

**Colon-Biopsien beim Hund - Histopathologie
und klinische Befunde in einer retrospektiven Studie**

von Benjamin Siegfried Rudolf Windt

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

**Colon-Biopsien beim Hund - Histopathologie
und klinische Befunde in einer retrospektiven Studie**

von Benjamin Siegfried Rudolf Windt
aus Schwabach

München 2019

Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Lehrstuhl für Allgemeine Pathologie und Pathologische Anatomie

Arbeit angefertigt unter der Leitung von:

Univ.-Prof. Dr. Walter Hermanns

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Walter Hermanns

Korreferent: Priv. Doz. Dr. Stefan Unterer

Tag der Promotion: 25. Februar 2019

Denen die an mich glaubten, glauben und glauben werden.

INHALTSVERZEICHNIS

1.	EINLEITUNG	1
2.	LITERATURÜBERSICHT	3
2.1.	Vorbemerkung	3
2.2.	Lymphoplasmazelluläre Darmentzündung	3
2.2.1.	Morphologie der lymphoplasmazellulären Darmentzündung	3
2.2.2.	Plasmazellen und B-Lymphozyten bei lymphoplasmazellulärer Darmentzündung	5
2.2.3.	T-Lymphozyten bei lymphoplasmazellulärer Darmentzündung	6
2.2.4.	Intraepitheliale Lymphozyten bei lymphoplasmazellulärer Darmentzündung	7
2.2.5.	Foxp3 positive Lymphozyten bei lymphoplasmazellulärer Darmentzündung	8
2.2.6.	Makrophagen und Dendritische Zellen bei lymphoplasmazellulärer Darmentzündung	9
2.2.7.	Mastzellen bei lymphoplasmazellulärer Darmentzündung	10
2.2.8.	Zytokine bei lymphoplasmazellulärer Darmentzündung	10
2.2.9.	Pattern-Recognition-Receptors bei lymphoplasmazellulärer Darmentzündung	15
2.2.10.	Enterales Mikrobiom bei lymphoplasmazellulärer Darmentzündung	17
2.3.	Eosinophile Colitis	20
2.3.1.	Allgemeine Vorbemerkung	20
2.3.2.	Allgemeine Morphologie der eosinophilen Entzündung im Verdauungstrakt	21
2.3.3.	Diffuse eosinophile Colitis	23
2.3.4.	Noduläre oder granulomatöse eosinophile Enteritis	24
2.4.	Histiozytäre ulzerative Colitis (HUC)	25
2.4.1.	Klinik der histiozytären ulzerativen Colitis	25
2.4.2.	Ätiologie und Pathogenese der histiozytären ulzerativen Colitis	25
2.4.3.	Makroskopische Befunde der histiozytären ulzerativen Colitis	26
2.4.4.	Histologische Befunde bei histiozytären ulzerativen Colitis	27
2.4.5.	Elektronenmikroskopische Befunde bei der histiozytären ulzerativen Colitis	28
2.4.6.	Ätiologische Untersuchungen zur histiozytären ulzerativen Colitis	29

2.4.7.	Offene Fragen zur histiozytären ulzerativen Colitis	29
2.5.	Protothekose	29
2.5.1.	Erreger der Protothekose	29
2.5.2.	Pathogenese der Protothekose	30
2.5.3.	Kasuistik zur Protothekose	30
2.5.4.	Makroskopische Befunde bei der Protothekose	33
2.5.5.	Histologische Befunde bei der Protothekose	33
2.5.6.	Elektronenmikroskopische Befunde bei der Protothekose	34
2.6.	Tumoren des Dickdarms	34
3.	MATERIAL UND METHODEN	35
3.1	Material	35
3.2.	Gewinnung der Biopsien	35
3.3.	Verarbeitung der Biopsien	36
3.4.	Auswertungskriterien	37
3.4.1.	Auswertung von Signalement	37
3.4.2.	Auswertung von Anamnese und Endoskopiebefund	37
3.4.3.	Histologische Untersuchung	38
3.4.3.1.	Beurteilbarkeit der Biopsien	38
3.4.3.2.	Histologische Befunderhebung	38
3.4.3.3.	Histopathologische Diagnosen	41
4.	ERGEBNISSE	43
4.1.	Beschreibung der histopathologischen Befunden	43
4.2.	Auswertung der Patienten mit vorliegenden klinischen Befunden	57
4.2.1.	Auswertung von Signalement und Anamnese	57
4.2.2.	Auswertung der Endoskopiebefunde	60
4.3.	Histologische Auswertung der Biopsien	60
4.3.1.	Auswertung der Patientengruppe 1	60
4.3.1.1.	Histopathologische Befund	61
4.3.1.2.	Histopathologische Diagnosen	62
4.3.2.	Auswertung der Patientengruppen 2	62
4.3.2.1.	Histopathologische Befunde	62
4.3.2.2.	Histopathologische Diagnosen	63
4.3.3.	Auswertung der Hunde der Kontrollgruppe	64
4.3.3.1.	Histopathologische Befunde	64

4.3.3.2.	Histopathologische Diagnosen	66
4.4.	Vergleichende Gegenüberstellung der Ergebnisse der histologischen Auswertung der Biopsien	66
4.4.1.	Vergleich der histologischen Befunde zwischen den einzelnen Gruppen	67
4.4.2.	Gegenüberstellung von Vorbericht/klinischem Bild und histopathologischen Veränderungen	69
4.4.2.1.	Endoskopiebefunde versus Histologiebefunde	69
4.4.2.2.	Histologiebefunde in Abhängigkeit von der Erkrankungsdauer	70
4.4.2.3.	Verteilung der histologischen Befunde in Abhängigkeit vom Patientenalter	70
4.4.2.4.	Begleitende klinische und histopathologische Befunde bei Patienten mit histologisch diagnostizierten Neoplasien	71
5.	DISKUSSION	73
5.1.	Zusammenhang von Befund und Signalement / Vorbericht	73
5.1.1.	Rassedisposition	73
5.1.2.	Altersabhängigkeit	73
5.1.3.	Abhängigkeit von der Krankheitsdauer	74
5.1.4.	Abhängigkeit der histopathologischen Diagnosen von der Anamnese	74
5.2.	Nicht-entzündliche histopathologische Veränderungen	74
5.2.1.	Freie Zellverbände	74
5.2.2.	Schleimanhaftung und Nachweis von Bakterien	75
5.2.3.	Schleimhaut-assoziiertes lymphatisches Gewebe (GALT)	75
5.3.	Entzündliche Veränderungen	76
5.3.1.	Lymphoplasmazelluläre Colitis	76
5.3.2.	Eosinophile Colitis	79
5.3.3.	Protothekose	80
5.3.4.	Histiozytäre ulzerative Colitis	80
5.3.5.	Veränderungen des Epithels (Erosionen / Ulcera)	81
5.4.	Neoplasien	81
5.5.	Klinische Wertigkeit der histopathologischen Diagnosen	82
5.6.	Schlußfolgerungen	83
6.	ZUSAMMENFASSUNG	85

7.	SUMMARY	87
8.	LITERATURVERZEICHNIS	89
11.	DANKSAGUNG	105

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

CD	Cluster of Differentiation
CCECAI	Canine Chronic Enteropathy Clinical Activity Index
CIBDAI	Canine IBD Activity Index
FRD	Fütterungs-Responsive Darmentzündung
HUC	Histiozytäre ulzerative Colitis
IBD	Inflammatory Bowel Disease
IEL	Intraepiteliale Lymphozyten
MHC	Major Histocompatibility Complex
mRNA	messenger Ribonucleic Acid
P.w.	<i>Prototheca wickerhamii</i>
P.z.	<i>Prototheca zopfii</i>
TCR	T-Zell-Rezeptor

1. EINLEITUNG

In der Humanmedizin ist die Koloskopie seit Jahrzehnten sowohl zu diagnostischen wie auch zu therapeutisch und zu Prophylaxezwecken etabliert. Obgleich diese Endoskopieform seit Jahren auch in der Tiermedizin routinemäßig durchgeführt wird, bleibt ihr Stellenwert hier zumeist auf die diagnostische Klärung klinischer Befunde beschränkt. Nach der optischen Befunderhebung im Zuge der Endoskopie werden zumeist Biopsien entnommen, und die letztliche Diagnosestellung bleibt der mit der Auswertung betrauten Pathologie vorbehalten.

In den vergangenen Jahren sind zahlreiche Arbeiten zu chronischen Darmentzündungen beim Hund erschienen, die zumeist den Stand der methodischen Entwicklung widerspiegeln. Auch hat es nicht an Versuchen gemangelt, Systeme zur Beurteilung von Darmbiopsien des Hundes zu etablieren.

Anders als in der Humanpathologie ist in der Tiermedizin jedoch bis heute nicht gelungen, ein überzeugendes histologisches Beurteilungsschema für Kolonbiopate zu schaffen. Somit hängt das Ergebnis der Untersuchung immer noch maßgeblich von der subjektiven Beurteilung des jeweiligen Pathologen ab. Der Kliniker sieht sich daher mitunter mit histologischen Befunden konfrontiert, die mit den klinischen oder endoskopischen Befunden nicht ohne weiteres in Einklang zu bringen sind.

Ziel der vorliegenden Arbeit soll es nicht sein, ein weiteres standardisiertes Verfahren zur Befunderhebung zu erarbeiten, vielmehr soll versucht werden, die histopathologischen Befunde einer repräsentativen Fallzahl vergleichend zu wichten, um sie dann als histopathologische Diagnosen zu formulieren. Diese sollen anschließend dem klinischen Befund gegenübergestellt werden, um die diagnostische Wertigkeit der Kolonbiopsie zu hinterfragen.

2. LITERATURÜBERSICHT

2.1. Vorbemerkung

Die chronischen Darmentzündungen des Hundes umfassen eine Reihe von unterschiedlich gut morphologisch definierten Krankheiten, wie chronische lymphoplasmazelluläre Darmentzündung, eosinophile Darmentzündung, histiozytäre ulzerative Darmentzündung. Da diese Entzündungen unterschiedliche Anteile des Magendarmtrakts betreffen können, wird hier als Oberbegriff „Darmentzündung“ verwendet, da mit dem Begriff „Enteritis“ zumeist nur Entzündungen des Dünndarms gemeint sind. In den folgenden Unterkapiteln werden die wichtigsten chronischen Krankheiten des Darms beim Hund beschrieben, die Arbeiten sind zumeist chronologisch aufgeführt.

2.2. Lymphoplasmazelluläre Darmentzündung

2.2.1. Morphologie der lymphoplasmazellulären Darmentzündung

Das Bild der lymphoplasmazellulären Darmentzündung ist bereits treffend umrissen in einer der ersten Veröffentlichungen von Hayden und van Kruiningen (1982): „Lymphocytic-plasmacytic enteritis is characterized morphologically by diffuse infiltrates of lymphocytes and plasma cells in small bowel mucosa.“ und weiter „Lymphocytic-plasmacytic enteritis is a morphologic designation, convenient for categorizing one group of chronic canine diarrheas.“ In den nachfolgenden Veröffentlichungen werden zumeist nur noch einzelne Details hinzugefügt, wie Arbeiten zu den einzelnen beteiligten Zellarten (Plasmazellen, Lymphozyten, Makrophagen, dendritische Zellen, Mastzellen, eosinophile Granulozyten und ggf. ihren Subpopulationen (T-, B-Lymphozyten, intraepitheliale Lymphozyten sowie die verschiedenen T-Helferzellarten). Die verschiedenartigsten publizierten histologischen Gradingssysteme haben dem wenig hinzugefügt, bedauerlicherweise leisten sie keinen Beitrag, um die Diagnose lymphoplasmazelluläre Darmentzündung zu präzisieren und diese von anderen, ähnlichen Krankheitsbildern, wie beispielsweise der eosinophilen Darmentzündung abzugrenzen.

Möglicherweise eine der wenigen pathologisch-anatomischen Beschreibungen der lymphoplasmazellulären Enteritis stammt ebenfalls von Hayden und van Kruiningen (1982), danach sind die makroskopischen Befunde weniger ausgeprägt, als bei der langen Dauer der Krankheit zu erwarten wäre, die Schleimhaut ist gerötet, von Schleim bedeckt und die lymphatischen Einrichtungen treten hervor. Histologisch ist die lymphoplasmazelluläre Enteritis gekennzeichnet durch verkürzte, breite Darmzotten, eine mäßige Lymphangiektasie, das zellige Infiltrat der *Lamina propria* besteht überwiegend aus Lymphozyten und Plasmazellen, aber auch anderen Zellarten wie eosinophilen Granulozyten, Makrophagen, neutrophilen Granulozyten. Die Lymphozyten befinden sich vor allem im apikalen Bereich der Zotten, die Plasmazellen eher an deren Basis und in der tieferen *Lamina propria*.

Die normale *Lamina propria* des Colons weist dagegen ein zartes Bindegewebe mit Kapillaren auf, eine geringe Menge an Lymphozyten, Plasmazellen und einzelnen Makrophagen; Lymphfollikel treten gelegentlich auf, wenige intraepitheliale Lymphozyten kommen vor (van der Gaag, 1988). Die gleiche Autorin beschrieb eine morphologische Einteilung der Dickdarmentzündungen des Hundes, die sie an nahezu 1.500 Biopsien gewonnen hatte: oberflächliche Colitis, diffuse Colitis, follikuläre Colitis, hypertrophische Colitis, atrophische Colitis,

histiozytäre ulzerative Colitis und ulzerative Colitis, wobei die atrophische, diffuse und histiozytäre ulzerative Colitis zahlenmäßig dominierten.

Zum Nachweis der Chronizität von Dickdarm-Entzündungen haben van der Gaag und Happé (1989) eine Verfolgsstudie durchgeführt, bei der sie von initial 45 Hunden mit Colitis noch bei 29 Tieren eine bestehende Colitis nach durchschnittlich 128 Tagen in der Zweitbiopsie oder bei der Obduktion nachweisen konnten.

Den Versuch einer Abgrenzung einer „echten“ oder „primären“ lymphoplasmazellulären Enteritis von einer reaktiven Zellvermehrung in der *Lamina propria* unternimmt Magne (1989), der von den drei Schweregraden „mild“, „moderate“ und „severe“ den Grad „mild“ anderen Ursachen zurechnet.

Die Beschreibung der Veränderungen bei lymphoplasmazellulärer Enteritis durch Hayden und van Kruiningen (1982) wird durch die Untersuchung von Jacobs und Mitarbeiter (1990) bestätigt. Die Autoren machen erstmals konkrete quantitative Angaben zum lymphoplasmazellulären Infiltrat. So sollen Lymphozyten und Plasmazellen im normalen Dünndarm des Hundes weniger als 10% der Fläche der *Lamina propria* einnehmen. Bei „mild lesions“ sind dieses zwischen 20 und 50%, bei „moderate lesions“ 50 bis 70% und bei „severe lesions“ werden über 75% der *Lamina propria* eingenommen. Von 53 untersuchten Biopsien des Dünndarms war die Entzündung bei 52 (96%) auf die *Lamina propria* begrenzt.

Ebenfalls ein Graduierungs-System stellten Roth und Mitarbeiter (1990) vor, etabliert an 120 Colonbiopsien von 48 Hunden mit chronischer Colitis sowie 72 Kontrollhunden. Die Stufen der Graduierung reichten mit Halbschritten von 0 bis 5,0. Am häufigsten kam der Grad 1,5 vor bei 50 Biopsien von Kontrollhunden, aber auch bei neun von erkrankten Tieren. Wichtigstes Untersuchungsergebnis aber war, dass von den 48 Hunden mit klinischer Diagnose chronische Colitis 28 Tiere keine histologischen Veränderungen des Darmes aufwiesen.

Auch Wilcock (1992) beschreibt sehr detailliert die Normalbefunde und Abweichungen für eine Reihe von Schleimhautkomponenten (Epithel, *Lamina propria*, Submukosa). Der Autor weist aber auch sehr deutlich auf die häufige Fehlinterpretation einer gering- bis mittelgradigen Infiltration mit Lymphozyten und Plasmazellen als Entzündung anstatt einer hochgradigen Aktivierung des residenten Schleimhaut-Immunsystems hin.

Auf den bemerkenswerten Umstand, dass nach Therapie einer lymphoplasmazellulären Enteritis mit Immunsuppressiva sich die endoskopischen Befunde in sehr kurzer Zeit deutlich besserten, die histologischen Veränderungen aber weiterhin bestanden, wiesen Garcia-Sancho und Mitarbeiter (2007) hin.

Eine nur geringe Übereinstimmung der histologischen Befunde von Duodenum und Ileum fanden Casamian-Sorrosal und Mitarbeiter (2010). Von 30 untersuchten Hunden wiesen nur acht Tiere (27%) in beiden Darmabschnitten die gleichen Veränderungen auf, und sogar nur drei Tiere, wenn auch ein unterschiedlicher Schweregrad der Veränderungen mit einbezogen wurde. So wären nur 60% bzw. 80% der Fälle diagnostiziert worden, wenn nur das Duodenum bzw. das Ileum untersucht worden wäre.

Zu nahezu identischen Ergebnissen kommen Procoli und Mitarbeiter (2013) bei einer ähnlichen Studie. Sie verglichen sowohl den klinischen (CCECAI) aber auch den histopathologischen Schweregrad gemäß Richtlinien der WSAVA mit einander. Es zeigte sich, dass es nur eine mäßige Übereinstimmung im histopathologischen Schweregrad zwischen Duodenum

und Ileum gab und auch keine statistisch signifikante Korrelation des klinischen Schweregrades mit dem Grad der histologischen Veränderungen sowohl im Duodenum als auch im Ileum gab. Einzelne Veränderungen (Kryptendilatation im Duodenum, Lymphangiektasien und lymphoplasmazelluläre Infiltrate im Ileum) korrelierten hingegen mit dem klinischen Schweregrad.

In jüngster Zeit wurden Untersuchungen zu sehr detaillierten Fragestellungen bei der lymphoplasmazellulären Enteritis durchgeführt. So untersuchten Rossi und Mitarbeiter (2015) die Korrelation zwischen morphometrisch erhobenen Daten zum zentralen Chylusgefäß der Zotten, die vor allem dann wertvoll sein sollen, wenn Hunde, die keine Hypalbuminämie und Hypcholesterinämie aufweisen und zusätzlich die histologische Untersuchung keine deutlich erkennbaren Veränderungen der Chylusgefäße erkennen lassen.

Den Zusammenhang zwischen dem Albumingehalt im Blut (Normo- versus Hypoalbuminämie) mit dem Ausmaß an lymphoplasmazellulären Infiltraten untersuchten Wennogle und Mitarbeiter (2017) und fanden dabei keine statistisch signifikante Korrelation.

2.2.2. Plasmazellen und B-Lymphozyten bei lymphoplasmazellulärer Darmentzündung

Die erste, näher charakterisierte Lymphozyten Subpopulation waren die Plasmazellen, nicht zuletzt wegen der frühzeitigen Verfügbarkeit von Antikörpern gegen die verschiedenen Immunglobulin Klassen (IgG, IgM und IgA).

Insgesamt drei Hunde mit lymphoplasmazellulärer Enteritis und drei Kontrollhunde untersuchte Vibe-Petersen (1991) mit der seinerzeit üblichen Immunfluoreszenz-Methode an Proben aus Duodenum, Jejunum, Ileum und Cäcum auf das Vorkommen von Zellen die IgG, IgM oder IgA enthalten. Dabei überstieg die Zahl an IgG-positiven Zellen die bei Kontrolltieren um das zehnfache, IgM-positiven Zellen waren um 100% und IgA-positiven Zellen um 50% gegenüber den Kontrollhunden vermehrt. Die Autorin sprach der Immunglobulin-Klasse G eine besondere Rolle bei der lymphoplasmazellulären Enteritis zu.

Drei Gruppen von Hunden, Hunde mit IBD (n = 11), Hunde mit klinischen Zeichen einer chronischen Gastroenteritis aber ohne histologische Anzeichen einer IBD (n = 9) und Kontrollhunde (n = 9) untersuchten Jergens und Mitarbeiter (1996) immunhistologisch mittels der Avidin-Biotin-Complex-Methode auf das Vorkommen von IgG- und IgA-haltigen Zellen in Biopsien des Duodenums. Bezüglich IgA fand sich kein Unterschied zwischen Hunden mit IBD und den Kontrollhunden und die Kontrollhunde tendierten dazu, mehr IgG-positiven Zellen aufzuweisen als die Tiere mit IBD.

In Biopsien von acht Hunden mit lymphoplasmazellulärer Colitis fanden Mayoral und Mitarbeiter (1996) immunhistologisch mittels Peroxidase-Anti-Peroxidase-Methode, ähnlich wie Vibe-Petersen (1991), eine deutliche Zunahme der IgG-positiven Zellen, die IgA-positiven Zellen waren etwas häufiger und die IgM-positiven Zellen gleich häufig wie bei den Kontrolltieren vertreten.

Einer älteren Methode zum Nachweis von Plasmazellen bedienten sich Stonehewer und Simpson (1998), nämlich der Färbung mit Methylgrün-Pyronin (Anfärbung des rauen endoplasmatischen Retikulums durch Pyronin), an Biopsien von 13 Hunden mit IBD des Colons. Die Autoren fanden keinen statistisch signifikanten Unterschied in der Anzahl von Plasmazellen beim Vergleich mit 14 Kontrollhunden.

Die genauere Verteilung der Zellen, die die einzelnen Immunglobulin-Klassen exprimieren, wurde von Jergens und Mitarbeiter (1999) bei 11 Hunden mit lymphoplasmazellulärer Colitis beschrieben. Danach fanden sich IgA- und IgM-positive Zellen in den tieferen Bereichen der *Lamina propria*, und zwar häufig in Nestern angeordnet, während die IgG-positiven Zellen gleichmäßig in der Schleimhaut verteilt waren. Bei der Quantifizierung der Zellen waren die IgA- und IgM-positiven Zellen gegenüber den Kontrolltieren signifikant vermehrt.

Drei Gruppen von Hunden, Hunde mit IBD / lymphoplasmazellulärer Enteritis, Hunde mit Antibiotika-responsiver Darmerkrankung (ARD) und Kontrollhunde, verglichen German und Mitarbeiter (2001) anhand von Biopsien des Duodenums miteinander. Dabei wiesen Hunde mit IBD verglichen mit den Hunden der anderen beiden Gruppen vermehrt IgG-positiv Zellen auf; die Anzahl von IgA-positiven Zellen war hingegen bei Hunden mit ARD vermehrt; bei den IgM-positiven Zellen gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen den drei Gruppen.

Auf eine alterabhängige Zunahme der IgA-positiven Zellen in Duodenum, Jejunum, Ileum und Colon bei gesunden Kontrollhunden wiesen Kleinschmidt und Mitarbeiter (2008) in einer morphometrischen Studie an full-thickness Biopsien hin.

Studien zum Nachweis von B-Lymphozyten unter Verwendung des pan B-Zellmarkers CD79a (gegen die α -Kette des B-Zell-Antigenrezeptorkomplex-assoziierten Proteins) wurden bei Hunden mit IBD nur selten durchgeführt. Stonehewer und Simpson (1998) fanden in der *Lamina propria* signifikant mehr CD79a-positiv Zellen bei Hunden mit IBD des Colons als bei Kontrolltieren. Von den intraepithelialen Lymphozyten im glandulären Epithel waren weder bei IBD noch bei Kontrolltieren positive Zellen aufzufinden.

Auch Hass und Mitarbeiter (2014) fanden unter den aus der Schleimhaut des Duodenums von Hunden mit IBD isolierten und durchflusszytometrisch untersuchten intraepithelialen Lymphozyten weniger als 1% der Zellen, die CD79a exprimierten.

Ansonsten wurde der Nachweis von CD79a zur Typisierung kaniner intestinaler maligner Lymphome genutzt (u.a. von Kleinschmidt et al., 2006; Ozaki et al., 2006; Ohmura et al., 2017).

2.2.3. T-Lymphozyten bei lymphoplasmazellulärer Darmentzündung

Die meisten Untersuchungen zum Vorkommen von T-Lymphozyten in Biopsien von Hunden mit chronischer Darmentzündung bedienten sich der immunhistochemischen Darstellung des pan-T Zellmarkers CD3 (ϵ -Kette des T-Zellrezeptors), und nur wenige Studien beschreiben die Verteilung von Subpopulationen von T-Lymphozyten.

Die erste Arbeit zum Vorkommen von T-Lymphozyten in Biopsien vom Duodenum stammt von Jergens und Mitarbeiter (1996), die bei Hunden mit IBD eine geringere Anzahl von CD3-positiven Zellen fanden als bei Kontrolltieren. Die Mehrzahl der T-Zellen war in der *Lamina propria* unter dem Oberflächenepithel und in Form von intraepithelialen Lymphozyten zu beobachten.

Erstmals Biopsien des Colons von Hunden mit IBD untersuchten Stonehewer und Mitarbeiter (1998) auf das Vorkommen von CD3-positiven Lymphozyten. Die Autoren fanden sowohl in der *Lamina propria* als auch intraepithelial im Drüsenepithel eingefügt mehr positive Zellen als bei Kontrolltieren. Zu entsprechenden Ergebnissen kamen auch Jergens und Mitarbeiter

(1999) beim Vergleich von Colonbiopsien von Hunden mit lymphoplasmazellulärer Colitis und Kontrollhunden, ein Ergebnis, welches von den Angaben der gleichen Arbeitsgruppe zum Duodenum abweicht (Jergens et al., 1996).

Das Vorkommen von verschiedenen Subpopulationen von T-Lymphozyten bei Hunden mit IBD oder mit Antibiotika-responsiver Darmentzündung (ARD) analysierten German und Mitarbeiter (2001) mittels des immunhistochemischen Nachweises von CD3, CD4, CD8 sowie von Zellen, die den $\alpha\beta$ T-Zellrezeptor bzw. den $\gamma\delta$ T-Zellrezeptor tragen im Vergleich zu Kontrollhunden. Bei Hunden mit IBD traten CD3-positive Zellen in großer Menge in Biopsien des Duodenums im Vergleich mit Kontrolltieren auf, ebenso CD4-positive T-Helferzellen und T-Zellen, die den $\alpha\beta$ T-Zellrezeptor tragen. Kein Unterschied bestand hingegen für CD8-positive T-Lymphozyten und Zellen, die den $\gamma\delta$ T-Zellrezeptor tragen.

Auf eine Tendenz zur Abnahme der Anzahl von CD3-positiven Lymphozyten im Dünndarm von gesunden Hunden mit dem Alter der Tiere wiesen Kleinschmidt und Mitarbeiter (2008) hin.

Den Effekt einer Therapie mit Antibiotika, Hunde mit ARD bzw. mit Steroiden, Hunde mit IBD / lymphoplasmazellulärer Enteritis, auf das Vorkommen von CD3-positiven Zellen in Duodenum und Colon untersuchten Schreiner und Mitarbeiter (2008). Außerdem ermittelten sie den klinischen und histopathologischen Schweregrad der Erkrankungen. Es fanden sich keine signifikanten Unterschiede in der Gesamtzahl von Zellen und der Anzahl von T-Zellen in der *Lamina propria* zwischen beiden Gruppen von Hunden sowohl vor als auch nach der Therapie. Außerdem zeigten weder der histopathologische Schweregrad, noch die Gesamtzellzahl und die Anzahl von T-Zellen in der *Lamina propria* eine Korrelation mit dem klinischen Schweregrad (CCECAI). Die Autoren folgerten daraus, dass weder die Anzahl von Infiltratzellen insgesamt noch von T-Zellen in der *Lamina propria* entscheidend für den Schweregrad der Erkrankungen und für den therapeutischen Erfolg seien.

2.2.4. Intraepitheliale Lymphozyten bei lymphoplasmazellulärer Darmentzündung

Eine besondere Gruppe von Lymphozyten sind die intraepithelialen Lymphozyten (IEL), Lymphozyten, die zwischen den Zellen des Oberflächen- und Drüsenepithels eingebettet liegen. Ihre Funktion im Rahmen von chronischen Darmentzündungen ist bislang nicht restlos geklärt.

Im Dickdarm von gesunden Hunden findet sich IEL in der höchsten Dichte (IEL / 100 Epithelzellen) im Cäcum, ihre Dichte nimmt zum Rektum hin ab (Spinato et al., 1990). Der überwiegende Teil der IEL erwies sich aufgrund seiner Positivität für CD3 als T-Lymphozyten (Jergens et al., 1996). Die Anzahl von CD3-positiven IEL war bei Hunden mit IBD des Colons im Vergleich zu Kontrollhunden vermehrt (Stonehewer et al., 1998); kein Unterschied hingegen war nachzuweisen für Zellen, die positiv sind für CD4 oder CD8 bzw. die den $\alpha\beta$ - oder $\gamma\delta$ T-Zellrezeptor tragen (German et al. 2001). Die Gründe für die Zunahme von CD3-positiven Lymphozyten bei gleichzeitig nicht signifikanten Unterschieden bei den genannten Subpopulationen von T-Lymphozyten konnten die Autoren nicht klären.

Die mögliche Bedeutung des Chemokins CX3CL1 (Fractalkin) und seines spezifischen Rezeptors CX3CR1, der von bestimmten T-Lymphozyten, NK-Zellen und Monozyten exprimiert wird, für die Ansammlung von IEL im Epithel des Duodenums bei Hunden mit IBD untersuchten Maeda und Mitarbeiter (2012 A). Dazu verglichen sie die Expression der mRNA und die Menge an Protein von Fractalkin und CX3CR1 in kernhaltigen Zellen des Blutes und in der

Schleimhaut des Duodenums. Außerdem ermittelten sie die Expression zahlreicher Oberflächenmarker (CD3, CD4, CD8, CD21, CD45, $\alpha\beta$ TCR und $\gamma\delta$ TCR) von kernhaltigen Blutzellen und bei aus der Schleimhaut isolierten IEL mittels Durchflusszytometrie. Die mRNA Expression für Fractalkin und den Rezeptor CX3CR1 war in der Schleimhaut des Duodenums bei Hunden mit IBD signifikant erhöht gegenüber Kontrollhunden; allerdings gab es keine Korrelation mit dem histopathologischen und dem klinischen Schweregrad der IBD. Sowohl bei Kontrollhunden als auch Hunden mit IBD konnte Fractalkin hochgradig in Epithelzellen der Zotten und Krypten des Duodenums immunhistochemisch nachgewiesen werden. Die aus der Darmschleimhaut isolierten IEL von 5 Hunden mit IBD und 7 Kontrolltieren wurden durchflusszytometrisch miteinander verglichen. Dabei konnte bezüglich der oben genannten Oberflächenmarker kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen festgestellt werden. Die meisten IEL exprimierten CD3, etwa ein Drittel der Zellen CX3CR1, die Mehrzahl der IEL war CD4- und CD8-negativ, gefolgt von CD8-positiven Zellen. Ob die Expression von Fractalkin tatsächlich das Einwandern von T-Lymphozyten aus dem Blut in die Schleimhaut fördert konnte in der aufwendigen Studie nicht geklärt werden.

Ebenfalls durchflusszytometrisch untersuchten Haas und Mitarbeiter (2014) IEL bei Hunden mit IBD des Duodenums im Vergleich mit Kontrollhunden. Bei beiden Gruppen dominierten die CD8 α -positiven T-Lymphozyten deutlich gegenüber CD4-positiven Zellen. Die Hunde mit IBD hatten darüber hinaus einen signifikant höheren Anteil von IEL, die den $\gamma\delta$ T-Zellrezeptor tragen gegenüber Zellen mit einem $\alpha\beta$ T-Zellrezeptor. Ein höherer Anteil an $\gamma\delta$ -Zellen schien nach Auffassung der Autoren mit einem höheren histopathologischen Schweregrad der IBD verbunden gewesen zu sein.

2.2.5. Foxp3 positive Lymphozyten bei lymphoplasmazellulärer Darmentzündung

Der Transkriptionsfaktor Forkhead box p3 (Foxp3) gilt als Marker für regulatorische T-Lymphozyten (T_{reg}), also Zellen, die dämpfend auf eine Immunreaktion einwirken.

Die Expression von Foxp3 haben Junginger und Mitarbeiter (2012) bei Hunden mit IBD, mit Magendarm-Parasiten und Kontrollhunden an Biopsien aus Duodenum und Colon immunhistochemisch untersucht. Die Autoren fanden auch bei gastroenterologisch gesund erscheinenden Hunden ein gewisses Ausmaß an Veränderungen im Darm (vermehrt Lymphozyten und Plasmazellen in der *Lamina propria*, sogenannte Kryptabszesse, Kryptdilatation und Fibrose der Schleimhaut). Zellen mit Expression von Foxp3 fanden sich bei gesunden Hunden in den Peyerschen Platten vor allem in den interfollikulären Arealen, geringere Mengen in der Dome-Region und nur wenige Zellen am Rande der Follikel. In den lymphoglandulären Komplexen des Colons lagen positive Zellen verstreut um die Follikel herum. Außerdem reagierten Zellen in der *Lamina propria* und IEL positiv. Im Colon befanden sich die positiven Zellen vermehrt im Bereich der Drüsenbasis im Vergleich mit den apikalen Anteilen der Schleimhaut. Die Autoren konnten keinen signifikanten Unterschied in der Anzahl Foxp3-positiver Zellen zwischen Hunden mit IBD und Kontrollhunden und keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der Zellzahl und dem histopathologischen Schweregrad der IBD in Duodenum und Colon ermitteln.

Ebenfalls die Expression von Foxp3 untersuchten Rossi und Mitarbeiter (2014) bei unterschiedlichen Therapieregimen bei Hunden mit IBD. Dabei konnten die Autoren nur für die Gabe eines Probiotikums einen positiven Effekt auf die Anzahl Foxp3-positiver Zellen verzeichnen.

2.2.6. Makrophagen und Dendritische Zellen bei lymphoplasmazellulärer Darmentzündung

Die beiden Zellsysteme, das Mononukleäre Phagozyten System (MPS) und das Dendritische Zellen System nehmen in der Abwehr eine zentrale Rolle ein. Wesentlich ist dabei die Rolle als Antigen-präsentierende Zellen, die insbesondere durch die Expression von MHC-Klasse-II-Molekülen auf der Zelloberfläche ermöglicht wird.

Als eine der ersten Arbeitsgruppen setzten German und Mitarbeiter (2001) den immunhistologischen Nachweis von MHC-Klasse-II-Molekülen sowie von L1, einem zytosolischen Calcium-bindenden Protein, das von Makrophagen und neutrophilen Granulozyten exprimiert wird, ein. Dabei fanden sie vermehrt MHC-Klasse-II-Moleküle exprimierende Zellen in der *Lamina propria* des Duodenums bei Hunden mit IBD. Außerdem beobachteten sie eine MHC-Klasse-II-Expression auf der Oberfläche von Enterozyten. Leider teilten die Autoren keine Vermutung mit, um welche Zelltypen es sich bei den Zellen in der *Lamina propria* gehandelt haben könnte.

Mittels des Antikörpers MAC387 gegen ein myeloisch-histiozytäre Antigen (S100 Calcium-bindendes Protein A9) zeigten Kleinschmidt und Mitarbeiter (2008) eine marginale Zunahme von Makrophagen vor allem im Duodenum von Hunden mit lymphoplasmazellulärer Enteritis / - Colitis. Nach T-Lymphozyten und IgA-positiven Plasmazellen waren Makrophagen die dritte, vermehrt vorkommende Zellart bei den betroffenen Hunden.

Der Nachweis von Adhäsionsmolekülen auf der Zelloberfläche von dendritischen Zellen wurde ebenfalls mehrfach zum Nachweis dieser Zellen verwendet. So nutzten Kathrani und Mitarbeiter (2011 B) die Darstellung von CD11c, einem β -Integrin, durch Immunfluoreszenz, um Zellen mit der Morphologie von dendritischen Zellen bei Hunden mit IBD und Kontrollhunden in Biopsien von Duodenum, Ileum und Colon darzustellen. Neben diesen Zellen waren auch neutrophile Granulozyten und Monozyten positiv für das Adhäsionsmolekül. Die Autoren fanden signifikant weniger CD11c-positive dendritische Zellen in der Schleimhaut aller drei Darmabschnitte bei Hunden mit IBD. Eine unterschiedliche Menge positiver Zellen fand sich bei Vergleich von Spitze zu Basis der Darmzotten. Es konnte keine statistisch signifikante Korrelation zwischen der Anzahl von CD11c-positiven Zellen in Duodenum und Colon und dem histopathologischen Schweregrad der IBD festgestellt werden, allerdings eine umgekehrte Korrelation zwischen Zellzahl und dem klinischen Schweregrad (CCECAI), was die Untersucher als Hinweis dafür ansahen, dass die Anzahl an CD11c-positiven dendritischen Zellen zur Einschätzung der Schwere der Erkrankung dienen könnte.

Neben dem Nachweis von MHC-Klasse-II-Molekülen bedienten sich Junginger und Mitarbeiter (2014) einem ganzen Panel von Antikörpern zum Nachweis verschiedener Adhäsions- und kostimulatorischer Oberflächenmoleküle (CD1a6, CD1a8.1, CD1a8.2, CD11b, CD11c, CD80 and CD86) auf Zellen mit der Morphologie von dendritischen Zellen (dendritic-like cells) in der Schleimhaut von Magen, Duodenum und Colon von Hunden mit IBD. Ein positiver Nachweis von MHC-Klasse-II-Molekülen bei gesunden Hunden fand sich für Lymphozyten und Zellen mit der Morphologie von Makrophagen und dendritischen Zellen in der *Lamina propria* aller drei Abschnitte. Positiv reagierten auch die Epithelzellen in Dünn- und Dickdarm, wobei die Reaktionsstärke der Zellen der Krypten im Colon von apikal nach basal zunahm. Ein vermutlich zuverlässiger Nachweis von dendritischen Zellen gelang mit dem Antikörper gegen CD1a8.2. Positive Zellen fanden sich in der *Lamina propria* aller drei Abschnitte, außerdem in den Peyerschen Platten und lymphoglandulären Komplexen, und zwar besonders in den subepithelial gelegenen Dome-Regionen. Bei Hunden mit IBD war die

Expression von MHC-Klasse-II-Molekülen insgesamt vermehrt, allerdings war die Anzahl von dendritischen Zellen (positiv für CD1a8.2, CD11b und CD11c) signifikant vermindert in der *Lamina propria* von Magen, Duodenum und Colon im Vergleich mit Kontrollhunden. Eine geringe, aber signifikante Vermehrung von CD86-positiven dendritischen Zellen fand sich bei einem Teil der Hunde mit IBD.

2.2.7. Mastzellen bei lymphoplasmazellulärer Darmentzündung

Eine Reduktion der Anzahl von Mastzellen in der *Lamina propria* des Duodenums von Hunden mit IBD im Vergleich zu Kontrollhunden fanden German und Mitarbeiter (2001). Die Autoren stellten eine tatsächliche Reduktion der Zellzahl oder eine scheinbare Verminderung durch Degranulation der Zellen zur Diskussion.

In den späteren Untersuchungen wurden die verschiedenen Mastzellen-Subtypen berücksichtigt. Dabei wurde die Tryptase immunhistochemisch und die Chymase enzymhistochemisch mit dem Substrat Naphthol-AS-D-Chloracetat dargestellt.

Tryptase-positive Mastzellen fanden Locher und Mitarbeiter (2001) signifikant vermehrt in der Magenschleimhaut von Hunden mit IBD; eine entsprechende Vermehrung dieser Zellen in der *Lamina propria* des Dünndarms unterschied sich statistisch nicht signifikant von Kontrolltieren. Während im Dünndarm nur ein geringer Teil der Mastzellen positiv für Chymase und Tryptase war, wiesen im Colon zwischen 5 und 80% der Mastzellen beide Enzyme auf. Nach Meinung der Autoren war es bei Hunden mit IBD nicht zu einer deutlichen Verschiebung in der Anzahl der doppelt positiven Mastzellen gekommen.

Eine Verminderung der Anzahl von doppelt positiven Mastzellen fanden Kleinschmidt und Mitarbeiter (2007) in Biopsien von Magen, Duodenum, Jejunum, Ileum und Colon von Hunden mit lymphoplasmazellulärer Enteritis / -Colitis im Vergleich mit Kontrolltieren. Ein Unterschied in der Anzahl von Mastzellen, die sich mit Kresylviolett metachromatisch anfärben lassen, fanden die Autoren zwischen den einzelnen Abschnitten des Magendarmtraktes nicht. Die möglichen Gründe für die Reduktion der Mastzellen bei Hunden mit IBD wurde von den Autoren diskutiert.

Die Altersabhängigkeit der Anzahl von Mastzellen, einschließlich ihrer Subtypen, im Magen-darmtrakt untersuchten Kleinschmidt und Mitarbeiter (2008), dabei fand sich keine Veränderungen der Anzahl an Mastzellen mit dem Alter der Hunde.

2.2.8. Zytokine bei lymphoplasmazellulärer Darmentzündung

Die Untersuchungen zum Expressionsmuster von Zytokinen bei chronischen Enteropathien des Hundes gehen ursprünglich auf Studien von Mosman und Mitarbeitern (1986) zurück, die bei der Analyse von T-Zellklonen aus Mäusen zwei Gruppen von CD4⁺-T-Helferzellen gefunden haben. Diese als T_H1 und T_H2 bezeichneten Subpopulationen unterschieden sich im Muster der von ihnen produzierten Zytokine und damit auch in ihrer Funktion. So sind T_H1-Zellen durch die Produktion von Interleukin (IL)-2, Interferon (IFN)- γ und Tumornekrose-Faktor (TNF)- α und T_H2-Zellen von IL-4 und IL-5 charakterisiert. Mit ihren Zytokinen aktivieren die T_H1-Lymphozyten vor allem Makrophagen und fördern die Abtötung von intrazellulären Erregern und die T_H2-Lymphozyten sorgen für eine vermehrte Bildung von eosinophilen Granulozyten, Mastzellen und IgE-produzierenden Plasmazellen zur Bekämpfung von extrazellulär gelegenen Parasiten. Letztlich wird also entweder die zelluläre oder die humorale Abwehr gegen Erreger unterstützt. In der Zwischenzeit wurden weitere Subpopulationen

von T-Lymphozyten beschrieben, wie die regulatorischen T-Lymphozyten (T_{reg}), die früheren T-Suppressorzellen, und T-Helferzellen, die IL-17 produzieren (T_H17). Die T_{reg} -Zellen sind gekennzeichnet durch die Expression von CD25 (die α -Kette des IL-2-Rezeptors) und des Transkriptionsfaktors FoxP3. Unter dem Einfluß von Transforming-growth-factor (TGF)- β gereiften T_{reg} -Zellen bilden TGF- β sowie IL-10 und haben dadurch einen hemmenden Effekt auf Immunreaktionen und Entzündungen. Die T_H17 -Zellen, die unter Einfluß von TGF- β und IL-6 reifen, exprimieren IL-17, welches seinerseits in nicht-lymphozytären Zellen die Synthese von IL-8 stimuliert, was chemotaktisch für neutrophile Granulozyten wirkt und so eine Entzündung fördert. Im Gegensatz zu den geschilderten positiven Effekten im Rahmen einer Erregerabwehr ist eine Reihe von Zytokinen auch an immunpathologischen Phänomenen und der Auslösung einer Entzündung beteiligt, weshalb diese Zytokine auch als proinflammatorische Zytokine bezeichnet werden, u.a. IL-1, TNF- α , IL-6)

Angeregt durch Untersuchungen zur IBD des Menschen wurden in den vergangenen Jahren mehrfach die Expressionsmuster der verschiedenen Zytokine bei Hunden mit chronischer Darmerkrankung untersucht. Die Ergebnisse sind dabei uneinheitlich und teilweise auch widersprüchlich.

Die erste Gruppe, die Expressionsmuster von Zytokinen im Darm von Hunden mit chronischer Darmentzündung untersucht haben, waren German und Mitarbeiter (2000). Die mRNA der Zytokine IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IL-12, IFN- γ , TNF- α und TGF- β wurden vergleichend bei 12 Deutschen Schäferhunden und Kontrolltieren mittels real-time PCR in Biopsien des Duodenums quantifiziert. Je nach dem Erfolg einer Behandlung durch Futterumstellung, Gabe von Antibiotika oder Steroiden wurden die Schäferhunde ferner in Hunde mit IBD, Small intestinal bacterial overgrowth (SIBO) oder in non-responder eingeteilt. Es zeigte sich, dass, bis auf IL-4, alle untersuchten Zytokine in der unveränderten *Lamina propria* der Kontrollhunde exprimiert wurden. Bis auf IL-4 und IL-10 wurden alle anderen Zytokine im entzündeten Duodenum der Schäferhunde signifikant vermehrt exprimiert. Ein statistisch signifikanter Unterschied in der Expression zwischen den drei Gruppen (IBD, SIBO, non-responder) fand sich allerdings nicht. Die Autoren folgerten, dass es kein offenkundiges Defizit an Zytokinen bei den erkrankten Schäferhunden gibt und dass es zwar eine erhöhte Expression von Zytokinen gibt aber kein jeweils spezifisches Expressionsmuster für die drei Krankheitsgruppen.

Ebenfalls das Duodenum von Hunden mit IBD untersuchten Fugiwara und Mitarbeiter (2002) im Vergleich mit Kontrollhunden. Gemessen wurde die Expression der mRNA der Zytokine IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-8, IL-10, IL-18, IFN- γ , TNF- α und TGF- β 1. Nur die mRNA von IL-6 war bei Hunden mit IBD signifikant erhöht, während die Expression von IFN- γ und TGF- β 1 signifikant vermindert war. Die vermehrte Expression von IL-6 wurde als Hinweis auf eine proinflammatorische Situation, die Verringerung der Expression von TGF- β 1 als mögliche Ursache einer gestörten oralen Toleranz gedeutet.

Hunde mit chronischem Durchfall haben Ridyard und Mitarbeiter (2002) untersucht; von 20 Tieren zeigten 14 histologisch eine lymphoplasmazelluläre Colitis (Gruppe 1), sechs Hunde zwar Durchfall aber keine histologischen Befunde (Gruppe 2), sechs Hunde dienten als Kontrollen (Gruppe 3). Quantifiziert wurde die Expression der mRNA von IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, IFN- γ , TNF- α und TGF- β . Die Hunde mit plasmazellulärer Colitis wiesen gegenüber den Gruppen 2 und 3 eine vermehrte Expression von IL-2 und TNF- α auf. Die Expression der mRNA von IL-6, IL-10 und TGF- β unterschieden sich allerdings zwischen den Gruppen nicht. Damit ergab sich eine vermehrte Expression der T_H1 Zytokine IL-2 und TNF- α , Hinweise auf eine Beteiligung von T_H2 Zytokinen an der lymphoplasmazellulären Colitis

fanden sich hingegen nicht; die fehlende Aufregulierung der supprimierenden Zytokine IL-10 und TGF- β könnte nach Meinung der Autoren die Ausbildung einer chronischen Darmentzündung erlauben.

Insgesamt 48 Hunde mit IBD, davon 37 Tiere mit IBD des Dünndarms und 11 mit IBD des Dickdarms sowie neun gesunde Kontrollhund untersuchten Jergens und Mitarbeiter (2003) auf die Expression der Zytokine IL-1 α , IL1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IL-12, TNF- α , IFN- γ und TGF- β . Bei den Hunden mit IBD des Dünndarms fanden sie eine verminderte Expression der mRNA von IL-1 α , IL1 β , IL-2, IL-10, TNF- α , IFN- γ gegenüber den Kontrolltieren, nur IL-12 wurde vermehrt exprimiert. Hunde mit IBD des Dickdarms wiesen hingegen eine verminderte Expression von IL-2 und TGF- β und eine vermehrte Expression von IL-4 auf. Auch diese Autoren weisen darauf hin, dass zahlreiche Zytokine im gesunden Darm exprimiert werden. Sie fanden keine Hinweise auf eine eindeutige Dominanz einer T_{H1} oder T_{H2} Antwort in der entzündeten Schleimhaut.

Als einziges klinisches Einschlusskriterium benutzten Peters und Mitarbeiter (2005) das Vorliegen einer chronischen Diarrhoe bei 39 Hunden; auch eine Trennung in Hunde mit IBD und mit Antibiotika-responsiven Diarrhoe unterblieb, zum Vergleich dienten 18 Kontrolltiere. Verglichen wurde die mRNA Expression der Zytokine IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-12, IL-18, IFN- γ , TNF- α und TGF- β in Biopsien vom Duodenum mit deren Expression bei den Kontrollhunden. Differenziert wurde die Zusammensetzung der Infiltrate in der *Lamina propria* in lymphoplasmazellulär (13 Hunde), gemischtzellig (15 Hunde) und überwiegend eosinophil-granulozytär (4 Hunde). Es fand sich kein statistisch signifikanter Unterschied in der Expressionshöhe aller zehn Zytokine in Abhängigkeit vom Zellbild und auch kein Unterschied in Abhängigkeit vom Schweregrad der histologischen Veränderungen. Die Autoren führten das Abweichen ihrer Ergebnisse von den bereits publizierten Daten auf methodische Unterschiede in der Quantifizierung der Zytokine zurück.

Die Expressionshöhe der Zytokine TNF- α , IFN- γ und IL-4 untersuchten De Majo und Mitarbeiter (2008) in Biopsien von Magen, Duodenum, Colon und Rektum bei einer Gruppe von 11 Hunden mit chronischer Diarrhoe im Vergleich mit vier Hunden ohne Durchfall. Der Schweregrad der histologischen Veränderungen (Schleimhaut-Architektur und Umfang des Zellinfiltrats) wurde ebenfalls ermittelt. Für die Zytokine TNF- α und IFN- γ fanden die Autoren keine signifikanten Unterschiede in den Biopsien beider Gruppen (die IL-4 Expression wurde nur in einer Biopsie aus dem Duodenum untersucht). Die Untersucher waren der Meinung, dass die beiden Zytokine auch in der Schleimhaut gesunder Hunde exprimiert werden und dass es keinen einfachen Zusammenhang zwischen der Expressionshöhe der Zytokine und den klinischen Veränderungen sowie dem entzündlichen Infiltrat, also der Histologie, gibt.

In einer weiteren Arbeit haben Jergens und Mitarbeiter (2009) zusätzlich zu den Hunden, über die bereits 2003 von ihnen berichtet worden war, weitere Tiere untersucht, und zwar mit folgender Einteilung: Dünndarm IBD (41 Hunde), Dickdarm IBD (25 Hunde), chronische Enteropathie (39 Hunde), non-IBD aber mit Diarrhoe (6 Hunde), non-responder (2 Hunde) sowie 45 Kontrollhunde. Gemessen wurde die Expression der mRNA der Zytokine IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IL-12, IFN- γ , TNF- α und TGF- β . Bei den gesunden Hunden fanden die Untersucher eine mRNA Expression zahlreicher Zytokine. Die Expression von IL-2, IL-4 und IL-10 war im gesunden Duodenum höher als in der Schleimhaut des Dickdarms, die Expression von TGF- β war hingegen im Dickdarm höher als im gesunden Dünndarm. Bei Hunden mit Dickdarm IBD fand sich eine signifikant geringere Expression von mRNA für IL-2 und TGF- β und eine signifikant erhöhte Expression von IL-4 gegenüber den Kontrolltieren. Damit konnten die Autoren keine Aufregulierung von proinflammatorischen Zytokinen im Darm von Hunden

mit IBD erkennen.

Eine völlig andere Gruppe von Zytokinen haben Maeda und Mitarbeiter (2011) studiert, nämlich die Gruppe der Chemokine. Bestimmt wurde die Höhe der Expression der mRNA für die neun Chemokine CCL2, CCL5, CCL19, CCL20, CCL21, CCL25, CCL28, CXCL8 und CXCL10 sowie für sechs Chemokin-Rezeptoren für die Chemokine CCR2, CCR6, CCR7, CCR9, CCR10 und CXCR3 in Biopsien vom Duodenum. Bei den Hunden mit IBD wurde auch der klinische (CCECAI) und der histopathologische Schweregrad der Erkrankung bestimmt. Die Expression der mRNA für die Chemokine CCL2, CCL20, CCL25, CCL28 und CXCL8 war gegenüber den Kontrollen signifikant erhöht. Hinsichtlich der Expression der Chemokin-Rezeptoren ergab sich allerdings kein Unterschied zwischen den Hunden mit IBD und den Kontrolltieren. Auch konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Höhe der Expression der mRNA sowohl für die Chemokine als auch die Chemokin-Rezeptoren und dem klinischen und histopathologischen Schweregrad festgestellt werden. Ob die Aufregulierung der mRNA der genannten Chemokine Ursache oder Folge der IBD war, lassen die Autoren offen.

Eine Imbalanz im Verhältnis von IL-1 β und seinem Antagonisten IL-1 Rezeptor Antagonist (IL-1Ra) im Dünndarm als Ursache einer IBD vermuteten Maeda und Mitarbeiter (2012 B). Sie untersuchten drei Gruppen von Hunden, mit IBD / lymphoplasmazellulärer Enteritis des Duodenums (Gruppe 1 mit 21 Hunden), Hunde mit einem intestinalen malignen Lymphom (Gruppe 2 mit 15 Hunden) und Kontrolltiere (Gruppe 3 mit 20 Hunden). Die Expression der mRNA für IL-1 β und IL-1Ra ist bei Hunden mit IBD oder malignen Lymphomen signifikant höher als bei Kontrolltieren; kein signifikanter Unterschied bestand zwischen Hunden mit IBD und mit malignem Lymphom. Das Verhältnis IL1Ra zu IL-1 β mRNA war bei Hunden mit IBD niedriger als bei den Kontrolltieren oder den Hunden mit malignem Lymphom. Das Verhältnis ist nicht signifikant korreliert mit dem klinischen (CCECAI) oder dem histopathologischen Schweregrad der IBD. Das IL-1 β Protein ist bei Hunden mit IBD oder malignen Lymphomen signifikant vermehrt, kein Unterschied bestand hingegen im Gehalt an IL-1Ra Protein zwischen den drei Gruppen. Das Verhältnis IL-1Ra Protein zu IL-1 β Protein ist bei Hunden mit IBD signifikant vermindert im Vergleich zu Kontrolltieren, eine signifikant negative Korrelation bestand zum klinischen, nicht aber zum histopathologischen Schweregrad.

Die mögliche Beteiligung von Zytokinen von T_H1 bzw. T_H17 Lymphozyten an einer IBD untersuchten Schmitz und Mitarbeiter (2012). Gruppe 1 bestand aus 18 Deutschen Schäferhunden mit IBD, Gruppe 2 aus 33 Hunden anderer Rassen ebenfalls mit IBD und Gruppe 3 aus 15 Kontrollhunden. Gemessen wurde die mRNA Expression für die fünf Zytokine IL-17A, IL-10, IL-22, IFN- γ und TGF- β . Die Expression von mRNA für IL-17A war in beiden Gruppen mit IBD signifikant niedriger als bei den Kontrolltieren. Für die Zytokine IL-22, IL-10, IFN- γ und TGF- β bestand zwischen den drei Gruppen kein signifikanter Unterschied. Die Autoren bemäßen deshalb den T_H1 und T_H17 Zytokinen keine Bedeutung für die Pathogenese einer IBD zu.

Über den Einsatz von Microship Arrays zur Feststellung von Veränderungen in der Expression von rund 18.000 mRNAs des Hundes berichteten Wilke und Mitarbeiter (2012). Sie untersuchten 18 Hunde mit idiopathischer chronischer Enteropathie, die in die Studie nach erfolgloser Futterumstellung und Gabe von Antibiotika aufgenommen worden waren und sechs Kontrollhunde. Es wurden Biopsien von Magen, Duodenum und Colon (von vier Hunden) untersucht. Unterschiede in der Genexpression zwischen Hunden mit chronischer Enteropathie und den Kontrolltieren fanden sich für Gene, die für Proteinsynthese und Transport, Zellreplikation, intrazelluläre Organellen, und extrazelluläre Matrixdegradation

kodieren. Die Mehrzahl der differentiell exprimierten Gene war bei den Hunden mit chronischer Enteropathie runterreguliert im Vergleich zu den Kontrollhunden. Aufreguliert waren hingegen Gene, die für Matrix Metallopeptidasen sowie für Proteine, die mit Entzündung (IL-8, TNF- α) und Immunfunktionen in Verbindung stehen, kodieren.

Die Bedeutung der T_H1 und T_H17 Zytokine für die IBD des Hundes untersuchten erneut Ohta und Mitarbeiter (2014). dazu verglichen sie in Biopsien vom Duodenum die mRNA Expression und die Spiegel der Zytokine IL-4, IL-10, IL-17A und IFN- γ bei 27 Hunden mit IBD (lymphoplasmazelluläre Enteritis) mit 8 Kontrollhunden. Die Autoren fanden keine signifikanten Unterschiede in der mRNA Expression und in den Proteinspiegeln aller untersuchten Zytokine zwischen den beiden Gruppen. Sie messen deshalb der T_H1 und T_H17 Antwort keine größere Bedeutung in der Pathogenese der IBD beim Hund zu und sehen die Ergebnisse vorhergehender Arbeiten (Jergens et al., 2009; Peters et al., 2005; Schmitz et al. 2012) bestätigt.

Ebenfalls ein breites Spektrum an Zytokinen haben Tamura und Mitarbeiter (2014) bei sechs Hunden mit Erkrankungen des Dickdarms / lymphoplasmazelluläre Colitis im Vergleich mit Kontrolltieren untersucht. Die Expression der mRNA für die Zytokine IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, IL-12p35, IL-12/23p40, IL-23p19 IFN- γ und TNF- α unterschied sich nicht signifikant bei beiden Gruppen, nur für IL-23p19 fand sich eine Aufregulung in der Expression bei den Hunden mit lymphoplasmazellulärer Colitis. IL-23 unterstützt die Differenzierung von T-Zellen zu T_H17 Lymphozyten. Eine Korrelation der IL-2 Expression mit dem klinischen Schweregrad (CCEAI) bestand nicht.

Ähnlich wie Maeda und Mitarbeiter (2012 B) untersuchten Ogawa und Mitarbeiter (2018) die Expression der Proteine IL-1 β und IL-1 Rezeptor Antagonist (IL-1Ra) im Duodenum und zusätzlich im Colon von 12 Hunden mit IBD und bei 6 Kontrollhunden. Der klinische (CCACAI) und der histopathologische Schweregrad der Erkrankung wurden ermittelt, wobei eine Korrelation zwischen den beiden Parametern nicht festgestellt werden konnte. Der Gehalt an IL-1 β Protein und IL-1Ra Protein im Colon unterschied sich nicht signifikant von den Kontrolltieren, allerdings war das IL-1 β zu IL-1Ra Verhältnis im Colon bei Hunden mit IBD signifikant größer als bei gesunden Hunden, eine Korrelation zum klinischen Schweregrad bestand allerdings nicht. Die Expression der mRNA für das an der Darmbarriere (tight junctions) beteiligte Occludin war bei Hunden mit IBD signifikant erniedrigt, keine Korrelation bestand zwischen der Höhe der Expression von mRNA für Occludin und dem Schweregrad von Klinik und Histopathologie bei Hunden mit IBD.

Die Produktion und Aktivierung zahlreicher Zytokine werden durch den Transkriptionsfaktor nuclear factor- κ B (NF- κ B) geregelt. Die Aktivierung dieses Transkriptionsfaktors bei Hunden mit IBD oder Fütterungs-responsiven Darmentzündung (FRD) haben Luckschander und Mitarbeiter (2010) untersucht. Ferner sollte geklärt werden, in welchen Zellen der Schleimhaut der aktivierte NF- κ B exprimiert wird. Dazu diente die immunhistologische Darstellung von aktiviertem NF- κ B und von Makrophagen in den Biopsien des Duodenums. Untersucht wurden 26 Hunde mit chronischer Enteropathie, davon zehn mit FRD (Besserung nach Eliminationsdiät), 16 Hunde mit IBD (keine Besserung nach Futterumstellung) sowie 13 Kontrollhunden. Bei der Gesamtgruppe von Hunden mit chronischer Enteropathie fanden sich mehr Makrophagen mit aktiviertem NF- κ B in der *Lamina propria* als bei den Kontrollhunden. Die Doppelreaktion mit Antikörpern gegen NF- κ B und gegen Makrophagen (MAC 387) zeigte außerdem mehr NF- κ B positive Zellen, die keine Makrophagen waren, in der *Lamina propria* verglichen mit den Kontrolltieren. Die Anzahl NF- κ B positiver Epithelzellen unterschied sich bei Hunden mit chronischer Enteropathie nicht von den Kontrolltieren. Die

Anzahl NF- κ B positiver Makrophagen unterschied sich zwischen Hunden mit FRD und IBD nicht signifikant, allerdings enthielt die *Lamina propria* von Hunden mit IBD signifikant mehr Makrophagen, die NF- κ B nicht exprimieren, als Hunde mit FRD. Außerdem war die Anzahl NF- κ B positiver Epithelzellen signifikant größer bei Hunden mit FRD als bei Hunden mit IBD. Eine Korrelation der Anzahl von Zellen in der *Lamina propria*, die NF- κ B exprimieren und der positiven Epithelzellen mit dem klinischen Schweregrad (CIBDAI) der Erkrankung konnte nicht nachgewiesen werden.

Übersichtsarbeiten über die Bedeutung von Zytokinen bei chronischen Darmentzündungen des Hundes finden sich bei Cave (2003), Kolodziejska-Sawerska und Mitarbeiter (2013) sowie Heilmann und Suchodolski (2015).

2.2.9. Pattern-Recognition-Receptors bei lymphoplasmazellulärer Darmentzündung

Eine der ersten Komponenten, die für die Entscheidung zwischen der Aufrechterhaltung der Toleranz gegenüber Bestandteilen des Darminhalts einerseits und der Induktion einer unspezifischen Abwehrreaktion, d.h. einer Entzündung, oder der Ausbildung einer spezifischen Immunantwort andererseits verantwortlich sind, sind die Pattern-Recognition-Receptors (PRRs) von Enterozyten oder Zellen in der *Lamina propria*. Aufgabe der PRRs ist die Erkennung von sog. Pathogen-Associated-Molecular-Patterns (PAMPs), auch Microbe-Associated-Molecular-Patterns (MAMPs) genannt, die bei einem breiten Spektrum von Erregern/Mikroorganismen (u.a. Bakterien, Pilze, Viren) vorkommen. Die Bindung der Rezeptoren an ihre jeweiligen Liganden führt zur Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF- κ B, der seinerseits durch Bindung an regulatorische Abschnitte der DNA zahlreicher Gene die Expression vielfältiger Komponenten der unspezifischen und später auch der spezifischen Abwehr bewirkt. Zu den wichtigsten PRRs gehören die TOLL-Like-Receptors (TLRs) der Zelloberfläche sowie die Nucleotide-Binding-Oligomerization-Domain (NOD)-like Receptors (NLRs) im Zytoplasma. Aus der Familie der TLRs besonders relevant sind TLR2 für die Bindung von Lipopeptiden, Peptidoglykanen, Lipoteichonsäuren, TLR4 für Lipopolysaccharide und TLR5 für Flagellin, die Bestandteile gramnegativer und grampositiver Bakterien sind.

In mehreren, der in jüngster Zeit veröffentlichten Studien, werden die veränderten Expressionsmuster der PRRs in Relation zum klinischen (Canine-Chronic-Enteropathy-Clinical-Activity-Index – CCECAI; Canine IBD Activity Index – CIBDAI) und / oder einem histopathologischen Aktivitätsindex gesetzt.

Burgener und Mitarbeiter (2008) untersuchten Duodenum- und Colonbiopsien von 32 Hunden mit chronischer Enteropathie, die sie entweder der Gruppe Food-responsive (FR) oder Steroid-treated (ST) zugeordnet hatten, auf den Gehalt an mRNA für TLR2, TLR4 und TLR9. Klinisches und histopathologisches Grading sowie die Bestimmung der Höhe der mRNA-Expression wurden vor und nach der jeweiligen Therapie ermittelt. Bei allen erkrankten Hunden fand sich eine erhöhte Expression aller drei TLRs in Duodenum und Colon vor der Therapie im Vergleich zu Kontrollhunden. Signifikant waren die Unterschiede in der mRNA Expression für alle drei TLRs nur für die ST Hunde, die Unterschiede zwischen den FR- und Kontrollhunden sowie zwischen den ST- und FR-Hunden waren nicht signifikant. Regionale Unterschiede zwischen den beiden Darmabschnitten fanden sich nur für TLR4, nicht aber für TLR2 und TLR9. Keine Veränderung der Expressionshöhe ergab sich für alle drei TLRs in Duodenum und Colon nach der Therapie im Vergleich zu vor der Therapie. Ebenso fanden sich keine Änderungen der Expression aller drei TLRs in Relation zum klinischen (CIBDAI) und histopathologischen Status vor und nach der Therapie. Das verwendete Untersuchungsverfahren gestattete es nicht zu unterscheiden, was zu der Erhöhung der mRNA Expression

für die drei TLRs geführt hat, eine vermehrte Expression in den Enterozyten oder ein vermehrter Einstrom von Entzündungszellen.

Allenspach und Mitarbeiter (2010) untersuchten gezielt Deutsche Schäferhunde mit chronischer Enteropathie. Biopsiert wurden Duodenum, Ileum und Colon von 13 Hunden. Entsprechend klinischer Therapierbarkeit wurden die Patienten der Gruppe Food-responsive oder Antibiotic-response (AR) zugeordnet. Mittels Real-time PCR wurde die Expressionshöhe der mRNA für TLR2, TLR4, TLR5 und TLR9 in Relation zur Gruppe der Kontrollhunde in den Biopsien ermittelt. Außerdem wurde eine molekularbiologische Charakterisierung der duodenalen Darmflora vorgenommen (siehe dort). Für TLR2 und TLR9 ergab sich kein Unterschied in der Expression in allen drei Darmabschnitten zwischen den Hunden mit chronischer Enteropathie und Kontrolltieren. Hingegen fanden sich für TLR4 in allen untersuchten Darmabschnitten eine vermehrte Expression und in allen Abschnitten eine verminderte Expression von TLR5. Keine Korrelation konnte gefunden werden zwischen dem klinischen (CCECAI) und dem histopathologischen Schweregrad einerseits und der Expressionshöhe von mRNA für TLR4, TLR5 und TLR9 andererseits in keinem der drei Darmabschnitte.

Einzelnukleotid-Polymorphismen (Single Nucleotide Polymorphisms - SNPs) für die Gene von TLR2, TLR4 und TLR5 bei zehn Deutschen Schäferhunden, und zwar sog. non-synonymous SNPs, also Änderungen der Nukleotidsequenz, die zu einem Aminosäureaustausch im kodierten Protein führen, wurden von Kathrani und Mitarbeiter (2010) untersucht. Keine non-synonymous SNPs fanden sich im TLR2 Gen. Im TLR4 Gen hingegen konnten vier und im TLR5 Gen drei non-synonymous SNPs identifiziert werden. In einer Assoziationsstudie wurde die Relevanz der gefundenen SNPs für die chronische Enteropathie durch Vergleich mit einem Kollektiv von darmgesunden Schäferhunden ermittelt. Dabei zeigte sich, dass alle drei TLR5 SNP Allele (G22A, C100T, T1844C) und zwei der TLR4 SNP Allele (A1571T, G1807A) signifikant mit der chronischen Enteropathie beim Schäferhund assoziiert sind. Dabei fand sich für die beiden TLR4 SNPs und für einen TLR5 SNP eine Assoziation mit einem erhöhten Risiko an einer chronischen Enteropathie zu erkranken und für zwei der TLR5 SNPs zeigte sich ein positiver Effekt gegenüber einer chronischen Enteropathie. Da alle non-synonymous SNPs zu Änderungen der translatierten Aminosäuren führen, sind Änderungen in den Eigenschaften der betroffenen TOLL-like Rezeptoren vorstellbar. Wegen einer hohen Rate von Kopplungsungleichgewicht (Linkage Disequilibrium) beim Hund wurde allerdings auch eine Kopplung der gefundenen SNPs mit eigentlich für die chronische Enteropathie verantwortlichen Genen nicht ausgeschlossen.

Während sich die Untersuchungen von Kathrani und Mitarbeiter (2010) nur auf den Deutschen Schäferhund bezogen, wurde durch Kathrani und Mitarbeiter (2011) an einem Kollektiv von 38 Hunderassen gezeigt, dass von den drei im TLR5 Gen beschriebenen SNPs nur zwei (C100T und T1844C) auch bei anderen Hunderassen einen signifikant protektiven Effekt auf eine chronische Enteropathie haben. Für den TLR5 SNP G22A, der beim Schäferhund mit einem erhöhten Risiko an einer chronischen Enteropathie zu erkranken verbunden sein soll, ließ sich eine solche Assoziation bei den anderen Hunderassen aus unbekanntem Gründen nicht nachweisen.

Um eine mögliche funktionelle Bedeutung des SNP G22A (Haplotyp ACC) im TLR5 Gen für die Entstehung einer chronischen Enteropathie bei Deutschen Schäferhund zu ermitteln, transfizierten Kathrani und Mitarbeiter (2012) eine Hundezelllinie mit Gensegmenten des Risiko-assoziierten Haplotyp ACC bzw. dem nicht-Risiko-assoziierten Haplotyp GTT des SNP G22A. Die transfizierten Zellen wurden anschließend mit rekombinantem Flagellin, Lipopolysaccharid oder PAM5CSK4 (ein synthetisches Lipopeptid) stimuliert. Dabei führte

nur die Stimulation mit Flagellin und nur bei dem Risiko-assoziierten Haplotyp ACC zur Aktivierung des NF- κ B Gens, nachgewiesen durch die Produktion des Chemokins CXCL8 durch die transfizierten Zellen. Die Autoren interpretieren ihre Ergebnisse als eine Hyperresponsibilität gegenüber der Bakterienkomponente Flagellin bei Schäferhunden, die den Risiko-assoziierten Haplotyp ACC im TLR5 SNP G22A tragen.

Die Höhe der Expression der mRNA von TLR2 und TLR4 untersuchten McMahon und Mitarbeiter (2010) bei 20 Hunden verschiedener Rassen mit chronischer Enteropathie und setzten diese in Relation zum klinischen und histopathologischen Schweregrad der Erkrankung. Verglichen mit Kontrollhunden war die Expression von TLR2 bei den kranken Hunden um den Faktor 20 gesteigert, es fand sich außerdem eine schwache Korrelation mit dem klinischen Schweregrad der Erkrankung. Hingegen war die mRNA für TLR4 gegenüber Kontrolltieren nicht vermehrt. Es fand sich auch keine Korrelation zwischen der Höhe der TLR2 und der TLR4 mRNA Expression und dem histopathologischen Schweregrad der Enteritis. Die Autoren merken dazu an, dass eine vermehrte TLR Expression nicht einfach mit der Anzahl und dem Typ der Entzündungszellen im erkrankten Darm korreliert ist und dass es unklar ist, ob die vermehrte Expression der TLRs Ausdruck einer gestörten Regulation, die für die Entstehung der chronischen Enteropathie verantwortlich ist, oder einfach nur Ausdruck eines vermehrt entzündeten Gewebes sei.

Anstelle der an der Zelloberfläche oder in Endosomen lokalisierten TLRs untersuchten Okanishi und Mitarbeiter (2013) die Expression der mRNA für den zytoplasmatisch gelegenen NOD-like Receptor2 (NOD2) bei 19 Hunden mit chronischer lymphoplasmazellulärer Colitis an Biopsien. Die Autoren fanden eine signifikant erhöhte NOD2 mRNA Expression in den Colonbiopsien im Vergleich mit Kontrollhunden. Eine Korrelation mit dem klinischen Schweregrad (CIBDAI) fand sich hingegen nicht. Außerdem wurde eine erhöhte Bindungsaktivität des Transkriptionsfaktors NF- κ B bei den erkrankten Hunden gefunden, wobei offen blieb, wer der Auslöser (NOD2, TLRs oder Aktivierung des TNF α -Rezeptor) dieser Erhöhung war; diese Erhöhung der Bindungsaktivität korrelierte ebenfalls nicht mit dem klinischen Schweregrad.

2.2.10. Enterales Mikrobiom bei lymphoplasmazellulärer Darmentzündung

Chronische Darmentzündungen können sich entwickeln aus dem Zusammenspiel einer gestörten unspezifischen (angeborenen) Abwehr bzw. einer spezifischen (erworbenen) Immunantwort und Bestandteilen des Darminhalts, allen voran einer Störung der enteralen Bakterienflora (microbiom, microbiota). Fraglos spielt eine intakte, funktionstüchtige bakterielle Darmflora eine entscheidende Rolle für die Gesundheit des Gesamtorganismus. Die Bakterienflora schützt vor pathogenen Erregern, hilft bei der Verdauung sowie der Versorgung mit essentiellen Nahrungskomponenten und stimuliert permanent das Immunsystem. Störungen der Darmflora, faßbar als Verschiebung in der taxonomischen Zusammensetzung, können Auslöser von Darmentzündungen sein. Aus diesem Grund hat man sich in jüngerer Zeit mit der Zusammensetzung der Darmflora im Rahmen von Untersuchungen zur chronischen Enteropathie / idiopathic inflammatory bowel disease befaßt. Die Vergleichbarkeit der Studien ist durch Unterschiede im Studienaufbau erschwert: Untersuchung unterschiedlicher Darmabschnitte, verschiedene Methoden des Bakteriennachweises, unterschiedliches Probenmaterial (Darm, Fäzes) oder die Kombination mit Therapieversuchen.

Als erste Arbeitsgruppe haben Xenoulis und Mitarbeiter (2008) die mikrobielle Darmflora des Duodenums von Hunden mit IBD und Kontrollhunden mittels Etablierung von Clonbibliotheken von bakteriellen 16S rRNA Genen verglichen; Ausgangsmaterial waren dabei Cytobrush-

Präparate. Die Autoren fanden eine signifikante Vermehrung von Sequenzen aus der Familie der *Enterobacteriaceae*, wobei die Mehrzahl der Sequenzen *E. coli* zugeordnet werden konnte. Ebenfalls vermehrt waren Sequenzen aus der Familie der *Clostridiaceae*. Keine signifikante Korrelation bestand zwischen der Anzahl von Clonen der Familie der *Enterobacteriaceae* und dem histologischen Schweregrad, wohl aber zwischen der Anzahl der Clone der Familie *Clostridiaceae* und dem klinischen Schweregrad (CIBDAI). Insgesamt stellten die Untersucher bei Hunden mit IBD eine Reduktion der Vielfalt an Bakterienarten fest, und sie warfen die Frage auf, ob die veränderte intestinale bakterielle Besiedlung der Entstehung einer IBD vorausgeht oder ob sich diese erst sekundär nach Entstehung der Darmentzündung einstellt.

Zusätzlich zur Untersuchung der Expression von TOLL-like Rezeptoren im Darm von Deutschen Schäferhunden mit chronischer Enteropathie haben Allenspach und Mitarbeiter (2010) auch das Mikrobiom der Tiere mittels Bürstenabstrichen vom Duodenum untersucht und mit dem von Kontrollhunden verglichen. Dabei fanden sie vermehrt Clone der Bakterienklassen *Bacilli* und *Erysipelothrichi* bzw. der Ordnungen *Lactobacillales*, *Actinomycetales* und *Erysipelotrichales*. Die Abweichung von den Ergebnissen von Xenoulis und Mitarbeitern (2008) interpretierten die Autoren als möglicherweise rasse-typisch für den Schäferhund. Es wurde keine Korrelation der Anzahl von Clons auf den taxonomischen Ebenen Stamm, Ordnung, Klasse oder Familie aus dem Duodenum mit dem klinischen oder histopathologischen Schweregrad der chronischen Enteropathie beim Schäferhund gefunden.

Als bis dahin nicht hinreichend genau untersucht fanden Suchodolsky und Mitarbeiter (2010) die speziell mit der Schleimhaut des Duodenums assoziierte („mucosa adherent“) Darmflora bei Hunden mit IBD. Allerdings gaben die Autoren keine genauen Hinweise, wie sie Bakterien aus dieser Lokalisation gezielt in den molekularbiologisch aufgearbeiteten Biopsien untersuchen konnten. Das Patientengut war bereinigt von Hunden mit einer Fütterungs-assoziierten oder Steroid-responsiven Enteropathie. Sowohl der klinische wie auch der histopathologische Schweregrad wurden ermittelt. Gefunden wurde eine Vermehrung von Clonen der Bakterienstämme *Proteobacteria* und *Bacteroidetes*, Clone der Familien der *Clostridiaceae* waren in dieser Studie vermindert. Ebenso konnte eine Assoziation der IBD mit Sequenzen von *E. coli* nicht festgestellt werden. Die Autoren sehen signifikante Differenzen in der duodenalen Bakterienflora zwischen IBD- und Kontrollhunden, allerdings „No single phylotype was consistently associated with idiopathic IBD. Instead, a more general disruption of the duodenal mucosal microbiota was identified.“ Außerdem stellten die Autoren ebenfalls die Frage, ob die veränderte Bakterienflora Ursache der IBD oder eine Folge der Darmentzündung sei.

Die Bakterienflora der Fäzes anstatt der enteralen Flora wurde von Suchodolski und Mitarbeiter (2012 B) bei Hunden mit IBD analysiert. Die Studiengruppe umfaßte nur Hunde, bei denen eine Fütterungs-assoziierte oder Steroid-responsive Enteropathie ausgeschlossen worden war und die klinische Besserung nach Steroidgabe zeigten. Es konnte kein signifikanter Unterschied in der Bakterienflora zwischen IBD- und Kontrollhunden gefunden werden, insbesondere nicht für Mitglieder des Stammes *Proteobacteria*, wie es von anderen Autoren an Biopsien aus dem Duodenum beschrieben worden ist. Statt dessen wurde eine Verminderung von Bakterien der Gattung *Faecalibacterium* und des Stammes *Fusobacteria* gesehen.

Wurde die taxonomische Zusammensetzung der enteralen Bakterienflora bis dahin vor allem mittels aufwendig zu erstellender Clonierungsbibliotheken der 16S rRNA ermittelt, so erlaubte die Anwendung der 16S rRNA Pyrosequenzierung eine umfassendere taxonomische Abdeckung (Suchodolski et al. 2012 A). Die Autoren untersuchten ein analog den Angaben der

vorgenannten Arbeit zugeschnittenes Kollektiv von Hunden mit IBD. Sie konnten erneut eine Zunahme von Sequenzen innerhalb des Stammes *Proteobacteria* und eine Verminderung von Sequenzen innerhalb der Stämme *Bacteroidetes*, *Fusobacteria* und *Firmicutes* feststellen. Im Stamm *Proteobacteria* wurden Mitglieder der Gattung *Diaphorobacter*, eine Butyrat-reduzierende Gruppe von Bakterien, häufiger bei IBD-Hunden nachgewiesen.

In einer Studie zur Wirksamkeit eines Probiotikums zur Therapie der IBD führten Rossi und Mitarbeiter (2014) eine parameterreiche Studie an Biopsien aus Dünn- und/oder Dickdarm durch. Die Vergleichstherapie bestand aus der Gabe von Antibiotika und Steroiden. Zur Beurteilung der enteralen Bakterienflora wurden die Fäzes herangezogen. Festzustellen war eine signifikante Verringerung des Vorkommens von *Faecalibacterium* spp. und *Turicibacter* spp. im Vergleich mit gesunden Kontrollhunden, was bereits mitgeteilten Ergebnissen entspricht; davon abweichend fanden sich keine Unterschiede im Stamm *Fusobacteria*. Für andere Bakteriengruppen waren keine deutlichen Unterschiede bei beiden Therapiegruppen zu ermitteln. Weder das Probiotikum noch die konventionelle Therapie führte zu größeren Veränderungen in den Stämmen *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Fusobacteria*, 30 Tage nach Beendigung der Therapien.

Die mögliche Bedeutung von bakteriellen Metaboliten, die im Darm produziert werden und dann lokal oder nach Resorption systemisch wirken, untersuchten Minamoto und Mitarbeiter (2015). Dazu analysierten sie die fäkale Bakterienflora mittels Pyrosequenzierung der 16S mRNA Gene und gleichzeitig untersuchten sie das Blut der Hunde mit der Gas Chromatography coupled with Time-of Flight Mass Spectrometry (GC-TOF/MS). Außerdem untersuchten sie den Einfluß einer dreiwöchigen Therapie auf die genannten Parameter. Insgesamt waren 22 Bakteriengruppen differentiell exprimiert beim Vergleich zwischen IBD- und Kontrollhunden, wobei Gammaproteobacteria überrepräsentiert waren, vor allem *Enterobacteriaceae*, möglicherweise *E. coli*. Unterrepräsentiert waren hingegen die Klassen *Erysipelotrichia*, *Clostridia* und *Bacteroidia*. Zwischen den mikrobiologischen Befunden und Alter, Geschlecht sowie Gewicht der Hunde gab es keine Korrelation. Die Metabolomanalyse deutete auf Veränderungen im bakteriellen Aminosäuren-Stoffwechsel hin, während andere Stoffwechselwege unverändert erschienen, insbesondere der Kohlenhydrat-Stoffwechsel. Die dreiwöchige Therapie führte trotz klinischer Besserung zu keiner Veränderung der Darmflora.

Während bislang molekularbiologische Untersuchungen ohne Hinweis auf die Topik der bakteriellen Darmflora gemacht worden waren bedienten sich Cassmann und Mitarbeiter (2016) der strukturgebundenen Fluorescence In-situ Hybridisierung (FISH). Untersucht wurden vier Gruppen von Hunden, Tiere mit IBD, granulomatöser Colitis, Darmtumoren und Kontrollhunde, wobei die Entzündungen öfters als chronische Enteropathie zusammengefaßt wurden. Die für die FISH verwendeten Probes erfaßten Bakterien insgesamt sowie mehrere Gruppen von Bakterien wie u.a. *Enterobacteriaceae* und *E. coli*. Untersucht wurden Biopsien von Ileum und Colon. Die Zahl von Bakterien insgesamt im Ileum und Colon unterschied sich bei Hunden mit chronischer Enteropathie nicht signifikant von der bei den Kontrollhunden. Bezogen auf einzelne Bakteriengruppen dominierten bei Hunden mit IBD *Enterobacteriaceae*, *E. coli* und *Bacteroides* in Ileum und Colon. Die Bakterien fanden sich dabei, wie auch bei den Kontrolltieren, im freien und adhärenen Schleim. Eine signifikante Korrelation zwischen dem Vorkommen der Bakteriengruppen und dem klinischen und histopathologischen Schweregrad ließ sich nicht nachweisen, wohl aber zwischen der Gesamtzahl an Bakterien und dem Schweregrad der klinischen Erscheinungen bei IBD-Hunden.

Die speziesspezifischen Abweichungen in der Zusammensetzung der Darmflora bei IBD von

Mensch und Hund untersuchten Vázquez-Baeza und Mitarbeiter (2016). Dabei stellten sie fest, dass sich die Abweichungen (dysbiosis network) zwischen Mensch und Hund unterscheiden, wobei es auch einzelne Bakterien gibt, die bei beiden Spezies betroffen sind.

Schwerpunkt der Untersuchungen von Xu und Mitarbeiter (2016) waren die Bakterienflora in den Fäzes und insbesondere bakterielle Stoffwechselprodukte ansonsten schwerverdaulicher Nahrungsmittelbestandteile bei Hunden. Ein besonderes Augenmerk hatten die Autoren dabei auf Butyrat-produzierende Bakterien. Die Untersucher fanden keine deutlichen Unterschiede in der relativen Vorkommenshäufigkeit zahlreicher Bakteriengruppen und vor allem nicht für die Anzahl von Genkopien der Butyryl-CoA Acetat-CoA Transferase und der dissimilative sulphate-reducing bacteria zwischen IBD- und Kontrollhunden. Kein Unterschied bestand auch für Ammoniak und kurzkettige Fettsäuren im Kot. Eine negative Korrelation zeigte sich zwischen dem klinischen Schweregrad (CCECAI) und dem Vorkommen von Lactobacillen, denen eine schützende Wirkung zugeschrieben wird. Die Autoren warfen auch die Frage auf, ob das fäkale Microbiom die enterale Flora verlässlich widerspiegelt.

Mögliche Unterschiede in der Zusammensetzung der Darmflora in Duodenum und Colon bei Hunden mit IBD und mit Food-responsive disease (FRD), vor und nach Therapie haben Kalenyak und Mitarbeiter (2018) untersucht. Die Therapie bestand bei den FRD-Hunden in einer erfolgreichen 14-tägigen Eliminationsdiät und bei den IBD-Hunden in einer Steroid- und ggf. weitergehenden immunsuppressiven Behandlung. Mittels drei verschiedener biostatistischer Testverfahren fanden sich keine eindeutigen Unterschiede zwischen den beiden Krankheitsgruppen sowie zwischen Dünn- und Dickdarm oder zwischen vor und nach der Therapie. Auch eine signifikante Korrelation mit dem klinischen Schweregrad (CIBDAI) ergab sich nicht. Bei den IBD-Hunden bestand eine Zunahme des Vorkommens von Bakterien aus dem Stamm *Proteobacteria*. Als Problem wurde von den Autoren das Fehlen einer Kontrollgruppe angesehen. Außerdem stellten sie bezüglich IBD und FRD zur Diskussion, ob „both conditions may represent a different spectrum of the same disease“.

2.3. Eosinophile Colitis

2.3.1. Allgemeine Vorbemerkung

Die eosinophilen Entzündungen des Verdauungstraktes stellen beim Menschen eine eigenständige Gruppe von Krankheiten dar (Conner und Kirsch, 2017; Collins et al., 2018), die den Bildern der "inflammatory bowel disease" (IBD), also Morbus Crohn und Ulzerative Colitis, an die Seite gestellt wird.

Beim Hund handelt es sich nach traditioneller Sicht ebenfalls um eine eigenständige Gruppe von Krankheiten des Verdauungstraktes, die durch eine relative oder absolute Dominanz von eosinophilen Granulozyten am Entzündungsgeschehen gekennzeichnet ist.

Seit einigen Jahren werden die eosinophilen Entzündungen des Verdauungstraktes beim Hund, in fehlerhafter nomenklatorischer Anpassung an die Humanmedizin, dem Komplex der so genannten "idiopathischen IBD" zugeordnet (Hall und German, 2008), ohne dass die Krankheiten des Hundes Ähnlichkeiten mit den beiden oben genannten Krankheiten des Menschen haben.

Für die eosinophilen Entzündungen des Verdauungstrakts beim Hund bedeutet das, dass sämtliche eosinophilen Entzündungen mit einer bekannten Ursache aus dem IBD-Komplex

ausgeschlossen sind. Problematisch wird eine Zuordnung zu primären (idiopathischen) eosinophilen Entzündungen allerdings, wenn für diese primären Formen Ursachen vermutet und diskutiert werden, wie etwa immunpathologische Reaktionen auf bestimmte Allergene oder parasitäre Infektionen. Es sollte bei dieser *ex negativo* Definition beachtet werden, dass "idiopathisch" nichts anderes besagt, als dass eine zugrundeliegende Ursache bislang nicht bekannt ist. Dass in Veröffentlichungen häufig einfach nur von "IBD" geschrieben wird, obwohl man "idiopathische IBD" meint, macht die Angelegenheit nicht übersichtlicher. Eine ausführliche Stellungnahme gegen die Verwendung der Diagnose IBD findet sich auch bei Dandrieux (2016).

Für den Hund ergibt sich eine ätiologische Einteilung der eosinophilen Entzündungen des Verdauungstraktes wie in Tabelle 1 aufgeführt.

	Ursache
primäre eosinophile Entzündungen	per definitionem unbekannt
sekundäre eosinophile Entzündungen	Parasitosen
	Tumoren (Mastzell-Tumor, mal. Lymphom)
	eosinophiler Granulom-Komplex

Tabelle 1: Versuch einer ätiologischen Einteilung der eosinophilen Entzündungen des Verdauungstraktes beim Hund

Übersichtsarbeiten zur eosinophilen Entzündung des Verdauungstraktes beim Hund liegen vor von Johnson (1982), Hall und German (2008) sowie Sattasathuchana und Steiner (2014).

2.3.2. Allgemeine Morphologie der eosinophilen Entzündung im Verdauungstrakt

Eosinophile Entzündungen des Verdauungstraktes lassen sich nach einer ganzen Reihe von Kriterien einteilen.

Eine eosinophile Entzündung kann in allen Abschnitten des Verdauungstraktes auftreten, vom Ösophagus bis zum Rektum. Meistens sind allerdings nur einzelne Abschnitte betroffen: eosinophile Stomatitis/Ösophagitis (German et al., 2002), eosinophile Gastritis, eosinophile Enteritis (Hill und Kelly, 1974; Quigley und Henry, 1981; O'Brien, 1989; Fonseca-Alves et al., 2012) oder eosinophile Colitis (Hall, 1967; Bartsch und Irvine-Smith, 1972; Legendre und Krehbiel, 1973; van der Gaag und van der Linde-Sipman, 1987; van der Gaag et al., 1990; Rodriguez et al., 1995; Leib, 2000; Kleinschmidt et al., 2006), gelegentlich sind zwei Abschnitte (eosinophile Gastroenteritis (Hayden und van Kruiningen, 1973; van der Gaag et al. 1983; McTavish, 2002; Kleinschmidt et al., 2006), eosinophile Enterocolitis (Strande et al., 1954; German et al., 2002)) oder sogar drei Abschnitte verändert (eosinophile Gastroenterocolitis; Hayden und van Kruiningen, 1973; Brellou et al. 2006; Kleinschmidt et al., 2006).

Entscheidend für die histologische Diagnose einer eosinophilen Entzündung ist das Auftreten von eosinophilen Granulozyten. Das reicht für die Diagnose bei semiquantitativer Abschätzung von einer problemlosen Auffindung von Eosinophilen - dieser ansonsten nur schwer im HE-Präparat identifizierbaren Zellen - bis hin zur deutlichen Dominanz von Eosinophilen am Entzündungszellinfiltrat, sofern nicht eine Quantifizierung gemäß eines vorgegebenen Schemas (Day et al. 2008) vorgenommen wird, wobei in dieser Arbeit ein "Schwellenwert" an Eosinophilen für die Diagnose "eosinophile Entzündung" nicht gegeben wird.

Von den von Willard und Mansell (2011) aufgeführten "systems or grading schemas for interpretation of intestinal histopathology" werden bei den meisten hier relevanten Arbeiten eosinophile Granulozyten zwar erwähnt, nicht aber eine eosinophile Entzündung des Verdauungstraktes (Jergens et al., 1992 und 2003; German et al. 2001; Allenspach et al. 2007) (ebenso bei Peters et al., 2005, McCann et al., 2007, Burgener et al., 2008, De Majo et al., 2008 und Washabau et al. 2010). Im Gegensatz dazu führen Wilcock (1992) sowie Craven und Mitarbeiter (2004) zwar eine eosinophile Entzündung des Verdauungstraktes auf, ohne aber quantitative Angaben zu den Eosinophilen zu machen. Wilcock (1992) weist ferner kritisch darauf hin, dass seiner Meinung nach zahlreiche Fälle von lymphoplasmazellulärer Enteritis aufgrund ihres hohen Anteils von Eosinophilen korrekter als eosinophile Enteritis zu diagnostizieren wären. So bleibt nur die bereits erwähnte Arbeit von Day und Mitarbeitern (2008), die als "Gastrointestinal Standardization Group" der "World Small Animal Veterinary Association", konkrete Vorgaben für die Beurteilung der Anzahl von eosinophilen Granulozyten in der Schleimhaut des Colons machen, auch wenn die Größe des Meßfeldes dabei nur unzureichend festgelegt ist: "Mild elevation in number of eosinophils to approximately 5 - 10 per x40 field. Moderate elevation to 10 - 20 per x40 field. Marked increase in mucosal eosinophils, eosinophils dominate the tissue population of leucocytes and are not easily enumerated within a x40 field".

Neben eosinophilen Granulozyten sind regelmäßig auch Lymphozyten und Plasmazellen am Zellinfiltrat beteiligt. In bestimmten Fällen finden sich außerdem vermehrt Makrophagen (Hayden und van Kruiningen, 1973; van der Gaag et al., 1983; van der Gaag und van der Linde-Sipman, 1987; van der Gaag et al., 1990; Brellou et al., 2006) und mehrkernige Riesenzellen vom Fremdkörpertyp (Hayden und van Kruiningen, 1973; van der Gaag und van der Linde-Sipman, 1987; van der Gaag et al., 1990) sowie Fibroblasten und kollagene Fasern/Fibrose (Hayden und van Kruiningen, 1973; van der Gaag et al., 1983; van der Gaag und van der Linde-Sipman, 1987; van der Gaag et al., 1990; Rodriguez et al., 1995; Brellou et al., 2006), was der Entzündung den Charakter einer granulomatösen Entzündung (Hayden und van Kruiningen, 1973; van der Gaag et al., 1983; van der Gaag und van der Linde-Sipman, 1987; Rodriguez et al., 1995; Leib, 2000) unter Mitbeteiligung von eosinophilen Granulozyten verleiht.

Die Verteilung der eosinophilen Granulozyten im betroffenen Verdauungstraktabschnitt kann entweder diffus oder knotenförmig sein (Tabelle 2). Wie lang der diffus veränderte Abschnitt ist und wie viele entsprechend veränderte Abschnitte vorkommen oder wie viele Knoten sich finden ist fallweise unterschiedlich.

Verteilung	beteiligte Zellen	Ursachen
diffuse Verteilung	eosinophile Granulozyten, Lymphozyten, Plasmazellen	idiopathische eosinophile Entzündung
herdförmige Verteilung	zusätzlich Makrophagen, mehrkernige Riesenzellen, Fibroblasten, kollagene Fasern	Parasiten (nachgewiesen oder vermutet)
		Bakterien (Drusen-bildend)
		eosinophiler Granulom-Komplex
		Tumore

Tabelle 2: Verteilungsmuster der eosinophilen Entzündungen im Verdauungstraktes des Hundes

Die Tiefenausdehnung der eosinophilen Entzündung innerhalb der Wand reicht von Fällen, in denen nur die *Lamina propria mucosae* betroffen ist, bis hin zu solchen, die eine transmurale Infiltration mit Entzündungszellen von der *Lamina propria* über die *Tela submucosa*, die *Tunica muscularis* bis in die *Lamina propria serosae* aufweisen.

Bei tumorassoziierten Infiltraten von Eosinophilen, was als paraneoplastisches Phänomen einzuordnen ist, sollten lokal entsprechende Tumorzellansammlungen (Mastzellen-Tumor, malignes Lymphom) nachzuweisen sein.

2.3.3 Diffuse eosinophile Colitis

Unter den ersten Arbeiten zur eosinophilen Entzündung des Verdauungstraktes beim Hund finden sich mehrere, bei denen die Diagnose "eosinophile Gastroenteritis" auf einer Blut-Eosinophilie und einer klinischen gastrointestinalen Symptomatik beruhen, ohne dass einschlägige Biopsie- oder Obduktionsbefunde vorlegen haben (Eikmeier und Manz, 1966; Gluhm, 1968; Easley, 1972).

Die Anzahl von Arbeiten, die sich ausschließlich oder neben weiteren Darmabschnitten mit einer eosinophilen Entzündung des Dickdarms in diffuser, also nicht knotenförmiger Ausbreitung befassen, ist begrenzt. Eine erste Beschreibung einer eosinophilen Colitis stammt möglicherweise von Strande und Mitarbeiter (1954). Die Autoren selbst bezeichnen die Veränderungen als "regionale Enterocolitis" und vergleichen sie mit dem M. Crohn des Menschen. Klinik, makroskopische und histologische Befunde lassen sich allerdings zwanglos einer eosinophilen Colitis zuordnen.

Hinweisende klinische Befunde, die von den meisten der nachfolgend zitierten Arbeiten auch erwähnt werden, sind eine deutliche Blut-Eosinophilie sowie blutiger Durchfall und / oder Erbrechen, wobei allerdings eine Blut-Eosinophilie nicht zwingend vorliegen muß (Hall und German, 2008). Darüber hinaus wurde bei einer Analyse von 105 Hunden mit Blut-Eosinophilie nur bei einem Patienten ein Zusammenhang mit einer Colitis gefunden (Lilliehöök et al., 2000).

Makroskopisch ist die Wand von Caecum, Colon und/oder Rectum über unterschiedlich lange Bereiche bis zu 2 cm verdickt (Strande et al., 1954), die Schleimhaut entweder fleckförmige gerötet (Strande et al., 1954) oder weist petechiale bis ekchymotische Blutungen (Strande et al., 1954; Bartsch und Irvine-Smith, 1972; German et al., 2002) sowie schlecht begrenzte, diffuse Ulzera (Strande et al., 1954; German et al., 2002) auf.

Die mitgeteilten histologischen Befunde bei der eosinophilen Colitis (außerdem eosinophile Typhlitis: Strande et al., 1954; Legendre und Krehbiel, 1973 sowie eosinophile Proctitis: Strande et al., 1954), stimmen bei allen Autoren weitgehend überein, Unterschiede finden sich vor allem bezüglich der Tiefenausdehnung der Entzündung und zusätzlicher Befunde. Das Entzündungszellinfiltrat besteht unter anderem aus Eosinophilen (Strande et al., 1954; German et al., 2002; Kleinschmidt et al., 2006) oder aus "numerous eosinophils" (Hall, 1967), "primarily eosinophils" (Bartsch und Irvine-Smith, 1972), "aggregates of eosinophils" (Legendre und Krehbiel, 1973) bzw. "... increasing degrees of histologic changes were accompanied by increasing numbers of eosinophils." (Kleinschmidt et al., 2007). Neben Eosinophilen treten neutrophile Granulozyten (Strande et al., 1954; Hall, 1967; Bartsch und Irvine-Smith, 1972), Makrophagen (Strande et al., 1954; Hall, 1967; Kleinschmidt et al., 2007), Plasmazellen (Bartsch und Irvine-Smith, 1972), Ig-A produzierende Zellen (Kleinschmidt et al., 2007), Lymphozyten (German et al., 2002), T-Lymphozyten (Kleinschmidt et al., 2007) sowie

Mastzellen (Strande et al., 1954; Locher et al., 2001; Kleinschmidt et al., 2007) auf. Während Strande und Mitarbeiter (1954) nur allgemein auf das Vorkommen von Mastzellen hinweist, hat die Arbeitsgruppe um M. Hewicker-Trautwein die Mastzellen bei verschiedenen Entzündungsentitäten und in verschiedenen Darmabschnitten des Hundes sowohl quantifiziert als auch die verschiedenen Mastzell-Typen differenziert (Kleinschmidt et al., 2007). Als Schädigungen der Schleimhaut werden Erosionen/Nekrose des Epithels (Legendre und Krehbiel, 1973) und Ulzera (Strande et al., 1954) benannt.

Die entzündlichen Infiltrate finden sich in der *Lamina propria* (Strande et al., 1954; Bartsch und Irvine-Smith, 1972), in der *Tela submucosa* (Strande et al., 1954; Hall, 1967; Bartsch und Irvine-Smith, 1972; Legendre und Krehbiel, 1973; Kleinschmidt et al., 2006 und 2007), betont in der *Lamina muscularis mucosae* (Bartsch und Irvine-Smith, 1972) oder auch in der *Tunica muscularis* (Kleinschmidt et al., 2007) beziehungsweise transmural (Kleinschmidt et al., 2006), wobei in den beiden letztgenannten Arbeiten "full thickness" Biopsien untersucht wurden.

2.3.4. Noduläre oder granulomatöse eosinophile Enteritis

Diese Gruppe der eosinophilen Entzündungen des Verdauungstraktes zeichnet sich dadurch aus, dass, zusätzlich zu eosinophilen Granulozyten, Lymphozyten und Plasmazellen, auch Makrophagen und mehrkernige Riesenzellen beteiligt sind und es vielfach zu einer Zubildung von Kollagenfaser-reichem Bindegewebe kommt. Im überwiegenden Teil der Fälle ist die Entzündung nicht diffus sondern knotenförmig im Darm angeordnet. Ätiologisch handelt es sich um eine heterogene Gruppe von Krankheiten. Im Vordergrund stehen nachgewiesene (*Toxocara canis*, Hayden und von der Kruiningen, 1973) oder vermutete parasitäre Infektionen (van der Gaag et al., 1983, van der Gaag und van der Lippe-Sipman, 1987; Rodriguez et al., 1995; Junginger et al., 2012).

Makroskopisch ist der Darm entweder diffus verdickt (Hayden und van Kruiningen, 1973; van der Gaag und van der Lippe-Sipman, 1987) oder die Schleimhaut ist knotig verdickt (van der Gaag et al., 1983; Rodriguez et al., 1995) oder es werden weißliche oder gelbliche 1 bis 6 mm im Durchmesser große feste Knötchen beschrieben (Hayden und van Kruiningen, 1973).

Histologisch sind neben Eosinophilen, Lymphozyten und Plasmazellen auch Makrophagen (Hayden und van Kruiningen, 1973; van der Gaag et al., 1983; van der Gaag und van der Lippe-Sipman, 1987) und mehrkernige Riesenzellen (van der Gaag und van der Lippe-Sipman, 1987) beteiligt. In einem Teil der Fälle kommt es zu herdförmigen Nekrosen (van der Gaag et al., 1983; Rodriguez et al. 1995), zur Zubildung von Kollagenfaser-reichem Bindegewebe (Hayden und van Kruiningen, 1973; van der Gaag und van der Lippe-Sipman, 1987; Rodriguez et al., 1995) oder zu Erosionen oder Ulzera der bedeckenden Schleimhaut (van der Gaag et al., 1983; van der Gaag und van der Lippe-Sipman, 1987; Rodriguez et al., 1995). Die 2. Larven von *Toxocara canis* werden von Hayden und van Kruiningen (1973) in den Knoten nachgewiesen.

Über einen morphologisch ähnlich gearteten Fall berichten van der Gaag und Mitarbeiter (1990), mit Veränderungen in Ileum, Caecum, Colon und Rectum. Allerdings finden die Autoren in den Herden strahlenförmig angeordnetes, stark eosinophiles Material (Splendore-Hoepplie-Material), was sie als möglichen Hinweis auf eine bakterielle Infektion mit Drusenbildenden Bakterien, wie beispielsweise *Actinomyces spec.* deuten; sie bezeichnen die Herde deshalb auch als Mikroabszesse.

Auch typische Eosinophile Granulome, wie sie in Haut und Maulhöhlenschleimhaut auftreten, können im distalen Verdauungstrakt (Pylorus bis Colon) vorkommen (Brellou et al., 2006). Da die Autoren nur Biopsien untersucht haben, fehlt eine makroskopische Beschreibung. Histologisch sind die Herde aus zentral gelegenen fragmentierten Kollagenfasern und degenerierten eosinophilen Granulozyten mit umgebenden Makrophagen in Palisadenstellung und vitalen Eosinophilen aufgebaut.

Vom herdförmigen Ausbreitungsmuster her sind auch Infiltrate von eosinophilen Granulozyten im Rahmen von gastrointestinalen Tumoren hier einzuordnen, obwohl sie nicht den Entzündungen zugerechnet werden, und die Infiltration der Eosinophilen als paraneoplastisches Geschehen infolge der Abgabe von eosinophilotaktischen Substanzen (IL-4, IL-5, Eotaxin) durch die Tumorzellen angesehen wird. In Betracht kommen sowohl Mastzelltumoren (Ozaki et al., 2002) als auch maligne Lymphome, wie beispielsweise maligne T-Zell-Lymphome (Ozaki et al., 2006).

2.4. Histiozytäre ulzerative Colitis (HUC)

2.4.1. Klinik der histiozytären ulzerativen Colitis

Erstmals wurde die Morphologie dieses Krankheitsbildes 1965 durch van Kruiningen und Mitarbeiter als „granulomatous colitis of dogs with histologic resemblance to Whipple’s disease“ in den USA beschrieben. Der hier verwendete Name der Krankheit „Histiozytäre ulzerative Colitis“, (HUC) geht auf Sander und Langham (1968) zurück.

Die Rasse Boxer ist hochgradig prädisponiert für die Krankheit; zwischenzeitlich wurden allerdings analoge klinische und morphologische Bilder auch beim - mit dem Boxer verwandten - French Bulldog (van der Gaag, 1978; Tanaka et al., 2003; Manchester et al., 2013; Nolte et al., 2017), sowie bei Mastiff, Alaskan Malamute und Doberman Pinscher (Stokes et al., 2001), beim English Bulldog (Hostutler et al., 2004) und bei Beagles (Carvallo et al., 2015) beschrieben.

Die Boxer erkranken als junge Tiere, vereinzelt bereits im Alter von 6 Wochen, bis zu einem Alter von maximal 4 Jahren. Eine Geschlechtsdisposition findet sich nicht, ebenso wie eine geographische Präferenz nicht zu erkennen ist. Klinisch fallen erkrankte Tiere durch häufigen, kleinvolumigen, schleimig-blutigen Durchfall und Tenesmus auf, sie sind meist im Allgemeinbefinden ungestört und weniger häufig kommt es zu Wachstumsverzögerung oder Gewichtsabnahme (Craven et al., 2011).

Die HUC wurde mit der Colitis ulcerosa, aber auch dem Morbus Crohn und dem Morbus Whipple sowie der den Harntrakt betreffenden Malakoplakie des Menschen verglichen (u.a. van Kruiningen, 1967; Sander und Langham, 1968).

2.4.2. Ätiologie und Pathogenese der histiozytären ulzerativen Colitis

Ätiologie und Pathogenese der Krankheit waren lange Zeit unbekannt, obwohl bereits van Kruiningen und Mitarbeiter in ihrer Arbeit von 1965 über Therapieerfolge nach Gabe von Chloramphenicol berichtet haben und in einer elektronenmikroskopischen Studie in Makrophagen Strukturen nachweisen konnten, die sie als bakterielle Erreger, möglicherweise Chlamydien, interpretierten (van Kruiningen et al., 1975), allerdings deren Menge als für zu gering erachteten, um die typische Entzündung auslösen zu können. Auch Kennedy und

Cello (1966) zeigen einen mit Toluidinblau gefärbten Semidünnschnitt mit Haufen von Bakterien in Makrophagen. Experimentelle Infektionen mit Mykoplasmen, die von Hunden isolierten worden waren, konnten die Krankheit nicht reproduzieren (Bowe et al., 1982).

Erst durchschlagende Erfolge einer Therapie mit dem Gyrasehemmer Enrofloxacin, die zur klinischen und morphologischen Remission führte, gaben erneut Hinweise auf eine mikrobielle Ursache (Davies et al., 2004), ohne dass bereits konkrete Erreger diskutiert wurden.

Immunhistologische Studien an Colonbiopsien von erkrankten Boxern zum Nachweis bakterieller Antigene von enteropathogenen Erregern, der Gattungen *Campylobacter*, *Yersinia*, *Salmonella* und *Shigella* sowie von *Lawsonia intracellularis*, ergaben Hinweise auf das Vorhandensein von Antigenen von *Escherichia coli* im Entzündungsgewebe (van Kruiningen et al., 2005).

Simpson und Mitarbeiter (2006) konnten schließlich mittels einer Kombination von Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) und 16S rDNA-Sequenzierung eindeutig *E. coli* frei und in Zellen der entzündeten Darmschleimhaut nachweisen; den Autoren konnten ferner *E. coli* aus Biopaten anzüchten und typisieren und anschließend mit diesen adhären und invasiven *E. coli* Zellkulturexperimente durchführen (siehe unten).

Sowohl die erfolgreiche Therapie durch Fluoroquinolone, wie u.a. Enrofloxacin, (Mansfield et al., 2009; Manchester et al., 2013) als auch der Nachweis von ursächlich beteiligten *E. coli* (Mansfield et al., 2005; Manchester et al. 2013; Carvallo et al. 2015) wurden zwischenzeitlich mehrfach beschrieben.

Eine auf die Immunpathologie der HUC ausgerichtete Studie ergab eine Zunahme von IgG3-, IgG4-, IgM-, und IgA-produzierenden Plasmazellen, von CD3⁺ T-Lymphozyten, von L1⁺ Makrophagen und neutrophilen Granulozyten sowie eine vermehrte Expression von MHC-Klasse II-Antigenen auf Enterozyten, sie lieferte aber keinen unmittelbaren Beitrag zur Klärung der Pathogenese der Krankheit (German et al., 2000).

Die ausgeprägte Rassespezifität der HUC macht eine genetische Komponente an der Entstehung der Krankheit sehr wahrscheinlich; erste genomweite Kopplungsanalysen liegen vor, haben aber keine konkreten Hinweise ergeben (Craven et al. 2011).

2.4.3. Makroskopische Befunde der histiozytären ulzerativen Colitis

Betroffen sind primär das Rektum und das distale Colon, von wo aus sich die Veränderungen nach proximal bis in das Caecum ausdehnen können. Die Wand des Colon ist hochgradig verdickt, die Schleimhaut häufig in dicke, nicht verstreichbare Falten gelegt. Die Schleimhautoberfläche ist in fortgeschrittenen Fällen meistens großflächig ulzeriert und deshalb hochgradig gerötet und erscheint granuliert. Einzelne intakte Schleimhautinseln können bestehen bleiben. Die Muskulatur und die Serosa machen einen unveränderten Eindruck. In älteren, hochgradigen Fällen kann es zu einer deutlichen Verkürzung von Colon und Caecum kommen (van Kruiningen et al., 1965; Kennedy und Cello, 1966; Koch und Skelley, 1967; Sander und Langham, 1968; Lindberg und Segall, 1977; van der Gaag et al., 1978; Hill und Sullivan, 1978; Churcher und Watson, 1997), andere Autoren beschreiben eine bis zu dreifache Zunahme des Durchmessers des Colons (Cockrell and Krehbiel, 1972).

Die Frühveränderungen der HUC wurden an einer Gruppe von Boxern untersucht, die unter experimentellen Bedingungen gehalten wurden und die in regelmäßigen Abständen endo-

skopiert und bioptiert wurden (Russell et al., 1971). Frühveränderungen sind demnach disseminierte, punktförmige oder etwas größere rötliche Herde in einer ansonsten unveränderten Schleimhaut. Etwas weiter fortgeschrittene Läsionen sind runde bis längliche 1 bis 5 mm große intensiv rote und eingesunkene Herde. Die regionären Darmlymphknoten sind regelmäßig vergrößert.

2.4.4. Histologische Befunde der histiozytären ulzerativen Colitis

Die histologischen Veränderungen am Dickdarm bei der HUC spielen sich am Epithel, der Oberfläche und der Krypten, sowie in der *Lamina propria* und der *Tela submucosa* ab. Im Bindegewebe von Propria und Submukosa kommt es zur fortschreitenden Ansammlung von Makrophagen, die durch die Akkumulation von granulärem, PAS-positivem Material gekennzeichnet sind. Dieses Hauptcharakteristikum der HUC wird seit deren Erstbeschreibung durch van Kruiningen und Mitarbeiter (1965) ausnahmslos von allen hier zitierten Arbeiten über die HUC erwähnt. Neben den Makrophagen finden sich zusätzlich Lymphozyten und Plasmazellen, vereinzelt werden auch eosinophile Granulozyten erwähnt (Davies et al., 2004). Ein Übergreifen der Entzündung auf die tieferen Schichten der Dickdarmwand (*Tunica muscularis*) wird nur selten berichtet (Hall et al., 1994).

Vor allem am Oberflächenepithel und lumennahen Epithel der Krypten treten Schäden auf, die mit einer Vakuolisierung der Zellen beginnt und mit der Nekrose und dem Verlust der Epithelzellen endet, was dann zur Ulzeration der Schleimhaut führt. Mit der Ulzeration gehen die Auflagerung von Fibrin an der Oberfläche (van Kruiningen, 1965; Sander und Langham, 1968) und das vermehrte Auftreten von neutrophilen Granulozyten im Entzündungsgewebe einher (van Kruiningen, 1965; Russell et al., 1971; Mansfield et al., 2009; Nolte et al., 2017). Von einer Reepithelisierung der Ulzera berichten Kennedy und Cello (1966) sowie Russell und Mitarbeiter (1971).

Die histologischen Frühveränderungen der HUC stellen sich als ein abrupter Übergang von unveränderter in eine verdichtete und vermehrt basophile Schleimhaut dar (Russell et al., 1971; Hall et al., 1994). Die Verdichtung kommt durch die oben bereits beschriebene Ansammlung von Makrophagen, Lymphozyten und Plasmazellen, die erhöhte Basophilie zusätzlich durch eine Hyperplasie der intakten Epithelzellen zustande (Russell et al., 1971; Hostutler et al., 2004; Mansfield et al., 2009; Manchester et al., 2013). Mit der Epithelhyperplasie ist auch eine Verminderung der Anzahl von Becherzellen verbunden (Hall et al., 1994; Hostutler et al., 2004; Mansfield et al., 2009; Nolte et al., 2017); eine Zunahme von Becherzellen wird hingegen nur ausnahmsweise beobachtet (Manchester et al., 2013).

Es ist also sehr wahrscheinlich, dass die Veränderungen des Epithels sekundär zur Entzündung sind, wie es bereits van Kruiningen (1965) sowie Kennedy und Cello (1966), selbst bei Anwesenheit von Bakterien in der Propria (van Kruiningen, 1965), beschrieben haben. Für nicht geklärt, ob sich die Epithelveränderungen primär oder sekundär zur Entzündung entwickeln, halten es Russell und Mitarbeiter (1971).

Die Ansammlung von PAS-positiven Makrophagen beginnt nach van Kruiningen (1965) in der Submukosa, die Mehrzahl der Autoren sehen den Beginn hingegen in der Propria (Kennedy und Cello, 1966), und zwar nahe der *Lamina muscularis mucosae* (Russell et al., 1971; Hall et al., 1994). Nach Russell und Mitarbeiter (1971) sind die Makrophagen im oberen Bereich der Propria PAS-negativ und werden erst in den tieferen Anteilen positiv, woraus die Autoren eine Reifung der Entzündung von apikal nach basal in der Schleimhaut ableiten.

Überlegungen zur Ursache des Epithelverlustes gibt es nur wenige. Russell und Mitarbeiter (1971) halten einen vermehrten Zelluntergang bei gleichzeitig vermindertem Zellnachschub aus den Krypten für die Ursache, ohne jedoch einen Grund für die Epithelnekrosen zu benennen.

In jüngster Zeit hat sich die Arbeitsgruppe um Marion Hewicker-Trautwein mit einer Charakterisierung der zentral an der Entzündung beteiligten Makrophagen befaßt (Nolte et al., 2017). Durch Doppelreaktionen - mit PAS-Reaktion und Immunhistochemie - konnten die Autoren zeigen, dass die PAS-negativen Makrophagen wahrscheinlich unreife, pro-inflammatorische Makrophagen sind, die von Monozyten abstammen, die kürzlich aus dem Blut in die Colonschleimhaut eingewandert sind und weniger wahrscheinlich von residenten Gewebemakrophagen der Propria abstammen. Die PAS-positiven Makrophagen hingegen sind reife, pro-inflammatorische und phagozytierende Makrophagen. In der Immunhistochemie wurden von den Autoren Antikörper gegen die folgenden Antigene eingesetzt: Iba1 (pan-Makrophagen-Marker), MHC Klasse II (Antigen-Präsentation), Lysozym (Muramidase, mit partieller Fähigkeit, *in vitro* die Zellwand gram-positiver Bakterien anzugreifen), CD 163 (Rezeptor für Haptoglobin/Hämoglobin), CD 204 (scavenger-Rezeptor), L1 Antigen (Calprotectin), iNOS (Produktion reaktiver Sauerstoff-Verbindungen) und CD 64 (Fc γ -Rezeptor I). Damit bestätigen die Autoren Vorstellungen, wie sie bereits von Russell und Mitarbeiter (1971) sowie Gomez und Mitarbeiter (1977) formuliert wurden.

2.4.5. Elektronenmikroskopische Befunde bei der histiozytären ulzerativen Colitis

Die Veröffentlichungen zur Ultrastruktur der HUC sind sämtlich in der 70iger Jahren des vergangenen Jahrhunderts erschienen. Auf Veränderungen an den Epithelzellen der Colonschleimhaut gehen nur Gomez und Mitarbeiter (1977) ein. Als Frühveränderungen werden, bei lichtmikroskopisch noch intakt erscheinendem Epithel, eine hochgradige Ausweitung der interstitiellen Räume zwischen den Epithelzellen und degenerative - korrekter dystrophische - Veränderungen der Epithelzellen beschrieben. Die Zellen enthalten vermehrt Phagosomen, Autophagosomen und Vakuolen sowie lipidähnliche Einschlüsse, wobei die Haftstrukturen zwischen den Zellen noch intakt sind. In der *Lamina propria* finden die gleichen Autoren Neutrophile, Makrophagen und Erythrozyten.

Am ausführlichsten und von allen Autoren werden die Makrophagen beschrieben (Cockrell und Krehbiel, 1972; van Kruiningen, 1975; Gomez et al., 1977). Alle drei Arbeiten beschreiben mehrere morphologisch unterschiedliche Typen von Makrophagen. Im Vordergrund der Beschreibungen stehen jedoch die verschiedenen Strukturen im Zytoplasma dieser Zellen, so werden beschrieben: Granula verschiedener Größe, stäbchenförmige kristalline Strukturen, tubuläre Granula, Lipidtröpfchen und Myelinfiguren (Cockrell und Krehbiel, 1972), Residualkörperchen (Telolysosomen), elektronendichte sphärische Vesikel und Phagosomen (van Kruiningen, 1975), Phagosomen mit Zelltrümmern und Myelinfiguren sowie Lipidtröpfchen (Gomez et al., 1977).

Strukturen, die möglicherweise bakterielle Erreger darstellen werden von van Kruiningen (1975) beschrieben, der Autor führt Chlamydien, Mykoplasmen und Rickettsien als mögliche Erreger an. Auf das Fehlen von Bakterien weisen hingegen Cockrell und Krehbiel (1972) ausdrücklich hin. Bakterien werden bei intaktem Epithel weder in den Epithelzellen noch in der Propria gefunden (Gomez et al., 1977) und erst nach Epithelverlust finden sich Bakterien in der Propria, die allerdings für „opportunistic invaders“ erachtet werden.

Den Versuch einer pathogenetischen Einordnung der elektronenmikroskopischen Befunde an Epithelzellen und Makrophagen unternahmen nur Gomez und Mitarbeiter (1977). Sie erwähnen ausdrücklich die Reifung der Zellen von Monozyten-ähnlichen Zellen über aktivierte Makrophagen zu den typischen PAS-positiven Makrophagen in der Tiefe der Schleimhaut, wie es diese Arbeitsgruppe bereits lichtmikroskopisch beschrieben hat (Russell et al., 1971). Die Autoren gehen von einer primären Schädigung der Epithelzellen, gefolgt von einer entzündlichen Reaktion in der Propria und schließlich der Nekrose und dem Verlust der Epithelzellen aus, dem dann eine verstärkte Entzündung und das Eindringen von Bakterien in die Propria folgen. Die Läsionen der Epithelzellen werden als unspezifisch angesehen; es gibt keinen Hinweis darauf, dass Neutrophile oder Makrophagen an der Schädigung des Epithels beteiligt sein sollen und die Ansammlung der Makrophagen wird als ein sekundäres Phänomen angesehen; die Ultrastruktur der Makrophagen gibt keinen Hinweis auf die Ursache der Krankheit. Als möglich wird ein lysosomaler Defekt erachtet, der zur Akkumulation von Zelltrümmern oder Bakterienresten in den Makrophagen führt.

2.4.6. Ätiologische Untersuchungen zur histiozytären ulzerativen Colitis

Bakterien wurden in der entzündeten Schleimhaut bereits von van Kruiningen und Mitarbeitern (1965) mittels der nach Brown und Brenn modifizierten Gramfärbung nachgewiesen. Kennedy und Cello (1966) weisen Haufen von Bakterien in Makrophagen in mittels Toluidinblau gefärbter Semidünnschnitte von in Epon eingebettetem Material nach. Eine Einengung der verursachenden Bakterien auf *Escherichia coli* erfolgte durch Immunhistologie (van Kruiningen et al., 2005; Carvallo et al., 2015), wobei die Spezifität des Nachweises durch die Verwendung polyklonaler Antikörper nur begrenzt ist. Erst die Darstellung mittels FISH erlaubt die eindeutige Charakterisierung der Bakterien als *E. coli* (Simpson et al., 2006; Manchester et al., 2013). Die Bakterien liegen dabei sowohl frei als auch innerhalb von Makrophagen in der entzündeten Schleimhaut (Manchester et al., 2013).

2.4.7. Offene Fragen zur histiozytären ulzerativen Colitis

Trotz eindeutiger Fortschritte im Verständnis der Krankheit bleibt eine Reihe von Fragen derzeit noch offen: wo findet sich der Erreger primär (extra- oder intrazellulär, in Enterozyten oder Makrophagen), welche Rolle spielt *E. coli* in der Pathogenese der Krankheit, woher stammen die großen Mengen an PAS-positivem Material in die Makrophagen, warum gehen die Epithelzellen zugrunde, welchen Zusammenhang gibt es zwischen Epitheluntergang und Makrophagen-Akkumulation?

2.5. Protothekose

2.5.1. Erreger der Protothekose

Prototheken sind einzellige (kokkale) Grünalgen ohne Chloroplasten, die mit der chlorophyllhaltigen Gattung *Chlorella* verwandt sind und gemeinsam mit dieser der Familie der Chlorellaceae angehören. Sie sind weltweit verbreitet und kommen als heterotrophe Saprophyten auf den verschiedensten Substraten vor. Die Infektion von Säugetieren ist fakultativ, ob darüber hinaus auch opportunistisch ist bislang ungeklärt.

Aktuell werden in dem Genus *Prototheca* acht Spezies zugeordnet: *P. zopfii*, *P. wickerhamii*, *P. blaschkeae*, *P. cutis*, *P. ulmea*, *P. stagnora*, *P. miyajii* und *P. tumulicola*. Bei *Prototheca zopfii* und *P. wickerhamii* lassen sich außerdem jeweils 2 Genotypen unterscheiden (Hirose

et al., 2018).

Für die Haussäugetiere Hund, Katze und Rind sind die Spezies *P. zopfii*, *P. wickerhamii*, *P. blaschkeae*, letztere bislang nur für das Rind, von Relevanz.

Die Vermehrung von Prototheken erfolgt asexuell durch Ausbildung von bis zu 20 Endosporen innerhalb der Mutterzelle, die schließlich platzt und die Endosporen freisetzt (Hollingsworth, 2000).

2.5.2. Pathogenese der Protothekose

In acht von zehn Arbeiten über die kanine Protothekose aus den Jahren 2000-2018 wird konstatiert, dass die Pathogenese der Krankheit bislang nicht aufgeklärt worden ist (Gupta et al., 2011; Lane et al., 2012; Beribè et al., 2014; Font et al., 2014; Manino et al., 2014; Vince et al., 2014; Carfora et al., 2017; Silveira et al., 2018).

Die meisten Autoren diskutieren eine primäre alimentäre/enterale Infektion mit den ubiquitär vorhandenen Prototheken, mit anschließender Dissemination in zahlreiche Organe (Gupta et al., 2011; Lane et al., 2012; Márquez et al., 2012; Beribè et al., 2014; Font et al., 2014; Vince et al., 2014; Shank et al., 2015; Carfora et al., 2017; Silveira et al., 2018). Eine primäre lokale Infektion von verletzter Haut oder den Augen wird ebenfalls für möglich gehalten (Beribè et al., 2014; Font et al., 2014; Shank et al., 2015; Carfora et al., 2017; Silveira et al., 2018). In zahlreichen Arbeiten wird eine Begünstigung der Infektion seitens der betroffenen Hunde im Sinne einer opportunistischen Infektion diskutiert, entweder als Folge einer eingeschränkten Immunabwehr oder aufgrund einer nicht weiter spezifizierbaren Rassendisposition bei Boxer und Collie (Beribè et al., 2014; Manino et al., 2014; Vince et al., 2014; Carfora et al., 2017).

Bislang gibt es keine Angaben dazu, welche Art von entzündlicher oder immunologischer Abwehr Prototheken im Organismus von Hunden auslösen. Unklar ist auch, durch welche Faktoren die Ausbreitung der Erreger im Körper begünstigt wird und wie diese konkret erfolgt.

2.5.3. Kasuistik zur Protothekose

In der Tabelle 3 sind 44 Veröffentlichungen aus den Jahren 1969 bis 2018 mit insgesamt 73 Fällen von Protothekose beim Hund aufgeführt. Bezüglich der Rassenverteilung dominieren Boxer (n=11), Collie (n=7), Labrador (n=7) sowie Cocker Spaniel und Deutscher Schäferhund (jeweils n=5).

Die Detailtiefe der Veröffentlichungen ist sehr unterschiedlich, teilweise wurden nur zytologische Befunde mitgeteilt, teilweise lagen ein begrenztes Organspektrum oder überhaupt nur Biopsien vor, vollständige Sektionen wurden nur in begrenzter Anzahl vorgenommen; vereinzelt wurden nur Ergebnisse zu bestimmten Organen (z.B. Auge) veröffentlicht. Aus diesem Grund sind verallgemeinernde Aussagen kritisch zu betrachten. Das am häufigsten als verändert beschriebene Organ sind die Augen bei 41 mitgeteilten Fällen (56% der Fälle), gefolgt von Veränderungen am Dickdarm bei 31 Hunden (42%), bei 7 Tieren wurde explizit mitgeteilt, dass der Darmtrakt unverändert war, für 35 Tiere wurden keine Angaben zum Darm gemacht oder er wurde gar nicht untersucht. Weitere als verändert beschriebene Organe sind Nieren (n=23; 32% der Fälle), Myokard (n=21; 29%), Gehirn (n=19; 26%), Leber (n=16; 22%) und Lymphknoten (n=14; 19%).

Den Publikationen läßt sich auch entnehmen, dass es sowohl Fälle mit isoliertem Organbefall (Auge, Gehirn, Darm) als auch generalisierte Infektionen gibt. Der Darmtrakt ist jedenfalls, nach den Augen, das zweithäufig veränderte Organsystem.

Tabelle 3: Veröffentlichungen über Fälle von Protothekose beim Hund

Autoren	Darm	sonstige Organe	Erreger	Rasse
1969 Kruijningen van et al.	ø	Auge, Niere, Myokard, Gehirn, Leber, NN		Boxer
1969 Povey et al.	+	Niere, Myokard		Springer Spaniel
1970 Kruijningen van	+	ø		Springer Spaniel
1973 Carlton and Austin	?	Auge		Rough Coated Collie
1973 Sudman et al.	?	Haut, Lnn	P.w.	Miniatur Schnauzer
1975 Buyukmihci et al.	+	Auge, Niere, Myokard, Leber, Lnn, Milz	P.spec.	Collie
1976 Holscher	+	Niere, Myokard, Leber, Lnn	P. w.	Collie
1977 Imes et al.	ø	Auge, Niere, Gehirn, Leber, Lunge, Mi	P.z.	Dobermann
1980 Tyler et al	?	Auge, Niere, Myokard, Gehirn, RM	P.z. und P.w.	Mix
1982 Migaki et al.	?	Niere		Cocker Spaniel
1984 Cook et al.	+	Niere, Myokard, Gehirn, Leber, Schilddr, Ohr, Skelettm	P.z.	Collie
1984 Font and Hook	+	Auge	P.w.	Ungar. Vizsla
1984 Gaunt et al.	+	Auge, Niere, Myokard, Gehirn, Leber, Skelettm, Schilddr, Milz	P.z.	Sib. Husky
1984 Meredith	?	Niere, Myokard, Gehirn, Leber, Lunge, Schilddr, Pankreas, Zwerchfell	P.z.	Dalmatiner
1984 Rakich und Latimer	+	Niere, Myokard, Gehirn, Lnn, Skelettm, Schilddr, Pankreas, Aorta Auge, Rückenmark	P.z.	Collie
1985 Blogg und Sykes	ø	Auge, Myokard	P.spec.	Boxer
1985 Moore et al.	?	Auge, Niere, Gehirn, Aorta	P.z.	Mix
1988 Macartney et al.	?	nur Haut untersucht	P.spec.	Greyhound
1990 Thomas and Preston	+	Niere, Myokard, Gehirn, Leber, Lnn		Collie
1997 Ginel et al.	?	Haut	P.w.	Collie
1997 Pérez et al		dito	dito	dito
1998 Schultze et al.	1. + 2. +	1. Auge, Niere, Myokard, Leber, Pankreas 2. Auge, Niere, Myokard	P.spec.	1. Mix 2. Mix
1998 Taugner et al.	+	Haut	P.spec.	Riesenschnauzer
2002 Rallis et al.	+	Lnn	P.spec.	Dtsch. Schäferhd
2004 Hosaka and Hosaka	+	Niere, Myokard, Lnn, Magen	P.z.	Mix

2005 Pressler et al.	1. ? 2. ?	1. Niere und weitere Organe 2. Auge	P.z.	1. Mix 2. Samoyede
2006 Rizzi et al.	?	Auge, Leber	P.spec.	Cocker Spaniel
2006 Tsuji et al.	+	Auge, Leber, Lnn, Lunge, Milz, Zunge, Haut	P.w.	Malteser
2007 Stenner et al.	1. + 2. + 3. + 4. ? 5. + 6. ? 7. + 8. ? 9. + 10. + 11. + 12. + 13. + 14. ? 15. ? 16. +	1. Niere, Myok, Gehirn, Leber, Pankreas, Knochen 2. Niere, Lnn 3. nur Colon untersucht 4. Auge, Niere, 5. Auge, Niere, Myok, Gehirn, Leber, Lnn, Muskel 6. Auge, Gehirn 7. Auge, Myokard 8. Leber, Lnn, Magen, Pankreas 9. Auge, Niere, Myokard, Gehirn, Leber 10. Auge 11. Auge 12. 13. 14. Haut, Lnn 15. Haut, Lnn 16. Auge	1. P.z. 2. P.w. 3. ? 4. P.z. 5. P.z. 6. P.z. 7. ? 8. P.z. 9. P.z. 10. ? 11. ? 12. ? 13. ? 14. P.w. 15. ? 16. ?	1. Boxer 2. Boxer 3. Boxer 4. Boxer Mix 5. Boxer 6. Boxer 7. Boxer 8. Engl. Cocker Span. 9. Engl. Cocker Span. 10. Staffordshire Bullterr 11. Dtsch. Schäferhund 12. Corgi 13. Malteser 14. Austral. Cattle Dog 15. Beagle Mix 16. Kelpie Mix
2008 Salvadori et al.	?	Gehirn	P.spec.	Maremma Sheepdog
2008 Sapierzynski und Jaworska	+		P.spec.	Mix
2009 Ribeiro et al.	+	?	P.z.	Mix
2009 Souza et al.	+	Myokard, Leber, Pankreas, Schilddr.	P.spec.	Cocker Spaniel
2011 Gupta et al.	ø	Gehirn, Liquor cerebrospinalis	P.spec.	Boxer
2012 Lane et al.	ø	Auge, Niere, Myokard, Gehirn	P.z.	Shetland Shepherd dog
2012 Márquez et al.	ø	Gehirn	P.z.	Boxer
2012 Young et al.	?	Gehirn, Liquor cerebrospinalis	P.z.	English Setter Mix
2014 Beribè et al.	+	Auge, Lnn,	P.z. Geno- typ 2	Rhodesian Ridgeback
2014 Font et al.	ø	Gehirn, RM	P.z.	Labrador Retriever
2014 Manino et al.	?	Auge, Niere, Myokard, subkut Fett, Skelttmusk, Schilddr, Parathyreoidea, Wirbelknochen	P.spec.	Labrador Retriever
2014 Vince et al.	+	Auge, Myokard	P.z.	Rough coated Collie
2015 Shank et al.	?	1. bis 14. nur Angaben zum Auge		1. Labrador 2. Dtsch. Schäferhund 3. Yorkshire Terrier 4. Dtsch. Kurzhaar Pointer 5. Doberman Pinscher 6. Labrador Mix 7. Golden Retriever 8. Dtsch. Schäferhund 9. Labrador 10. Labrador 11. Gordon Setter 12. Labrador 13. Dtsch. Schäferhund 14. Dingo Mix
2017 Carfora et al.	?	Haut	P.z. Geno- typ 2	English Setter
2018 Silveira et al.	?	Haut	P.z. Geno- typ 1	Mix

+ = positive Darmbefund
ø = Darm untersucht, aber negativ befundet
? = nicht untersucht oder kein Befund mitgeteilt

2.5.4. Makroskopische Befunde bei der Protothekose

Die enteralen Veränderungen bei der Protothekose finden sich ganz überwiegend im Dickdarm, in Kolon, Zäkum und Rektum. Die betroffenen Darmabschnitte werden als diffus verdickt und faltig beschrieben (Thomas und Preston, 1990; Souza et al., 2009; Vince et al. 2014). Die Mehrzahl der Autoren beschreibt zahlreiche weiße, derbe, im Durchmesser 1 - 2 mm große (pinpoint), isolierte oder auch konfluierende Knötchen in der Tunica mucosa und Tunica muscularis, was der Schleimhautoberfläche ein granuliertes Aussehen verleiht (Buyukmihci et al., 1975; Cook et al., 1984; Rakich und Latimer, 1984; Thomas und Preston, 1990; Rallis et al., 2002; Vince et al., 2014). In den älteren Arbeiten über die Protothekose werden außerdem Erosionen bzw. Ulzera der Dickdarmschleimhaut erwähnt (van Kruiningen, 1970; Holscher et al., 1976, Rallis et al. 2002). An Kreislaufstörungen werden petechiale Blutungen (Thomas und Preston, 1990) bis hin zu diffus hämorrhagischen Veränderungen genannt (Povey et al. 1969; Souza et al. 2009). Luminale Veränderungen sind Vermehrung von Schleim (Ralles et al. 2002), vermehrt blutiger Schleim (Cook et al. 1984) bis hin zu frischem, unverdauten Blut (Gaunt et al. 1984; Souza et al. 2009).

2.5.5. Histologische Befunde bei der Protothekose

Die Beschreibung der Histologie der Protothekose umfaßt sowohl herdförmige, granulomartige Veränderungen, welche den makroskopisch erkennbaren Knötchen entsprechen, (Buyukmihci et al., 1975; Cook et al., 1984; Thomas und Preston, 1990; Vince et al., 2014) als auch diffuse Veränderungen (Hosaka und Hosaka 2004; Souza et al., 2009). Die granulomartigen Herde bestehen aus Erregern und Makrophagen, die von Bindegewebe umgeben sind, an das sich außen Lymphozyten und Plasmazellen anschließen (Cook et al., 2004; Vince et al., 2014); zusätzlich finden sich im Zentrum auch Nekrosen (Buyukmihci et al., 1975).

Die Entzündung spielt sich vor allem im oberflächennahen Bereich der *Lamina propria* ab (Thomas und Preston, 1990; Rallis et al., 2002; Hosaka und Hosaka, 2004; Souza et al., 2009) und nur vereinzelt wird über eine Ausdehnung bis an die Tunica muscularis berichtet (Rallis et al., 2002; Souza et al., 2009). Neben der Entzündung in der *Lamina propria* kommt es auch zu Erosionen der *Lamina epithelialis* (Buyukmihci et al., 1975) und zu tiefer reichenden Ulzera der Schleimhaut, die durch Bindegewebe von der Umgebung abgegrenzt werden (Thomas und Preston; 2009 Souza et al., 2009). Der Umfang des Entzündungszellinfiltrates wird übereinstimmend von allen Untersuchern als auffallend gering beschrieben (Povey et al., 1969; van Kruiningen, 1979; Cook et al., 1984; Rakich und Latimer, 1984; Thomas und Preston, 1990; Hosaka und Hosaka, 2004; Ribeiro et al., 2009). Entzündungszellen sind vor allem Lymphozyten, Plasmazellen und Makrophagen sowie in geringerer Menge auch eosinophile und neutrophile Granulozyten (van Kruiningen, 1970; Holscher et al., 1976; Cook et al., 1984; Thomas und Preston, 1990; Rallis et al., 2002; Hosaka und Hosaka, 2004; Sapierszynski und Jaworska, 2008; Ribeiro et al., 2009; Souza et al., 2009; Vince et al., 2014). Neben den bereits erwähnten Nekrosen in den granulomartigen Herden treten Nekrosen auch in der diffus entzündeten *Lamina propria* auf (Holscher et al., 1976; Rakich und Latimer, 1984). Über den histologischen Nachweis von Prototheken, zusätzlich zu ihrem Vorkommen im Dickdarm, auch im Dünndarm (Jejunum, Ileum) berichtet van Kruiningen (1970).

2.5.6. Elektronenmikroskopische Befunde bei der Protothekose

Die nähere Beschreibung des Erregers erfolgt am detailliertesten anhand elektronenmikroskopischer Untersuchungen. Im folgenden werden Arbeiten der kaninen Protothekose insgesamt, also nicht nur des Darmes, berücksichtigt. Generell werden Elternzellen (Sporangien), Tochterzellen (Sporen, Endosporen) und Überreste von beiden nach Aufnahme durch Makrophagen beschrieben.

Die Sporangien sind rund (Durchmesser 7-8 μm) oder oval mit einer Länge von 7-10 μm und einem Durchmesser an der schmalsten Stelle von 3-5 μm (Tyler et al., 1980); die Zellwand hat eine Stärke von 230-395 nm (Font und Hook, 1984). Im Inneren finden sich der Zellkern mit einem deutlich ausgebildeten Nukleolus (Tyler et al., 1980; Font und Hook, 1984), außerdem wenige Mitochondrien (Tyler et al., 1980) und zwei verschiedene Populationen von Granula (Tyler et al., 1980), osmiophile Granula (Tyler et al., 1980; Meredith et al., 1984; Márquez et al., 2012) und zweitens stärkehaltige, membranbegrenzte Granula (Amyloplasten) (Font und Hook, 1984; Márquez et al., 2012); dieser Granulatyp ist für die deutlich positive PAS-Reaktion im Lichtmikroskop verantwortlich. Auf das Fehlen von Chloroplasten (und damit Chlorophyll insgesamt), wie sie bei der Gattung *Chlorella* vorhanden sind, wird hingewiesen (Márquez et al., 2012; Shank et al., 2015).

Die Endosporen weisen eine Länge von 6-8 μm bis hin zu 11-18 μm auf (Meredith et al., 1984). Es werden bis zu 12 Endosporen in einer Sporangie auf einer Schnittebene beobachtet (Font und Hook, 1984).

Nach Phagozytose der Prototheken durch Makrophagen bleiben nur unregelmäßig geformte Zellwandprofile ohne erkennbaren Inhalt wie Zellkern oder Organellen erhalten (Salvadori et al., 2008; Márquez et al., 2012; Silveira et al. 2018).

2.6. Tumoren des Dickdarms

Die Einordnung der Tumoren des Dickdarms sollte erfolgen in Anlehnung an die von der „World Health Organization“ in 2. Auflage herausgegebene „International Histological Classification of Tumors of Domestic Animals“, und zwar das Volume X „Histological Classification of Tumors of the Alimentary System of Domestic Animals“ (Head et al., 2003) und das Volume VIII „Histological Classification of Hematopoietic Tumors of Domestic Animals“ (Valli et al. 2002).

3. Material und Methoden

3.1. Material

Colonbiopsien von 230 Hunden, die in den Jahren 1994 bis 2006 zur Routinediagnostik in das Institut für Tierpathologie der Universität München eingesandt wurden, stehen als Material zur Verfügung. Bei 161 Fällen sind zudem der klinische Vorbericht und der visuelle Endoskopiebefund bekannt. Alle Biopsien stammen ausnahmslos aus der Tierklinik Dres. Kaspar/Lechner/Pfeifer/TÄ Meusel in Nürnberg.

Alle 230 Hunde wurden aufgrund klinischer Befunde (in der Regel Durchfallgeschehen und/oder Erbrechen) endoskopierte. Medikamentelle Vorbehandlung ist in den meisten Fällen gegeben bzw. zu vermuten.

Zusätzlich wurden von 11 Hunden, welche aus für diese Studie unerheblichen Gründen euthanasiert wurden, postmortal Colonbiopsate zum Vergleich entnommen.

Somit stehen für die Auswertung insgesamt Biopsate von 241 Hunden, unterteilt in folgende drei Gruppen, zur Verfügung:

Gruppe 1:

161 Fälle mit klinischen Beschwerden, bekanntem Vorbericht und Endoskopiebefund

Gruppe 2:

69 Fälle mit klinischen Beschwerden, jedoch nicht mehr verfügbarem Vorbericht und Endoskopiebefund

Gruppe 3:

11 Fälle von Patienten ohne intestinale Symptomatik

3.2. Gewinnung der Biopsien

Der Coloskopie geht eine 3-tägige Patientenvorbereitung voraus. Neben Futterentzug werden die Tiere mit abführenden Klistieren versorgt, um ein vollständig entleertes Colon zu gewährleisten. Alle Coloskopien beim Hund erfolgen in Vollnarkose. In den

hier vorliegenden Fällen wurde eine Injektionsnarkose mittels Fentanyl/Droperidol und patientenabhängiger Erhaltung mit Thiopental bzw. Propofol durchgeführt.

Mittels eines flexiblen Endoskopes (Arbeitslänge 100cm) wird das Colon unter Luftinsufflation zunächst in disto-proximaler Richtung visuell beurteilt. Hierbei wird vor allem auf Veränderungen wie Erosionen, Ulzera, Rötungen, Ödematisierung und Neoplasien geachtet. Anschließend erfolgt über den Arbeitskanal des Endoskopes die Biopsieentnahme mittels Biopsiezange unter Sichtkontrolle in proximo-distaler Richtung. In der Regel werden mehrere, abhängig von der Patientengröße bis zu 15, Biopsien an unterschiedlichen Lokalisationen entnommen. Hierbei wird darauf geachtet, gezielt makroskopisch veränderte Areale zu beproben, aber auch unverändert erscheinende Areale werden biopsiert. Eine spätere Lokalisationszuordnung bei der histologischen Untersuchung ist jedoch nicht mehr möglich. Unmittelbar nach der Entnahme werden die Biopsien in isotonischer Kochsalzlösung gespült und direkt im Anschluss in die Fixationslösung (neutrales, gepuffertes Formaldehyd 4-5%) überführt. Per Post werden die Proben zur histologischen Untersuchung an das Institut für Tierpathologie gesandt.

Die Gewinnung der Vergleichsbioptate von klinisch unauffälligen Tieren erfolgte postmortal. Hierfür wurde unmittelbar nach dem Tod (binnen max. 5 Minuten) das Abdomen eröffnet und der distale Darmtrakt von distalem Ileum bis Rektum entnommen. Nach Eröffnen des Darmrohres auf der antimesenterialen Seite wurden Kot- und Ingestareste mittels Wasser abgespült. Die Biopsiegewinnung erfolgt mittels derselben Biopsiezange, wie sie auch bei der Endoskopie eingesetzt wird. Bioptate werden der gesamten Colonfläche entnommen, auf ausreichenden Sicherheitsabstand zu den manipulationsbedingt veränderten Arealen wird geachtet. Die weitere Bearbeitung der Bioptate erfolgt wie bereits oben beschrieben.

3.3. Verarbeitung der Biopsien

Im Zuge der Einsendungsdiagnostik werden die entnommenen Biopsien im Institut für Tierpathologie für die histologische Untersuchung aufbereitet. Zum Einsatz kommt

die Paraffineinbettung. Die so gewonnenen Gewebsschnitte werden routinemäßig mit Hämalaun und Eosin sowie nach Wright-Giemsa gefärbt.

Letztlich liegen nach Aufbereitung je Fall zumindest je 2 Schnitte mit den Biopsien in 2 Färbungen zur histologischen Beurteilung vor. Weitere Färbungen (Masson-Trichrom, *Periodic-Acid-Shiff-Reaktion*) werden nur in Einzelfällen ergänzend durchgeführt.

3.4. Auswertungskriterien

Die Auswertung erfolgt getrennt nach den unter 3.1. beschriebenen drei Patientengruppen.

3.4.1. Auswertung von Signalement

Hierbei wird für jede Gruppe die Verteilung des Patientengutes auf Rasse, Alter und Geschlecht ermittelt. Sollte sich eine deutliche Rassedisposition abzeichnen, soll versucht werden, diese der tatsächlichen Rasseverteilung im Patientengut der ein-sendenden Klinik gegenüberzustellen. Nur im Falle einer sich abzeichnenden Häufung bestimmter Rassen innerhalb der Coloskopiepatienten soll bei der histologischen Befundung neuerlich hierauf eingegangen werden.

3.4.2. Auswertung von Anamnese und Endoskopiebefund

Diese erfolgt nur für die unter 3.1. erstgenannte Patientengruppe. Für die 2. Gruppe klinischer Fälle sind hierüber keine Angaben verfügbar und im Falle der Vergleichsbiopate intestinal gesunder Tiere sind diese Angaben unerheblich.

Die Anamnese (verfügbar aus den Krankenakten des Einsenders) wird nach folgenden Kriterien ausgewertet:

- Erkrankungsdauer (akut = bis zu 14 Tagen, chronisch = seit mindestens 14 Tagen bestehend, chronisch-rezidivierend = intermittierende Krankheits-episoden über einen längeren Zeitraum)

- Erbrechen (Erbrechen vorherichtlich erwähnt)
- Durchfall (gering- mittel- oder hochgradig hinsichtlich Konsistenz/Frequenz)
- Tenesmus ani (Aufreten ohne Wichtung der Schwere)
- Beimengungen im Kot (Blut/Schleim)

Der makroskopische Endoskopiebefund wird wiederum den Patientenkarteeien des Einsenders entnommen. Da alle Coloskopien von 2 Tierärzten (95% Dr. Lechner, 5% Dr. Schichtl) durchgeführt wurden, ist die Möglichkeit des Vergleichs beschriebener Veränderungen nach Schweregrad der Ausprägung gegeben. Hierbei wird das Vorhandensein von Rötung, Ulzera, Fibrose, Ödem und Gewebzubildung, die vier erstgenannten unterteilt nach Ausprägung, in die Befunderhebung aufgenommen.

3.4.3. Histologische Untersuchung

3.4.3.1. Beurteilbarkeit der Biopsien

Zur Auswertung herangezogen werden nur Schnitte der Biopsien, welche folgenden Qualitätskriterien genügen:

1. ausreichende Tiefe, mit Erreichen der *Tunica muscularis*
2. mindestens 3 beurteilbare Biopsien im Schnitt vorliegen
3. es keine höhergradigen Quetschartefakte / Gewebserreissungen gibt
4. kein Hinweis auf Autolyse gegeben ist
5. Längs- und Querschnitte der Biopsien vorliegen

3.4.3.2. Histologische Befunderhebung

Die histologische Auswertung erfolgt bei allen Patienten nach folgenden Kriterien. Nur eindeutig von der Norm abweichende Befunde, als physiologische Referenz werden die Befunde der unter 3.1. beschriebenen, klinisch gesunden Tiere herangezogen, werden als solche erfasst. Auch Veränderungen, die nur herdförmig oder nicht in allen Biopsien aufzufinden sind, werden erfasst, da, wie unter 3.2. beschrieben, neben veränderten auch unauffällige Schleimhautareale biopiert werden.

Das Lumen des Colons wird auf höhergradige Schleimansammlung, auffällige Ingestareste oder abnormen Inhalt sowie oberflächlich liegende Bakterien untersucht. Beim Oberflächenepithel wird das Augenmerk auf vorhandene Erosionen/Ulzera gelegt. Diese, makroskopisch häufig beschriebenen, Veränderungen werden, wenn vorhanden, festgehalten. Auch auf das eventuelle Vorhandensein von Gewebszubildungen wird geachtet. In den Colondrüsen werden Enterozyten und Becherzellen hinsichtlich Vorkommen und Verteilung sowie strukturellen Veränderungen untersucht; ebenso werden vermehrt auftretende intraepitheliale Zellen (intraepitheliale Lymphozyten) dokumentiert. Auf das Vorhandensein von Bakterien, Zellen und Schleim im Drüsenlumen wird geachtet.

Das Hauptaugenmerk der histologischen Beurteilung gilt der *Lamina propria* und hier vor allem deren bindegewebigem Anteil. Die Vielzahl der hier zu beobachtenden Veränderungen gliedern sich in Strukturveränderung (Fibrose, Ödem oder Neoplasie) und zelluläre Infiltration mit Lymphozyten / Plasmazellen, neutrophilen- oder eosinophilen Granulozyten, die semiquantitativ beurteilt werden. Das physiologische ortständige lymphatische Gewebe (GALT) wird nach seiner Ausprägung beurteilt, das Vorkommen von Lymphfollikeln wird dokumentiert.

Eine Zusammenfassung der histologischen Befundung, die gleichzeitig als Auswertetabelle dient, gibt Tabelle 4 wieder:

	Darm-lumen	Ober-flächen-epithel	Drüsen-epithel	Drüsen-lumen	Lam. propria
Inhalt					
Schleim	0,1			0,1	
Ingesta	0,1				
Bakterien	0,1			0,1	
Zellverbände (frei liegend)	0,1			0,1	
Gewebeveränderungen					
Erosion/Ulkus		0,1			0,1,2
Fibrose					0,1,2
Ödem					0,1,2
Hyperämie					0,1,2
Lymphat. Gewebe					0,1

Neoplasie		0,1			0,1
Freie Zellen (Lam. prop.)					
neutrophile Granulozyten					0,1,2
eosinophile Granulozyten					0,1,2
Lymphozyten			0,1		0,1,2
Plasmazellen					0,1,2
Erreger					
<i>Prototheca spec.</i>					0,1

Tabelle 4: Semiquantitative Auswertungskriterien der histologischen Untersuchung

In der linken Spalte sind die Kriterien und in der obersten Zeile die Lokalisationen aufgeführt. In den Feldern werden die möglichen Beurteilungsgrade angegeben.

Gradeinteilung der einzelnen Kriterien:

Schleim	Grad 0	wenig bis nicht vorkommend
	Grad 1	deutlich erkennbar
Ingesta	Grad 0	nicht vorhanden
	Grad 1	vorhanden
Bakterien	Grad 0	keine bis einzelne
	Grad 1	deutlich vermehrt
Zellverbände	Grad 0	nicht vorhanden
	Grad 1	vorhanden
Erosion/Ulkus	Grad 0	histologisch nicht nachweisbar
	Grad 1	histologisch nachweisbar
Fibrose	Grad 0	keine Fibrosierung
	Grad 1	gering- bis mittelgradige Fibrosierung
	Grad 2	hochgradige Fibrosierung
Ödem	Grad 0	keine oder geringgradiges Ödem
	Grad 1	mittelgradiges Ödem
	Grad 2	hochgradiges Ödem
Hyperämie	Grad 0	keine Hyperämie
	Grad 1	gering- bis mittelgradige Hyperämie

	Grad 2	hochgradige Hyperämie
Lymphatisches Gewebe (GALT)	Grad 0	nicht nachweisbar
	Grad 1	bis zu mehrfach nachweisbar
Neoplasie	Grad 0	kein Hinweis auf Neoplasie
	Grad 1	nachgewiesene Neoplasie
Neutrophile Granulozyten	Grad 0	geringgradige Infiltration
	Grad 1	vermehrte Infiltration
	Grad 2	hochgradige Infiltration
Eosinophile Granulozyten	Grad 0	nicht nachweisbar
	Grad 1	vereinzelt nachweisbar
	Grad 2	vermehrt auftretend
Lymphozyten/Plasmazellen	Grad 0	geringgradige Infiltration
	Grad 1	vermehrte Infiltration
	Grad 2	hochgradige Infiltration
<i>Prototheca spec.</i>	Grad 0	nicht nachweisbar
	Grad 1	nachweisbar

3.4.3.3. Histopathologische Diagnosen

Nach Abschluss der histologischen Befundung wird für jeden Patienten eine histopathologische Gesamtdiagnose erstellt. Wenn histologisch keine auffälligen Befunde erhoben werden konnten, lautet die Beurteilung „ohne besonderen Befund“.

Zielsetzung soll es sein, einerseits die gestellten histologischen Diagnosen den jeweiligen Anamnesen und klinischen Befunden gegenüberzustellen, andererseits die Verteilung der einzelnen histologisch gestellten Diagnosen innerhalb des Patientengutes zu beurteilen.

4. ERGEBNISSE

Die Darstellung der Ergebnisse wird in mehrere Abschnitte unterteilt. Als erstes sollen die wichtigsten histologischen Befunde, entsprechend dem Auswertungsschema in Tabelle 1, in einer Übersicht beschrieben werden (Kapitel 4.1.). Es schließt sich die Auswertung der klinischen Daten wie Signalement, klinischer Vorbericht und endoskopischer Befund an (Kapitel 4.2.). Die histologischen Befunde an den Biopsien werden getrennt nach den unter 3.1. beschriebenen drei Patientengruppen aufgeführt, die größte Gruppe, mit vollständig vorliegendem klinischen Vorbericht, in Kapitel 4.3.1., die histologischen Befunde der Patienten, von denen Signalement und Vorbericht/klinischer Befund aus datenverarbeitungstechnischen Gründen nicht mehr vorliegen, in Kapitel 4.3.2. und die histologische Beurteilung der Tiere, welche keine gastrointestinalen Symptome aufwiesen (Kontrollgruppe), in Kapitel 4.3.3.. Abschließend werden die Ergebnisse innerhalb der einzelnen Gruppen verglichen, und es sollen Korrelationen zwischen klinischem und histologischem Befund erstellt werden (Kapitel 4.4.).

4.1. Beschreibung der histopathologischen Befunde

Zunächst sollen die gefundenen histologischen Befunde als kurze Übersicht vorgestellt werden, unabhängig von der Zuordnung zu einer bestimmten Krankheitsform.

- a.** Ingesta- oder Schleimanhaftungen an der *Lamina epithelialis mucosae* wurden häufig beobachtet und sind vermutlich auf mangelhafte Patientenvorbereitung oder Biopsieaufbereitung zurückzuführen.
- b.** Einzelne Bakterien an der Schleimhautoberfläche konnten in nahezu allen Biopsien gefunden werden, nur bei massenhaftem, rasenartigem Auftreten in unmittelbarer Nachbarschaft zum Epithel wurde eine schädigende Wirkung vermutet.
- c.** Frei und zusammenhangslos im Lumen liegende Zellverbände wurden regelmäßig angetroffen. Die Ursache lag wahrscheinlich bei der Biopsieentnahme oder der unzureichenden Spülung der Gewebeproben nach ihrer Entnahme.

d. Die endoskopisch häufig beschriebenen Erosionen / Ulcera konnten histologisch nur vereinzelt bestätigt werden. Die Abgrenzung von Entnahmeartefakten fällt dabei nicht immer leicht.

e. Das ortständige lymphatische Gewebe (gut-associated lymphoid tissue, GALT) (Abb. 1 bis 4) war in den Biopsien nur unregelmäßig nachweisbar. Typischerweise lag es unterhalb der *Lamina muscularis mucosae*; es dominierte das B-Lymphozytenareal vom Aufbau eines Follikels mit dunkler Mantelzone und einem helleren Keimzentrum. Hinweis auf das parafollikulär angeordnete T-Lymphozytenareal können hochendothelisierte Venolen sein (Abb. 1 und 2). Nicht immer lag das GALT unterhalb der *Lamina muscularis mucosae* (Abb. 3). Häufig ist das GALT auch nur unvollkommen in der Biopsie enthalten gewesen oder es war in seinem Zusammenhang beschädigt (Abb. 4). In beiden Fällen kann die Abgrenzung von Entzündungen oder Tumoren (Lymphome) schwierig sein.

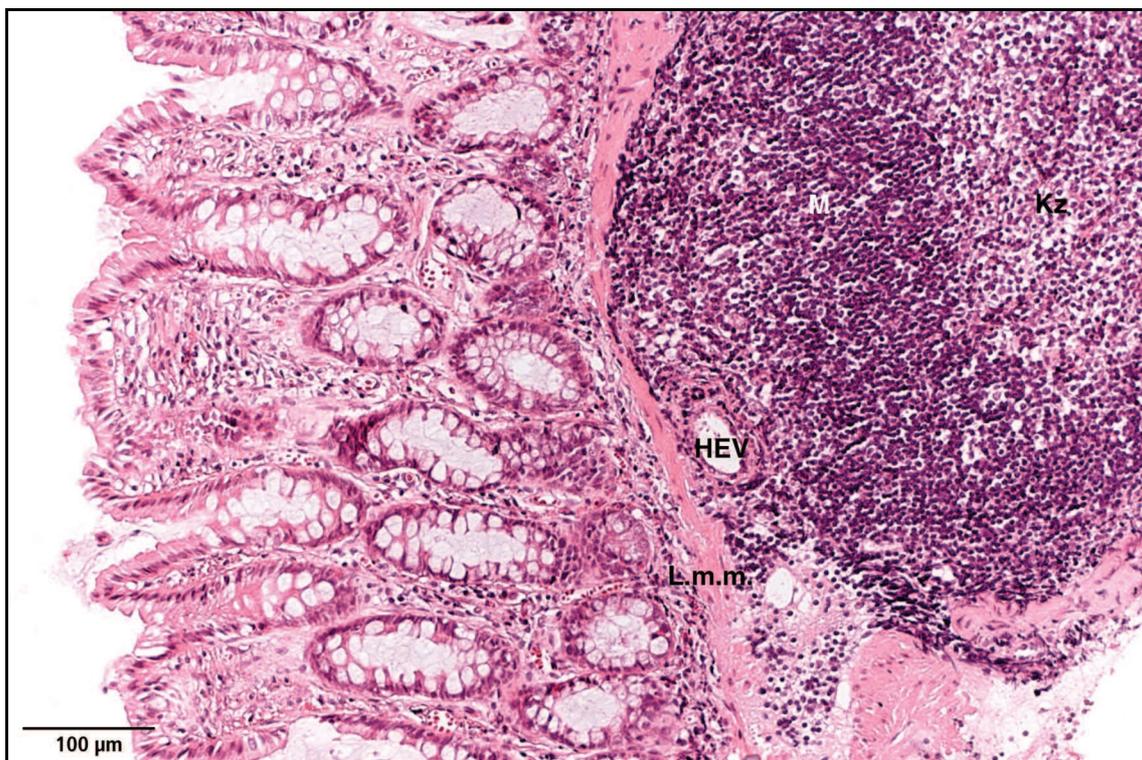


Abb. 1: Darstellung des ortständigen lymphatischen Gewebes (**gut-associated lymphoid tissue**, GALT) im Colon; unter der *Lamina muscularis mucosae* (L.m.m.) liegt das B-Zellareal in Form eines Sekundärfollikels mit hellem Keimzentrum (Kz) und dunklerer Mantelzone (M); das T-Zellareal liegt parafollikulär im Bereich einer hochendothelisierten Venole (HEV). Hund, Biopsie, E 910/94, Paraffineinbettung, HE-Färbung

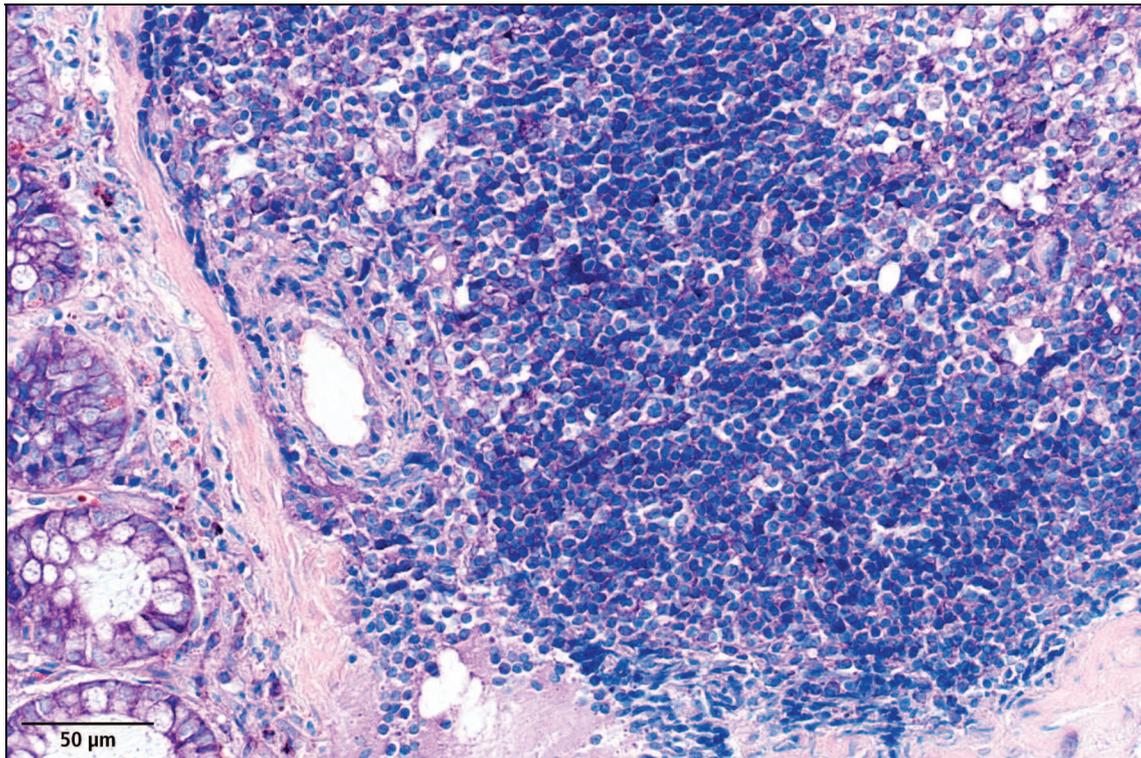


Abb. 2: Darstellung des ortständigen lymphatischen Gewebes (**gut-associated lymphoid tissue, GALT**) im Colon; Ausschnittvergrößerung der vorhergehenden Abbildung. Hund, Colonbiopsie, E 910/94, Paraffineinbettung, Giemsa-Färbung

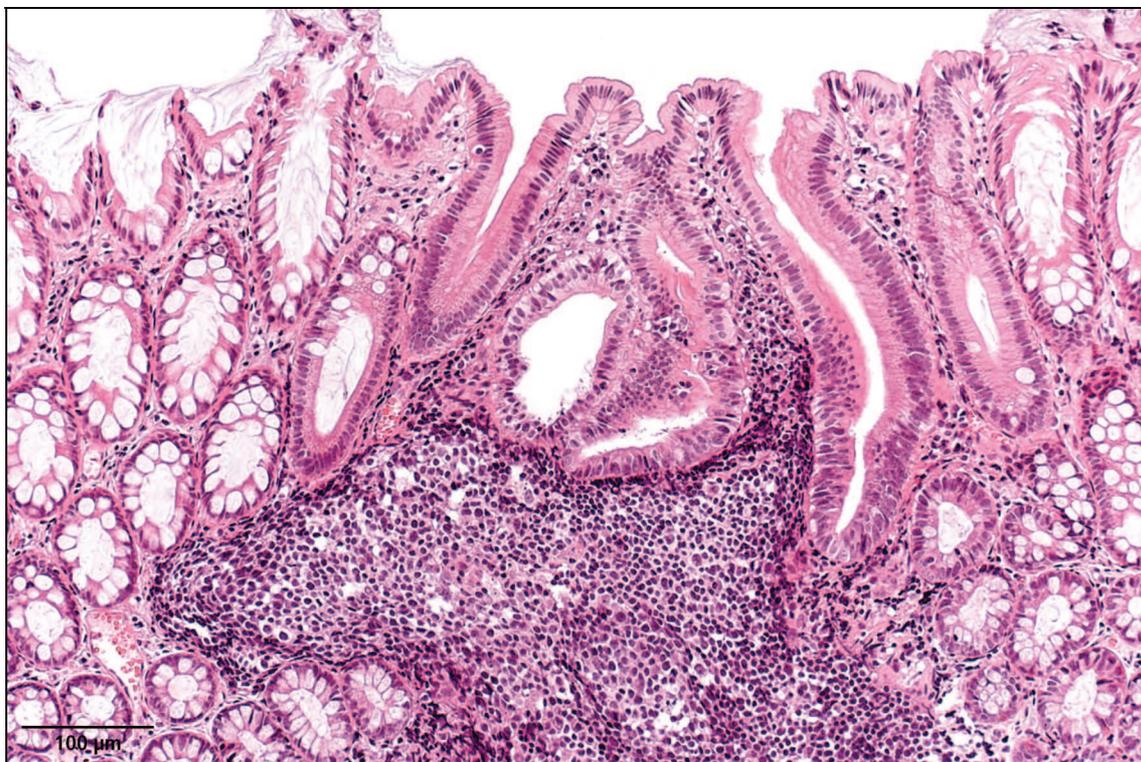


Abb. 3: Darstellung des ortständigen lymphatischen Gewebes (**gut-associated lymphoid tissue, GALT**) im Colon; Lage und Fehlen von Becherzellen in den basalen Anteilen der

Drüsen, entsprechen einem lymphoglandulären Komplex. Hund, Colonbiopsie, E 2944/95, Paraffineinbettung, HE-Färbung

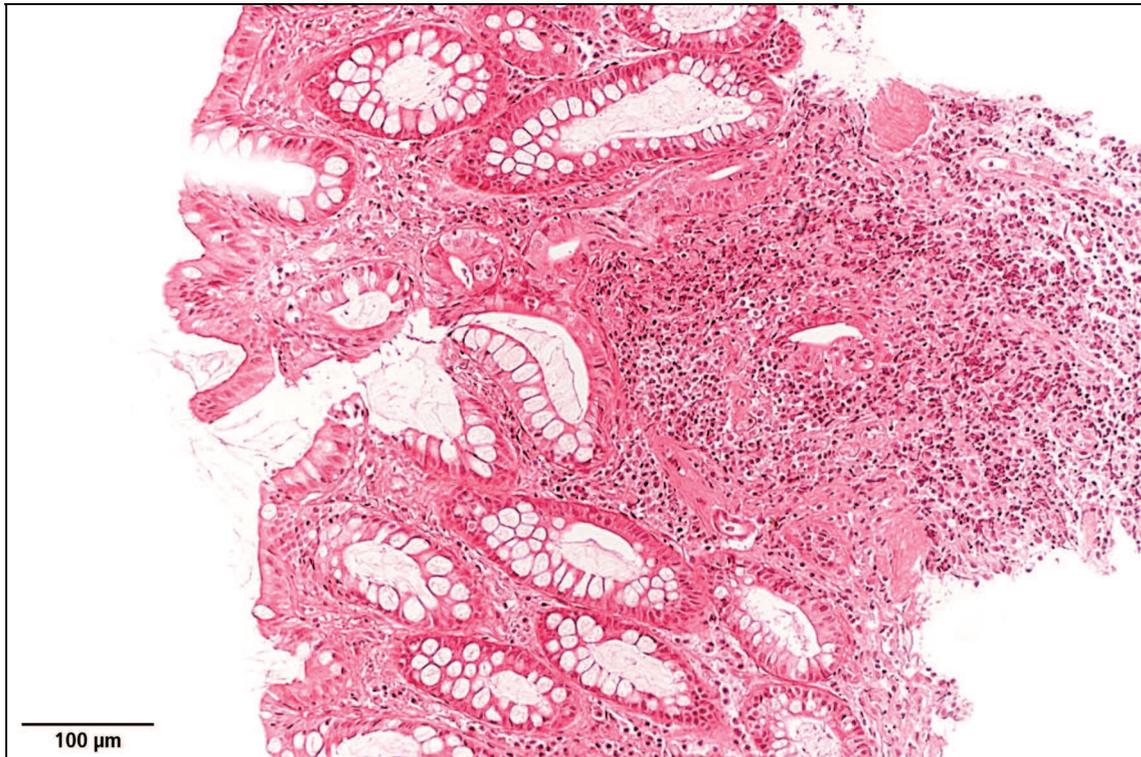


Abb. 4: Darstellung des ortständigen lymphatischen Gewebes (**gut-associated lymphoid tissue**, GALT) im Colon; häufiger ist das lymphatische Gewebe durch die Biopsieentnahme in seinem Zusammenhang beschädigt, dann kann die Abgrenzung von Entzündungen oder Lymphomen erschwert sein. Hund, Biopsie, E 2161/05, Paraffineinbettung, HE-Färbung

f. Neutrophile Granulozyten (Abb. 5) in der *Lamina propria* wurden, außer bei Tumoren und bei der Protothekose, nur sehr selten in höherer Anzahl beobachtet; geringere Mengen dieser Zellen kommen jedoch häufiger vor.

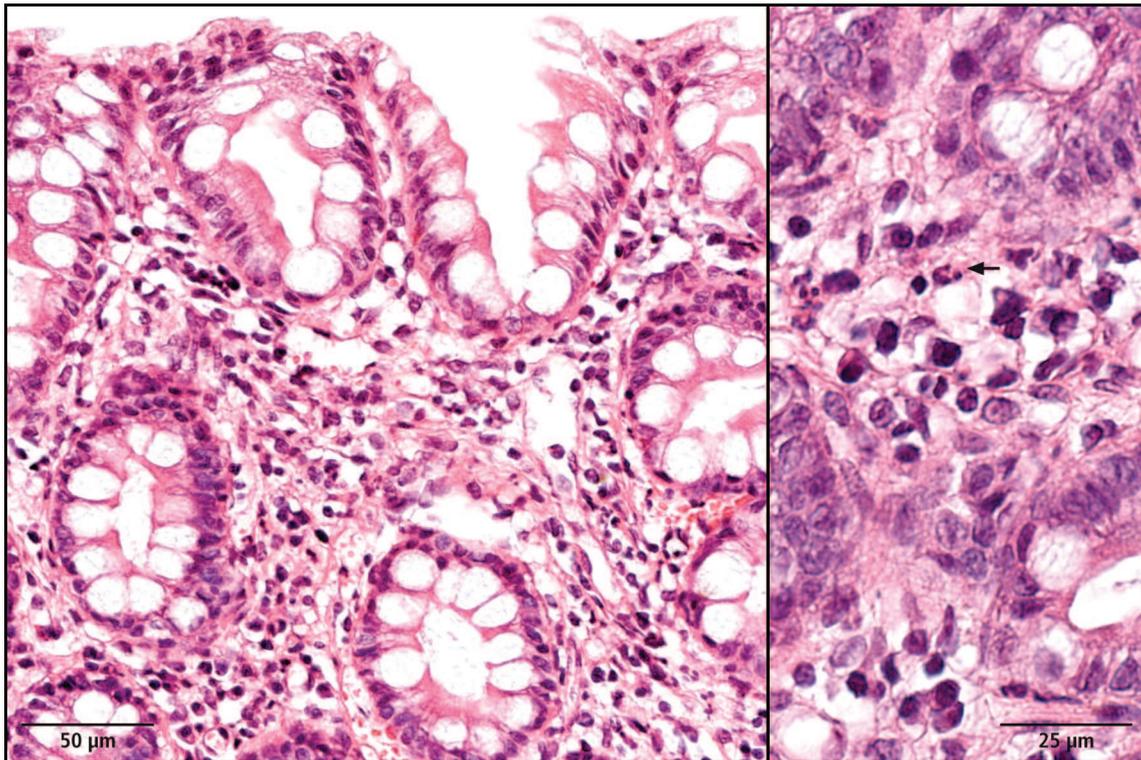


Abb. 5: Darstellung der **neutrophilen Granulozyten** in der *Lamina propria* des Colons; die Anzahl an Zellen ist gegenüber der Norm erhöht; links: Übersicht; rechts: in der höheren Vergrößerung wird das homogen rötliche Zytoplasma der neutrophilen Granulozyten erkennbar (Pfeil). Hund, Biopsie, E 2401/94, Paraffineinbettung, HE-Färbung

g. Ein hochgradig vermehrtes Auftreten von eosinophilen Granulozyten (Abb. 6) in der *Lamina propria* stellte die Ausnahme dar, geringe bis mäßige Mengen kommen hingegen häufiger vor. Für eine sichere Erkennung und Abgrenzung von neutrophilen Granulozyten ist, neben der zweilappigen Kernform, die Giemsa-Färbung hilfreich.

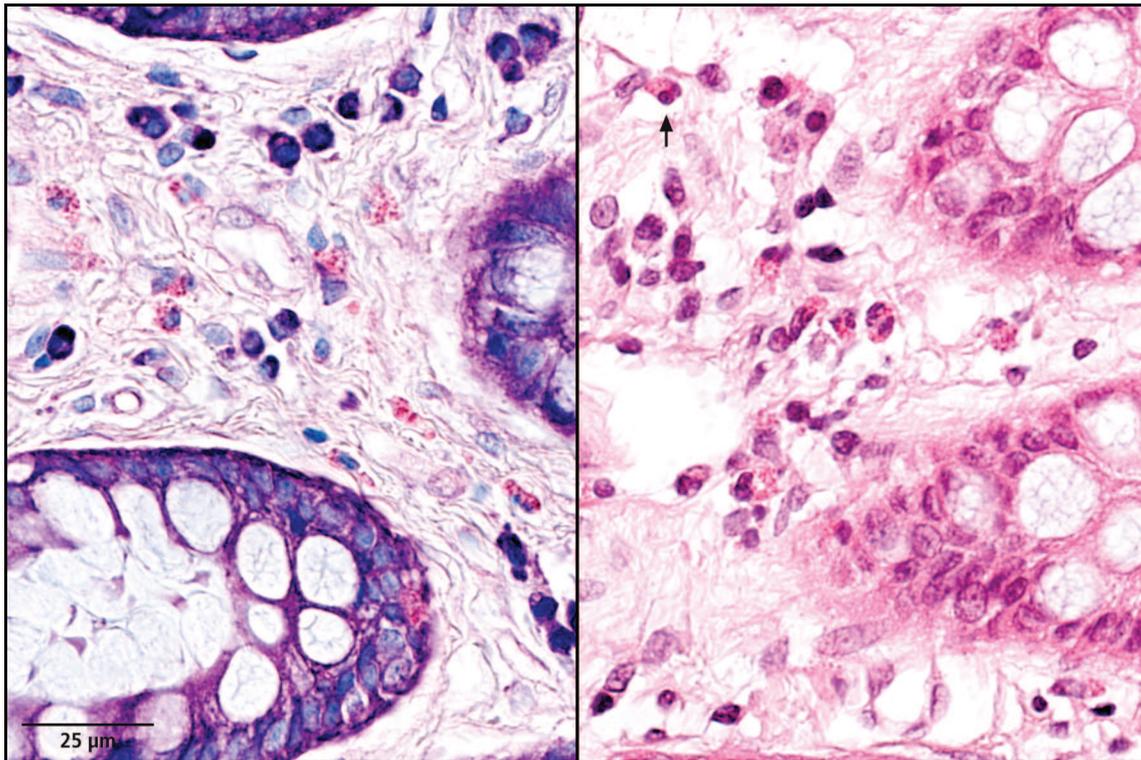


Abb. 6: Darstellung der **eosinophilen Granulozyten** in der *Lamina propria* des Colons; links: in der Giemsa-Färbung sind die eosinophilen Granula deutlich zu erkennen; die Anzahl an Zellen ist gegenüber der Norm erhöht; rechts: die gleiche Biopsie in der HE-Färbung, die Erkennung der Granula und die Abgrenzung von neutrophilen Granulozyten mit ihrem häufig homogen eosinophil gefärbten Zytoplasma ist erschwert, vor dem Pfeil ein für eosinophile Granulozyten typischer zweilappiger Zellkern. Hund, Biopsie, E 910/94, Paraffineinbettung, Giemsa- und HE-Färbung

h. Lymphozyten und Plasmazellen (Abb. 7 bis 9) sind immer - als Bestandteil des Schleimhaut-assoziierten Immunsystems - in einer gewissen Anzahl in der *Lamina propria* zu finden. Lymphozyten und Plasmazellen kommen häufiger in mäßiger bis größerer Anzahl vor. Bei großer Anzahl kann die Abgrenzung von Lymphomen in den Schleimhautbiopsien schwierig sein, insbesondere wenn die Biopsien nur oberflächliche Anteile der Schleimhaut enthalten.



Abb. 7: Darstellung von **Lymphozyten und Plasmazellen** in der *Lamina propria* des Colons; es liegt eine höhergradige Vermehrung der Zellen vor. Hund, Biopsie, E 642/95, Paraffineinbettung, HE-Färbung

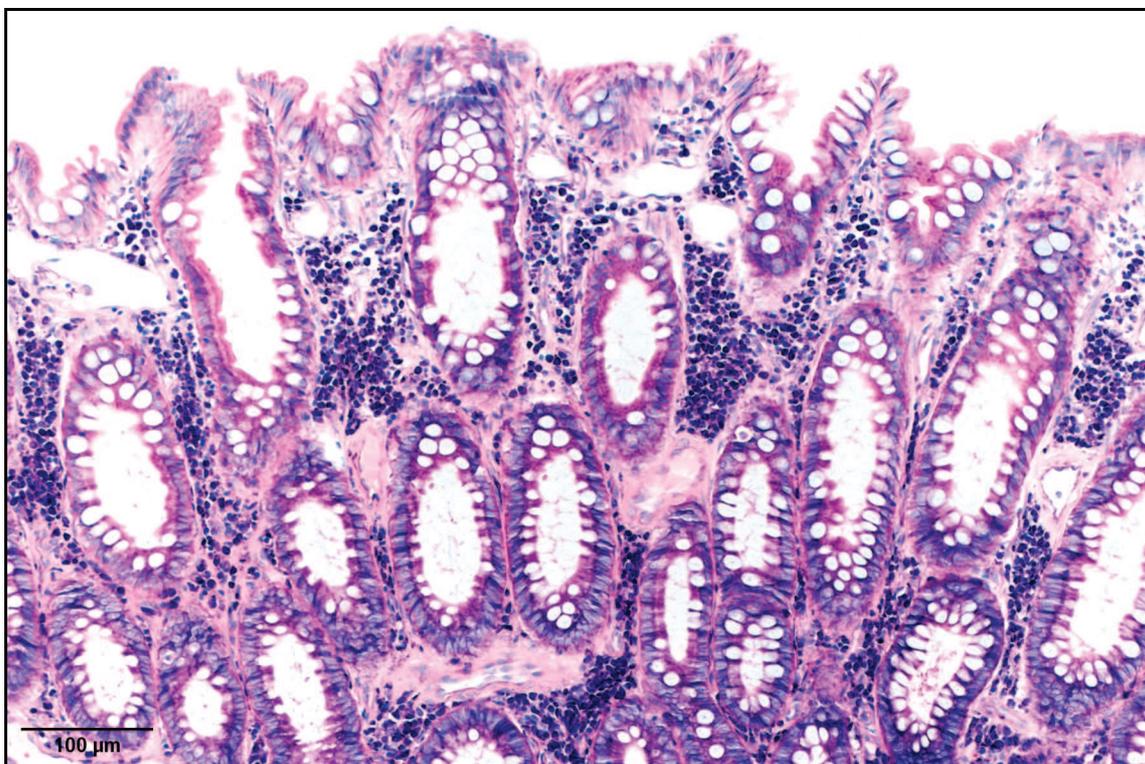


Abb. 8: Darstellung von **Lymphozyten und Plasmazellen** in der *Lamina propria* des Colons; die nesterförmig angeordneten Plasmazellen sind an ihrem deutlich basophilen Zytoplasma zu erkennen. Hund, Biopsie, E 642/95, Paraffineinbettung, Giemsa-Färbung

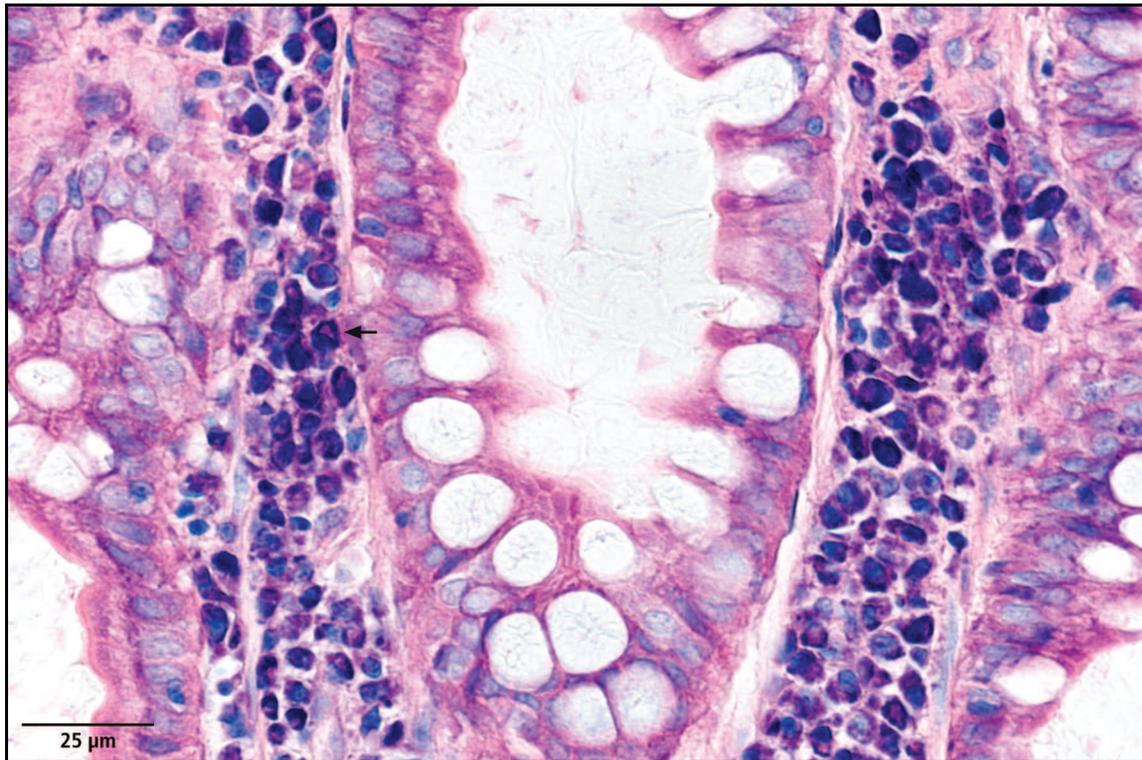


Abb. 9: Darstellung von **Lymphozyten und Plasmazellen** in der *Lamina propria* des Colons; die Plasmazellen sind gut an ihrem basophilen Zytoplasma und der juxtanukleären Aufhellung (Pfeil) zu erkennen. Hund, Biopsie, E 642/95, Paraffineinbettung, Giemsa-Färbung

i. Eine Fibrosierung der *Lam. propria* kann in unterschiedlichem Grad und in unterschiedlicher Ausdehnung vorliegen. Zu beachten ist, dass die Fibrosierung parallel mit einem Schwund der Krypten einhergeht, es also zu einer Atrophie der Schleimhaut kommt. Neben der Zubildung von kollagenen Fasern finden sich häufig auch vermehrt Lymphozyten und Plasmazellen (Abb. 10 und 11).

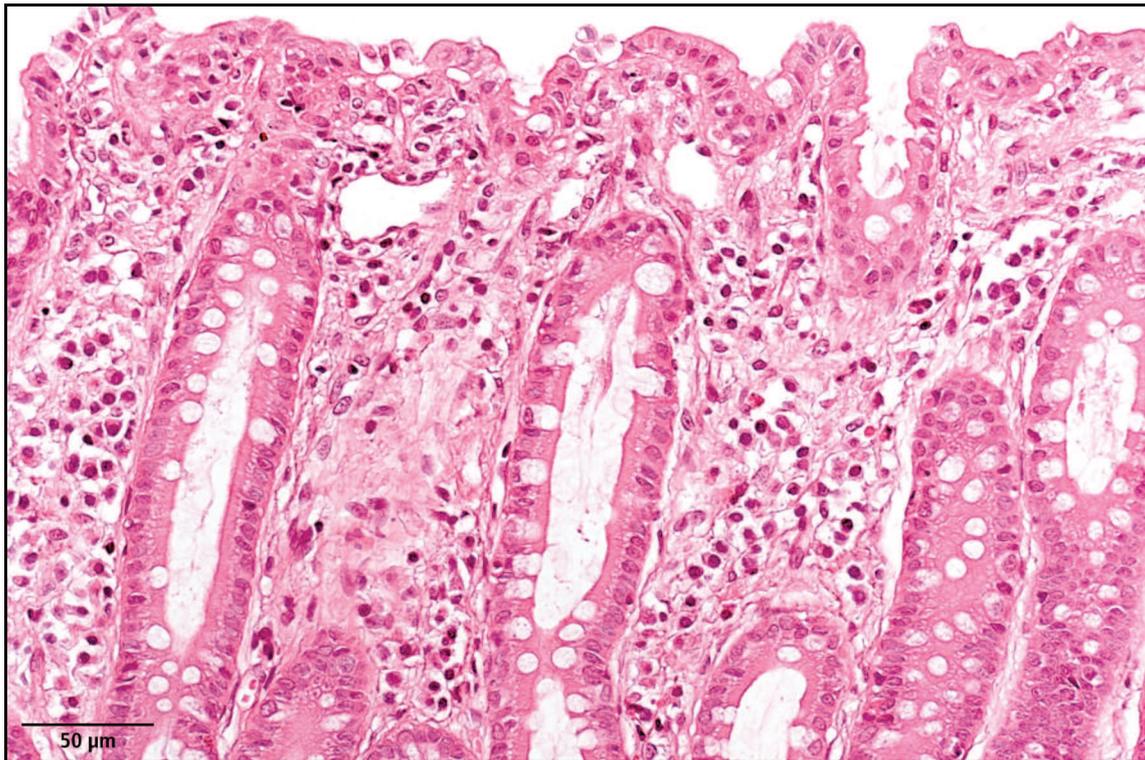


Abb. 10: **Fibrose** der *Lamina propria* des Colons; neben der Zubildung von kollagenen Fasern finden sich vermehrt Plasmazellen und Lymphozyten. Hund, Biopsie, E 642/95, Paraffineinbettung, HE-Färbung

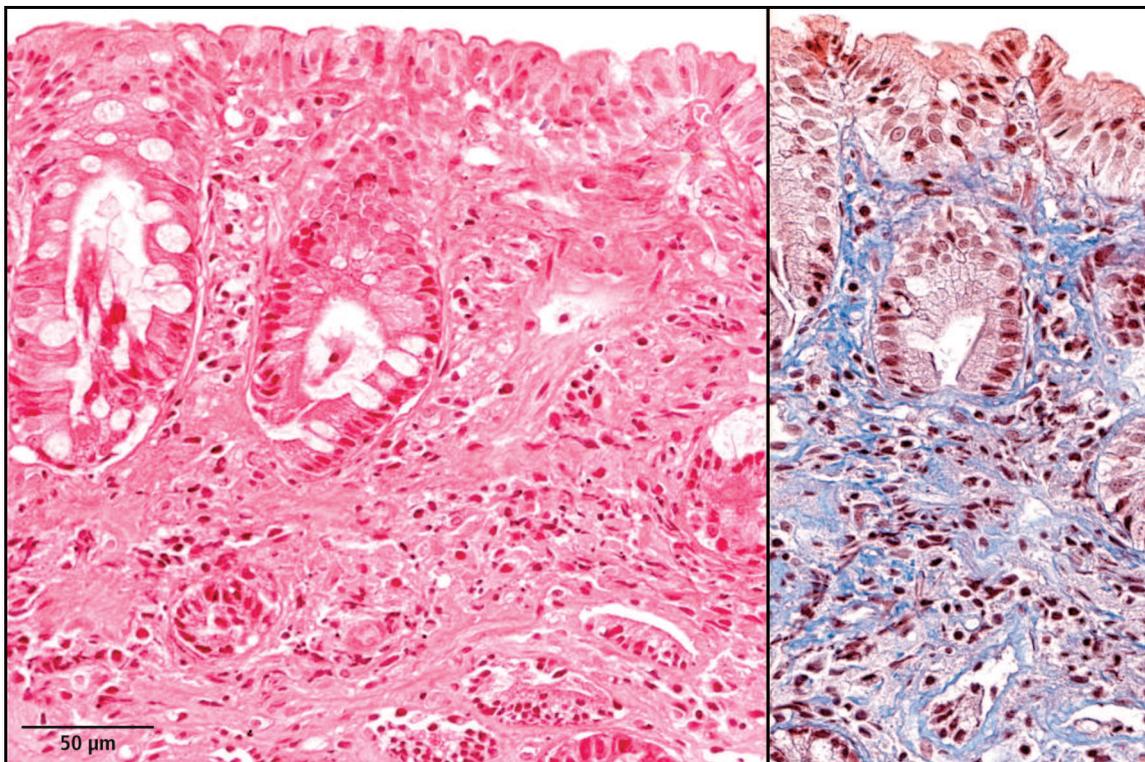


Abb. 11: Hochgradige **Fibrose** der *Lamina propria* des Colons. Hund, Biopsie, E 642/95, Paraffineinbettung, HE- und Masson Trichrom-Färbung (rechts)

j. Erythrozyten wurden entweder intravasal im Zuge einer Hyperämie in der *Lamina propria* oder freiliegend als entnahmebedingte Blutungsfolge, was in der Auswertung unberücksichtigt bleibt, beobachtet.

k. Neoplasien des Colonepithels können exophytisch (Adenome) oder infiltrativ (Adenokarzinome, Abb. 12 bis 15) wachsend diagnostiziert werden. Daneben treten maligne Lymphome auf (Abb. 16 und 17). Die Tumore gehen häufig mit einer deutlichen neutrophil-granulozytären Infiltration einher.

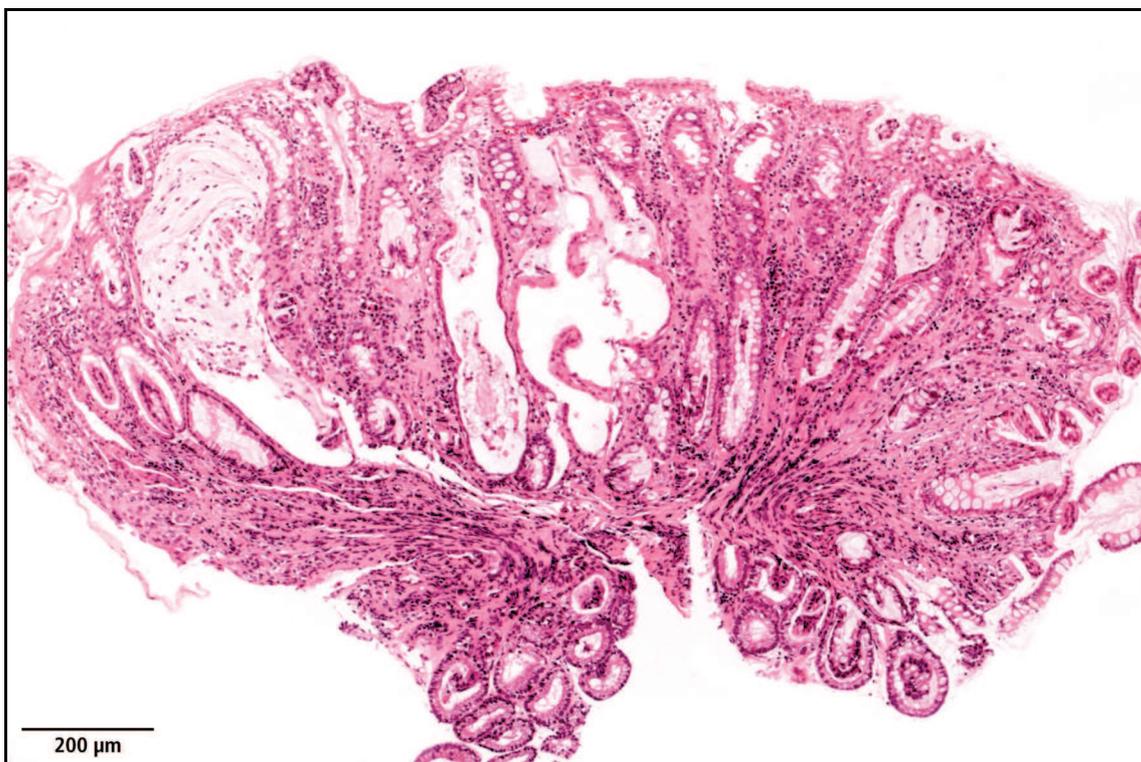


Abb. 12: **Tumor** des Colons; verschleimendes Adenokarzinom. Hund, Biopsie, E 186/95, Paraffineinbettung, HE-Färbung

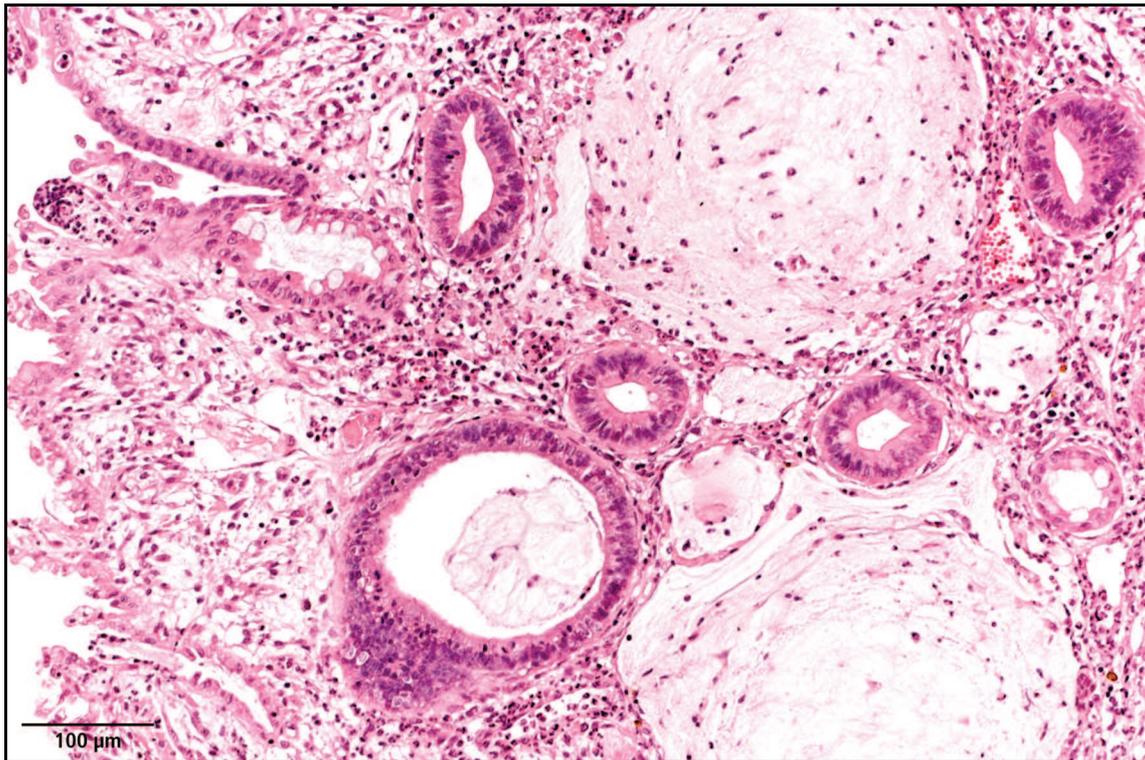


Abb. 13: **Tumor** des Colons; verschleimendes Adenokarzinom, aus dem gleichen Präparat wie in der vorhergehenden Abbildung. Hund, Biopsie, E 186/95, Paraffineinbettung, HE-Färbung

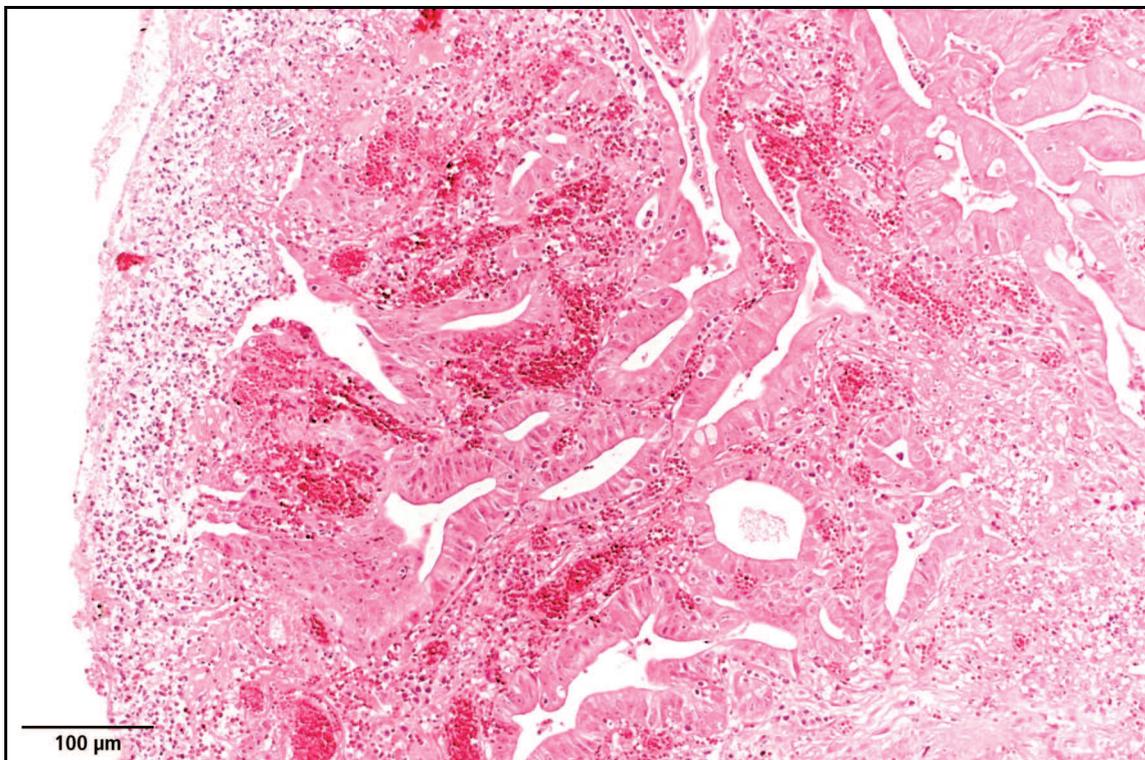


Abb. 14: **Tumor** des Colons; Adenokarzinom. Hund, Biopsie, E 1319/06, Paraffineinbettung, HE-Färbung

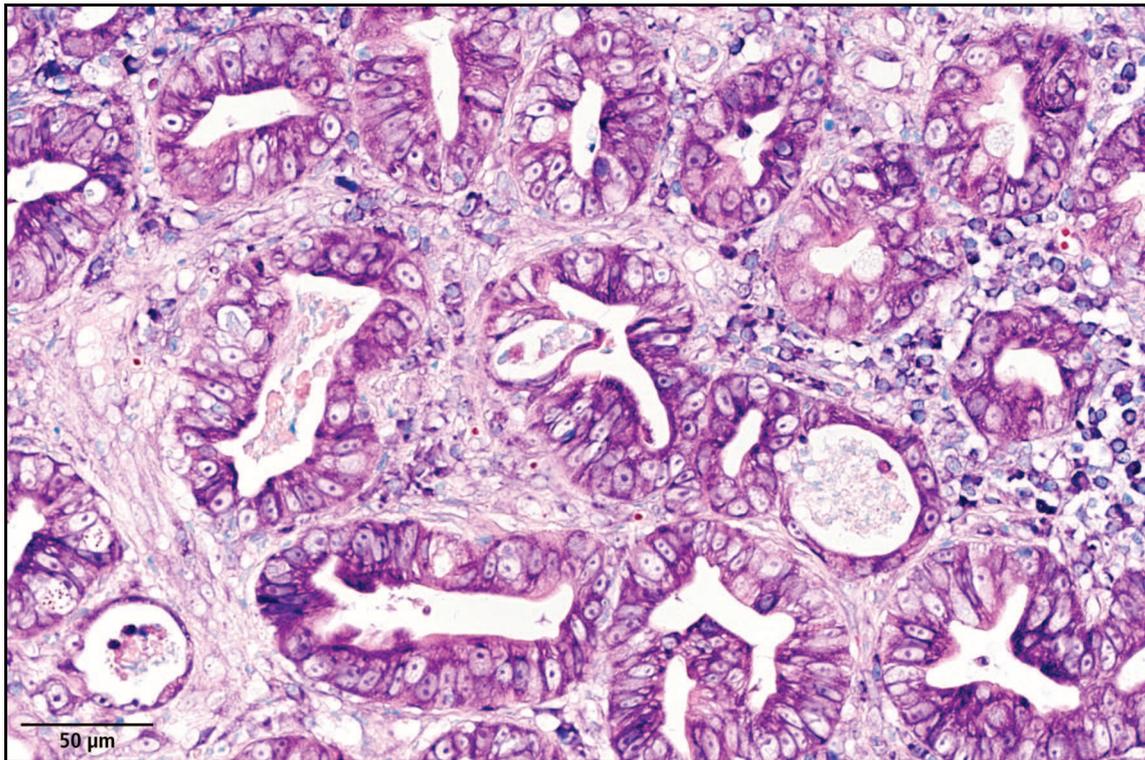


Abb. 15: **Tumor** des Colons; Adenokarzinom mit deutlichen Hinweisen auf Malignität in der Giemsa-Färbung, gleicher Fall wie in der vorhergehenden Abbildung. Hund, Biopsie, E 1319/06, Paraffineinbettung, Giemsa-Färbung

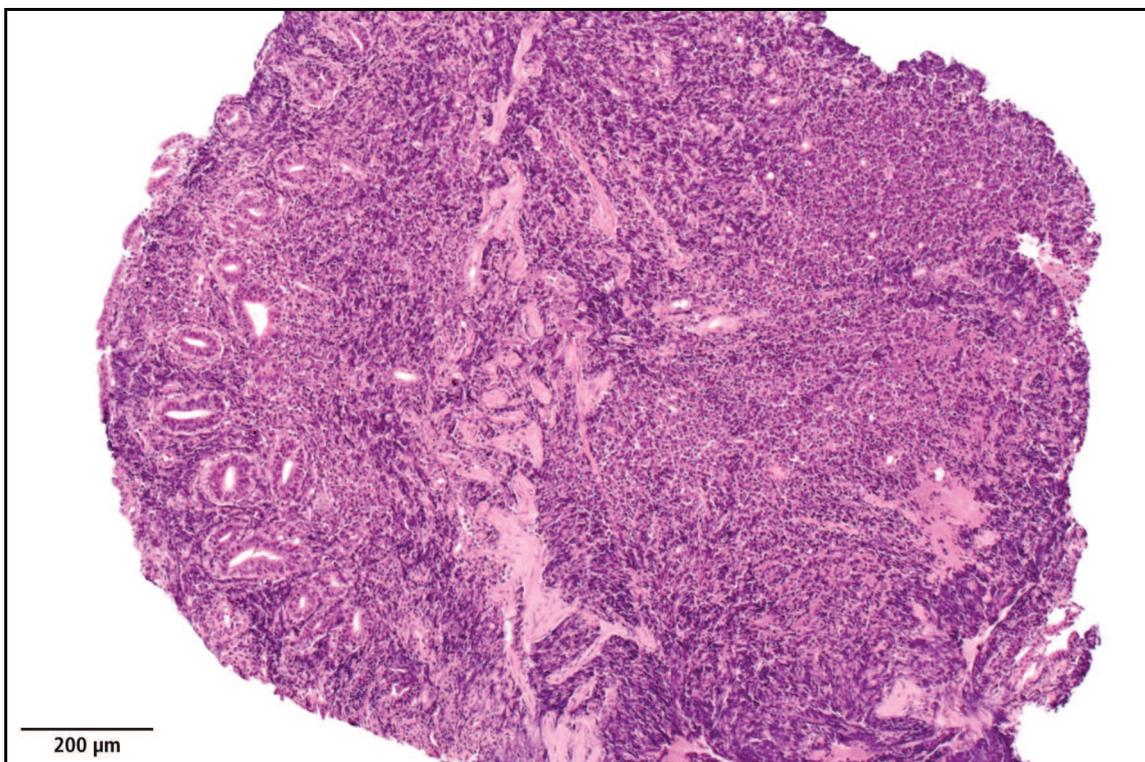


Abb. 16: **Malignes Lymphom** des Colons. Hund, Biopsie, E 601/02, Paraffineinbettung, HE-Färbung

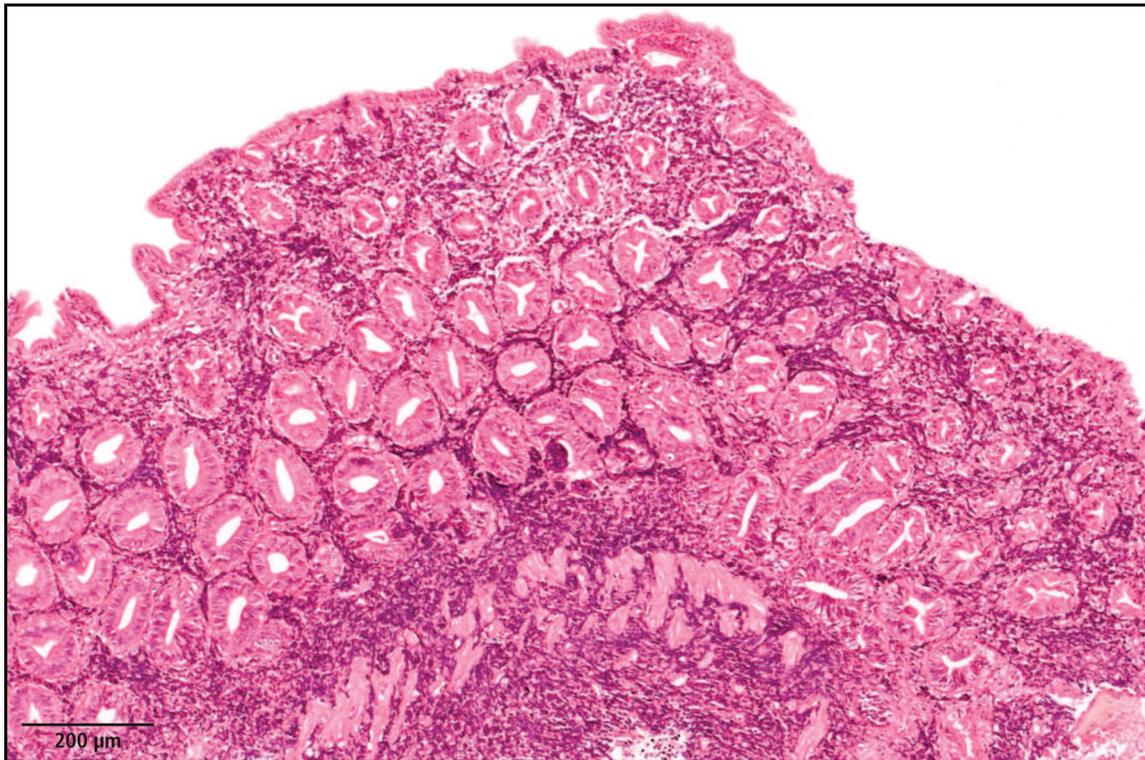


Abb. 17: **Malignes Lymphom** des Colons; das Tumorzellinfiltrat reicht über die *Lamina muscularis mucosae* deutlich bis in die *Tela submucosa* hinein. Hund, Biopsie, E 601/02, Paraffineinbettung, HE-Färbung

I. Die Protothekose des Dickdarms beim Hund ist in den vorliegenden Fällen gekennzeichnet durch eine granulomatöse Entzündung in der *Lamina propria* (Abb. 18), an der auch zahlreiche neutrophile Granulozyten beteiligt sind. Die Sporangien der Algen besitzen eine dicke, deutlich lichtbrechende Zellwand (Abb. 19 links). Hinweisend auf eine Prototheken-Infektion ist das Nachweis von Sporangien mit den typischerweise „semelförmig“ gelagerten Endosporen (Abb. 19 rechts). Die Menge an Algenzellen ist fallweise unterschiedlich, bei geringen Mengen kann eine PAS-Reaktion zum Nachweis hilfreich sein (Abb. 20).

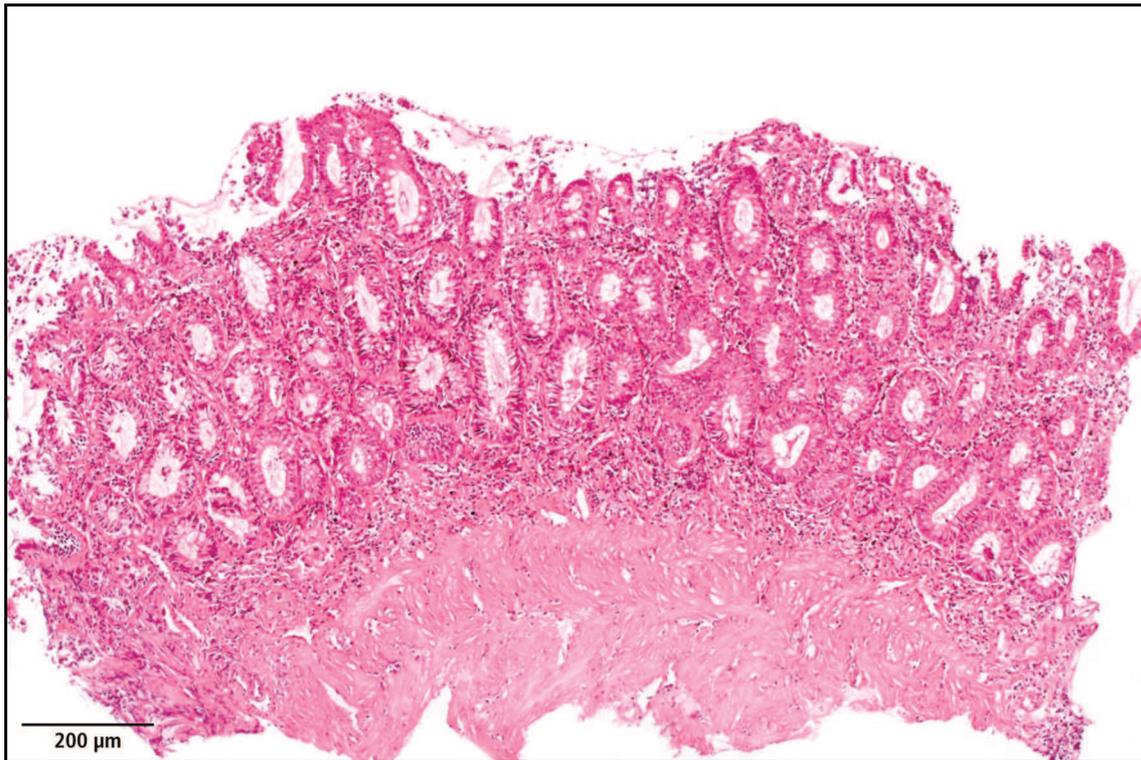


Abb.: 18: **Protothekose** des Colons; auffällige bandförmige Entzündung in der *Lam. propria*. Hund, Biopsie, E 983/03, Paraffineinbettung, HE-Färbung

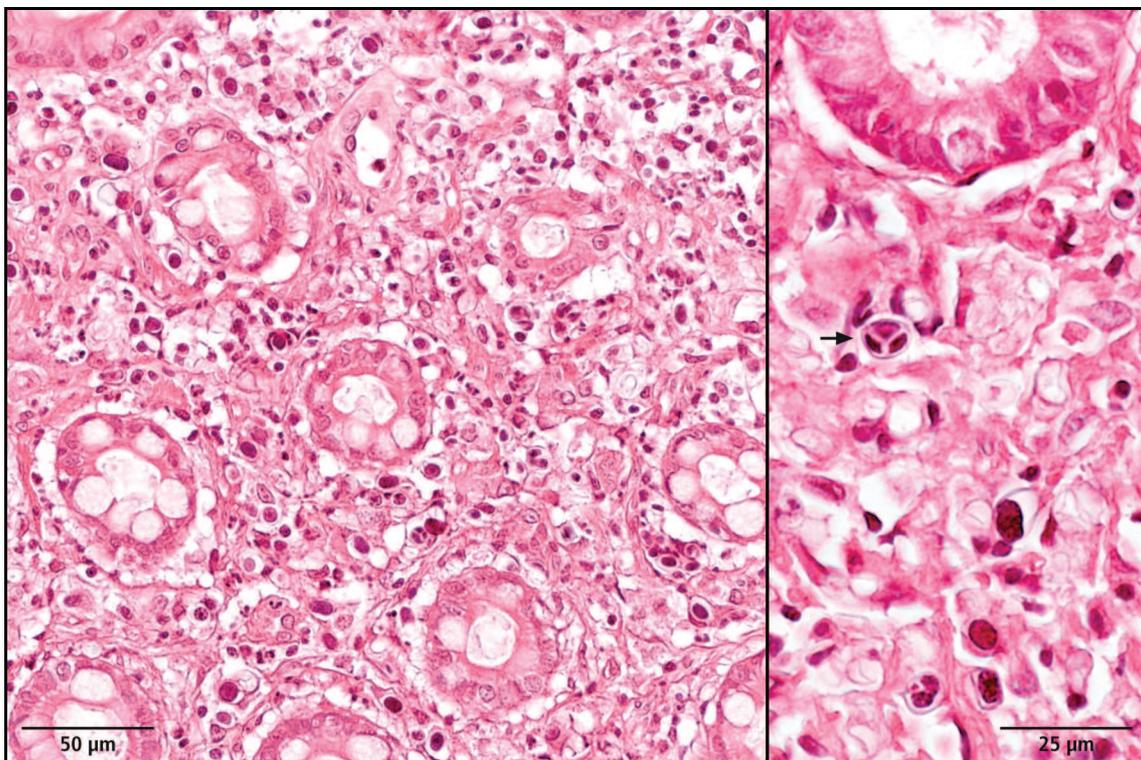


Abb.: 19: **Protothekose** des Colons; hochgradige Entzündung in der *Lam. propria* unter Beteiligung von Makrophagen, Lymphozyten und neutrophilen Granulozyten (links); hinweisend auf eine Infektion mit *Prototheca spec.* sind die „semelförmig“ angeordneten Endosporen (rechts, Pfeil). Hund, Biopsie, E 983/03, Paraffineinbettung, HE-Färbung

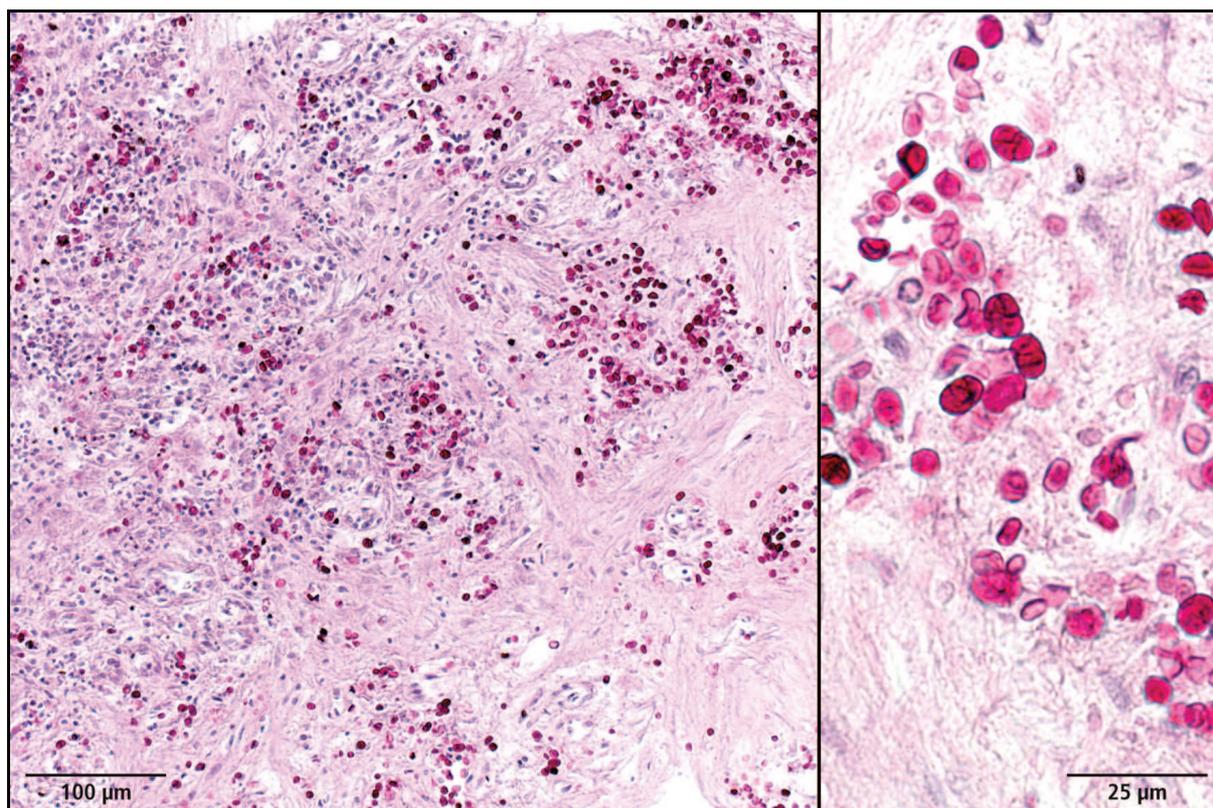


Abb.: 20: **Protothekose** des Colons; mittels der PAS-Reaktion lassen sich die Algen gut erkennbar darstellen, die Reaktion weist allerdings keine Spezifität für die Algen auf. Hund, Colonbiopsie, E 2156/03, Paraffineinbettung, PAS-Reaktion

4.2. Auswertung der Patienten mit vorliegenden klinischen Befunden

4.2.1. Auswertung von Signalement und Anamnese

In dieser Gruppe finden sich 161 Hunde, welchen zwischen 1995 und 2006 Colonbiopsien entnommen wurden. Die Schnitte eines Patienten konnte nicht zur weiteren Auswertung herangezogen werden, da keine vollständigen Angaben zu Signalement und Vorbericht vorlagen. Somit verbleiben die Schnitte von 160 Hunden zur weiteren Auswertung. Insgesamt 73 Hunde (46%) waren weiblich und 87 (54%) männlich. Da Angaben zu einer eventuellen Kastration nicht verlässlich gemacht wurden, wird auf die prozentuale Darstellung von Kastraten verzichtet. Das jüngste Tier war zum Untersuchungszeitpunkt 5 Monate alt das älteste 167 Monate. Der Altersdurchschnitt aller untersuchten Tiere liegt bei 73 Monaten.

Das Patientengut verteilte sich auf 44 verschiedene Rassen, der Deutsche Schäferhund war, nach Mischlingen, in hoher Zahl ($n = 26$; 16,1%) vertreten (Abb. 21).

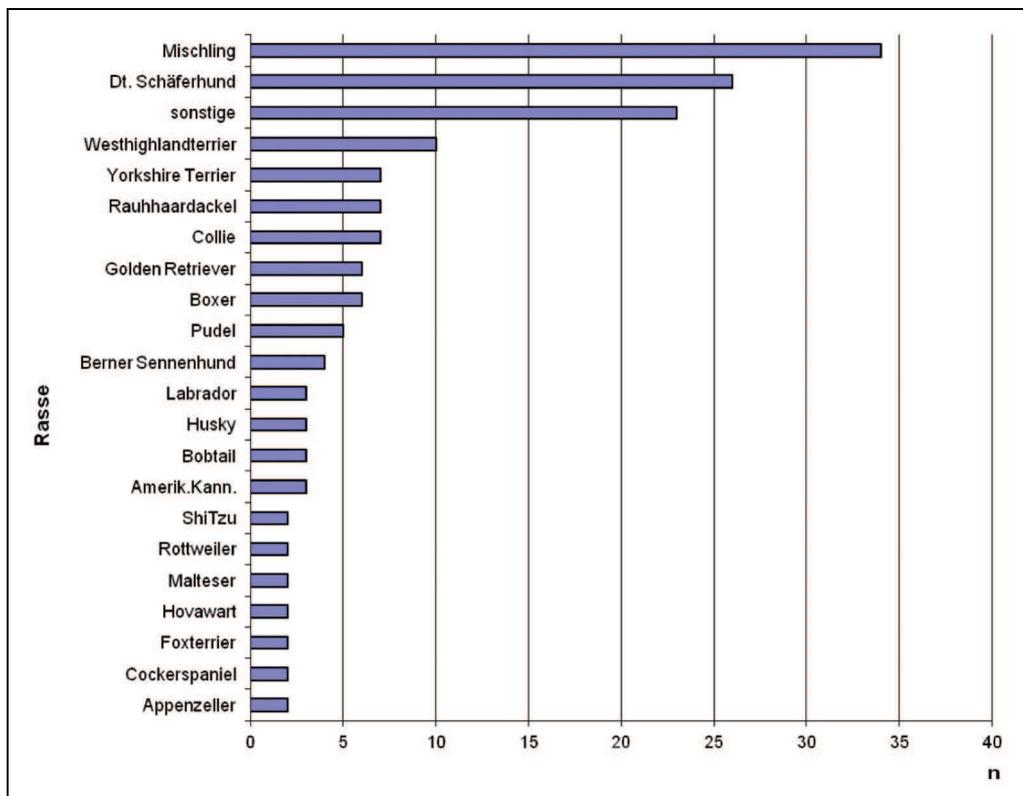


Abb. 21: Rasseverteilung der 160 Hunde, von denen Colonbiopsien untersucht wurden.

Weitere Ergebnisse der Signalementauswertung (Geschlecht und Alter) sind in den Abbildungen 22 und 23 dargestellt.

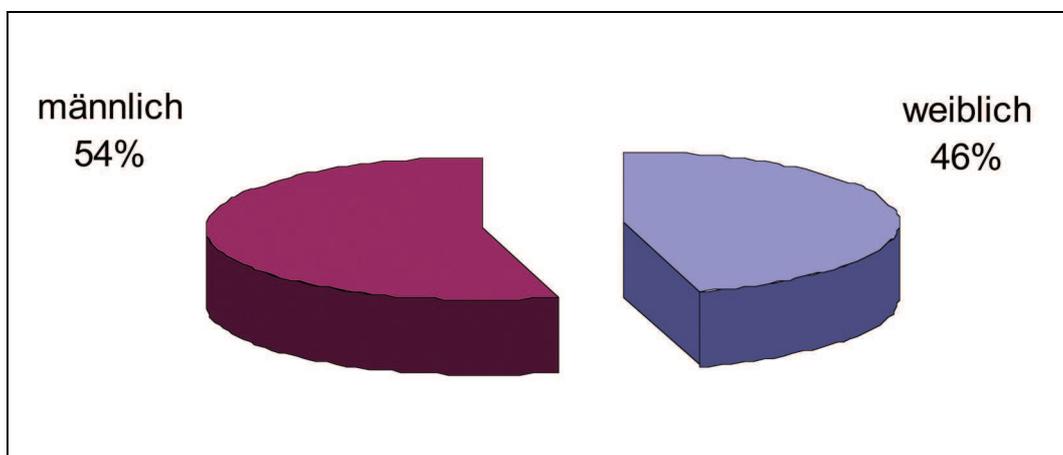


Abb. 22: Geschlechterverteilung der 160 Hunde, von denen Colonbiopsien untersucht wurden.

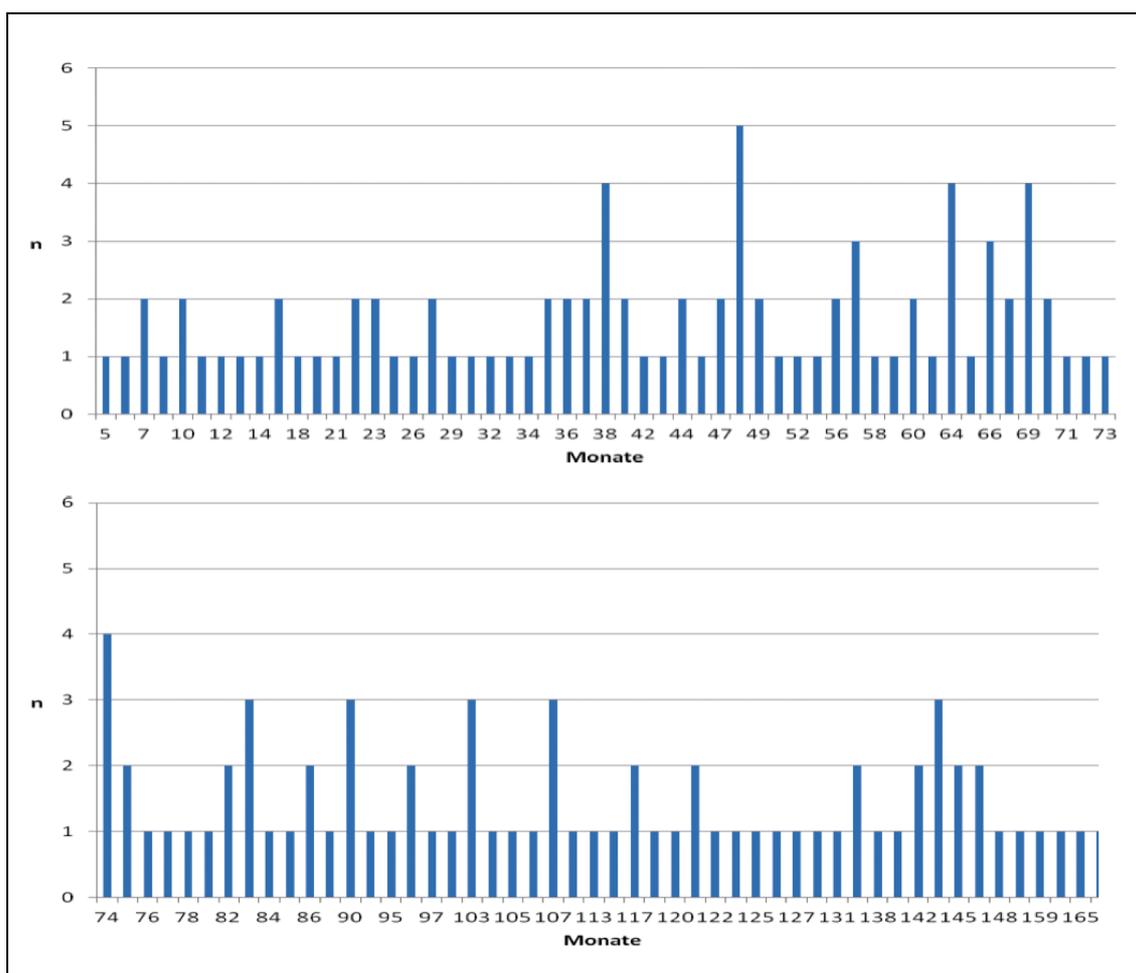


Abb. 23: Altersverteilung der 160 Hunde, von denen Colonbiopsien untersucht wurden.

Bei der Auswertung der Anamnese der 160 untersuchten Hunde zeigten nahezu alle Patienten gastrointestinale Symptome wie Durchfall (112 Hunde; 70,0%), davon bei 64 (40,0%) in hochgradig-profuser Ausprägung, oder Erbrechen (49 Patienten; 30,6%). Beimengungen im Kot fanden sich bei 109 Tieren (68,1%), davon bei 25 Schleim (15,6%), bei 55 Hunden Blut (34,4%) und bei 29 Patienten (18,1%) beides. Auffallenden *Tenesmus ani* zeigten 68 Hunde (42,5%).

Für den Krankheitsverlauf gaben 61% der Patientenbesitzer einen chronischen Verlauf (länger als 14 Tage) an, 24% der Hunde hatten chronisch-rezidivierende Beschwerden und nur 15% litten an einer akuten Erkrankung (Abb. 24).

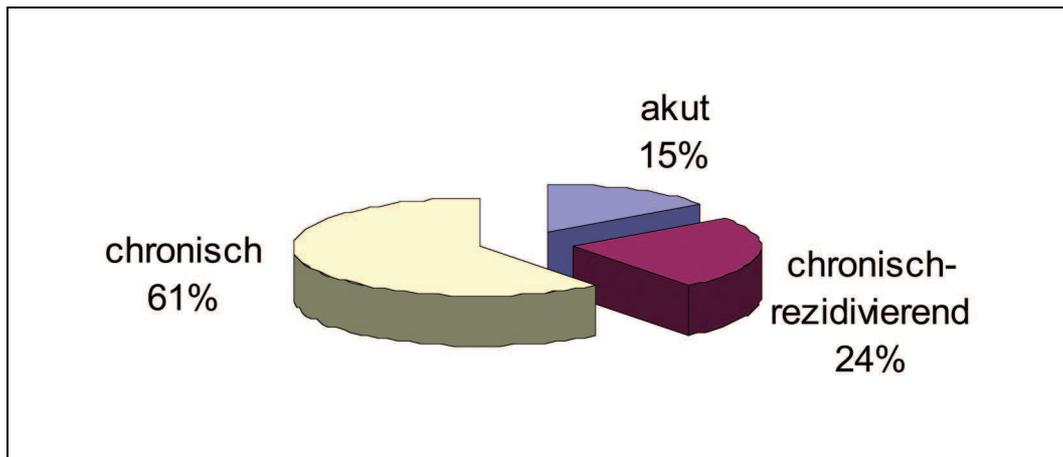


Abb. 24: Krankheitsverlauf bei den 160 Hunde, von denen Colonbiopsien untersucht wurden.

Die tatsächliche Erkrankungsdauer zum Untersuchungszeitpunkt variierte zwischen 3 Tagen und 13 Monaten. Vier Patienten wiesen keinerlei Krankheitszeichen zum Untersuchungszeitpunkt auf, hierbei handelte es sich um Kontrollendoskopien nach Karzinomoperationen.

4.2.2. Auswertung der Endoskopiebefunde

Da innerhalb dieser Patientengruppe die Karteieinträge des behandelnden Tierarztes zur Verfügung standen, kann auf den makroskopischen Endoskopiebefund zurückgegriffen werden. Die beschriebenen Veränderungen sind Schleimhautrötungen (110 Fälle, 68,8%), vermehrte Fibrose (64 Fälle, 40,0%), Ulcera (47 Fälle, 29,4%) und Gewebezubildung (27 Fälle, 16,9%). Eine vermehrte Ödematisierung der Schleimhaut wurde bei 100 Fällen (62,5%) beschrieben.

4.3. Histologische Auswertung der Biopsien

4.3.1. Auswertung der Patientengruppe 1 (klinische Befunde bekannt)

Diese Gruppe umfaßt insgesamt 160 Hunde. Aufgrund der in Material und Methoden angegebenen Kriterien für die histologische Beurteilbarkeit der Biopsien mussten 7 Fälle von der Auswertung ausgeschlossen werden. In 2 Fällen handelte es sich nicht um Colon- sondern um Rektumbiopsien. Einmal waren hochgradige Quetschartefakte vorhanden und viermal machten Fehler bei der Einbettung (Luft einschließen)

eine sichere Beurteilung unmöglich. Somit konnten histologische Biopsiepräparate von insgesamt 153 Hunden beurteilt werden.

4.3.1.1. Histopathologische Befunde

Die quantitative Auswertung der histologischen Veränderungen des Colons der Patientengruppe 1 gibt die Tabelle 5 wieder.

Kriterium		Anzahl	%-Anteil
Infiltration neutrophile Granulozyten	Grad 1	22	14,4
Infiltration neutrophile Granulozyten	Grad 2	19	12,4
Infiltration eosinophile Granulozyten	Grad 1	13	8,5
Infiltration eosinophile Granulozyten	Grad 2	3	2,0
Infiltration Lymphozyten-Plasmazellen	Grad 1	24	15,7
Infiltration Lymphozyten-Plasmazellen	Grad 2	9	5,9
Hyperämie	Grad 1	7	4,6
Hyperämie	Grad 2	24	15,7
Fibrose	Grad 1	51	33,3
Fibrose	Grad 2	19	12,4
Ödem	Grad 1	32	20,9
Ödem	Grad 2	8	5,2

Tabelle 5: Quantitative Auswertung der histologischen Befunde am Colon von Hunden der Patientengruppe 1 mit insgesamt 153 Tieren.

Außerdem wurden folgende histologische Befunde erhoben. Eine granulomatöse Colitis aufgrund einer Infektion mit *Prototheca spec.* fand sich bei drei Hunden, 13 Tiere wiesen eine Tumorerkrankung auf. Vermehrt Schleim konnte bei 57 Tieren (37,3%) festgestellt werden, bei 26 Hunden (17%) waren vermehrt Bakterien an der Schleimhautoberfläche zu finden. Ortständiges lymphatisches Gewebe (GALT) war in 41 Fällen (26,8%) nachzuweisen. Frei im Lumen liegende Zellverbände wurden in 65 Fällen (42,5%) beobachtet.

4.3.1.2. Histopathologische Diagnosen

Aufgrund der beschriebenen Veränderungen können in der ersten Patientengruppe (153 Hunde) folgende, in Tabelle 6 aufgeführte histopathologische Diagnosen gestellt werden.

Diagnose	Anzahl	%-Anteil
Lymphoplasmazelluläre Colitis	33	21,6
Colitis mit Beteiligung von neutrophilen Granulozyten	28	18,3
Eosinophile Colitis	3	2,0
Granulomatöse Colitis im Rahmen einer Protothekose	3	2,0
Maligner Tumor (Adenokarzinom)	7	4,6
Adenom	6	3,9
ohne besonderen Befund	73	47,7

Tabelle 6: Histopathologische Diagnosen der Colonbiopsien von 153 Hunden, von denen Vorbericht und klinische Befunde vorhanden sind (Gruppe 1).

Somit konnte bei 80 Tieren (52,3%) dieser Gruppe eine histopathologisch eindeutige Diagnose gestellt werden.

4.3.2. Auswertung der Patientengruppen 2 (nur histologisch untersuchte Tiere)

4.3.2.1. Histopathologische Befunde

Bei diesem Teil der Arbeit handelt es sich um die histologischen Befunde der Patientengruppe 2, von welcher aus datenverarbeitungstechnischen Gründen Vorbericht und klinische Befunde nicht mehr vorlagen.

Von insgesamt 69 Patienten gibt es histologische Präparate. Aufgrund der Einschlusskriterien müssen hiervon fünf Fälle ausgeschlossen werden (ein autolytisches Präparat, zwei Präparate mit Lufteinschlüssen und zwei Präparate mit mangelhafter Biopsiequalität). In drei Fällen liegen Rektum- und Colonbioptate mit nachgewiesener Neoplasie im Rektum vor. Von diesen Patienten gehen nur die Colonbioptate in die Befundung ein. Damit stehen insgesamt 64 Fälle zu Auswertung zur Verfügung.

Die quantitative Auswertung der histologischen Veränderungen des Colons der Patientengruppe 2 gibt die Tabelle 7 wieder.

Kriterium		Anzahl	%-Anteil
Infiltration neutrophile Granulozyten	Grad 1	7	10,9
Infiltration neutrophile Granulozyten	Grad 2	14	21,9
Infiltration eosinophile Granulozyten	Grad 1	1	1,6
Infiltration eosinophile Granulozyten	Grad 2	1	1,6
Infiltration Lymphozyten-Plasmazellen	Grad 1	6	9,4
Infiltration Lymphozyten-Plasmazellen	Grad 2	10	15,6
Hyperämie	Grad 1	11	17,2
Hyperämie	Grad 2	1	1,6
Fibrose	Grad 1	6	9,4
Fibrose	Grad 2	6	9,4
Ödem	Grad 1	9	14,1
Ödem	Grad 2	1	1,6

Tabelle 7: Quantitative histologische Befunde am Colon von Hunden der Patientengruppe 2 (ausschließlich Biopsien vorhanden).

Bei den Hunden dieser Gruppe wurden außerdem folgende histologische Befunde erhoben. In 23 Fällen (35,9%) konnte vermehrte Schleimansammlung beobachtet werden. Oberflächlich gelegene Bakterien waren bei 15 Tieren (23,4%) nachweisbar. Frei im Lumen liegende Zellverbände zeigten 22 Schnitte (34,4%). Nur in einem Fall (1,6%) konnte histologisch ein Schleimhaut-Ulkus bestätigt werden, wobei es sich jedoch um die Folge eines Tumorwachstums handelt. In 20 Fällen (31,3%) findet sich ortständiges lymphatisches Gewebe. Neoplasien liegen bei 10 Tieren (15,6%) vor, hierbei 4 exophytisch wachsende Adenome, 3 infiltrativ wachsende Adenokarzinome sowie 3 maligne Lymphome.

4.3.2.2. Histopathologische Diagnosen

Aufgrund der oben beschriebenen Veränderungen können in der zweiten Patientengruppe folgende histopathologischen Diagnosen gestellt werden (Tabelle 8).

Diagnose	Anzahl	%-Anteil
Lymphoplasmazelluläre Colitis	16	25,0
Colitis mit Beteiligung von neutrophilen Granulozyten	10	15,6
Eosinophile Colitis	1	1,6
Granulomatöse Colitis	1	1,6
Maligner Tumor (Adenokarzinom)	3	4,7
Malignes Lymphom	3	4,7
Adenom	4	6,3
ohne besonderen Befund	26	40,6

Tabelle 8: Histopathologische Diagnosen der Colonbiopsien von 64 Hunden, von denen nur noch Biopsien vorhanden sind (Gruppe 2).

Von den Fällen mit lymphoplasmazellulärer Colitis ist die Entzündung bei 10 Hunden hochgradig und der Fall der granulomatösen Colitis weist eine hochgradige Beteiligung von neutrophilen Granulozyten auf. Insgesamt 26 (40,6%) Biopate werden als ohne besonderen Befund beurteilt.

Somit konnte bei der histopathologischen Untersuchung bei 59,4% der Tiergruppe eine definitive Diagnose gestellt werden.

4.3.3. Auswertung der Hunde der Kontrollgruppe

4.3.3.1. Histopathologische Befunde

Wie unter 3.1. beschrieben konnten von 11 Tieren ohne klinische Symptome Vergleichsbiopate gewonnen werden. Diese wurden nach den gleichen Kriterien wie die Studientiere histopathologisch untersucht und bewertet; beispielhaft ist die Normalhistologie des Colons beim Hund in den Abbildungen 25 und 26 wiedergegeben. Alle Biopate der Kontrolltiere sind uneingeschränkt beurteilbar.



Abb. 25: Colon von einem **Kontrolltier**. Hund, Biopsie, E 283/02, Paraffineinbettung, HE-Färbung



Abb. 26: Colon von einem **Kontrolltier**. Hund, Biopsie, E 283/02, Paraffineinbettung, HE-Färbung

Die quantitativen zellulären Befunde sind in Tabelle 9 zusammengefasst, auf das Fehlen einer Hyperämie in den Biopstaten der Kontrolltiere sei hingewiesen.

Kriterium		Anzahl	%-Anteil
Infiltration neutrophile Granulozyten	Grad 1	2	18,2
Infiltration neutrophile Granulozyten	Grad 2	0	
Infiltration eosinophile Granulozyten	Grad 1	0	
Infiltration eosinophile Granulozyten	Grad 2	1	9,1
Infiltration Lymphozyten-Plasmazellen	Grad 1	4	36,4
Infiltration Lymphozyten-Plasmazellen	Grad 2	0	
Fibrose	Grad 1	2	18,2
Fibrose	Grad 2	0	
Ödem	Grad 1	1	9,1
Ödem	Grad 2	0	

Tabelle 9: Quantitative histologische Befunde am Colon von Hunden der Kontrollgruppe.

Schleimansammlungen im Lumen des Colons können bei den Kontrollhunden nicht festgestellt werden. Bei 5 Tieren (45,5%) fallen frei im Lumen liegende Zellverbände auf. Bakterien lassen sich in 3 Fällen (27,3%) nachweisen. Ortsständiges lymphatisches Gewebe (GALT) findet sich bei 3 Tieren (27,3%).

4.3.3.2. Histopathologische Diagnosen

Aufgrund der oben beschriebenen Befunde können in der Kontrollgruppe folgende histopathologischen Diagnosen gestellt werden. Vier Fälle mit geringgradiger lymphoplasmazellulärer Colitis, davon zwei mit einer zusätzlichen neutrophil-granulozytären Komponente sowie ein Fall einer eosinophilen Colitis. Insgesamt sechs Biopstate (54,6%) werden als ohne besonderen Befund beurteilt.

4.4. Vergleichende Gegenüberstellung der Ergebnisse der histologischen Auswertung der Biopsien

Ziel dieses Abschnittes soll es sein aufzuzeigen, inwiefern die Ergebnisse der einzelnen Gruppen vergleichbar sind und festzustellen, welche Zusammenhänge aus Vorbericht/klinischem Befund und der Histopathologie abzuleiten sind.

4.4.1. Vergleich der histologischen Befunde zwischen den einzelnen Gruppen

Zunächst sollen die strukturellen Veränderungen zwischen der einzelnen Gruppen verglichen werden (Tabelle 10).

Kriterium	% - Anteil		
	Gruppe 1	Gruppe 2	Kontrollen
Schleim	37,3	35,9	0
freie Zellverbände im Lumen	42,5	34,4	45,5
Bakterien, oberflächlich liegend	17,0	23,4	27,3
Fibrose Grad 1	33,3	9,4	18,2
Fibrose Grad 2	12,4	9,4	0
Ödem Grad 1	20,9	14,1	9,1
Ödem Grad 2	5,2	1,6	0
Colon Adenom	3,9	6,3	0
Colon Adenokarzinom	4,6	4,7	0
Malignes Lymphom	0	4,7	0
ortständiges lymphatisches Gewebe	26,8	31,3	27,3

Tabelle 10: Vergleich der histologischen Befunde der Colonbiopsien der Hunde aus den Gruppen 1 und 2 sowie der Kontrolltiere.

Die Ergebnisse der Kriterien Zellverbände, Bakterien und ortständiges lymphatisches Gewebe (GALT) stimmen, trotz unterschiedlicher Gruppengrößen, weitgehend überein. Auffallend ist das gänzliche Fehlen von Schleim im Colon von Hunden der Kontrollgruppe sowie die deutliche Varianz der Kriterien Fibrose und Ödem zwischen den Gruppen.

Die zellulären Veränderungen mit ihren unterschiedlichen Graden stellen sind zwischen den einzelnen Untersuchungsgruppen wie folgt dar (Tabelle 11).

Kriterium		% - Anteil		
		Gruppe 1	Gruppe 2	Kontrollen
Infiltration neutrophile Granulozyten	Grad 1	14,4	10,9	18,2
Infiltration neutrophile Granulozyten	Grad 2	12,4	21,9	0
Infiltration eosinophile Granulozyten	Grad 1	8,5	1,6	0
Infiltration eosinophile Granulozyten	Grad 2	2,0	1,6	9,1
Infiltration Lymphozyten-Plasmazellen	Grad 1	15,7	9,4	36,4
Infiltration Lymphozyten-Plasmazellen	Grad 2	5,9	15,2	0
Hyperämie	Grad 1	4,6	17,9	0
Hyperämie	Grad 2	15,7	1,6	0

Tabelle 11: Vergleich der quantitativen Auswertung der histologischen Befunde der Colonbiopsien der Hunde aus den Gruppen 1 und 2 sowie der Kontrolltiere.

Zwischen Gruppe 1 und Gruppe 2 gibt es bezüglich der zellulären Infiltrate größere Abweichungen, die nicht ohne weiteres zu erklären sind und letztlich auf die subjektive, semiquantitative Beurteilung zurückgeführt werden. Das prozentuale Verteilungsmuster ohne Gradeinteilung gibt Tabelle 12 wieder.

Kriterium	% - Anteil		
	Gruppe 1	Gruppe 2	Kontrollen
Infiltration Lymphozyten-Plasmazellen	21,6	25,0	36,4
Infiltration neutrophile Granulozyten	26,8	32,8	18,2
Infiltration eosinophile Granulozyten	10,5	3,2	9,1
Hyperämie	20,3	18,8	0

Tabelle 12: Vergleich des Vorkommens von zellulären Infiltraten bei den verschiedenen Untersuchungsgruppen.

Bei Nichtberücksichtigung der Gradeinteilung nähern sich die Vorkommenshäufigkeiten für die einzelnen Infiltratzellen zwischen Gruppe 1 und 2 an. Die Werte der Kontrollgruppe weichen, möglicherweise aufgrund der geringen Gruppengröße, allerdings teilweise erheblich ab. Bezüglich des Vorkommens von Lymphozyten und Plasmazellen bei den Kontrolltieren ist zu beachten, dass es sich ausschließlich um eine Grad 1 Infiltration handelt.

4.4.2. Gegenüberstellung von Vorbericht/klinischem Bild und histopathologischen Veränderungen

Von den Patienten der Gruppe 1 stehen neben den Biopsien auch Daten zu Signalement, Anamnese und klinischem Befund zur Verfügung. Im Folgenden sollen diese Daten den histopathologischen Veränderungen gegenübergestellt und auf etwaige Auffälligkeiten/Zusammenhänge überprüft werden.

Die folgenden Tabellen 13 bis 15 geben die erhobenen Daten zusammengefasst wieder, die Daten der Patienten, deren Präparate bei der histologischen Befundung ausgeschlossen wurden bleiben dabei unberücksichtigt.

4.4.2.1. Endoskopiebefunde versus Histologiebefunde

Zunächst soll dargestellt werden, inwieweit die endoskopischen Befunde mit den Ergebnissen der histopathologischen Untersuchung korrelieren (Tabelle 13).

Merkmal	Endoskopie	Histologie	Übereinstimmung
endoskopisch Rötung / histologisch Hyperämie	104	32	15
Erosion / Ulkus	47	1	1
Fibrose	63	70	63
Ödem	94	40	25
endoskopisch Gewebezubildung / histologisch Neoplasie	27	13	10

Tabelle 13: Anzahl von Diagnosen sowie Übereinstimmung der Befunde von Endoskopie und Histopathologie.

Nur selten konnte eine endoskopisch erwähnte *Rötung* auch im Zuge der histologischen Untersuchung als *Hyperämie* bestätigt werden, wogegen 17 Patienten histologisch eine Hyperämie der Schleimhaut aufwiesen, welche bei der Endoskopie keinen Hinweis auf eine Rötung erkennen ließen.

Die vom Kliniker häufig angesprochenen und bioptierten *Erosionen / Ulcera* konnten

nur in einem einzigen Fall auch histologisch bestätigt werden. Alle klinisch festgestellten Fibrosen ließen sich auch in der histologischen Untersuchung nachweisen.

Bei den Patienten mit endoskopisch vermuteten *Gewebezubildungen* konnten diese in der Histologie nur in einem Teil der Fälle als *Neoplasie* angesprochen werden. Es wurden allerdings 3 Neoplasien histologisch festgestellt, welche in der Endoskopie unentdeckt geblieben waren.

Beim Merkmal *Ödembildung* bestand keinerlei Übereinstimmung zwischen klinisch-makroskopischem und histologischem Befund.

4.4.2.2. Histologiebefunde in Abhängigkeit von der Erkrankungsdauer

Beim Vergleich der Anzahl von histopathologisch festgestellten Veränderungen mit der vorberichtlich angegebenen Erkrankungsdauer (Tabelle 14), ist ein deutlicher Anstieg der Anzahl von histologisch veränderten Biopsieproben bei Patienten mit chronischem Krankheitsverlauf zu erkennen.

Merkmal	vermehrt Lymphozyten / Plasmazellen	vermehrt eosinophile Granulozyten	vermehrt neutrophile Granulozyten	Fibrose	Ödem
akut	8	1	7	5	5
chronisch-rezidivierend	6	3	6	20	11
chronisch	29	12	31	45	24
gesamt	43	16	44	70	40

Tabelle 14: Zusammenhang zwischen der Anzahl von histopathologischen Befunden mit der klinisch ermittelten Erkrankungsdauer.

4.4.2.3. Verteilung der histologischen Befunde in Abhängigkeit vom Patientenalter

Für diese Auswertung wurden die untersuchten Patienten in 3 Altersgruppen (Alter in Monaten von 0 bis 36, 37 bis 72 und mehr als 72) aufgeteilt und die Befundverteilung

innerhalb der jeweiligen Gruppen ermittelt. Um Verfälschungen durch unterschiedliche Fallzahl innerhalb der einzelnen Gruppen zu vermeiden wurde die Verteilung zusätzlich prozentual angegeben (Tabelle 15).

Alter (Monate) Anzahl Tiere	vermehrt Lymphozyten / Plas-mazellen	vermehrt eosino-phile Granulo-zyten	vermehrt neutro-phile Granulo-zyten	Neoplasie	Fibrose	Ödem
0 - 36 n = 25	5 (20)	1 (4)	4 (16)	0	11 (44)	8 (32)
37 - 72 n = 51	14 (27,5)	11 (21,6)	15 (29,4)	6 (11,8)	27 (52,9)	12 (23,5)
über 72 n = 77	24 (31,2)	4 (5,2)	25 (32,5)	7 (9,1)	32 (41,6)	20 (25,8)
gesamt	43 (28,1)	16 (10,5)	44 (28,8)	13 (8,5)	70 (45,8)	40 (26,1)

Tabelle 15: Abhängigkeit der histologischen Befunde vom Alter der Patienten (die Werte in Klammern sind % Angaben).

Auffallend ist hierbei das Fehlen von neoplastischen Veränderungen innerhalb der jüngsten Patientengruppe, das gehäufte Auftreten von eosinophilen Granulozyten bei mittelalten Tieren und die relativ gleiche Häufigkeit des Auftretens von Fibrose und Ödem in allen drei Altersgruppen. Das Vorkommen von lymphoplasmazellulären bzw. neutrophil-granulozytären Infiltraten wird in der jüngsten Patientengruppe deutlich seltener beobachtet, während sich mittelalte und alte Tiere hierin kaum unterscheiden.

4.4.2.4. Begleitende klinische und histopathologische Befunde bei Patienten mit histologisch diagnostizierten Neoplasien

Von den vorberichtlichen, klinisch-makroskopischen und histologischen Befunden bei Patienten, bei denen neoplastische Prozesse histologisch nachgewiesen werden konnten (Tabelle 16), finden sich gehäuft ein chronischer Krankheitsverlauf, das gehäufte Auftreten von Tenesmus und Blutbeimengung sowie die häufige Infiltration der Biopate mit neutrophilen Granulozyten.

Merkmal	Anzahl
Erkrankungsdauer: akut	3
Erkrankungsdauer: chronisch-rezidivierend	1
Erkrankungsdauer: chronisch	10
Tenesmus ani	9
Blutbeimengung zum Kot	9
Schleimbeimengung zum Kot	3
Durchfall	5
Endoskopie: Rötung	9
Endoskopie: Erosion / Ulcus	8
Endoskopie: Neoplasie	10
Endoskopie: Ödem	3
Histologie: Hyperämie	5
Histologie: vermehrt Lymphozyten / Plasmazellen	5
Histologie: vermehrt neutrophile Granulozyten	12
Histologie: vermehrt eosinophile Granulozyten	1
Histologie: Fibrose	5
Histologie: Ödem	2

Tabelle 16: Anzahl der vorberichtlichen, klinisch-makroskopischen und histologischen Befunde bei Patienten mit Neoplasie (n = 13).

Zusammengefasst kann festgestellt werden, dass klinischer und histopathologischer Befund oft voneinander abweichen, lediglich beim Merkmal Fibrose besteht eine weitgehende Übereinstimmung.

Patienten mit chronischem Krankheitsverlauf oder vorberichtlich erwähnter Blutbeimengung zum Kot zeigen deutlich häufiger histopathologische Veränderungen. Das Auftreten von histologischen Veränderungen steigt mit dem Alter der Patienten zum Untersuchungszeitpunkt an.

5. DISKUSSION

5.1. Zusammenhang von Befund und Signalement / Vorbericht

5.1.1. Rassedisposition

Wie Kapitel 4.2.1. zu entnehmen ist, verteilt sich das Patientengut auf insgesamt 44 Rassen, wobei die am meisten betroffene Rasse der Deutsche Schäferhunde ist. Die Dominanz dieser Rasse bei Krankheiten des Gastrointestinaltrakts kommt auch in den Veröffentlichungen zum Ausdruck, so widmen sich mehrere Studien ausschließlich der chronischen Enteropathie des Schäferhundes (Hayden und van Kruiningen, 1982; German et al. 2000; Allenspach et al., 2010; Kathrani et al., 2010, Kathrani et al. 2012), weitere Arbeiten führen Schäferhunde als eigene Studiengruppe auf (Peters et al., 2005; Schmitz et al., 2012) oder sie machen einen größeren Teil des Untersuchungskollektivs aus (German et al., 2001; Ridyard et al., 2002).

Von den in der vorliegenden Arbeit untersuchten sechs Boxern konnten bei keinem die für die Histiozytäre ulzerative Colitis typischen und auffälligen histologischen Befunde gefunden werden, wie sie von zahlreichen Autoren beschrieben worden sind (van Kruiningen et al., 1965; Kennedy und Cello, 1966; Hall et al., 1994; Hostutler et al., 2004; Mansfield et al., 2009; Manchester et al., 2013). Eine mögliche Ursache könnte in der geringen Anzahl von Boxern liegen, die untersucht worden sind.

Die Protothekose, also eine Infektion mit Chloroplasten-freien Algen, tritt bevorzugt bei Boxern auf, wie der Fallaufstellung im Literaturteil der Arbeit zu entnehmen ist. Von den drei eigenen Fällen betrafen zwei ebenfalls Boxer.

5.1.2. Altersabhängigkeit

Wie anhand der Abbildung 23 ersichtlich, verteilt sich das Alter der Patienten zum Zeitpunkt der Untersuchung über alle Altersklassen. Es lässt sich jedoch eine Häufung um das 5 und 6. Lebensjahr erkennen. Das entspricht auch den Angaben der allermeisten Veröffentlichung, die einen Altersschwerpunkt für das Auftreten einer chronischen Enteropathie bei mittelalten Hunden sehen.

Möglicherweise spielt es auch eine Rolle, dass Tierbesitzer den Schritt zu einer Koloskopie erst nach längerer Erkrankungsdauer tun, zumal diese Untersuchung in der Tiermedizin ausnahmslos unter Vollnarkose erfolgen muß. Zum anderen könnte es sein, dass Patienten in einem höheren Alter bei so schwerwiegenden klinischen Befunden, welche eine auch finanziell aufwendige Diagnostik erfordern, häufig rein symptomatisch behandelt oder bei ausbleibender klinischer Besserung sogar euthanasiert werden.

5.1.3. Abhängigkeit von der Krankheitsdauer

Dass 85% der Patienten einen chronischen oder chronisch-rezidivierenden Krankheitsverlauf aufgewiesen haben, unterstreicht die Dominanz der chronischen Enteropathie (lymphoplasmazelluläre Enteritis, eosinophile Enteritis, histiozytäre ulzerative Colitis, Protothekose) im Gesamtrahmen von gastrointestinalen Störungen beim Hund. Ausdruck dieser Dominanz kann auch der Umfang an Veröffentlichungen sein, die in jüngster Zeit erschienen sind.

5.1.4. Abhängigkeit der histopathologischen Diagnosen von der Anamnese

Ein Zusammenhang bestimmter histopathologischer Diagnosen mit bestimmten Vorberichten ist nicht zu erkennen. Insbesondere zeigt sich keine Häufung von entzündlichen Veränderungen bei bestimmten Vorberichten. Lediglich fällt auf, dass die Besitzer aller Hunde, bei welchen durch die Koloskopie eine Neoplasie diagnostiziert wurde, vorberichtlich einen deutlichen *Tenesmus ani* bei ihren Hunden erwähnen, was vermutlich auf eine mechanische Irritation durch die Gewebezubildung zurückzuführen ist.

5.2. Nicht-entzündliche histopathologische Veränderungen

5.2.1. Freie Zellverbände

Den unter 4.1.c beschriebenen, frei im Lumen des Colons liegenden Zellverbänden wird keine diagnostische Bedeutung beigemessen. Es kann zumindest in der einen jeweils untersuchten Schnittebene kein geweblicher Zusammenhang mit dem Oberflächenepithel nachgewiesen werden. Diese Ansammlungen von Zellverbänden

werden deshalb als Artefakt betrachtet. Die Ursache für die freien Zellverbände kann in der Art der Probengewinnung / Aufbereitung liegen. Im Zuge der Endoskopie werden die Biopate mittels flexibler Biopsiezange gewonnen, welche wie ein schneidender Greifer funktioniert. Dieses Werkzeug wird möglichst senkrecht auf das Epithel des Colons aufgesetzt. Bei dem anschließenden Schließen der Biopsiezange wird das Biopat dann unter Aufrechterhalten des Anpressdrucks aus der Colonwand gestanzt, dabei können fransige Biopsieränder entstehen. Da die Proben anschließend in einem Bad von isotonischer Kochsalzlösung aus der Biopsiezange gelöst werden, um zusätzliche Artefakte durch Quetschung zu vermeiden, können sich bei diesem Vorgang einzelne locker anhaftende Zellverbände vom Biopsierand lösen und anschließend an der *Lamina epithelialis* haften bleiben. Eine diagnostische Wertigkeit besitzen die freien Zellverbände deshalb nicht.

5.2.2. Schleimanhaftung und Nachweis von Bakterien

Der bei rund einem Drittel der Biopsien beobachteten Ansammlung von Schleim an der Oberfläche der *Lamina epithelialis* und in den Drüsenlumina wird keine größere Bedeutung beigemessen, ebenso wenig wie die bei etwa einem Viertel der Hunde nachgewiesenen Bakterien an der Schleimhautoberfläche. Cassmann und Mitarbeiter (2016) haben bei den von ihnen untersuchten Hunden die Ablagerung von Schleim (frei und adhärent) in Relation zu den mittels FISH-Analyse bei Hunden mit chronischer Enteropathie vermehrt nachgewiesenen Bakterien gesetzt und dabei Bakterien sowohl im freien wie adhärennten Schleim beobachtet, sie haben aber keine Korrelation mit dem histopathologischen Schweregrad der Entzündung gefunden und auch nicht über eine Assoziation von Bakterien mit lokalen Schädigungen berichtet.

5.2.3. Schleimhaut-assoziiertes lymphatisches Gewebe (GALT)

Aggregiertes lymphatisches Gewebe des Darms, das auch beim Hund aus zusammengesetzten Systemen wie den lymphoglandulären Komplexen und den Solitär-follikeln besteht (Hebel, 1960; Atkins und Schofield, 1972), ist Teil des Schleimhaut-assoziierten lymphatischen Gewebes (mucosa-associated lymphoid tissue - MALT bzw. gut-associated lymphoid tissue - GALT), und zwar der induktiven Seite (Brandtzaeg und Pabst, 2004). Die Effektorseite besteht aus den histologisch gut

erkennbaren Plasmazellen und einzelnen lymphatischen Zellen innerhalb des Epithels sowie in der *Lamina propria*, die nicht ohne weitere Hilfsmittel in ihre Subpopulationen zu differenzieren sind. Der Umfang des aggregierten lymphatischen Gewebes und der Einzelzellen hängt, auch unter Normalbedingungen, von mehreren Faktoren ab, wie unter anderem dem Alter des Tieres und dem Ausmaß an antigener Stimulation (Kleinschmidt et al., 2008). Diese Variabilität macht eine zuverlässige Abgrenzung zwischen einem physiologischen Vorkommen und einer geringgradigen pathologischen Zunahme von aggregiertem lymphatischem Gewebe und lymphatischen Einzelzellen (siehe unten) schwierig. Anders als z.B. für das Kalb (Liebler et al., 1988) liegen für den Hund keine systematischen Untersuchungen zur Verteilung des GALT im Colon vor. Untersuchungen zum Vorkommen von Solitärfollikeln existieren wahrscheinlich nur für den Magen des Hundes (Kolbjørnsen et al., 1994). Von den im Zusammenwirken mit der World Small Animal Veterinary Association erstellten Standardisierungsvorschlägen für die histologische Auswertung von gastrointestinalen Biopsien werden Solitärfollikel entweder gar nicht (Day et al., 2008) oder nur im Zusammenhang mit einer lymphofollikulären Hyperplasie des Magens (Washabau et al., 2010) erwähnt, das vereinfachte Model für die Auswertung hat schließlich die follikuläre Hyperplasie des Magens wieder entfernt (Jergens et al., 2014).

Da Strukturen des GALT mit nahezu gleichem prozentualen Anteil sowohl in den Einsendungsbiopstaten als auch in der Kontrollgruppe festgestellt werden konnte, wird davon ausgegangen, dass das beobachtete Ausmaß an GALT auch in den Studiengruppen physiologisch ist.

5.3. Entzündliche Veränderungen

5.3.1. Lymphoplasmazelluläre Colitis

Die lymphoplasmazelluläre Entzündung des Darms (Enteritis, Colitis) ist primär gekennzeichnet durch das vermehrte Auftreten von Lymphozyten und Plasmazellen in der *Lamina propria*. Weitere Kriterien kommen je nach Untersuchungsgruppe hinzu, wie Veränderungen der Schleimhaut-Architektur (vor allem am Dünndarm), Schädigungen des Darmepithels (Erosionen, Ulcera) oder ein vermehrtes Vorkommen von

intraepithelialen Lymphozyten. Ferner wird das gleichzeitige Vorkommen anderer Entzündungszellarten (eosinophile oder neutrophile Granulozyten) von verschiedenen Untersucherguppen bei der lymphoplasmazellulären Entzündung erwähnt. Die lymphoplasmazelluläre Darmentzündung ist nach übereinstimmender Meinung zahlreicher Autoren die häufigste chronische Darmentzündung beim Hund. Auch in den eigenen Untersuchungen ist die lymphoplasmazelluläre Colitis die häufigste Form, insbesondere, wenn man die Hunde, bei denen eine vermehrte Anzahl von neutrophilen Granulozyten in der *Lamina propria* gefunden wurde, mit zu diese Gruppe hinzuzählt. Dieses Vorgehen scheint gerechtfertigt, da bei der überwiegenden Zahl von Hunden nur ein vermehrtes Auftreten von Neutrophilen beobachtet wurde, was sich in seinem Umfang deutlich von den hochgradigen Infiltraten bei Tumoren und bei der Protothekose unterschied.

Wurde der Umfang des lymphoplasmazellulären Infiltrats früher vor allem semiquantitativ beurteilt, so ist man in den vergangenen Jahren im Rahmen von Studien zur lymphoplasmazellulären Enteritis, chronischen Enteropathie oder inflammatory bowel disease dazu übergegangen, das Ausmaß des entzündlichen Infiltrats anhand von Scoringsystemen mit textlicher und bildlicher Darstellung der einzelnen Schweregrade, einschließlich des Normalzustandes, zu erfassen. Diese Scoringsysteme sind vor allem hilfreich bei Studien, in denen quantitative Erhebungsdaten statistisch miteinander verglichen werden sollen, von denen der Vergleich mit dem klinischen Schweregrad der Krankheit am wichtigsten ist. Bereits Willard und Mansell (2011) haben die Problematik histologischer Scoringsysteme ausführlich diskutiert. Die im Literaturteil dieser Arbeit vorgestellten Publikationen lassen nahezu ausnahmslos erkennen, dass es keinen signifikanten Zusammenhang des histopathologischen Schweregrades der Darmentzündung mit den zahlreichen untersuchten Parametern gibt. Beispielhaft hierfür seien die Korrelation Histopathologie mit der Klinik (Allenspach et al., 2007; García-Sancho et al., 2007; Burgener et al. 2008; Schreiner et al., 2008; Xenoulis et al., 2008; Allenspach et al., 2010; McMahon et al., 2010), mit der Expression verschiedener Zytokine (Maeda et al., 2011 und 2012 A und B; Ogawa et al., 2018), mit der Expression von Pattern-Recognition-Receptors (Burgener et al., 2008; Allenspach et al., 2010; McMahon et al., 2010) und mit der Zusam-

mensetzung der Darmflora (Microbiom) (Allenspach et al., 2010; Cassmann et al., 2016) genannt.

Damit stellt sich die Frage nach der Nützlichkeit von aufwendigen histopathologischen Scoringssystemen für die Routinediagnostik an gastrointestinalen Biopsien. Aus der Sicht der Pathologie ist es entscheidend, verlässlich festzustellen, ob tatsächlich eine lymphoplasmazelluläre Entzündung des Darmes vorliegt. Problematisch kann dabei die Abgrenzung an den beiden Außenrändern sein, die Abgrenzung eines hochgradig aktivierten Schleimhautimmunsystems von einer geringgradigen lymphoplasmazellulären Entzündung einerseits und die Abgrenzung einer hochgradigen lymphoplasmazellulären Entzündung von einem malignen Lymphom andererseits.

Für die Abgrenzung gegenüber malignen Lymphomen wird häufig, neben seiner Homogenität, die Tiefenausdehnung des Zellinfiltrats herangezogen. Dieser Parameter ist allerdings ebenfalls kritisch zu sehen. So reicht die endoskopische Biopsie häufig nicht weit über die *Lamina muscularis mucosae* hinaus in die Tiefe, full-thickness Biopsien wären hier hilfreich, setzen aber einen ungleich größeren klinischen Aufwand voraus. Auch die Abgrenzung von Einrichtungen des GALT können, insbesondere bei kleinen Biopsien, problematisch sein. Dass auch das Kriterium Dichte und Umfang des Zellinfiltrats nicht verlässlich ist, zeigen die Untersuchungen von Olivero und Mitarbeiter (2011), die bei Hunden mit chronischer Enteropathie eine eingeschränkte Diversität, bis hin zur Monoklonalität, von Immunglobulin- und T-Zellrezeptor-Genen festgestellt haben und die Möglichkeit des Übergangs der beobachteten „entzündlichen“ Veränderungen in ein manifestes malignes Lymphom diskutieren. Zur Abgrenzung zwischen lymphozytären Infiltraten bei Entzündung und malignen Lymphomen wird seit einigen Jahren auch in der Tiermedizin die Methode der PCR für Antigen-Rezeptor-Rearrangements (PARR) bei Lymphomverdacht am Darm von Hunden angewendet (u.a. Ohmura et al., 2017).

Ebenfalls im Rahmen von Studien zur chronischen Enteropathie wurden in den vergangenen Jahren vermehrt Kollektive von erkrankten Hunden generiert, die mittels Vorbehandlung (Futterumstellung auf eine Eliminationsdiät, Behandlung mit Antibio-

tika und Gabe von Steroiden) auf das Bild einer idiopathischen IBD hin eingegrenzt worden waren. Über den Gedanken hinaus, dass es ein logische Problem sein kann, eine Krankheit, deren Ursache / Pathogenese man nicht kennt, von Krankheiten mit anderen Ursachen abzugrenzen, gibt es auch Zweifel daran, ob sich beispielsweise eine chronische Futtermittel-assoziierte Enteropathie tatsächlich von der idiopathischen IBD abgegrenzt läßt (Kalenyak et al., 2018).

Somit könnte es das Ziel der histopathologischen Diagnostik an Darm- / Colonbiopsien sein, eine lymphoplasmazelluläre Entzündung sicher zu erkennen und sie möglichst verlässlich von hochgradigen Aktivierungszuständen des Schleimhautimmunsystems, von malignen Lymphomen und von anderen chronischen Darmentzündungen mit bekannter Ursache, wie beispielsweise der Protothekose oder der histiozytären ulzerativen Colitis bei Boxern abzugrenzen.

5.3.2. Eosinophile Colitis

Die eosinophile Colitis ist die zweithäufigste Form der Dickdarmentzündungen im eigenen Untersuchungsgut. Seit ihrer Erstbeschreibung durch Strande und Mitarbeiter (1954) wird die eosinophile Darmentzündung entweder als eigenständige Entität aufgeführt oder das Auftreten von Eosinophilen wird als Teilphänomen der Gruppe der chronischen Darmentzündungen, chronic enteropathy oder der inflammatory bowel disease aufgefaßt. Von den Autoren, die eine eigenständige eosinophile Darmentzündung aufführen, wird diese ebenfalls als die zweithäufigste Form einer chronischen Darmentzündung benannt. Von den beiden unterschiedlichen Verteilungsmodi der Entzündungszellen ist hier nur die diffuse Form relevant, bei den herdförmigen Formen ist eine Ursache vielfach histologisch zu erkennen. Bei der diffusen Form der eosinophilen Darmentzündung ist die Ursache, ebenso wie bei der lymphoplasmazellulären Entzündung des Darms bislang unbekannt. Ob es tatsächlich sinnvoll ist, die eosinophile Darmentzündung als eigenständiges Krankheitsbild aufzuführen ist diskutabel. Soweit erkennbar gibt es keine Veröffentlichung, die, neben der Histologie, Unterschiede bei weiteren klinischen oder sonstigen Parametern zwischen eosinophiler und lymphoplasmazellulärer Darmentzündung beschreibt. In der vorlie-

genden Arbeit ergab sich die Aufteilung in die beiden Formen, da die eosinophile Colitis als morphologisch eigenständig abzugrenzen ist.

Anders als bei der lymphoplasmazellulären Darmentzündung ist die Abgrenzung der eosinophilen Colitis vom Normalzustand einfacher, da eosinophile Granulozyten im routinemäßig mittels Hämalun und Eosin gefärbten Paraffinschnitt so gut wie gar nicht zu erkennen sind. Das bedeutet, dass das problemlose Auffinden von eosinophilen Granulozyten im histologischen Präparat das entscheidende Kriterium für die Diagnose war. Hochgradige Infiltrate von Eosinophilen, wie sie in einzelnen Publikationen gezeigt werden (u.a. Day et al. 2008), fanden sich in den hier untersuchten Biopsien nicht. Der Umfang des lymphoplasmazellulären Infiltrats blieb bei der Diagnosestellung unberücksichtigt. Eine gleichzeitig vorliegende Blut-Eosinophilie kann ein diagnostischer Hinweis sein, eine stringente Kopplung zwischen der eosinophilen Darmentzündung und einer Blut-Eosinophilie soll es allerdings nicht geben (Hall und German, 2008).

5.3.3. Protothekose

Wie oben bereits erwähnt waren bei zwei der drei Fälle von Protothekose Hunde der Rasse Boxer betroffen, eine Bevorzugung, die auch den Angaben in der Literatur entspricht. Das histologische Bild entsprach ebenfalls den üblichen Beschreibungen. Das Auffinden der Algen war teilweise wegen der geringen Menge an Sporangien schwierig; hier war die hochgradige Entzündung, die diejenige bei lymphoplasmazellulärer und eosinophiler Colitis deutlich übertraf, hinweisend; die PAS-Reaktion ermöglicht eine sichere Diagnose. Auffällig, und von der Literatur abweichend, war die deutliche Beteiligung von neutrophilen Granulozyten an der Entzündung. Die Frage nach einer Generalisation der Prototheken-Infektionen konnte anhand der Biopsien nicht beantwortet werden.

5.3.4. Histiozytäre ulzerative Colitis

Fälle einer histiozytären ulzerativen Colitis, die ganz überwiegend bei Hunden der Rasse Boxer auftritt, konnten im eigenen Untersuchungsmaterial nicht beobachtet werden. Möglicherweise ist die Anzahl von sechs untersuchten Boxern zu gering. Die

Wahrscheinlichkeit, eine histiozytäre ulzerative Colitis nicht erkannt zu haben, ist wegen des typischen histologischen Bildes, den PAS-positiven Makrophagen, wenig wahrscheinlich.

5.3.5. Veränderungen des Epithels (Erosionen / Ulcera)

Das im Zusammenwirken mit der World Small Animal Veterinary Association erstellte Scoringssystem (Day et al., 2008) führt, neben der Quantifizierung des Entzündungszellinfiltrats, für die höheren Schweregrade (moderate / marked injury) zusätzlich epitheliale Veränderungen am Colon auf, wie den Verlust des Oberflächenepithels bis zu ausgedehnten Nekrosen, Formveränderungen der Krypten mit Verzeigungen oder hochgradiger Dilatation oder die Mehrlagigkeit des Kryptepithels mit vermehrter Basophilie. In den meisten Arbeiten, die dieses Scoringssystem verwendet haben, wird nur ein Gesamtscore angegeben (Jergens et al., 2003; Allenspach et al., 2007; Burgener et al., 2008; Casamian-Sorrosal et al., 2010; Rossi et al., 2014). Es ist also nicht erkennbar, zu welchem Anteil und welche Epithelveränderungen konkret vorgekommen sind und welchen Umfang sie aufgewiesen haben. Außerdem ist vielfach nicht zu ermitteln, ob sich die Angaben zum Score auf Dünn- und / oder Dickdarm beziehen. In älteren Arbeiten werden Entzündungszellinfiltrat und Epithelveränderungen noch getrennt bewertet. So erachtet Wilcock (1992) die alleinige Vermehrung von Entzündungszellen ohne eine gleichzeitig veränderte Enterozyten Kinetik für pathologisch unsignifikant.

In den eigenen Untersuchungen fand sich eine Erosion / Ulcus nur in einer einzigen Biopsie, obwohl die Kliniker, die die Biopsien entnommen haben, wiederholt versichert haben, auch Bereich mit Epithelläsionen gezielt bioptiert zu haben. Eine Erklärung für diese Diskrepanz konnte nicht gefunden werden.

5.4. Neoplasien

Im untersuchten Patientengut wurden bei ca. 5% der Patienten neoplastische Prozesse diagnostiziert. Neben polypös exophytisch wachsenden Adenomen konnten auch maligne Colontumoren wie das invasiv wachsende Adenokarzinom und maligne Lymphome beobachtet werden. Die weitergehende Unterteilung der

Tumoren erschien nicht sinnvoll, da aus klinischer Sicht beim aktuellen Kenntnisstand hiervon keine therapeutischen Konsequenz zu erwarten sind. Da bei den untersuchten Fällen nahezu gleichviele benigne wie maligne Tumoren vorlagen, was klinisch nicht zu differenzieren gewesen ist, muss eine histopathologische Untersuchung von Colonbiopstaten bei Vorliegen von Umfangsvermehrungen gefordert werden, da nur so die Dignität bestimmt werden kann, was sich wiederum auf Prognose und Therapie auswirkt. Bestätigt hat sich, dass maligne Tumore wesentlich häufiger epithelialen als mesenchymalen Ursprungs sind wie auch von van der Gaag (1978) bereits beschrieben. In den eigenen Untersuchungen traten Adenokarzinome doppelt so häufig auf wie maligne Lymphome.

5.5. Klinische Wertigkeit der histopathologischen Diagnosen

Wie gezeigt werden konnte, ist die Coloskopie mit Colonbiopsie und folgender histopathologischer Untersuchung eine vom klinisch tätigen Tierarzt oft durchgeführte Untersuchung zur Abklärung chronischer oder chronisch-rezidivierender Durchfallerkrankungen. In ca. 50% der Fälle konnte zwar eine morphologische Diagnose gestellt werden, allerdings bleibt die Mehrzahl der Fälle ätiologisch ungeklärt. Im Falle des Nachweises einer Neoplasie besteht Diagnosesicherheit. Im Falle diagnostizierter Mykosen, wie z.B. der Protothekose, ist die Ätiologie ebenfalls eindeutig und die Diagnose deshalb unstrittig, allerdings sind diese Fälle mehr als selten. Eosinophile Entzündungen können, wenn vorliegend, mit einiger diagnostischer Sicherheit erkannt werden, allerdings obliegt es hier dem behandelnden praktischen Tierarzt, die Ätiologie weiter einzugrenzen. Große Probleme bereitet aufgrund der oben beschriebenen Ergebnisse dieser Arbeit das Wichten der histopathologisch gestellten Diagnose lymphoplasmazelluläre Colitis. In diesen Fällen erbringt die Histologie keine ursächliche Klärung, jedoch muß aufgrund fehlender objektiver Befundungsschemata möglicherweise auch davon ausgegangen werden, dass zumindest im Falle einer geringgradigen lymphoplasmazellulären Colitis diese fälschlicherweise als tatsächliche Erkrankung interpretiert wird.

5.4. Schlußfolgerungen

Aus den im Zuge der vorliegenden Arbeit durchgeführten histologischen Untersuchungen und deren Ergebnissen kann abgeleitet werden, dass nahezu alle in der Literatur beschriebenen Veränderungen im Einsendungsgut festgestellt werden können, allerdings nicht in allen Fällen als diagnostisch zu werten sind, bzw. im Falle der oftmals diagnostizierten „geringgradigen lymphoplasmazellulären Colitis“ zum einen keine ätiologische Klärung der bestehenden intestinalen Symptomatik ermöglichen, zudem auch hinsichtlich pathologischem Stellenwert sehr kritisch zu hinterfragen sind. Um diese Unsicherheit auszuräumen, sind an die zukünftige histopathologische Befundung von Colonbiopaten folgende Ansprüche zu stellen: Es sollte ein einheitliches, standardisiertes und objektives Grading-System für zelluläre, insbesondere lymphoplasmazelluläre Infiltrate entwickelt und etabliert werden. Hierbei sollte ggf. unter Einbeziehung einer, um statistische Wertigkeit zu gewährleisten, größeren Anzahl von Kontrolltieren als in vorliegender Arbeit gewählt, eindeutig und quantitativ festgelegt werden, wie viele Zellen pro Gesichtsfeld in wie vielen Biopaten nachweisbar sein müssen, um eine sichere Diagnose stellen zu können. Ein ähnliches Beurteilungsschema empfiehlt sich, um einen genaueren diagnostischen Wert des Auftretens von Veränderungen wie z.B. Fibrose oder Vermehrung von GALT zu erhalten. Derartige Schemata wurden bereits mehrfach entworfen, die Zuverlässigkeit, das zeigen die eigenen Ergebnisse, aber auch eine nicht geringe Anzahl von Mitteilungen in der Literatur, ist bislang nicht sehr hoch einzuschätzen.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die histopathologischen Befunde von Colonbiopsien von Hunden deren klinische Befunde gegenüber zu stellen, da im Rahmen der Routinediagnostik wiederholt eine nur geringe Übereinstimmung zwischen den klinisch-endoskopischen und pathomorphologischen Befunden aufgefallen war. Hierzu standen Biopsien von 230 Hunden zur Verfügung, die in den Jahren 1994 bis 2006 in der Tierklinik Nürnberg Hafen gewonnen worden waren. Als Kontrolle dienten Biopsien von 11 Hunden, die wegen extraintestinaler Krankheiten euthanasiert worden waren.

Als klinische Daten lagen Rasse, Alter und Geschlecht der Hunde sowie für einen Teil der Tiere (n = 153) auch die makroskopischen Befunde der Endoskopie vor. Bei der histopathologischen Auswertung wurden Art und Umfang der Entzündungszellen in der *Lamina propria* (Lymphozyten, Plasmazellen, eosinophile Granulozyten, neutrophile Granulozyten), Fibrose der *Lamina propria* und Veränderungen am Schleimhautepithel nach einem semiquantitativen Beurteilungsschema ermittelt.

Die wichtigsten histopathologischen Diagnosen waren lymphoplasmazelluläre Colitis, eosinophile Colitis und Colitis mit Beteiligung von neutrophilen Granulozyten; außerdem fanden sich gut- und bösartige Tumoren sowie mehrere Fälle von Protothekose.

Ergebnis der Auswertung war erneut eine geringe Übereinstimmung zwischen klinisch-endoskopischen Befunden und histopathologischen Diagnosen. Über die fehlende Korrelation zwischen klinischem und histopathologischem Schweregrad von chronischen Darmentzündungen beim Hund, trotz Anwendung von standardisierten klinischen und morphologischen Beurteilungsschemata, wurde wiederholt in der Literatur berichtet.

7. SUMMARY

Colon biopsies in the dog - Histopathological and clinical findings in a retrospective study

Routine diagnostics repeatedly showed only minor accordance between clinical-endoscopic and pathomorphological findings in dogs, exhibiting chronic intestinal disorders. The aim of this study was to compare clinical anamneses and histopathological diagnoses of colon biopsies from dogs with intestinal disorders. Biopsies from 230 dogs were available, which were taken at the Veterinary Hospital Nürnberg Hafen between 1994 and 2006. For comparison, biopsies of 11 dogs, which had been euthanized due to extraintestinal diseases, served as controls.

Available clinical data were breed, age and sex of the dogs, as well as macroscopic findings of endoscopy from 153 dogs. Type and extent of inflammatory cells in the lamina propria (lymphocytes, plasma cells, eosinophilic granulocytes, neutrophilic granulocytes) were evaluated, as well as edema and fibrosis of the lamina propria and alterations of the epithelial layer according to a semiquantitative scheme of evaluation.

The most frequent histopathological diagnoses were lymphoplasmacellular colitis, eosinophilic colitis and cases of protothecosis. Furthermore, some benign and malignant tumors were diagnosed.

In recent studies, a poor correlation between clinical and histopathological severity of chronic enteritis in dogs was reported repeatedly. The result of the present study confirms little accordance between endoscopic findings and histopathological diagnoses, despite implementation of standardized clinical as well as morphological evaluation schemes.

8. LITERATURVERZEICHNIS

- Allenspach, K., B. Wieland, A. Gröne, F. Gaschen (2007)
Chronic enteropathies in dogs: evaluation of risk factors for negative outcome.
J. Vet. Intern. Med. 21, 700-708
- Allenspach, K., A. House, K. Smith, F.M. McNeill, A. Hendricks, J. Elson-Riggins, A. Riddle, J.M. Steiner, D. Werling, O.A. Garden, B. Catchpole, J.S. Suchodolski (2010)
Evaluation of mucosal bacteria and histopathology, clinical disease activity and expression of Toll-like receptors in German shepherd dogs with chronic enteropathies.
Vet. Microbiol. 146, 326-335
- Atkins, A.M., G.C. Schofield
Lymphoglandular complexes in the large intestine of the dog.
J. Anat. 113, 169-178
- Bartsch, R.C., B. Irvine-Smith (1972)
Eosinophilic gastroenteritis: report of a case in a dog.
J. S.Afr. Vet. Med. Assoc. 43, 263-265
- Beribè, F., A. Miglio, M.P. Cassarani, G. Magi, F. Passamonti, F. Laus, M. Cerquetella, A. Spatema (2014)
What is your diagnosis? Systemic lymphadenopathy and blindness in a dog from Italy.
Vet. Clin. Pathol. 43, 605-606
- Blogg, J.R., J.E. Sykes (1995)
Sudden blindness associated with protothecosis in a dog.
Aust. Vet. J. 72, 147-149
- Bowe, P.S., H.J. van Kruiningen, S. Rosendal (1982)
Attempts to produce granulomatous colitis in Boxer dogs with a mycoplasma.
Can. J. Comp. Med. 46, 430-433
- Brandtzaeg, P., R. Pabst (2004)
Let's go mucosal: communication on slippery ground.
Trends Immunol. 25, 570-577
- Brellou, G.D., S. Kleinschmidt, F. Meneses, I. Nolte, M. Hewicker-Trautwein (2006)
Eosinophilic granulomatous gastroenterocolitis and hepatitis in a 1-year-old male Siberian Husky.
Vet. Pathol. 43, 1022-1025
- Burgener, I.A., A. König, K. Allenspach, S.N. Sauter, J. Boisclair, M.G. Doherr, T.W. Jungi (2008)
Upregulation of Toll-like receptors in chronic enteropathies in dogs.
J. Vet. Intern. Med. 22, 553-560
- Buyukmihci, N., L.F. Rubin, A. DePaoli (1975)
Protothecosis with ocular involvement in a dog.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 167, 158-161
- Carfora, V., G. Noris, A. Caprioli, M. Iurescia, F. Stravino, A. Franco (2017)
Evidence of a *Prototheca zopfii* genotype 2 disseminated infection in a dog with cutaneous lesions.
Mycopathologia 182, 603-608
- Carlton, W.W., L. Austin (1973)
Ocular protothecosis in a dog.
Vet. Pathol. 10, 274-280
- Carvalho, F.R., R. Kerlin, C. Fredette, H. Pisharath, C. DebRoy, S. Kariyawasam, I.D. Pardo (2015)

Histiocytic typhlocolitis in two colony Beagle dogs.
Exp. Toxicol. Pathol. 67, 219-221

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

Cassmann, E., R. White, T. Atherly, C. Wang, Y. Sun, S. Khoda, C. Mosher, M. Ackermann, A. Jergens (2016)
Alterations of the ileal and colonic mucosal microbiota in canine chronic enteropathies.
PLoS ONE 11(2): e0147321.doi:10.1371/journal.pone.0147321

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

Churcher, R.K., A. Watson (1997)
Canine histiocytic ulcerative colitis.
Aust. Vet. J. 75, 710-713

Cook, J.R., D.E. Tyler, D.B. Coulter, F.W. Chandler (1984)
Disseminated protothecosis causing acute blindness and deafness in a dog.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 184, 1266-1272

Cockrell, B.Y., J.D. Krehbiel (1972)
Ultrastructural changes in histiocytic ulcerative colitis in a boxer.
Am. J. Vet. Res. 33, 453-459

Collins, M.H., K. Capocelli, G.Y. Yang (2018)
Eosinophilic gastrointestinal disorders pathology.
Frontiers in Medicine, doi: 10.3389/fmed.2017.00261

Conner, J.R., R. Kirsch (2017)
The pathology and causes of tissue eosinophilia in the gastrointestinal tract.
Histopathology 71, 177-199

Craven, M., J.W. Simpson, A.E. Ridyard, M.L. Chandler (2004)
Canine inflammatory bowel disease: retrospective analysis of diagnosis and outcome in 80 cases (1995-2002).
J. Small Anim. Pract. 45, 336-342

Craven, M., C.S. Mansfield, K.W. Simpson (2011)
Granulomatous colitis of Boxer dogs.
Vet. Clin. Small Anim. 41, 433-445

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

Davies, D.R., A.J. O'Hara, P.J. Irwin, W.G. Guilford (2004)
Successful management of histiocytic ulcerative colitis with enrofloxacin in two Boxer dogs.
Austr. Vet. J. 82, 58-61

Day, M.J., T. Bilzer, J. Mansell, B. Wilcock, E.J. Hall, A. Jergens, T. Minami, M. Willard, R. Washabau (2008)
Histopathological standards for the diagnosis of gastrointestinal inflammation in endoscopic biopsy samples from the dog and cat: A report from the World Small Animal Veterinary Association gastrointestinal standardization group.

J. Comp. Pathol. 138, S1-S43

De Majo, M, M. Pugliese, S. Galia, G. Mazzullo, E. La Camera, M.T. Fera (2008)
Cytokine mRNA quantification in gastro-intestinal biopsies of dogs with idiopathic chronic enteropathies by real-time RT-PCR: preliminary results.
Vet. Res. Commun. 32, S275-S277

Easley, J.R. (1972)
Gastroenteritis and associated eosinophilia in a dog.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 161, 1030-1032

Eikmeier, H., D. Manz (1966)
Untersuchungen zur Eosinophilie des Hundes. III. Mitteilung: Vorkommen der Eosinophilie bei Verdauungsstörungen..
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 79, 329-331

Fonseca-Alves C.E., A.G. Corrêa, F. Elias (2012)
Eosinophilic gastroenteritis in basset hound dog.
Open J. Anim. Sci. 2, 110–112

Font, C., J. Mascort, M. Márquez, C. Esteban, D. Sánchez, N. Durall, M. Pumarola, A. Luján (2014)
Paraparesis as initial manifestation of a *Prototheca zopfii* infection in a dog.
J. Small Anim. Pract. 55, 283-286

Font, R.L., S.R. Hook (1984)
Metastatic protothecal retinitis in a dog. Electron microscopic observations.
Vet. Pathol. 21, 61-66

Fugiwara, S., H. Yasunaga, H. Nakayama, K. Doi, K. Masuda, K. Ohno, H. Tsujimoto (2002)
Quantitative analysis of cytokine messenger RNAs in the duodenal mucosa in dogs with small intestinal inflammatory bowel disease.
J. Vet. Intern. Med. 16, 327

García-Sanco, M, F. Rodríguez-Franco, A. Sainz, C. Mancho, A. Rodríguez (2007)
Evaluation of clinical, macroscopic, and histopathologic response to treatment in nonhypoproteinemic dogs with lymphocytic-plasmacytic enteritis.
J. Vet. Intern. Med. 21, 11-17

Gaunt, S.D., R.K. McGrath, H.U. Cox (1984)
Disseminated protothecosis in a dog.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 185, 906-907

German, A.J., E.J. Hall, D.F. Kelly, A.D.J. Watson, M.J. Day (2000)
An immunohistochemical study of histiocytic ulcerative colitis in Boxer dogs.
J. Comp. Pathol. 122, 163-175

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

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

German, A.J., D.J. Holden, E.J. Hall, M.J. Day (2002)
Eosinophilic diseases in two Cavalier King Charles spaniels.
J. Small Anim. Pract. 43, 533-538

- Ginel, P.J., J. Pérez J, J.M. Molleda, R. Lucena, E. Mozos (1997)
Cutaneous protothecosis in a dog.
Vet. Rec. 140, 651-653
- Gluhm, F. (1968)
Eosinophilic enteritis.
The Speculum (Ohio State Veterinary College) 21, 11-12
- Gomez, J.A., S.T. Russell, J.O. Trowbridge, J. Lee (1977)
Canine histiocytic ulcerative colitis. An ultrastructural study of the early mucosal lesion.
Am. J. Dig. Dis. 22, 485-496
- Gunawardana. S.C., A.E. Jergens, F.A. Ahrens, Y. Niyo (1997)
Colonic nitrite and immunoglobulin G concentrations in dogs with inflammatory bowel disease.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 211, 318-321
- Gupta, A., S. Gumber, R.W. Bauer, A.B. Royal (2011)
What is your diagnosis? Cerebrospinal fluid from a dog.
Vet. Clin. Pathol. 40, 105-106
- Haas, E., B.C. Rütgen, W. Gerner, B. Richter, A. Tichy, A. Galler, A. Bilek, J.G. Thalhammer, A. Saalmüller, N. Luckschander-Zeller (2014)
Phenotypic characterization of canine intestinal intraepithelial lymphocytes in dogs with inflammatory bowel disease.
J. Vet. Intern. Med. 28, 1708-1715
- Hall, C.L. (1967)
Three clinical cases of eosinophilic enteritis.
Southwestern Veterinarian 21, 41-42
- Hall, E.J., H.C. Rutgerst, S.F.E. Scholes, D.J. Middleton, B.J. Tennant, N.M. King, D.F. Kelly (1994)
Histiocytic ulcerative colitis in Boxer dogs in the UK
J. Small Anim. Pract. 35, 509-515
- Hall, E.J., A.J. German (2008)
Inflammatory bowel disease.
In: Steiner, J.M. (ed.) Small Animal Gastroenterology.
Schlütersche Verlagsgesellschaft, Hannover, Germany, pp. 312–329
- Hanifeh, M., M.M. Rajamäki, P. Syrjä, L. Mäkitalo, S. Kilpinen, T. Spillmann (2018)
Identification of matrix metalloproteinase-2 and -9 activities within the intestinal mucosa of dogs with chronic enteropathies.
Acta Vet. Scand. 2018 60:16 <https://doi.org/10.1186/s13028-018-0371-y>
- Hayden, D.W., H.J. van Kruiningen (1973)
Eosinophilic gastroenteritis in German Shepherd dogs and its relationship to visceral larva migrans.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 162, 379-384
- Hayden, D.W., H.J. van Kruiningen (1982)
Lymphocytic-plasmacytic enteritis in German shepherd dogs.
J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 18, 89-96
- Head, K.W., J.M. Cullen, R.R. Dubielzig, R.W. Else, W. Misdorp, A.K. Patnaik, S. Tateyama, I. van der Gaag (2003)
Histological classification of tumors of the alimentary system of domestic animals. (Second series)
World Health Organization - International histological classification of tumors of domestic animals
- Hebel, V. R. (1960)
Untersuchungen über das Vorkommen von lymphatischen Darmkrypten in der Tunica submucosa des

Darmes von Schwein, Rind, Schaf, Hund und Katze.
Anat. Anz. 109, 7-27

Heilmann, R.M., J.S. Suchodolski (2015)
Is inflammatory bowel disease in dogs and cats associated with a Th1 or Th2 polarization?
Vet. Immunol. Immunopathol. 168, 131-134

Hill, F.W.G., D.F. Kelly (1974)
Naturally occurring intestinal malabsorption in the dog.
Am. J. Dig. Dis. 19, 649-665

Hill, F.W.G., N.D. Sullivan (1978)
Histiocytic ulcerative colitis in a Boxer dog.
Austr. Vet. J. 54, 447-449

Hirose N., Z. Hua, Y. Kato, Q. Zhang, R. Li, K. Nishimura, M. Masuda (2018)
Molecular characterization of *Prototheca* strains isolated in China revealed the first cases of protothecosis associated with *Prototheca zopfii* genotype 1.
Med. Mycol. 56, 279-287

Hollingsworth, S.R. (2000)
Canine protothecosis.
Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract. 30, 1091-1101

Holscher, M.A., W.J. Shasteen, H.S. Powell, N.R. Burka (1976)
Disseminated canine protothecosis: a case report.
J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 12, 49-52

Hosaka S., M. Hosaka (2004)
A case report of canine protothecosis.
J. Vet. Med. Sci. 66, 593-597

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

Imes, G.D., J.C. Lloyd, M.P. Brightman (1977)
Disseminated prothothecosis in a dog.
Onderstepoort J. Vet. Res. 44, 1-6

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

Jergens, A.E., F.M. Moore, J.S. Haynes, K.G. Miles (1992)
Idiopathic inflammatory bowel disease in dogs and cats: 84 cases (1987-1990).
J. Am. Vet. Med. Assoc. 201, 1603-1608

Jergens, A.L., F.M. Moore, M.S. Kaiser, J.S. Haynes, J.M. Kinyon (1996)
Morphometric evaluation of immunoglobulin A-containing and immunoglobulin G-containing cells and T cells in duodenal mucosa from healthy dogs and from dogs with inflammatory bowel disease or nonspecific gastroenteritis.
Am. J. Vet. Res. 57, 697-704

Jergens, A.E., Y. Gamet, F.M. Moore, Y. Niyo, C. Tsao, B. Smith (1999)
Colonic lymphocyte and plasma cell populations in dogs with lymphocytic-plasmacytic colitis.
Am. J. Vet. Res. 60, 515-520

- Jergens, A.E., I.M. Sonea, L. Kauffman, R.B. Evans, M.J. Wannemuehler (2003)
Cytokine mRNA expression in intestinal biopsies of dogs with inflammatory bowel disease.
J. Vet. Intern. Med. 17, 413
- Jergens, A.E., C.A. Schreiner, D.E. Frank, Y. Niyo, F.E. Ahrens, P.D. Echersall, T.J. Benson, R. Evans (2003)
A scoring index for disease activity in canine inflammatory bowel disease.
J. Vet. Intern. Med. 17, 291-297
- Jergens, A. E., I.M. Sonea, A.M. O'Connor, L.K. Kauffman, S.D. Grozdanic, M.R. Ackermann, R.B. Evans (2009)
Intestinal cytokine mRNA expression in canine inflammatory bowel disease: a meta-analysis with critical appraisal.
Comp. Med. 59, 153-162
- Jergens, A., J. Young, D. Moore, C. Wang, J. Hostetter, L. Augustine, K. Allenspach, S. Schmitz, C. Mosher (2014)
Bcl-2/caspase 3 mucosal imbalance favors T cell resistance to apoptosis in dogs with inflammatory bowel disease.
Vet. Immunol. Immunopathol. 158, 167-174
- Johnson, S.E. (1992)
Canine eosinophilic gastroenterocolitis.
Sem. Vet. Med. Surg. 7, 145-152
- Junginger, J., U. Schwittlick, F. Lemensieck, I. Nolte, M. Hewicker-Trautwein (2012)
Immunohistochemical investigation of Foxp3 expression in the intestine in healthy and diseased dogs.
Vet. Res. (2012) 43: 23. <https://doi.org/10.1186/1297-9716-43-23>
- Junginger, J., F. Lemensieck, P.F. Moore, U. Schwittlick, I. Nolte, M. Hewicker-Trautwein (2014)
Canine gut dendritic cells in the steady state and in inflammatory bowel disease.
Innate Immun. 20, 145-160
- Kalenyak, K., A. Isaiah, R.M. Heilmann, J.S. Suchodolski, I.A. Burgener (2018)
Comparison of the intestinal mucosal microbiota in dogs diagnosed with idiopathic inflammatory bowel disease and dogs with food-responsive diarrhea before and after treatment.
FEMS Microbiol. Ecol. doi 10.1093/femsec/fix173
- Kathrani, A., A. House, B. Catchpole, A. Murphy, A. German, D. Werling, K. Allenspach (2010)
Polymorphisms in the Tlr4 and Tlr5 gene are significantly associated with inflammatory bowel disease in German shepherd dogs.
PLoS ONE 5(12): e15740. doi:10.1371/journal.pone.0015740
- Kathrani, A., A. House, B. Catchpole, A. Murphy, D. Werling, K. Allenspach (2011 A)
Breed-independent toll-like receptor 5 polymorphisms show association with canine inflammatory bowel disease.
Tissue Antigens 78, 94-101
- Kathrani, A., S. Schmitz, S.L. Priestnall, K.C. Smith, D. Werling, O.A. Garden, K. Allenspach (2011 B)
CD11c⁺ cells are significantly decreased in the duodenum, ileum and colon of dogs with inflammatory bowel disease.
J. Comp. Pathol. 145, 359-366
- Kathrani, A, A. Holder, B. Catchpole, L. Alvarez, K. Simpson, D. Werling, K. Allenspach (2012)
TLR5 risk-associated haplotype for canine inflammatory bowel disease confers hyper-responsiveness to flagellin.
PLoS ONE 7(1): e30117. doi:10.1371/journal.pone.0030117

- Kennedy, P.C., R.M. Cello (1966)
Colitis in Boxer dogs.
Gastroenterology 51, 926-931
- Kleinschmidt, S., F. Meneses, I. Nolte, M. Hewicker-Trautwein (2006)
Retrospective study on the diagnostic value of full-thickness biopsies from the stomach and intestines of dogs with chronic gastrointestinal disease symptoms.
Vet. Pathol. 43, 1000-1003
- Kleinschmidt, S., F. Meneses, I. Nolte, M. Hewicker-Trautwein (2007)
Characterization of mast cell numbers and subtypes in biopsies from the gastrointestinal tract of dogs with lymphocytic-plasmacytic or eosinophilic gastroenterocolitis.
Vet. Immunol. Immunopathol. 120, 80-92
- Kleinschmidt, S., F. Meneses, I. Nolte, M. Hewicker-Trautwein (2008)
Distribution of mast cell subtypes and immune cell populations in canine intestines: Evidence for age-related decline in T cells and macrophages and increase of IgA-positive plasma cells.
Res. Vet. Sci. 84, 41-48
- Kobayashi, S., K. Ohno, K. Uetsuka, K. Nakashima, A. Setoguchi, Y. Fujino, H. Tsujimoto (2007)
Measurement of intestinal mucosal permeability in dogs with lymphocytic-plasmacytic enteritis.
J. Vet. Med. Sci. 69, 745-749
- Koch, S.A., J.F. Skelley (1967)
Colitis in a dog resembling Whipple's disease in man.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 150, 22-26
- Kolbjørnsen, Ø., C.McL. Press, P.F. Moore, T. Landsverk (1994)
Lymphoid follicles in the gastric mucosa of dogs. Distribution and lymphocyte phenotypes.
Vet. Immunol. Immunopathol. 40, 299-312
- Kolodziejska-Sawerska A, A. Rychlik, A. Depta, M. Wdowiak, M. Nowicki, M. Kander (2013)
Cytokines in canine inflammatory bowel disease.
Pol. J. Vet. Sci. 16, 165-71
- Lane, L.V., J.H. Meinkoth, J. Brunker, S.K. Smith II, T.A. Snider, J. Thomas, D. Bradway, B.C. Love (2012)
Disseminated protothecosis diagnosed by evaluation of CSF in a dog.
Vet. Clin. Pathol. 41, 147-152
- Legendre, A.M., J.D. Krehbiel (1973)
Eosinophilic enteritis in a Chesapeake Bay retriever.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 163, 258-259
- Leib, M.S. (2000)
Chronic colitis in dogs.
In: Bonagura, J.D. (ed.) Kirk's Current Veterinary Therapy XIII. Small Animal Practice
Saunders Company, Philadelphia, USA, pp 643-648
- Liebler, E.M., J.F. Pohlenz, G.N. Woode
Gut-associated lymphoid tissue in the large intestine of calves. I. Distribution and histology.
Vet. Pathol. 25, 503-508
- Lilliehöök, I., L. Gunnarsson, G. Zakrisson, H. Tvedten (2000)
Diseases associated with pronounced eosinophilia: a study of 105 dogs in Sweden.
J. Small Anim. Pract. 41, 248-253
- Lindberg, R., T. Segall (1977)
Histiocytic ulcerative colitis in a Boxer. A case report.

Nord. Vet. Med. 29, 552-555

Locher, C., Tipold, A., Welle, M., Busato, A., Zurbriggen, A., Griot-Wenk, M.E. (2001)
Quantitative assessment of mast cells and expression of IgE protein and mRNA for IgE and interleukin 4 in the gastrointestinal tract of healthy dogs and dogs with inflammatory bowel disease.
Am. J. Vet. Res. 62, 211-216

Luckschander, N., K. Allenspach, J. Hall, F. Seibold, A. Gröne, M.G. Doherr, F. Gaschen (2006)
Perinuclear antineutrophilic cytoplasmic antibody and response to treatment in diarrheic dogs with food responsive disease or inflammatory bowel disease.
J. Vet. Intern. Med. 20, 221-227

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

Macartney, L., A.N. Rycroft, J. Hammil (1988)
Cutaneous protothecosis in the dog: First confirmed case in Britain.
Vet. Rec. 123, 494-496

Maeda, S., K. Ohno, K. Nakamura, K. Uchida, K. Nakashima, K. Fukushima, A. Tsukamoto, Y. Goto-Koshino, Y. Fujino, H. Tsujimoto (2011)
Quantification of chemokine and chemokine receptor gene expression in duodenal mucosa of dogs with inflammatory bowel disease.
Vet. Immunol. Immunopathol. 144, 290-298

Maeda, S., K. Ohno, K. Nakamura, K. Uchida, K. Nakashima, K. Fukushima, M. Nakajima, Y. Goto-Koshino, Y. Fujino (2012 A)
Increased expression of fractalkine and its receptor CX₃CR1 in canine inflammatory bowel disease and their possible role in recruitment of intraepithelial lymphocytes.
Vet. Immunol. Immunopathol. 148, 226-235

Maeda, S., K. Ohno, K. Nakamura, K. Uchida, K. Nakashima, K. Fukushima, A. Tsukamoto, Y. Goto-Koshino, Y. Fujino, H. Tsujimoto (2012 B)
Mucosal imbalance of interleukin-1 β and interleukin-1 receptor antagonist in canine inflammatory bowel disease.
Vet. J. 194, 66-70

Magne, M.L. (1989)
Canine lymphocytic-plasmacytic enteritis.
in: Kirk, R.W. (ed.) Current Veterinary Therapies X, Small Animal Practice,
W.B. Saunders Comp., Philadelphia, pp 922-926

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

Manino, P.M., F. Oliveira, M. Ficken, A. Swinford, D. Burney (2014)
Disseminated protothecosis associated with diskospondylitis in a dog.
J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 50, 429-435

Mansfield, C.S., F.E. James, M. Craven, D.R. Davies, A.J. O'Hara, P.K. Nicholls, B. Dogan, S.P. MacDonough, K.W. Simpson (2009)
Remission of histiocytic ulcerative colitis in Boxer dogs correlates with eradication of invasive intramucosal *Escherichia coli*.
J. Vet. Intern. Med. 23; 964-969

- Márquez, M., S. Ródenas, J. Molin, J., R.M. Rabanal, D. Fondevila, S. Añor, M. Pumarola (2012)
Protothecal pyogranulomatous meningoencephalitis in a dog without evidence of disseminated infection.
Vet. Rec. doi: 10.1136/vr.100661
- Mayoral, I., L. Peña, F. Rodriguez-Franco, A. Sainz, M.A. Tesouro, E. Ynaraja (1996)
Immunohistological study of IgA, IgG and IgM in endoscopic biopsies of dogs with plasmacytic-lymphocytic colitis.
J. Vet. Med. B 43, 613-620
- McCann, T.M., A.E. Ridyard, R.W. Else, J.W. Simpson (2007)
Evaluation of disease activity markers in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease.
J. Small Anim. Pract. 48, 620-625
- McMahon, L.A., A.K. House, B. Catchpole, J. Elson-Riggins, A. Riddle, K. Smith, D. Werling, I.A. Burgener, K. Allenspach (2010)
Expression of Toll-like receptor 2 in duodenal biopsies from dogs with inflammatory bowel disease is associated with severity of disease.
Vet. Immunol. Immunopathol. 135, 158-163
- McTavish, S. (2002)
Eosinophilic gastroenteritis in a dog.
Can. Vet. J. 43, 463-465
- Meredith, R.E., R.M. Gwin, D.A. Samuelson, K.N. Gelatt, C.D. Buergett (1984)
Systemic protothecosis with ocular manifestations in a dog.
J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 20, 153-156
- Migaki, G., R.L. Font, R.M. Sauer, W. Kaplan (1982)
Canine protothecosis: Review of the literature and report of an additional case.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 181, 794-797
- Minamoto, Y., C.C. Otoni, S.M. Steelman, O. Büyükleblebici, J.M. Steiner, A.E. Jergens, J.S. Suchodolski (2015)
Alteration of the fecal microbiota and serum metabolite profiles in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease.
Gut Microbes 6, 33-47
- Moore, F.M., G.M. Schmidt, D. Desai, F.W. Chandler (1985)
Unsuccessful treatment of disseminated protothecosis in a dog.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 186, 705-708
- Mosmann, T., H. Cherwinski, M.W. Bond, M.A. Giedlin, R.L. Coffman (1986)
Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins.
J. Immunol. 136, 2348-2357
- Nolte, A., J. Junginger, B. Baum, M. Hewicker-Trautwein (2017)
Heterogeneity of macrophages in canine histiocytic ulcerative colitis.
Innat. Immun. 23, 228-239
- O'Brien, S. (1989)
Eosinophilic enteritis in an Irish Setter dog.
Can. Vet. J. 30, 972
- Ogawa, M., H. Osada, A. Hasegawa, H. Ohno, N. Yanuma, K. Sasaki, M. Shimoda, J. Shirai, H. Kondo, K. Ohmori K. (2018)
Effect of interleukin-1 β on occludin mRNA expression in the duodenal and colonic mucosa of dogs with inflammatory bowel disease.

J. Vet. Intern. Med. 32, 1019-1025

Ohmura, S., M. Leipig, I. Schöpfer, F. Hergt, K. Weber, B.C. Rütgen, H. Tsujimoto, W. Hermanns, J. Hirschberger (2017)
Detection of monoclonality in intestinal lymphoma with polymerase chain reaction for antigen receptor gene rearrangement analysis to differentiate from enteritis in dogs.
Vet. Comp. Oncol. 15, 194-207

Ohta, H., K. Takada, Y. Sunden, Y. Tamura, T. Osuga, S.Y. Lim, M. Murakami, N. Sasaki, B.K. Wickramasekara Rajapakshage, K. Nakamura, M. Yamasaki, M. Takiguchi (2014)
CD4⁺ T cell cytokine gene and protein expression in duodenal mucosa of dogs with inflammatory bowel disease.
J. Vet. Med. Sci. 76, 409-414

Okanishi, H., K. Hayashi, Y. Sakamoto, T. Sano, H. Maruyama, Y. Kagawa, T. Watari (2013)
NOD2 mRNA expression and NFκB activation in dogs with lymphocytic plasmacytic colitis.
J. Vet. Intern. Med. 27, 439-444

Olivero, D., M.E. Turba, F. Gentilini (2011)
Reduced diversity of immunoglobulin and T-cell receptor gene rearrangements in chronic inflammatory gastrointestinal diseases in dogs.
Vet. Immunol. Immunopathol. 144, 337-345

Ozaki, K., T. Yamagami, K. Nomura, I. Narama (2002)
Mast cell tumors of the gastrointestinal tract in 39 dogs.
Vet. Pathol. 39, 557-564

Ozaki, K., T. Yamagami, K. Nomura, I. Narama (2006)
T-cell lymphoma with eosinophilic infiltration involving the intestinal tract in 11 dogs.
Vet. Pathol. 43, 339-344

Pérez, J., P.J. Ginel, R. Lucena, J. Hervás, E. Mozos (1997)
Canine cutaneous protothecosis: an immunohistochemical analysis of the inflammatory cellular infiltrate.
J. Comp. Pathol. 117, 83-89

Peters, I.R., C.R. Helps, E.L. Calvert, E.J. Hall, M.J. Day (2005)
Cytokine mRNA quantification in duodenal mucosa from dogs with chronic enteropathies by real-time reverse transcriptase polymerase chain reaction.
J. Vet. Intern. Med. 19, 644-653

Povey, R.C., P.K.C. Austwick, H. Pearson, K.C. Smith (1969)
A case of protothecosis in a dog.
Pathol. Vet. 6, 396-402

Pressler, B.M., J.L. Gookin, J.E. Sykes, A.M. Wolf, S.L. Vaden (2005)
Urinary tract manifestations of protothecosis in dogs.
J. Vet. Intern. Med. 19, 115-119

Procoli, F., P.F. Mötsküla, S.V. Keyte, S. Priestnall, K. Allenspach (2013)
Comparison of histopathologic findings in duodenal and ileal endoscopic biopsies in dogs with chronic small intestinal enteropathies.
J. Vet. Intern. Med. 27, 268-274

Quigley, P.J., K. Henry (1981)
Eosinophilic enteritis in the dog: a case report with a brief review of the literature.
J. Comp. Pathol. 91, 387-392

Rakich, P.M., K.S. Latimer (1984)

Altered immune function in a dog with disseminated protothecosis.

J. Am. Vet. Med. Assoc. 185, 681-683

Rallis, T.S., D. Tontis, K.K. Adamama-Moraitou, M.E. Mylonakis, L.G. Papazoglou (2002)

Protothecal colitis in a German shepherd dog.

Aust. Vet. J. 80, 406-408

Ribeiro, M.G., M. Rodrigues de Farias, U. Roesler, K. Roth, S.M. Rodigheri, M.A. Ostrowsky, T.

Salerno, A.K. Siqueira, M.C. Fernandes (2009)

Phenotypic and genotypic characterization of *Prototheca zopfii* in a dog with enteric signs.

Res. Vet. Sci. 87, 479-481

Ridyard, A. E., T.J. Nuttall, R.W. Else, J.W. Simpson, H.R.P. Miller (2002)

Evaluation of Th1, Th2 and immunosuppressive cytokine mRNA expression within the colonic mucosa of dogs with idiopathic lymphocytic-plasmacytic colitis.

Vet. Immunol. Immunopathol. 86, 205-214

Ridyard, A.E., J.K. Brown, S.M. Rhind, R.W. Else, H.R.P. Miller (2007)

Apical junction complex protein expression in the canine colon: differential expression of claudin-2 in the colonic mucosa in dogs with idiopathic colitis.

J. Histochem. Cytochem. 55, 1049-1058

Rizzi, T.E., R.L. Cowell, J.H. Meinkoth, M.A. Gilmour (2006)

More than meets the eye: subretinal aspirate from an acutely blind dog.

Vet. Clin. Pathol. 35, 111-113

Rodriguez, A., F. Rodriguez, L. Peña, J.M. Flores, M. Gonzalez, M. Castano (1995)

Eosinophilic gastroenteritis syndrome in a dog.

Vet. Quart. 17, 34-36

Rossi, G., G. Pengo, M. Caldin, A. Palumbo Piccionello, J.M. Steiner, N.D. Cohen, A.E. Jergens, J.S. Suchodolski (2014)

Comparison of microbiological, histological, and immunomodulatory parameters in response to treatment with either combination therapy with prednisone and metronidazole or probiotic VSL#3 strains in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease.

PLoS ONE 9(4): e94699. doi:10.1371/journal.pone.0094699

Rossi, G., M. Cerquetella, E. Antonelli, G. Pengo, G.E. Magi, V. Villanacci, M. Rostami-Nejad, A. Spaterna, G. Bassotti (2015)

The importance of histologic parameters of lacteal involvement in cases of canine lymphoplasmacytic enteritis.

Gastroenterol. Hepatol. Bed Bench 8, 33-41

Roth, L. A.M. Walton, M.S. Leib, C.F. Burrows (1990)

A grading system for lymphocytic plasmacytic colitis in dogs.

J. Vet. Diagn. Invest. 2, 257-262

Russell, S.W., J.A. Gomez, J.O. Trowbridge (1971)

Canine histiocytic ulcerative colitis. The early lesion and its progression to ulceration.

Lab. Invest. 25, 509-515

Salvadori, C., G. Gandini, A. Ballarini, C. Cantile (2008)

Protothecal granulomatous meningoencephalitis in a dog.

J. Small Anim. Pract. 49, 531-535

Sander, C.H., R.F. Langham (1968)

Canine histiocytic ulcerative colitis. A condition resembling Whipple's disease, colonic histiocytosis, and malakoplakia in man.

Arch. Pathol. 85, 94-100

- Sapierzyński, R., O. Jaworska (2008)
Protothecosis as a cause of chronic diarrhoea in a dog.
Pol. J. Vet. Sci. 11, 225-229
- Sattasathuchana, P., J.M. Steiner (2014)
Canine eosinophilic gastrointestinal disorders.
Anim. Health Res. Rev. 15, 76-86
- Schmitz, S., O.A. Garden, D. Werling, K. Allenspach (2012)
Gene expression of selected signature cytokines of T cell subsets in duodenal tissues of dogs with and without inflammatory bowel disease.
Vet. Immunol. Immunopathol. 146, 87-91
- Schmitz, S., S. Hill, D. Werling, K. Allenspach (2013)
Expression of trefoil factor genes in the duodenum and colon of dogs with inflammatory bowel disease and healthy dogs.
Vet. Immunol. Immunopathol. 151, 168-172
- Schreiner, N.M.S., F. Gaschen, A. Gröne, S.N. Sauter, K. Allenspach (2008)
Clinical signs, histology, and CD3-positive cells before and after treatment of dogs with chronic enteropathies.
J. Vet. Intern. Med. 22, 1079-1083
- Schultze, A.E., R.D. Ring, R.V. Morgan, C.S. Patton (1998)
Clinical, cytologic and histopathologic manifestations of protothecosis in two dogs.
Vet. Ophthalmol. 1, 239-243
- Shank, A.M.M., R.D. Dubielzig, L.B. C. Teixeira (2015)
Canine ocular protothecosis: A review of 14 cases.
Vet. Ophthalmol. 18, 437-442
- Silveira, C.S., D. Cesar, M.K. Keating, M. DeLeon-Carnes, A.G. Armién, M. Luhers, F. Riet-Correa, F. Giannitti (2018)
A case of *Prototheca zopfii* genotype 1 infection in a dog (*Canis lupus familiaris*).
Mycopathologia doi: 10.1007/s11046-018-0274-5
- Simpson, K.W., B. Dogan, M. Rishniw, R.E. Goldstein, S. Klaessig, P.L. McDonough, A.J. German, R.M. Yates, D.G. Russell, S.E. Johnson, D.E. Berg, J. Harel, G. Bruant, S.P. McDonough, Y.H. Schukken (2006)
Adherent and invasive *Escherichia coli* is associated with granulomatous colitis in Boxer dogs.
Infect. Immun. 74, 4778-4792
- Souza, L.N., A. Estrela-Lima, E.L.T. Moreira, L.G.R. Ribeiro, M.N. Xavier, T.M.A. Silva, E.A. Costa, R.L. Santos (2009)
Systemic canine protothecosis.
Braz. J. Vet. Pathol. 2, 102-106
- Spinato, M.T., I.K. Barker, D.M. Houston (1990)
A morphometric study of the canine colon: comparison of control dogs and cases of colonic disease.
Can. J. Vet. Res. 54, 477-486
- Stenner, V.J., B. Mackay, T. King, V.R.D. Barrs, P. Irwin, L. Abraham, N. Swift, N. Langer, M. Bernays, E. Hampson, P. Martin, M.B. Krockenberger, K. Bosward, M. Latter, R. Malik (2007)
Protothecosis in 17 Australian dogs and a review of the canine literature.
Med. Mycol. 45, 249-266
- Stokes, J.E., J.M. Kruger, T. Mullaney, K. Holan, W. Schall (2001)
Histiocytic ulcerative colitis in three non-boxer dogs.
J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 37, 461-465

- Stonehewer, J., J.W. Simpson, R.W. Else, N. Macintyre (1998)
Evaluation of B and T lymphocytes and plasma cells in colonic mucosa from healthy dogs and from dogs with inflammatory bowel disease.
Res. Vet. Sci. 65, 59-63
- Strande, A., S.C. Sommers, M. Petrak (1954)
Regional enterocolitis in Cocker Spaniel dogs.
AMA Arch. Pathol. 57, 357-362
- Suchodolski, J.S., P.G. Xenoulis, C.G. Paddock, J.M. Steiner, A.E. Jergens (2010)
Molecular analysis of the bacterial microbiota in duodenal biopsies from dogs with idiopathic inflammatory bowel disease.
Vet. Microbiol. 142, 394-400
- Suchodolski, J.S., S.E. Dowd, V. Wilke, J.M. Steiner, A.E. Jergens (2012 A)
16S rRNA gene pyrosequencing reveals bacterial dysbiosis in the duodenum of dogs with idiopathic inflammatory bowel disease.
PLoS ONE 7(6): e39333. doi:10.1371/journal.pone.0039333
- Suchodolski, J.S., M.E. Markel, J.F. Garcia-Mazcorro, S. Unterer, R.M. Heilmann, S.E. Dowd, P. Kachroo, I. Ivanov, Y. Minamoto, E.M. Dillman, J.M. Steiner, A.K. Cook, L. Toresson (2012 B)
The fecal microbiome in dogs with acute diarrhea and idiopathic inflammatory bowel disease.
PLoS ONE 7(12): e51907. doi:10.1371/journal.pone.0051907
- Sudman, M.S., J.A. Majka, W. Kaplan (1973)
Primary mucocutaneous protothecosis in a dog.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 163, 1372-1374
- Tanaka, H., M. Nakayama, K. Takase (2003)
Histiocytic ulcerative colitis in a French bulldog.
J. Vet. Med. 65, 431-433
- Taugner, F., I. Allgoewer, J. Ehrlein, E. Schäffer (1998)
Disseminierte Protothecose bei einem Riesenschnauzer.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 111, 402
- Thomas, J.B., N. Preston (1990)
Generalised protothecosis in a Collie dog.
Austr. Vet. J. 67, 25-27
- Tsuji, H., R. Kano, A. Hirai, M. Murakami, T. Yanai, Y. Namihira, J. Chiba, A. Hasegawa (2006)
An isolate of *Prototheca wickerhamii* from systemic canine protothecosis.
Vet. Microbiol. 118, 305-311
- Tyler, D.E., M.D. Lorenz, J.L. Blue, J.F. Munnell, F.W. Chandler (1980)
Disseminated protothecosis with central nervous system involvement in a dog.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 176, 987-993
- Valli, V.E., R.M. Jacobs, A.L. Parodi, W. Vernau, P.F. Moore (2002)
Histological classification of hematopoietic tumors of domestic animals. (Second series)
World Health Organization - International histological classification of tumors of domestic animals
- Van der Gaag, I., J. van Toorenburg, G. Voorhout, R.P. Happe, R.H.G. Aalfs (1978)
Histiocytic ulcerative colitis in a French Bulldog.
J. Small Anim. Pract. 19, 283-290
- Van der Gaag, I., R.P. Happé, W.Th.C. Wolvekamp (1983)
Eosinophilic gastroenteritis complicated by partial ruptures and a perforation of the small intestine in a dog.

J. Small Anim. Pract. 24, 575-581

Van der Gaag, I., J.S. van der Linde-Sipman (1987)
Eosinophilic granulomatous colitis with ulceration in a dog.
J. Comp. Pathol. 97, 179-185

Van der Gaag, I. (1988)
The histological appearance of large intestinal biopsies in dogs with clinical signs of large bowel disease.
Can. J. Vet. Res. 52, 75-82

Van der Gaag, I., R.P. Happé (1989)
Follow-up studies by large intestinal biopsies and necropsy in dogs with clinical signs of large bowel disease.
Can. J. Vet. Res. 53, 473-476

Van der Gaag, I., J.S. van der Linde-Sipman, F.J. van Sluys, W.Th.C. Wolvekamp (1990)
Regional eosinophilic coloproctitis, typhlitis and ileitis in a dog.
Vet. Quart. 12, 1-6

Van der Heyden, S, G. Vercauteren, S. Daminet, D. Paepe, K. Chiers, I. Polis, T. Waelbers, M. Hesta, S. Schauvliege, B. Wegge, R. Ducatelle (2011)
Expression of P-glycoprotein in the intestinal epithelium of dogs with lymphoplasmacytic enteritis.
J. Comp. Pathol. 145, 199-206

Van Kruiningen, H.J., R.J. Montali, J.D. Strandberg, R.W. Kirk (1965)
A granulomatous colitis of dogs with histologic resemblance to Whipple's disease.
Pathol. Vet. 2, 521-544

Van Kruiningen, H.J. (1967)
Granulomatous colitis of boxer dogs - comparative aspects.
Gastroenterology 53, 114-122

Van Kruiningen, H.J., F.M. Garner, B. Schiefer (1969)
Protothecosis in a dog.
Pathol. Vet. 6, 348-354

van Kruiningen, H.J. (1970)
Protothecal enterocolitis in a dog.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 157, 56-63

Van Kruiningen, H.J. (1975)
The ultrastructure of macrophages in granulomatous colitis of Boxer dogs.
Vet. Pathol. 12, 446-459

Van Kruiningen, H.J., I.C. Civco, R.W. Cartun (2005)
The comparative importance of *E. coli* antigen in granulomatous colitis of Boxer dogs.
APMIS 113, 420-425

Vázquez-Baeza, Y., E.R. Hyde, J.S. Suchodolski, R. Knight (2016)
Dog and human inflammatory bowel disease rely on overlapping yet distinct dysbiosis networks.
Nat. Microbiol. 2016;1:16177. doi.org/10.1038/nmicrobiol.2016.177

Vibe-Petersen, G. (1991)
Canine lymphocytic plasmacytic enteritis: an immunopathological investigation of intestinal plasma cells.
Acta Vet. Scand. 32, 221-232

Vince, A.R., C. Pinard, A.T. Ogilvie, E.O. Tan, A.C.G. Abrams-Ogg (2014)

- Protothecosis in a dog.
Can. Vet. J. 55, 950-954
- Washabau, R.J., M.J. Day, M.D. Willard, E.J. Hall, A.E. Jergens, J. Mansell, T. Minami, T.W. Bilzer (2010)
Endoscopic, biopsy, and histopathologic guidelines for the evaluation of gastrointestinal inflammation in companion animals.
J. Vet. Intern. Med. 24, 10-26
- Wennogle, S.A., S.L. Priestnall, C.B. Webb (2017)
Histopathologic characteristics of intestinal biopsy samples from dogs with chronic inflammatory enteropathy with and without hypoalbuminemia.
J. Vet. Intern. Med. 31, 371-376
- Wilcock, B. (1992)
Endoscopic biopsy interpretation in canine or feline enterocolitis.
Sem. Vet. Med. Surg. (Small Anim.) 7, 162-171
- Willard, M., J. Mansell (2011)
Correlating clinical activity and histopathologic assessment of gastrointestinal lesion severity: Current challenges.
Vet. Clin. Small Anim. 41, 457-463
- Wilke, V.L., D. Nettleton, M.J. Wymore, J.M. Gallup, C.Y. Demirkale, M.R. Ackermann, C.K. Tuggle, A.E. Ramer-Tait, M.J. Wannemuehler, A.E. Jergens (2012)
Gene expression in intestinal mucosal biopsy specimens obtained from dogs with chronic enteropathy.
Am. J. Vet. Res. 73, 1219-1229
- Young, M., W. Bush, M. Sanchez, P. Gavin, M. Williams (2012)
Serial MRI and CSF analysis in a dog treated with intrathecal amphotericin B for protothecosis.
J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 48, 125-131
- Xenoulis, P.G., B. Palculict, K. Allenspach, J.M. Steiner, A.M. Van House, J.S. Suchodolski (2008)
Molecular-phylogenetic characterization of microbial communities imbalances in the small intestine of dogs with inflammatory bowel disease.
FEMS Microbiol. Ecol. 66, 579-589
- Xu, J., A. Verbrugghe, M. Lourenço, G.P. Janssens, D.J.X. Liu, T. Van de Wiele, V. Eeckhaut, F. Van Immerseel, I. Van de Maele, Y. Niu, G. Bosch, G. Junius, B. Wuyts, M. Hesta (2016)
Does canine inflammatory bowel disease influence gut microbial profile and host metabolism?
BMC Vet. Res. 12:114. doi 10.1186/s12917-016-0736-2

9. Danksagung

Gern nutze ich an dieser Stelle die Möglichkeit, mich bei Allen, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, ganz herzlich zu bedanken.

An allererster Stelle möchte ich Dr. Franz Gutbrod (+) ausdrücklich erwähnen. Ohne ihn wäre ich vermutlich niemals Tierarzt geworden und somit wäre auch die vorliegende Arbeit nie entstanden. Dr. Gutbrod brachte mir das wunderschöne, obgleich fordernde Berufsbild des Tierarztes nahe und war mir über viele Jahre hinweg ein Vorbild, ein sehr guter Lehrer und ein Freund. Hierfür gebührt ihm auch nach seinem Ableben meine vollste Dankbarkeit.

Ein herzliches Dankeschön gilt Prof. Dr. Walter Hermanns für die Überlassung des Themas, jegliche gewährte Unterstützung beim Mikroskopieren, bei redaktionellen Fragen, bei der Fotoerstellung und vor allem dafür, dass er mit nahezu übermenschlicher, stoischer Geduld und Güte die vorliegende Arbeit nach seinem wohlverdienten Ruhestand noch gelingen ließ.

Der Tierklinik Nürnberg-Hafen danke ich für die Überlassung von Krankenakten zur statistischen Auswertung.

Nicht zuletzt möchte ich mich bei allen Mitarbeitern des Institutes bedanken, angefangen im Labor für die Anfertigung der Schnitte der Vergleichsgruppentiere, über das Sekretariat für allzeitige Erreichbarkeit bei Fragen, bis hin zu jedem einzelnen Institutangehörigen für die freundliche Aufnahme und die allzeitige Hilfsbereitschaft.