgeschlossen werden konnten. Da bei dieser Art der endoskopischen Untersuchung keine histologischen Proben gewonnen werden können, kann folglich keine endgültige histopathologische Befundung der Schleimhautveränderungen

erfolgen (HOFFMANN et al., 2008). Die Videokapselendoskopie sollte daher für Patienten mit einem starken klinischen Crohn-Verdacht, aber ergebnisloser Ileokolonoskopie reserviert bleiben (VAN ASSCHE et al., 2010).

### **2.1.2.6 Therapie**

Die Planung der Therapie ist entscheidend von der Lokalisation der Entzündung, dem Schweregrad und dem Verlauf der Erkrankung abhängig. Bei Patienten mit geringer Krankheitsaktivität gilt Budesonid als Mittel der Wahl. Bei etwa 60 % der Erkrankten kann so innerhalb von acht bis zehn Wochen eine Remission erreicht werden. Obwohl Prednisolon insgesamt wirksamer ist, sollte in diesen Fällen Budesonid vorgezogen werden, da damit weniger Nebenwirkungen zu verzeichnen sind. Gemäß der Leitlinien „Diagnostik und Therapie des Morbus Crohns“ von 2008 sollten Patienten mit geringen Beschwerden zunächst nur symptomatisch mit Analgetika, Spasmolytika und niedrig dosierten Antidiarrhoeika behandelt werden. Patienten mit mäßiger Krankheitsaktivität sollten initial mit systemischen Kortikosteroiden behandelt werden. Durch eine Prednisolonbehandlung kann bei über 90 % der Betroffenen innerhalb von sechs Wochen eine Remission erreicht werden. Auf Grund mangelnder remissionserhaltender Wirkung und des hohen Nebenwirkungspotentials sind Kortikosteroide nicht zur Remissionserhaltung geeignet. Eine gute Option für eine längerfristige Therapie ist eine Kombination aus einem Immunsuppressivum wie Azathioprin oder 6-Mercaptopurin oder -bei Unverträglichkeit- Methotrexat gemeinsam mit Steroiden. Sobald eine Remission erreicht ist, können die Steroide ausgeschlichen werden. Das Azathioprin bzw. 6-Mercaptopurin sollte anschließend noch für mindestens vier Jahre weitergegeben werden. Bei steroidrefraktärem Verlauf oder wenn Kontraindikationen gegen die Einnahme von Steroiden sprechen, ist, nach Ausschluss chirurgischer Therapieoptionen, die Anwendung des anti-TNF- $\alpha$ -Antikörper eine gute Alternative.

Bei Personen, die ein Rezidiv erlitten haben, kann der anti-TNF- $\alpha$ -Antikörper alleine oder in Kombination mit einem Immunsuppressivum wie Azathioprin eingesetzt werden. Patienten, welche nur selten unter Rückfällen leiden, können erneut mit Steroiden in Kombination mit einem Immunsuppressivum behandelt werden.

Bei einer lokalisierten Form des MC sollte man zudem immer auch chirurgische Therapiemöglichkeiten in Erwägung ziehen. Zusätzliche antibiotische Therapien führen nicht zum Erlangen einer Remission, müssen aber bei Verdacht auf infektiöse Komplikationen auf jeden Fall verabreicht werden (HOFFMANN et al., 2008; DIGNASS et al., 2010).

## 2.2 Helminthen

Der Begriff „Helminthen“ ist eine Sammelbezeichnung für endoparasitär lebende, mehrzellige Organismen aus den Stämmen Platyhelminthia (Plattwürmer), Nematoda (Rundwürmer) und Acanthocephala (Kratzer). Eine durch Helminthen hervorgerufene Infektion wird als Helminthose bezeichnet.

Die in dieser Studie verwendete Wurmspezies *Trichuris suis* gehört zum Stamm der Nematoden. Nematoden sind langgestreckte, spindel-oder fadenförmige, bilateral symmetrische Würmer (ECKERT et al., 2008).

### 2.1.3 *Trichuris suis*

*Trichuris suis* (Schweinepeitschenwurm) (*T. suis*) ist ein weltweit verbreiteter und streng wirtsspezifischer Parasit, er infiziert neben Haus- auch Wildschweine. Es erfolgt eine orale Infektion durch die Aufnahme larvenhaltiger Eier aus feuchter Umgebung (z. B. an Tränkeplätzen) (ECKERT et al., 2008). Alle *Trichuris*-Arten vermehren sich innerhalb eines monoxenen Entwicklungszyklus, daher ist eine direkte Übertragung von Tier zu Tier möglich. Eine besondere Gefährdung besteht für Absatzferkel im Alter von zwei bis sechs Monaten. Da *Trichuris* eine ausgeprägte Resistenz gegen Reinfektionen induziert, weisen ältere Tieren meist eine Altersresistenz auf (ROMMEL et al., 2006).

Die infektiöse *T. suis*-Larve L1 dringt über die Lieberkühnschen Drüsen in die Mukosa des Dickdarmes ein. Nach etwa zwei Wochen häutet sie sich und entwickelt sich zu L2. Anschließend wandert die Larve an die Oberfläche der Mukosa zurück und häutet sich noch dreimal. Der adulte Wurm verbleibt noch vier bis fünf Monate im Dickdarm, wo er sich auch weiter fortpflanzt. Die mit dem Schweinekot ausgeschiedenen Wurmeier benötigen mindestens zwei bis drei Monate, bis sie sich in der Umwelt zu L1 entwickelt haben. In feuchter Umgebung können die Eier bis zu sechs Jahre überleben (ECKERT et al., 2008).

Pro Tag saugt ein einzelner Wurm nur etwa 5 µl Blut, allerdings können die so entstandenen Schleimhauterosionen zu stärkeren Blutverlusten führen (ROMMEL et al., 2006). Die mit einer Tunnelbildung in der Epithelschicht der Mukosa einhergehende Verankerung der Parasiten und von ihnen abgesonderte Sekrete können zu einer subakuten, katarrhalischen Entzündung des Dickdarmes mit vermehrter Exsudatbildung, petechialen Blutungen, kleinen Nekrosen, Hyperämie und Ödemen führen. Bei experimentell induziertem Massenbefall von Schweinen mit *T. suis* werden als klinische Symptome blutig-wässriger Durchfall, Hypalbuminämie und Entwicklungsstörungen beobachtet. Natürlicher Wurmbefall bleibt



dagegen meist nur geringgradig und ohne klinische Auswirkungen.

Die Diagnose eines *Trichuris*-Befalls erfolgt über den koproskopischen Nachweis der bräunlichen, zitronenförmigen Eier mit ihren zwei Polpfröpfen mittels Flotationsverfahren. Makroskopisch sind bei einer Sektion die adulten Würmer an der Caecum- und Colon-schleimhaut sichtbar. Infizierte Schweine können mit Flubendazol, Febantel, Fenbendazol oder Moxidectin behandelt werden (ECKERT et al., 2008).

#### **2.1.4 Immunmodulation durch Helminthen**

Helminthen parasitieren seit Jahrtausenden bei Mensch und Tier. Sie mussten sich ständig dem Immunsystem ihres Wirtes anpassen und durchliefen so eine Koevolution. Die Immunmodulation des Wirtes ist essentiell für das Überleben der Parasiten. Dabei müssen sie eine feine Balance bewahren, um ihren Wirt und damit ihre eigene Lebensgrundlage nicht zu vernichten.

Die Vorgehensweise der Helminthen kann hierbei in zwei verschiedene Mechanismen unterteilt werden: Die Induktion immunmodulierender Zelltypen und die Produktion von immunmodulatorischen Molekülen, welche an zentralen Stellen des Immunsystems des Wirtes eingreifen (ELSE, 2005). So stimulieren die meisten Helminthen eine verstärkte Produktion von T<sub>H</sub>2-Zytokinen wie Il-4, Il-5, Il-10 und Il-13. Denn vor allem Il-4 und Il-13 sind für die Elimination der Würmer notwendig. Sie erhöhen die intestinale Schleimsekretion und Kontraktilität der Darmmuskulatur, außerdem fördern sie die Flüssigkeitssekretion in das intestinale Lumen (WEINSTOCK et al., 2005). Il-4, Il-13 und Il-10 hemmen die Bildung von T<sub>H</sub>1-Zellen, während INF- $\gamma$  (ein T<sub>H</sub>1-Zytokin) die Entwicklung und Proliferation von T<sub>H</sub>2-Zellen verhindert. T<sub>H</sub>1- und T<sub>H</sub>2-Antworten reagieren somit gegenregulatorisch (ELLIOTT et al., 2005). Im Jahr 2011 konnte erstmals in einem Mausmodell nachgewiesen werden, dass eine Wurminfektion einen direkten Einfluss auf die Umwandlung von T<sub>H</sub>1-Zellen in T<sub>H</sub>2-Zellen hat (PANZER et al., 2012). Bei der Autoimmunerkrankung MC konnte eine erhöhte T<sub>H</sub>1-Antwort nachgewiesen werden (SARTOR, 2006). Die Art und Weise, wie Helminthen die T<sub>H</sub>1-Funktion regulieren, wird durch mehrere Faktoren bedingt. Neben der Beeinflussung der systemischen Immunantwort, verändern Helminthen auch die Immunantwort der Darmschleimhaut. Elliott konnte in einer Studie zeigen, dass die intestinalen mononukleären Zellen der Lamina propria (LMPC) von Mäusen mit *Heligmosomoides polygyrus*-Befall (*H. polygyrus*) weniger Il-12 und IFN- $\gamma$ , dafür jedoch mehr Il-4, Il-13 und Il-10 produzierten als die LPMCs wurmfreier Mäuse. Nach einer Wurminfektion produzieren die LMPCs also immunregulatorische Zytokine wie Il-4, Il-10,

TGF- $\beta$  und PGE<sub>2</sub>. Genau diese Faktoren sind wichtig, um eine gesunde Darmschleimhaut aufrecht zu erhalten (ELLIOTT et al., 2004). Studien zeigten, dass das Ausschalten des Il-10-Genes bei Mäusen zur spontanen Entwicklung einer schweren T<sub>H</sub>1-Typ-Kolitis führte. Das regulatorische Zytokin Il-10 hemmt die Aktivierung von Makrophagen und dendritischen Zellen und unterdrückt aktiv die Produktion der proinflammatorischen Zytokine wie TNF- $\alpha$  oder IL-12 (RENNICK & FORT, 2000). Eine vorherige Besiedelung solcher Mäuse mit Helminthen (*Trichuris muris* (*T. muris*) oder *H. polygyrus*) konnte die Kolitis reduzieren. Zusätzlich konnte in dem gleichen Model auch bewiesen werden, dass sich selbst eine bestehende Kolitis durch die Gabe von *H. polygyrus* besserte (ELLIOTT et al., 2000). Transgene Mäuse mit einer T-Zell-selektiven Blockade in der TGF- $\beta$ -Signalübertragung entwickeln ebenfalls eine Kolitis (GORELIK & FLAVELL, 2000). TGF- $\beta$  verhindert, dass naive T-Zellen Transkriptionsfaktoren exprimieren, die ihre Entwicklung in T<sub>eff</sub> (T<sub>H</sub>1, T<sub>H</sub>2) vorantreiben. Stattdessen stimuliert TGF- $\beta$  die T-Zellen zur Expression des Transkriptionsfaktors Forkhead-Box-Protein P3 (Foxp3). Dieser wiederum unterstützt ihre Entwicklung in T<sub>reg</sub> (CHEN et al., 2003).

Nach der Infektion mit Helminthen treten vermehrt Il-10 und TGF- $\beta$ -produzierende T-Zellen in der Darmschleimhaut auf, was nahelegt, dass die Würmer T<sub>reg</sub> induzieren, welche den T<sub>H</sub>1-Weg limitieren (WEINSTOCK & ELLIOTT, 2009). TGF- $\beta$ -Singalrezeptoren befinden sich auf der Oberfläche von CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>-T<sub>reg</sub>. In-vivo konnte nachgewiesen werden, dass TGF- $\beta$  ein Auslöser für die Bildung von CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T<sub>reg</sub> ist (MARIE et al., 2005). Da Helminthen sowohl die Produktion von TGF- $\beta$  erhöhen als auch die TGF- $\beta$ -Signalübertragung unterstützen, könnte dies einer der Hauptmechanismen der Beeinflussung der T<sub>reg</sub>-Zellen-Differenzierung durch Würmer sein (WEINSTOCK et al., 2005).

In einer weiteren Studie konnte nachgewiesen werden, dass Mäuse, welchen der PGE-Rezeptor EP<sub>4</sub> fehlte, anfälliger für eine DSS (Dextran Sulfate Sodium)-induzierte Kolitis waren (KABASHIMA et al., 2002). Man weiß heute, dass PGE<sub>2</sub> die Expression von Il-12 Rezeptoren und die Produktion von Il-12 durch antigen-präsentierende Zellen vermindert, daneben beeinflusst PGE<sub>2</sub> auch die Differenzierung von T<sub>H</sub>1-Zellen negativ. Dies lässt einen wichtigen Einfluss von PGE auf den Schutz der Schleimhaut vermuten (WEINSTOCK et al., 2004).

Durch die vermehrte Freisetzung von T<sub>H</sub>2-Zytokinen fördern Helminthen zusätzlich die Heilung von intestinalen Gewebeschäden. So erhöhen Il-4 und Il-13 die Expression des Trefoil Faktors, der die Schleimhaut vor Schäden schützt und bei der Reparatur der epithelialen Barriere hilft. Auf Grund der geringen epithelialen Heilung bei Trefoil-

defizienten Mäuse verursachte die orale Gabe von DSS eine schwere Kolitis (WEINSTOCK et al., 2005).

Eine andere Strategie der Helminthen ist es, immunmodulatorische Moleküle zu produzieren, die in das Immunsystem des Wirtes eingreifen. Dies kann auf verschiedenen Ebenen erfolgen, von der Störung der Antigen-Präsentation bis zur Beeinflussung polarer T-Zellantworten. Es konnte nachgewiesen werden, dass Parasiten Moleküle produzieren, welche die gleichen Epitope wie das Wirtszytokin INF- $\gamma$  aufweisen und an den INF- $\gamma$ -Rezeptor binden können. Bei der Wurmpezies *T. muris* kurbeln diese INF- $\gamma$ -Homologe eine für den Wirt nicht-protective T<sub>H</sub>1-Antwort an, welche zugleich aber das Überleben des Parasiten begünstigt. Eine andere Methode wird von *Nippostrongylus brasiliensis* (*N. brasiliensis*) angewendet. Dieser sezerniert den platelet-activating factor (PAF)-Acetylhydrolase, welche den PAF des Wirtes inaktiviert und so Entzündungen im Darm abschwächt.

Viele Nematoden können Protease-Inhibitoren abgeben. Bei einer Wurminfektion ist das betroffene Gewebe meist von Mastzellen, Neutrophilen und Makrophagen infiltriert, welche verschieden Serinproteasen freisetzen. Hier können die Parasiten diese wertvollen Mediatoren schnell ausschalten. Solche Protease-Inhibitoren wurden beispielsweise bei *T. suis*, *Ascaris spp.* und *Ancylostoma ceylanicum* nachgewiesen.

Manche Helminthen haben zudem die Fähigkeit die Antigen-Präsentation zu modulieren. Bei der Bearbeitung der Parasitenantigene durch antigen-präsentierende Zelle und ihrer Präsentation gegenüber T-Zellen wird Cysteinprotease benötigt. *N. brasiliensis* kann an dieser Stelle Cystatin abgeben, das als Cysteinprotease-Inhibitor den Ablauf der Antigenpräsentation unterbricht (ELSE, 2005).

Erstaunlicherweise scheinen Helminthen aber nicht nur auf Erkrankungen, denen eine erhöhte T<sub>H</sub>1-Antwort zugrunde liegt wie CED, Multipler Sklerose oder Typ-1 Diabetes einen positiven Effekt zu haben. Auch bei Allergien, die mit einer verstärkten T<sub>H</sub>2-Aktivität einhergehen, konnte eine negative Korrelation mit Helminthenbefall gesehen werden. Eine Studie bei gabunischen Schulkindern belegte, dass wiederholte anthelminthische Behandlungen bei chronisch-wurminfizierten Kindern zu einer Erhöhung der allergischen Sensibilität gegenüber Hausstaubmilben führte (VAN DEN BIGGELAAR et al., 2004b). Es konnte nachgewiesen werden, dass die Erhöhung antiinflammatorischer und immunsuppressiver Zytokine (z. B. IL-10), wie sie bei chronischen Wurminfektionen auftritt, ebenfalls vor Allergien zu schützen vermag (YAZDANBAKHSI et al., 2002).

### 2.1.5 Studien mit Helminthen beim Menschen

Der Gedanke, immunmedierte Erkrankungen mit Hilfe von Helminthen zu therapieren, basiert auf der Ende der 1980er Jahren von Strachan entwickelten „Hygiene-Hypothese“. Er beobachtete anhand von mehr als 17000 britischen Kindern eine negative Korrelation zwischen dem Auftreten von Heuschnupfen und der Anzahl an älteren Geschwistern (STRACHAN, 1989). Die Hygiene-Hypothese sagt aus, dass sich das Aufwachsen von Kindern in einer sehr hygienischen Umwelt negativ auf die Entwicklung ihres Immunsystems auswirkt und sie für immunmedierte Erkrankungen anfälliger macht. Die Hypothese basiert auf zahlreichen epidemiologischen Daten, unter anderem auf Migrationsstudien. In Entwicklungsländern ohne gute Gesundheitsversorgung leiden auch heute noch viele Menschen an chronischen Parasiteninfektionen. Allerdings ist in diesen Ländern die Inzidenz von allergischen Erkrankungen niedrig. Im Gegensatz dazu nahmen allergische und auto-immune Erkrankungen in hochentwickelten Industrienationen im Laufe der letzten hundert Jahre stark zu. So hat sich die Prävalenz der atopischen Dermatitis in Industrieländern innerhalb der letzten 30 Jahre verdoppelt bis verdreifacht. Ebenso konnte eine stetige Zunahme von CED verzeichnet werden. Migrationsstudien haben gezeigt, dass Nachkommen von Immigranten aus Ländern mit einer niedrigen Inzidenz für Typ-1 Diabetes und Multipler Sklerose (MS) bereits in der ersten Generation genauso häufig betroffen sind, wie es der Inzidenz des Gastlandes entspricht. Studien mit anthelminthischen Therapien in Venezuela, Gabun und Vietnam wiesen eine anschließende Zunahme atopischer Hautsensibilisierung nach (OKADA et al., 2010). Eine andere Studie mit MS-Patienten erbrachte ebenfalls erstaunliche Ergebnisse: Patienten, die sich während ihres Krankheitsverlaufes mit Würmern infizierten, erlitten weniger Krankheitsschübe. Daneben konnten mit Hilfe von MRT-Untersuchungen auch gezeigt werden, dass die mit Parasiten infizierten MS-Patienten weniger neue Gehirnschäden entwickelten als die nichtinfizierte MS-Kontrollgruppe (CORREALE & FAREZ, 2007). Summers, Elliott und Weinstock untersuchten 2003 in einem ersten Open-label-Versuch den Effekt einer *T. suis*-Besiedelung bei vier MC-Patienten und drei CU-Patienten. Das Ziel dieser Studie war es, die Sicherheit oraler *T. suis*-Eier (TSE)-Gaben bei CED-Patienten und ihre Effektivität zu prüfen. Dazu bekamen alle Patienten zunächst einmalig 2500 TSE und wurden anschließend über zwölf Wochen beobachtet. Während dieses Zeitraumes verbesserten sich bei allen Patienten die klinischen Symptome, ohne, dass Auffälligkeiten bei den klinischen Kontrollen oder den Laboruntersuchungen zu verzeichnen gewesen wären. Da die Besserung allerdings nur vorübergehend war, bekamen einige der Teilnehmer eine Erhaltungstherapie mit 2500 TSE alle drei Wochen, womit die Remission verlängert werden konnte. Auch bei Patienten,

welche die Therapie langfristig erhielten, traten keine Nebenwirkungen auf (SUMMERS et al., 2003). Auf Grund dieser positiven Ergebnisse schlossen die drei Forscher zwei Jahre später eine weitere Studie an, in der 29 MC-Patienten über insgesamt 24 Wochen ebenfalls alle drei Wochen 2500 TSE einnahmen. Am Ende der Studie hatten über 79 % der Teilnehmer auf die Therapie angesprochen, 72 % kamen damit sogar in Remission. Auch in dieser Studie traten keine Komplikationen auf (SUMMERS et al., 2005a). Die gleiche Forschergruppe schloss kurz darauf eine erste doppelblinde, Placebo-kontrollierte Studie an, in der 54 Patienten mit aktiver CU für zwölf Wochen alle 14 Tage entweder 2500 TSE oder ein Placebo-Medikament bekamen. Hierbei zeigte sich, dass Patienten, die TSE erhielten eine signifikante Verbesserung der klinischen Symptome (50 %) im Vergleich zur Placebo-Gruppe (15,8 %) erreichten. Die Wurmeier führten bei diesen 54 hauptsächlich therapieresistenten CU-Patienten zu keinen Nebenwirkungen. In einem anderen Versuch bekamen neun MC-Patienten den Hakenwurm *Necator americanus* (*N.americanus*) verabreicht. Zwei Patienten wiesen einen moderaten Krankheitsverlauf auf und sprachen auf die Therapie an. Die übrigen sieben Teilnehmer litten entweder unter inaktivem oder mildem MC und zeigten keinerlei Verbesserung nach Einnahme der Wurmlarven (CROESE et al., 2006). Im Herbst 2010 startete deutschlandweit die erste doppelblinde, randomisierte, Placebo-kontrollierte, multizentrische Studie zur Untersuchung der Wirksamkeit und Sicherheit von drei unterschiedlichen Dosierungen oral einzunehmender TSE-Suspension bei aktivem MC. Die Ergebnisse dieser Studie sind bisher noch nicht veröffentlicht.

### **2.1.6 Studien mit Helminthen beim Hund**

In der Medizinischen Kleintierklinik der Ludwig-Maximilians-Universität (LMU) München wurden bereits zwei Studien über die immunmodulatorische Wirkung von Helminthen bei Hunden durchgeführt. In beiden Fällen wurde die therapeutische Wirksamkeit von Helminthen bei der caninen atopischen Dermatitis (CAD) überprüft.

In einer ersten Pilotstudie von Helmer 2008 sollte zum einen der Einfluss von Helminthen auf die klinische Symptomatik der CAD und zum anderen die optimale Dosierung in Vorbereitung auf eine folgende, größere Placebo-kontrollierte Doppelblindstudie überprüft werden. Der Studienaufbau bestand aus vier Gruppen à drei Hunden. Zwei Gruppen bekamen zu Beginn der Studie einmalig 500 bzw. 2500 embryonierte Eier der *Trichuris* - Gattung *Trichuris vulpis*. (*T. vulpis*) Den beiden anderen Gruppen wurden hingegen einmalig 500 bzw. 2500 Eier des Wurmes *Uncinaria stenocephala* (*U. stenocephala*) verabreicht. Da es bei dieser Helminthengattung allerdings zu starken Nebenwirkungen wie Erbrechen und Durchfall kam, erhielten die jeweils letzten Hunde der beiden Gruppen nur

noch eine Dosis von 100 Eiern. Die Entwicklung der klinischen Symptomatik wurde mittels eines validierten Punktesystems zur Bestimmung der Verteilung und des Schweregrades der Hautläsionen bei CAD, dem sogenannten „Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index“ (CADESI), einer visuellen Analogskala zur Beurteilung des Juckreizes, und einer subjektiven Einschätzung des Hautzustandes durch die Besitzer zu Beginn und am Ende der Studie bewertet. Daneben wurden bei Eintritt in die Studie und am Ende Hautbiopsien von den Hunden genommen, um Konzentrationsveränderungen der Zytokinen IL-4, IL-10, INF- $\gamma$  und TGF- $\beta$  messen zu können. In den gefärbten Biopsiepräparaten wurden außerdem Mastzellen, Eosinophile, Neutrophile und Lymphozyten gezählt. Allerdings konnte sowohl bei der Zytokinexpression als auch bei den bestimmten zellulären Entzündungsinfiltraten keine signifikanten Veränderungen nachgewiesen werden. Erstaunlicherweise zeigte die Gesamtwertung der CADESI-Ergebnisse und der Juckreizskala eine signifikante Reduzierung der klinischen Symptome. Bei einzelner Betrachtung der Wurmartarten konnte aber (auf Grund der niedrigen Hundezahl pro Gruppe) nur ein signifikanter Rückgang der CADESI-Werte verzeichnet werden. Am Ende der Studie wurde der Kot aller Hunde auf Parasiten untersucht. Alle Hunde der beiden *Uncinaria*-Gruppen wiesen Parasitenstadien im Kot auf. Bei den Hunden, welche *Trichuris* erhalten hatten, konnten hingegen keine Endoparasiten im Kot gefunden werden (MUELLER et al., 2011).

Zur Überprüfung der damit vorliegenden Ergebnisse folgte eine doppelt-geblindete, Placebo-kontrollierte Studie mit 21 nicht-saisonal atopischen Hunden. Die beiden randomisierten Gruppen erhielten dreimal im monatlichen Abstand entweder 2500 embryonierte *T. vulpis*-Eier oder die Placebo-Lösung oral eingegeben. Wie bei der vorhergegangenen Studie wurde die Veränderung der klinischen Symptomatik mittels Bestimmung des CADESI-Wertes durch einen Dermatologen und der individuellen Einschätzung des Juckreizes durch den Besitzer anhand der visuell analogen Juckreizskala beurteilt. Zusätzlich wurde den Hunden am ersten und am letzten Tag der Studienteilnahme Blut zu Bestimmung der allergen-spezifischen Immunglobulin E (IgE)-Konzentrationen genommen. In dieser Studie zeigte sich kein signifikanter Unterschied der CADESI- und Juckreizwerte zwischen den beiden Behandlungsgruppen. Auch die allergen-spezifischen IgE-Werte ergaben keinen signifikanten Unterschied zwischen der Helminthen- und der Placebo-Gruppe (SPECHT, 2011). Somit widerlegte diese zweite randomisierte, doppelt-geblindete, Placebo-kontrollierte Studie die hoffnungsvollen Ergebnisse der ersten, vorangegangenen Studie zu diesem Thema.

### **3. MATERIAL UND METHODEN**

#### **3.1 Material**

Im Folgenden werden alle Materialien aufgeführt und beschrieben, die bei dieser Studie zum Einsatz kamen.

##### **3.1.1 *Trichuris suis***

In dieser Studie wurden die Eier des Wurmes *T. suis* (Schweinepeitschenwurm) verwendet. Der deutsche Name „Peitschenwurm“ leitet sich vom peitschenförmigen Aussehen des bis zu 8 cm großen Wurmes ab. Dieses ergibt sich aus dem fadenförmigen Vorderende des Wurmes, welches etwa zwei Drittel des gesamten Parasiten ausmacht, und dem kürzeren, den Darm und die Geschlechtsorgane beinhaltenden Hinterende. Schweinepeitschenwürmer parasitieren im Dickdarm von Haus- und Wildschweinen.

Für diese Studie wurde die *T. suis*-Spezies gewählt, da sie ausgezeichnete Eigenschaften für den therapeutischen Gebrauch aufweist. Obwohl der Schweinepeitschenwurm genetisch eng mit dem humanen Peitschenwurm *Trichuris trichuris* verwandt ist, kann er sich weder im Menschen noch im Hund zu einem fortpflanzungsfähigen Stadium entwickeln. In experimentellen Studien konnte aber gezeigt werden, dass der Schweinepeitschenwurm schnell den menschlichen Darm besiedelt, ohne dabei Krankheitssymptome hervorzurufen. Die Würmer sterben während des Larvenstadiums im Darm des Fehlwirtes ab und werden nicht-infektiös ausgeschieden. In den Studien Summers traten selbst bei Patienten unter immunsuppressiven Therapien keine Nebenwirkungen auf (SUMMERS et al., 2005b; SUMMERS & THO, 2005).

##### **3.1.2 Hunde**

An dieser Studie nahmen insgesamt zwölf Hunde verschiedener Rassen im Alter zwischen fünf bis dreizehn Jahren aus privatem Besitz teil.

##### **3.1.3 Verwendete Chemikalien und Reagenzien**

Vet-Sept® Spray

A. Albrecht GmbH, Aulendorf

Haema-Schnellfärbelösung

Labor und Technik, Eberhard Lehmann  
GmbH, 14167 Berlin

**Geräte in alphabetischer Reihenfolge**

Gerät	Bezeichnung	Herstellerfirma
Mikroskop	Leica DMLS	Leica Mikroskopie und Systeme GmbH, Wetzlar
Hämologiesystem	XT-2000 IV	Sysmex Deutschland GmbH, 22848 Norderstedt

**Sonstige Verbrauchsmaterialien**

EDTA-Röhrchen 2ml		Fairmed Medizintechnik KG, Rum bei Innsbruck
Einmalkanülen		B.Braun, Meslungen AG
Färbegestelle		VWR International, Darmstadt
Färbetröge		VWR International, Darmstadt
Kotröhrchen		Spicker Laborbedarf GmbH, Schwandorf
Objektträger		Glaswarenfabrik Karl Hecht KG, Sondheim
Parasiten-Diagnose-System		Janssen Animal Health, Janssen-Cilag GmbH, Neuss
Spritze 20,0 ml		Becton Dickinson S. A., Fraga, Spanien
Tesafilm tesa		AG, Hamburg
Verbandsmull		Rauscher, Pattensen
Zellstoff		WDT, Hannover

**3.2 Methoden****3.2.1 Einschlusskriterien für die Hunde**

Insgesamt zwölf Hunde mit klinisch diagnostizierten Perianalfisteln, welche v. a. aus dem Patientenstamm der Medizinischen Kleintierklinik der LMU München stammten, wurden in die Studie aufgenommen. Unmittelbar vor Eintritt in die Studie wurde von jedem Hund eine Sammelkotprobe dreier aufeinanderfolgender Tage auf Endoparasiten untersucht. Nur bei einem negativen Ergebnis der Kotprobe, durfte der Hund an der Studie teilnehmen. Während der Studie durften die Hunde nicht mit Anthelmintika behandelt werden, da bei einer Entwurmung auch die Larven der *T. suis*-Lösung abgetötet werden würden. Eine neben den Perianalfisteln auftretende Pyodermie musste vor Beginn der Studienteilnahme antibiotisch behandelt werden. Zum Zeitpunkt des Studieneintrittes aber durften die Hunde keinerlei antibiotische Therapie erhalten. Die Besitzer wurden darauf hingewiesen, dass während der Studienteilnahme keine Futterumstellung erfolgen durfte. Protopic, Zyklosporin, Prednisolon, lokale Glukokortikoide und Metronidazol waren als Therapien erlaubt, wurden aber protokolliert und bewertet. Hunde, die vorberichtlich an einer chronischen systemischen Erkrankung litten und dafür therapiert wurden, durften in die Studie aufgenommen und (sofern die dafür notwendigen Medikamente mehr als acht Wochen gegeben wurden) weiter behandelt werden, solange die Therapie nicht immunmodulierende Wir-



kung hatte und daher die Klinik der Perianalfisteln beeinflussen konnte (beispielsweise Hunde mit eingestellter Hypothyreose). Die Besitzer mussten vor Eintritt in die Studie eine Einverständniserklärung unterzeichnen, in der sie bestätigten, über den Studienablauf und mögliche Nebenwirkungen aufgeklärt worden zu sein und ihrer Teilnahme an der Studie zustimmen.

### **3.2.2 Ausschlusskriterien für die Hunde**

Hunde, bei denen eine positive Kotprobe vorlag, konnten entweder nicht oder erst nach erfolgreicher Entwurmung an der Studie teilnehmen. Wenn bei einem Hund die Medikation zur Behandlung der Perianalfisteln innerhalb der letzten acht Wochen vor Studienbeginn verändert wurde, konnte dieses Tier nicht aufgenommen werden. Ebenso durften Hunde, die auf Grund einer anderen chronischen Erkrankung immunsupprimierende Medikamente benötigten, nicht in die Studie eintreten. Wurde in den zwölf Wochen vor Studieneintritt mit einer Eliminationsdiät begonnen, galt auch dies als Ausschlusskriterium.

### **3.2.3 Behandlungsgruppen**

Da diese Studie als Pilotstudie durchgeführt wurde, gab es nur eine Behandlungsgruppe, in der alle zwölf teilnehmenden Hunde eingeschlossen waren. Alle Hunde bekamen die gleiche orale *T. suis*-Lösung, in der gleichen Dosierung und im gleichen zeitlichen Intervall verabreicht. Als Dosierung wurden 2500 TSE, gelöst in 15 ml Kochsalzlösung, insgesamt sechsmal im Abstand von jeweils zwei Wochen gegeben.

### **3.2.4 Studienprotokoll**

Beim ersten Besuch, dem Tag 0 der Studie, unterzeichneten die Besitzer eine Einverständniserklärung. Damit bestätigten sie, dass sie über den Ablauf der Studie und die möglichen potentiellen Nebenwirkungen aufgeklärt wurden und zudem bereit waren, die Vorgaben der Studie einzuhalten. Außerdem brachten die Besitzer Sammelkotproben ihrer Hunde der drei vorhergegangenen Tagen mit, welche im Labor auf Endoparasiten untersucht wurden (s. Kotprobenuntersuchung mittels Flotationsverfahren). Die Besitzer wurden gebeten, den Zustand der Läsionen im Perianalbereich mit 1 (mild) bis 7 (schwer) und die Lebensqualität des Hundes ebenfalls mit 1 (wenig eingeschränkt) bis 7 (stark eingeschränkt) nach Mathews zu bewerten (MATHEWS & SUKHIANI, 1997).

Dabei wurden folgende Aspekte beurteilt:

- die Aktivität des Hundes
- die Zuneigung zum Besitzer
- Appetit
- Körpergewicht
- Kot-Konsistenz
- Angemessenheit der Stelle des Kotabsatzes
- Lautgeben während des Kotabsatzes
- Schwierigkeiten beim Kotabsatz
- Kot-Inkontinenz
- Häufigkeit von Lecken, Knabbern, Beißen im Analbereich
- Qualität des Haarkleides
- Lebensqualität

Nach einer klinischen Allgemeinuntersuchung wurde der Hund zusätzlich noch dermatologisch und rektal untersucht. Mittels einer Abklatschzytologie des Perianalbereiches wurde nachgewiesen, dass keine behandlungsbedürftige Pyodermie vorlag. Es erfolgte eine Einteilung des Schweregrades der perianalen Läsionen modifiziert nach Hardie (PATRICELLI et al., 2002). Dafür wurde ein System verwendet, in welchem durch den Untersucher die betroffene Fläche, Tiefe und Anzahl der Fisteln und die rektale Tiefe (verdickte Mukosawände, Strikturen, Analbeutel) beurteilt wurde, indem zunächst die Perianalgegend digital fotografiert und dabei die Größe der Fisteln mit Hilfe eines Lineals festgehalten wurde. Anschließend sondierte der Untersucher die Läsionen mit einer stumpfen Sonde, um Anzahl und Tiefe der Fisteln zu bestimmen. Zuletzt erfolgte eine digitale rektale Palpation zur Kontrolle der Analbeutel und zum Nachweis eventueller analer Strikturen. Die Beurteilung der perianalen Läsionen und die rektale Palpation wurden dabei immer von demselben Tierarzt ausgeführt. Die klinische Punktzahl eines Patienten errechnete sich aus der Fisteltiefe, dem betroffenen Bereiches, evtl. vorhandenen Stenosen des Rektums und der Anzahl der Fisteln.

**Schweregrad der Perianalfisteln (Hardie)**

Geringradig (= 1)	Mittelgradig (= 2)	Hochgradig (= 3)
Oberflächliche Fistel (< 1 cm)	Mitteltiefe Fisteln (1 - 2 cm)	Tiefe Fisteln (> 2 cm)
weniger als 90° des Anus involviert	90 – 180° des Anus invol- viert	mehr als 180° des Anus involviert
Geringe, aber gerade noch palpierbare Narbengewebe und Strikturen	Mittelgradige Stenosen, digitale Palpation möglich	Hochgradige Stenosen, Pal- pation nicht möglich

**Tabelle 1: Läsions-Score**

Hunde, welche bereits wegen Perianalfisteln vorbehandelt in die Studie eintraten, durften ihre Medikation beibehalten. Allerdings wurde sowohl beim ersten Studientermin als auch bei den drei darauffolgenden Kontrollterminen, der Wirkstoff, die Häufigkeit der Verabreichung oder gegebenenfalls die Dosierung des Medikaments folgendermaßen protokolliert und bewertet:

Protopic wurde bei täglicher Gabe mit fünf Punkten, bei seltenerer Gabe mit drei Punkten und bei zweimal täglicher Verabreichung mit zehn Punkten bewertet.

Zyklosporin erhielt bei zweimal wöchentlicher Gabe zehn Punkte, bei Gabe jeden zweiten Tag 15 Punkte und bei täglicher Gabe 20 Punkte.

Metronidazol erzielte zehn Punkte bei einer Gesamtdosis von 20 mg/kg/Tag oder mehr und fünf Punkte bei einer geringeren Gabe.

Prednisolon wurde bei einer Dosis von 1 mg/kg oder mehr mit 20 Punkten berechnet, bei 0.2 - 1 mg/kg/Tag mit 15 Punkten und bei weniger als 0.2 mg/kg/Tag mit zehn Punkten.

Lokales Glukokortikoid täglich wurde mit fünf Punkten gezählt, bei weniger häufiger Gabe mit drei Punkten.

Wenn beim monatlichen Kontrolltermin nach jeweils 30 Tagen, die klinische Punktzahl um 50 % gesunken war, wurde die Medikation dem unten aufgeführten Schema entsprechend reduziert. Dabei wurden zunächst die oralen Medikamente vermindert. Topische

Medikamente sollten erst dann ausgeschlichen werden, wenn die systemischen Gaben komplett abgesetzt waren.

### Reduktionsschema für orale Medikamente

Medikament	Erste Reduktion	Zweite Reduktion
Zyklosporin		
5 mg/kg/Tag	q 48 h	q 72 h
5 mg/kg q 48 h	q 72 h	Ende der Therapie
5 mg/kg q 72 h	Ende der Therapie	
Prednisolon		
1 mg/kg/Tag	0.2 - 1 mg/kg/Tag	0.2 - 1 mg/kg q 48 h
0.2 - 1 mg/kg/Tag	0.2 - 1 mg/kg q 48 h	0.2 - 1 mg/kg q 72 h
bis 0.2 mg/kg/Tag	bis 0.2 mg/kg q 48 h	Ende der Therapie
Metronidazol		
20 mg/kg/Tag	10 mg/kg/Tag	Ende der Therapie
< 20 mg/kg/Tag	Ende der Therapie	

**Tabelle 2: Reduktionsschema der Medikamente**

Von jedem der teilnehmenden Hunde wurden 2 ml Blut genommen (s. Blutprobenentnahme) und zur Bearbeitung ins Labor gegeben (s. Blutprobenbearbeitung). Zuletzt wurde den Hunden die erste Dosis *T. suis*-Lösung oral eingegeben und dabei den Besitzern demonstriert, wie sie dies zuhause durchführen sollten. Den Besitzern wurde eine weitere Gabe des Studienmedikamentes mit der Anweisung, es 14 Tage später zu verabreichen, nach Hause mitgegeben. Außerdem wurden sie darauf hingewiesen, dass die *T. suis*-Lösung weder Temperaturen über 40° C noch unter 4° C ausgesetzt werden darf. Sie wurden deshalb gebeten, die Wurmeier im Kühlschrank bei 4 - 10° C zu lagern.

Nach jeweils einem Monat wurden der erste und der zweite Kontrolltermin durchgeführt, bei welchem die Tiere erneut allgemein, dermatologisch und rektal untersucht wurden. Es erfolgte wiederum eine Einteilung des Schweregrades der perianalen Läsionen und die Protokollierung der verabreichten Medikamente gemäß des oben aufgeführten Medikamenten-Scores. Die Besitzer wurden abermals um die Einschätzung der Lebensqualität

anhand des Fragebogens gebeten. Zudem wurde jedes Mal eine Zytologie des Perianalbereiches genommen, um zu überprüfen, ob eine behandlungsbedürftige, bakterielle Infektion vorlag. Gemeinsam mit den Besitzern wurde ermittelt, ob die angewiesenen Behandlungen zu Hause (Gabe der *T. suis*-Lösung, Reinigen des Perianalbereiches, Gabe der bisherigen Medikamente) dem Protokoll entsprechend durchgeführt wurden. Am Ende der Kontrollbesuche bekamen die Hunde wieder eine Dosis der Studienlösung verabreicht und die Besitzer nahmen ein weiteres Fläschchen mit nach Hause, welches sie 14 Tage später eingeben sollten.

Beim Endbesuch an Tag 90 erfolgten ebenfalls eine allgemeine, eine dermatologische, eine rektale Untersuchung, die Beurteilung der Läsionen und der Lebensqualität und die Aufzeichnung der Medikation. Von allen Hunden wurde am letzten Studientag nochmals 2 ml Blut entnommen.

### **3.2.5 Blutprobenentnahme**

Allen Hunden wurde beim ersten und letzten Studienbesuch, bzw. im Falle eines vorzeitigen Austrittes aus der Studie bereits zu diesem Zeitpunkt 2 ml Blut entnommen. Das Blut wurde bevorzugt aus der *Vena jugularis* der Hunde gewonnen, um die Manipulationszeit am Tier und den damit verbundenen Stress so gering wie möglich zu halten. Wenn dies nicht möglich war, wurde das Blut aus der *Vena cephalica antebracchii* genommen. Das gewonnene Blut wurde in einem EDTA-Blutröhrchen in das Labor gebracht.

### **3.2.6 Orale Eingabe des Medikamentes**

Die orale *T. suis*-Lösung wurde an Tag 0, Tag 14, Tag 30, Tag 45, Tag 60 und Tag 75 gegeben. Es wurden jeweils 15,0 ml der Studienlösung in eine 20,0 ml Spritze aufgezogen und den Hunden langsam in das Maul eingegeben.

### **3.2.7 Blutprobenbearbeitung**

Die 2 ml EDTA-Röhrchen wurden direkt nach der Blutentnahme in das Labor der Medizinischen Kleintierklinik der LMU München zur weiteren Bearbeitung gegeben. Dort erfolgte die Erstellung des Blutbildes mit Hilfe des Sysmex XT-2000 iv, einem automatischen Hämatologiesystem für Tierblutanalysen. Bei jeder Blutprobenbearbeitung wurden folgende Werte bestimmt: Eosinophile, Neutrophile, Lymphozyten, Monozyten, Thrombozyten, Hämoglobin und Hämatokrit.

### 3.2.8 Gewinnung und Lagerung der infektiösen Helminthenstadien

Die embryonierten TSE wurden der Medizinischen Kleintierklinik der LMU München freundlicherweise von der Firma Ovamed GmbH, Barsbüttel, Deutschland zur Verfügung gestellt.

Sie lagen als wässrige Suspension in 15 ml Verpackungseinheiten gebrauchsfertig zur oralen Einnahme vor. Jede Einheit enthielt 2500 embryonierte, entwicklungsfähige und aufgereinigte TSE, konserviert in 0,05 -molarer (mol/L) Schwefelsäure (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, pH 1,0).

Die Lösungen hatten das für die Humanmedizin vorgegebene Verfallsdatum bereits überschritten. Dieses beruht darauf, dass die erlaubte Keimzahl nach etwa zwei Jahren der Lagerung überschritten werden kann. Wie die produzierende Firma versicherte, wird allerdings auch nach Jahren der Lagerung keine gesundheitsbedenkliche Keimzahl erreicht, sodass das Medikament gefahrlos und ohne Schädigung der Parasiteneier verwendet werden kann. In einem firmeneigenen dänischen Labor zeigten die Wurmeier selbst nach neun Jahren noch eine ausreichend hohe Infektiosität.

Die kommerzielle Produktion der Wurmeier erfolgte in zwei Schritten. Die TSE als biologisches Ausgangsmaterial wurden in Zusammenarbeit mit der Parasite Technologies A / S in den Laboratorien des königliche dänischen Institutes für experimentelle Parasitologie in Kopenhagen hergestellt. Dazu wurden SPF-Schweine mit *T. suis* infiziert. Sobald die adulten Würmer im Schwein mit der Fortpflanzung begannen, wurden die trächtigen Wurmweibchen aus dem Schweinedarm selektiert, gereinigt und in-vivo bis zur Eiablage kultiviert. In den Laboratorien der Biocure GmbH erfolgte dann der zweite Schritt. Hier wurden die Eier hygienisch aufbereitet und haltbar gemacht. Zur Reinigung wurden die Wurmeier für zwei bis acht Stunden bei Temperaturen von 25 - 38° C mit einer Säurelösung (pH < 2) inkubiert. Anschließend wurde durch Zugabe einer geeigneten Base der pH-Wert auf > 4 angehoben und ein pharmakologisch annehmbares Konservierungsmittel (z. B. Sorbinsäure 0,1 bis 0,2 %) beigelegt. Die so entstandene Konservierungsmittel-enthaltende Suspension mit embryonierten Wurmeiern eignet sich zur Anwendung als Trinklösung. Die Prozessierung und Abfüllung in die versandfertigen Fläschchen erfolgte gemäß den Regeln der „Good manufacturing practice“ für Phase II Studien (Ovamed GmbH, Barsbüttel, Deutschland). Die Lagerung in der Medizinischen Kleintierklinik erfolgte im Kühlschrank bei 4 - 8°C.



**Abb.1: Embryoniertes *Trichuris suis*-Ei**

### **3.2.9 Kotuntersuchung mittels Flotationsverfahren**

Die von den Besitzern eingangs mitgebrachten Sammelkotproben wurden mittels Flotationsverfahren auf Endoparasiten untersucht. Dazu wurde vom Laborpersonal der Medizinischen Kleintierklinik der Tierärztlichen Fakultät der LMU München ein kommerzielles Parasiten-Diagnose-System der Firma Janssen (Janssen Animal Health Care, Janssen Cilag GmbH, Neuss, Deutschland) verwendet. Dabei handelt es sich um ein Komplett-Set zur in-vitro-Untersuchung von Kotproben auf Parasiteneier und Oozysten mittels Flotationsverfahren. Entscheidend für das Funktionieren der Flotation, sind die richtige Dichte der Flotationslösung und genügend Zeit für das Flotieren der angesetzten Kotprobe (DRYDEN et al., 2005). Der Kot wird zunächst mit dem Flotationsmedium 29,5 % Natriumnitrat mit einer spezifischen Dichte von 1,18 - 1,20 zu einer Suspension vermischt. Nematodeneier mit einem niedrigeren spezifischen Gewicht als 1,2 flotieren dann nach oben, während sich die schweren Bestandteile des Kotes absetzen. Der Dichtegradient für *T. suis* liegt bei 1,1299 (DAVID & LINDQUIST, 1982). Auf das Flotationsgefäß wird ein Deckgläschen gelegt, an welches sich die an der Wasseroberfläche treibenden Parasiteneier anlagern.

Im Labor wurde das Flotationsgefäß, in welches bereits die Kotprobe gegeben wurde, bis zur Hälfte mit Flotationslösung (Flotationsmedium mit weiteren inerten Bestandteilen) aufgefüllt. Nachdem der Kot und die Flotationslösung mit einem Holzspatel zu einer homogenen Suspension vermischt wurden, wurde ein Spezial-Diagnose-Filter in das Behältnis eingelegt. Dann wurde die Mischung mit Flotationslösung aufgegossen, bis sich ein konvexer Meniskus am inneren oberen Filterrand bildete. Anschließend wurde vorsichtig das Deckgläschen (20,0 x 22,0 mm) (Spicker Laborbedarf GmbH, Schwandorf, Deutschland) auf die nach oben gewölbte Wasseroberfläche gelegt. Um den Wurmeiern genügend Zeit zur Anheftung an dem Deckglas zu geben, wurde die Flotationssuspension 15 Minuten unbewegt stehen gelassen. Dann wurde das Deckgläschen abgenommen und auf einen Objektträger (Glaswarenfabrik Karl Hecht GmbH, Sondheim, Deutschland) aufgebracht.

Abschließend wurde der so präparierte Objektträger unter dem Mikroskop bei geringem Licht und 100 -facher Vergrößerung auf das Vorhandensein von Parasiteneiern untersucht. Dieses Verfahren wird standartmäßig im Labor der Medizinischen Kleintierklinik durchgeführt.

### **3.2.10 Statistik**

Die klinische Gesamtpunktzahl, der Medikament-Score, der Score für die Lebensqualität des Hundes und die Laborparameter wurden zu Beginn und am Ende der Studie bezüglich ihrer Normalverteilung mit dem Kolmogorov-Test evaluiert. Individuelle Datenpaare wurden mit einem Paired-t-Test verglichen oder - wenn die Daten nicht normal verteilt waren - mit einem Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test beurteilt. Als statistisch signifikant wurde ein P-Wert unter 0,05 angesehen. Eine Intention-to-treat Analyse (last value carried forward) wurde durchgeführt, d. h. dass der jeweilige letzte Wert von Hunden, die aus der Studie verfrüht ausschieden, bis zum Schluss festgeschrieben und in die statistische Auswertung eingebracht wurde.



## **4. ERGEBNISSE**

### **4.1 Hunde**

An dieser Studie nahmen insgesamt zwölf Hunde teil. Alle Hunde bekamen dieselbe *T. suis*-Lösung in der gleichen Dosierung verabreicht.

Bei fünf Hunden waren die Analbeutel bereits einige Zeit vor Studienteilnahme entfernt worden. In dieser Studie zeigte sich kein Unterschied zwischen erkrankten Tieren mit oder ohne Analbeutel, es schien keinen Einfluss auf den Heilungsverlauf zu haben. Bei keinem der teilnehmenden Hunde ergaben sich vor bzw. während der Studie Hinweise auf eine Beteiligung der Analbeutel. Die Perianalfisteln traten bei jedem Tier als separate Erkrankung auf.

Ein DSH litt zusätzlich unter einer Hypothyreose. Er erhielt seit mehr als acht Wochen eine L-Thyroxin-Supplementation und wies bei Studieneintritt einen geeigneten post-pill T4-Wert auf, der sich im oberen Referenzbereich befand.

Fünf an Perianalfisteln erkrankte Hunde traten ohne Vorbehandlung in die Studie ein. Die restlichen sieben Hunde erhielten zur Behandlung der Analfurunkulose seit mindestens acht Wochen entweder oral Zyklosporin oder topisch Tacrolimus. Ihre klinische Symptomatik hatte sich in dieser Zeit aber nicht mehr weiter verbessert und der Heilungsverlauf stagnierte.

Die durchschnittliche Dauer der Erkrankung betrug bei den teilnehmenden Hunden 21,6 Monaten und reichte im Einzelfall von vier bis 60 Monaten.

#### **4.1.1 Altersverteilung**

Das Alter der teilnehmenden Hunde reichte von fünf bis 13 Jahren. Der Altersdurchschnitt lag bei 7,6 Jahren.

#### **4.1.2 Geschlechterverteilung**

In der Studie war das Geschlechterverhältnis ausgewogen, es nahmen sechs männliche (drei davon kastriert) und sechs weibliche (davon zwei kastriert) Hunde teil.

#### **4.1.3 Rasseverteilung**

Obwohl auch in dieser Studie Deutsche Schäferhunde den Großteil der erkrankten Tiere darstellten, nahmen daneben noch andere Hunderassen mit Perianalfisteln an der Studie teil

(Tabelle 3).

<b>Rasse</b>	<b>Anzahl an Hunden</b>
Berger de Picardie	1
Deutscher Schäferhund	8
Krohmfohrländer	1
Labrador-Mischling	1
Leonberger-Mischling	1

**Tabelle 3: Teilnehmende Hunderassen und Zahl der dazugehörigen Tiere**

## **4.2 Datenauswertung**

Während der Studie wurde regelmäßig der Schweregrad der perianalen Läsionen von einem Tierarzt anhand des modifizierten Hardie-Scores beurteilt. Außerdem füllten die Besitzer bei jedem Kontrolltermin einen Fragebogen bezüglich der Lebensqualität des Hundes aus. Bei bereits vorbehandelten Tieren wurden bei jeder Kontrolle die verabreichten Medikamente inklusive ihrer Dosierung und die Häufigkeit der Gabe vermerkt und der entsprechende Medikamenten-Score berechnet.

### **4.2.1 Läsions-Score modifiziert nach Hardie**

Der Schweregrad der perianalen Läsionen (betroffene Fläche, Tiefe und Anzahl der Fisteln, rektale Tiefe) wurde am Tag 0, Tag 30, Tag 60 und Tag 90 mit Hilfe eines Läsions-Scores modifiziert nach Hardie von einem Tierarzt eingestuft (HARDIE et al., 2005). Insgesamt konnte eine Reduktion des Läsions-Scores bei sieben von zwölf Hunden erreicht werden. Allerdings war die Verminderung des Läsions-Scores nach zwölf Wochen nicht statistisch signifikant (Wilcoxon-matched-pairs-test,  $p = 0,35$ ) (Tabelle 4).

	<b>Mittelwert</b>
<b>Läsions-Score vorher</b>	<b>14</b>
<b>Läsions-Score nachher</b>	<b>12</b>

**Tabelle 4: Vergleich des Läsions-Score vor und nach der Studie**

Basierend auf dem, nach Hardie modifizierten, Läsions-Score litten fünf Hunde unter milden, zwei unter moderaten Krankheitsverläufen und sieben Tiere wiesen stark ausgeprägte

Perianalfisteln auf. Dabei wurden gemäß Hardie oberflächliche Fisteln (< 1 cm) bzw. Fistelgänge mit geringer Entzündung, die sich über maximal 0 - 90° des Perianalbereiches erstreckten, als milde Perianalfisteln klassifiziert. Ein moderater Krankheitsverlauf lag vor, wenn sich mehrere oberflächliche oder tiefe Fisteln (1 – 2 cm) mit mäßiger Entzündung über bis zu 180° der perianalen Region erstreckten. Waren mehrere tiefe Fistelgänge (> 2 cm) oder oberflächliche Läsionen, welche mehr als 180° des Perianalbereiches betrafen, zu erkennen, wurde der Krankheitsverlauf als schwer eingestuft (HARDIE et al., 2005).

Die fünf nicht-vorbehandelten Hunde setzten sich aus einem milden Fall, den beiden moderat betroffenen Tieren und zwei schwer erkrankten Tieren zusammen. Diese Hunde erhielten zu Studieneintritt entweder keine Medikamente, weil sich ihr Krankheitsverlauf bereits in vorherigen Versuchen als therapieresistent erwiesen hatte oder weil die Besitzer eine immunsuppressive Therapie ablehnten. Während des Erstbesuches hatte vier Hunde bei der digitalen rektalen Palpation Anzeichen für anale Strikturen. Bei einem dieser Hunde wurden die Analbeutel allerdings erst einige Wochen zuvor entfernt, sodass die Verengung des Rektums auch durch noch nicht vollständig zurückgebildetes Narbengewebe begründet sein konnte. Derselbe Hund musste wegen einer dramatischen Verschlechterung der Perianalfisteln nach zwei Monaten aus der Studie genommen werden, da eine immunsuppressive Therapie unumgänglich geworden war.

Bei zwei Hunden verbesserten sich während der Studienteilnahme sowohl die klinischen Anzeichen wie perianales Lecken, Konstipation und Schmerzen beim Kotabsatz als auch die Hautsymptomatik deutlich. Die Fisteln und die betroffene perianale Fläche gingen zurück. Einer der beiden erreicht sogar eine komplette Remission, bei der selbst die eingangs festgestellten Analstrikturen bei Studienende nicht mehr zu palpieren waren.

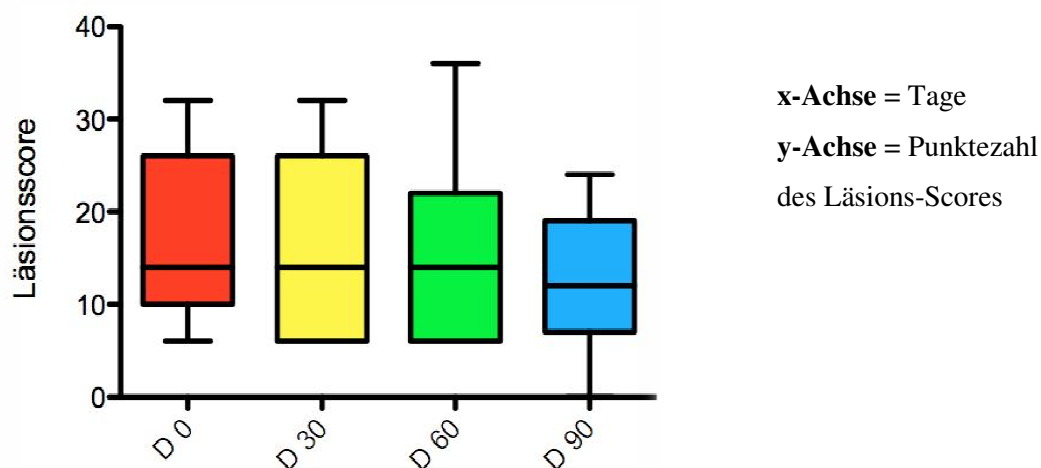


Abb. 2 : Entwicklung des Läsions-Score während der Therapie mit *Trichuris suis*

### 4.2.2 Beurteilung der Lebensqualität

Bei jedem der vier Studientermine wurde die Besitzer gebeten, mittels eines Fragebogens den Zustand der perianalen Läsionen und die Lebensqualität ihres Hundes mit 1 (milde Läsionen bzw. geringe Einschränkung der Lebensqualität) bis 7 (schwere Läsionen bzw. starke Einschränkung der Lebensqualität) nach Mathews zu beurteilen (MATHEWS & SUKHIANI, 1997). Bei der Auswertung der Fragebögen zeigte sich ebenfalls keine signifikante Verbesserung (Wilcoxon-Matched-pairs-Test,  $p = 0,27$ ) (Tabelle 5).

	Mittelwert
Lebensqualität vorher	7
Lebensqualität nachher	7

**Tabelle 5: Beurteilung der Lebensqualität der Hunde durch ihre Besitzer vor Eintritt in die Studie (vorher) und am Ende der Studienteilnahme (nachher)**

### 4.2.3 Medikamenten-Score

Bei den sieben vorbehandelten Hunden wurde sowohl beim ersten Studientermin, als auch bei den drei darauffolgenden Kontrollterminen der verabreichte Wirkstoff, die Häufigkeit der Gabe oder gegebenenfalls die Dosierung des Medikaments protokolliert und entsprechend eines Medikamenten-Scores bewertet. Insgesamt war es bei drei Hunden möglich, ihre Medikamentendosen während der Teilnahme an der Studie herabzusetzen. Einer von ihnen war der oben bereits erwähnte Hund, der eine Remission der Perianalfisteln erreichte. Nach acht Wochen konnte seine Zyklosporingabe von jedem zweiten Tag auf jeden dritten Tag verschoben werden. Die anderen beiden Tiere erreichte innerhalb der ersten Wochen ihrer Studienteilnahme eine ausreichende Verbesserung der Hautsymptomatik, sodass bei einem Hund Zyklosporin von täglich auf jeden zweiten Tag reduziert werden konnte und bei dem anderen Hund ein lokales Glukokortikoid abgesetzt werden konnte. Diese beiden Hunde verschlechterten sich allerdings im weiteren Verlauf der Studie erneut. Die übrigen vier vorbehandelten Tiere behielten während der gesamten Studienteilnahme die gleiche Medikation unverändert bei, die sie bereits bei ihrem Eintritt bekamen. Beim Vergleich der Medikation der Hunde zu Beginn und am Ende der Studie mit Hilfe des Wilcoxon-Matched-Pairs-Test ergab sich ein  $p$  von 0,15. Demnach war keine signifikante Veränderung der Werte des Medikamenten-Scores festzustellen (Tabelle 6).

	Mittelwert
Medikamenten-Score vorher	10
Medikamenten-Score nachher	15

Tabelle 6: Vergleich des Medikamenten-Scores vor und nach der Studie

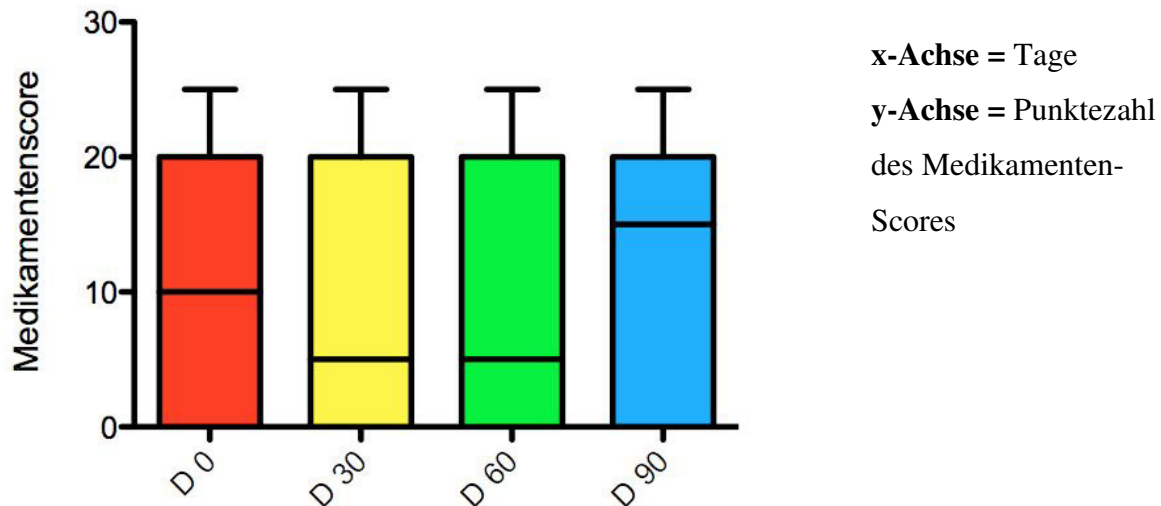


Abb. 3: Entwicklung des Medikamenten-Score während der Therapie mit *Trichuris suis*

#### 4.2.4 Blutparameter

Von allen Studienteilnehmern wurden zu Beginn und am Ende der Studie Blutproben zur Erstellung eines hämatologischen Profils in das Labor der Medizinischen Kleintierklinik der LMU München gegeben. Beim Vergleich der einzelnen Blutparameter vor und nach der Behandlung mit *T. suis* konnten keine signifikanten Veränderungen nachgewiesen werden. So kam es trotz des dreimonatigen Parasitenbefalls nicht zu einem Anstieg der eosinophilen Granulozyten. Auch die Entzündungsparameter, die bei stark an Perianalfisteln leidenden Hunden in der Regel erhöht sind, veränderten sich nicht erheblich (Tabelle 7). Dies entsprach wiederum dem klinischen Bild, welches bei den meisten Hunden innerhalb der Studienphase ebenfalls kaum durch die Therapie beeinflusst wurde.

<b>Blutparameter</b>	<b>Test</b>	<b>p-Wert</b>
<b>Eosinophile Granulozyten</b>	<b>Paired-t-Test</b>	<b>0,4</b>
<b>Neutrophile Granulozyten</b>	<b>Wilcoxon Test</b>	<b>0,63</b>
<b>Lymphozyten</b>	<b>Paired-t-Test</b>	<b>0,6</b>
<b>Monozyten</b>	<b>Paired-t-Test</b>	<b>0,83</b>
<b>Thrombozyten</b>	<b>Paired-t-Test</b>	<b>0,1</b>
<b>Hämoglobin</b>	<b>Wilcoxon Test</b>	<b>0,68</b>
<b>Hämatokrit</b>	<b>Paired-t-Test</b>	<b>0,38</b>

**Tabelle 7: p-Werte der einzelnen Blutparameter**

#### **4.2.5 Nebenwirkungen und Ausschluss von Patienten**

Es beendeten insgesamt elf Hunde die Studie in der vorgegeben Zeit von drei Monaten an Tag 90. Auf Grund der dramatischen Verschlechterung der Perianalfisteln musste ein Hund vorzeitig aus der Studie ausgeschlossen werden. Er war auf Wunsch der Besitzer unbehandelt in die Studie eingetreten und benötigte nach zwei Monaten Studienteilnahme wegen der Verschlimmerung der Fisteln eine immunsuppressive Therapie. Der Beginn der Zyklosporintherapie während der Studie war allerdings nicht mit dem Studienprotokoll zu vereinbaren, weshalb der Hund an diesem Punkt aus der Studie genommen werden musste. Für die Auswertung der Studie wurde in diesem Fall eine „Intention-to-treat“ Analyse an-

---

gewandt, bei der die letzten bestimmten Werte dieses Hundes bis zum eigentlichen Studienende weitergeschrieben wurden. Nebenwirkungen traten bei keinem der Hunde auf und waren somit in keinem Fall ein Grund für ein vorzeitiges Ausscheiden aus der Studie.

## **5. DISKUSSION**

### **5.1 Zusammenfassung der Studie**

Die Therapie mit TSE führte bei den an Perianalfisteln erkrankten Hunden zu keiner signifikanten Verbesserung der klinischen Symptome und Läsionen. Auch konnte die unterstützende *T. suis*-Therapie nicht relevant zur Reduktion der Medikation der vorbehandelten Hunde beitragen. Das Verhalten und die Lebensqualität schienen ebenfalls nicht wesentlich durch die Therapie mit dem Studienmedikament beeinflusst zu werden. Entsprechend zeigten die Blutparameter gleichermaßen keine prägnanten Veränderungen.

Die Probenanzahl war mit zwölf Studienhunden relativ gering. Hinzu kommt, dass es eine „Proof-of-concept“- und „Open-label“- Studie war und keine Placebo-Gruppe geplant war. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit unterstützen eine solche Placebo-kontrollierte Studie mit der hier verwendeten Wurmspezies und Dosierung nicht.

### **5.2 Nebenwirkungen**

Auf Grund der bisherigen Erfahrungen aus zwei vorangegangenen Studien der medizinischen Kleintierklinik über den Einfluss von Helminthen auf die canine atopische Dermatitis und den Ergebnissen aus den humanmedizinischen Studien waren keinerlei schwerwiegende Nebenwirkungen zu erwarten. Bei den beiden erwähnten tiermedizinischen Studien wurden zum einen *T. vulpis* und zum anderen *U. stenocephala* verwendet. Bei beiden Helminthenarten kam es vereinzelt zu gastrointestinalen Beschwerden, wobei diese meist mit symptomatischer Therapie kontrolliert wurden und die Hunde die Therapie fortsetzten konnten (MUELLER et al., 2011; SPECHT, 2011). Mit der in dieser Studie verwendeten Helminthenart und der Dosierung von 2500 embryonierten Eiern im zweiwöchentlichen Abstand über drei Monate waren bei keinem der Hunde Nebenwirkungen zu verzeichnen. Die Verdauungstätigkeit schien bei allen Studienpatienten von den *T. suis*-Larven unbeeinflusst zu bleiben.

### **5.3 Zoonosegefahr**

Da es sich bei der hier verwendeten Wurmart um einen Schweineparasiten handelt, bestand zu keiner Zeit eine Infektionsgefahr für andere Hunde oder Menschen. Der Schweinepeitschenwurm entwickelt sich nur im Schweinedarm bis zum fortpflanzungsfähigen Stadium. Im Verdauungstrakt der Hunde und Menschen reift der Parasit bis zum Larvenstadium



heran, stirbt dann bereits im Darm ab und wird nicht-infektiös mit dem Kot ausgeschieden. Somit besteht außerdem nicht die Gefahr, dass sich die Helminthen selbstständig unkontrolliert im Hund vermehren.

#### **5.4 Einfluss von *Trichuris suis* auf den klinischen Heilungsverlauf der Perianalfisteln**

Im Verlauf der Studie zeigte sich keine signifikante Verbesserung der perianalen Läsionen bei den teilnehmenden Hunden. Es scheint also keine ausreichende Modulation des Immunsystems stattgefunden zu haben, da keine positive Beeinflussung der klinischen Symptomatik festzustellen war. Es lassen sich verschiedene Vermutungen anstellen, weshalb die Therapie der hier erkrankten Hunde mit TSE nicht ähnliche gute Erfolge erbrachte, wie die bisherigen Therapieversuche bei Menschen mit CED.

Interessanterweise schienen einige Hunde in den ersten Wochen erstaunlich gut auf die Therapie anzusprechen, allerdings verschlechterten sich die meisten davon im weiteren Verlauf der Studie erneut. Da es sich um eine „Open-label“-Studie handelt, wussten die beteiligten Personen, dass alle Tiere die *T. suis*-Lösung erhielten. Somit kann ein gewisser Placebo-Effekt nicht ausgeschlossen werden. Einige der Hunde litten bereits seit mehr als einem Jahr an der Erkrankung und die Besitzer hatten bereits verschiedene erfolglose Therapien abgebrochen. Vielleicht reflektiert die anfängliche Besserung einiger Hunde die mit der Studienteilnahme einhergehende erhöhte Aufmerksamkeit der Besitzer für den Perianalbereich ihres Tieres. Die sorgfältige Pflege der perianalen Region mit täglichem Reinigen und guter Hygiene wurde möglicherweise, motiviert durch die Teilnahme an der Studie, wieder gewissenhafter ausgeführt. Bei Hunden, die eine Verbesserung der perianalen Läsionen um mindestens 50 % erreichten, wurden gegebenenfalls die Medikamente einem vorgegebenem Schema entsprechend reduziert. Allerdings blieben nur bei einem Hund die Fisteln nach der Medikamentenreduktion weiterhin gut, bei den anderen verschlechterte sich, nach der Verringerung der Medikamente, die Situation von neuem. Dies spricht mehr für eine vorübergehende Besserung auf Grund einer sorgfältigeren lokalen Therapie als für eine tatsächliche Immunstimulation durch fremdes Antigen.

In der Kleintiermedizin gibt es bisher kaum Erfahrung bezüglich der Immunmodulation durch Endoparasiten. Daher wurde für diese Studie sowohl das Präparat als auch das Applikationsschema aus den humanmedizinischen Studien übernommen. In einer Studie von Summers et al. wurde Patienten mit aktiver CU ebenfalls für drei Monate im Abstand von jeweils zwei Wochen 2500 TSE verabreicht. In dieser randomisierten, doppelt-geblindeten,

Placebo-kontrollierten Studie sprachen 43,3 % der mit *T. suis*-Lösung therapierten Patienten auf die Behandlung an, während in der Kontrollgruppe nur 16,7 % der Erkrankten eine Verbesserung aufwiesen (SUMMERS & THO, 2005). Natürlich kann es durchaus sein, dass sich für die Behandlung von Hunden mit immunmedierten Erkrankungen gänzlich andere Parasitenarten eignen als für die immunmodulierende Therapie beim Menschen. Es gibt verschiedene Studien mit Mausmodellen, in denen die Immunstimulation durch unterschiedliche Helminthenarten hervorgerufen wurde. So wurden neben *T. muris* (ELLIOTT et al., 2000), auch *Trichinella spiralis* (*T. spiralis*) (MOTOMURA et al., 2009), *H. polygyrus* (ELLIOTT et al., 2004) (bei IBD-Modellen) und *Schistosoma mansoni* (*S. mansoni*) (MANGAN et al., 2004) (bei allergischer Überempfindlichkeit) eingesetzt. Bei diesen Mausmodellen konnte man in jedem Fall eine Immunmodulation mit protektiver Wirkung erzielen. Werden klinische Studie bei Hunden mit Helminthentherapie allerdings als Feldstudien durchgeführt - so wie es hier der Fall war - wobei die Hunde während der Studienteilnahme bei ihren Besitzern bleiben, so ist die Zahl der anwendbaren Helminthenarten auf Grund des Zoonosepotentials eingeschränkt. Wenn die Tiere weiterhin in ihrem häuslichen Umfeld gemeinsam mit ihrer Besitzerfamilie leben, sollten nur Parasitenarten verabreicht werden, welche keine Gefahr für den Menschen darstellen.

Auch das Dosierungsschema und die Applikationsfrequenz sind bisher beim Hund noch in keiner Weise ausgelotet. Die verabreichten embryonierten TSE entwickeln sich in den Hunden nur bis ins Larvenstadium. In einer Studie, in der Kühen *Onchocerca ochengi* verabreicht wurden, zeigte sich eine signifikante Veränderung des Profils der Lymphozytenproliferation und der Zytokinproduktion im Verlauf der Infektion, welche eng mit dem jeweiligen Entwicklungsstadium des Parasiten korrelierte. So korrespondierte beispielsweise der starke Anstieg der Proliferation kurz nach der Infektion mit der Entwicklung der Larve 3 zur Larve 4. Die folgende Phase der reduzierten Immunantwort ging mit der Entwicklung des adulten Wurmes vor und nach der Entstehung intradermaler Knötchen einher (GRAHAM et al., 2001). In einer anderen Studie wurde Mäusen entweder *S. mansoni*-Würmer und -Eier oder nur adulte Würmer perkutan appliziert. Hier stellte sich heraus, dass Mäuse, welche nur adulte Würmer bekamen nahezu resistent gegen eine experimentelle verursachte Anaphylaxie waren. Dagegen reagierten Mäuse, bei denen Eier und Würmer eingesetzt waren, immerhin mit milden Symptomen auf die provozierte allergische Reaktion (MANGAN et al., 2004). Motomura et al. belegte 2008 den präventiven Effekt einer rektalen, submukösen Gabe von Helminthenantigenen auf eine folgende DNBS-induzierte Kolitis bei Mäusen. Dabei erwies sich die Gabe von nur 50 µg *T. spiralis*

*lis*-Antigen als wirkungslos, positive Effekte zeigten sich erst bei der Verabreichung von 100 µg *T. spiralis*-Antigen (MOTOMURA et al., 2009). Abgeleitet von diesen Erkenntnissen, kann man die Vermutung aufstellen, dass im Falle der hier durchgeführten Studie eventuell die, für eine ausreichende Immunstimulation, benötigten Antigene nicht oder nur unzureichend produziert wurden. Eventuell wären Moleküle adulter Würmer bei der Immunstimulation erfolgreicher gewesen.

In den humanmedizinischen Studien zeigte sich, dass viele Patienten bereits kurz nach dem Absetzen der TSE-Therapie wieder unter Rezidiven litten und eine langfristige Gabe notwendig war, um die Patienten in Remission zu halten (SUMMERS et al., 2003). Vielleicht ist bei Hunden grundsätzlich eine längere Therapiedauer erforderlich, um überhaupt Effekte zu erzielen. Eine Studie untersuchte 2007 die genauen Veränderungen im Serum von IgG1-, IgG2-, IgA- und IgM-Antikörpern spezifisch zu adulten *T. suis excretory / secretory* Antigenen im Bezug auf den zeitlichen Verlauf einer Erstinfektion bei Schweinen. Es konnte eine enge Assoziation zwischen der Anwesenheit spezifischer Antikörper im Serum und der Wurmbelastung im Schweinedarm nachgewiesen werden. Bei Menschen und Mäusen ist bekannt, dass der Typ der Immunantwort im Serum durch parasitenspezifische Antikörper-Isotypen angezeigt wird. Obwohl bei Schweinen die IgG-Unterklassen bisher noch nicht so genau charakterisiert sind, scheinen IgG1 und IgG2 Typ 1 und Typ 2 der Immunantwort zu reflektieren (KRINGEL & ROEPSTORFF, 2007). Derartige Untersuchungen liegen beim Hund bisher nicht vor, wären aber zur Planung weiterer Studien mit Helminthentherapien bei Hunden mit immunmedierten Erkrankungen von großem Nutzen.

Um die Chancen der immunmodulierenden Therapie mit Helminthen bei Hunden besser abwägen zu können, sollten weitere Studien mit anderen Wurmarten und verschiedenen Behandlungsprotokollen durchgeführt werden.

Ein anderer Gedanke drängt sich auf Grund der Ergebnisse der doppelt-geblindeten, Placebo-kontrollierten Studie mit atopischen Hunden auf. In dieser Studie haben sich die klinischen Symptome der Hunde unter *T. vulpis*-Therapie ebenfalls nicht gebessert (MUELLER et al., 2011; SPECHT, 2011). Womöglich kann die gesamte Hygiene-Hypothese nicht auf die Kleintiermedizin übertragen werden. Hunde in Industrienationen wie Deutschland wohnen zwar in einem relativ hygienischen Umfeld im Vergleich zu Straßenhunden in Entwicklungsländern, allerdings finden und fressen die Hunde während des Freilaufs auch hierzulande viel kontaminiertes und zum Teil auch infektiöses. Sicherlich weisen aus diesem Grund selbst regelmäßig entwurmte Hunde immer wieder vorübergehend Wurmbefall

auf und sind damit wahrscheinlich zeitlebens in geringem Maße mit Wurmantigenen konfrontiert. Im Gegensatz dazu lebten die Tiere in den oben aufgeführten Studien unter kontrollierten Laborbedingungen, in der Regel in speziellen keimfreien Umgebungen (SPF) (MANGAN et al., 2004; HURST et al., 2006; MOTOMURA et al., 2009). In manchen Studien bekamen die Tiere zudem autoklaviertes Futter (MOTOMURA et al., 2009). Hier liegt die Überlegung nahe, dass die, in diesen Studien nachgewiesene, Immunmodulation bei SPF-Tieren nicht auf Haustieren in normaler Umgebung übertragen werden kann. Aus diesem Grund müssen mehr klinische Feldstudien mit Haustieren durchgeführt werden, um einen tatsächlichen Nutzen für die Kleintiermedizin erreichen zu können.

## **5.5 Beeinflussung des Blutbildes**

Beim Vergleich der Parameter des hämatologischen Blutbildes zu Beginn und am Ende der Studie zeigte sich bei keinem Parameter eine signifikante Veränderung. Dies spiegelt die gleichbleibend schlechte Klinik wieder. Eine Erhöhung der Entzündungsparameter bei Hunden mit Perianalfisteln ist häufig im Blutbild erkennbar. Da aber die perianalen Läsionen im Verlauf der Studienteilnahme bei den meisten Hunden nicht besser wurden, war bei Hunden mit erhöhten Entzündungswerten entsprechend nicht mit einem Absinken der Werte zu rechnen. Bei keinem der abschließenden Blutbilder war eine Eosinophilie, wie sie normalerweise im Zusammenhang mit einem parasitären Befall auftritt, zu sehen. Diese Beobachtung stimmt mit Erkenntnissen humanmedizinischer Studien überein, bei denen nicht-invasive Helmintheninfektionen ebenfalls keine Erhöhung der eosinophilen Granulozyten bewirkten (SUMMERS et al., 2003).

## 6. ZUSAMMENFASSUNG

### **Immunmodulierende Therapie durch orale Verabreichung von Eiern des Schweinepeitschenwurmes bei Hunden mit Perianalfisteln**

Perianalfisteln bei Hunden sind charakterisiert durch schmerzhafte Wunden in der Perianalregion, welche häufig im weiteren Verlauf zu großen Ulzerationen und tiefen Fisteln konfluieren. Durch chirurgische Eingriffe werden nicht selten Komplikationen wie Flatulenzen, Kotinkontinenz und anale Strikturen hervorgerufen. Medikamentöse Therapien mit immunsuppressiven Präparaten sind zwar meist effizient, können aber verschiedene Nebenwirkungen wie z. B. Knochenmarksuppression mit sich bringen. Die klinische Erscheinung der Perianalfisteln ähnelt den Analfisteln, welche bei Patienten mit MC als Komplikation auftreten können. Die genaue Ursache der Erkrankung ist bisher weder bei MC noch bei den Perianalfisteln des Hundes bekannt, obwohl genetische Veränderungen bereits bei beiden Spezies als beteiligte Faktoren identifiziert werden konnten. Die momentan am häufigsten vertretene Auffassung geht bei beiden Erkrankungen von einem multifaktoriell-immunmedierten Geschehen aus, da die Patienten sehr gut auf immunsuppressive Therapien ansprechen. Die Prävalenz der chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen wie MC stieg in den letzten Jahrzehnten in den hochentwickelten Industrienationen stark an, wohingegen diese Erkrankungen in Entwicklungsländern nahezu unbekannt sind. In den letzten Jahren geht die sogenannte Hygiene-Hypothese davon aus, dass das Immunsystem von Menschen, welchen in einem sehr hygienischen Umfeld aufwachsen, zu wenig mit fremden Antigenen konfrontiert ist und daher keine ausgewogene Balance zwischen Abwehr und Toleranz entwickeln kann. Aus diesem Ansatz ergab sich die Fragestellung, ob eine Infektion mit Darmparasiten das Immunsystem des Wirtes stimuliert und so einen Schutz vor immunmedierten Erkrankungen bieten kann. In humanmedizinischen Studien konnte durch die Therapie mit Eiern des *T. suis*-Wurmes (Schweinepeitschenwurm) bei MC-Patienten eine Ansprechrate von 80 % und eine Remissionsrate von 73 % erreicht werden. Das Ziel dieser Studie war es, den Einfluss der TSE auf den klinischen Heilungsverlauf der caninen Perianalfisteln, die zur Krankheitskontrolle benötigte Medikation und die Lebensqualität der Hunde zu überprüfen.

In die Studie wurden zwölf an Perianalfisteln erkrankte Hunde aufgenommen. Die orale Eingabe der 2500 TSE erfolgte alle zwei Wochen über einen Zeitraum von drei Monaten. Die Hunde wurden bei jedem Besuch (Tag 0, Tag 30, Tag 60 und Tag 90) klinisch, derma-

tologisch und rektal untersucht. Dabei wurde der Schweregrad der perianalen Läsionen mittels eines Läsions-Scores bewertet. Die Beurteilung der Lebensqualität des Hundes durch den Besitzer erfolgte zeitgleich anhand eines Fragebogens. Die benötigten Medikamente der bereits vorbehandelten Hunde wurden innerhalb eines Medikamenten-Scores protokolliert.

Zu Beginn und am Ende der Studie wurde den Hunden Blut entnommen, um die hämatologischen Blutparameter zu bestimmen.

Leider war weder eine Verbesserung der klinischen Läsionen noch der allgemeinen Lebensqualität der Hundewährend der Studie nachzuweisen. Auch eine signifikante Reduktion der bestehenden Medikation war nicht möglich. Der Vergleich der Anfangs- und Endblutproben brachte ebenfalls keine wesentlichen Unterschiede zu Tage.

Damit sprechen die Ergebnisse dieser Studie dafür, dass die Immunmodulation durch TSE bei Hunden mit Perianalfisteln keine erfolgsversprechende Therapieoption zusätzlich zu den bisherigen immunsuppressiven Medikamenten darstellt.

## 7. SUMMARY

### **Immune-modulating therapy by oral administration of *Trichuris suis*-eggs in dogs with perianal fistulas**

Canine perianal fistulae are characterized by painful, open sores in the perianal area, which frequently progress to large, confluent ulcers and deep fistulae. Surgical intervention has reportedly been associated with adverse effects such as flatulence, fecal incontinence or anal strictures. Medical therapies with immunosuppressive agents are efficacious, but may be associated with different adverse effects such as bone marrow suppression. Perianal fistulae share clinical features with anal fistulas in humans, which occur as a complication in patients with Crohn's disease. The exact cause of Crohn's Disease in humans and perianal fistulae in dogs is unknown, although genetic factors have been identified in both species. Today's prevalent theory for both diseases is based on a multifactorial, immune-mediated background, as patients typically improve with immunosuppressive treatment. During the last decades the prevalence of inflammatory bowel disease increased markedly in highly-developed nations, in contrast to less developed countries.

Over the last years the hygiene hypothesis has assumed that the immune system of humans growing up in a highly hygienic environment is not sufficiently confronted with foreign antigens and subsequently cannot develop a balance between defense and tolerance. This led to the question whether an infection with endoparasites might stimulate the host's immune system in order to provide protection against immune-mediated illnesses. The therapy with *Trichuris suis*-eggs of Crohn's disease in humans was associated with a response rate of 80 % and a remission rate of 73 %.

The aim of this study was to evaluate the impact of TSE on the clinical signs of canine perianal fistulas, the medication needed and the quality of life of the examined dogs.

This study included twelve dogs suffering from perianal fistulas. Over the course of three months 2500 *Trichuris suis*-eggs were given every other week. The dogs were examined clinically, dermatologically and rectally at every visit (day 0, day 30, day 60 and day 90) rating the perianal lesions with a lesion score. The dog's quality of life was assessed with a questionnaire filled in by the respective owners. The medications needed on already treated dogs were recorded and a medication score was calculated.

Blood samples were taken at the beginning and the end of the study for a complete blood

count.

Unfortunately, neither an improvement of the clinical lesions, nor of the quality of life could be identified after three months. It was not possible to significantly reduce the necessary medication. The comparison of blood samples from the beginning and the end of the study also did not show any noticeable differences.

Therefore, the results of this study suggest that oral *Trichuris suis*-eggs in dogs with perianal fistulas are not an additional treatment option for this disease.



## 8. LITERATURVERZEICHNIS

Barrett JC, Hansoul S, Nicolae DL, Cho JH, Duerr RH, Rioux JD, Brant SR, Silverberg MS, Taylor KD, Barnada MM. Genome-wide association defines more than 30 distinct susceptibility loci for Crohn's disease. *Nature genetics* 2008;40: 955-62.

Bartels KE. Lasers in veterinary medicine-where have we been, and where are we going? *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2002;32: 495.

Bashir ME, Andersen P, Fuss IJ, Shi HN, Nagler-Anderson C. An enteric helminth infection protects against an allergic response to dietary antigen. *J Immunol* 2002;169: 3284-92.

Beale K. Azathioprine for treatment of immune-mediated diseases of dogs and cats. *J Am Vet Med Assoc* 1988;192: 1316.

Berg DJ, Zhang J, Weinstock JV, Ismail HF, Earle KA, Alila H, Pamukcu R, Moore S, Lynch RG. Rapid development of colitis in NSAID-treated IL-10-deficient mice. *Gastroenterology* 2002;123: 1527-42.

Binder V. Genetic epidemiology in inflammatory bowel disease. *Digestive Diseases* 1998;16: 351-5.

Boothe DM, Mealey KA (2001) *Glucocorticoid therapy in the dog and cat*. Saunders W.B., Philadelphia

Brookes MJ, Green JRB. Maintenance of remission in Crohn's disease: current and emerging therapeutic options. *Drugs* 2004;64: 1069-89.

Budsberg S, Spurgeon T, Liggitt H. Anatomic predisposition to perianal fistulae formation in the German shepherd dog. *Am J Vet Res* 1985;46: 1468.

Budsberg SC, Robinette JD, Farrell RK. Cryotherapy performed on perianal fistulas in

dogs. (Washington State University 1976--1980). *Vet Med Small Anim Clin* 1981;76: 667-9.

Burrows C, Ellison GW (1989) *Recto-anal disease*, 3 edn. Saunders W.B., Philadelphia

Carter M, Lobo A, Travis S. Guidelines for the management of inflammatory bowel disease in adults. *Gut* 2004;53: v1-v16.

CHACON O, BERMUDEZ LE, BARLETTA RG. Johne's disease, inflammatory bowel disease, and *Mycobacterium paratuberculosis*. *Annual review of microbiology* 2004;58: 329-63.

Chen W, Jin W, Hardegen N, Lei K-j, Li L, Marinos N, McGrady G, Wahl SM. Conversion of peripheral CD4+ CD25- naive T cells to CD4+ CD25+ regulatory T cells by TGF- $\beta$  induction of transcription factor Foxp3. *The Journal of experimental medicine* 2003;198: 1875-86.

Chiodini RJ, Van Kruiningen HJ, Thayer WR, Merkal RS, Coutu JA. Possible role of mycobacteria in inflammatory bowel disease. *Digestive diseases and sciences* 1984;29: 1073-9.

Collins SM. IV. Modulation of intestinal inflammation by stress: basic mechanisms and clinical relevance. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 2001;280: G315-G8.

Correale J, Farez M. Association between parasite infection and immune responses in multiple sclerosis. *Annals of neurology* 2007;61: 97-108.

Cottone M, Rosselli M, Orlando A, Oliva L, Puleo A, Cappello M, Traina M, Tonelli F, Pagliaro L. Smoking habits and recurrence in Crohn's disease. *GASTROENTEROLOGY-BALTIMORE THEN PHILADELPHIA*- 1994;106: 643-.

Croese J, O'neil J, Masson J, Cooke S, Melrose W, Pritchard D, Speare R. A proof of

concept study establishing *Necator americanus* in Crohn's patients and reservoir donors. *Gut* 2006;55: 136-7.

D'mello A, Venkataramanan R, Satake M, Todo S, Takaya S, Ptachcinski R, Burckart G, Starzl T. Pharmacokinetics of the cyclosporine-ketoconazole interaction in dogs. *Research communications in chemical pathology and pharmacology* 1989;64: 441.

DAHLINGER J, GREGORY C, BEA J. Effect of ketoconazole on cyclosporine dose in healthy dogs. *Veterinary Surgery* 1998;27: 64-8.

Daigle JC. More economical use of cyclosporine through combination drug therapy. *Journal of the American Animal Hospital Association* 2002;38: 205-8.

Danese S, Sans M, Fiocchi C. Inflammatory bowel disease: the role of environmental factors. *Autoimmunity reviews* 2004;3: 394-400.

David ED, Lindquist WD. Determination of the specific gravity of certain helminth eggs using sucrose density gradient centrifugation. *The Journal of Parasitology* 1982: 916-9.

Day M, Weaver B. Pathology of surgically resected tissue from 305 cases of anal furunculosis in the dog. *Journal of small animal practice* 1992;33: 583-9.

Day M. Immunopathology of analfurunculosis in the dog. *Journal of small animal practice* 1993;34: 381-8.

Dignass A, Van Assche G, Lindsay J, Lémann M, Söderholm J, Colombel J, Danese S, D'Hoore A, Gassull M, Gomollón F. The second European evidence-based consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: Current management. *Journal of Crohn's & colitis* 2010;4: 28.

Dodi G, Pirone E, Bettin A, Veller C, Infantino A, Pianon P, Mortellaro L, Lise M. The mycotic flora in proctological patients with and without pruritus ani. *British journal of surgery* 1985;72: 967-9.

Doust R, Griffiths L, Sullivan M. Evaluation of once daily treatment with cyclosporine for anal furunculosis in dogs. *Veterinary record* 2003;152: 225-9.

Dryden MW, Payne PA, Ridley R, Smith V. Comparison of common fecal flotation techniques for the recovery of parasite eggs and oocysts. *Vet Ther* 2005;6: 15-28.

Dudukgian H, Abcarian H. Why do we have so much trouble treating anal fistula? *World J Gastroenterol* 2011;17: 3292-6.

Eason R, Lee S, Tasman-Jones C. Inflammatory bowel disease in Auckland, New Zealand. *Australian and New Zealand journal of medicine* 1982;12: 125-31.

Eckert J, Freidhoff K-T, Zahner H, Deplazes P (2008) *Lehrbuch der Parasitologie für die Tiermedizin*. Enke Verlag, Stuttgart

Elkins A, Hobson H. Management of Perianal Fistulae A Retrospective Study of 23 Cases. *Veterinary Surgery* 1982;11: 110-4.

ELLIOTT DE, URBAN JF, ARGO CK, WEINSTOCK JV. Does the failure to acquire helminthic parasites predispose to Crohn's disease? *The FASEB Journal* 2000;14: 1848-55.

Elliott DE, Setiawan T, Metwali A, Blum A, Urban JF, Weinstock JV. *Heligmosomoides polygyrus* inhibits established colitis in IL-10-deficient mice. *European journal of immunology* 2004;34: 2690-8.

Elliott DE, Summers RW, Weinstock JV. Helminths and the modulation of mucosal inflammation. *Current opinion in gastroenterology* 2005;21: 51-8.

Ellison G. Treatment of perianal fistulas in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1995;206: 1680.

ELLISON GW, BELLAH JR, STUBBS WP, GILDER JVAN. Treatment of perianal fistulas with ND: YAG laser—results in twenty cases. *Veterinary Surgery* 1995;24: 140-7.

Else K. Have gastrointestinal nematodes outwitted the immune system? *Parasite Immunol* 2005;27: 407-15.

Ettinger S, Feldman E (2000) *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. WB Saunders, Philadelphia

Feller M, Huwiler K, Stephan R, Altpeter E, Shang A, Furrer H, Pfyffer GE, Jemmi T, Baumgartner A, Egger M. *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis and Crohn's disease: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2007;7: 607-13.

Fries W, Renda MC, Presti MAL, Raso A, Orlando A, Oliva L, Giofr  MR, Maggio A, Mattaliano A, Macaluso A. Intestinal permeability and genetic determinants in patients, first-degree relatives, and controls in a high-incidence area of Crohn's disease in Southern Italy. *Am J Gastroenterol* 2005;100: 2730-6.

Godet P, May G, Sutherland L. Meta-analysis of the role of oral contraceptive agents in inflammatory bowel disease. *Gut* 1995;37: 668-73.

Gorelik L, Flavell RA. Abrogation of TGF $\beta$  signaling in T cells leads to spontaneous T cell differentiation and autoimmune disease. *Immunity* 2000;12: 171-81.

GORING RL, BRIGHT RM, STANCIL ML. Perianal fistulas in the dog retrospective evaluation of surgical treatment by deroofting and fulguration. *Veterinary Surgery* 1986;15: 392-8.

Graham SP, Trees AJ, Collins RA, Moore DM, Guy FM, Taylor MJ, Bianco AE. Down-regulated lymphoproliferation coincides with parasite maturation and with the collapse of both gamma interferon and interleukin-4 responses in a bovine model of onchocerciasis. *Infect Immun* 2001;69: 4313-9.

Greenstein AJ, Janowitz HD, Sachar DB. The extra-intestinal complications of Crohn's disease and ulcerative colitis: a study of 700 patients. *Medicine* 1976;55: 401.

Griffiths L, Sullivan M, Borland W. Cyclosporin as the sole treatment for anal furunculosis: preliminary results. *Journal of small animal practice* 1999;40: 569-72.

Grimsley SR, Jann MW, Carter JG, D'mello AP, D'souza MJ. Increased carbamazepine plasma concentrations after fluoxetine coadministration. *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 1991;50: 10-5.

Hampe J, Cuthbert A, Croucher P, Mirza M, Mascheretti S, Fisher S, Frenzel H, King K, Hasselmeyer A, MacPherson A. Association between insertion mutation in NOD2 gene and Crohn's disease in German and British populations. *Lancet* 2001;357: 1925.

Hanauer SB, Smith MB. Rapid closure of Crohn's disease fistulas with continuous intravenous cyclosporin A. *Am J Gastroenterol* 1993;88: 646-9.

Hardie R, Gregory S, Tomlin J, Sturgeon C, Lipscomb V, Ladlow J. Cyclosporine treatment of anal furunculosis in 26 dogs. *Journal of small animal practice* 2005;46: 3-9.

Harkin KR, Walshaw R, Mullaney TP. Association of perianal fistula and colitis in the German shepherd dog: response to high-dose prednisone and dietary therapy. *Journal of the American Animal Hospital Association* 1996;32: 515-20.

Hart A, Kamm M. Mechanisms of initiation and perpetuation of gut inflammation by stress. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2002;16: 2017-28.

Harvey CE. Perianal fistula in the dog. *Vet Rec* 1972;91: 25-33.

Hoffmann J, Preiß J, Autschbach F, Buhr H, Häuser W, Herrlinger K, Hçhne W, Koletzko S, Krieglstein C, Kruis W. S3-Leitlinie „Diagnostik und Therapie des Morbus Crohn“ Ergebnisse einer Evidenz-basierten Konsensuskonferenz der Deutschen Gesellschaft für Verdauungs-und Stoffwechselkrankheiten zusammen mit dem Kompetenznetz Chronisch entzündliche Darmerkrankungen#. *Z Gastroenterol* 2008;46: 1094-146.

Houlton J. Canine anal furunculosis: a modified approach. *Journal of small animal practice*

1980a;21: 585-93.

Houlton J. Anal furunculosis: a review of seventy cases. *Journal of small animal practice* 1980b;21: 575-84.

House AK, Gregory SP, Catchpole B. Expression of cytokine mRNA in canine anal furunculosis lesions. *Veterinary record* 2003;153: 354-8.

HOUSE AK, GUITIAN J, GREGORY SP, HARDIE RJ. Evaluation of the effect of two dose rates of cyclosporine on the severity of perianal fistulae lesions and associated clinical signs in dogs. *Veterinary Surgery* 2006;35: 543-9.

Hugot JP, Laurent-Puig P, Gower-Rousseau C, Olson JM, Lee JC, Beaugier L, Naom I, Dupas JL, Van Gossum A, Orholm M. Mapping of a susceptibility locus for Crohn's disease on chromosome 16. 1996;

Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H, Lesage S, Cézard JP, Belaiche J, Almer S, Tysk C, O'Morain CA, Gassull M. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001;411: 599-603.

Hurst MH, Lola SG, Lindberg R. Immunomodulation of the hepatic egg granuloma in *Schistosoma japonicum*-infected pigs. *Parasite Immunol* 2006;28: 681-6.

Jaeger K, Mueller RS. Ätiologie, klinische Symptome und Therapie der Perianalfisteln beim Hund. *Tierärztliche Praxis* 2005;33: 329-32.

Jamieson P, Simpson J, Kirbyand B, Else R. Association between anal furunculosis and colitis in the dog: preliminary observations. *Journal of small animal practice* 2002;43: 109-14.

Johnston D. Surgical diseases (of the rectum and anus). In: *Textbook of Small Animal Surgery*. Slatter DH, ed. Philadelphia: Elsevier Science 1985: 770-94.

Kabashima K, Saji T, Murata T, Nagamachi M, Matsuoka T, Segi E, Tsuboi K, Sugimoto Y, Kobayashi T, Miyachi Y. The prostaglandin receptor EP4 suppresses colitis, mucosal damage and CD4 cell activation in the gut. *Journal of Clinical Investigation* 2002;109: 883-94.

Killingsworth CR, Walshaw R, Dunstan RW, Rosser EJ, Jr. Bacterial population and histologic changes in dogs with perianal fistula. *Am J Vet Res* 1988;49: 1736-41.

Kringel H, Roepstorff A. *Trichuris suis* excretory/secretory antigen-specific antibodies in serum from single-inoculated pigs. *Parasite Immunol* 2007;29: 327-30.

Kuballa P, Huett A, Rioux JD, Daly MJ, Xavier RJ. Impaired autophagy of an intracellular pathogen induced by a Crohn's disease associated ATG16L1 variant. *PloS one* 2008;3: e3391.

Laeijendecker R, Tank B, Dekker SK, Neumann H. A comparison of treatment of oral lichen planus with topical tacrolimus and triamcinolone acetonide ointment. *Acta dermatovenereologica* 2006;86: 227-9.

Lane J, Burch D. The cryosurgical treatment of canine anal furunculosis. *Journal of small animal practice* 1975;16: 387-92.

Lauerma A, Surber C, Maibach H. Absorption of topical tacrolimus (FK506) in vitro through human skin: comparison with cyclosporin A. *Skin Pharmacology and Physiology* 1997;10: 230-4.

Leib MS, Matz ME (1995) *Diseases of the large intestine*, 4 edn. Saunders, Philadelphia

Lennard-Jones J. Classification of inflammatory bowel disease. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 1989;24: 2-6.

Lima C, Perini A, Garcia ML, Martins MA, Teixeira MM, Macedo MS. Eosinophilic inflammation and airway hyper-responsiveness are profoundly inhibited by a helminth



(*Ascaris suum*) extract in a murine model of asthma. *Clin Exp Allergy* 2002;32: 1659-66.

Liska W, Greiner T, Withrow S. Symposium on surgical techniques in small animal practice. Cryosurgery in the treatment of perianal fistulae. *The Veterinary clinics of North America* 1975;5: 449.

Lobo A, Juby L, Rothwell J, Poole T, Axon A. Long-term treatment of Crohn's disease with cyclosporine: the effect of a very low dose on maintenance of remission. *Journal of clinical gastroenterology* 1991;13: 42.

Macpherson A, Khoo U, Forgacs I, Philpott-Howard J, Bjarnason I. Mucosal antibodies in inflammatory bowel disease are directed against intestinal bacteria. *Gut* 1996;38: 365-75.

Mahida YR, Rolfe VE. Host-bacterial interactions in inflammatory bowel disease. *Clinical Science* 2004;107: 331-41.

Mangan NE, Fallon RE, Smith P, van Rooijen N, McKenzie AN, Fallon PG. Helminth infection protects mice from anaphylaxis via IL-10-producing B cells. *J Immunol* 2004;173: 6346-56.

Marie JC, Letterio JJ, Gavin M, Rudensky AY. TGF- $\beta$ 1 maintains suppressor function and Foxp3 expression in CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> regulatory T cells. *The Journal of experimental medicine* 2005;201: 1061-7.

Máthé A, Vörös K, Papp L, Reiczigel J. Clinical manifestations of canine babesiosis in Hungary (63 cases). *Acta Veterinaria Hungarica* 2006;54: 367-85.

Mathews KA, Ayres SA, Tano CA, Riley SM, Sukhiani HR, Adams C. Cyclosporin treatment of perianal fistulas in dogs. *Can Vet J* 1997;38: 39-41.

Mathews KA, Sukhiani HR. Randomized controlled trial of cyclosporine for treatment of perianal fistulas in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1997;211: 1249-53.

Matushek K, Rosin E. Perianal fistulas in dogs. The Compendium on continuing education for the practicing veterinarian 1991;13

Mayberry J, Mann R. Inflammatory bowel disease in rural sub-Saharan Africa: rarity of diagnosis in patients attending mission hospitals. Digestion 1989;44: 172.

McAnulty J, Lensmeyer G. The effects of ketoconazole on the pharmacokinetics of cyclosporine A in cats. Veterinary surgery: VS 1999;28: 448.

Misseghers BS, Binnington AG, Mathews KA. Clinical observations of the treatment of canine perianal fistulas with topical tacrolimus in 10 dogs. The Canadian Veterinary Journal 2000;41: 623.

Morita N, Toki S, Hirohashi T, Minoda T, Ogawa K, Kono S, Tamakoshi A, Ohno Y, Sawada T, Muto T. Incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in Japan: nationwide epidemiological survey during the year 1991. Journal of gastroenterology 1995;30: 1-4.

Motomura Y, Wang H, Deng Y, El-Sharkawy R, Verdu E, Khan W. Helminth antigen-based strategy to ameliorate inflammation in an experimental model of colitis. Clinical & Experimental Immunology 2009;155: 88-95.

Mouatt J. Cyclosporin and ketoconazole interaction for treatment of perianal fistulas in the dog. Australian Veterinary Journal 2002;80: 207-11.

Mueller R, Specht L, Helmer M, Epe C, Wolken S, Denk D, Majzoub M, Sauter-Luis C. The effect of nematode administration on canine atopic dermatitis. Veterinary Parasitology 2011;181: 203-9.

Myre S, Schoeder T, Grund V, Wandstrat T, Nicely P, Pesce A, First M. Critical ketoconazole dosage range for ciclosporin clearance inhibition in the dog. Pharmacology 1991;43: 233-41.

Nelson J, Berns M. Basic laser physics and tissue interactions. *Contemp Dermatol* 1988;2: 3-15.

O'Neill T, Edwards G, Holloway S. Efficacy of combined cyclosporine A and ketoconazole treatment of anal furunculosis. *Journal of small animal practice* 2004;45: 238-43.

Ogorek CP, Fisher RS. Differentiation between Crohn's disease and ulcerative colitis. *The Medical clinics of North America* 1994;78: 1249.

Ogura Y, Bonen DK, Inohara N, Nicolae DL, Chen FF, Ramos R, Britton H, Moran T, Karaliuskas R, Duerr RH. A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001;411: 603-6.

Okada H, Kuhn C, Feillet H, Bach JF. The 'hygiene hypothesis' for autoimmune and allergic diseases: an update. *Clinical & Experimental Immunology* 2010;160: 1-9.

Osada Y, Kanazawa T. Parasitic helminths: new weapons against immunological disorders. *J Biomed Biotechnol* 2010;2010: 743758.

Panzer M, Sitte S, Wirth S, Drexler I, Sparwasser T, Voehringer D. Rapid In Vivo Conversion of Effector T Cells into Th2 Cells during Helminth Infection. *The Journal of Immunology* 2012;188: 615-23.

Papich MG (1995) *Antimicrobial drugs*, 4 edn. Saunders, Philadelphia

Patricelli AJ, Hardie RJ, McAnulty JF. Cyclosporine and ketoconazole for the treatment of perianal fistulas in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 2002;220: 1009-16.

Patterson AP, Campbell KL. Managing anal furunculosis in dogs. *Compendium* 2005;

Plumb D (1999) *Plumb's Veterinary Drug Handbook*, ed 3. Ames. Iowa State University Press, Iowa. 424-8

Present DH, Lichtiger S. Efficacy of cyclosporine in treatment of fistula of Crohn's disease. *Digestive diseases and sciences* 1994;39: 374-80.

Proverbio D, Perego R, Spada E, Ferro E. Prevalence of adverse food reactions in 130 dogs in Italy with dermatological signs: a retrospective study. *Journal of small animal practice* 2010;51: 370-4.

Rennick DM, Fort MM. Lessons from genetically engineered animal models. XII. IL-10-deficient (IL-10 (-/-) mice and intestinal inflammation. *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology* 2000;278: G829.

Robins G, Lane J. The management of anal furunculosis\*. *Journal of small animal practice* 1973;14: 333-42.

Rommel, Eckert J, Kutzer, Körting, Schnieder (2006) *Veterinärmedizinische Parasitologie*. Thomas Schnieder, Stuttgart

Sartor RB. Current concepts of the etiology and pathogenesis of ulcerative colitis and Crohn's disease. *Gastroenterology Clinics of North America* 1995;24: 475.

Sartor RB. Mechanisms of disease: pathogenesis of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Nature Clinical Practice Gastroenterology and Hepatology* 2006;3: 390.

Seim HB, 3rd. Mechanisms of cold-induced cellular death. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1980;10: 755-62.

Shanahan F. Crohn's disease. *Lancet* 2002;359: 62-8.

Shipstone M. Generalised demodicosis in dogs, clinical perspective. *Australian Veterinary Journal* 2000;78: 240-2.

Shivananda S, Lennard-Jones J, Logan R, Fear N, Price A, Carpenter L, Van Blankenstein M. Incidence of inflammatory bowel disease across Europe: is there a difference between

north and south? Results of the European Collaborative Study on Inflammatory Bowel Disease (EC-IBD). *Gut* 1996;39: 690-7.

Silverstein M, Lashner B, Hanauer S, Evans A, Kirsner J. Cigarette smoking in Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 1989;84: 31.

Sonnenberg A, McCarty D, Jacobsen S. Geographic variation of inflammatory bowel disease within the United States. *Gastroenterology* 1991;100: 143.

Specht LC (2011) Plazebokontrollierte Doppelblindstudie zur Immunmodulation der kaninen atopischen Dermatitis durch Helminthen. Ludwig-Maximilians-Universität München

Spencer C, Goa K, Gillis J. Tacrolimus. An update of its pharmacology and clinical efficacy in the management of organ transplantation. *Drugs* 1997;54: 925.

Stange E, Travis S, Vermeire S, Beglinger C, Kupcinkas L, Geboes K, Barakauskiene A, Villanacci V, Von Herbay A, Warren B. European evidence based consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: definitions and diagnosis. *Gut* 2006;55: i1-i15.

Strachan DP. Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ: British Medical Journal* 1989;299: 1259.

Summers R, Elliott D, Urban Jr J, Thompson R, Weinstock J. *Trichuris suis* therapy in Crohn's disease. *Gut* 2005a;54: 87-90.

Summers RW, Elliott DE, Qadir K, Urban JF, Thompson R, Weinstock JV. *Trichuris suis* seems to be safe and possibly effective in the treatment of inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2003;98: 2034-41.

SUMMERS RW, THO A. *Trichuris suis* Therapy for Active Ulcerative Colitis: A Randomized Controlled Trial. *Gastroenterology* 2005;128: 825-32.

Summers RW, Elliott DE, Urban JF, Jr., Thompson R, Weinstock JV. Trichuris suis therapy in Crohn's disease. *Gut* 2005b;54: 87-90.

SW C (1993) *Surgical lasers*, 2nd edn. Saunders W.B., Philadelphia

Swift G, Srivastava E, Stone R, Pullan R, Newcombe R, Rhodes J, Wilkinson S, Rhodes P, Roberts G, Lawrie B. Controlled trial of anti-tuberculous chemotherapy for two years in Crohn's disease. *Gut* 1994;35: 363-8.

Takara MS, Bissett S. Perianal Fistulas. *Standards of Care: Emergency and critical care medicine* 2009;11.3: 1-4.

Tarello W. Babesiosis as an underlying factor influencing the severity and duration of perianal fistulas in three dogs. *Revue de Medecine Veterinaire* 2001;152: 83-8.

Taxonera C, Schwartz DA, García-Olmo D. Emerging treatments for complex perianal fistula in Crohn's disease. *World J Gastroenterol* 2009;15: 4263-72.

Timmer A, Breuer-Katschinski B, Goebell H. Time trends in the incidence and disease location of Crohn's disease 1980–1995; a prospective analysis in an urban population in Germany. *Inflamm Bowel Dis* 1999;5: 79-84.

Tisdall P, Hunt G, Beck J, Malik R. Management of perianal fistulae in five dogs using azathioprine and metronidazole prior to surgery. *Australian Veterinary Journal* 1999;77: 374-8.

Van Assche G, Dignass A, Panes J, Beaugerie L, Karagiannis J, Allez M, Ochsenkühn T, Orchard T, Rogler G, Louis E. The second European evidence-based Consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: Definitions and diagnosis. *Journal of Crohn's & colitis* 2010;4: 7.

van den Biggelaar AH, Rodrigues LC, van Ree R, van der Zee JS, Hoeksma-Kruize YC, Souverijn JH, Missinou MA, Borrmann S, Kreamsner PG, Yazdanbakhsh M. Long-term

treatment of intestinal helminths increases mite skin-test reactivity in Gabonese schoolchildren. *J Infect Dis* 2004a;189: 892-900.

van den Biggelaar AHJ, Rodrigues LC, van Ree R, van der Zee JS, Hoeksma-Kruize YCM, Souverijn JHM, Missinou MA, Borrmann S, Kremsner PG, Yazdanbakhsh M. Long-term treatment of intestinal helminths increases mite skin-test reactivity in Gabonese schoolchildren. *Journal of infectious Diseases* 2004b;189: 892-900.

Van Den Bogaerde J, Cahill J, Emmanuel A, Vaizey C, Talbot I, Knight S, Kamm M. Gut mucosal response to food antigens in Crohn's disease. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2002;16: 1903-15.

Van Fe R, Palminteri A. Tail amputation for treatment of perianal fistulas in dogs. *The Journal of the American Animal Hospital Association* 1987;23

Van Heel D, McGovern D, Jewell D. Crohn's disease: genetic susceptibility, bacteria, and innate immunity. *Lancet* 2001;357: 1902-4.

Van Hees P, Van Elteren P, Van Lier H, Van Tongeren J. An index of inflammatory activity in patients with Crohn's disease. *Gut* 1980;21: 279-86.

Vasseur P. Perianal fistulae in dogs: a retrospective analysis of surgical techniques. *The Journal of the American Animal Hospital Association* 1981;17

Vasseur P. Results of surgical excision of perianal fistulas in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1984;185

Walshaw R, Harvey C. The rectum and anus. *Pathophysiology in Small Animal Surgery*. Bojrab MJ Lea-Febiger. Philadelphia. 118 1981;127

Weinstock J, Summers R, Elliott D. Helminths and harmony. *Gut* 2004;53: 7-9.

Weinstock JV, Summers RW, Elliott DE (2005) Role of helminths in regulating mucosal

inflammation. Springer seminars in immunopathology. 249-71

Weinstock JV, Elliott DE. Helminths and the IBD hygiene hypothesis. *Inflamm Bowel Dis* 2009;15: 128-33.

Welch Fossum T (2006) *Chirurgie der Kleintiere*. Urban & Fischer Verlag/Elsevier GmbH, München

Wiederrecht G, Lam E, Hung S, Martin M, Sigal N. The mechanism of action of FK-506 and cyclosporin A. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1993;696: 9-19.

Withrow S, GREINER T, Liska W. Cryosurgery: veterinary considerations. *Journal of the American Animal Hospital Association* 1975;11: 271-82.

Xavier R, Podolsky D. Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature* 2007;448: 427-34.

Yazdanbakhsh M, Kreamsner PG, van Ree R. Allergy, parasites, and the hygiene hypothesis. *Science* 2002;296: 490-4.

Yoshida EM. The Crohn's Disease Activity Index, its derivatives and the Inflammatory Bowel Disease Questionnaire: a review of instruments to assess Crohn's disease. *Canadian journal of gastroenterology= Journal canadien de gastroenterologie* 1999;13: 65.

Yuzawa K, Taniguchi H, Seino K, Otsuka M, Fukao K. Topical immunosuppression in skin grafting with FK 506 ointment. *Transplant Proc* 1996;28: 1387-9.



## 9. ANHANG

### 9.1 Abbildungsverzeichnis

	<b>Seite</b>
Abbildung 1: Embryoniertes <i>Trichuris suis</i> -Ei	43
Abbildung 2: Läsions-Score vor und nach der Therapie mit <i>Trichuris suis</i>	47
Abbildung 3: Medikamenten-Score vor und nach der Therapie mit <i>Trichuris suis</i>	49

### 9.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Läsions-Score	39
Tabelle 2: Reduktionsschema für Medikamente	40
Tabelle 3: Teilnehmende Hunderassen und Zahl der dazugehörigen Tiere	46
Tabelle 4: Vergleich des Läsions-Scores vor und nach der Studie	46
Tabelle 5: Beurteilung der Lebensqualität	48
Tabelle 6: Vergleich der Medikamenten-Scores vor und nach der Studie	49
Tabelle 7: p-Wert der einzelnen Blutparameter	50

### 9.3 Anhang 1: Besitzereinverständniserklärung

#### Besitzer Einverständniserklärung

Ich stimme der Teilnahme meines Tieres an der Studie „**Therapie von Perianalfisteln beim Hund mit *Trichuris suis***“ zu, in der die Beeinflussung des Immunsystems durch Würmer untersucht wird. Ich verstehe, dass mein Tier an einer klinischen Studie teilnimmt. Entsprechend dem Studienprotokoll werden meinem Hund Wurmeier von *Trichuris suis* verabreicht. Dieser Wurm entwickelt sich nur in Schweinen, nicht beim Hund. Zusätzlich gebe ich mein Einverständnis, dass bei meinem Hund beim ersten und letzten Besuch 2 ml Blut entnommen werden.

Ich wurde über potentielle Risiken (v.a. gastrointestinale Symptome) und Nutzen der Studie (Verbesserung therapeutischer Behandlungsmöglichkeiten bei Perianalfisteln) aufgeklärt. Ich werde im Rahmen der mir zur Verfügung stehenden Möglichkeiten die Vorgabe der Studie erfüllen und mein Tier für drei Monate monatlich zu Kontroll-Untersuchungen vorstellen. Die Kosten der sich wiederholenden Untersuchungen und *Trichuris suis*-Behandlungen innerhalb der Studie werden von der Abteilung für Dermatologie der Medizinischen Kleintierklinik München übernommen, wenn ich allerdings selbstständig die Studie abbreche, werden die Besuche nachträglich in Rechnung gestellt.

Für das über das Studienprotokoll hinausgehende Untersuchungen und Behandlungen können keine Kosten übernommen werden. Ebenso wenig können leider Kosten für während der Studie weitergeführte Therapien (Atopica, Metronidazol, Prednisolon, Protopic etc.) übernommen werden.

---

Tierbesitzer (Ort, Datum, Unterschrift)

---

Zeuge (Ort, Datum, Unterschrift)

## 9.4 Anhang 2: Läsions-Score

### Perianalfisteln beim Hund mit *Trichuris suis*-Therapie

#### Ablauf der Kontrolluntersuchungen

Name:

Veteranr:

Datum:

#### **Klinische Allgemeinuntersuchung:**

Temperatur

Schleimhäute

KFZ

Lymphknoten

Palpation Abdomen

Herzauskultation

LungenauskuItation

Otoskopische US

<b>Dermatologische Untersuchung:</b>
Kopf
Rumpf
Vordergliedmaßen
Hintergliedmaßen

**Rektale Untersuchung:****Schweregrad der Perianalfisteln**

Anzahl der Fisteln	Punkte x 2=
--------------------	-------------

	<b>Geringgradig ( = 1 )</b>	<b>Mittelgradig ( = 2 )</b>	<b>Hochgradig ( = 3 )</b>	<b>Gesamtpunkt- zahl x 2</b>
<b>Tiefe der Fistel</b>	Oberflächliche Fistel (< 1 cm)	Mitteltiefe Fisteln (1 – 2 cm)	Tiefe Fisteln (> 2cm)	
<b>Betroffene Fläche</b>	Weniger als 90° des Anus involviert	90 – 180° des Anus involviert	Mehr als 180° des Anus invol- viert	
<b>Rektale Strikturen und Ste- nosen</b>	Geringe, aber gerade noch palpierbare Narbengewebe und Strikturen	Mittelgradige Stenosen, digitale Pal- pation mög- lich	Hochgradige Stenosen, Palpation nicht mög- lich	

## 9.5 Anhang 3: Medikamenten-Score

### Medikamenten- Score

Name:

Veteranr:

Datum:

Tag

o 0

o 30

o 60

o 90

<b>Protopic</b>	Bei 2 mal täglich Gabe: <b>10 Punkte</b>	Bei täglicher Gabe: <b>5 Punkte</b>	Seltener: <b>3 Punkte</b>	<b>Punkt- zahl:</b>
<b>Zyklosporin</b>	Bei täglicher Gabe: <b>20 Punkte</b>	Bei Gabe jeden 2.Tag: <b>15 Punkte</b>	Bei 2 mal wöchentli- cher Gabe: <b>10 Punkte</b>	
<b>Metronidazol</b>	Gesamtdosis 20 mg/kg/Tag oder mehr: <b>10 Punkte</b>	Gesamtdosis unter 20 mg/kg/Tag <b>5 Punkte</b>		
<b>Prednisolon</b>	Gesamtdosis 1 mg/kg/Tag oder mehr: <b>20 Punkte</b>	Gesamtdosis 0,2- 1 mg/kg/Tag oder mehr: <b>15 Punkte</b>	Gesamtdosis unter 0,2 mg/kg/Tag: <b>10 Punkte</b>	
<b>Lokales Glukokorti- koid</b>	Bei täglicher Gabe: <b>5 Punkte</b>	Seltener: <b>3 Punkte</b>		

## 9.6 Anhang 4: Fragebogen für Besitzer

Bewertung	1	2	3	4	5	6	7
Aktivität des Hundes (1 = stark eingeschränkt, 7 = normal)							
Zuneigung zum Besitzer (1 = nicht vorhanden, 7 = sehr stark)							
Appetit (1 = kaum Appetit, 7 = extrem starker Appetit)							
Körpergewicht (1 = abgemagert, 7 = stark übergewichtig)							
Stuhl-Konsistenz (1 = wässriger Durchfall, 7 = fester Kot)							
Angemessenheit der Stelle des Stuhlabsatzes (1 = setzt überall ohne Kontrolle Stuhl ab, 7 = angemessen)							
Lautgeben während des Stuhlabsatzes (1 = kein Lautgeben, 7 = starke, laute Schmerzáußerung)							
Schwierigkeiten beim Stuhlabsatz (1 = keine Schwierigkeiten, 7 = sehr starke Schwierigkeiten)							
Stuhl-Inkontinenz (1 = verliert andauernd geringe Mengen an Kot, 7 = kein ungewollter Kotabsatz)							
Häufigkeit von Lecken, Knabbern, Beißen im Analbereich (1 = fast andauernd, 7 = gar nicht)							
Qualität des Haarkleides (1 = stumpf, schlecht, 7 = ausgezeichnet)							
Lebensqualität (1 = stark beeinträchtigt, schlecht, 7 = ausgezeichnet)							



## 10. DANKSAGUNG

An erster Stelle gilt mein Dank meinem Doktorvater Professor Dr. Ralf Müller für seine erstklassige Betreuung. In den beiden Jahren der Promotion bestand jederzeit ein sehr angenehmes und freundschaftliches Miteinander, alle Fragen und Probleme wurden umgehend gehört und unkompliziert geklärt. Er riss mich in den fachlichen Gesprächen in seiner Begeisterung für die Tiermedizin und speziell für die Dermatologie mit und bestätigte mich in meinem gesamten klinischen Arbeiten. Von ihm lernen zu dürfen war von großer Bedeutung für mich.

Daneben danke ich auch Frau Professor Kathrin Hartmann, dass ich die Möglichkeit bekam, meine Doktorarbeit in der Medizinischen Kleintierklinik München anzufertigen.

Ich möchte mich außerdem bei Frau Dr. Karin Weber bedanken, die mir immer wieder beim schier nicht enden wollenden Thema „Tierversuchsantrag“ weiterhalf.

Ein großer Dank gilt auch Herrn Detlev Goj von der Firma Ovamed, der freundlicherweise alle für die Studie benötigten *Trichuris suis*-Lösungen kostenlos zur Verfügung stellte. Damit erleichterte er die Finanzierung und Durchführung dieser Studie erheblich.

Natürlich möchte ich mich an dieser Stelle auch bei allen Besitzern und Hunden, die sich zur Teilnahme an der Studie bereit erklärt haben, bedanken. Ohne ihre Kooperation und ihr Engagement wäre die Studie nicht möglich gewesen.

Ein ganz besonderer Dank geht an die Mitarbeiter der Medizinischen Kleintierklinik. Ich danke euch allen für die wunderschönen zwei Jahre, in denen ich jeden Tag gerne in die Klinik ging und mich auf Grund eurer Herzlichkeit und Offenheit dort so unglaublich wohl fühlte. Bei allen Widrigkeiten verband uns alle immer die gemeinsame Liebe zu den Tieren, sodass wir stets als Team zusammenarbeiteten.

Im Besonderen möchte ich dem Laborpersonal der Medizinischen Kleintierklinik für das Bearbeiten der Kot- und Blutproben danken. Des Weiteren möchte ich meine Kollegen der dermatologischen Abteilung noch gesondert erwähnen. Herzlichen Dank, liebe Cornelia Johansen und lieber Stefan Hobi, für alles, was ich von euch lernen durfte und die Freude, welche wir beim Arbeiten gemeinsam hatten. Ein riesengroßes Dankeschön möchte ich Amelie von Voigt-Retz aussprechen, die uns oft helfend beiseite stand und so manches Mal auch unsere Nerven heilend versorgte. Ganz herzlich bedanke ich mich bei meinen Mitdoktoranden Martina Eichenseer, Christoph Klinger, Maritta von Silva-Tarouca, Mai



---

Rose Müller und Florian Seckerdieck. Sie haben ganz wesentlich dazu beigetragen, dass mir die Zeit der Promotion so positiv in Erinnerung bleiben wird. Danke, dass ihr mir stets nicht nur Kollegen, sondern auch Freunde wart.

Der größte Dank gebührt meinen Eltern, ohne die weder das Studium der Tiermedizin, noch die anschließende Doktorarbeit möglich gewesen wäre. Ich bin unwahrscheinlich glücklich, euch beide als Eltern zu haben und danke euch dafür, dass ihr mich immer in allen meinen Vorhaben unterstützt und gefördert habt. Ohne euch hätte ich meine Berufung nicht zum Beruf machen können. Ich liebe euch.

Der letzte Dank geht an meinen smarten Kottan, der in mir den Wunsch Tierärztin zu werden, geweckt hat. Ich hoffe, wir werden uns eines Tages wiedersehen.